

Воробьев Юрий Олегович

**Оптимизация контроль излеченности урогенитального
хламидиоза у женщин**

14.00.01- акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Томск - 2002

Работа выполнена в Сибирском медицинском университете

Научный руководитель: доктор медицинских наук,
профессор Михайлов В.Д.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук
профессор: Коломиец Л.А.

кандидат медицинских наук
Дикке Г.Б.

Ведущая организация: Красноярская государственная медицинская академия (г. Красноярск)

Защита состоится «___» _____ 2002 г. в «___» час
На заседании диссертационного совета К208.096.03. при Сибирском медицинском
университете (634050, г. Томск, Московский тракт,2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке СГМУ (634050, г.
Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «___» _____ 2002 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Герасимов А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Среди заболеваний, передающихся половым путем, особое значение в связи с высокой частотой, социальной значимостью и трудностью лечения имеет хламидийная инфекция, возбудителем которой является *Chlamydia trachomatis* (Прилепская В.Н. и соавт. 1998, Кисина В.И. 2000).

Несмотря на то, что вопросы патогенеза, диагностики и лечения хламидиоза уже достаточно изучены, количество больных хламидийной инфекцией в России за последнее время значительно возросло (Тихонова Л.И. 1999). Высокий процент выявляемости данной инфекции отчасти объясняется внедрением в практику лабораторной службы высокочувствительных и качественных методов диагностики. Особенно важным становится использование таких методов при диагностике бессимптомной или хронической персистирующей инфекции (Сидорович С.Ю. 2001).

Многие авторы, несмотря на применение для лечения больных высокоэффективных препаратов, отмечают высокий процент рецидивов и сохранение неспецифической симптоматики после окончания терапии (Кунгуров Н.В. и соавт. 2002). Рецидивы хламидиоза основаны на способности хламидий к переходу в персистентное состояние, которое делает микроорганизм не чувствительным к любому виду антибактериальной терапии. Персистенция хламидий чаще всего связана с патологией иммунитета. Наиболее глубокие изменения показателей иммунного статуса характерны для хронической формы урогенитального хламидиоза (Окладников Д.В. 2000). В данной связи интерес многих авторов вызывает лечение хронического персистирующего урогенитального хламидиоза с применением иммунотерапии (Гомберг М.А. и соавт. 2000).

Различные клинические проявления хламидийной инфекции требуют тщательного, дифференцированного, сравнительного исследования (Мортон Р.С., Кингхорн Дж. Р. 2000). Учитывая длительный период скрытого, зачастую асимптомного течения и последствия данной инфекции для фертильности, специалистам важно иметь надежную лабораторную диагностику, особенно при проведении контрольного обследования (Тоскин И.А. и соавт. 2000). Весьма важным является вопрос о том, как можно и как нельзя использовать различные методы выявления хламидий при контроле лечения. Главным надежным методом установления эффективности лечения является культуральный метод – через 14 дней после окончания лечения. Методы ПИФ и ИФА могут выявить еще не элиминированные антигенные субстанции *Chlamydia trachomatis*, поэтому применение этих методов

ограничено и проводится через 3-4 недели после окончания лечения. Не рекомендуется использовать для целей контроля лечения ПЦР (Башмакова М.А., Савичева А.М. 2000). Другие авторы считают, что ПЦР является незаменимым диагностическим методом для оценки излеченности после перенесенной инфекции в силу высокой чувствительности и специфичности. Так предлагается проводить контрольное обследование методом ПЦР через 6 недель, 3 месяца и 6 месяцев (Ворошилина Е.С. 1998). Однако сами авторы осознают, что крайне сложно отдифференцировать истинные рецидивы хламидиоза от повторного заражения. До настоящего времени нет единого мнения о сроках и кратности проведения контрольных лабораторных исследований. Нет единых критериев излеченности при различных клинических вариантах хламидийной инфекции. Не разработан алгоритм контрольного исследования. Каждый метод из известных сегодня имеет слабые места при использовании в плане контроля. Флюоресцентная микроскопия может обнаружить не жизнеспособную хламидию, а остатки антигенного материала при замедленном их выведении. Определение специфических антител для контроля так же может дать ложные результаты, учитывая слабую иммуногенность персистентной формы хламидии с одной стороны и возможность длительной наработки антител по типу стерильного иммунитета с другой. Культуральный метод также может дать ложные результаты при персистентной инфекции. Определение антигена методом иммунофлюоресценции и ДНК Chlamydia методом ПЦР определяют наличие инфекции локально в месте взятия мазка. При неправильной интерпретации этих результатов возможна дискредитация достаточно эффективных методов лечения.

Таким образом, актуальным является оптимизация контрольного обследования после терапии урогенитального хламидиоза. Это позволит дифференцировать ранний рецидив инфекции от замедленной элиминации хламидийного антигена, а также от реинфекции и решить вопрос о целесообразности назначения повторного курса антибиотикотерапии.

Цель и задачи исследования

Целью исследования является разработка оптимальной методики контрольного обследования после терапии хронического урогенитального хламидиоза.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

1. Оценить изменения иммунного статуса и клинических проявлений урогенитального хламидиоза до и после лечения, в зависимости от исхода терапии.

2. Оценить эффективность лечения при различной степени инфицирования эпителия эндоцервикса.
3. Сравнить изменения диагностических тестов с динамикой элиминации возбудителя после терапии.
4. Разработать диагностический алгоритм на основе достоверных критериев излеченности урогенитального хламидиоза.

Научная новизна.

Впервые в результате проведенной работы дано цитологическое, иммунологическое обоснование контрольных исследований после терапии хронического урогенитального хламидиоза.

Впервые разработанный нами алгоритм контрольного обследования после терапии урогенитального хламидиоза позволил приблизиться к пониманию причин рецидива хламидийной инфекции и их ранней диагностики.

Практическая ценность.

Данные, полученные в результате проведенного исследования, представляют большую практическую ценность, так как позволяют оптимизировать лечебную тактику за счет максимально раннего прогнозирования успешности терапии. Ранняя диагностика рецидивов инфекции необходима для того, чтобы вовремя принять меры по коррекции проводимой терапии и получить успешный исход лечения. Отработанный алгоритм контрольного обследования после терапии урогенитального хламидиоза с успехом применяется в практическом здравоохранении г. Томска и служит методической основой в работе центра перинатальных инфекций и городского кабинета хламидиоза.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Рецидивы урогенитального хламидиоза чаще возникают у больных с дисрегуляцией иммунного статуса, которая выражается в стимуляции Т и В-лимфоцитов, но отсутствием взаимосвязи между ними, а также гиперпродукция IgG. На фоне проводимой терапии у пациентов при развитии рецидива наблюдается стойкое сохранение основных клинических симптомов на протяжении длительного времени.

2. Сроки элиминации хламидий из цилиндрического эпителия уrogenитального тракта не зависят от глубины его поражения и от выраженности воспалительной реакции.
3. Наибольшей прогностической ценностью при контроле через десять дней после терапии уrogenитального хламидиоза обладает метод ПИФ, а при отсроченном контроле через два месяца метод ПЦР.

Апробация работы

Материалы диссертации были доложены на региональной научно-практической конференции «Инфекции плода, околоплодной среды и новорожденного» (Красноярск, 1997), на научно-практической конференции, посвященной 15-летию родильного дома №4 «Современные проблемы акушерства, гинекологии и перинатологии» (Томск, 2000), на конференции молодых ученых «Научная молодежь на пороге XXI века» (Томск, 2000), на съезде врачей Сибири (Томск, 2000), на региональной конференции «Актуальные вопросы репродуктивного здоровья человека. Вспомогательные репродуктивные технологии» (Томск, 2001), на научной конференции, посвященной 25-летию кафедры акушерства и гинекологии №2 СГМУ "Современные направления в акушерстве, гинекологии и перинатологии" (Томск, 2001).

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы, включающего 181 источника, из которых 89 на русском языке и 92 на иностранном. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами, 14 рисунками, из которых 3 фотографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ

Клиническая группа состояла из 111 женщин, коренных жительниц города Томска и Томской области, в возрасте от 17 до 40 лет, страдающих хроническим уrogenитальным хламидиозом. Для сравнения изменений иммунного статуса взята группа, состоящая из 41 женщины не инфицированной *Chlamydia trachomatis* в возрасте от 18 до 45 лет. Диагноз хронического уrogenитального хламидиоза установлен на основании результатов иммуноферментного исследования сыворотки крови на антихламидийные иммуноглобулины двух классов А и G,

иммунофлюоресцентного исследования соскоба слизистой уретры и цервикального канала с использованием моноклональных антител к *Chlamydia trachomatis*, полимеразной цепной реакции на ДНК *Chlamydia*. Кроме этого всем пациенткам определялся уровень сывороточного цитокина ФНО- α . Пациенты разделены на две группы в зависимости от результатов проведенного лечения. Группа А состояла из 53 человек, у которых после курса лечения при контрольных исследованиях зарегистрировано выздоровление. Группа В состояла из 58 человек, у которых после проведенная терапия оказалась неэффективной.

В клиническую группу не включались лица с субкомпенсированными, либо декомпенсированными заболеваниями внутренних органов, наличием доброкачественных опухолей мочеполового тракта и злокачественных новообразований любой локализации. Из клинических групп исключены так же женщины, при обследовании которых обнаружены венерические заболевания и заболевания, передающиеся половым путем, такие, как микоплазмоз, уреаплазмоз, генитальный герпес. Из статистических рядов были удалены данные о пациентках, не прошедших контрольные исследования в полном объеме и нарушившие режим лечения. Критерии отбора в группу сравнения были одинаковы с основной группой за исключением обязательного отрицательного анализа методами ПИФ, ИФА, ПЦР на хламидийную инфекцию. Исследование не проводилось у лиц с острыми респираторными и другими воспалительными заболеваниями. Кровь для исследования забиралась в лютеиновую фазу менструального цикла утром натощак.

В работе использованы гематологические, иммунологические, цитологические, иммунохимические, молекулярно-биологические методы определения хламидийной инфекции и электронная микроскопия.

Исследования иммунного статуса проводились на базе лаборатории иммунологии (заведующая лабораторией - к.м.н. Т.В.Радченко) областного Центра профилактики и борьбы со СПИД и иммунодефицитными заболеваниями.

У всех обследуемых до и после лечения проводилось изучение количественных характеристик нейтрофильных гранулоцитов периферической крови стандартными методами (Кост Е.А., 1976) Их функциональное состояние исследовали в НСТ-тесте (Гордиенко С. М., 1983).

Исследованы особенности субпопуляций лимфоцитов с использованием моноклональных антител в лимфоцитотоксическом тесте (Петров Р.В., 1996).

Определение иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови проводилось методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (Фримель Г.,1987).

Определение специфических антител, фактора некроза опухоли в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА) (Maggio E.T.,1981). Исследования специфических антител проводили на базе лаборатории вирусологии (заведующая лабораторией - Л.М.Кондратьева) Областного государственного центра санитарно-эпидемиологического надзора по Томской области. Определение ФНО проводили на базе областного детского диагностического центра в лаборатории иммунологии (заведующая лабораторией - В.М.Петрова).

Для обнаружения антигена применялся метод прямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами «ХламиСлайд» (АОЗТ Лабдиагностика.,Москва).

Цитологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Определение ДНК возбудителя *Chlamydia trachomatis* осуществляли методом полимеразной цепной реакции, научно – производственной фирмы Литех в КДО ЦНИЛ СГМУ (директор - д.м.н., проф., академик МАН ЭБ А.Н.Байков) по описанному М.С.Petit et al.(1991) методу. Регистрация результатов проводилась методом электрофореза в агарозном геле.

Электронно-микроскопическое исследование выполнено в лаборатории ультраструктурных исследований и патоморфологии ГНЦ ВБ «Вектор» МЗ РФ г. Новосибирска. (заведующая лабораторией д.б.н. Рябчикова Е.И.).

Лечение в обеих клинических группах было проведено по одной методике и включало в себя: сумамед (Pliva) в курсовой дозировке 3 грамма, лохеин (ICN Томский химфармзавод) в течении 15 дней иммунал (LEK Pharmaceutical) 20 дней, влагалищные тампоны с 25% димексидом 10 дней. По результатам иммунограммы при выявленных нарушениях того или иного звена иммунитета назначалась иммунокоррекция тимогеном, миелопидом и полиоксидонием.

Статистическая обработка по методу вариационной статистики проведена на ПК с процессором Pentium100 с использованием лицензионного пакета “Statistica”(Боровиков В.П. и соавт., 1997).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в результате проведенного исследования, являются актуальными и представляют интерес, так как помогают приблизиться к пониманию причин рецидива хламидийной инфекции и их ранней диагностики. Ранняя диагностика рецидивов инфекции необходима для того, чтобы вовремя принять меры по коррекции проводимой терапии и получить успешный исход лечения.

Как видно из результатов, представленных в предыдущей главе, урогенитальный хламидиоз является широко распространенным заболеванием, передаваемым половым путем. Среди женского населения города Томска хламидийная инфекция выявлялась методом ПИФ в 25,4% случаев, методом ИФА антитела регистрировались у 21,8% женщин и методом ПЦР у 15,3%. Эти данные сопоставимы с общероссийскими, в которых частота выявления хламидий у гинекологических больных составляет 23-40%. Однако среди всего населения отмечается более низкий процент людей, пораженных хламидийной инфекцией, который составляет 5-10% (Серов В.Н. и соавт. 1999).

На протяжении последних лет идет активный поиск высокоэффективных методов лечения урогенитального хламидиоза. Мы знаем, что реальные цифры эффективности проводимой терапии далеки от 100%. Частые рецидивы хламидийной инфекции на современном этапе представляют основную проблему при лечении. По нашим данным, частота рецидивов составила 35,4%, эти цифры сопоставимы с данными различных авторов, где частота рецидивов после лечения описывается до 50% (Гомберг М.А. и соавт., 2000; Кунгуров Н.В. и соавт., 2002; Raultson J.E. et al., 1994).

После лечения урогенитального хламидиоза исход может быть разным - это выздоровление, неэффективность терапии, истинный рецидив и реинфекция. Полное клиническое и лабораторное выздоровление при хроническом урогенитальном хламидиозе является основной целью лечения. Однако, как мы уже отмечали, не всегда удается достичь желаемой цели. Иногда проводимая антихламидийная терапия оказывается неэффективной, то есть не происходит исчезновение клинической симптоматики и на протяжении всех контрольных лабораторных анализах регистрируется хламидийная инфекция. В некоторых клинических исследованиях установлено, что повторные эпизоды урогенитальной инфекции чаще всего являются истинными рецидивами (Мортон Р.С., и соавт. 2000). При

истинном рецидиве в отличие от реифекции не происходит элиминации возбудителя из организма. Рецидив подразумевает под собой появление в повторных контрольных исследованиях хламидий после отсутствия в первых. Хламидии остаются в макроорганизме, но только в видоизмененной персистентной форме, следовательно, основной причиной рецидива является формирование персистенции. Персистентная форма хламидий может формироваться как следствие неадекватной иммунотерапии, неправильном выборе и недостаточных дозировках антибиотика.

Предсказать клинический эффект антибиотиков у больного сложно, так как имеется много факторов, которые в конечном итоге влияют на возможные исходы антибактериальной терапии. На современном этапе установлено, что причинами неудачной терапии может быть антибиотикорезистентность (Яковлев С.В. 1999). Считают, что это состояние может быть связано с различной внутриклеточной концентрацией отдельных антибиотиков. Антибиотики, которые не накапливаются в высоких концентрациях внутри клеток, могут стать не эффективными при внутриклеточных инфекциях (Сазыкин Ю.О. и соавт 2000). Кроме этого возможно формирование приобретенной устойчивости к антибиотикам, которая возникает в результате мутации отдельных штаммов бактерий и селекции устойчивых клонов микроорганизмов или в результате внехромосомного обмена генетической информацией между отдельными бактериальными клетками (Яковлев С.В. 1997). При хламидийной инфекции основной механизм развития резистентности к антибактериальным средствам является изменение проницаемости клеточной стенки. Однако это не является истинной антибиотикорезистентностью, а просто происходит трансформация хламидийной клетки в L-форму при неадекватной антибактериальной терапии. Развитие антибиотикорезистентности к применяемому в нашей работе препарату сумамед у хламидий по данным литературы не отмечается.

Из предыдущей главы видно, что клинические проявления при урогенитальном хламидиозе малоспецифичны. По данным А. Стари (2002) до 80% случаев хламидийная инфекция протекает бессимптомно. В нашем случае бессимптомное течение инфекции в обеих клинических группах было ниже и достоверно не отличалось, однако все-таки в группе В с рецидивами инфекции этот процент был выше и составил 24,1%, а в группе А, где

произошло выздоровление 16,9%. Как известно, симптомы хламидийной инфекции стерты и не специфичны, поэтому при общем обследовании им можно не придавать значения. Однако при детально собранном анамнезе и клиническом обследовании можно выявить вялотекущую симптоматику, что и показано в нашем исследовании.

Как уже отмечалось, у пациентов группы В чаще инфекция протекала бессимптомно или с вялотекущей симптоматикой. По данным анамнеза установлено, что у пациентов этой группы в 30% случаев имело место существование клинических симптомов более одного года.

После проведения специфического лечения статистически достоверно отмечается исчезновение болевого синдрома как в группе А, где зарегистрировано выздоровление, так и в группе В с рецидивами инфекции. Это свидетельствует о том, что в группе В произошло подавление активности хламидийного процесса, несмотря на то, что хламидии в результате терапии не элиминировались из макроорганизма. В подтверждение этому отмечена положительная динамика у пациентов группы В с дизурическими расстройствами, у которых на фоне терапии произошло достоверное уменьшение данной симптоматики с 20,6% до 3,4% ($p=0,02$). Основным симптомам хронического урогенитального хламидиоза являются слизистые и слизисто-гнойные выделения из половых путей. До лечения этот симптом с высокой частотой встречался у пациентов обеих клинических групп без достоверного отличия (в группе А 66%, в группе В 51,7% $p=0,18$). В результате терапии в группе А, где произошла полная элиминация хламидий отмечалась быстрая положительная динамика, в виде исчезновения белей и устранение дискомфорта. У пациентов группы В такой динамики не произошло и симптом влагалищных выделений оставался на протяжении всех контрольных исследованиях. Через два месяца после лечения в группе с рецидивом инфекции выявление этого симптома достоверно не отличалось от первичного исследования и составило 48,2% и 51,7% соответственно ($p=0,95$).

Учитывая вышеизложенные факты можно сказать, что у пациентов группы с рецидивами инфекции хламидийная инфекция в большинстве случаев имела персистентную форму.

Персистирующий инфекционный процесс-это своеобразная форма, характеризующаяся длительным пребыванием возбудителя в организме. Пребывание хламидий в данной форме является временным существованием в макроорганизме, зависящим от многих факторов. При появлении благоприятных условий для роста и размножения хламидия способна реактивироваться. Однако, находясь и в персистентной форме, хламидии могут передаваться половым партнерам, а также вызывать воспалительные заболевания мочеполовой системы. (Битти В.Л.и соавт.1995).

Цитологическое исследование предпринято нами для проверки гипотезы о преимущественном рецидивировании хламидиоза при инфицированности резервных клеток.

При цитологическом обследовании мазков из цервикального канала у пациентов обеих групп морфологических различий не выявлено. В цитологическом препарате морфологически выделялись основные цилиндрические клетки и резервные.

При поражении глубоких слоев эпителия, а именно резервных клеток, хламидии могут долгое время находиться в половом тракте. Из резервных клеток в процессе дифференцировки образуются цилиндрические, а хламидия при регенерации эпителия может переходить из глубоких слоев в основные. В результате этого возможно, что после проведенного лечения элиминация хламидий из глубоких резервных клеток будет происходить значительно медленней, чем из основных цилиндрических. Следовательно, остатки антигенного материала и следы ДНК могут долгое время регистрироваться методом ПЦР. Нами установлено, что инфицированность резервных клеток хламидиями в обеих клинических группах достоверно не отличалась друг от друга. В результате проведенного лечения выявлено, что сроки элиминации хламидий не зависели от глубины поражения цилиндрического эпителия эндоцервикса. Таким образом, при применении антибиотиков с высокой внутриклеточной активностью можно добиться полного излечения и при инфицированных резервных клетках.

Хроническое воспаление при внутриклеточной инфекции представляет интерес с двух позиций. Во-первых, механизмы воспаления участвуют в

элиминации возбудителя, во-вторых, именно чрезмерная воспалительная реакция формирует осложнения.

При гематологическом обследовании больных хроническим урогенитальным хламидиозом в лейкограмме выявлены изменения, характерные для хронического инфекционно-воспалительного процесса. Так в обеих клинических группах отмечено достоверное повышение общего количества лейкоцитов по сравнению с контрольной группой, однако число сегментоядерных лейкоцитов в группе В было достоверно ниже, чем у пациентов группы А и группы сравнения. Также отмечено увеличение уровня СОЭ в клинических группах до 10,3 мм/ч в группе А и 13,8 мм/ч у пациентов группы В по сравнению со здоровыми женщинами, у которых СОЭ была 5,8 мм/ч. Кроме этого для оценки воспалительной реакции мы исследовали динамику цитокина провоспалительного профиля при первичном обследовании и в периоде реконвалесценции (рис.1). Ключевую позицию в этом профиле занимает фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α). Как медиатор воспаления, ФНО- α способствует повреждению органов и тканей. Он дает эффект в пикомолярных концентрациях через взаимодействие с высокоафинными специфическими рецепторами (Кожевников В.С. 2001). В высоких концентрациях ФНО- α способен повреждать клетки эндотелия и увеличивать микроваскулярную проницаемость, вызывая активирование системы гемостаза и комплемента. Логично было бы предположить, что в норме при лечении хламидиоза речь идет о сбалансированной системной воспалительной реакции. Если баланс нарушается, то в одном случае отсутствие воспаления сделает невозможным излечение, а в другом случае гиперергическая реакция приведет к развитию осложнений. К удивлению, уровень ФНО- α как при первичном, так и при контрольных обследованиях после проведенного лечения не превышал уровня детекции тест-системы т.е. 5 пкг/мл.

Проведенное исследование свидетельствует о невозможности использования ФНО- α в качестве критерия успешности терапии и вероятности осложнений. Вероятно, лечение хронического урогенитального хламидиоза возможно и без активации воспалительной реакции, что достигается адекватной иммунотерапией. В таком случае удастся избежать таких осложнений, как усиление болевого синдрома, образование спаек, нарушение функции органов репродуктивной системы. Однако вопрос о роли системного воспаления в процессе элиминации возбудителя остается открытым.

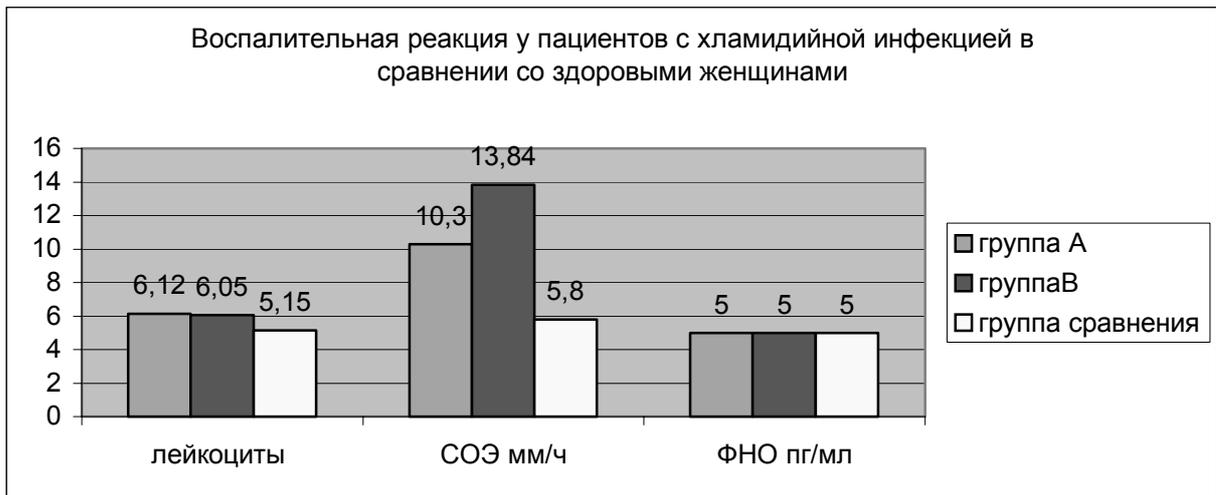


Рис. 1.

При исследовании иммунного статуса у больных урогенитальным хламидиозом нами выявлены изменения, которые характерны для инфекционного процесса.

У пациентов группы В с ранними рецидивами хламидиоза, в иммунограмме выявлено статистически достоверное увеличение общего количества лимфоцитов. Общая популяция лимфоцитов увеличена за счет субпопуляций В-лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD20 и CD72.

Полученные нами данные сопоставимы с теми, что описываются в обзоре М.Е. Варда (1996). Схема иммунных нарушений выглядят так: В-звено стимулировано, но неэффективно вследствие сниженной экспрессии хламидийных антигенов и малой роли антител в защите от хламидиоза. Изменения Т-звена носят переменный характер и могут обеспечить выработку достаточного количества интерферонов за счет CD4 и CD16. Однако, дефект рецепторов к γ -интерферону препятствует клеточному взаимодействию. Следствием является неэффективность антибактериального иммунитета, несмотря на активированные защитные факторы иммунной системы. В таком случае речь идет не о повреждении, а о нарушении регуляции иммунной системы у больных хроническим урогенитальным хламидиозом при моноинфекции. Этот факт позволяет надеяться на возможность коррекции иммунных нарушений модулирующими факторами и делает необоснованным применение препаратов тимуса, как обязательного препарата стандартной схемы для иммуностимуляции без предварительного изучения иммунограммы конкретного больного. Одним из подтверждений этой

теории является успешное применение в схемах лечения хламидиоза синтетических индукторов интерферона.

В нашем случае отличия субпопуляций Т-лимфоцитов у больных хроническим хламидиозом от аналогичных показателей контрольной группы состояли в достоверном снижении лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD 3 и CD 8. Зарегистрировано также недостоверное повышение CD4 и значительное увеличение CD16. Все эти показатели сопоставимы с описанными в литературе (Гомберг М.А. и соавт. 2000, Окладников Д.В. 2000, Ward M.E.1996). Для урогенитального хламидиоза характерна иммунопатологическая перестройка организма, ее особенности зависят от формы инфекционного процесса и состояния иммунной системы индивидуума. В Т-клеточном звене эти нарушения носят переменный характер. Некоторые авторы регистрировали снижение количества лимфоцитов CD4+ и повышение CD16+ (Бутов Ю.С. и соавт.,1998).

Ряд исследователей описывают более выраженные изменения в Т-клеточном звене иммунитета при хламидийной инфекции в сочетании с такими микроорганизмами, как гонококки, микоплазмы, трихомонады, гарднереллы, грибы рода Кандида (Анчупане И.С., и соавт. 2000). При исследовании фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов в НСТ-тесте нами выявлено статистически значимое снижение спонтанной фагоцитарной активности в группах с хроническим урогенитальным хламидиозом ($p=0,001$). Эти показатели соответствуют данным, описанным в работе Л.К. Глазковой и соавт.(1998). Авторы отмечают значительное угнетение защитных систем при урогенитальном хламидиозе вплоть до истощения как фагоцитарного звена, так и систем комплемента и лизоцима. Показано, что хламидии могут персистировать в профессиональных фагоцитах, а также в лимфоцитах и эндотелиоцитах лимфатических капилляров и даже во внеклеточных фагосомах. Такая устойчивость хламидий к фагоцитозу может свидетельствовать как о мощных механизмах подавления ими фагоцитарной системы, так и о изначальной несостоятельности ее у больных. Подводя итог вышесказанному можно отметить, что В-звено не играет особой роли в защите от хламидиоза. Из достоверных изменений гуморального иммунитета наблюдалось увеличение количества IgG у пациентов с рецидивом хламидийной инфекции по сравнению со здоровыми женщинами. Можно отметить также достоверное превышение IgM в группе выздоровевших пациентов, по сравнению с группой, где терапия была неэффективной

($p=0,05$). Уровень иммуноглобулинов класса А в обеих клинических группах был не достоверно выше, чем в группе сравнения.

Выявленные нами изменения в иммунном статусе характерны для больных урогенитальным хламидиозом, одинаковы в обеих группах и достоверно отличаются от показателей здоровых женщин. Из достоверных различий в состоянии иммунитета между больными группы А, где зарегистрировано выздоровление и пациентами группы В с рецидивами инфекции, у последних выявлена значительная стимуляция В-звена. Известно, что иммуноглобулины классов G и А могут препятствовать инфицированию, но при массивном инфицировании или в целях предотвращения размножения уже имеющихся в организме хламидий, часто оказываются неэффективными. Следовательно, антитела не играют ведущей роли в противохламидийной защите. Это утверждение совпадает с данными некоторых авторов (Бартенева Н.С., 1986; Вад М.Е., 1996). Неполноценность Т-клеточного иммунного ответа основана на патологии рецепторного аппарата и ферментных систем лимфоцитов, что выявляется при детальном обследовании.

В завершении необходимо обсудить динамику элиминации хламидий по результатам лабораторных методов исследования. Для этого нами выбраны наиболее применяемые методы диагностики хламидийной инфекции как ПИФ, ИФА и ПЦР.

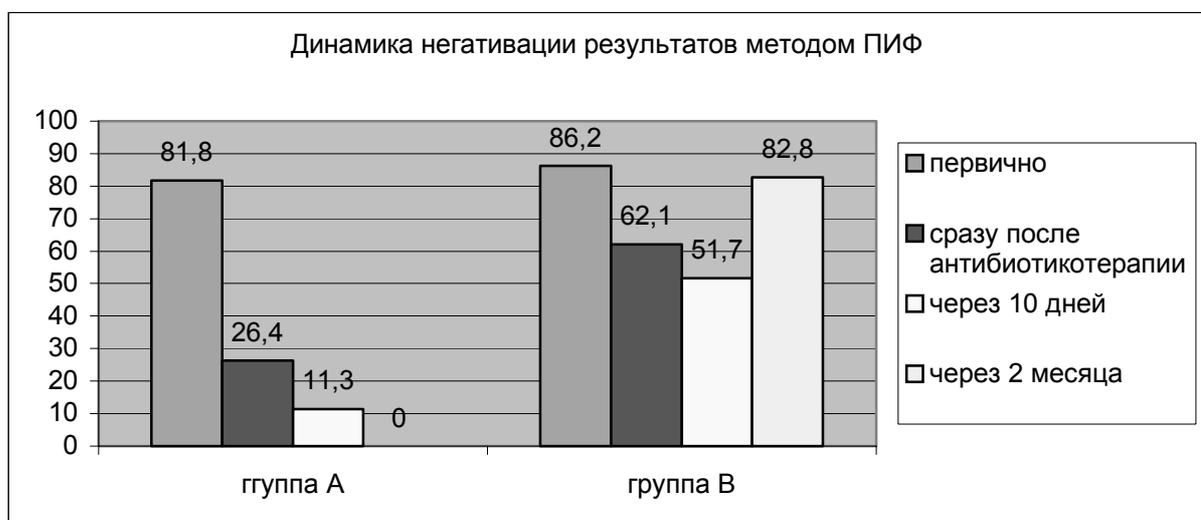
При раннем контроле большой интерес представляли результаты полученные методом ПИФ, так как при этом исследовании возможно определить не только инфекцию но и говорить о степени ее активности и распространенности в клетках за счет совмещения цитологического и иммунофлюоресцентного исследований. (рис.2) Так при первом контрольном обследовании, проведенного сразу после антибиотикотерапии, в группе А среди положительных результатов ПИФ отмечались в 64,3% случаев мелкие видоизмененные единичные ретикулярные тельца, менее чем в 1% клетках эндоцервикса на весь препарат. В группе В, где отмечены рецидивы, при первом контроле хоть и произошло снижение процента положительных результатов с 86,2% до 62,1%, однако во всех положительных случаях регистрировались зрелые ретикулярные тельца обычной формы. При втором контрольном обследовании, проведенном через десять дней, у всех пациентов группы А с видоизмененными хламидиями, внутриклеточные включения не выявлялись. Как видно из полученных данных достоверные различия между положительными результатами у пациентов группы А и группы В отмечались даже при первом контрольном исследовании. Это свидетельствует о том, что

уже при первом контроле по особенностям результатов метода ПИФ можно спрогнозировать возможность дальнейшей элиминации хламидий. Окончательная элиминация хламидий после успешного лечения происходит через два месяца после завершения курса антибиотиков. В литературе встречаются данные, что заключительное контрольное обследование методом ПИФ проводится через 3-4 недели после лечения и при положительных результатах назначается дополнительное лечение антибиотиками (Башмакова М.А. и соавт., 2000). Однако в нашем случае доказано, что через 4 недели методом ПИФ можно обнаружить нежизнеспособную хламидию, которая не успела элиминироваться, поэтому назначение повторного курса антибиотиков в данной ситуации не показано.

У пациентов группы В результаты при третьем контрольном обследовании ПИФ, проведенном через два месяца достоверно не отличались от результатов первичного обследования: 82,8% и 86,2% ($p=0,79$) соответственно. Основное количество ранних рецидивов пришлось на промежуток времени с 10 дней до двух месяцев. У всех пациентов этой группы, при получении

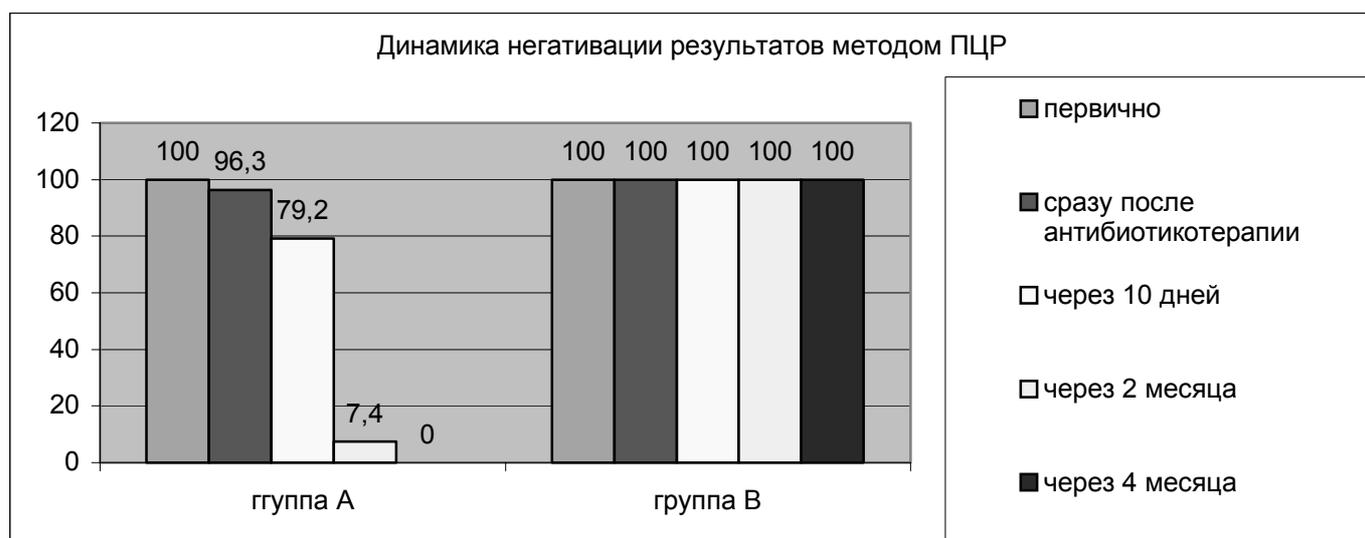
отрицательных результатов методом ПИФ, анализом ПЦР обнаруживали ДНК хламидий, которая оставалась положительной на протяжении 1 года после проведенного лечения. Такие результаты нами расценивались как рецидивы хламидийной инфекции.

Рис. 2.



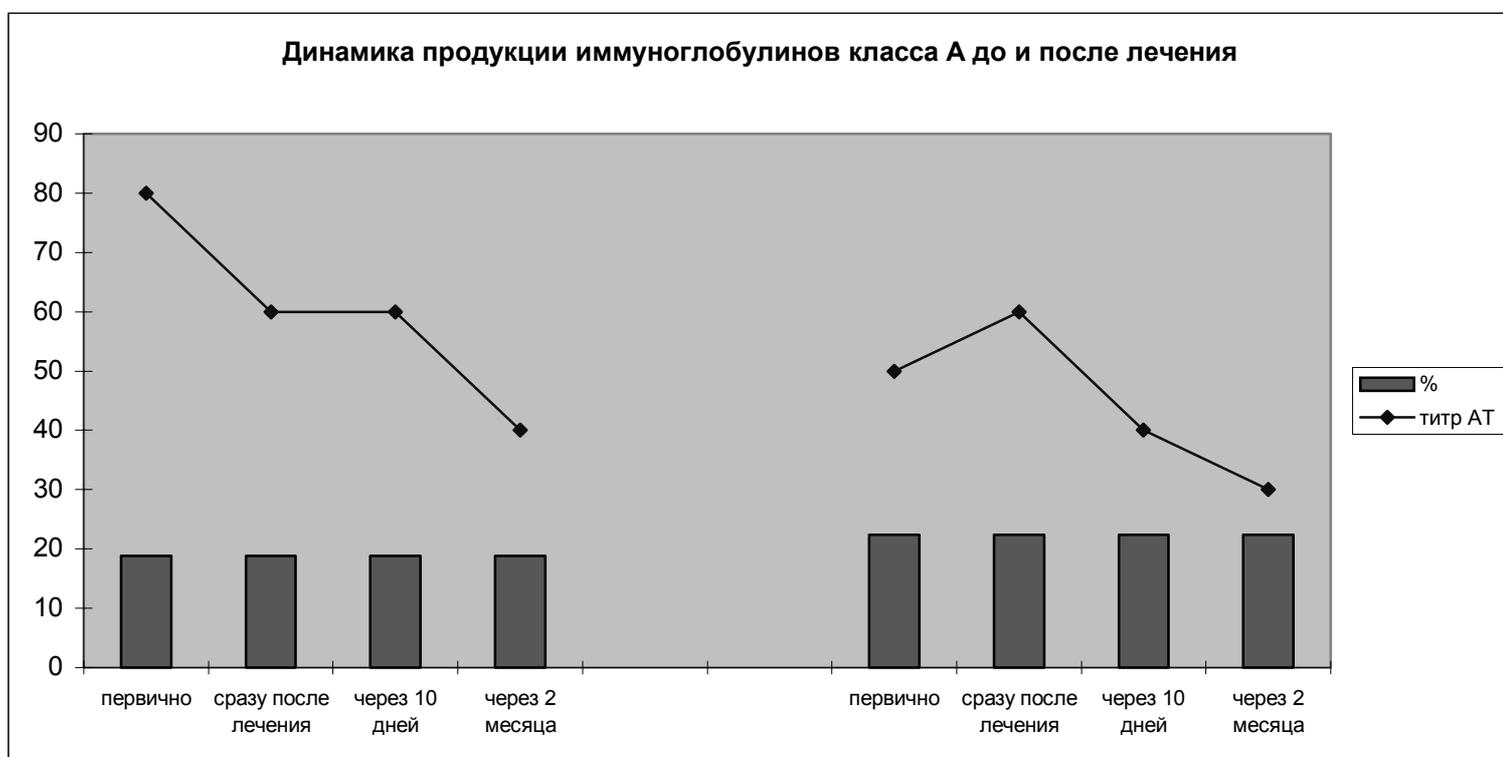
При контрольном обследовании методом ПЦР нами взяты четыре контрольные точки: сразу после антибиотикотерапии, через 10 дней, через два и четыре месяца (Рис.3.). При первичном обследовании пациентов обеих групп методом ПЦР хламидийная инфекция была подтверждена в 100% случаев. После лечения у пациентов группы А происходила медленная негативация положительных результатов. Так сразу после лечения не произошло достоверного снижения процента положительных анализов, которые составили 96,3% ($p=0,47$). Однако уже через 10 дней после применения антибиотика разница в положительных анализах (79,2%) стала достоверной ($p=0,001$). Полная негативация результатов в группе А произошла только через 4 месяца после проведенного лечения. У пациентов группы В элиминации хламидий не произошло и ДНК возбудителя определялась на протяжении всего времени. По использованию метода ПЦР в плане контроля между различными авторами нет единого мнения. Например, Башмакова М.А. с соавт.(2000) считают, что этот метод вообще не годится для контрольного исследования. Другие авторы говорят о том, что только через шесть месяцев после лечения можно применять метод ПЦР. Однако сами исследователи признают, что в данной ситуации практически не возможно отличить рецидив инфекции от повторного заражения (Ворошила Е.С. 1998, Кjaer Н.О. 2000). В результате нашего исследования установлено, что ПЦР является надежным методом окончательной контрольной диагностики, которая должна проводиться не ранее, чем через четыре месяца.

Рис. 3.



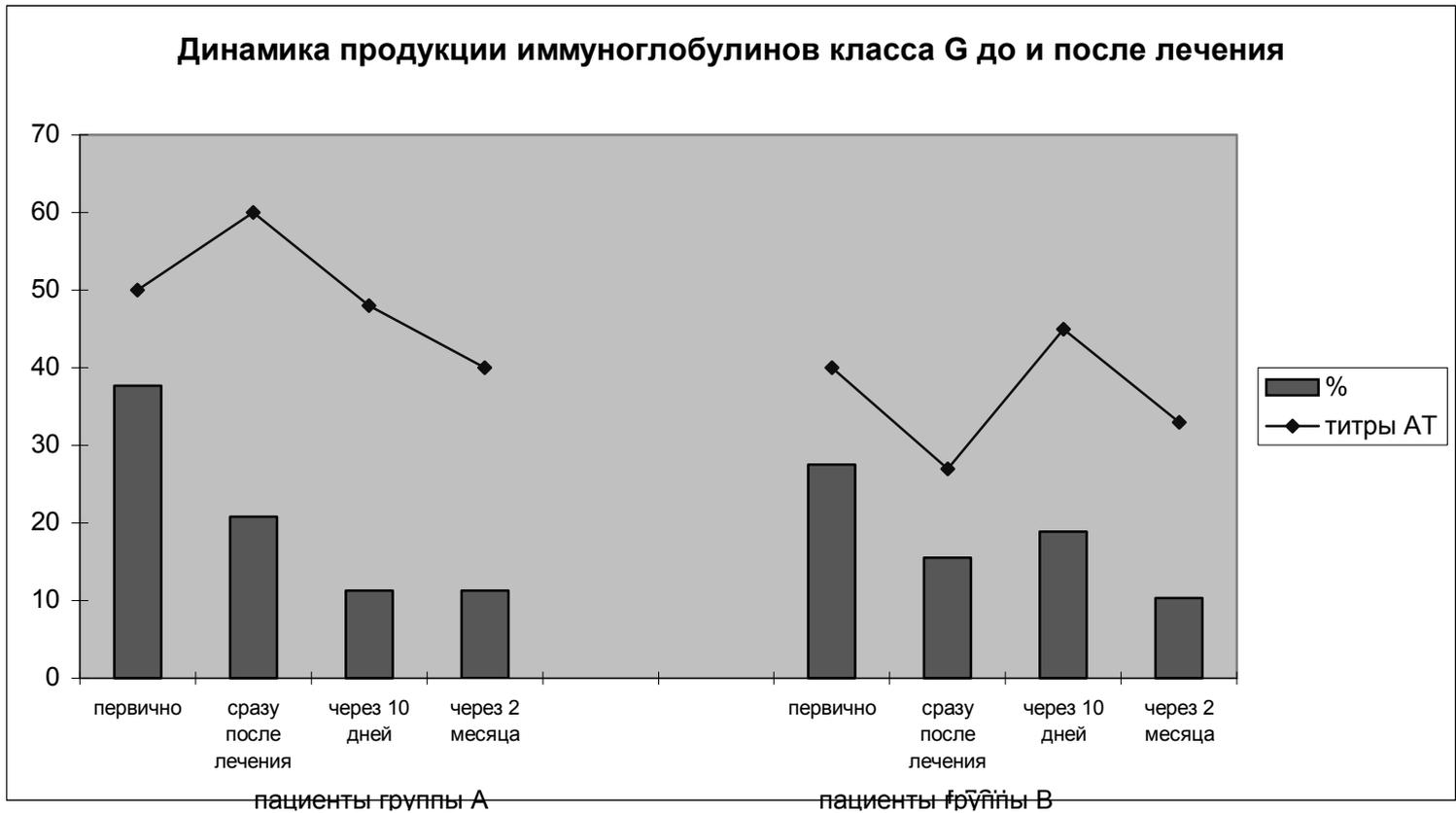
При использовании метода ИФА для контрольного обследования достоверных различий в наработке антител в период реконвалесценции между клиническими группами не выявлено. Во время контрольных обследований отмечается постепенное падение титра IgA. Через два месяца титр снизился в два раза у пациентов группы А по сравнению с исходными. (Рис.4)

Рис.4.



показателями. У пациентов группы В динамика падения титра IgA не была такой интенсивной отмечена более монотонная наработка антител на протяжении двух месяцев после лечения. Отличия в наработки IgG по группам также были не достоверные. (Рис.5) После проведенного лечения количество серопозитивных пациентов снизилось как в группе А с 37,7% до 11,3%, так и в группе В с 27,5% до 10,3%. Эти данные еще раз подтверждают то, что у пациентов группы В хотя и не произошло элиминации хламидий, зато наблюдалось снижение активности инфекционного процесса.

Рис. 5



При проведении контрольных лабораторно-диагностических исследований весьма важным является правильный выбор метода контроля. Необходимо учитывать взаимоотношения между результатами диагностического теста и реальным наличием или отсутствием заболевания. Каждый из диагностических тестов обладает определенной чувствительностью и специфичностью. Чувствительность определяется как доля лиц с положительным результатом теста в популяции с изучаемым заболеванием. Чувствительный тест редко пропускает пациентов, у которых имеется хламидиоз. Специфичность показывает долю лиц с отрицательным результатом теста в популяции без изучаемой болезни. Проводя исследование, мы должны сделать вывод, болен человек или нет. Особенно это важно при проведении контрольного обследования, так как решается вопрос об успешности терапии и целесообразности повторного лечения. Контрольное обследование после терапии

урогенитального хламидиоза мы проводили различными диагностическими методами и в разные сроки после лечения. Результаты проведенного исследования представлены в предыдущей главе. При выполнении данной работы выяснено, что чувствительность и специфичность диагностических методов могут варьировать в зависимости от сроков их проведения. Так при первом контрольном исследовании методом ПИФ, проведенном сразу после антибиотикотерапии, чувствительность составила 62,1% а специфичность 73,6%, методом ПЦР 100% и 3,7% соответственно, а методом ИФА 15,4% и 79,2% (рис. 6). При втором контроле через 10 дней методом ПИФ чувствительность - 51,7%, специфичность - 88,7%, методом ПЦР чувствительность 100%, специфичность 20,8% и методом ИФА 19,4% и 87,5% соответственно (рис. 7). Через два месяца после лечения методом ПИФ чувствительность составила 82,8%, а специфичность 100%. Методом ПЦР чувствительность 100%, специфичность 92,6%. Методом иммуноферментного анализа при третьем контрольном исследовании чувствительность составила 11,5% и специфичность 87,5% (рис. 8).

Рис. 6

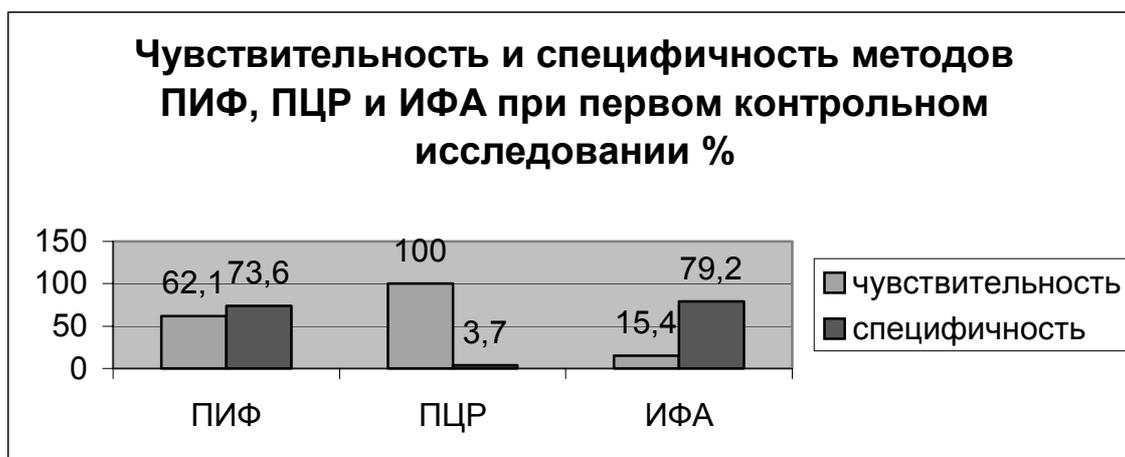


Рис7

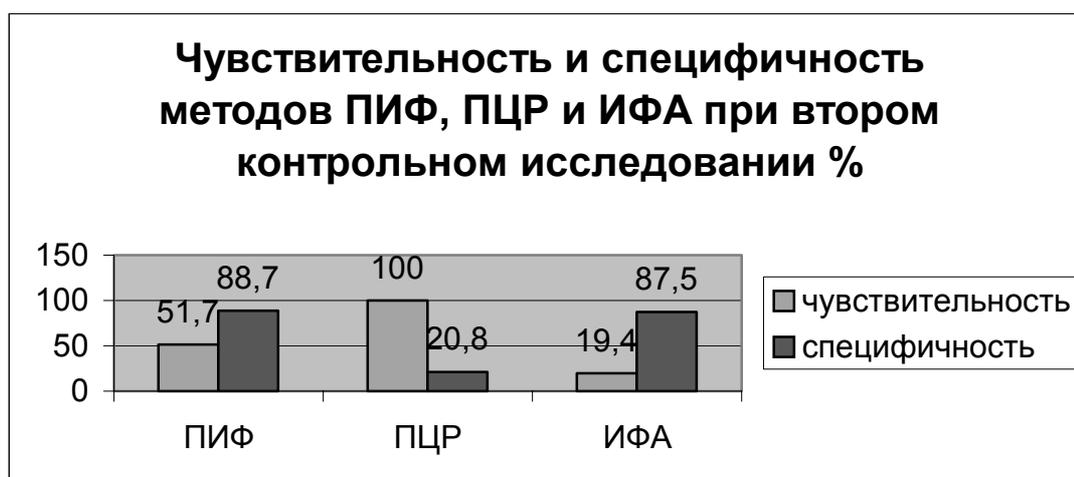
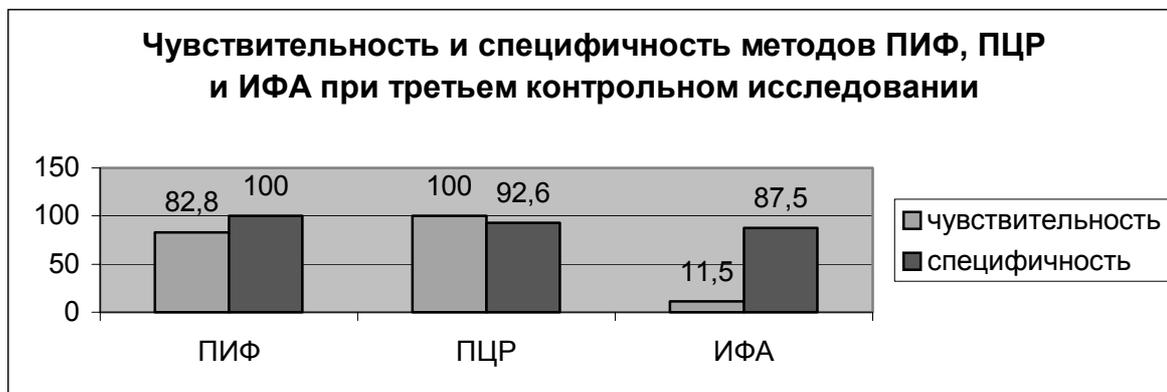


Рис.8.



Зная прогностическую ценность диагностических методов при проведении контрольных обследований можно спрогнозировать успешность проводимого лечения.

Прогностическая ценность положительного результата - это вероятность заболевания при положительном результате теста; прогностическая ценность отрицательного результата - вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате теста.

Прогностическая ценность положительного результата методами ПИФ, ИФА и ПЦР в различные сроки была не одинакова. Сразу после лечения при использовании метода ПИФ 70%, через 10 дней 82%, через два месяца 100%. Методом ПЦР прогностическая ценность положительного результата составляла при первом контроле 50%, через десять дней 56%, через два месяца 93%, а через четыре месяца 100%. Прогностическая ценность положительного результата методом ИФА была относительно ниже, чем у других методов и составила при первом контроле 42%, при втором 60% и при третьем 47%.

В результате расчета прогностической ценности положительного результата разных методов можно говорить о том, что контрольное обследование после терапии уrogenитального хламидиоза необходимо проводить несколькими методами. Каждый из методов контроля высокоинформативен при правильном использовании их в разные сроки после

терапии. Контрольное обследование методом ПИФ может быть применено уже в ранние сроки после терапии. Так через десять дней после специфического лечения чувствительность и специфичность этого метода уже достаточно высока (рис. 7), а прогностическая ценность составляет 82%. Это значит, что через десять дней мы можем использовать метод ПИФ для раннего контроля за эффективностью лечения и при обнаружении хламидийных включений можно говорить с вероятностью 82%, что у этих пациентов выздоровление не наступает. Методом ПЦР проводить раннюю диагностику рецидивов не эффективно. При выявлении ДНК хламидий через десять дней эта вероятность составляет всего 56%. При использовании метода ИФА для контрольного обследования необходимо иметь в виду, что практически у половины выздоровевших пациентов отмечаются противохламидийные антитела. После элиминации возбудителя из организма происходит медленное падение титра антител. Для полной негативации результатов методом ИФА необходимы более длительные сроки, чем для методов ПИФ и ПЦР. Кроме этого после перенесенной хламидийной инфекции в 20% случаев возможно формирование стерильного иммунитета. Исходя из этого, следует, что прогнозировать исход терапии на ранних сроках после лечения по обнаружению специфических антител методом ИФА нельзя, так как прогностическая ценность положительных результатов колеблется в пределах 42-60%. Наибольшую информативность при проведении контрольного обследования имеют методы ПИФ и ПЦР. Окончательные контрольные анализы методом ПИФ, проведенные через два месяца обладают 100% прогностической ценностью положительного результата, поэтому при обнаружении в мазках хламидийных включений в этот срок свидетельствует о неэффективности терапии или раннем рецидиве инфекции. Методом ПЦР об успешности терапии можно судить не ранее, чем через четыре месяца после лечения, когда прогностическая ценность положительного результата составляет 100%.

Представленный алгоритм контрольного обследования позволяет оптимизировать лечебную тактику за счет максимально раннего прогнозирования успешности терапии.

ВЫВОДЫ

1. Нарушения регуляции иммунного статуса характерны для пациентов с рецидивами урогенитального хламидиоза. Они характеризуются стимуляцией Т и В лимфоцитов (СД20, СД3, СД4, СД8, СД16), при затруднении клеточной коопирации (снижение уровня СД72).
2. Эффективность противохламидийного лечения не зависит от глубины поражения цилиндрического эпителия, так как скорость элиминации хламидий из камбиальных клеток достоверно не отличаются от основных.
3. Наибольшей прогностической ценностью при раннем контроле после терапии урогенитального хламидиоза обладает метод ПИФ (82%), а при отсроченном контроле метод ПЦР (93%).
4. Оптимальный алгоритм контрольного обследования после терапии урогенитального хламидиоза включает в себя использование в динамике методов ПИФ через 10 дней и ПЦР через два месяца.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. После специфического лечения урогенитального хламидиоза проведение контрольного обследования является обязательным.
2. Контроль излеченности должен осуществляться сочетанием нескольких методов.
3. Контрольное обследование после терапии урогенитального хламидиоза должно проводиться дважды: первый раз через десять дней после антибиотикотерапии, второй – через два месяца после лечения. Через десять дней анализы необходимо проводить методом ПИФ, если результат будет отрицательным, то через два месяца подтверждение излеченности проводится сочетанием методов ИФА и ПЦР. Лечение считается успешным, если методом ПИФ и ПЦР хламидии не определяются. При использовании ИФА в плане контроля эффективным признается лечение, если через два месяца антихламидийные антитела не выявляются или происходит постепенное падение их диагностического титра. Если результаты метода ПИФ через 10 дней остаются положительными, то этим пациентам дополнительно необходимо назначить индивидуальную иммунокорректирующую терапию в зависимости от степени нарушения иммунного статуса, с последующим контролем через два месяца методом ПЦР.

Список работ, опубликованных по теме диссертации работы:

1. Урогенитальный хламидиоз в акушерстве - скрининг, диагностика, лечение //Тезисы докладов научно-практической конференции "Инфекции плода, околоплодной среды и новорожденного". – Красноярск, 1997. - С.83-84. / Соавт. Юрьев С.Ю., Михайлов В.Д., Махмудходжаев А.Ш., Габидулина Т.В.
2. Контроль излеченности после терапии урогенитального хламидиоза // Сб. научных трудов, посвященный 15-летию род. дома № 4 "Современные проблемы акушерства, гинекологии и перинатологии". – Томск, 2000. - С.63-64./ Соавт. Михайлов В.Д., Юрьев С.Ю., Габидулина Т.В.
3. Проблема хламидийной инфекции в акушерстве. Перспективные направления в изучении // Сб. научных трудов, посвященный 100-летию со дня рождения профессора Пойзнера Б.С. "Актуальные вопросы акушерства и гинекологии"– Томск, 2000- С.26-28/ Соавт. Михайлов В.Д., Юрьев С.Ю., Габидулина Т.В.
4. Клиническая оценка течения беременности на фоне сочетанной хламидийно-вирусной и монохламидийной инфекции // Сб. статей молодых ученых и специалистов по материалам международного конгресса " Научная молодежь на пороге XXI века". - Томск, 2000. - С.5-6/ Соавт. Габидулина Т.В.
- 5.Тактика ведения пациентов с урогенитальным хламидиозом при невынашивании беременности //Тезисы докладов. Актуальные вопросы репродуктивного здоровья человека. Вспомогательные репродуктивные технологии.- Томск 2001 С 17-18/ Соавт. Юрьев С.Ю., Дегтева С.С.
6. Системная воспалительная реакция в динамике реконвалесценции после лечения урогенитального хламидиоза // Сб. научных трудов, посвященный 25-летию кафедры акушерства и гинекологии №2 СГМУ "Современные направления в акушерстве, гинекологии и перинатологии". – Томск, 2001. - С.24-26./ Соавт. Михайлов В.Д., Юрьев С.Ю., Кротов С.А., Гончарова М.В., Кондратьева Л.М.