ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Российский Государственный Медицинский Университет Федерального агенства Министерства по здравоохранению и социальному развитию»

На правах рукописи

04.2.00 5 16636

Кашеваров Дмитрий Фёдорович

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

14.00.11 – кожные и венерические болезни
14.00.36. – аллергология и иммунология

Научные руководители:
Профессор, д.м.н. Хамаганова И.В.
Профессор, д.б.н. Хромова С.С.

МОСКВА, 2005 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

СПИСОК ОБЩЕПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ 4

ВВЕДЕНИЕ 5

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 10

1.1. Биологические свойства *Chlamydia trachomatis*, возбудителя урогенитального хламидиоза 10

1.1.1. Основные биологические характеристики *C.trachomatis* 11

1.1.2. Персистирующая форма *C.trachomatis* в патогенезе урогенитального хламидиоза 12

1.2. Иммунный аспект патогенеза урогенитального хламидиоза 13

1.3. Морфологические изменения при УГХ 20

1.4. Клиника урогенитального хламидиоза 22

1.5. Методы лабораторной диагностики хламидийной инфекции 26

1.5.1. Иммунодиагностика больных урогенитальным хламидиозом 29

1.6. Лечение урогенитального хламидиоза 31

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 37

2.1 Иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA) 37

2.2. ПЦР (полимеразная цепная реакция 37

2.3 Идентификация *C.trachomatis* в культуре 39

2.4. Оценка действия иммуномодулятора «Суперлимф» на *C.trachomatis* в культуре *in vitro* 39

2.5 Оценка результатов терапии 40

2.6. Методы лечения 40

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 42

3.1. Клиническая характеристика больных 42

3.2. Результаты диагностического обследования 48

3.2.1. Диагностика урогенитального хламидиоза с помощью ПЦР 48

3.2.2. Диагностика урогенитального хламидиоза с помощью культурального метода 48

3.3. Экспериментальное исследование действия иммуномодулятора «Суперлимф» НА *C.trachomatis* в культуре *in vitro* 50

3.3.1. Исследование действия препарата «Суперлимф» на *C.trachomatis* культуре *in vitro* 51

3.3.2. Действия препарата «Суперлимф» на сопутствующую бактериальную микрофлору 57

3.4. Исследование продукции цитокинов в оценке иммунных нарушений у больных урогенитальным хламидиозом. 59

3.4.1. Определение концентрации TGFβ (пкг/мл) в сыворотках крови больных УГХ 61

3.4.2. Определение концентрации TNFα (пкг/мл) в сыворотках крови больных УГХ 63

3.5. Результаты лечения больных 67

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ 73

ВЫВОДЫ 84

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 86

СПИСОК ОБЩЕПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИППП - инфекции, передаваемые половым путём

ИФ - иммунофлюоресценция

ИФА - иммуноферментный анализ

ЛЦР - лигазная цепная реакция

МПК - минимальная подавляющая концентрация

НГУ - негонококковый уретрит

ПЦР - полимеразная цепная реакция

УГХ - урогенитальный хламидиоз

РТ - ретикулярные тельца

ЭТ - элементарные тельца

TGF - transforming grows factor - трансформирующий фактор роста

TNF - tumor necrosis factor - фактор некроза опухоли

ВВЕДЕНИЕ

Среди инфекций, передаваемых половым путём (ИППП), особое место занимает урогенитальный хламидиоз. Заболевание поражает мужчин, женщин, детей, оказывает негативное влияние на репродуктивное здоровье, может распространяться на различные органы и системы [11,19,82]. Ежегодно в мире урогенитальным хламидиозом заболевает 92 млн. человек, что приводит к значительным экономическим потерям [126]. В развитых странах урогенитальные инфекции хламидийной этиологии и их осложнения напрямую связаны с сероварами *Chlamydia trachomatis* от D до K [126]. Поскольку данная инфекция часто протекает бессимптомно, то невыявленные бактерионосители способствуют распространению заболевания в обществе. [30,45, 54,137].

По различным данным, 60-80 % инфекций среди женщин и до 50 % среди мужчин являются бессимптомными [127]. С другой стороны, частота урогенитального хламидиоза среди женщин составляет 38-69 %, а при бесплодии выявляется в 36-49 % случаев, т.е. почти у каждой второй пациентки. Фоновые процессы, которые влекут за собой диспластические изменения слизистой шейки матки, в большинстве случаев зависят от наличия инфекционных агентов, передаваемых половым путём. Особое значение придаётся хламидийной инфекции [10,34]. Данные о частоте положительных результатов зависят от чувствительности и специфичности тестов, а также особенностей обследуемых контингентов [69,80,115].

Проблемы детекции возбудителя урогенитального хламидиоза связаны и с другими обстоятельствами: наличием сочетанных (хламидийно-уреаплазменных, хламидийно-гонококковых, хламидийно-трихомонадных и других) инфекций, передаваемых половым путём, а также возможностью существования латентных или персистентных форм [66,94,103]. Эти формы возникают в результате нарушения жизненного цикла хламидий на

различных фазах. Латентные формы хламидий наблюдаются при ингибировании жизненного цикла на стадии элементарных телец (ЭТ, инфекционные, метаболически неактивные формы), при невозможности вступления в новый цикла развития (внутри клеток-мишеней). Ингибирование перехода внутриклеточных ретикулярных телец (РТ, вегетативные репликативные формы) в элементарные тельца приводит к персистированию атипичных включений с делящимися ретикулярными тельцами хламидий. При этом отмечается изменение (понижение) чувствительности к антибиотикам. Существование персистентных форм затрудняет диагностику урогенитального хламидиоза и требует комплексного подхода к лабораторному обследованию пациентов с учётом давности заболевания и наличия симптоматики [23,96,125].

Оценка чувствительности к антибиотикам облигатных внутриклеточных паразитов - хламидий осуществляется преимущественно в культуре ткани. По всей вероятности, исследования *in vitro* позволяют лишь качественно выявлять наличие у антибиотиков антихламидийной активности, предполагать большую или меньшую клиническую эффективность; результаты клинических испытаний нередко представлены без учёта отдалённых результатов и анализа причин неудач лечения [101].

Лечение хламидиоза в настоящее время, несмотря на применение современных антибиотиков, остаётся недостаточно эффективным. Необходимо как дальнейшее совершенствование стандартов контроля качества оказываемой помощи [51], так и совершенствование системы информации [48]. Элиминация возбудителя хламидиоза происходит в 83,3-98 % случаев [52,83]. Однако значительная часть пациентов остаются носителями скрытой персистирующей хламидийной инфекции, как указание на недостаточно эффективную терапию и остаточную инфекцию.

Поиск эффективных антихламидийных препаратов постоянно продолжается. Наряду с известными лекарственными препаратами

тетрациклинового ряда и фторхинолонов, в последнее время широкое применение находят антибиотики-макролиды [56, 68].

По данным Ю.К.Скрипкина с соавт. [70], М.А. Гомберга и соавт [18], наиболее эффективно при урогенитальном хламидиозе сочетание антибактериальной терапии с иммуномодулирующими препаратами. Учитывая иммунный аспект патогенеза, мы исследовали у больных уровень иммунных нарушений, а также действие нового иммуномодулятора «Суперлимф» на возбудитель *C. trachomatis* в культуре *in vitro* для выбора и проведения эффективной терапии.

Цель исследования:

Оптимизировать лечение больных урогенитальным хламидиозом на основе изучения уровня цитокинов - факторов иммунорегуляции и действия иммуномодулятора «Суперлимф» *in vitro* и *in vivo*

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить эффективность ПЦР и иммунологических методов диагностики различных клинических форм урогенитального хламидиоза.
2. Изучить цитокиновый статус у больных хламидиозом -определить концентрацию супрессирующего фактора TGFβ и провоспалительного цитокина TNFα в сыворотке крови больных до лечения и на фоне проводимой терапии.
3. Исследовать действие иммуномодулятора «Суперлимф» на *C.trachomatis* в культуре *in vitro*.
4. Оценить клиническую эффективность «Зитролида» и «Офлоксина» у больных различными формами урогенитального хламидиоза
5. Разработать показания к применению иммуномодулятора и оценить эффективность препарата «Суперлимф» при урогенитальном хламидиозе.

.

Научная новизна

Установлено, что наибольшей эффективностью при урогенитальном хламидиозе обладает зитролид по сравнению с офлоксином (отмечены преимущества по терапевтической эффективности, комплаентности, меньшему числу противопоказаний к применению).

У больных с хронической формой урогенитального хламидиоза и ранее не лечившихся отмечена высокая продукция супрессирующего фактора – TGFβ, что указывает на достоверное усиление супрессорного потенциала в системе иммунорегуляции. Наряду с этим, у больных выявлено значительное повышение уровня провоспалительного цитокина TNFα , фактора некроза опухоли.

Впервые продемонстрирован опосредованный эффект препарата «Суперлимф» на внутриклеточный патоген в культуре *in vitro*. При добавлении препарата в тест-систему (культура перевиваемых эпителиальных клеток McCoy и эталонный штамм By 434 *C.trachomatis*) регистрируют усиление метаболизма клеток-мишеней и повышение инфективности возбудителя. Данный эффект может способствовать преобразованию латентных форм хламидий в репликативные ретикулярные тельца, создавая условия для проявления оптимального эффекта антибиотиков.

Получены показания к применению препарата «Суперлимф» у больных урогенитальным хламидиозом перед началом проведения антибактериальной терапии.

Практическая значимость

Разработаны схемы лечения с использованием препарата зитролид и иммуномодулятора «Суперлимф» у больных урогенитальным хламидиозом

Показана целесообразность изучения цитокинового статуса у больных урогенитальным хламидиозом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В лечении разных форм урогенитального хламидиоза показано применение «Зитролида».
2. Изменение цитокинового статуса у больных урогенитальным хламидиозом служит основанием для использования иммуно-корригирующих средств.
3. Терапию урогенитального хламидиоза целесообразно начинать с проведения курса лечения препаратом «Суперлимф».

Апробация работы

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на совместных научно-практических конференциях и заседаниях сотрудников кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета ВПО РГМУ Росздрава и КВКД № 1 ДЗ г. Москвы.

Основные положения работы доложены на VIII Междисциплинарном симпозиуме «Новое в дерматовенерологии, андрологии, акушерстве-гинекологии: наука и практика» (Москва, 2003); научно-практической конференции, посвященной памяти профессора И.Я. Шахтмейстера (Москва 2003); на заседании Московского общества дерматовенерологов им. А.И. Поспелова (Москва 2004); юбилейной научно-практической конференции памяти профессора М.М. Желтакова «Хронические дерматозы: новые аспекты патогенеза и терапии. Инфекции, передаваемые половым путем» (Москва, 2004).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в работе кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, КВКД № 1 ДЗ (г. Москва), КВД № 14 ДЗ (г. Москва).

Публикации По теме диссертации опубликовано 4 работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Инфекции урогенитального тракта, обусловленные *C.trachomatis*, остаются актуальной общеклинической проблемой. Последнее десятилетие во всём мире ознаменовалось перераспределением роли основных инфекционных агентов, участвующих в воспалительных процессах органов урогенитального тракта у лиц репродуктивного возраста. Факторы, связанные с риском заражения ИППП, на первый взгляд очевидны: незащищенные половые контакты, большое количество половых партнеров, представляющие так называемое рискованное половое поведение [80, 81]. С другой стороны, тенденция к дальнейшему распространению ИППП обусловлена не только произошедшей сексуальной революцией, но и совершенствованием методов диагностики латентных инфекций, методов наблюдения за пациентами, являющимися носителями условно-патогенных микроорганизмов, и совершенствованием мониторинга лечения [45]. У мужчин урогенитальный хламидиоз может привести к развитию простатитов, эпидидимитов, орхитов, проктитов., у женщин- вульвовагинита, цервицита, уретроцистита [6]. Возможно внутриутробное заражение, при котором у плода отмечается поражение различных органов и систем [7, 13].

1.1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *Chlamydia trachomatis*, ВОЗБУДИТЕЛЯ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

Возбудитель урогенитального хламидиоза *C.trachomatis* относится к роду *Chlamydia*, представителей которого определяют как облигатные внутриклеточные патогены.

Урогенитальный тракт человека поражают серотипы D-K, вызывающие развитие урогенитального хламидиоза, а также штаммы L1-L3, вызывающие венерическую лимфогранулёму. Хламидии характеризуются малым геномом, ограниченной способностью к биосинтезу и бифазным внутриклеточным циклом [23,53,72,85,113].

1.1.1. Основные биологические характеристики C.trachomatis

Хламидии представляют собой мелкие, грамотрицательные бактерии, от 0,2 до 0,8 мкм в диаметре. При относительно малом размере хромосомы (1.000 кВ) гены могут кодировать синтез до 600 белков. Источником роста служат не только питательные вещества, но и АТФ клетки хозяина, т.е. это энергетические паразиты. Трансмиссия инфекции возможна половым путём, а также вертикальным – внутриутробно и от матери ребёнку во время родов [24, 30]. Хламидии обладают уникальным двухфазным циклом развития.

Существуют две функционально и морфологически различные формы клеток: инфекционные метаболически неактивные элементарные тельца, приспособленные к внеклеточному существованию, и ретикулярные тельца, которые находятся внутри клеток и активно делятся. Только после конверсии ретикулярного тельца в элементарное возбудитель способен инфицировать новые клетки. Согласно современным представлениям [53,56,118,126] цикл развития возбудителя включает следующие этапы:

- адгезию элементарных телец хламидий, которые прикрепляются к клеткам цилиндрического эпителия; для внедрения в эпителиальные клетки слизистой оболочки бактерии синтезируют лиганд для клеточных рецепторов (гепарин-сульфат-подобные молекулы), который опосредует инфективность и служит фактором патогенности;

- инвазию, процесс подавления слияния фагосом и лизосом;

-формирование цитоплазматических включений, где происходит первичная дифференцировка элементарных телец в ретикулярные, в результате через 24 ч генерируют ретикулярные тельца;

- рост репликативных форм бактерий и к 48 ч отмечают

- вторичную дифференцировку РТ в ЭТ с последующим клеточным лизисом и выходом ЭТ в микроокружение к 72 ч (часть хламидий остаётся внутри клеток).

Таким образом, вновь образованные ЭТ способны заражать другие клетки-мишени примерно через 72 ч. Циклу развития хламидий способствуют факторы патогенности. К ним относят:

1. белок теплового шока (hsp 60);

2. INC-белки, включенные в мембрану;

3. основной белок наружной мембраны (MOMP).

Исходя из биологических свойств возбудителя и его цикла развития, можно заключить, что речь идёт о внутриклеточных патогенах, способных инфицировать и повреждать репродуктивные органы. В связи с этим возникает вопрос о том, каков возможный исход в системе взаимодействия хозяин- паразит.

Предложены 3 основых пути взаимодействия:

-собственный цикл развития;

-деструкция в фаголизосомах;

-L-подобная трансформация.

Рассматривается предположение о том, что именно L-подобная трансформация возбудителя лежит в основе одного из механизмов развития персистирующей формы хламидиой инфекции [72,82,85,115].

1.1.2. Персистирующая форма C.trachomatis в патогенезе урогенитального хламидиоза

Известны проявления персистенции C.trachomatis, что связано с патогенезом заболевания и ассоциируется с хроническим или бессимптомным течением инфекции.

В культуре *in vitro*, при условии сосуществования с клеткой-мишенью, хламидии способны к длительному приживлению без признаков размножения. У персистирующих бактерий может нарушаться клеточный цикл, например, дифференцировка внутриклеточных РТ в ЭТ с персистенцией атипичных включений. В опытах *in vitro* при использовании клеток L-929 и McCoy были получены экспериментальные модели с низким числом инфицированных клеток. Персистенция хламидий ассоциируется с подавлением синтеза основного белка наружной мембраны (MOMP) и повышением экспрессии белка теплового шока (hsp60) [53,85].

1.2. ИММУННЫЙ АСПЕКТ ПАТОГЕНЕЗА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

а) Урогенитальный тракт как часть иммунной системы организма

В урогенитальном тракте присутствуют и вовлекаются в региональный иммунный ответ следующие факторы иммунной системы:

- фагоцитарные, или антиген-презентирующие клетки: макрофаги, дендритные клетки, а также эпителиальные клетки слизистых оболочек с функцией антиген-презентирующих клеток;
- лимфоциты с фенотипом Т- или В- клеток;
- NK-клетки, или естественные киллеры;
- цитокины (интерлейкины, интерфероны) как продукты синтеза и секреции клеток, участвующих в иммунном ответе [87].

В фаллопиевых трубах обнаружена лимфоидная ткань, окруженная слизистой оболочкой, которая встречается в других системах организма (mucosa-associated tissues, MALT) и считается иммунологически активной. В слизистой оболочке влагалища присутствуют дендритные клетки, в уретре

роль антиген-презентирующих клеток выполняют макрофаги. В свою очередь макрофаги являются источником провоспалительных цитокинов, выявляемых в семенной жидкости: IL-1β, TNFα, IL-6 [87, 109, 111, 113].

Лимфоциты локализуются вблизи клеток эпителия и в регионарных лимфатических узлах (Т-клетки с фенотипом CD4+).Установлено, что в лимфатических узлах присутствует скорее субпопуляция Th1 CD4+ Т-хелперов, участвующих в реакциях клеточного иммунитета, чем Th2 клеток, участвующих в гуморальном иммунитете. CD4+ клетки синтезируют гамма-интерферон (IFNγ). В-клетки, обнаруженные в слизистой оболочке урогенитального тракта, коммитированы на синтез IgA. Соединяясь с секреторным компонентом слизистых оболочек, IgA формирует sIgA, определяемый в моче и семенной жидкости. Данный механизм характерен скорее для органов женской репродуктивной сферы, особенно в области шейки матки и фаллопиевых труб, но в матке продуценты IgA отсутствуют, поэтому IgA а также IgG поступают на слизистую оболочку из крови, в результате на слизистой оболочке матки происходит сборка sIgA .Синтез собственно IgA отсутствует и в уретре мужчин [87].

Таким образом, несмотря на присутствие в урогенитальном тракте целого ряда факторов защиты, данные указывают на их функциональную недостаточность в реализации иммунного ответа, включая активацию иммунокомпетентных клеток, синтез широкого спектра цитокинов, пролиферацию и дифференцировку клеток-эффекторов. Все это может предопределить неблагоприятный исход при взаимодействии с патогенами. Наряду с дисфункцией регионарных факторов защиты, возможны нарушения иммунной системы организма в целом.

б) Иммунологическая недостаточность как одно из звеньев патогенеза урогенитальной инфекции, вызванной C.trachomatis

Исследования показали, что при ответе на облигатные внутриклеточные патогены иммунологическая недостаточность может проявляться

в разных формах. В первую очередь страдает афферентное звено иммунного ответа:

-дефекты системы фагоцитоза (нарушение хемотаксиса макрофагов на фоне снижения продукции хемокинов, неэффективный процессинг и киллинг структур возбудителя), что приводит к неспособности синтезировать цитокины и участвовать в презентации антигена;

- нарушение процесса распознавания антигена CD4 + клетками.

Наряду с этим отмечают поражение эфферентного звена (клетки – эфекторы, синтез антител).

Развитие иммунодефицита было рассмотрено на экспериментальной модели урогенитального хламидиоза. Исследователи [113] исходили из того, что инфекция генитального тракта мышей, вызванная *C.trachomatis* (штамм MoPn), демонстрирует подобие острой инфекции генитального тракта у женщин. При интравагинальном заражении мышей возбудитель поражает как вагинальный эпителий, так и эпителиальную поверхность рогов матки и маточных труб. Инициация ответа на возбудителя проявлялась в форме воспаления: заметная инфильтрация слизистого и подслизистого слоёв полиморфноядерными нейтрофилами. Примерно через 4 недели сформировался иммунитет, который позволил не только перенести инфекцию без использования антимикробных средств, но и защищал от реинфекции: инфильтрация лимфоцитами включала В-клетки, CD4+ и CD8+ Т клетки, при этом в течение всего периода инфекции преобладали CD4+ Т – клетки, анали ученных данных позволил авторам заявить, что выявленная морфологическая картина постинфекционных осложнений в эксперименте характерна и для человека. В результате было отмечено сходство как в патогенезе, так и в характере иммунного ответа на инфекцию, вызванную *C.trachomatis*. Следует заметить, что использованный штамм MoPn хламидий и серовар D (патогенный для человека) по составу генома в значительной мере подобны. Фактически патогенность и вирулентность указанных вариантов *C.trachomatis* также подобны [126]. Таким образом, именно

клеточный иммунитет противостоит хламидийной инфекции, вызванной внутриклеточными патогенами.

О значении клеточного иммунитета при инфекции, вызванной *C.trachomatis,* впервые было заявлено после опытов на бестимусных мышах (nude) с Т-клеточным дефицитом и мышах со сниженным числом CD4+ Т-клеток. Было показано, что перенос поликлональных CD4+клеток от иммунных (после инфекции) мышей в организм неиммунных («наивных») мышей приводит к защите последних от инфекции. Т-клетки с фенотипом CD8+ таким действием не обладали. Даже если CD8+ давали защитный эффект, CD4+ клетки превалировали относительно CD8+ клеток [109, 113].

Привлекает внимание серия опытов на knockout-мышах, у которых отсутствует заданный ген (« нокаут гена») [128]: в результате генетической конструкции появилась возможность исследовать иммунный ответ либо с CD8+ Т-клеточным дефицитом, либо В-клеточным. Исследования продемонстрировали защиту от реинфекции при дефиците CD8+, но чувствительность к реинфекции и замедленный клиренс хламидий при В-клеточном дефиците; это указывает на определенную, но не решающую роль В-клеток в резистентности к реинфекции.

Зависимость от иммунного ответа при хламидийной инфекции была показана и в опытах на мышах с дефицитом цитокинов или цитокиновых рецепторов. При дефиците интерлейкина-12 (IL-12) или интерферона-гамма (γIFN), а также при дефекте в IFN- или в IFN-рецепторе была описана неспособность организма противостоять первичной инфекции. Введение γIFN бестимусным мышам с генотипом nu|nu избавляли их от хронической хламидийной инфекции. Существенное значение в реализации эффекта γIFN имеют рецепторы. У мышей, дефектных по рецептору к γIFN , при интравагинальном заражении *C.trachomatis,* серовар D, наблюдали более тяжелое течение инфекции по сравнению с процессом у мышей дикого типа; и хотя имела место продукция интерферона, реализация его активности отсутствовала [111,113].

Дефицит фактора некроза опухоли (TNFα) или TNF-рецептора, а также недостаточность IL-6 приводили к минимальному или неопределяемому эффекту на способность разрешения от первичной инфекции или резистентность к вторичной инфекции [12].

Нарушение иммунного ответа на реинфекцию моделировали и при введении подопытным животным анти-CD4+ моноклональных антител [113]. В целом, оценка активности CD4+ клеток и В-клеток продемонстрировала значение этих факторов в приобретенном иммунитете к хламидийной инфекции генитального тракта [43,56].

Вызывает интерес вопрос о соотношении Th1/Th2 при хламидиозе: какая субпопуляция Th1 CD4+ или Th2 CD4+ преобладает при ответе на эту инфекцию? Известно, что Th1 продуцируют IL-2, IFNγ, их дифференцировка стимулируется производными от макрофагов IL-12 и IFNγ, а подавляется IL-4 . В свою очередь Th2 продуцируют IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, их дифференцировка стимулируется IL-4 и подавляется IFNγ.

Было установлено, что штаммы, патогенные для человека, более чувствительны к ингибирующему эффекту IFN *in vitro* и *in vivo*, а предпочтительным является IFN-Th1-ответ. Роль CD4+Th2 клеток проявляется в индукции В-клеток в направлении синтеза антител к основному антигену наружной мембраны хламидий (MOMP) такие антитела блокируют прикрепление и соответственно инфицированность хламидиями клеток эпителия. Роль нейтрализующих антител проявляется в снижении резистентности к реинфекции у мышей с дефицитом антител, а также в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) [15]. Однако эффект Th1CD4+ более выражен, что может играть решающую роль в защите от инфекции, вызванной *C.trachomatis*.

Представляют интерес данные, полученные о NK-клетках, которые, как изестно, вовлекаются в ответ на внутриклеточные патогены. При контакте с клеткой-мишенью (без предварительной сенсибилизации) они способны

дегранулироваться с реализацией таких белков как гранзимы (поражают через апоптоз) и перфорины (через поры); более того, при NK- активации происходит продукция γIFN. Установлено, что стимулом для продукции NK-цитокинов служат цитокины, производные от макрофагов, IL-12 и TNF. Связываясь на специфических рецепторах NK-клеток, цитокины их активируют и индуцируют продукцию γIFN [25,86].

Анализ аспектов патогенеза урогенитального хламидиоза позволяет отметить ряд ключевых вопросов, имеющих значение для диагностики, терапии и контроля за проводимым лечением:

-детальная идентификация возбудителя с учетом биологического цикла и способности к персистенции;

-выбор медикаментозных средств и других методов лечения эффективных при инфекции внутриклеточными патогенами;

-иммунологический контроль за проводимым лечением.

в) Клиническое значение оценки иммунного статуса

Уникальный цикл развития хламидий, появление в ряде случаев устойчивых к терапии персистирующих форм предопределили интерес к иммунологическим исследованиям. При оценке иммунного статуса больных выявлено умеренное увеличение В-лимфоцитов, которое сопровождается невысокими значениями уровня IgM при активации синтеза IgA и IgG. В Т-клеточном звене у больных отмечается снижение абсолютного количества Т-клеток, Т-хелперов и Т-супрессоров [12,20,43].

При исследовании естественных, или врожденных, факторов защиты организма (ранее называемых «неспецифическими») была выявлена тенденция к снижению количества фагоцитарных клеток – нейтрофилов, при этом наблюдалась удовлетворительная способность клеток поглощать чужеродные агенты, но их бактерицидная активность оказалась резко сниженной. Выявлено также резкое снижение активности комплемента, причем после лечения наблюдалась устойчивая тенденция к ее

нормализации. Были опубликованы данные о нарушениях местного иммунитета репродуктивного тракта мужчин при воспалительных заболеваниях половой системы [26].

Известно, что у больных хламидиозом при асимптомном, стертом течении выраженных иммунологических изменений в периферической крови не наблюдается. При обследовании больных с моно- и микстинфекцией в 43 % случаев выявлено достоверное снижение Т-хелперов, увеличение NK-клеток при нормальных показателях IgA, IgM, IgG. Титр сывороточного интерферона в крови оказался выше нормы в 6 раз. Полученные данные свидетельствуют об иммунном ответе Т-клеточного звена и активизации системы интерферонов, что дало основание [11] ввести в комплексную терапию осложненных форм хламидиоза циклофероном.

В настоящее время обсуждается диагностическая значимость специфических антител при различных формах урогенитального хламидиоза. Проводили определение специфических антител к основному белку наружной мембраны (Major Outer Membrane Protein-MOMP) *C.trachomatis* в сыворотках крови больных методом твёрдофазного иммуноферментного анализа в тест-системах “Medac” (Германия). Положительным результатом считали титры антител к MOMP *C.trachomatis*: класса Ig A=1:50; Ig G=1:50.У33% больных с острой формой урогенитального хламидиоза до лечения, а также в течение всего периода наблюдения после проведения курса противохламидийной терапии специфические антитела к MOMP C. trachomatis не обнаружены. В то же время у 67 % пациенток до начала лечения были выявлены Ig A к MOMP C.trachomatis в титре 1:100 ,и Ig G к *C.trachomatis* в титре 1:200, причем через 3 месяца после окончания лечения Ig A-антитела не определялись, а титры Ig G к MOMP *C.trachomatis* постепенно снижались и через 6 месяцев не определялись. При хроническом течении урогенитального хламидиоза у 69 % пациенток до начала курса специфической терапии определялись Ig G-антитела к MOMP C.trachomatis в титре 1:100, который снижался до уровня 1: 50, а через 6 месяцев Ig G-

антитела не определялись. При этом специфические Ig G –антитела не обнаруживались как до начала терапии, так и на протяжении всего периода наблюдения. В то же время у 31 % женщин с хронической формой до начала лечения выявлялись Ig A- антитела к MOMP C.trachomatis в титре 1:50, при этом уровень специфических Ig G-антител варьировал в пределах 1:100 – 1: 200. После окончания терапии Ig A- антитела не определялись в течение всего периода наблюдения. Титры Ig G к MOMP постепенно снижались до 1: 50 (через 3 месяца) и сохранялись на том же уровне через 6 месяцев [2].

1.3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ УГХ

ЭТ и РТ образуют внутри клетки цилиндрического эпителия характерные колонии хламидий - цитоплазматические включения различной формы, располагающиеся на ранних этапах инфекционного процесса преимущественно около ядра клетки и достигающие размера 10 мкм, т.е. хорошо различимые в микроскопе. В зрелом включении все ретикулярные тельца постепенно замещаются элементарными, происходит разрыв клетки-хозяина, сопровождающийся повреждением мембраны клетки и выходом ЭТ. Эти данные детельно изложены в монографии Ильина И.И. [29].

В последующем Ильин И.И. и Делекторский В.В. представили результаты электронно-микроскопического исследования структуры *C.trachomatis* и изучения характера взаимоотношений возбудителя с культурой клеток McCoy (Маккой) и клетками очагов поражения больных с урогенитальным хламидиозом, что позволило выявить ряд новых фактов, расширяющих представление о патогенезе УГХ [30]. В цитоплазме клеток McCoy, обработанных циклогексимидом (2 мкг/мл), образуются мембраноограниченные зоны с большим или меньшим количеством инициальных форм. Вакуоль оттесняет ядро пораженной клетки и может занимать большую часть её цитоплазмы.

На ультратонких срезах РТ представляют собой кокки с центрально расположенным нуклеотидом и цитоплазмой, содержащей большое количество рибосом и ограниченной по периферии двухконтурной цитоплазматической мембраной. Толщина цитоплазматической мембраны не превышает 8 нм. Клеточная стенка гладкая, с характерным для грамотрицательных бактерий мембранным компонентом. Наружный и внутренний электронноплотные слои клеточной стенки разделены слоем умеренной электронной плотности. Толщина каждого из этих слоёв около 3 нм. Размер ретикулярных телец (РТ) *C.trachomatis* при культивировании на клетках McCoy колеблется от 0,5 до 0,7 мкм. Перед делением клетки приобретают слегка овоидную форму, в них четко выделяются две зоны нуклеотидов.

ЭТ имеют меньший размер (поперечник около 0,2 мкм). Цитоплазма их более компактна и оттеснена к периферии электронно-плотным нуклеоидом. Чаще эти формы можно наблюдать при выходе возбудителя из поврежденных клеток McCoy.

Получены доказательства поражения при УГХ не только цилиндрического эпителия, но и многослойного плоского [30].

Фолликулы, образующиеся при воздействии *C.trachomatis*, являются истинными лимфоидными фолликулами, имеющими зародышевые центры. Гистопатологическая картина острого эндометрита характеризуется выраженной диффузией воспалительного инфильтрата плазматическими клетками. Лимфоциты обнаруживаются в строме эндометрия во всех биопсийных образцах. Лимфоидные фолликулы с трансформированными лимфоцитами выявляются у большинства больных. Величина лимфоидных фолликулов колеблется. Клетки, образующие эти фолликулы, преимущественно лимфоидного ряда (трансформированные лимфоциты с обильным пиронином в цитоплазме). Нечасто встречаются звездчатые фагоциты. По периферии лимфоидных фолликулов обычно выявляется плотная инфильтрация плазматическими клетками. Гистологическая картина,

свидетельствующая об эндометрите, часто наблюдается при исследовании соскобов со слизистых оболочек при абортах и родах. Гистопатологические обследования больных бесплодием показали, что присутствие плазматических клеток внутри эндометрия принимается за гистопатологическое определение эндометрита, в то время как присутствие полиформно-ядерных лейкоцитов и лимфоцитов можно наблюдать и при нормальном менструальном цикле. *C.trachomatis*, за исключением штаммов, вызывающих венерическую лимфогранулёму, являются патогенными агентами эпителия слизистых оболочек. Особенно чувствителен к ним цилиндрический эпителий [30].

1.4. КЛИНИКА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

С момента заражения до развития клинической картины проходит от 1 недели до нескольких месяцев (обычно 1-3 недели) [79]. По данным И.И.Ильина [30], средняя продолжительность инкубационного периода составила 20,6 ±10,5 дня. Продромальные явления в виде незначительных парестезий наблюдаются очень редко [28].

Субъективные расстройства, мало беспокоящие больных, возникают лишь с появлением отделяемого [14, 67].

Отличительным признаком хламидийной инфекции является преимущественно бессимптомное, реже малосимптомное течение [13, 62].

В отечественной практике принято рассматривать свежую до 2 месяцев) и хроническую (течением более 2 месяцев) инфекцию. В свою очередь свежая подразделяется на острую (практически не диагностируется), подострую, торпидную. Симптомы обусловлены главным образом уретритом у мужчин и цервицитом у женщин.

При сборе анамнеза и осмотре мужчин могут быть отмечены скудные выделения из мочеиспускательного канала, в редких случаях- болевые

ощущения при мочеиспускании, иногда дискомфорт, жжение, зуд в мочеиспускательном канале.

У женщин отмечаются выделения из влагалища, болевые ощущения при мочеиспускании, кровянистые выделения из влагалища в середине овариального цикла или после полового акта, боль в низу живота [36,45].

По мере развития патологического процесса симптоматика обусловлена осложнениями заболевания. [11,30,100]. Так, Berger R.E. [91] отметил значимую роль хламидий в развитии эпидидимитов у молодых мужчин. К другим, часто встречающимся осложнениям УГХ у мужчин, относят орхоэпидидимиты, геморрагический цистит и стриктуры уретры. В развитии простатитов наиболее значимую роль играет смешанная инфекция [3,29,61].

Хламидийная инфекция у женщин не только вызывает тяжело протекающую патологию нижнего отдела мочеполового тракта, но нередко сопровождается развитием восходящей и диссеминированной инфекции, возникновением тазовых воспалительных заболеваний, развитием бесплодия, инфицированием новорожденных и половых партнеров. Наиболее часто инфицируется шейка матки, откуда процесс распространяется в уретру, матку, маточные трубы, внутренние органы [30,36,45].

Хламидии не только вызывают гипертрофию слизистой оболочки шейки матки, но могут обусловить развитие фолликулярного эндоцервицита и даже некротизированной гранулёмы шейки матки, гиперплазия эпителия, вызываемая хламидиями, может приводить к развитию опухолей шейки матки [30,34].

Частым осложнением хламидийной урогенитальной инфекции является эндометрит. Его принято рассматривать, как промежуточную стадию восходящей инфекции (острый эндометрит, сопровождающийся образованием лимфоидных фолликулов, значительно чаще наблюдается при хламидийном эндометрите, чем при нехламидийном [30,36].

В последние годы отмечено частое выявление хламидий у беременных и рожениц. Хламидии могут передаваться от матери ребёнку при родах. Риск смерти новорожденных или мертворождений после 20 недель беременности значительно увеличивается в группе инфицированных хламидиями женщин. С другой стороны, хорошо изучена разнообразная органная патология у детей, рожденных от инфицированных матерей [30,36].

Висцеральные поражения могут сопровождаться неврологическими симптомами [74]. При распространении из уретры и шейки матки хламидийная инфекция может способствовать развитию тяжелых осложнений в органах малого таза после абортов и других оперативных вмешательств [30,36]

Персистенция хламидий может быть вызвана развитием дивертикулов [24]. Наиболее частой причиной приобретенных дивертикулов является сочетание травм уретры (с нарушением её целостности) и воспалительных изменений. При крупных дивертикулах у больных выявляется симптом «остаточной мочи», которая в них застаивается и после акта мочеиспускания может выделяться каплями. Дивертикулы меньших размеров субъективными ощущениями не сопровождаются и обнаруживаются лишь при уретросклопии. Урогенитальные инфекции (в том числе, хламидиоз) могут вызвать их воспаление- дивертикулит и приводить впоследствии к фокальной инфекции. При этом даже длительная терапия антибиотиками и иммуномодуляторами не приводит к элиминации хламидий. Местное лечение дивертикула и воспалительных явлений необходимо для полного клинического и микробиологического излечения.

В настоящее время доказана возможность экстрагенитального развития хламидийной инфекции. У взрослых это обусловлено орогенитальными либо аногенитальными половыми контактами.

Одним из наиболее тяжелых проявлений хламидийной инфекции является уретро-окулосиновиальный синдром Рейтера [85,120,133]. Классическая клиническая картина синдрома Рейтера складывается из

уретрита, артрита и конъюнктивита. Нередко наблюдаются поражения кожи, слизистых оболочек половых органов и полости рта, иногда – сердечно-сосудистой системы и других органов. Однако, при первой атаке, в дебюте заболевания не всегда отмечаются все три симптома триады одновременно: примерно у 49 % больных отдельные признаки появляются через 1-3 месяца после начала заболевания и позднее [29]. Первым возникает очаг инфекции в мочеполовых органах, остальные симптомы появляются спустя более или менее продолжительный период времени или при повторных атаках (рецидивах) суставного синдрома. Однако, уретрит и простатит при болезни Рейтера могут протекать с минимальными симптомами, не вызывая никаких субъективных расстройств, поэтому некоторые больные либо вообще не замечают эти поражения, либо не придают им значения, не связывают с развившимся поражением суставов. Неодновременное возникновение (или выявление врачом) симптомов типичной триады служит причиной разногласий в описании последовательности поражения отдельных органов при болезни Рейтера. В связи с этим не имеет практического значения разделение на классическую триаду и «неполную форму» (уретрит и артрит, уретрит и поражение глаз и т.д.) [29,120,133].

Нарушения гомеостаза при болезни Рейтера происходят в виде значительного увеличения содержания в крови пациентов молекул средней массы, продуктов пероксидации, ЦИК и иммуноглобулинов A,M,G. Синдром эндогенной интоксикации у пациентов с болезнью Рейтера может протекать латентно и он выявляется лишь с помощь лабораторных методов. Обычно клинические проявления активного воспаления в организме, поражений суставов деструктивном характера, вовлечения в патологический процесс периартикулярных структур и признаки эндогенной интоксикации манифестируют в виде комплекса неспецифических симптомов [5].

Наиболее частыми причинами инвалидизации служат деформирующие поражения суставов кистей и стоп. При затяжном и хроническом течении возможен летальный исход [29].

1.5. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

В последние годы быстро развивается лабораторная диагностика хламидиоза. Идеальный диагностический тест должен иметь чувствительность > 90 % и специфичность выше 99 %.[27].

Классическим «золотым стандартом» принято считать культуральный метод. Чувствительность этого метода при использовании материала из шейки матки и уретры варьирует в пределах 40-85 %. Метод в особой мере информативен при персистирующей хламидийной инфекции, поскольку позволяет оценить жизнеспособность возбудителя. В настоящее время используют перевиваемую культуру клеток McCoy и с помощью моноклональных антихламидийных антител в прямой иммунофлуоресценции идентифицируют *C.trachomatis*. К недостаткам метода принято относить то, что он требует наличия опытного персонала, подходит лишь для небольшого количества образцов, полученных инвазивным способом (из шейки матки и уретры) [27].

Морфологические методы требуют достаточного количества эпителиальных клеток в исследуемом материале, чтобы путём окрашивания обнаружить структуры возбудителя. Методы выявляют включения хламидий при окраске по Романовскому-Гимза или раствором Люголя. Однако полагают, что чувствительность методов невысокая, а при окраске раствором Люголя (коричневые гранулярные массы) включения должны содержать гликоген [45].

Применение метода иммунофлюоресценции позволяет обнаружить свечение на участке мембраны эпителиальной клетки больного, что указывает на адгезию хламидий и начало патологического процесса. Для прямой иммунофлюоресценции применяют моноклональные антитела против основного белка наружной мембраны (MOMP) *C.trachomatis* или

липополисахарида (ЛПС). Идентифицируя структуры возбудителя, метод не позволяет судить о его жизнеспособности. Диагностическое значение имеет не только учёт ЭТ, но и РТ. При анализе используют мазки, отпечатки и соскобы, содержащие клинический материал. Метод прямой и непрямой ИФ успешно используется для дифференциальной диагностики хламидиоза и для индикации специфического антигена в соскобном материале уретры и цервикса [13,23,34]. Иммуноферментный анализ предназначен как для выявления антигенов возбудителя, так и специфических антител. Чувствительность колеблется в пределах 20-85%. К преимуществам метода относят возможность тестирования большого количества образцов, высокую скорость, автоматизацию, низкую стоимость. К недостаткам относят то, что высокая специфичность отмечается только при подтверждении положительных результатов; метод может применяться только для материала, полученного инвазивным способом (из шейки матки, из уретры) [27]. Чувствительность метода РНК-ДНК-гибридизации составляет 70-85% . К преимуществам относят возможность тестирования большого количества образцов, высокую скорость, автоматизацию, возможность одновременной диагностики сопутствующей гонококковой инфекции. К недостаткам относят то, что метод применяется только для образцов материала, полученных инвазивными методами (из шейки матки, из уретры) [27].

Использование молекулярных зондов и техники амплификации ДНК значительно повысило чувствительность методов выявления УГХ. Примечательно, что в этих методах можно использовать пробы, полученные при неинвазивных процедурах, например, мочу обследованного [92]. Наиболее часто применяют ПЦР, ЛЦР, транскрипционную амплификацию [96].

В основе ПЦР лежит запуск репликации ДНК на ограниченном участке при использовании следующих компонентов: специально подобранных праймеров, свободных нуклеотидов, фермента полимеразы. Повторяющиеся циклы, направляемого олигонуклеотидами синтеза ДНК приводят к

появлению копий ДНК-мишени, которые можно обнаружить либо с помощью электрофореза в геле, либо методом гибридизации со специфичным зондом с последующим выявлением гибридов с помощью ИФА. Реакцию осуществляют в разных температурных режимах: нагревание (денатурация ДНК) и охлаждение или отжиг (ренатурация с восстановлением двунитевой ДНК) [101,117,130].

Последнее десятилетие применяется ПЦР-диагностикум AMPLICOLOR (Roche Molecular Systems), в котором в качестве специфической ДНК-мишени используется нуклеотидная последовательность эндогенной плазмиды длиной 207 пар оснований. Каждое ЭТ *C.trachomatis* содержит 10 копий плазмиды. Этот вариант ПЦР показал еще более высокую степень чувствительности и специфичности при клинических исследованиях эндоцервикальных проб у женщин и уретральных проб у мужчин. Неоднократно была продемонстрирована высокая степень чувствительности и специфичности этих тестов [79,84,103]. Показателен аналогичный тест с синовиальной жидкостью [89,95].

Неоднократно были предприняты попытки оценить преимущества и недостатки известных методов идентификации хламидий. Ряд авторов полагает, что результаты ПЦР не всегда информативны в тех случаях, когда образование новых ЭТ не происходит, что может быть связано с гибелью РТ, либо с трансформацией внутриклеточных форм хламидий в персистентные L-формы. Для образования новых ЭТ необходима ретрансформация персистентных L-форм в функционально активные РТ. Согласно методическим рекомендациям ЦНИКВИ, для подтверждения диагноза урогенитального хламидиоза необходимо проведение двух методов, один из которых - «золотой стандарт» (культуральный метод).

1.5.1. Иммунодиагностика больных урогенитальным хламидиозом

Различные клинические формы УГХ предполагают разную степень выраженности иммунных нарушений. Выявление иммунодефицита при УГХ указывает на характер взаимодействия в системе хозяин-паразит и способствует более детальной диагностике заболевания. Это предполагает целесообразность иммунного подхода к терапии и контролю за проводимым лечением.

При оценке иммунного статуса больных УГХ был обнаружен целый ряд нарушений, как на уровне Т-клеточного звена иммунной системы, так и В-клеточного звена (особенности иммунных нарушений при разных клинических формах хламидиоза представлены в разделе 1.1.3.)

Так, у больных хламидиозом было выявлено снижение числа клеток с фенотипом CD72 (экспрессия на В-лимфоцитах, но не на плазмацитах); CD21 (на зрелых В- клетках и дендритных клетках), CD16 (экспрессия на NK-клетках, нейтрофилах, макрофагах) . а также HLA DR-клеток [73,105].

При урогенитальном хламидиозе отмечено увеличение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), снижение индекса CD4/CD8, нарушение синтеза Ig (дисгаммаглобулинемия) [43]. При осложненной форме заболевания также выявлена иммунологическая недостаточность на уровне субпопуляций Т- и В- клеток (CD4+ и CD19+), а также при обследовании 36 больных с помощью иммуногенетического анализа авторы установили, что при УГХ наиболее часто выявляются антигены HLA-A2, B27, B40 [65].

Одно из центральных мест среди критериев иммунодиагностики при УГХ занимает оценка цитокинового профиля [25,86].

Цитокины – это класс растворимых пептидных медиаторов иммунной системы, факторы межклеточной кооперации. Выделяют следующие группы цитокинов: 1) интерлейкины, 2) интефероны, 3) факторы некроза опухоли, 4) колониестимулирующие факторы, 5) хемокины, 6) факторы роста [37,87].

Среди этих факторов отметим роль в иммунодиагностике таких цитокинов как трансформирующий фактор роста TGFβ и фактор некроза опухоли TNFα.

Трансформирующий фактор роста (ТФРβ). Способность к его продукции обнаружена у Т-клеток, В-клеток, моноцитов. Это супрессирующий фактор, который подавляет активацию макрофагов и созревание цитотоксических клеток, однако в слизистых оболочках может способствовать переключению синтеза иммуноглобулинов на IgA-изотип.

Фактор некроза опухоли (ФНОα) синтезируется преимущественно активированными мононуклеарными фагоцитами. Это провоспалительный цитокин.

При обследовании больных УГХ до лечения обнаружены высокие уровни IL-8 и TNFα в сыворотке крови, а также определялся сниженный показатель концентрации IL-1α и IL-1β в крови и сперме [26].

При определении содержания провоспалительных цитокинов в периферической крови и цервикальном секрете у больных УГХ женщин было установлено, что при обострении заболевания повышаются уровни IL-1β и TNFα. Это дало основание говорить о роли этих цитокинов в генезе УГХ [25]. С другой стороны, резкое снижение продукции IL-1, фактора активации макрофагов, наблюдали у неизлеченных больных с процессом хронизации хламидийной инфекции.

Таким образом, при урогенитальном хламидиозе у больных может развиваться иммунологическая недостаточность, причем преимущественно нарушения иммунных механизмов касаются Th1CD4+ клеток, продуцентов цитокинов, участвующих в клеточном иммунитете, а также непосредственно показателей оценки цитокинового статуса. Эти данные послужили основанием для использования иммунокорригирующих средств при лечении УГХ наряду с традиционной терапией антибиотиками.

1.6. ЛЕЧЕНИЕ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

Основными группами антибиотиков, обладающих активностью в отношении *C.trachomatis* являются тетрациклины, макролиды, фторхинолоны, β-лактамы [4,55,59,70,77,78,136]. Оценка антибиотикочувствительности хламидий - облигатных внутриклеточных паразитов осуществляетс в основном в культуре ткани [31]. Вместе с тем сведения о корреляции между исследованиями чувствительности хламидий в культуре ткани и эффективностью терапии отсутствуют. В последние годы для оценки активности антибиотиков используют детекцию в монослое инфицированных клеток хламидийной р-РНК методом амплификации с обратной транскриптазой [92]. Для большинства антибиотиков МПК (минимальная подавляющая концентрация), определяемая этим методом, оказывается выше, чем полученная при использовании классического культурального метода.

По всей вероятности, исследования *in vitro* позволяют лишь качественно выявлять наличие необходимой антихламидийной активности антибиотиков и предполагать их большую или меньшую клиническую эффективность [23].

Определенный интерес представляет сравнение клинической эффективности переносимости антибиотиков, наиболее часто применяемых в лечении урогенитального хламидиоза - фторхинолонов и макролидов. Представлены доказательства клинической эффективности левофлоксацина.

Одним из наиболее широко применяемых фторхинолонов является офлоксин. Антибиотик обладает высокой биодоступностью [134]. В многочисленных исследованиях показана активность препарата *in vitro* Представлены доказательства клинической эффективности препарата при различных формах урогенитального хламидиоза Офлоксин практически не оказывал влияния на нормальную микрофлору. С другой стороны, в последние годы высокая способность к развитию резистентности к

фторхинолонам стала вызывать серьёзную озабоченость исследователей [41,102].

Макролиды представляют собой антибиотики, получившие свое название из-за наличия макроциклического лактонного ядра. В лечении хламидиоза используется эритромицин, рокситромицин, кларитромицин и др. [104]. Антимикробный эффект обусловлен нарушением синтеза белка в рибосомах микробной клетки. Как правило, макролиды оказывают бактериостатическое действие, но в высоких концентрациях способны вызывать и бактерицидный эффект. Кроме антибактериального действия макролиды обладают умеренной иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью. Так, установлено, что кларитромицин повышает фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов и усиливает миграцию их в очаг воспаления, где концентрация препарата увеличивается в десятки (30-40) раз, кроме того, он повышает активность Т-киллеров [23].

В отечественной практике предпочтение отдается азитромицину, обладающему более высокой антихламидийной активностью, способностью накапливаться в клетках и длительно в них персистировать [9].

Лекарственная устойчивость к антибиотикам, атипичные биологические свойства возбудителей инфекций, передаваемых половым путём, послужили основанием к разработке методов лечения с использованием иммунокорригирующих средств.

Один из таких препаратов, получивший название Полиоксидоний, был впервые исследован группой авторов [63]. Полиоксидоний является сополимером N-окси-1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиэтил)- 1,4 этиленпиперазиний бромида с молекулярной массой 100 кд. Этот препарат относится к классу водорастворимых производных гетероцепных алифатических полиаминов. Полиоксидоний обладает иммуностимулирующим, детоксицирующим, антиоксидантным, мембранопротекторным эффектом. Иммуностимулирующий эффект связан со способностью полиоксидония активировать клетки моноцитарно-

макрофагальной системы. Следствием активации клеток этой системы является повышение функциональной активности практически всех звеньев защиты организма от инфекции:

-факторов естественной резистентности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, NK-клеток;

-факторов приобретенного иммунитета: гуморального и клеточного.

Активация клеток моноцитарно-макрофагальной системы ведет к повышению миграции нейтрофилов в воспалительный очаг, усилению активности лизосомальных ферментов, повышению способности фагоцитов поглощать и убивать микробы [63].

Практически сразу после введения полиоксидония происходит резкое усиление антиинфекционной резистентности организма. В условиях *in vivo* полиоксидоний обладает сложным и многогранным эффектом на иммунную систему. Так как развитие иммунного ответа начинается с клеток моноцитарно- макрофагальной системы, усиления бактерицидной активности этих клеток, и так как цитокины, продуцируемые моноцитами/макрофагами, обладают плейотропным эффектом, то усиление под влиянием полиоксидония их функциональной активности ведет к активизации и клеточного, и гуморального иммунитета (полиоксидоний усиливает образование антител как к тимусзависимым, так и тимуснезависимым антигенам). При совместном введении с этими антигенами полиоксидоний усиливает антителообразование в десятки раз [63].

Параллельно с этим происходит и активация клеточного иммунитета. Повышается способность естественных киллеров и антиген - неспецифических Т-киллеров убивать клетки, зараженные внутриклеточными возбудителями, в том числе хламидиями.

Детоксицирующее действие связано с особенностями химической структуры полиоксидония. Являясь высокомолекулярным веществом, он содержит на своей поверхности большое количество активных группировок.

В силу этого полиоксидоний обладает способностью сорбировать на своей поверхности различные токсические вещества, в том числе микробной природы, и тем самым усиливать их элиминацию из организма [63].

Полиоксидоний обладает антиоксидантными и мембранопротекторными свойствами. Также как и детоксицирующие, эти свойства тесно связаны с особенностями химической структуры полиоксидония. Первое свойство проявляется в способности полиоксидония удалять из организма кислородные радикалы, что существенно понижает их повреждающее действие на органы и ткани и снижает остроту воспалительного процесса. Второе свойство- способность протектировать мембраны клеток, существенно снижать чувствительность клеток к повреждающему действию некоторых химиотерапевтических лекарственных средств, в частности, иммунодепрессантов.

Действие полиоксидония на иммунитет является иммуномодулирующим, т.е. зависящим от исходной функциональной активности иммунной системы и от дозы препарата, применяемой с лечебной целью. Полиоксидоний оказывает корригирующее влияние только на исходно измененные параметры иммунитета и не влияет на показатели, находящиеся в пределах средних значений.

При хламидиозе препарат применяется по 6 мг в сутки внутримышечно через 1-2 дня № 7-10.В зависимости от тяжести патологического процесса первая доза полиоксидония может быть увеличена до 12 мг, а число инъекций до 15 на курс. Применение препарата позволяет сократить сроки лечения и значительно снизить дозу потребляемых антибиотиков [63].

Показан эффект препарата при назначении перед терапией антибиотиками [105]. С помощью прямого эндолимфатического введения и лимфотропного введения Поляченко А.П.,Гончарук А.И., Павленко А.В., [64] проводили терапию хламидийного простатита полиоксидонием. Всем пациентам препарат вводили по стандартной схеме с интервалом через день по 6,0 мг, на курс 5-6 инъекций. Отмечено, что все пациенты после

окончания лечения субъективно чувствовали значительное улучшение, у большинства больных жалобы отсутствовали.

Хламидии элиминировались после первого курса в 96 % случаев. Более чем у половины больных определялась нормальная картина секрета предстательной железы. Авторы пришли к заключению о перспективности применения полиоксидония при лечении хронического простатита хламидийной этиологии. В то же время отмечено, что процедура паралимфатического введения препарата часто сопровождается воспалительным процессом в области инъекции.

Показан положительный терапевтический эффект циклоферона. Препарат является синтетическим индуктором интерферона. При введении циклоферона наблюдается сбалансированный синтез собственного интерферона, который, благодаря механизмам саморегуляции, защищает организм человека от недостатка и от излишков интерферона. Циклоферон осуществляет коррекцию иммунной системы и эффективен при лечении многих вирусных заболеваний. В процессе 3-4-недельного лечения антибиотиками (макропен, ципробид) внутримышечно вводили циклоферон в виде 12,5 % раствора по 4 мл на 1-й, 2-0й, 4-й, 6-й, 11-й, 14-й,17-й, 20-й и на 23-й день лечения. У 90,7 % больных отмечено полное клиническое выздоровление [75].

В последнее время при лечении заболеваний урогенитального тракта стали использовать «Суперлимф». Препарат действует путём физиологической регуляции патологических процессов в организме. Он представляет собой комплекс цитокинов, среди которых определена активность IL-1, IL-2, IL-6, TNFα (фактора некроза опухоли), МИФ (фактора, ингибирующего миграцию фагоцитов), TGFβ, трансформирующего фактора роста. Такой состав позволяет расширить область применения и приблизить действие препарата к физиологическому. Отметим, что регулирующее действие цитокинов на клетки-мишени определяется их композицией.

Основной механизм действия препарата связан с активацией клеток фагоцитарного ряда, фибробластов и усилением межклеточного взаимодействия. Препарат стимулирует фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов, выработку ими активных форм кислорода и азота, продукцию клетками собственных цитокинов [38,39].

Можно предположить, что воздействие препарата «Суперлимф» на внутриклеточные патогены может осуществляться через активацию клеток-эффекторов, таких как макрофаги и естественные киллеры. Однако, при урогенитальном хламидиозе, в частности, при его персистирующей форме, препарат ранее не использовали ни *in vivo*, ни *in vitro*.

Таким образом, вопрос о действии препарата «Суперлимф» не только в направлении активации иммунных факторов, но и ретрансформации скрытых, метаболически неактивных форм возбудителя в активные при персистирующей форме УГХ остаётся открытым.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2001 по 2004 г. под нашим наблюдением находилось 127 больных УГХ в возрасте от 13 до 48 лет, в том числе 67 женщин и 60 мужчин. Во всех случаях диагноз был подтвержден двумя методами -ПЦР и культуральным. Давность заболевания составляла от 6 недель до 8 лет. 48 пациентов ранее получали лечение по поводу урогенитального хламидиоза (антибиотики тетрациклинового ряда, эритромицин), в результате чего отмечалась кратковременная ремиссия. 72 пациента ранее какого-либо лечения не получали. Среди больных неосложненным уретритом было 6 человек в возрасте от 13 до 20 лет,16- от 21 до 30 лет, 10-от 31 до 40, 6- от 41 до 50. Больных осложненным уретритом в возрасте от 13 до 20 лет было 2, от 21 до 30 лет-12,от 31 до 40-9, от 41 до 50- 2 человека.

Женщин с неосложненным цервицитом в возрасте от 13 до 20 лет обследовано 7, от 21 до 30 лет -11, от 31 до 40 лет- 9, от 41 до 50- 5 больных.

Среди пациенток с осложненным эндоцервицитом в возрасте от 13 до 20 лет было 5, от 21 до 30 лет- 18, от 31 до 40 лет- 10, от 41 до 50 лет -2 больных.

2.1 Иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA)

Принцип метода. Был использован твердофазный ИФА с помощью микропланшет, покрытых антителами к исследуемому антигену (структуре) цитокина, например, к TGFβ. В лунки микропланшет последовательно добавляют стандарты, контроли и определяемые образцы, а затем вторые, биотинилированные антитела. При первой инкубации антиген связывается с иммобилизированными в лунках антителами- одним из сайтов связывания, а с биотин-антителами- вторым сайтом связывания. После удаления избытка вторых антител в лунки добавляют стрептавидин-пероксидазу, которая связывается с биотин-антителами с формированием сэндвич-комплекса из 4

реагентов. После второй инкубации и промывания удаляют несвязанный фермент. Далее добавляют субстрат фермента, содержащий хромоген. Фермент и субстратный раствор реагируют с образованием цветного комплекса. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации цитокина, присутствующего в опытном образце сыворотки.

Этапы выполнения (набор ЗАО «БиохимМак):

1.В лунки микропланшет вносят 200 мкл стандартов, контролей или опытных образцов.

2.Добавляют 50 мкл биотинового конъюгата и инкубируют 3 ч при комнатной температуре. Содержимое лунок промывают.

3.Добавляют 100 мкл рабочего раствора стрептавидинового конъюгата и инкубируют 30 минут при комнатной температуре. Содержимое лунок 4-кратно промывают.

2.2. ПЦР (полимеразная цепная реакция)

Метод ПЦР-диагностики хламидиозов является высоко-информативным. Он основан на обнаружении таких характерных особенностей генома хламидий, как фрагменты рибосом-165рРНК, родоспецифический ген белка наружной мембраны хламидий (МОМР) и фрагменты криптической плазмиды *C.trachomatis*. Последний способ наиболее чувствителен, так как в одной клетке возбудителя может содержаться до 10 копий плазмид, поэтому выявить их значительно легче, чем гены рРНК или какого-либо белка, количество копий которых меньше. Необходимо учитывать возможность ингибирования амплификации в клинических образцах [58].

2.3 Идентификация *C.trachomatis* в культуре

Для идентификации возбудителя в культуре *in vitro* использовали перевиваемую линию клеток McCoy. После заражения клиническим материалом наблюдали цитоплазматические включения возбудителя и проводили культивирование и идентификацию антигенов *C.trachomatis* с помощью метода прямой иммунофлуоресценции с применением моноклональных антител. Клиническим материалом служили образцы соскобов из урогенитального тракта.

2.4. Оценка действия иммуномодулятора «Суперлимф» на *C.trachomatis* в культуре *in vitro*

Опыты включали 2 экспериментальные модели *in vitro*:

1. Культивирование эталонного штамма Ву 434 *C.trachomatis* с использованием клеток перевиваемой клеточной культуры McCoy и добавлением иммуномодулятора в разных дозах (120-400 мг/мл) и в разные сроки относительно момента заражения клеток;

2. Культивирование клинического материала, полученного из соскобов урогенитального тракта больных с добавлением в культуру *in vitro* иммуномодулятора (использовали аналогичную схему опыта).

Первоначально проводили тест на токсичность. С этой целью препарат добавляли в клеточную культуру в разных концентрациях, начиная с исходной 120 мг/мл. Было установлено, что препарат не обладает токсичностью относительно клеток-мишеней.

В перевиваемую культуру эпителиальных клеток Мс Соу вносили эталонный штамм Ву 434 *C.trachomatis* и в разные сроки культивирования (и до заражения) добавляли ««Суперлимф»». При использовании эталонного штамма происходило инфицирование клеток-мишеней. С помощью реакции

прямой иммунофлуоресценции и моноклональных антител микроскопически выявляли от 30 до 60 % инфицированных клеток.

При добавлении в культуру препарата ««Суперлимф»» уровень инфицированности клеток повышался до 90-95 %.

В культуру перевиваемых клеток McCoy вносили образцы клинического материала, полученного у 25 больных с персистирующей формой урогенитального хламидиоза. В качестве исследуемого материала были использованы соскобы эпителия из уретры и шейки матки больных (у всех обследованных диагноз был подтвержден с помощью положительной ПЦР.) При культивировании клинических проб инфицированность клеток-мишеней была чрезвычайно низкой (5-7%), что указывало на слабо выраженную жизнеспособность *C.trachomatis*, выявляемую у этих больных. Препарат ««Суперлимф»» вносили в культуру *in vitro* в тех же дозах (от 120 до 400 мг/мл) и по той же схеме, которые были выбраны при использовании эталонного штамма хламидий. При добавлении в культуру препарата ««Суперлимф»» уровень инфицированности клеток повысился до 15-20 %.

Данное исследование проводились на базе специализированной лаборатории хламидиозов НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи совместно с к.б.н. В.Р. Мартыновой и к.б.н. Н.И. Колковой.

2.5 Оценка результатов терапии

Эффективность лечения оценивали по общеклиническим симптомам, результатам ПЦР, культурального метода, проводимых непосредственно по окончании терапии, через 21 день, через 3 месяца.

2.6. Методы лечения

««Суперлимф»» назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей (по 1 свече перед сном, 5-10 дней).

Критериями исключения к применению «Офлоксина» являлись: возраст менее 17 и более 50 лет, беременность, лактация, чувствительность к фтору и фотосенсибилизация. Под нашим наблюдением находилось 39 пациентов в возрасте от 17 до 50 лет (18 мужчин и 11 женщин). У 3-х был диагностирован подострый уретрит, у 21 - хронический уретрит, у 5 - хронический уретрит, осложненный простатитом. У 10 женщин был выявлен эндоцервицит.

«Офлоксин» назначали по 200 мг 2раза в день в течение 10 дней пациентам с подострым и хроническим уретритом и в течение 21 дня пациентам с хроническим осложненным уретритов.

9 пациентам (5-и мужчинам с хроническим уретритом и 4 женщинам с хроническим эндоцервицитом) аналогичный курс лечения был проведен непосредственно после применения препарата ««Суперлимф»».

Противопоказанием к применению «Зитролида» служили: повышенная чувствительность к антибиотикам - макролидам, индивидуальная непереносимость препарата (в нашем наблюдении отмечено не было).

«Зитролид» назначали в первый день по 500мг, затем по 250 мг 1 раз в день, 9 дней.

9 пациентов (5 мужчин с хроническим уретритом, осложненным простатитом, 4 женщины с хроническим эндоцервицитом) получали «Зитролид» после предварительного курса препарата ««Суперлимф»».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

С 2001 по 2004 г. под нашим наблюдением находилось 127 больных УГХ в возрасте от 13 до 48 лет, в том числе 67 женщин и 60 мужчин. Во всех случаях диагноз был подтвержден двумя методами -ПЦР и культуральным. Давность заболевания составляла от 6 недель до 8 лет. 48 пациентов ранее получали лечение по поводу урогенитального хламидиоза (антибиотики тетрациклинового ряда, эритромицин), в результате чего отмечалась кратковременная ремиссия. 72 пациента ранее какого-либо лечения не получали.

Как видно из таблицы 1, у больных неосложненным уретритом было 6 человек в возрасте от 13 до 20 лет,16- от 21 до 30 лет, 10-от 31 до 40, 6-от 41 до 50. Больных осложненным уретритом в возрасте от 13 до 20 лет было 2, от 21 до 30 лет-12,от 31 до40-9, от 41 до 50- 2 человека. В % данные приведены на рис. 1.

Женщин с неосложненным цервицитом в возрасте от 13 до 20 лет обследовано 7,от 21 до 30 лет - 11, от 31 до 40 лет- 9., от 41 до 50 - 5 больных.

Среди пациенток с осложненным эндоцервицитом в возрасте от 13 до 20 лет было 5,от 21 до 30 лет - 18,от 31 до 40 лет - 10, от 41 до 50 лет - 2 больных.

Согласно анамнестическим данным и клиническим проявлениям, предполагаемая продолжительность инкубационного периода составила: от 7 до 10 дней у 5 больных, от 11 до 20 дней у 49 больных, от 21 до 30 дней у 58 больных, от 31 до 40 – у 8 больных, от 41 до 50 дней – у 7 больных. Результаты представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 3, у пациентов УГХ были выявлены сопутствующие заболевания. У пациентов с неосложненным уретритом в 8 наблюдениях диагностирован хронический тонзиллит, в 12- хронический

Таблица 1. Распределение больных УГХ по возрасту

Возраст	*Неосложненный уретрит (число больных)*	*Осложненный уретрит (число больных)*	*Неосложненный цервицит (число больных)*	*Осложненный цервицит (число больных)*
13-20лет	6	2	7	5
21-30лет	16	12	11	18
31-40лет	10	6	9	10
41-50лет	6	2	5	2
Всего 127 больных	38	22	32	35

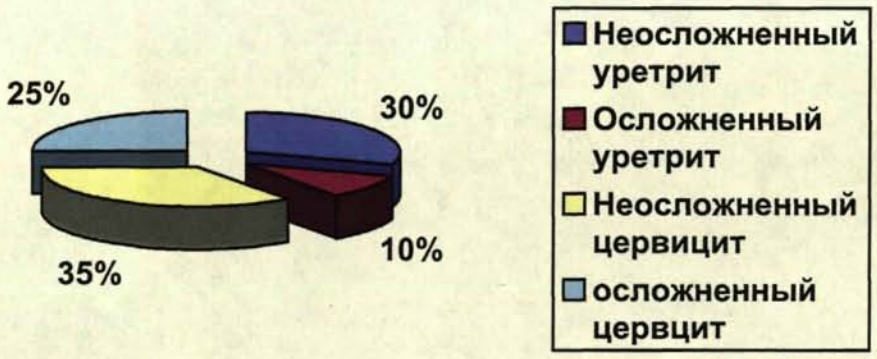


Рисунок 1. Клинические формы УГХ в различных возрастных группах

гастрит, в 5- хронический бронхит, в 10 – дискинезия желчных путей. У больных осложненным уретритом в 6 случаях диагностирован хронический тонзиллит, в 7 - хронический гастрит, в 4 - хронический бронхит, в 5- дискинезия желчных путей.

У больных с неосложненным цервицитом хронический тонзиллит был выявлен в 12 случаях, хронический гастрит- в 11,хронический бронхит- в 1, дискинезия желчных путей- в 8 случаях.

У больных с осложненным цервицитом хронический тонзиллит был выявлен в 13 случаях, хронический гастрит- в 12, хронический бронхит- в 1, дискинезия желчных путей- в 9 случаях.

В % соотношении данные таблицы 3 представлены на рисунках 2, 3, 4, 5, и 6.

При проведении общеклинических лабораторных исследований у 16 больных содержание гемоглобина в периферической крови было менее 118 г/л, у 12 больных содержание лейкоцитов превысило 10х10, у 4-х отмечен лимфоцитоз, у 10 – повышение показателя СОЭ. Однако статистически достоверных отличий в среднем не выявлено.

Таблица 2. Предполагаемая продолжительность инкубационного периода

Инкубационный период	7-10дней	11-20дней	21-30дней	31-40дней	41-50дней
Всего 127 больных	5	49	58	8	7

Таблица 3. Сопутствующие заболевания у больных УГХ

Нозологическая форма	*Хронический тонзиллит*	*Хронический гастрит*	*Хронический бронхит*	*Дискинезия желчных путей*
Неосложненный уретрит (всего 38 больных)	11	12	5	10
Осложненный уретрит (всего 22 больных)	6	7	4	5
Неосложненный цервицит (всего 32 больных)	12	11	1	8
Осложненный цервицит (всего 35 больных)	13	12	1	9

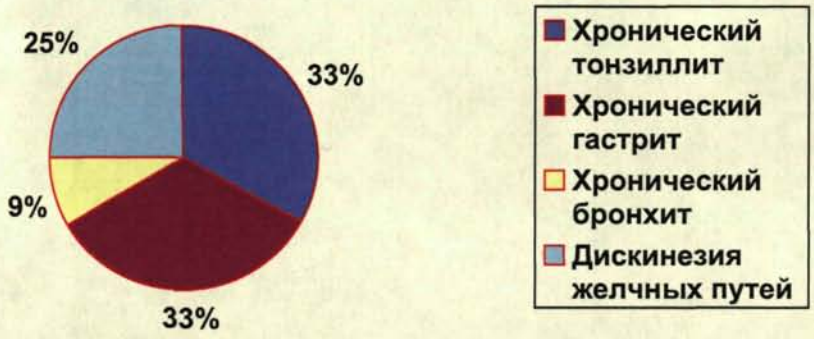


Рисунок 2. Сопутствующие заболевания УГХ

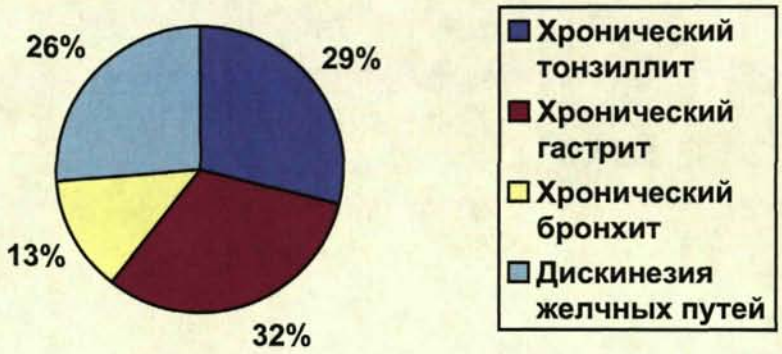


Рисунок 3. Сопутствующие заболевания при неосложненном уретрите

Рисунок 4. Сопутствующие заболевания при осложненном уретрите

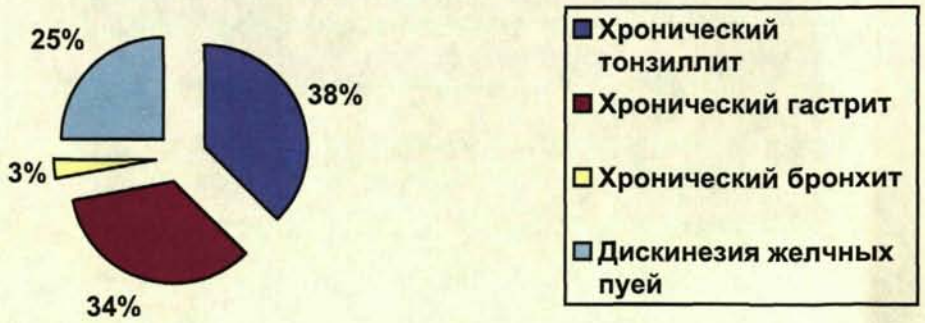


Рисунок 5. Сопутствующие заболевания при неосложненном цервиците

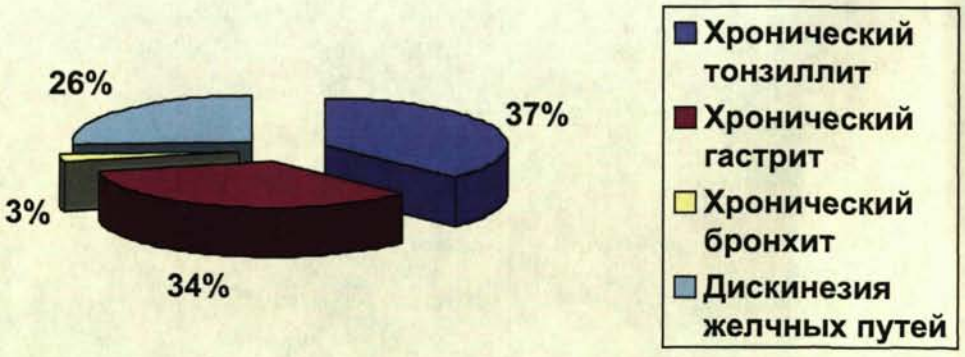


Рисунок 6. Сопутствующие заболевания при осложненном цервиците

3.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

3.2.1. Диагностика урогенитального хламидиоза с помощью ПЦР

При обследовании 98 больных методом ПЦР во всех случаях был подтвержден диагноз УГХ. Диагноз урогенитального хламидиоза установлен на основании молекулярно-генетического анализа. У обследованных пациентов была идентифицирована структура генома возбудителя: фрагменты рибосом- 165р РНК, родоспецифический ген белка наружной мембраны хламидий и фрагменты криптической плазмиды.

3.2.2. Диагностика урогенитального хламидиоза с помощью культурального метода

Для идентификации возбудителя в культуре *in vitro* использовали перевиваемую линию клеток McCoy. После заражения клиническим материалом наблюдали цитоплазматические включения возбудителя и проводили культивирование и идентификацию антигенов *C.trachomatis* с помощью метода прямой иммунофлюресценции с применением моноклональных антител. Исследования проводили совместно с вед. науч. сотр., к.б.н. В.Р. Мартыновой на базе специализированной лаборатории хламидиозов в НИИ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН. Клиническим материалом служили образцы соскобов из урогенитального тракта.

До лечения диагностическое обнаружение хламидий в культуре клеток McCoy и идентификацию антигенов *C.trachomatis* методом прямой иммунофлюоресценции проводили у 23 больных.

Сравнительный анализ результатов ПЦР и культурального метода показал, что в целом ряде случаев оба теста были положительными, то есть не только определялась видовая структура этиологического агента УГХ, но была доказана его жизнеспособность. Однако инфективность была разной степени выраженности. Среди больных, пришедших впервые на приём к

врачу по поводу заболеваний урогенитального тракта, оказались пациенты с давностью заболевания более 5 лет. У этих больных при положительном ответе на ПЦР результаты культивирования клинического материала (соскобы) практически были отрицательными. Как правило, микроскопически наблюдаемая картина характеризовалась атипичными мелкими цитоплазматическими включениями хламидий с длительным циклом развития, при этом показатель инфицированности клеток составил 5-7%. Таким образом, затяжная асимптоматическая форма УГХ ассоциировалась с низкой инфицированностью клеток-мишеней (до 7%) относительно 60-70 % при свежем УГХ (Таблица 4).

Таблица 4. Сравнительный анализ результатов лабораторных методов при диагностике УГХ

Группы обследуемых	*Клинические проявления*	*Результаты методов*	
		ПЦР	*Культуры in vitro*
Пациенты со свежим УГХ (n=7)	Малосимптомное течение	+	+
Пациенты с хроническим УГХ (n=25)	Бессимптомное течение	+	-

При персистирующей, скрытой форме УГХ можно поставить вопрос об информативности культурального теста. Действительно, метод культивирования *in vitro* демонстрирует жизнеспособность хламидий. Однако при персистенции, когда нарушается бифазный цикл возбудителя, РТ не преобразуются в ЭТ, инфекционность *C.trachomatis* значительно снижена.

Таким образом, культуральный тест выявляет жизнеспособные хламидии. При персистенции наблюдают *in vitro* атипичные включения, обладающие низкой метаболической активностью, когда возможно появление L- форм (латенция). В таких случаях блокируется жизненный цикл хламидий и репродукция практически не происходит. Последствием бессимптомной инфекции у нелеченных больных может стать нередко наблюдаемое в клинической практике отсутствие эффективности антибиотиков. Нарушить сосуществование хламидий с клеткой-мишенью возможно с помощью иммуномодулятора,как это было показано при использовании препарата Полиоксидоний в терапии УГХ [18]. Исходя из этой концепции, мы использовали в культуре *in vitro* ранее не применяемый при УГХ иммуномодулятор ««Суперлимф»» как с диагностической целью, так и для прогнозирования его действия *in vivo.*

3.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА «СУПЕРЛИМФ» НА *C.trachomatis* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

В данном исследовании мы попытались ответить на следующие вопросы:

1. Оказывает ли «Суперлимф» прямое воздействие на инфекционный процесс с учётом двухфазного цикла внутриклеточного патогена *C.trachomatis?*

2. Воздействует ли «Суперлимф» на клетки-мишени с учётом того, что возбудитель УГХ - это энергетический паразит, репродукция которого зависит от метаболизма инфицированных клеток?

3. Можно ли воздействовать на инфекционный процесс опосредованно, через активацию пораженных (антиген-презентирующих) клеток?

4. Может ли такой способ действия «Суперлимфа» оптимизировать процесс распознавания антигена и в целом – иммуного ответа?

5. Оказывает ли «Суперлимф» воздействие на сопутствующую микрофлору?

Опыты включали 2 экспериментальные модели *in vitro*.

1) Культивирование эталонного штамма Ву 434 *C.trachomatis* с использованием клеток перевиваемой клеточной культуры McCoy и добавлением иммуномодулятора в разных дозах (120-400 мг/мл) и в разные сроки относительно момента заражения клеток.

2) Культивирование клинического материала, полученного из соскобов урогенитального тракта больных с добавлением в культуру *in vitro* иммуномодулятора (использовали аналогичную схему опыта).

3.3.1. Исследование действия препарата «Суперлимф» на C.trachomatis культуре in vitro

Контрольные исследования

Первоначально проводили тест на токсичность. С этой целью препарат добавляли в клеточную культуру в разных концентрациях, начиная с исходной 120 мг/мл. Было установлено, что препарат не обладает токсичностью относительно клеток-мишеней.

В другом контрольном исследовании препарата «Суперлимф» установлено, что препарат не содержит антихламидийных антител: были получены отрицательные результаты серологического теста на выявление антител классов IgA, IgM и IgG.

Следующий этап исследования состоял в определении эффекта препарата на инфекционный процесс. «Суперлимф» вносили в культуру клеток в разные периоды времени, начиная от момента внедрения и через 24 ч. после заражения. Кроме того, препарат добавляли одновременно с инфицирующим материалом; дозы составили 120-400 мг/мл.

Действие препарата «Суперлимф» на эталонный штамм C.trachomatis (первая экспериментальная модель)

В перевиваемую культуру эпителиальных клеток McCoy вносили эталонный штамм Ву 434 *C.trachomatis* и в разнные сроки культивирования (и до заражения) добавляли «Суперлимф».

При использовании эталонного штамма происходило инфицирование клеток-мишеней. С помощью реакции прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) и моноклональных антител микроскопически выявляли от 30 до 60 % инфицированных клеток (фотография 1).

При добавлении «Суперлимфа» (основной опыт) инфекционный процесс становился более интенсивным. Наблюдения за характерными цитоплазматическими включениями показали, что происходит увеличение их размера, при этом уровень инфицированных клеток достигает 90-95 %. Наряду с этим происходило ускорение развития хламидий: уже через 24 культивирования вид, форма и размер цитоплазматических включений соответствовали картине включений, наблюдаемых через 48 и даже 60 часов культивирования без «Суперлимфа».

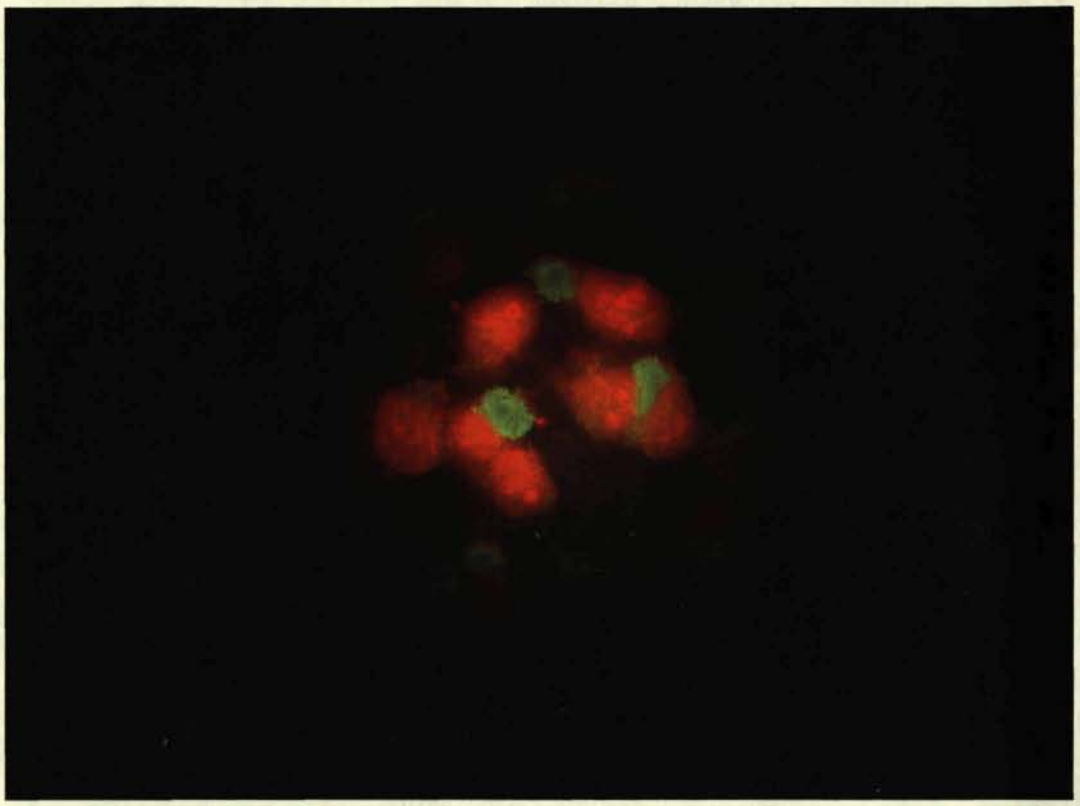
Полученные данные продемонстрировал влияние «Суперлимфа» на активацию и метаболизм клеток. Независимо от используемой дозы «Суперлимф» вызывал следующие эффекты:

- увеличивал размеры цитоплазматических включений, в которых определялись с помощью ПИФ ретикулярные тельца;

- ускорял жизненный цикл хламидий, воздействуя опосредованно на репродукцию возбудителя, что было отмечено при анализе цитоплазматических включений, которые уже через 24 часа достигали размеров включений, наблюдаемых при культивировании в течение 48 и 60 часов без «Суперлимфа»;

- повышал инфицированность клеток с 30-60 % до 90-95 %.

Результаты предполагают, что «Суперлимф» мог служить активатором репродуктивного цикла хламидий. Полученные данные указывают на



Фотография 1. Хламидийные цитоплазматические включения в *C.trachomatis* (эталонный штамм Ву434) в культуре клеток McCoy.

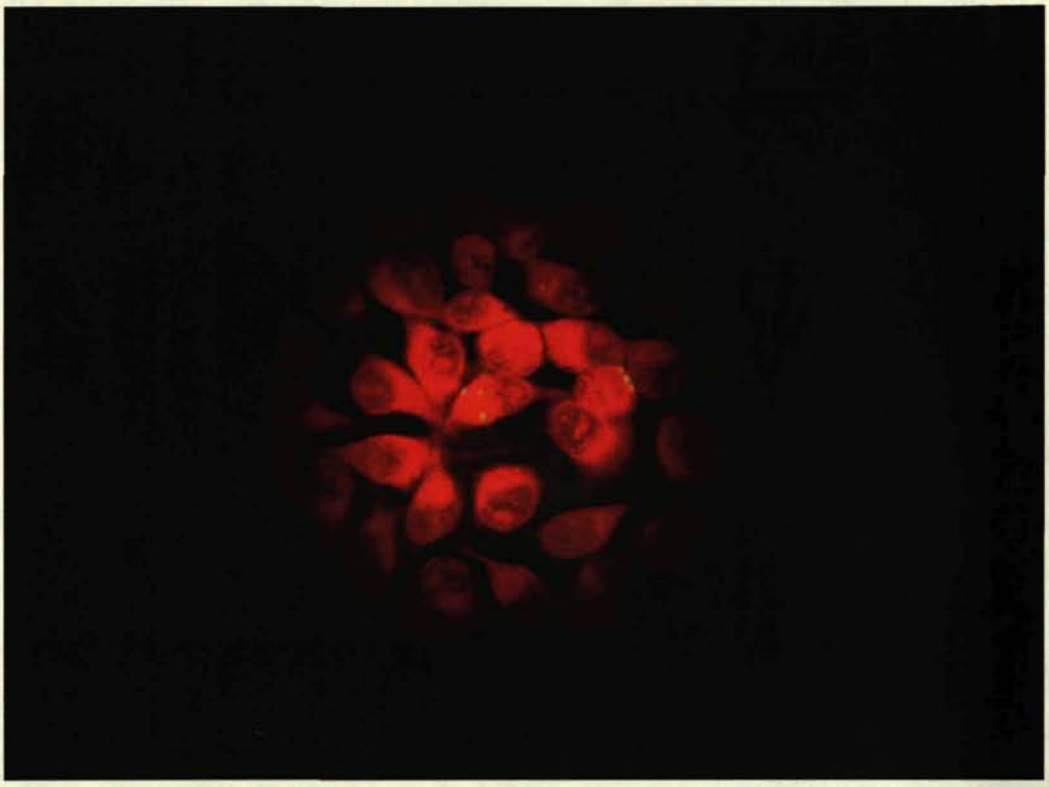
возможность с помощью препарата «Суперлимф» проводить ретрансформацию латентных, персистирующих форм в репродуктивные, более доступные для действия антибиотиков.

Принимая во внимание тот факт, что хламидии – это энергетические паразиты, метаболизм и репродукция которых зависит от пораженных клеток-мишеней, можно предположить, что «Суперлимф» влияет на активацию и метаболизм клеток и опосредованно может выступать в роли инициатора механизма запуска репродуктивного цикла патогена. Это может привести к ретрансформации определенной части латентных форм РТ в ЭТ, завершению репродуктивного цикла и выходу во внеклеточное пространство. В результате возбудитель будет более доступным для проявления эффективности антибактериальных средств.

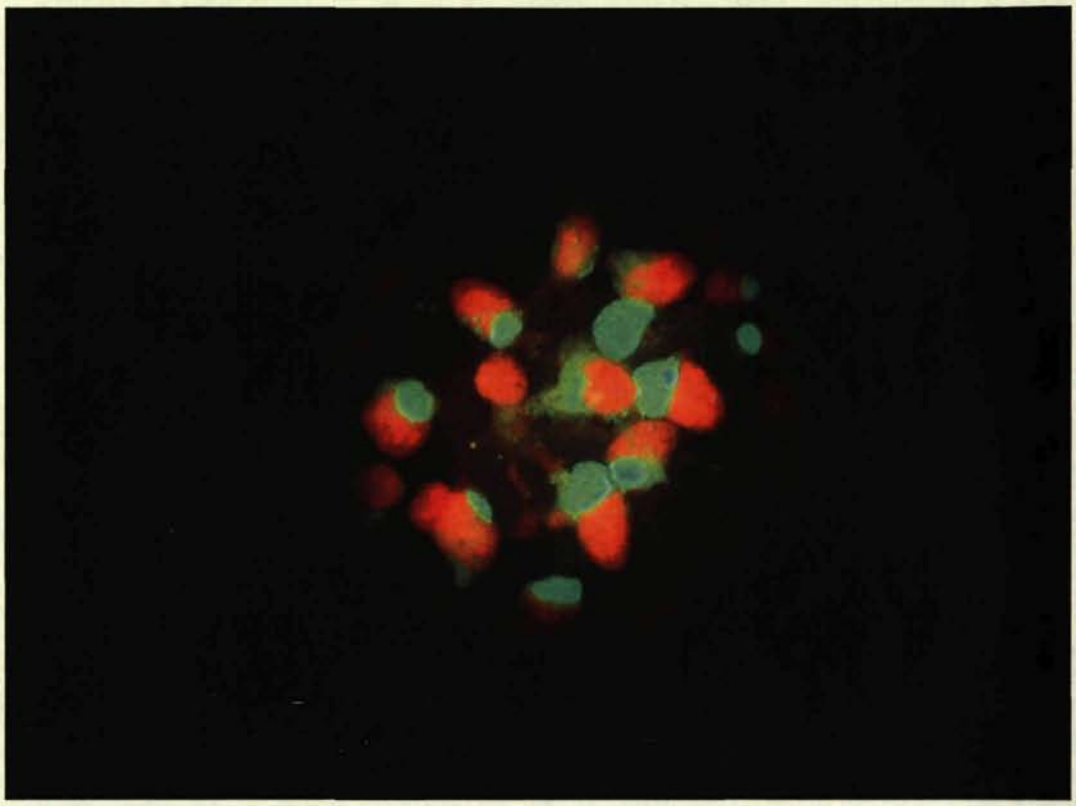
Действие препарата Суперлимф на штаммы C.trachomatis, идентифицированные в клиническом материале (вторая экспериментальная модель).

В культуру перевиваемых клеток McCoy вносили образцы клинического материала, полученного у 25 больных с персистирующей формой УГХ. В качестве исследуемого материала были использованы соскобы эпителия из уретры и шейки матки больных (фотография 2). При обследовании у всех больных клинический диагноз был подтвержден с помощью положительной ПЦР. При культивировании клинических проб инфицированность клеток-мишеней была чрезвычайно низкой (5 - 7%), что указывало на слабо выраженную жизнеспособность *C.trachomatis,* выявляемую у этих больных. Препарат «Суперлимф» вносили в культуру в тех же дозах (от 120 до 400 мг/мл) и по той же схеме, которые были выбраны при использовании эталонного штамма хламидий.

Было установлено, что независимо от дозы вводимого инфицирующего материала и используемых доз препарата, «Суперлимф» оказывал влияние на клетки, что проявлялось в следующих эффектах (фотография 3):



Фотография 2. Хламидийные цитоплазматические включения *C.trachomatis*. Клинический материал из соскоба больного хронической формой УГХ. Видны мелкие цитоплазматические включения.



Фотография 3. Действие препарата «Суперлимф» на *C.trachomatis*. в культуре *in vitro*. Клинический материал из соскоба больного хронической формой УГХ.

Видны цитоплазматические включения.

- увеличение размеров цитоплазматических включений;

- ускорение жизненного цикла хламидий, что было отмечено с помощью ПИФ на основании анализа цитоплазматических включений, которые уже через 24 часа достигали размеров за счет репродуктивной формы возбудителя, наблюдаемых при культивировании в течение 48 и даже 60 часов без «Суперлимфа»;

- повышение показателя инфицированности клеток с 5-7 % до 15-20 %.

И хотя эффект был менее выражен по сравнению с эффектом «Суперлимфа» на эталонный штамм, воздействие препарата было аналогичным; при этом следует учитывать разные условия получения клинического материала, поскольку эту процедуру практически невозможно проводить в адекватных условиях.

Результаты исследования показали, что препарат «Суперлимф» может опосредованно, путем усиления метаболизма клеток-мишеней, влиять на инфекционный процесс, вызванный *C.trachomatis*, в направлении активации репродуктивного цикла хламидий и ретрансформации латентных и персистирующих внутриклеточных форм РТ в ЭТ. Наряду с этим можно прогнозировать эффект «Суперлимфа» посредством воздействия на иммунный ответ: активация антиген-презентирующих клеток, оптимизация процессов презентации и распознавания антигена с последующим иммунным ответом.

3.3.2. Действия препарата Суперлимф на сопутствующую бактериальную микрофлору

При культивировании образцов клинического материала (соскобы из урогенитального тракта) была выявлена сопутствующая бактериальная микрофлора, как правило, грамотрицательные палочки *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*. При внесении «Суперлимфа» в культуру *in vitro* отмечен дополнительный эффект - прямое антибактериальное действие, а эти

микроорганизмы. Полученные данные указывают на бактерицидность препарата в отношении грамотрицательных бактерий, возможность использования «Суперлимфа» для подавления патогенной микрофлоры урогенитального тракта и тем самым для восстановления микробиоценоза за счет колонизации индигенной и условно-патогенной нормальной микрофлорой.

Учитывая описанный ранее механизм действия «Суперлимфа» [39] и результаты, полученные в данном исследовании, мы использовали иммуномодулятор в комплексной терапии больных персистирующей формой УГХ. При назначении препарата «Суперлимф» перед терапией антибиотиками (ректальные свечи в течение 5-10 дней) наблюдали терапевтический эффект у больных, которых ранее безуспешно лечили антибиотиками (непродолжительное клиническое улучшение) и у которых регистрировали рецидивы. Было установлено, что курс терапии «Суперлимфом» перед назначением антибиотиков (зитролид) может привести к инициации репродуктивного цикла возбудителя при персистирующей форме УГХ и созданию условий для большей доступности хламидий для антибиотиков. Результатом использования иммуномодулятора в терапии УГХ может стать важной стратегией для успешного лечения и реабилитации больных УГХ, а также для восстановления процессов иммунорегуляции (см. раздел 3.5. «Результаты лечения больных»).

3.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ УРОГЕНИТАЛЬНЫМ ХЛАМИДИОЗОМ

В патогенезе урогенитального хламидиоза можно выделить два важных звена: 1 - взаимодействие возбудителя с клетками урогенитального тракта и 2 -развитие иммунологической недостаточности.

Характер взаимодействия с клеткой-мишенью (фагоциты и клетки эпителия, которые выступают в качестве антиген-презентирующих) определяется биологическими свойствами хламидий и двухфазным циклом их развития. Речь идет о внутриклеточных патогенах, способных к длительному приживлению без признаков размножения. Их персистенция ассоциируется с подавлением синтеза основного белка наружной мембраны (MOMP) и повышением белка теплового шока (hsp60). Полагают, что L-подобная трансформация возбудителя лежит в основе одного из механизмов развития персистирующей формы хламидийной инфекции [82]. У персистирующих бактерий может нарушаться клеточный цикл, например, дифференцировка РТ в ЭТ.

Что касается развития иммунодефицита, то следует отметить, что в норме в урогенитальном тракте присутствуют и вовлекаются в региональный иммунный ответ фагоциты, Т- лимфоциты и их субпопуляции с маркерами CD4+ и CD8+, В-клетки, NK- клетки, однако, у больных УГХ отмечают такие нарушения, как незавершенный фагоцитоз, снижение функциональной активности CD4+ Th1-клеток и NK-клеток.

В опытах *in vivo* и *in vitro* было показано, что решающая роль в нарушении иммунного ответа на *C.trachomatis* принадлежит цитокинам, продуктам клеток иммунной системы, факторам межклеточного взаимодействия. Известно, что цитокины синтезируют активированные клетки, но эффекты разных групп цитокинов могут иметь антагонистический характер. Мы определяли уровни цитокинов в сыворотках крови больных с

клиническим диагнозом УГХ с целью выявить уровень нарушений процессов иммунорегуляции при разных формах заболевания и обосновать использование иммуномодулятора в комплексной терапии УГХ. С этой целью изучали уровни TGFβ и TNFα.

Трансформирующий фактор роста β (получил свое название из-за способности индуцировать «трансформированный фенотип» у нормальных культивируемых клеток). Фактор оказывает на иммунную систему влияние разнообразного характера. В его действии на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты: ответ лимфоцитов на ИЛ-2, формирование цитотоксических NK- клеток и Т- клеток. Как супрессорный фактор он может сдерживать аутоиммунные процессы и опосредованно (совместно с ИЛ-2) вызывать переключение изотипов иммуноглобулинов на IgA, способствуя защите слизистых оболочек. Высокий уровень этого фактора выявлен при “иммунодефиците новорожденных”. Вместе с тем, его некоторые эффекты позволили отнести этот фактор к противовоспалительным цитокинам.

Фактор некроза опухоли получил свое название за способность вызывать рассасывание перевиваемой опухоли. Фактор продуцируется моноцитами\макрофагами. Наряду с ИЛ-1 и ИЛ-6 , ФНОα участвует в реализации локальных и системных проявлений воспалительной реакции. Это провоспалительный цитокин.

С помощью ИФА(ELISA) были исследованы уровни цитокинов:

- TGFβ, трансформирующего фактора роста, иммуносупрессивного фактора, продуцентами которого являются моноциты и Т-лимфоциты, и

- TNFα, фактора некроза опухоли, продуцента активированных фагоцитов, локальный эффект которого связан с образованием очага местного воспаления.

3.4.1. Определение концентрации TGFβ (пкг/мл) в сыворотках крови больных УГХ

Результаты определения концентрации TGFβ (пкг/ мл) в сыворотках больных до лечения представлены в Таблице 5 и на Рис. 7 (n- число обследованных).

Таблица 5. Концентрация TGFβ в сыворотках больных УГХ

Группы обследованных	*Концентрация TGFβ, пкг/мл*
Свежий УГХ (n=7)	7584,48±100,99
Хронич. УГХ (n=16)	4828,27±675,5
Здоровые лица (n=20)	3000±234,8 (2000-4000)

Как видно из таблицы 5, у больных свежим УГХ и у пациентов с хронической формой, обследованных спустя длительный срок после курса антибактериальной терапии, определяются высокие по сравнению с нормой уровни супрессирующего фактора TGFβ.

Усиление супрессорного потенциала отмечено у большинства больных, однако при хронической форме заболевания эффект TGFβ был менее выражен (рис. 7).

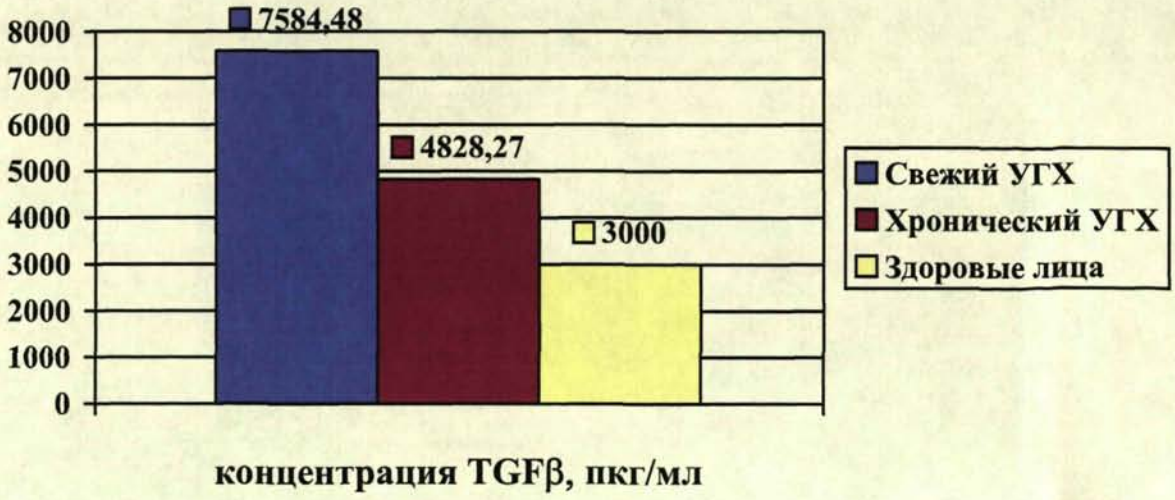


Рисунок 7. Концентрация TGFβ в сыворотках больных УГХ и здоровых лиц

Эти результаты подтверждают представление о преобладании нгибирующего действия цитокина на иммунный ответ, в частности, на формирование цитотоксических NK- и Т-клеток.

Однако после комплексной терапии («Суперлимф»+антибиотики) уровень TGFβ превышал норму, составляя в среднем 4 361,2 пкг/мл (3900-5,018). Эти результаты служат подтверждением данных о разнообразном влиянии этого цитокина на воспалительный/ иммунный ответ, в частности, как антагониста провоспалительных цитокинов. Таким образом, продолжительный терапевтический эффект и элиминация возбудителя ассоциируется у пациентов с определенным соотношением уровня провоспалительного и противовоспалительного цитокинов. Данные о нарушении в системе иммунорегуляции могут служить основанием для использованя иммуномодуляторов в терапии УГХ.

3.4.2. Определение концентрации TNFα (пкг/мл) в сыворотках крови больных УГХ

Как следует из Таблицы 6 и рис. 8, концентрация TNFα у больных УГХ в зависимости от формы заболевания находилась в пределах от 112 до 302 пкг/мл относительно нормы < 50 пкг/мл. До лечения наиболее высокий уровень провоспалительного цитокина отмечен у больных свежим УГХ (176-302 пкг/мл) по сравнению с хронической формой (112-174 пкг/мл).

Выявленный высокий уровень провоспалительного цитокина подтверждает данные о диагностическом значении цитокинов в воспалительном/иммунном ответе [20] и в воспалительных реакциях мочевыводящих путей в частности [57].

После проведения комплексной терапии «Суперлимфом» + антибиотики уровень цитокина достиг пределов нормы, что ассоциировалось с клиническим улучшением и отрицательным тестом ПЦР (рис. 9).

Таблица 6. Концентрация TNFα в сыворотках больных УГХ

Группы обследованных	*Концентрация TNFα, пкг/мл*
Свежий УГХ (n =7)	230 ± 52* (176-302)
Хронический УГХ (n =16)	165 ± 28,1* (112- 202)
Здоровые лица (n=20)	(<50)

Полученные данные свидетельствуют о значительном повышении уровня провоспалительного цитокина у больных со свежим УГХ (острая форма), а также с персистирующей хронической формой заболевания. Получены достоверные отличия показателей от нормы (*p<0,05)

провоспалительного цитокина у больных с острой и хронической формой УГХ. Изменение концентрации TNFα в сыворотке крови может служить основанием для использования иммунокорригирующих средств в комплексной терапии УГХ. Результаты лечения «Суперлимфом» показали, что у больных УГХ происходит достоверное снижение уровня TNFα практически до нормы (рис. 9).

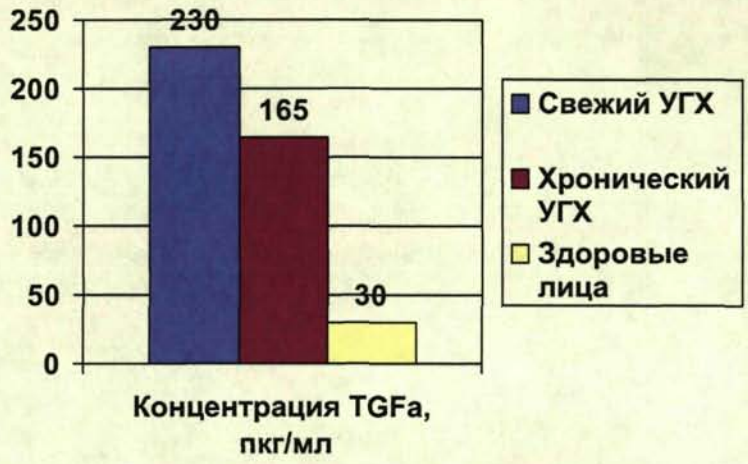


Рисунок 7. Концентрация TNFα в сыворотках больных УГХ

Рисунок 8. Концентрация цитокинов TNFα до и после терапии

Обращает на себя внимание не только концентрация цитокинов в сыворотке крови на фоне терапии «Суперлимфом», но и соотношение

противовоспалительного и провоспалительного цитокинов TGFβ/TNFα. До назначения «Суперлимфа» этот показатель составлял примерно 32\1 относительно показателя у здоровых лиц около 100/1. После лечения уровень TGFβ снизился по сравнению с исходным (4828,27 пкг/мл) и составил 4364,5 пкг/мл, что выше среднего уровня нормы.

Уровеь TNFα на фоне лечения «Суперлимфом» также снизился, но практически до показателя нормы. При этом соотношение уровней этих цитокинов составило около 120/1, что несколько превышает границу нормы. Показатели уровней цитокинов и их соотношения после курса терапии «Суперлимфом» представлены в Таблице 7 и на рис. 10.

Таблица 7. Концентрация исследуемых цитокинов (пкг/мл) у больных УГХ после терапии «Суперлимфом» относительно исходных данных

Период обследования	*Концентрация*		*Соотношение*
	TGFβ	*TNFα*	*TGF/TNF*
До терапии Суперлимфом	4 828 ± 675,5	165±28	~ 30/1
После терапии Суперлимфом	4 364,5 ± 69,13	40± 7	~ 110/1
Норма	3 000 ± 234,8	29± 6	~ 100/1

Как следует из Таблицы 7 и рис. 10, при сравнительном анализе уровней цитокинов и их соотношения до и после терапии «Суперлимфом» были получены достоверные отличия ($p<0,05$): содержания TGFβ до лечения

по сравнению с нормой, после лечения по сравнению с показателем до терапии, содержания до лечения по сравнению с нормой, после лечения по сравнению с показателем до терапии, содержания TNFα до лечения по сравнению с нормой, после лечения по сравнению с показателем до терапии,соотношения TGFβ/TNFα до лечения по сравнению с нормой, после лечения по сравнению с показателем до терапии.

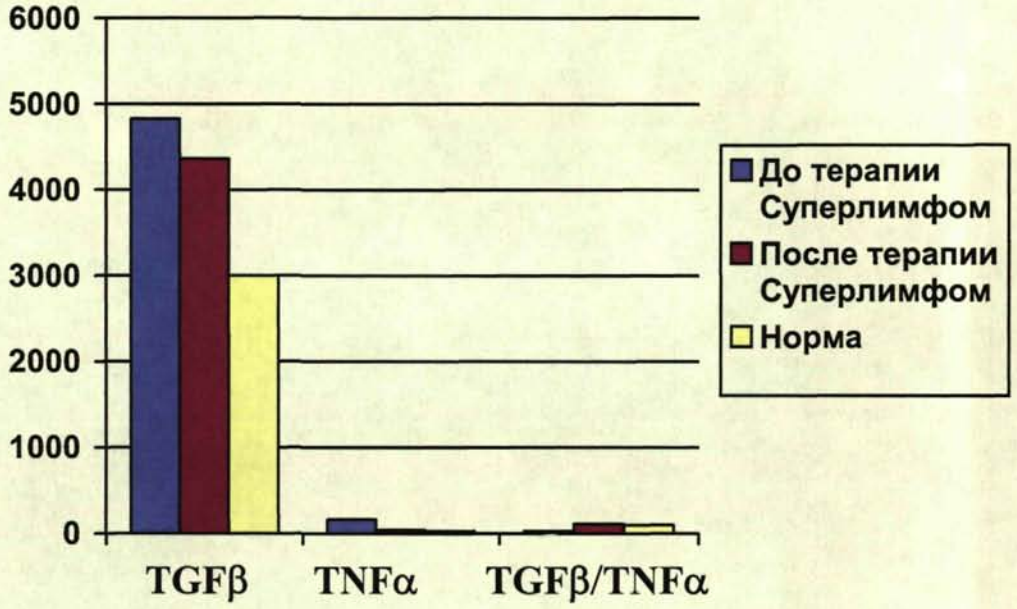


Рисунок. 10 Содержание цитокинов до и после терапии «Суперлимфом»

После комплексной терапии с использованием «Суперлимфа» баланс цитокинов восстанавливался до нормы. Обращает на себя внимание тот факт, что концентрация TGFβ после терапии «Суперлимфом» соответствует повышенному уровню. Учитывая полифункциональность этого цитокина, можно предположить, что на данном этапе патогенеза происходит реализация его эффекта как противовоспалительного цитокина, что согласуется с наблюдениями по поводу воспалительных процессов другой локализации.

С другой стороны, восстановление баланса в системе этих цитокинов практически до нормы, вероятно, указывает на положительный сдвиг в системе иммунорегуляции. Таким образом, препарат «Суперлимф» действует как регулятор иммунных процессов двумя способами:

1) посредством активации клеток, инфицированных хламидиями, что создает оптимальные условия для механизмов презентации антигена и в целом - иммунного ответа на уровне урогенитального тракта;

2) как комплекс цитокинов, способный активировать процессы межклеточных взаимоотношений и восстанавливать баланс противо- и провоспалительных цитокинов.

3.5. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ

Нами были проведены клинические исследования Офлоксина с целью определения эффективности элиминации из организма возбудителя урогенитального хламидиоза. Диагноз формировался на основании клинической картины и данных лабораторных исследований. Выявление хламидийной инфекции в содержимом уретры проводили двумя методами: культуральным методом и ПЦР. Критериями исключения к применению Офлоксина являлись: возраст менее 17 и более 50 лет, беременность, лактация, чувствительность к фтору и фотосенсибилизация. Под нашим наблюдением находилось 39 пациентов в возрасте от 17 до 50 лет (18 мужчин и 11 женщин). У 3-х был диагностирован подострый уретрит, у 21 – хронический уретрит, у 5 - хронический уретрит, осложненный простатитом. У 10 женщин был выявлен эндоцервицит.

Офлоксин назначали по 200 мг 2раза в день в течение 10 дней пациентам с подострым и хроническим уретритом и в течение 21 дня пациентам с хроническим осложненным уретритов. У 2 пациенток во время приёма офлоксина отмечались головокружения, слабость. Других побочных

реакций и нежелательных эффектов отмечено не было. Клиническое выздоровление наблюдалось у всех пациентов, получивших Офлоксин, и было подвержено методами ПЦР (у 29 пациентов) и культуральным (у 25 пациентов), контроль был проведен сразу по окончании терапии и через три недели после проведенного лечения.

9 пациентам (5-и мужчинам с хроническим уретритом и 4 женщинам с хроническим эндоцервицитом) аналогичный курс лечения был проведен непосредственно после применения препарата «Суперлимф» Иммуномодулятор назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей (по 1 свече перед сном, 5-10 дней).

По окончании курса антибиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

Через 3 месяца последующего наблюдения у 4 больных хроническим уретритом и 2 больных хроническим уретритом и простатитом (терапия офлоксином) вновь были выявлены *C.trachomatis.*

Через 3 месяца последующего наблюдения у больных, получавших комплексное лечение с применением «Суперлимфа» и офлоксина рецидивов отмечено не было.

Зитролид назначали 49 пациентов в возрасте от 17 до 50 лет (18 мужчин и 11 женщин). У 3х был диагностирован подострый уретрит, у 21 – хронический уретрит, у 5 хронический уретрит осложненный простатитом. У 20 женщин был выявлен эндоцервицит.

Противопоказанием к применению зитролида служили: повышенная чувствительность к антибиотикам – макролидам, индивидуальная непереносимость препарата (в нашем наблюдении отмечено не было).

Зитролид назначали в первый день по 500мг, затем по 250 мг 1 раз в день, 9 дней. У всех наступило клиническое выздоровление. Терапевтический эффект был доказан проведенными через 3 недели ПЦР и

культуральным методом. Отмечалась хорошая переносимость антибиотика, его высокая эффективность и безопасность.

По окончании курса антибиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

9 (5 мужчин с хроническим уретритом, осложненным простатитом, 4 женщины с хроническим эндоцервицитом) пациентов получали зитролид после предварительного курса препарат «Суперлимф». Иммуномодулятор назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей (по 1 свече перед сном, 5-10 дней).

По окончании курса антибиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

Через 3 месяца последующих наблюдений в группе больных, получавших монотерапию зитролидом, у одной пациентки вновь обнаружены *C.trachomatis*, у других пациентов достигнутый терапевтический эффект сохранялся.

В группе больных, получавших «Суперлимф» и зитролид, отмеченный терапевтический эффект сохранялся в течение 3 месяцев последующих наблюдений. Результаты проведенных нами исследовний приведены в Таблице 8 и на рис. 11.

Полученные нами результаты свидетельствуют о преимуществах лечения УГХ препаратом «Суперлимф» с последующей антибиотикотерапией. Наши исследования подтвердили ранее показанные преимущества применения макролидов: более высокий терапевтический эффект, меньшее количество противопоказаний к применению препарата. Зитролид отличался лучшей переносимостью.

Таблица 8. Результаты лечения УГХ*

Терапия	***Клиническое выздоровление***	***Рецидив через 3 недели по окончании терапии***	***Рецидив через 3 месяца по окончании терапии***
Офлоксин	91	2	7
«Суперлимф» + Офлоксин	100	0	3
Зитролид	99	0	1
«Суперлимф» + Зитролид	100	0	0

*показатели даны в %

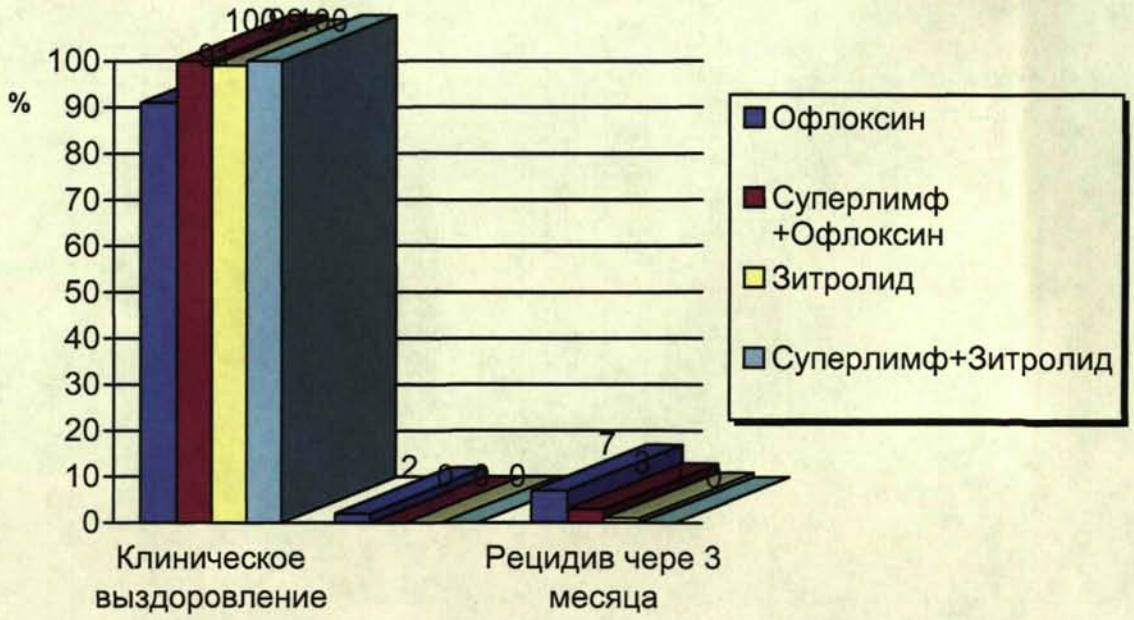


Рисунок 11. Результаты лечения больных УГХ.

Следует подчеркнуть, что использование в комплексной терапии препарата «Суперлимф» ассоциируется с восстановлением цитокинового статуса. Во-первых, отмечено снижение практически до нормы концентрации провоспалительного цитокина TNFα , во-вторых, отмечено снижение уровня фактора TGFβ и восстановление баланса исследуемых цитокинов относительно нормы.

Иммуномодулирующая терапия в реабилитации больных хламидийным цервицитом

Следует особо выделить хламидийную инфекцию с клиническим проявлением цервицита, которая оказывает негативное влияние на репродуктивное здоровье женщины. Выявленный предварительно эффект иммуномодулятора «Суперлимф» в культуре *in vitro*, направленный на индукцию репликативного цикла хламидий, и его прямое антибактериальное действие послужили основанием для использования препарата в комплексной терапии больных с персистирующей формой хламидийных цервецитов.

Под нашим наблюдением находились 32 женщины, больные УГХ, с осложненным и неосложненным цервицитом, которые ранее получали лечение по поводу УГХ (антибиотики тетрациклинового ряда, эритромицин), в результате чего отмечалась кратковременная ремиссия. «Суперлимф» назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей, по 1 свече перед сном, в течение 5-10 дней. Зитролид назначали в первый день по 500 мг, затем по 250 мг 1 раз в день, в течение 9 дней. Группу сравнения составили больные, получавшие монотерапию зитролидом. У женщин, которым проводили комплексную терапию, терапевтический эффект сохранялся спустя 3 месяца и был подтвержден с помощью ПЦР. Лечение зитролидом (монотерапия) также было достаточно эффективно, однако у одной пациентки после курса проводимой терапии, а также у двух женщин

спустя 3 месяца наблюдений отмечены случаи рецедивов. У больных, получавших «Суперлимф», терапевтический эффект сохранялся не только в течение 3 месяцев, но и период последующих наблюдений; при этом рецидивов отмечено не было.

Мы полагаем, что использование «Суперлимфа» может служить важной стратегией для реабилитации больных с персистирующей, трудно поддающейся лечению формой хламидийного цервицита.

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди инфекций, передаваемых половым путём, особое место занимает урогенитальный хламидиоз. Заболевание поражает мужчин, женщин, детей, оказывает негативное влияние на репродуктивное здоровье, может распространяться на различные органы и системы [11,19,82]. Ежегодно в мире урогенитальным хламидиозом заболевает 92 млн. человек, что приводит к значительным экономическим потерям [126]. В развитых странах урогенитальные инфекции хламидийной этиологии и их осложнения напрямую связаны с сероварами *Chlamydia trachomatis* от D до K [119]. Поскольку данная инфекция часто протекает бессимптомно, то невыявленные бактерионосители способствуют распространению заболевания в обществе [30,45,54,137]. По различным данным, 60-80 % инфекций среди женщин и до 50 % среди мужчин являются бессимптомными [127].

Оценка антибиотикочувствительности облигатных внутриклеточных паразитов - хламидий осуществляется преимущественно в культуре ткани. По всей вероятности, исследования *in vitro* позволяют лишь качественно выявлять наличие антихламидийной активности антибиотиков, предполагать большую или меньшую клиническую эффективность; результаты клинических испытаний нередко представлены без учёта отдалённых результатов и анализа причин неудач лечения [101].

Лечение хламидиоза в настоящее время, несмотря на применение современных антибиотиков, остаётся недостаточно эффективным. Необходимо как дальнейшее совершенствование стандартов контроля качества оказываемой помощи [28,51], так и совершенствование справочной информации [48]. Элиминация возбудителя хламидиоза происходит в 83,3-98 % случаев [52, 83].

Поиск эффективных антихламидийных препаратов постоянно продолжается, наряду с известными лекарственными препаратами тетрациклинового ряда и фторхинолонов, в последнее время широкое применение находят антибиотики-макролиды [56, 68].

По данным Ю.К.Скрипкина с соавт. [70], М.А.Гомберга [18,104], наиболее эффективно сочетание антибактериальной терапии с иммуномодулирующими препаратами.

В данной работе мы попытались разработать патогенетический подход к терапии урогенитального хламидиоза на основе изучения иммунных факторов *in vitro* и *in vivo*.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1.оценить клиническую эффективность зитролида и офлоксина у больных различными формами урогенитального хламидиоза;

2. изучить цитокиновый статус у больных хламидиозом;

3. исследовать действие иммуномодулятора «Суперлимф» на *C.trachomatis* в культуре *in vitro*;

4. разработать показания к применению иммуномодулятора «Суперлимф» при урогенитальном хламидиозе.

Научной новизной нашего исследования можно считать следующее: установлено, что наибольшей эффективностью при урогенитальном хламидиозе обладает зитролид по сравнению с офлоксином (отмечены преимущества по терапевтической эффективности, комплаентности, меньшему числу противопоказаний к применению).

К практической значимости исследования следует отнести то, что разработаны схемы лечения с использованием препарата зитролид и «Суперлимф» у больных урогенитальным хламидиозом.

Показана целесообразность изучения цитокинового статуса у больных урогенитальным хламидиозом.

Ранее в литературе было показано, что хламидии обладают уникальным двухфазным циклом развития. Существуют две функционально

и морфологически различные формы клеток: инфекционные метаболически неактивные элементарные тельца, приспособленные к внеклеточному существованию, и ретикулярные тельца, которые находятся внутри клеток и активно делятся. Только после конверсии ретикулярного тельца в элементарное возбудитель способен инфицировать новые клетки. Согласно современным представлениям [56,126], вполне вероятно, что L-подобная трансформация возбудителя лежит в основе одного из механизмов развития персистирующей формы хламидийной инфекции.

Исследования показали, что при ответе на облигатные внутриклеточные патогены иммунологическая недостаточность может проявляться в разных формах. В первую очередь страдает афферентное звено иммунного ответа:

- дефекты системы фагоцитоза (нарушение хемиотаксиса макрофагов на фоне снижения продукции хемокинов, неэффективный процессинг и киллинг структур возбудителя), что приводит к неспособности синтезировать цитокины и участвовать в презентации антигена;

- нарушение процесса распознавания антигена CD4 +клетками.

Наряду с этим отмечают поражение эфферентного звена (клетки-эффекторы, синтез антител).

Развитие иммунодефицита изучали на экспериментальной модели урогенитального хламидиоза. Исследователи исходили из того, что инфекция генитального тракта мышей, вызванная *C.trachomatis* (MoPn) демонстрирует подобие острой инфекции генитального тракта у женщин. При интравагинальном заражении мышей возбудитель поражает как вагинальный эпителий, так и эпителиальную поверхность тракта.

Существенное значение в реализации эффекта IFNγ имеют рецепторы. У мышей, дефектных по рецептору к IFNγ, при интравагинальном заражении C.trachomatis, серовар D, наблюдали более тяжелое течение инфекции по сравнению с процессом, вызванном у мышей дикого типа; хотя имела место

продукция интерферона, реализация его активности у экспериментальных животных отсутствовала.

Дефицит фактора некроза опухоли (TNFα) или TNF-рецептора, а также недостаточность IL-6 приводили к минимальному или неопределяемому эффекту на способность разрешения от первичной инфекции или резистентность к вторичной инфекции.

Анализ аспектов патогенеза урогенитального хламидиоза позволяет отметить ряд ключевых вопросов, имеющих значение для диагностики, терапии и контроля за проводимым лечением:

- детальная идентификация возбудителя с учетом биологического цикла и способности к персистенции;

- выбор медикаментозных средств и других методов лечения, эффективных при инфекции внутриклеточными патогенами;

- иммунологический контроль за проводимым лечением.

С момента заражения до развития клинической картины проходит от 1 недели до нескольких месяцев (обычно 1-3 недели) [79]. По данным И.И.Ильина [29], средняя продолжительность инкубационного периода составила 20,6 ±10,5 дня. Продромальные явления в виде незначительных парестезий наблюдаются очень редко. Субъективные расстройства, мало беспокоящие больных, возникают лишь с появлением отделяемого. Отличительным признаком хламидийной инфекции является преимущественно бессимптомное, реже малосимптомное течение [13,62].

Различные клинические формы УГХ предполагают разную степень выраженности иммунных нарушений. Выявление иммунодефицита при УГХ указывает на характер взаимодействия в системе хозяин-паразит и способствует более детальной диагностике заболевания. Это предполагает целесообразность иммунного подхода к терапии и контролю за проводимым лечением.

При оценке иммунного статуса больных УГХ был обнаружен целый ряд нарушений, как на уровне Т-клеточного звена иммунной системы, так и

В-клеточного звена. Наряду с этим было снижено число клеток с фенотипом CD72 (экспрессия на В-лимфоцитах, но не на плазмацитах); CD21 (на зрелых В- клетках и дендритных клетках), CD 16 (экспрессия на NK-клетках, нейтрофилах, макрофагах) . а также HLA DR-клеток [105]. Особенности иммунных нарушений при различных клинических разновидностях хламидиоза представлены нами в 1.1.3.

Одно из центральных мест среди критериев иммунодиагностики при УГХ занимает оценка цитокинового профиля. При определении уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и цервикальном секрете у больных УГХ женщин было установлено, что при обострении заболевания повышаются уровни IL-1β и TNFα. Это дало основание говорить о роли этих цитокинов в генезе УГХ. С другой стороны, резкое снижение продукции IL-1, фактора активации макрофагов, наблюдали у неизлеченных больных с процессом хронизации хламидийной инфекции.

Основными группами антибиотиков, обладающих активностью в отношении C. trachomatis являются тетрациклины, макролиды, фторхинолоны, беталактамы [4,55,59,70,77,78,136].

В отечественной практике предпочтение отдается азитромицину, обладающему более высокой антихламидийной активностью, способностью накапливаться в клетках и длительно в них персистировать [9].

Лекарственная устойчивость к антибиотикам, особые биологические свойства возбудителей инфекций, передаваемых половым путём, послужили основанием к разработке методов лечения с использованием полиоксидония [63].

Показан положительный терапевтический эффект циклоферона. Препарат является синтетическим индуктором интерферона. При введении циклоферона наблюдается сбалансированный синтез собственного интерферона, который, благодаря механизмам саморегуляции, защищает организм человека от недостатка и от излишков интерферона [75].

В последнее время при лечении заболеваний урогенитального тракта стали использовать «Суперлимф». Препарат действует путём физиологической регуляции патологических процессов в организме. Он представляет собой комплекс цитокинов, среди которых определена активность IL-1,2,6, TNFα (фактора некроза опухоли), МИФ(фактора, ингибирующего миграцию фагоцитов), TGFβ (трансформирующего фактора роста). Такой состав позволяет расширить область применения и приблизить действие препарата к физиологическому. Отметим, что регулирующее действие цитокинов на клетки-мишени определяется их композицией.

Основной механизм действия препарата связан с активацией клеток фагоцитарного ряда, фибробластов и усилением межклеточного взаимодействия. Препарат стимулирует фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов, выработку ими активных форм кислорода и азота, продукцию клетками собственных цитокинов.

В данной работе был использован твердофазный ИФА с использованием микропланшет, покрытых антителами к исследуемому антигену (структуре) цитокина, например к TGFβ. В лунки микропланшет последовательно добавляют стандарты, контроли и определяемые образцы, а затем вторые, биотинилированные антитела. Мы исследовали уровни цитокинов TGFβ и TNFα, а также их соотношение, до лечения больных и после лечения «Суперлимфом» в комплексной терапии УГХ.

С 2001 по 2004 г.г. под нашим наблюдением находилось 127 больных урогенитальным хламидиозом, в том числе 67 женщин и 60 мужчин в возрасте от 13 до 48 лет. Во всех случаях диагноз был подтвержден двумя методами (ПЦР и культуральным). Давность заболевания составила от 6 недель до 8 лет. 48 пациентов ранее получали лечение по поводу урогенитального хламидиоза (антибиотики тетрациклинового ряда, эритромицин), в результате чего отмечалась кратковременная ремиссия. 72 пациента ранее какого-либо лечения не получали.

В возрасте от 13 до 20 лет неосложненный уретрит был диагностирован у 6 больных, осложненный уретрит –у 2, неосложненный цервицит - у 7, осложненный цервицит- у 5 больных. В возрасте от 21 до 30 лет неосложненный уретрит был диагностирован у 16 , осложненный уретрит - у 12, неосложненный цервицит - у 11, осложненный цервицит – у 18 больных. В возрасте от 31 до 40 лет неосложненный уретрит был диагностирован у 10 больных, осложненный уретрит - у 6 , неосложненный цервицит – у 9, ослоджненный цервицит - у 10 больных. В возрасте от 41 до 50 лет неосложненный уретрит был диагностирован у 6,осложненный уретрит- у 22, неосложненный цервицит- у 5, осложненный цервицит- у 2 больных.

На основании анамнестических данных и осмотра больных предполагаемая продолжительность инкубационного периода составила от 7 до 50 дней. Как видно из таблицы 2, у 5 пациентов 7-10 дней, у 49-11-20 дней, у 58-21-30 дней, у 7- 41-50 дней. У больных УГХ были выявлены сопутствующие заболевания. Как видно из таблицы 3, у больных неосложненным уретритом было 11 больных хроническим тонзиллитом, 12-хроническим гастритом, 5-хроническим бронхитом, 10- с дискинезией желчных путей. Среди пациентов, страдавших осложненным уретритом, было 6 – с хроническим тонзиллитом, 7- с хроническим гастритом, 4- с хроническим бронхитом, 5- с дискинезией желчных путей.

В данном исследовании изучали действие препарата «Суперлимф» на жизненный цикл хламидий (двухфазный) в культуре *in vitro*. «Суперлимф» добавляли в культуру перевиваемых клеток McCoy в разные периоды, начиная от момента внедрения и через 24 ч после заражения, а также одновременно с инфицирующим материалом. В работе использовали две экспериментальные модели: определяли действие препарата (1) на эталонный штамм хламидий и (2) на штамм, идентифицированный в клиническом материале (соскобы из урогенитального тракта).

При использовании эталонного штамма *C.trachomatis* или штамма, идентифицированного в клиническом материале, происходило

инфицирование клеток- мишеней, выявляемое с помощью реакции прямой иммунофлюоресценции. Полученные данные продемонстрировали влияние препарата «Суперлимф» на активацию и метаболизм клеток-мишеней. Независимо от используемой дозы (120-400 мг/мл), «Суперлимф» вызывал следующие эффекты:

- увеличивал размеры цитоплазматических включений, в которых определялись с помощью ПИФ ретикулярные тельца;

- ускорял жизненный цикл хламидий, воздействуя на репродукцию возбудителя, что было отмечено по анализу цитоплазматических включений, которые уже через 24 часа достигали размеров включений, наблюдаемых при культивировании в течение 48 и даже 60 часов без «Суперлимфа»;

- повышал инфцированность клеток с 30-60% до 90-95% (эталонный штамм) и с 5-7% до 15-20% при действии на хламидии, выявляемые в клиническом материале больных.

Вероятно, «Суперлимф» опосредовано служит активатором репродуктивного цикла хламидий. Эти данные указывают на возможность с помощью «Суперлимфа» проводить ретрансформацию латентных, персистирующих форм возбудителя в репродуктивные.

До лечения у 16 больных проводили диагностическое обследование путем идентификации антигенов C.trachomatis с помощью культурального метода при использовании моноклональных антител и реакции прямой иммунофлюоресценции.

Сравнительный анализ результатов ПЦР и культурального метода показал, что в большинстве случаев оба теста были положительными, то есть не только определялась видовая структура этиологического агента УГХ, но была доказана его жизнеспособность. Между тем, среди больных, пришедших впервые на приём к врачу по поводу заболеваний урогенитального тракта, оказались пациенты с давностью заболевания свыше 5 лет. У этих больных при положительном ответе на ПЦР результаты культивирования эпителиальных клеток (соскобы) были отрицательными.

Действительно, культуральный тест выявляет жизнеспособные хламидии. При персистенции, когда нарушается бифазный цикл возбудителя, РТ не преобразуются в ЭТ и *in vitro* наблюдают атипичные включения, обладающие низкой метаболической активностью, когда возможно появление L-форм (латенция), репродукции не происходит. Сосуществование хламидий с клеткой-мишенью возможно при таких клинических случаях как бессимптомная инфекция у нелеченных больных или отсутствие эффекта антибактериальной терапии. Исходя из этой концепции, мы использовали в культуре *in vitro* иммуномодулятор «Суперлимф». Было установлено, что «Суперлимф» может служить своеобразным «механизмом запуска» репродуктивного цикла: способствует преобразованию латентных форм в РТ, тем самым создаются условия для оптимального эффекта антибиотиков.

Суперлимф назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей по 1 свече перед сном, в течение 5-10 дней

Нами были проведены клинические исследования Офлоксина с целью определения эффективности элиминации из организма возбудителя урогенитального хламидиоза. Диагноз формировался на основании клинической картины и данных лабораторных исследований. Выявление хламидийной инфекции в содержимом уретры проводили двумя методами: культуральным методом и ПЦР. Критериями исключения к применению Офлоксина являлись: возраст менее 17 и более 50 лет, беременность, лактация, чувствительность к фтору и фотосенсибилизация.

Под нашим наблюдением находилось 39 пациентов в возрасте от 17 до 50 лет (18 мужчин и 11 женщин). У 3х был диагностирован подострый уретрит, у 21 – хронический уретрит, у 5 хронический уретрит осложненный простатитом. У 10 женщин был выявлен эндоцервицит.

Офлоксин назначали по 200 мг 2 раза в день в течение 10 дней пациентам с подострым и хроническим уретритом и в течение 21 дня пациентам с хроническим осложненным уретритов. У 2 пациенток во время приёма офлоксина отмечались головокружения, слабость. Других побочных

реакций нежелательных эффектов отмечено не было. Клиническое выздоровление наблюдалось у всех пациентов, получивших Офлоксин , и было подвержено методами ПЦР (у 29 пациентов) и культуральным (у 25 пациентов), контроль был проведен сразу по окончании терапии и через три недели после проведенного лечения.

9 пациентам (5 мужчинам с хроническим уретритом и 4 женщинам с хроническим эндоцервицитом) аналогичный курс лечения был проведен непосредственно после применения препарата «Суперлимф». По окончании курса антибюиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

Через 3 месяца последующего наблюдения у 4 больных хроническим уретритом и 2 больных хроническим уретритом и простатитом вновь были выявлены *C.trachomatis*.

Через 3 месяца последующего наблюдения у больных, получавших комплексное лечение с применением «Суперлимфа» и офлоксина рецидивов отмечено не было.

Зитролид назначали 49 пациентам в возрасте от 17 до 50 лет (18 мужчин и 11 женщин). У 3х был диагностирован подострый уретрит, у 21 – хронический уретрит, у 5 - хронический уретрит, осложненный простатитом. У 20 женщин был выявлен эндоцервицит.

Противопоказанием к применению зитролида служили: повышенная чувствительность к антибиотикам–макролидам, индивидуальная непереносимость препарата (в нашем наблюдении отмечено не было).

Зитролид назначали в первый день по 500мг, затем по 250мг, 1раз в день, 9 дней. У всех наступило клиническое выздоровление. Терапевтический эффект был доказан проведенными через 3 недели ПЦР и культуральным методом. Отмечалась хорошая переносимость антибиотика, его высокая эффективность и безопасность.

По окончании курса антибиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

9 (5 мужчин с хроническим уретритом, осложненным простатитом, 4 женщины с хроническим эндоцервицитом) пациентов получали зитролид после предварительного курса препарата «Суперлимф».

По окончании курса антибиотикотерапии у всех больных отмечено клиническое выздоровление, подтвержденное лабораторными методами, через 3 недели терапевтический эффект сохранялся.

Через 3 месяца последующих наблюдений в группе больных, получавших монотерапию зитролидом, у одной пациентки вновь обнаружены *C.trachomatis*, у других пациентов достигнутый терапевтический эффект сохранялся

В группе больных, получавших «Суперлимф» и зитролид достигнутый терапевтический эффект сохранялся в течение 3 месяцев последующих наблюдений.

Полученные нами результаты свидетельствуют о преимуществах лечения УГХ «Суперлимфом» с последующей антибиотикотерапией. Наши исследования подтвердили ранее показанные преимущества применения макролидов: более высокий терапевтический эффект, меньшее количество противопоказаний к применению препарата. Зитролид отличался лучшей переносимостью.

ВЫВОДЫ

1. При диагностике хронических форм УГХ нередки случаи положительной ПЦР с идентификацией генетических структур возбудителя и слабо выраженным культуральным тестом при оценке жизнеспособности *C.trachomatis*. Это ассоциируется с иммунодефицитом, снижением эффективности назначаемых антимикробных средств и служит основанием для использования иммуномодуляторов в комплексной терапии УГХ.

2. Хронические формы УГХ могут сопровождаться иммунодефицитом: нарушением продукции цитокинов и процессов иммунорегуляции в целом.

Отмечены высокие уровни в сыворотке крови:

- супрессирующего фактора TGFβ (трансформирующий фактор роста) у 75 % обследованных с показателем > 6000 пкг/мл при норме 2000-4000 пкг/мл;

- противовоспалительного фактора TNFα (фактор некроза опухоли) примерно у 60 % обследованных с показателем >120 пкг/ мл при норме <50 пкг/мл.

3. Предложен патогенетический подход к комплексной терапии УГХ. Терапевтическая эффективность и переносимость метода лечения, включающего применение «Суперлимфа» и «Зитролида» превосходит таковую по сравнению с монотерапией «Зитролидом», «Офлоксином» или последовательным применением «Суперлимфа» и «Офлоксина».

4. Иммуномодулятор «Суперлимф» опосредованно действует на *C.trachomatis* в культуре *in vitro* путем усиления метаболизма клеток-мишеней и стимуляции репродуктивного цикла возбудителя при хронической инфекции. «Суперлимф» может служить инициатором реактивации скрытой инфекции, что важно для проявления эффективности антибиотиков.

5. Использование препарата «Суперлимф» в комплексной терапии УГХ показало, что назначение иммуномодулятора (в течение 5-10 дней) до

терапии антибиотиками приводило у больных с хроническими формами УГХ к положительным сдвигам:

- через усиление репродуктивного цикла хламидий и выход их из скрытого состояния препарат способствовал эффективности антибактериальных препаратов;

- повысилась доступность внутриклеточных патогенов для антибиотиков;

- у группы больных нормализовались показатели цитокинового статуса, что указывает на возможность воздействия на инфекционный процесс через процессы иммунорегуляции, активацию фагоцитарных антиген-презентирующих клеток, создание условий для распознавания антигена и для воздействия на инфекционный процесс;

- восстановился микробиоценоз репродуктивной сферы пациента за счет колонизации индигенной и условно-патогенной нормальной микрофлорой.

- Иммуномодулятор «Суперлимф» может быть применен при разных клинических формах хламидиоза, включая хроническую, наиболее оптимально - перед началом проведения антибиотикотерапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексанян Л.А., Вёрткин А.Л., Гуревич К.Г., Ищенко А.Л. Колобов С.В., Лобанова Е.Г., Пашков К.А. и др. // Макролиды.- М. -2000. – с.110.
2. Алёшкин В.А., Савченко Т.Н., Кострова О.М., Скирда А.А., Леонова В.А. Динамика изменения уровня специфических антител при различных формах урогенитального хламидиоза. // Вестник Российского государственного медицинского университета.-2004.-№ 5(36).- с.69-71.
3. Амозов М.Л., Дьяченко А.И. Частота выявления хронического простатита при инфекциях, передаваемых половым путём. //Инфекции, передаваемые половым путём.- 2001.- № 5.- с.18-19.
4. Бакалова Л.А. Частота экстрагенитальной локализации заболеваний, передаваемых половым путём, у женщин, особенности клиники, эффективность фторхинолонов. // Автореф. дисс.канд. мед. наук.- М. – 1992.- с.14.
5. Бакулев А.Л. Неспецифический синдром эндогенной интоксикации при болезни Рейтера //Российский журнал кожных венерических болезней.- 2003.- № 3. с.54-56.
6. Баткаев Э.А., Галлямова Ю.А., Енгоянц Г.М. Инфекции, передаваемые половым путём, и репродуктивное здоровье населения // Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2003.-№6.-с.39-42.
7. Беляева Н.В. Этиотропное и реабилитационное лечение женщин с урогенитальным хламидиозом. // Автореф. дисс. канд. мед. наук.- Ставрополь.- 1998. -с.172 .
8. Борисенко К.К. // Диагностика, лечение и профилактика ЗППП.- М. –1997. 172 с.
9. Бутов Ю.С., Васёнова В.Ю., Новик Ф.К., Аверкиев В.Г. Эффективность и безопасность неосложненного хламидийного уретрита у мужчин.//Инфекции и антимикробная терапия.- 2003.- т.5.- № 5/ 6. - с.154-155.

10. Бутов Ю.С., Сухих Г.Т., Евсеева О.Т. Роль хламидийной инфекции в патологии урогенитального тракта у женщин. // В сб. «Актуальные вопросы дерматовенерологии».- М.-1997.- с.21.

11. Бутов Ю.С., Сухих Г.Т., Евсеева О.Т. Влияние ровамицина на течение урогенитального хламидиоза. //Росс.журн.кожных и венерических болезней.- 1999.- № 1. с. 53-56.

12. Вард М.Е. Современные данные об иммунологии хламидийной инфекции. // ЗППП.- 1996.- № 6.- с.3-10.

13. Васильев М.М. Диагностика и лечение урогенитальной хламидийной инфекции. // Русский медицинский журнал.- 2000.- т. 8.- № 6(107).- с. 261-264.

14. Габидуллина С.Н.Заболевани, передаваемые половым путём, у детей и подростков. // Автореф. дисс. канд.мед.наук.- Казань- 2001.

15. Гастон Д.С.Х. Иммунологические аспекты реактивных артритов, вызванных хламидиями. // Инфекции, передаваемые половым путём.- 2001.- № 5- с.4-9.

16. Гомберг М.А., Машкилейсон А.Л., Делекторский В.В. Применение моноклональных антител для диагностики урогенитального хламидиоза. // Вест.дермат.-1986.-№8.-с.57-61.

17. Гомберг М.А. , Соловьев А.М. Относится ли офлоксацин к разряду универсальных антибактериальных препаратов, используемых в венерологии. // ИППП.- 2002.- № 5.- с.22-29.

18. Гомберг М.А., Черноусов А.Д., Соловьев А.М. Использование ммунотерапии при ведении пациентов с инфекцией, вызванной Chlamydia trachomatis. // ИППП.-2001.- №5.-с.48.

19. Громыко А.И. Продолжается эпидемия инфекций, передаваемых половым путём, в Новых Независимых Государствах восточной Европы. // ИППП, 1999.- №1.- с.76.

20. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике. //Цитокины и воспаление. -2003.- т.2. - №3.- с.20-35.

21. Дёмина Е.А., Попова О.Ю. Частота встречаемости Chlamydia trachomatis и ее ассоциации с другими возбудителями заболеваний, передаваемых половым путем. //Intern. J. on Immunorehabilitation.-2002.-т.4.-№1.-с.126.

22. Довжанский С.И. Болезни, передаваемые половым путём: группы и факторы риска. //Вестн. Дерматол. Венерол.-1998. – №4.- с.25-26.

23. Дмитриев Г.А. Урогенитальная хламидийная инфекция: подходы к диагностике и терапии. //Клиническая дерматология и венерология.- 2003.-№2.- с.24-28.

24. Дубенский В.В., Редько Р.В. Персистирующая хламидийная инфекция у больного с дивертикулом уретры.// Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2002.- № 1.- с. 50-52.

25. Захарова М.А. Роль противовоспалительных цитокинов в генезе урогенитального хламидмиоза. // International Journal on Immunorehabilitation. - 2002.- № 1- с.127.

26. Зиганшин О.Р. Состояние местного иммунитета репро-дуктивного тракта мужчин при воспалительных заболеваниях половой системы. //ЖМЭИ.- 2001.-№ 1.- с.36-39.

27. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путём. //-М.- 2003.- с.264.

28. Игликов В.А. Современная диагностика, этиологическое и физиотерапевтическое лечение осложненного и неосложненного урогенитального хламидиоза у мужчин. //Автореф. дисс.канд.мед. наук.- Свердловск.- 1998.

29. Ильин И.И. Негонококковые уретриты у мужчин. // М.- 1991.- с. 288.

30. Ильин И.И., Делекторский В.В. Хламидийные и микоплазменные заболевания мочеполовых органов. //В кн. Кожные и венерические

болезни. Под ред. Ю.К. Скрипкина, М. –Медицина.- 1996.-т.4.- с.219-262.

31. Калинина С.Н.,Тиктинский О.Л.,Александров В.П., Савичева А.М. Вильпрафен в лечении мужчин с хламидийным простатитом, осложненным бесплодием.//Вестн. дерматол. венерол. – 2003- № 2.- с.53-54.
32. Калмыкова И.В., Дубовская Л.К., Шматова Г.Д. Факторы риска заражения ИППП и ВИЧ-инфекцией среди подростков- воспитанников детских домов.//Инфекции, передаваемые половым путём.- 2001.- № 5.- с.23-27.
33. Кира Е.Ф. Пути повышения эффективности диагностики и лечения сексуально-трансмиссивных заболеваний в гинекологической практике.// Инфекции и антимикробная терапия.- 2003.-т.5.-№ 5/6.- с.152-153.
34. Кисина В.И., Новикова Е.Г., Михалко О.Е., .Беляева И.Г., Дмитриев Г.А. Комплексная терапия урогенитального хламидиоза у женщин с патологией шейки матки. // В Сб. методических материалов, подготовленных центральным научно- исследовательским кожно-венерологическим институтом МЗ РФ в 1999-2000 гг.- М.- 2001. с.29-35.
35. Кисина В.И. Клинико-диагностические аспекты и лечение вагинальных инфекций.// Consilium medicum.- 2004, т.6.- № 3.-с.202-204.
36. Кисина В.И., Колиева Г.Л.., Рахматулина М.Р. Клиническое значение и оптимальная терапия урогенитального хламидиоза у женщин// Consilium medicum, 2003, том 5, № 3, С.154-158.
37. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э.И. Система цитокинов.- М.- 2000.- с.64.
38. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мороз А.Ф. и др. Иммуномодулятор с противомикробной активностью.// Вестн.Росс.Гос.Мед.Универ.-2001.- №4.- с.28-33.

39. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Юдина С.М., Долгина Е.Н., ред. // «Суперлимф» в комплексном лечении заболеваний урогенитального тракта. - М.2003.- с.42.

40. Козлова В.И., Пухнер А.В. //Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий: Руководство для врачей.- М.- 1997.- с.536.

41. Колиева Г.Л. Оценка клинико-микробиологической эффективности фторхинолонов при неосложненной гонококковой инфекции в сопоставлении с результатами генотипирования в регионе Москвы и Московской области. //Инфекции и антимикробная терапия.- 2003.- т 5.- № 5/6 – с.152- 153.

42. Комаров Р.В., Деревянко И.И., Яковлев С.В. и др. Фармакокинетика азитромицина при урогенитальных инфекциях.// Инфекции и антимикробная терапия.- 2001.- т 3.- №6.- с.175-177.

43. Кошкин С.В., Зайцева Г.А., Эльсатари В.М. Характер иммунного реагирования у больных урогенитальным хламидиозом.//International Journal on Immunorehabilitation.- 2002.- № 1.- с.129

44. Кубанова А.А., Абудуев Н.К., Курило Л.Ф. и др. Влияние урогенитального хламидиоза и уреа-микоплазмоза на состояние сперматогенеза мужчин.// Вестн. Дерматол. Венерол.-2000.- № 6. с.7-10.

45. Кубанова А.А., Васильев М.М., Говорун В.М. и др. Современные подходы к диагностике и терапии латентной хламидийной инфекции урогенитального тракта. //Вестн. дерматол. венерол.- 2004.- № 3.- с.6-10.

46. Кубанова А.А., Тихонова Л.И. Дерматовенерология в России. Реальность и перспективы.//Вестн. Дерматол.венерол. 2004.- № 2.- с.4-11.

47. Куин Т.К. Прогресс в молекулярной диагностике инфекций, вызванных Chlamydia trachomatis.// ЗППП- 1996. - N6,- с.6-10.

48. Кулагин В.И., Селисский Г.Д., Хубиева Ф.В., Фёдоров С.М., Малишевская Н.П. // Совершенствование справочной информации по дерматологии в деятельности кожно-венерологических учреждений (Рубрикатор МКБ-10).-с.21-24

48. Кунгуров Н.В., Герасимова Н.М., Скидан Н.И. и др. Эффективность новой схемы применения сумамеда для больных хламидийной инфекцией. // ИППП.-2002.- №3.- с.20-24.

49. Кунгуров Н.В.,Игликов В.А., Кохан М.М.и соавт. Организация контроля качества дерматовенерологической помощи // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблоемы уретрогенных инфекций, передаваемых половым путём»- М., 2003, с .65.

51. Кунгуров Н.В., Кохан М.М. ,Игликов В.А., Шакуров И.Г., Курилко О.Н., Марченко Н.В. Опыт организации контроля качества дерматовенерологической помощи в Российской Федерации. //Вестн. Дерматол. венерол.- 2004.-№ 2.- с.17-20.

52. Кунцевич Л.Д., Комов Н.Н. Выявление и лечение урогенитального хламидиоза в кабинетах анонимного обследования// Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2004.- № 3.- с.45-48.

53. Мартынова В.Р., Колкова Н.И., Шаткин А.А. Хламидии и хламидиозы: клиника, биология и диагностика. //Росс. мед. Вести.- 1997.- N3. - с.49-55.

54. Машкиллейсон А.Л. Диагностика и лечение урогенитального хламидиоза. //Medical Market. - 1996. - № 24 (4). - с.62-66.

55. Машкиллейсон А.Л., Гомберг М.А. //Вестн. Дерматол. венерол.- 1992 - № 11-12. - с.3-6.

56. Машкиллейсон А.Л., Гомберг М.А., Соловьев А.М. К проблеме урогенитального хламидиоза.// В Сб. научных статей «Сумамед в лечении заболеваний, передаваемых половым путём».- М.- 1999.- с.21-27.

57. Молочков В.А., Ильин И.И. // Хронический уретрогенный простатит.- М.1998.-с. 336.

58. Молочков В.А., Кириченко И.М.. Полимеразная цепная реакция и ее применение для диагностики в дерматовенерологии. //Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2004.- № 1.- с.44-51.

59. Молочков В.А., Петрова М.С., Адеева И.А., Шамаева И.В. Лимфотропная терапия рифогалом в комплексном лечении хронической хламидийной инфекции.// В Сб. «Актуальные вопросы дерматовенерологии».- М.- 1997.- с.27.

60. Молочков В.А., Трапезникова М.Ф. Особенности урогенитальной хламидийной инфекции у мужчин и принципы её лечения// Российский журнал кожных и венерических болезней.- 1998.-№ 4.- с.50- 55.

61. Молочков В.А.,. Ильин И.И. //Хронический уретрогенный простатит.- М.- 1998.- с.200.

62. Молочков В.А., Мостакова Н.Н. Вильпрафен (джозамицин) в терапии хронического хламидийного простатита // Вестн. Дерматол. Венерол.- 2000.- № 6.- с. 61-62.

63. Пинегин Б.В., Ильина Н.И., Латышева Т.В., Лусс ЛД., Сетдикова Н.Х., Шульженко А.Е., Феденко Е.С., Варфоломеева В.И., Артамонова Е.В. и др.// Клинические аспекты применения иммуномодулятора полиоксидония.- 2002.- с.26.

64. Поляченко А.П., Гончарук А.И., Павленко А.В. Использование полиоксидония для лечения хламидийного простатита// Тез. 2-й Всероссийской научно-практической конференции «Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний».-1998.- с.21-24.

65. Порсохонова Д., Рахимова Д.А. Иммунологические и иммуно-генетичсеские аспекты осложненного хламдиоза. //Intern. Journal on Immunorehabilitation.-2002.- № 1.- с.130.

66. Рюмин Д.В. Смешанная (сочетанная) урогенитальная инфекция: ретроспектива, современное состояние проблемы. //Вестник последипломного медицинского образования. 2003. -№1.- с.34-46.

67. Садовникова Н.В. Особенности хламидийной инфекции у детей: эпидемиология, клиника, диагностика и лечение. // Автореф. дисс. канд.мед .наук.-М.-2001.

68. Селина Е.В. Роль сумамеда в лечении хламидийной инфекции урогенитального тракта.//В Сб. науч. статей «Сумамед в лечении заболеваний, передаваемых половым путём».- М.-1999.- с.28-30.

69. Сидоренко С.В. Антибактериальная терапия инфекций, вызываемых *C.trachomatis*.//Антибиотики и химиотерапия.- 2001.- т.46.- № 2.- с.3-9.

70. Скрипкин Ю.К., Пашинян М.Г. Лечение джозамицином (вильпрафеном) больных урогенитальным хламидиозом.//Вестн. Дерматол. Венерол.- 2000.- № 2.- с.49-50.

71. Смирнова А.А. Фармакокинетические и гемодинамические показатели у женщин с урогенитальным хламидиозом в процессе лечения препаратом джозамицин. //Автореф.дисс. канд. мед. наук.-М.-2003.- с.13.

72. Салехов С.А. Урогенитальный хламидиоз: патогенез, диагностика и лечение (пособие для врачей). Великий Новгород. -- 2001.-с.204.

73. Соловьев А.М., Гомберг М.А. Урогенитальный хламидиоз // Materia Medica.- 1999.- №1.- с.21-29.

74. Тадтаева З.Г., Позняк А.Л., Кудряшова М.Ю. и др. Неврологические проявления у детей с хламидийной инфекцией.//Intern. Journal on Immunorehabilitation.-2002.-№ 1, 128.

75. Тищенко Е.Л. Неспецифическая терапия рецидиви-рующегогенитального герпеса и хронического урогенитального хламидиоза.//Возрастные аспекты дерматологии, венерологии и косметологии.- М.- 2000.- с. 89.

76. Халдин А.А. Современное состояние проблемы негонококковых уретритов и перспективы их терапии.// Росс. журнал кожных и венерических болезней.- 2004.-№ 3.- с.42-45.

77. Хамаганова И.В. Опыт применения авелокса (мокси-флоксацина) в лечении урогенитального хламидиоза. //Вестн. Дерматол. Венерол.- 2003- № 2,- с.51-52.

78. Хамаганова И.В., Олисов А.О., Жерихов Е.П. Там же.- 1997.-№ 5, - с.73-77.

79. Хандсфилд Х. //Заболевания, передающиеся половым путём. М.- 2004.- с.297.

80. Хрянин А.А. Сексуальное поведение и распространенность урогенитальной хламидийной инфекции среди студентов// Вестн. Дерматол. Венерол.- 2004.-№ 2- с.45-47.

81. Хрянин А.А. Особенности полового поведения и распространенность хламидийной и гонококковой инфекций у женщин репродуктивного возраста.//Российский журнал кожных и венерических болезней.-2004.- № 4.- с.42-48.

82. Чеботарёв В.В. Лечение осложненных форм урогенитального хламидиоза - экономическая эффективность и целесообразность.// Клиническая Дерматология и Венерология.- 2003.- № 4.- с.33-36.

83. Чеботарёв В.В..Гомберг М.А. Лечение осложненных форм урогенитального хламидиоза у мужчин.// ИППП.- 2001.- № 3.- с.18-21.

84. Чернецки М., Янг Д., Селлорс Дж. и др. Методы амплификации нуклеиновых кислот при исследовании соскобов и/или мочи у мужчин и женщин в диагностике инфекций, вызванных C.trachomatis. //ЗППП.- 1996.- N6.- с.14-21.

85. Шаткин А.А., Попов В.Л. //Хламидийные инфекции.- М. Медицина.- 1986.

86. Юцковская Я.А.,Юцковский А.Д.,Маркелова Е.В., Курлеева Т.Ю. //International Journal on Immunorehabilitation –2002.-№ 1, 133.

87. Ярилин А.А. // Основы иммунологии. - М. -Медицина.-1999.- с.607

88. Alary M., Joly J.R., Moutquin J.M. , Labrecque M. Strategie screening for Chlamydial infection in a low-prevalence area. //Obstet.Gynecol. –1993.- vol.82, - p.399-404.

89. Bas S., Griffais., Kvein K. et al. Amplification of plasmid and chromosome chlamydia DNA in synovial fluid of patients with reactive arthritis and undifferentiated seronegative oligoarthropathies. //Arthr.Rheum,-1995.- vol.38,- p.1005-1013.

90. Beatty W.L., Morrison R.P. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis.//Microbiol.Rev.- 1998.- vol.58.- p.686-699.

91. Berger R.E. Acute epididimitis.//In: Sexually transmitteddiseases, 3d ed., ed.K.K.Holmes.- New York.-1999. - p.101

92. Bianchi A.,Bogard M.,Cessot G. et al. Kinetics of Chlamydia trachomatis clearance in patients with azitromycin, as assessed by first void urine testing by PCR and transcription-mediated amplification. //Sex Transm. Dis.- 1998.- vol.25/- p.366-367.

93. Blackwell A. L., Thomas P.D., Wareham KL., Emery S.L.Health gains from screening infection of the lower genital tract in women attending for termination of pregnancy.//Lancet.- 1993.- vol.342. -p.206-210.

94. Bragina E.E., Gomberg M..A., Dmitriev G.A. Electron Microscopic evidence of persistant chlamydial infection following treatment. //JEADV.- 2001.- vol.15.- p.405-409.

95. Branigan P.J., Gerard H.C., Hudson A.P., Schumacher H.R.Jr. Comparis on of synovial tissue and synovial fluids as the source of nucleic acids for detection of Chlamydia trachomatis by polymerase chain reaction. //Arthr.Rheum.- 1996.-vol.39.- p.1740-1746.

96. Burstein G.R., Zenilman J.M., Gaydos C.A.,Diener-West M., Howell M.R. et al. Predictors of repeat Chlamydia trachomatis infections diagnosed by DNA amplification testing among inner city females.// Sex Transm Infect.- 2001.- vol.77.- № 1.- p.26-32.

97. Cates W. Jr., Rolfs R. T .Jr., Aral S.O. Sexually transmitted diseases, pelvic inflammatory disease, and infertility: an epidemiologic update.//Epidemiol.Rev.-1990.- № 12.- p. 199-220.

98. Clad A.,Prillwitz J.,Hintz K.C. et al. Discordanat prevalence of Chlamydia trachomatis in asymptomatic couples screened using urine ligase chain reaction.// Eur.J.Clin.Microbiol.Infecrt.Dis.- 2001.- vol.20. -p.324-328.

99. Clausen J. D. , Chrisrtiansen G., Holst H.U.,Birkelund S. Chlamydia trachomatios utilizes the host cell microtubule network during early events of infection.// Mol.Microbiol..- 1997.- vol.25.- №3 – p. 441-449.

100. Cohen C.R., Brunham R.C.Pathogenesis of chlamydia-induced pelvic inflammatory disease.//Sexually transmitted infections.- 1999.-vol.75.-p.21-24.

101. Cross N.A.Antimicrobial susceptibility tending of *C.trachomatis*using, a revise transcriptase PCR-base method. //Antimicrob. Agents Chemother.- 1999.- vol.43.- p.2311- 2313.

102. Dosen L.K. Role of Chlamydia trachomatis //H.Tidsskr. Nor.Laegerforen.- 1998.- Vol 118.- № 18.- p. 2783-2785.

103. Ferrero D.V., Meyers H.N., Schultz D.E., Willis S.A. Performance of the Gen-Probe AMPLIFIED Chlamydia trachomatis assay in detecting C. trachomatis in endocervical and urine specimens from men attending sexually transmitted disease and family planningclinics.//J.Clin. Microbiol.- 1998.- vol. 36.- p. 3230-3233.

104. Gomberg M.A.New regimen of azythromycin in chlamydial urethritis in men with chronic prostatitis.//Int. J.STD &AIDS2001, vol.12.-suppl.2- p.119.

105. Gomberg M.A., Chernousov A.D., Soloviov A.M Immunotherapy in the management of Chlamydia trachomatis infection. //Int J.STD & AIDS 2001.- Vol.12.- suppl.2.- p.567

106. Gomes G.P.,Viegas S., Paulino A., Catry M.A. Sensitivity evaluation of the Gen-probe AMP-CT assay by pooling urine samples for the screening of Chlamydia trachomatis urogenital infection.//Int.J.STD AIDS.- 2002- vol.13- p.540-542.

107. Han Y., Coles F.B., Hipp S. Screening criteria for Chlamydia trachomatis in family planning clinics: accounting for prevalence and clients characteristics.//Family plan Perspect.- 1997 Jul-Aug.- vol.29(4).- p.163-166.

108. Horner P.J., Fernandes A. Taylor S. et al. // Int. J.STD & AIDS.-2001.- vol.12.- suppl.2- p.40.

109. Igietseme J.U., Magee D.M., Williams D.M., Rank R.G. Role for CD8+ Tcells in antichlamydial immunity defined by Chlamydia-specific T-lymphocyte clones. //Infect.Immun.-1994.-vol.62.-p.5195-5197.

110. Iles R, Ross P., McIntosh N. Chlamydia trachomatis screening in the adolescent population.// Acta Paediator (Norway).-1996 Apr.vol. p. 482-484.

111. Ito J.I., Lyons J.M. Role of gamma-interferon in controlling murine chlamydial genital tract infection. //Infect.Immun.-1999.-vol.67.- p.5518-5521.

112. Martens M. G. Detection of endocervical anti-chlamydial trachomatis immunoglobulin A in pregnant woman by immuno -sorbent assay. //Am. J. Obstet . Gynecol .-1991 May.- 164.-5 Pt.

113. Morrison R.P. and Caldwell H.D. Immunity to murine chlamydial genital infection.// Infect.Immun.-2002.-vol.70.-p. 2741-2751.

114. Morrison S.G. and Morrison R.P. Resolution of secondary Chlamydia trachomatis genital tract infection in immune mice with depletion of both CD4+ and CD8+ T cells.// Infect.Immun.-2001.- v.69.- p.2643-2349.

115. Nordbo S.A., Lund K., Skjeldestand F.E. Retesting and follow-up of first-catch urines from men yield variable results with three

116. Chlamydia trachomatis nucleic and amplification tests.//APMIS.- 2000.- vol. 108.- p.725-528.

117. Oh M.K., Richey C.M., Pate M.S., Brown P.R., Hook E.W. High prtevalence of Chlamydia trachomatis infections in adolescent females not having pelvic examinations: utility of PCR- based urine –screening in urban adolescent clinic setting. //J Adolecs. Health 1997Aug.- vol.21(2).- p.80-86.

118. Oriel J.D. The history of Chlamydial infection.// Proceedings of the European Society for Chlamydial Research, Paris.- 1994.- p.3-6.

119. Pierpoint T.,Thomas B., Judd A. et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis in young men in north west London.// Sex transm.Infect.- 2000.- vol.76.- p. 273-276.

120. Rahman M.U., Cheema M.A., Schumacher H.R., Hudson A.P. Molecular evidence for the presence of chlamydia in the synovium of patients with Reiter"s syndrome.//Arthr.Rheum.-1992.-vol.35.-p.521-529.

121. Reesink-Peters N., Osserwaade J.M., Van der Zee A.G. et al. No association of anti- Chlamydia trachomatis antibodies and severity of cervical neoplasia.//Sex Transm. Infect.-2001.- vol.77-№ 2, p. 101-102. .

122. Riddell L.A., Sherrard J . Int.Chlamydia trachomatis detection- is it doctor dependent? //J.STD AIDS.- 2000.-vol.12.-№1.- p. 58-60.

123. Ridgway G.L. Treatment of chlamydial genital infection. //J.Antimicrobal. Chemother.-1997.- vol.40.- p.311-314.

124. Risser J.M., Risser W.L., Gefter L.R. et al. Implementation of a screening program for chlamydial infection in incarcerated adolescents. //Sex Transm. Dis.- 2001.- vol. 28.- № 1.- p.43-46.

125. Stary A., Schuh E., Kerschbaumer M. et al. Performance of transcription-mediated amplification and ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods.// J. Clin. Microbiol.- 1998.- vol. 36. - p. 2666-2670.

126. Stephens R.S. Chlamydia. Intracellular Biology, Pathogenesis and Immunity. // Washington., ASM Press..-1999.- p. 143-146.

127. Stock C., Guillen-Grima F., Prufer-Kramer L. et al. Sexual behaviour and the prevalence of Chlamydia trachomatis infection in a symptomatic students in Germany and Spain. //Eur.J.Epidemiol.-2001. - vol.17.- p.385-390.

128. Su H., Feizler K., Caldwell H.D., Morrison R.P. Chlamydia trachomatis genital tract infection of antibody-deficient gene knockout mice.//Infect.Immun.-1997.-vol.65.- p.1993-1999.

129. Tait J., Peddie B., Bailey R.R. et al. Evidence of Chlamydia trachomatis infection. //Br. J. Urol.- 1985.- vol.57.- p.552-556.

130. Taylor-Robinson D., Gilroty C.B. Thopmas B.J., Keal ACS. Detection of Chlamydia trachomatis DNA in joints of reactive arthritis patients by polymerase chain reaction.//Lancet.- 1992.-vol.340.p.81-82.

131. Temmerman M. Sexually transmitted diseases and reproductive health.//Sex.Trans.Dis.-1993.- vol.69.- p.201-207.

132. Tenover F.C. Global problem of antimicrobial resistance.// Pharm World Sci.- 1995.-vol.17(5).- p.149-151.

133. Toivanen A. Reactive arthritis & Reiter"s syndrome : history and clinical features.//In:Klippel J.H.,Dieppe P.A. eds. Rheumatology – 1998- vol.2 - p.1-8.

134. Wise R., Lockley M.R. The Pharmacokinetics of ofloxacin and a review of its tissue of its penetration. // J. Antimicrob Chemother. -1988.- vol.22.(suppl).- p.59-64.

135. Whittington W.L., Kent C., Kissinger P., et al. Determinants of persistent and recurrent Chlamydia trachomatis infection in young women: results of a multicenter cohort study.// Sex Transm. Dis.- 2001.-vol. 28.- № 2.- p.117-123.

136. Wollenhaupt J., Hammer M., Pott H.G., Zeidler H. A double-blind, placebo-controlled comparison of 2 weeks versus 4 months treatment with doxycycline in chlamydia-induced reactive artritis. //Arthtr.Rheum.1997.- vol40 (suppl.)- p.143.

137. World Health Organization // Global Prevalence and incidence of Selected Curable Sexually Transmitted infections. Overwiew and Estimates/ Geneva: WHO 2001. P.189-199.