Міністерство охорони здоров'я України

Харківський національний медичний університет

**КОНОВАЛ АНЖЕЛА ОЛЕКСАНДРІВНА**

УДК: 618.12-002.2-036-07-08(043.3)

**КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ АСПЕКТИ ДІАГНОСТИКИ І ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ САЛЬПІНГООФОРИТ**

14.01.01 – акушерство та гінекологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Харків-2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Харківському національному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор

**Паращук Юрій Степанович**,

Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри акушерства та гінекології №2

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор

**Потапов Валентин Олександрович**,

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,

завідувач кафедри акушерства та гінекології

доктор медичних наук, професор

**Булавенко Ольга Василівна**,

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України,завідувач кафедри акушерства та гінекології №2

Захист відбудеться "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017 р. о \_\_\_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.64.600.01 при Харківському національному медичному університеті МОЗ України за адресою: 61022, м. Харків, пр. Науки, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Харківського національного медичного університету МОЗ України (61022, м. Харків, пр. Науки, 4).

Автореферат розісланий "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор медичних наук, професор **О.В. Мерцалова**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Хронічні запальні захворювання жіночих статевих органів займають провідне місце в структурі гінекологічної патології в репродуктивному віці з частотою 60-80% (Т.Ф. Татарчук, 2013; D. Dhasmana, 2014).

Жінки з ЗЗОМТ складають 60-65% амбулаторних гінекологічних хворих, до 30% госпіталізованих (Ю.П. Вдовиченко, 2015).Актуальними є значні труднощі ранньої діагностики запальних захворювань з недостатньою ефективністю існуючих методів лікування (О.М. Юзько, 2014).

В сучасних умовах все більше значення в етіології захворювань жіночої репродуктивної системи набуває мікст-інфекція внутрішніх статевих органів (З.М. Дубосарська, 2012). Зміна етіологічних факторів інфекційних ЗЗОМТ обумовлена ​​пристосованістю умовно-патогенних мікроорганізмів до впливу екологічно несприятливих чинників, медикаментозних препаратів, створенням умов для виникнення резистентних до лікарського впливу штамів, що стали володіти комплексом якісно нових властивостей, які роблять їх високовірулентними та стійкими до впливу імунітету (В.І. Пирогова, 2013; R. Barral, 2014).

Причинами затяжного перебігу запального процесу в органах малого тазу і частих рецидивів захворювання є зміні клітинного та гуморального ланок імунітету, зниження показників неспецифічної резистентності (З.М. Дубосарська, 2013; Т.И. Дергачева, 2013).

В етіології захворювань репродуктивної системи жінки суттєва роль належить комбінованій інфекційній природі мікроорганізмів. Тривала безсимптомна персистенція мікроорганізмів виявляється в 67,2% спостережень (L.R. Buckner, 2011; В.А. Цинзерлинг, 2012; ).

Виникнення так званих мікст-інфекцій, що, безсумнівно, істотно погіршує перебіг і прогноз захворювання (О.В. Булавенко, 2013; О.В. Мілєвський, 2014). Найімовірніше, причиною формування мікст-інфекцій є неефективність антибактеріальної терапії (О.В. Грищенко, 2012; К.Ю. Гуменна, 2014).

Лікування ЗЗОМТ має розпочинатися відразу ж після установки попереднього діагнозу, заснованого на наявності мінімальних критеріїв ВООЗ, так як профілактика віддалених наслідків, розвитку цитокінового каскаду і подальшої аутоімунної патології взаємопов'язана з термінами призначення антибактеріальної терапії та антибіотикорезистентностю (E.C. Dun, 2012;Г.М. Драннік, 2014).

Крім того, патогенетичний метод, такий як імунокорекція, повинен бути прийнятий до уваги. При недооцінці важливості імунокорекції гострих ЗЗОМТ збільшується ризик їх рецидиву, а також переходу в хронічну форму (Т.В. Герасимова, 2013).

Мікробіоценоз - це стійке співтовариство мікроорганізмів у певному середовищі. Вивчення мікрофлори, як і раніше, актуальне - умови існування, склад мікробіоценозу є предметом наукових досліджень (О.М. Юзько, 2011; R.C. Brunham, 2015).

Утворення біоплівок є однією з основних стратегій виживання бактерій у зовнішньому середовищі за умови досягнення популяцією певного рівня щільності (J.M. Bohbot, 2011; K. Kitaya, 2014). Цей феномен отримав назву “відчуття кворуму” (QS) – це механізм, що дозволяє бактеріям функціонувати як багатоклітинний організм (C. Leli, 2013; B.D. Taylor, 2014).

Особливу загрозу для макроорганізму становлять змішані біоплівки, у зв’язку з тим, що у складі біоплівок мікроорганізми в 50-500 разів є більш стійкими до дії дезінфікуючих речовин, антибактеріальних препаратів, бактеріофагів, антитіл і фагоцитів (R. Hayon, 2013; A. Mousavi, 2014; V.L. Yarbrough, 2015).

Не позбавлене сенсу розглядати мікробний консорціум вагінальних слизових оболонок організованою біоплівкою, яка специфічно переходить в патогенний стан, що включає набір різних агентів (A.L. Radtke, 2012; C. Mitchell, 2014). Першою причиною невдач при такому мікробіоценозі є наполеглива діагностика етіологічних чинників при ігноруванні патогенного потенціалу нормальної мікрофлори. Другою причиною невдач є відомі труднощі в доставці ліків до вогнища запалення. Третя, поки мало відома клініцистам причина - колективна опірність антибіотиків та інших впливів (QS) організованої в біоплівку мікробіоти локусів (N.D. Miron, 2013; M.N. Anahtar, 2015).

Значення факторів гуморального і клітинного імунітету, роль цитокінів у патогенезі ХСО ще недостатньо вивчені, відсутні дані про діагностичну значущість імунологічних маркерів, які можуть бути предикторами розвитку ХСО (В.О. Потапов, 2012; Е.П. Новикова, 2014).

Визначається достовірне підвищення концентрації індукторів гуморального і клітинного ланок імунної системи ІL-2 та ІL-4, IgA та інтегрального показника активації гуморальної ланки імунної системи циркулюючих імунних комплексів (В.В. Камінський, 2013; А. А. Конопля, 2015). Це вказує на важливу роль постійної антигенної стимуляції організму з вогнища хронічного запалення, що призводить до розвитку імунної недостатності і виникнення періодичних загострень патологічного процесу (Z. Liu, 2014; В.И. Кулаков, 2015).

Таким чином, запальні захворювання статевих органів жінок представляють собою більш складну проблему, ніж це здається на перший погляд. Мікст-інфекція, що виступає на перший план, вносить значні корективи в розуміння патогенетичних механізмів запальних захворювань, вимагає більш уважного ставлення до підбору терапії та методів профілактики.

Необхідно визначити нові підходи на підставі вивчення патогенетичних механізмів ХСО у жінок для адекватної тактики їх ведення. Результатом цього буде підвищення ефективності лікування репродуктивної дисфункції.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри акушерства та гінекології № 2 ХНМУ: «Діагностика та лікування порушень жіночої статевої системи в пубертатному та репродуктивному віці» (№ державної реєстрації 0111U001399); «Розробка нових підходів до діагностики, лікування та профілактики ускладнень у вагітних та при захворюваннях репродуктивної системи» (№ державної реєстрації 0114U004147).

**Мета і завдання дослідження:** удосконалення діагностики та підвищення ефективності терапії жінок хворих на ХСО на основі вивчення імунологічних та мікробіологічних особливостей організму, а саме формування позаклітинних нейтрофільних пасток та здатності мікроорганізмів утворювати біоплівки.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі завдання**:**

1. Провести загальну клініко-лабораторну характеристику стану хворих на ХСО.
2. Виконати мікробіологічне обстеження хворих на ХСО з визначенням здатності мікроорганізмів до формування біоплівок.
3. Визначити інтегральні показники порушення імунного стану орзанізму з утворенням позаклітинних нейтрофільних пасток у хворих на ХСО.
4. Надати концепцію патогенетичного механізму розвитку імунологічних порушень в організмі жінок хворих на ХСО.
5. Вивчити механізм дії комплексної терапії на імунний стан, на утворення позаклітинних пасток та формування біоплівок у жінок хворих на ХСО.
6. Розробити алгоритм діагностичних критеріїв та оптимальну схему комбінованої терапії жінок хворих на ХСО.

*Об'єкт дослідження:* хронічний сальпінгоофорит.

*Предмет дослідження:* імунна система, нейтрофільні пастки, мікробіоценоз, біоплівки мікробних асоціацій.

*Методи дослідження:* у роботі використано клінічні, мікробіологічні, імунологічні, біохімічні, ультразвукові, інформаційно-аналітичні, статистичні методи дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** На основі проведеного дослідження ХСО визначено здатність нейтрофілів виконувати антимікробну функцію за рахунок утворення позаклітинних пасток, які затримують більше антигенів, ніж сам нейтрофіл.

Доповнено наукові дані про особливості цитокінової регуляції при ХСО, що дозволило об'єднати зміни клітинної, фагоцитарної й гуморальної ланок імунної системи в єдиний взаємопов'язаний механізм. Дисбаланс цитокінового статусу підтримує імунозалежне запалення, а також пов'язані з ним порушення процесів апоптозу та обумовлює розвиток інтерлейкін-залежного вторинного імунодефіцитного стану.

Розширене наукове поняття імунопатогенезу на підставі того, що фактори агресії патогенів активують цитокіновий каскад й призводять до вторинного цитокінзалежного імунного дисбалансу. Тривала продукція прозапальних цитокінів приводить до виснаження клітинної ланки імунітету, пригнічення процесів неспецифічного захисту організму. Ці процеси є вирішальними у формуванні імунопатологічних механізмів супресії клітинного імунітету на етапах диференціювання та проліферації Т-клітин.

Вперше встановлено здатність ізолятів мікроорганізмів, вилучених у хворих на ХСО, утворювати щільну мікробну біоплівку з вираженою полірезистентністю до хіміотерапевтичних препаратів.

Згідно з отриманими даними про порушення імунного статусу вдосконалена його діагностика та обґрунтована необхідність застосування імуномодуляторів при комбінованій терапії хворих на ХСО.

**Практичне значення одержаних результатів.** На тлі визначення у стані біоплівки антибіотикочутливості та антибіотикорезистентності мікроорганізмів, виявленних у хворих, та діагностики вмісту нейтрофільних позаклітинних пасток, що здатні ефективніше, ніж жива клітина, вловлювати частинки латексу і будь-який антиген, а також виявлення порушення імунного статусу з пониженням абсолютних значень субпопуляцій Т-лімфоцитів та підвищенням клітин-«маркерів» апоптозу й циркулюючих імунних комплексів з дисбалансом цитокінового статусу, запропоновано оптимальні схеми діагностики та комбінованої терапії хворих на ХСО, що сприяє покращенню репродуктивного здоров’я жінок, зменшенню кількості ускладнень.Розроблено та впроваджено в практику новий спосіб ранньої діагностики органної дисфункції у жінок, хворих на сальпінгоофорит (Деклараційний патент України на корисну модель № 115754 від 25.04.2017р.) та запропоновано спосіб лікування висхідної інфекції у жінок, хворих на неспецифічний сальпінгоофорит (Деклараційний патент України на корисну модель № 115027 від 27.03.2017р.).

Матеріали дисертаційних досліджень впроваджено до практичної роботи комунальних закладів охорони здоров’я: Харківського регіонального перинатального центру КЗОЗ «ОКЛ – ЦЕМД та МК», Харківського міського пологового будинку №1, №2, гінекологічного відділення Куп’янської центральної міської лікарні в Харківській області, теоретичні положення й практичні рекомендації дисертації використовуються в педагогічному процесі кафедр акушерства та гінекології Харківського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно вибраний напрямок, постановлена мета і сформульовані задачі, проаналізована наукова література та виконано патентний пошук. Самостійно обрані методологічні підходи, згідно з якими виконані дослідження щодо вивчення стану компонентів імунної системи у хворих на ХСО. Самостійно визначені вагомі показники порушення імунного стану пацієнток хворих на ХСО. Автор узагальнила отримані лабораторні результати. Усі положення, висновки, статистична обробка отриманих результатів належать автору. У співавторстві розроблена модель імунопатогенетичних механізмів пригнічення клітинного імунітету і факторів неспецифічної резистентності при ХСО, удосконалена діагностика та надана комбінована терапія жінок хворих на ХСО.

**Апробація результатів дослідження.** Матеріали дисертації оприлюднено та обговорено на науково-практичній конференції «Aктуальні питання акушерства, гінекології та дитячої гінекології» (Харків, 2015р.); на науково-практичній конференції з міжнародною участю та Пленумі Асоціації акушерів-гінекологів України «Інноваційні підходи в акушерстві, гінекології та репродуктології», «Актуальні питання охорони материнства та дитинства в Україні» (Київ, 2013р., 2015р.); на засіданнях товариства акушерів-гінекологів (Харків, 2012р., 2014р.); на конференції молодих вчених «Актуальні питання перинаталогії» (Київ, 2016р.); на конференції з міжнародною участю «Актуальні питання акушерства та гінекології» (Харків, 2013р.); міжвузівській конференції молодих вчених «Медицина 3-го тисячоліття» (Харків, 2014р., 2015р.); у всеукраїнській науково-практичній конференції «Внесок молодих спеціалістів у розвиток медичної науки і практики» (Харків, 2013р.); на 8th, 9th International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young doctors (ISIC) (Kharkiv, 2015, 2016); на Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених "Молодь — медицині майбутнього" (Одеса, 2012р.); матеріали 75-ого міжнародного конгресу наукового товариства творчої молоді «Актуальні проблеми теоретичної, клінічної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» (Донецьк, 2013р.); на ХХ Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2013р.); на ІV міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання експериментальної, клінічної та профілактичної медицини» (Вінниця, 2013р.); на 81-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини, фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012р.); науково-практичній конференції у рамках реалізації глобальної компанії ВООЗ «Антибіотики: використовуйте обережно!» (Харків, 2016 р.).

**Публікації.** Основні положення роботи висвітлено у 22 наукових публікаціях, з них 6 статей у виданнях, що включені до переліку наукових фахових видань України, дві з яких – у міжнародних виданнях, 14 тез у матеріалах наукових з’їздів та конференцій, отримано 2 деклараційних патента України на корисну.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 197 сторінках, складається із анотації, вступу, огляду літератури, 8 розділів власних спостережень, аналіз та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, додатків. Бібліографічний розділ налічує 286 найменувань, з них 192 – вітчизняних авторів, 94 – іноземних авторів. Робота ілюстрована малюнками – 32, таблицями – 16.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали і методи дослідження**. Відповідно до поставленої мети вивчено клінічний стан, імунологічний статус й особливості мікрофлори піхви у 105 пацієнтів віком від 25 до 39 років, з них 70 жінок хворих на ХСО та 35 практично здорових жінок. Дослідні групи пацієнтів було розподілено таким чином: 1 група – 35 жінок хворих на ХСО, яким обстеження і лікування проведено відповідно до наказу МОЗ України від 15.07.2011 р. №417 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні»; 2 група – 35 жінок хворих на ХСО, у яких обстеження включало дослідження мікробіоценозу, імунного та цитокінового стану, а лікування проведено з використанням імуномодуляторів, діючою речовиною яких є a-інтерферон, згідно виявлених імунологічних порушень, а саме в дозі 500000 МО 2 раза на добу через 12 годин, курс лікування 10 днів; 3 контрольна група – 35 практично здорових жінок.

Стан репродуктивної системи оцінювали за допомогою цілеспрямованого опитування та шляхом об´єктивного обстеження. Дані оглядів реєструвалися в медичних картах стаціонарних хворих. У процесі клінічного обстеження з´ясовувалися скарги пацієнток, анамнез захворювання.

Клінічне обстеження жінок включало збір акушерсько-гінекологічного анамнезу, колірне допплерівське картирування, загальне обстеження, гінекологічний огляд, кольпоскопію. Результати вносилися до медичної карти стаціонарного хворого, яка включала паспортні дані, соціальний статус, акушерський та гінекологічний анамнез, дані колірного допплерівського картирування, дані спеціального гінекологічного дослідження, результати УЗД органів малого тазу цифровою системою ультразвукової дігностики SA-800 Live «Medison» (Південна Корея) і лабораторного обстеження у багатопрофільній клініко-діагностичній лабораторії КЗОЗ «ОКЛ ЦЕМД та МК» та Центральній науково-дослідній лабораторії ХНМУ.

Діагностика ХСО проводилася на підставі скарг на рясні або помірні слизово-гнійні виділення зі статевих шляхів, періодичні болі внизу живота, порушення менструального циклу, даних гінекологічного огляду.

Стан мікробіоценозу піхви оцінювали за вмістом муцина, лізоцима, С3 компонента комплемента, IgA, СРБ. Наявність СРБ й IgA визначали реакцією преципітації з діагностичною сироваткою.

Для оцінки вмісту мікроорганізмів в секретах статевих органів жінок досліджуваний матеріал забирали із уретри, цервікального каналу та заднього склепіння піхви і піддавали бактеріологічному дослідженню. Мікрофлору оцінювали за методом H. Haenel (1979) у модифікації С.К. Канарейкіної (1981), згідно з якою враховували: 1) частоту виявлення мікроорганізмів у даному біотопі; 2) загальне обсіменіння; 3) кількість й видовий склад: а) лактобактерій; б) стрептококів; в) стафілококів; г) ентеробактерій; д) грибів роду Candida; 4) мікробні асоціації. Для мікробіологічного дослідження матеріал забирали згідно з вимогами взяття й доставки матеріалу для мікробіологічних лабораторій, запропонованих Національною медичною академією післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ.

Вилучення ізолятів із вагінального секрету, зішкребку з цервікального каналу проводили за загальноприйнятими в мікробіології методами. Ферментативну ідентифікацію проводили за допомогою наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ®. Оптичну щільність вимірювали за допомогою мікропланшетного рідера «Multiskan EX», тип 355 (Фінляндія). Інтерпретацію, аналіз й оцінку результатів проводили за допомогою «ВАСТ – програми» АТ «Аналітика» м. Москва та «Ідентифікаційної таблиці» для візуального контролю. Культивування анаеробів проводили в мікроанаеростаті. Ідентифікація вилучених мікроорганізмів проводилася на основі морфологічних, культуральних, біохімічних й антигенних властивостей згідно з класифікацією Д.Х. Берджі (2001).

Чутливість ізолятів до антимікробних засобів з різним механізмом дії на мікробну клітину вивчали за допомогою мікротест-системи з напівкількісною реєстрацією результатів «ТНК-тест». Урахування й аналіз отриманих результатів проводили за допомогою автоматичного аналізатора «Multisran ЕХ», тип 355 (Фінляндія) й «ВАСТ - програми».

Утворення біоплівок вивчали за допомогою визначення здатності штамів бактерій до адгезії на поверхні полістиролових планшетів для імуноферментного аналізу. Штами вирощувалися за загальноприйнятими у мікробіології методами на рекомендованих для кожної родини бактерій середовищах та умовах культивування. Отримані культури змивалися суспензійними середовищами, які iндивiдуальні для кожної родини бактерій. Вимірювання оптичної щільністі початкової бактеріальної суспензії проводилося на “Densi-La-Meter” й доведення концентрації відповідно до ступенів за McFarland, яка для стрептококів складає 3McF. Кількість інокульованих планктонних клітин підраховувалася на фотометрі «Multiskan EX 355» (Фінляндія) при довжині хвилі 540 нм й виражалася в умовних одиницях оптичної щільності.

Визначення субпопуляцій Т- та В- лімфоцитів у периферійній крові проводили шляхом постановки РІФ з використанням МКАТ. Оцінювали відсоток клітин, що світяться, у люмінісцентному мікроскопі МЛД-1 (Російська Федерація) (об’єктив х90) при перегляді 200-300 клітин. Ідентифікацію лімфоцитів проводили методом “фазового контрасту”. Реактиви для визначення субпопуляцій Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, С3-конвертази комплементу периферичної крові: МКАТ, ФІТЦ помічені, використовували при постановці РІФ в імунологічних планшетах (обсяг лунки 0,2 мл).

Фагоцитарну активність нейтрофілів досліджували за здатністю поглинати частинки полістирольного латексу. Рівень лізоциму в біологічних рідинах визначали за допомогою нефелометричного методу за В.Г. Дорофейчук (1968).

Для визначення нейтрофільних пасток ставили реакцію з використанням клітинної суспензії нейтрофілів периферичної крові, виділених на градієнтних розчинах фікола-верографіна і активованих *E. coli*, *S. aureus*, потім суспензію наносили на скло, висушували і фіксували 96% етиловим спиртом з додатковою фіксацією клітин на склі за методом Р. Лілі (1969) в 10% забуференому формаліні: ядерна речовина забарвлювалася в червоно - помаранчовий колір. Проводився підрахунок 100 структур різних груп і визначався вміст у відсотках кожної морфологічної одиниці. Запропонований спосіб забарвлення дозволив оцінити ефективність фагоцитозу нейтрофіла та нейтрофільної позаклітинної пастки.

Стан репродуктивної системи оцінювали за результатами аналізу анамнестичних даних, загального клінічного обстеження, тестів функціональної діагностики, УЗД. Гормональний гомеостаз вивчали в динаміці менструального циклу: у ФФ - 7-й день, ОФ - 14-й день і у ЛФ - 21-й день. Гормональну забезпеченість менструального циклу визначали на підставі концентрації гонадотропних гормонів гіпофізу: ФСГ, ЛГ й Прл, яєчникових гормонів: Е2, Пг, Тс, а також гормону кори надниркових залоз - Кр. Протеїни гострої фази СРБ й ГГ для визначення можливого аутоімунного механізма запалення та гормональний профіль були досліджені методом ІФА з використанням стандартних тест-систем за допомогою рідера "Multiscan ЕХ-355" (Фінляндія) з довжиною хвилі 450 мм [120, 124].

Для статистичного опрацювання отримані дані оброблялися після формування бази даних в Microsoft Excel, Statistica 7.0. Для статистичної оцінки результатів використовували параметричні критерії (середнє значення - М, стандартне відхилення sd), непараметричні критерії (абсолютні (n, кількість), відносні (відсоток (p,%) і середня помилка відсотка (sP), критерій χ2) одиниці). Достовірність відмінностей між групами оцінювали за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Для перевірки гіпотези щодо рівності генеральних середніх двох незалежних незв’язаних вибірок використовували t-критерій Ст´юдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант. Результати вважалися достовірними при рівнях значимості p<0,05 і p<0,01.

При проведенні бактеріологічних та імунологічних досліджень усі використані матеріали, реактиви, інструментарій, обладнання, допоміжні засоби відповідали вимогам діючої нормативно-технічної документації. Приготування реактивів, фарб, індикаторів, поживних середовищ, що були використані при проведенні бактеріологічних та імунологічних досліджень, проводили згідно з ГОСТом 104444.1-84 (СТ СЕВ 3 883-82) “Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе”.

Використані засоби вимірювання відповідали вимогам ДСТУ2708:2006 “Повірка засобів вимірювальної техніки. Організація та порядок проведення”.

Комісією з біоетики Харківського національного медичного університету встановлено, що дане дослідження не суперечить основним біоетичним нормам (протокол № 6 від 01.06.2016).

**Результати досліджень та їх обговорення.** При аналізі клініко-анамнестичних даних жінок хворих на ХСО встановлено, що в 1 групі жінки пред'являли скарги на болі в ділянці малого тазу (71,4%), болі в поперековій ділянці (54,2%), слизово-гнійні виділення зі статевих органів (60,0%), зуд та печіння зовнішніх статевих органів (31,4%), порушення менструального циклу (40,0%). При об'єктивному огляді жінок 1 групи виявлено збільшення придатків матки у 31,4% випадках. При УЗД виявлено злуковий процес у малому тазі у 20,0 % пацієнток 1 групи. У 2 групі жінки пред'являли скарги на болі в ділянці малого тазу (94,2%), болі в поперековій ділянці (62,8%), слизово-гнійні виділення зі статевих шляхів (80,0%), зуд та печіння зовнішніх статевих органів (34,2%), порушення менструального циклу (65,7%). При об'єктивному огляді жінок 2 групи виявлено збільшення придатків матки у 34,2% випадків. При УЗД жінок 2 групи виявлено злуковий процес у малому тазі у 22,8 % випадків. Безпліддям страждали всі обстежені жінки. У 8 (11,4%) жінок ці скарги виникали до 3 епізодів за весь період захворювання, у 62 (88,6%) пацієнток скарги виникали більше 3 епізодів на протязі життя.

При виконанні колірного допплерівського картирування у таких пацієнток спостерігалося підвищення судинного опору кровообігу яєчників за рахунок збільшення ІР та ІП в яєчниковій артерії. У 10 (28,5%) жінок 1 групи ІР склав 0,9±0,22, р<0,05, ІП – 2,4±0,19, р<0,05. При дослідженні 18 (51,4%) жінок 2 групи ІР склав 1,1±0,39, р<0,05, ІП – 2,8±0,42, р<0,05. У 3 (8,7%) жінок з епізодами захворювання до 3 разів ІР склав 0,87±0,2, р<0,05, ІП – 2,3±0,19, р<0,05, а у 11 (31,4%) жінок з епізодами захворювання більше 3 на протязі життя ІР склав 1,0±0,13, р<0,05, ІП – 2,6±0,34, р<0,05. Таким чином чим більш давнім був запальний процес, тим показники судинного опору були більш підвищеними. При об'єктивному обстеженні виявлено збільшення придатків матки у 57,1 % випадків.

Дослідження гормонального профілю дозволило встановити двохфазний цикл у 4 жінок хворих на ХСО 1 групи (11,4 %) й у 8 жінок 2 групи (22,8%), що є значно рідшим порівняно з 3 контрольною групою – у 28 жінок (80%). При визначенні гормонального гомеостазу в усіх групах пацієнток виявлено, що продукція гонадотропних гормонів гіпофізу, які регулюють стероїдогенез яєчників була дещо знижена. Так, у всіх фазах менструального циклу виявлені значення ФСГ й ЛГ на нижній межі контрольних значень, однак спостерігалися поодинокі піки секреції цих гормонів в фазу овуляції (ФСГ – 10,4±1,2 МОд/л й 6,3±0,5 МОд/л та ЛГ – 11,2±1,1 МОд/л й 9,8±0,6 МОд/л відповідно, р<0,05). Середні значення концентрації Прл у групах дослідження перевищували контрольні значення й складали: у пацієнток 1 групи – 605,23±6,8 мМОд/л та 2 групи – 612,5±7,4 мМОд/л відповідно, р<0,05. Виявлена незначна дисфункція центральної регуляторної ланки репродуктивної системи може бути одним з факторів порушення процесів фолікулогенезу, що є однією з причин зниження репродуктивного потенціалу у пацієнток хворих на ХСО. При аналізі даних про вміст гормонів яєчників було визначено, що середні концентрації як Е2, так й Пг у пацієнток 1 групи знаходились в межах контрольних показників, а у пацієнток 2 групи знижені у всіх фазах менструального циклу. Так, стан гіпоестрогенії спостерігався у 94,3 % пацієнток 2 групи. Гіпопрогестеронемія спостерігалася у пацієнток 2 групи тільки у лютеїновій фазі циклу й складала 6,8±1,3 проти 7,5 нмоль/л нижньої межі нормального значення, тобто спостерігалася тенденція до зниження яєчникового стероїдогенезу.

Секреція вільного Тс знаходилася у межах нормальних значень, хоча у пацієнток 2 групи цей показник був значно вищий, ніж у пацієнток 1 й 3 контрольної групи (4,42±0,6; 2,28±0,4 й 1,34±0,2 нмоль/л відповідно, р<0,05).

В процесі роботи було досліджено й рівень Кр в системному кровообігу: у всіх пацієнток цей показник знаходився у межах фізіологічної норми. Рівень ТТГ знижений у пацієнток дослідних груп (0,09±0,001 й 0,01±0,001 мкМОд/мл, р<0,05) порівняно з контролем (0,23±0,05 мкМОд/мл, р<0,05). Необхідно відмітити той факт, що підвищений рівень Прл супроводжувався зниженим рівнем ТТГ у пацієнток дослідних груп, особливо 2 групи, порівняно з 3 контрольною групою, що свідчить про компенсовану функцію стрес-реалізуючої системи у пацієнток хворих на ХСО.

Розглядаючи вплив незначної гіперсекреції пролактину на функцію яєчників, слід звернути увагу на м’яке пригнічення в умовах гіперпролактинемії дії гонадотропінів на яєчники, що підтверджувалось зниженою продукцією естрогенів. Крім того, на яєчниковому рівні м’яка гіперпролактинемія знижувала відповідь на стимуляцію ЛГ, що призводило до зниження концентрації ПРГ. За результатами досліджень, тенденція до зниження рівня естрогенів й прогестерону у пацієнток хворих на ХСО на фоні гіперпролактинемії більш виражена, ніж при нормальному рівні пролактину.

При вивченні маркерів запалення: СРБ й ГГ, які відносяться до білків гострої фази запалення, було встановлено, що їх рівні дещо підвищені: СРБ - у пацієнток 1 групи в 2,4 рази (5,1±0,6 мг/л), а 2 групи – в 2,5 рази (5,4±0,8 мг/л), ГГ - у пацієнток 1 групи в 2 рази (3,8±0,5 г/л), а 2 групи – в 2,9 рази (5,6±0,7 г/л) порівняно з такими у жінок 3 контрольної групи (2,1±0,09 мг/л та 1,9±0,03 г/л відповідно) та помірне зниження показників СРБ та ГГ після лікування у пацієнток 1 групи (4,8±0,4 мг/л й 3,0±0,6 г/л), значне зниження у пацієнток 2 групи (3,0±0,3 мг/л й 2,1±0,4 г/л).

При вивченні факторів неспецифічного захисту при ХСО було встановлено, що у пацієнток 1 та 2 груп була знижена кількість sIgA й пригнічена продукція лізоциму. Слід зазначити, що у 3 контрольній групі пацієнтів вміст sIgA з віком достовірно зростав, у той час як в групах хворих на ХСО цього не відбувалося.

Аналіз даних біологічних властивостей цервікального та вагінального секрету показав зниження лізоцимної активності у пацієнток 1 групи (386,2±5,1 й 371,4±5,3 мкг/мл, р<0,05) й 2 групи (346,5±23,4 й 338,1±26,2 мкг/мл, р<0,05) відповідно порівняно з групою жінок без ХСО (1294,8±54,9 й 938,1±49,6 мкг/мл, р<0,05). Позитивна реакція на СРБ була виявлена у високих концентраціях у пацієнток 1 групи (2,16±0,31 й 2,34±0,3 ум.од. відповідно, р<0,05).

При вивченні маркерів запалення: СРБ й ГГ, які відносяться до білків гострої фази запалення, а СРБ, насамперед, приймає участь у регуляції функції імунокомпетентних клітин – моноцитів, Т-клітин, натуральних кілерів, клітин супресорів за рахунок зв`язування з Fc-рецептором на поверхні вказаних клітин, було встановлено, що їх рівні дещо підвищені: СРБ – у пацієнток 1 групи в 2,4 рази (5,1±0,6 мг/л), а 2 групи – в 2,5 рази (5,4±0,8 мг/л), ГГ - у пацієнток 1 групи в 2 рази (3,8±0,5 г/л), а 2 групи – в 2,9 рази (5,6±0,7 г/л) порівняно з такими у жінок 3 контрольної групи (2,1±0,09 мг/л та 1,9±0,03 г/л відповідно) та помірне зниження показників СРБ та ГГ після лікування у пацієнток 1 групи (4,8±0,4 мг/л й 3,0±0,6 г/л), значне зниження у пацієнток 2 групи (3,0±0,3 мг/л й 2,1±0,4 г/л).

Серед факторів неспецифічного захисту статевих органів велике значення має вміст муцину. В результаті дослідження встановлено, що підвищення вмісту муцина у цервікальному й вагінальному секреті склало: в осіб 1 групи (30,62±0,58 й 29,92±0,65 ум.од., р<0,05) та в осіб 2 групи – 26,21±0,44 й 21,39±0,36 ум.од. відповідно порівняно з 3 контрольною групою жінок (15,48±0,26 й 13,42±0,53 ум.од., р<0,05). В результаті проведеної комплексної терапії у жінок 2 групи вміст муцину в цервікальному й вагінальному секретах склав 16,22±0,63 й 14,51±0,81 ум.од. відповідно, р<0,05.

Фагоцитарна активність нейтрофілів звичайно підвищується на початку розвитку запального процесу. Її зниження веде до підтримання аутоімунного процесу, тому що при цьому порушується функція руйнування і виведення імунних комплексів з організму. Фагоцитарна кількість нейтрофілів цервікального та вагінального секрету 1 групи (2,2 ± 0,32 й 2,9±0,34 од.) та їх поглинальна здатність - 48,1±2,3% й 50,1±2,1%, р<0,001 до лікування нижче за даними після отриманого лікування. У 2 групі фагоцитарна кількість нейтрофілів цервікального та вагінального секрету склала (2,3±0,31 й 2,5±0,28 од. р<0,05, р<0,01 відповідно), їх ФІ – 42,6±2,5% й 46,5±2,1%, р<0,001 до лікування відповідно, були нижче контрольних значень (6,9±0,5% й 7,7±0,4% відповідно). Після проведеного лікування у 2 групі виявлено значне покращення показників, а саме ФЧ став дорівнювати 6,1±0,3 й 6,4±0,2 од., р<0,05, р<0,001 відповідно, а ФІ склав 76,6±1,3%, р<0,001 й 78,2±3,3%, р<0,05 відповідно.

При визначенні нейтрофільної колонізаційної резистентності слизових оболонок нижніх відділів репродуктивної системи у жінок хворих на ХСО було вивчено загальний вміст й функціональну активність нейтрофілів порівняно з 3 контрольною групою. В результаті проведених досліджень встановлено, що у цервікальному і вагінальному секретах зустрічалися еозинофіли, макрофаги, базофіли і лімфоцити, але домінуючими клітинами були нейтрофіли.

При вивченні функціональної активності нейтрофілів встановлено, що нейтрофіли секретів нижнього відділу генітального тракту фагоцитують частинки латексу, причому у нейтрофілів цервікального секрету ця функція проявляється сильніше, ніж у гранулоцитів піхви.

В останні роки показано, що навіть після своєї загибелі нейтрофіли можуть виконувати антимікробну функцію за рахунок утворення позаклітинних пасток. Порівнюючи фагоцитарну активність незмінених нейтрофілів та ефективність захоплення бактерій в нейтрофільних пастках, визначили, що сітки нейтрофілів, які розташовані позаклітинно, здатні затримати ефективніше, ніж сам нейтрофіл, антигени. При люмінісцентному дослідженні препаратів зафарбованих акрідіновим помаранчевим встановлено, що після взаємодії з антигенами in vitro нейтрофіли утворюють позаклітинні сіткоподібні структури, які добре візуалізуються. Вони здатні краще, ніж жива клітина, вловлювати і частинки латексу, і будь-який антиген.

У результаті проведеного дослідженнявстановлено, що у жінок 1 групи значення інтенсивності фагоцитозу після застосування терапії становило у цервікальному секреті: для латексу – 2,3±0,18 од., р<0,05, для *E. coli* – 2,4±0,16 од., р<0,05 і для *S. aureus* – 3,0±0,18 од., р<0,05 , що в середньому в 1,4 рази нижче вмісту антигенів в NETs відповідно для латексу – 4,1±0,38 од., р<0,05, для клітин *E. coli* – 4,3±0,16 од., р<0,05 і для клітин *S. aureus* – 4,5±0,19 од., р<0,05. Аналогічні результати виявлені при дослідженні фагоцитарного числа та кількості антигенів в NETs у вагінальному секреті: для латексу – 2,7±0,14 од., р<0,05 , для *E. coli* –2,5±0,16 од., р<0,05 і для *S. aureus* – 2,9±0,18 од., р<0,05, що в середньому в 1,2 рази нижче вмісту антигенів в NETs відповідно для латексу – 6,2±0,27 од., р<0,05, для клітин *E. coli* – 6,5±0,25 од., р<0,05 і для клітин *S. aureus* – 7,1±0,29 од., р<0,05.

Проведені дослідження щодо вмісту антигенів в нейтрофілах цервікального та вагінального секретах жінок 2 групи після лікування дозволили встановити, що кількість фагоцитованих частинок латексу, *E .coli*, *S. aureus*, які виявляються в екстрацелюлярних нейтрофільних пастках перевищувала аналогічні показники у жінок 1 групи в середньому у 2 рази.

В результаті вивчення загального стану імунітету організму при ХСО було встановлено, що в 1 та 2 групах характерне достовірне зниження кількості лейкоцитів й лімфоцитів у периферичній крові. Слід відмітити, що лімфопенія у пацієнток з ХСО в анамнезі була не тільки абсолютною, але й відносною. Субпопуляційний аналіз лімфоцитів показав, що лімфопенія супроводжувалась вираженим зниженням вмісту окремих субпопуляцій цих клітин. Так, у всіх пацієнток хворих на ХСО була достовірно зниженою кількість всіх вивчених субпопуляцій Т-лімфоцитів з маркерами диференціації CD3+, CD4+, CD8+. Співвідношення CD4+/CD8+ також було достовірно нижче, ніж у контролі.

Отже, проведені імунологічні дослідження дозволили встановити, порівняно з 3 контрольною групою, наступні показники: у пацієнток 1 та 2 групи змінюються параметри клітинного імунітету: статистично значущі зміни відмічалися за кількістю CD3+: 45,3±3,2 й 51,2±3,15% відповідно (р<0,05). Відмічалося достовірне зниження CD4+ – 22,6±3,2 й 25,4±3,26% і CD8+ – лімфоцитів: 15,8±3,28 й 16,49±3,12% відповідно (р<0,05).

При визначенні цитокінового статусу встановлено, що у пацієнток з ХСО зафіксовано достовірне підвищення концентрацій IL-1β, IL-6 і TNF-α (р<0,001) порівняно з 3 контрольною групою, а рівень протизапального інтерлейкіну IL-4 був достовірно знижений (р<0,05). Середні рівні прозапальних цитокінів пацієнток з ХСО в анамнезі достовірно перевищували нормальні показники, а протизапальних були значно знижені порівняно з 3 контрольною групою, тобто спостерігався дисбаланс цитокінового статусу. Активність IL-6, TNF- і IL-1β у сироватці крові значно відрізнялася від аналогічних показників 3 контрольної групи. Найбільш високий рівень IL-6 був виявлений у пацієнток 1 групи, різниця його вмісту, порівняно з 3 контрольною групою, була достовірною, як і у пацієнток 2 групи. Підвищення рівня TNF-, більш за все пов’язано з посиленням експресії цього цитокіну патогенами. Цитокіновий профіль у пацієнток 1 групи суттєво не відрізнявся від виявлених порушень у пацієнток 2 групи, та не залежив від вираженості запального процесу.

При активації системи комплемента ключовим компонентом є С3-компонент, продукт розщеплення якого С3b активує термінальні компоненти мембранатакуючого комплексу. Рівні С3 й С5 компонентів комплемента при обстеженні були знижені у пацієнток 1 групи в 4,5 і 3,5 рази відповідно (10,2±1,7%; 22,4±0,8%) та у пацієнток 2 групи в 3,4 й 2,8 рази відповідно (13,4±1,2%; 28,7±0,9%), що пов’язано з наявністю таких факторів агресії патогенів, як: протеїнкіназа, яка руйнує С5 фракції комплемента, тейхоєва кислота, що здатна зв’язувати С3 – конвертазу комплемента, Fc-реактивний фактор, що перешкоджає активації системи комплемента в цілому. Завдяки отриманій імунокорегуючій терапії у 2 групі жінок рівень компонентів комплементу збільшився до рівня контролю (40,1±1,2%; 68,9±0,6% відповідно).

При ХСО виявлено достовірне збільшення титру ЦІК в основних групах у порівняні з контрольною групою. Ці показники вказують на неповноцінність клітин, що фагоцитують на фоні тривалої персистенції антигену в організмі, що підтверджується високим бактеріальним обсіменінням піхви. Паралельно з високим вмістом ЦІК у цих хворих відмічалось зниження комплементарної активності, що може бути пов’язано з факторами агресії патогенів.

При вивченні гуморальної імунної відповіді виявлені статистично достовірні зміни, які характеризувалися зниженими критеріями абсолютного числа В-лімфоцитів з фенотипом CD22+, низькими показниками компонентів комплемента. Аналіз рівнів імуноглобулінів дозволив встановити, що показник сироваткового IgА суттєво не відрізнявся, а IgG був достовірно підвищений. Було встановлено дефіцит CH50. Крім того, були вивчені процеси апоптозу - визначалися значення специфічного поверхневого рецептора CD95+. У пацієнток 1 та 2 груп виражений дисбаланс клітинної ланки імунної системи, при якій рівень Т-лімфоцитів, що містить на поверхні своєї мембрани рецептори CD95+, значно перевищує значення контрольних, що свідчить про активацію запрограмованої загибелі лімфоцитів.У той же час у пацієнток 1 й 2 груп виявлено зниження експресії маркера CD25+ на поверхні Т-клітин, що є α-ланцюгом рецептора для ІL-2. Виявлене зниження рівня імунорегуляторних CD4+ й CD25+ T – регулюючих лімфоцитів в периферичній крові може свідчити про розвиток аутоімунного запалення.

В результаті дослідження пацієнток 1 й 2 груп було встановлено порушення мікробіоценозу піхви. Аналізуючи дані, які одержали, виявлено, що найбільш частими мікроорганізмами, що були вилучені з відокремлюваного піхви, були: *Peptostreptococcus spp.* – 80% й 74,2%, *Enterococcus* – 68,6% й 57,1%, *S. aureus* – 62,8% й 60%, *E. coli* – 62,8% й 68,6%, *Fusobacterium spp.* – 60,0% й 57,1%; *S. pyogenes* – 57,1% й 60%, *Candida spp.* – 45,7% й 42,8%. Дисбіотичні порушення відіграють суттєву роль у патогенезі сальпінгоофориту й поглиблюють важкість перебігу ускладнень. В результаті проведеного дослідження асоціацію грибів роду *Candida* із *Staphylococcus* було виявлено у 21,4% випадків, *Streptococcus* – у 38,6% випадків, *Proteus* й *Staphylococcus* – у 12,8%, *Neisseria* – 8,6%, *Neisseria* й *Staphylococcus* – 5,7%.

Результати проведених досліджень показали, що в 47,1 % випадків мала місце патологічна контамінація піхви грибами родини *Candida*. У якості асоціантів найчастіше виступали патогенні види стафіло- й стрептококів, ентеробактерії. Серед представників кокової флори виявлялися стафілококи, які зустрічалися у осіб двох досліджуваних груп, обсіменіння якими в середньому дорівнювало 1,7·105±1,2·104і 4,1·104±1,5·103 КУО/од.суб. відповідно (р<0,05), серед яких найбільш часто був *S. aureus* при щільності мікробної колонізації 6,3·104±1,2·103 й 7,5·104±1,3·103 КУО/од. суб. відповідно (р<0,05). Стан анаеробної флори у пацієнток був різноманітним. Так, у мікрофлорі піхви досліджуваних груп *Veillonella spp.* й *Prevotella spp.* виявлялися з обсіменінням, що дорівнює 1,8·104±1,2·104 та 2,9∙104±1,6∙103 й 1,5·104±1,6·104 та 3,7∙103±1,4∙102 КУО/од.суб. відповідно (р<0,05). *Bacteroides spp.* виявлявся з обсіменінням 4,4·102±1,8·101 й 1,3∙103±1,6∙102 КУО/од.суб. (р<0,05). Водночас з цим у мікробіоценозі піхви реєструвався *Propionibacterium spp.*, щільність колонізації якого дорівнювала 1,9·105±1,6·104 й 5,7∙104±1,2∙103 КУО/од.суб. відповідно (р<0,05).

14

Дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявлені у піхві жінок з сальпінгоофоритом обох дослідних груп, причому у 2 групі обсіменіння ними склало 4,4·103±2,3·103 КУО/од.суб. (р<0,05), що перевищувало відповідні показники у пацієнток 1 групи - 2,3·103±1,1·103 КУО/од.суб. (р<0,05).

Вивчення бактеріального обсіменіння піхви пацієнток ХСО, перебіг якого різнився за часом, дозволило виявити характерні мікробіоценотичні ознаки, а саме: виявлена структурна перебудова біоценозу, яка проявлялась підвищенням значущості *S. aureus* (82,8%), *Peptostreptococcus spp*. (77,1%), *Enterococcus* (68,6%) й *E. сoli* (64,3%), зменшенням домінування *Lactobacillus spp.* (2,8%).

Важливою особливістю мікробіоценозу піхви обстежених пацієнток є перехід у домінуючу групу мікроорганізмів дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Серед додаткових видів слід відмітити появу *Enterobacter* (35,7%).

Результати проведення порівняльної оцінки чутливості до антимікробних препаратів, які найчастіше висівали у пацієнток з сальпінгоофоритом (стафілококів, стрептококів, ентеробактерій й облігатних анаеробів) показала, що частота виявлення стійких до антимікробних препаратів ізолятів стафілокока значно коливалась й залежала від тривалості процесу.

Визначення резистентності до антимікробних препаратів ізолятів показало, що всі штами були варіабельні до антимікробних препаратів, а більшість була резистентною до доксицикліну й ампіциліну та помірно стійка до гентаміцину. При визначенні чутливості ізолятів до антибактеріальних препаратів встановлено, що більшість з них були полірезистентними (90%). Відмічалась варіабельна чутливість до антимікробних препаратів, що відносяться до глікопептидів, фузидинів, рифампіцинів й лінкозамідів.

Спосіб існування мікроорганізмів у формі біоплівки створює великі проблеми в медичній практиці у зв'язку з тим, що у її складі мікроорганізми стійкі до дії дезинфікуючих речовин, антибактеріальних препаратів, антитіл і фагоцитів. Зіставлення характеристик росту у двох фізіологічних станах ізолятів дозволив відмітити підвищення щільності біоплівки. Результати тестування ізолятів на здатність до формування біоплівок довели, що усі вилучені патогени утворювали щільну біоплівку. У результаті дослідження було становлено, що оптична щільність мікробних угрупувань збільшувалась на протязі 48 годин інкубації й була достовірно вищою, ніж у біоплівках, що утворювалися кожним асоціантом окремо.

Аналіз результатів показав, що планктонні клітини патогенів, що тестувалися, активно формували біоплівки протягом 24 годин, а анаеробні бактерії – протягом 48 годин; за ступенем біоплівкоутворення найактивнішими були стафілококи, кишкова паличка й гриби роду кандида, актіноміцети. Дослідження чутливості мікроорганізмів у формі біоплівок до протимікробних препаратів виявило, що вони несприятливі до ХТП у терапевтичних дозуваннях. Узагальнюючи результати з вивчення антибактеріальної активності протимікробних препаратів, що використовуються в клініках, відносно штамів бактерій слід зазначити їх невисоку ефективність.

Після проведеної терапії жінок хворих на ХСО було встановлено, що оптична щільність добових біоплівок ізолятів значно знижувалась. Однак, встановлено, що після проведеної запропонованої терапії у жінок 2 групи щільність добових біоплівок *E. coli* пригнічувалась у 2,9 рази, а у жінок 1 групи – у 1,9 рази; щільність добових біоплівок *S. epidermidis* у жінок 2 групи пригнічувалась у 5,1 раз, а у жінок 1 групи – у 2,7 рази; *Enterobacter -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 6,5 рази, а у жінок 1 групи – у 3,4 рази; *Actinomyces spp. -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 6,8 рази, а у жінок 1 групи – у 3,9 рази; *Veillonella spp. -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 4,5 рази, а у жінок 1 групи – у 3,4 рази; *Enterococcus -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 6,1 рази, а у жінок 1 групи – у 4,9 рази; *Micrococcus spp. -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 4,1 рази, а у жінок 1 групи – у 2,3 рази; *S. pyogenes -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 5,9 рази, а у жінок 1 групи – у 3,2 рази; *Prevotella spp. -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 4,2 рази, а у жінок 1 групи – у 2,6 рази; *Candida spp. -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 7,5 рази, а у жінок 1 групи – у 4,1 рази; *S. aureus -* у жінок 2 групи щільність добових біоплівок пригнічувалась у 5,4 рази, а у жінок 1 групи – у 2,7 рази. Отже, запропонована терапія пригнічувала здатність ізолятів формувати щільні біоплівки, як один з основних факторів патогенності мікроорганізмів.

Результати мікробіологічних досліджень співставляли з даними контрольної групи, що дозволило встановити: комбіноване лікування хворих на ХСО сприяло поліпшенню показників мікроекології піхви у всіх пацієнток 2 групи, що досліджувалися. Вказані зміни проявлялися підвищенням частоти висівання представників нормофлори у 94,3 % пацієнток. Що стосується відновлення нормофлори піхви, то позитивний ефект терапії проявився зниженням частоти виявлення *Staphylococcus aureus* з 62,8 % (6,08±1,7 lgКУО/мл, р<0,05) до 8,6 % (5,01±1,7 lgКУО/мл, р<0,05), *Staphylococcus epidermidis* з 5,7 % (4,07±1,89 lgКУО/мл, р<0,05) до 2,8 % (3,66±1,69 lgКУО/мл, р<0,05), припиненням висівання *Streptococcus haemoliticus*. На тлі вищевказаних змін мікробіоценозу спостерігалося достовірне зниження контамінації грибами роду *Candida* (з 51,4 % до 8,6 %; з 6,2±0,13 lgКУО/мл до 0,57±0,17 lgКУО/мл, р<0,05). У пацієнток 2 групи не виявлено умовно-патогенних бактерій кишкової групи. У пацієнток 2 групи після лікування не виявлено умовно-патогенних бактерій кишкової групи.

Вивчений структурно-функціональний стан імунної системи при ХСО дозволили обґрунтувати концептуальну модель імунопатологічних механізмів пригнічення клітинної ланки імунітету та неспецифічної резистентності. Її положення зводяться до того, що фактори агресії патогенів активують цитокіновий каскад й призводять до вторинного цитокінзалежного імунного дисбалансу. Тривала продукція прозапальних цитокінів спричиняє до виснаження клітинної ланки імунітету, пригнічення процесів неспецифічного захисту організму. Ці процеси є вирішальними у формуванні імунопатологічних механізмів супресії клітинного імунітету на етапах диференціювання та проліферації Т-клітин.

На підставі отриманих даних можна констатувати, що в основі розвитку ХСО лежать імунні порушення. У процесі захворювання розвивається вторинний цитокінзалежний імунодефіцит. Патологічні стани, що обумовлені або супроводжуються вторинною імунною недостатністю, вимагають адекватної імунокорекції. При незбалансованій компенсаторній протизапальній відповіді показано застосування препаратів із прозапальною активністю, що поряд з посиленням неспецифічних механізмів протиінфекційного захисту ефективно стимулюють розвиток специфічної імунної відповіді й активують репаративні процеси в ушкоджених тканинах.

При запальному процесі основною рисою всієї сукупності змін обміну речовин є сполучення гіперпотреби організму в різних субстратах для адаптації до підвищених витрат енергії, тобто гіперкатаболізм, що є сумарною метаболічною відповіддю організму на генералізовану запальну реакцію. З метою неспецифічної терапії для нормалізації клітинного метаболізму, ослаблення токсичних проявів клінічних ізолятів, підвищення ефективності антибактеріальних препаратів, до протимікробної терапії необхідно використовувати імунокорегуючу терапію.

Після проведення терапії в 1 групі жінок відмічались зміни, що стосувались зменшення скарг на болі в ділянці малого тазу в 1,2 рази (57,1%), болі в поперековій ділянці в 1,2 рази (42,8%), слизово-гнійні виділення з піхви в 1,4 рази (42,8%), зуд та печіння зовнішніх статевих органів в 1,8 рази (17,4%), порушення менструального циклу в 1,4 рази (28,6%). Після отримання комбінованої терапії у жінок хворих на ХСО 2 групи відмічалось покращення загального стану завдяки зменшення скарг на болі в ділянці малого тазу в 3,7 рази (25,7%), болі в поперековій ділянці в 1,7 рази (37,1%), слизово-гнійні виділення зі статевих шляхів у 4,7 рази (17,1%), зуд та печіння зовнішніх статевих органів в 3 рази (11,4%), порушення менструального циклу в 2 рази (31,4%).

При об'єктивному огляді виявлялось збільшення придатків матки лише у 9 жінок з 1 групи, що склало 12,8%, і у 2,4 рази менше від вихідних даних. При об'єктивному дослідженні визначалось збільшення придатків матки лише у 5 жінок з 2 групи дослідження, що склало 14,2%, що було у 2,4 рази менше від вихідних даних. Злуковий процес у малому тазі за УЗД виявлявся лише у 15,7% жінок з обох груп, в 1,3 рази результат краще ніж до терапії. За 3 роки спостереження за жінками хворих на ХСО обох груп відмічалось загострення захворювання в 1 групі у 11 жінок (31,4%), в 2 групі у 6 жінок (17,4%). Все це відображає покращення соматичного стану жінок, особливо другої групи, завдяки зменшенню скарг та більш виражених кількісно-якісних змін за даними додаткових методів дослідження.

При застосуванні комплексної терапії, в яку включали імуномоделюючі біологічні препарати, активною речовиною яких є α-2 інтерферон пацієнткам 2 групи з ХСО на підставі виявлених порушень, було встановлено, що показники місцевого імунітету поліпшувались, але відрізнялись від 3 контрольної групи пацієнток. Так, рівні лізоциму й sIgA збільшувались, а вміст муцину у цервікальному й вагінальному секретах зменшувався. У той же час рівень секреторного С3 компоненту комплемента підвищувався у 2,17 рази, що свідчило про активне відновлення факторів місцевого імунітету.

Результати дослідження показали, що стан системи неспецифічного захисту, у тому числі й фагоцитарної системи пацієнток хворих на ХСО, яким призначили схему комбінованої терапії, стабілізується. Підвищуються показники фагоцитарного індексу й фагоцитарне число.

При дослідженні стану системного імунітету й цитокінового статусу було встановлено, що всі досліджувані показники змінювались. Так, рівні CD3+ и CD8+ помітно підвищувались (56,2±3,12 й 22,12±3,26% відповідно, р<0,05) порівняно зі станом до терапії, параметри CD19+ (11,38±3,29%, р<0,05), CD22+ (12,9±1,57%, р<0,05) відповідали параметрам 3 контрольної групи. Аналізуючи субпопуляційний склад лімфоцитів, необхідно зазначити стан кілерної ланки. При ХСО до терапії відмічалось достовірне зниження кількості натуральних кілерів (CD57+ - 13,69±1,35%, р<0,05), а при застосуванні запропонованої схеми терапії цей показник збільшувався й складав 13,17±1,93 % (р<0,05).

Що ж до стану цитокінового балансу, то показник TNF-α знижувався порівняно з таким до терапії, однак залишався підвищеним порівняно з 3 контрольною групою. Одним із цитокінів, що обумовлюють розвиток аутоімунних процесів в організмі, є TGF-β, Так, за результатами наших досліджень рівень TGF-β у пацієнток хворих на ХСО в результаті комбінованої терапії рівень TGF-β підвищився у 4,6 рази.

Аналіз даних свідчить про те, що терапія хворих на ХСО за запропонованою схемою терапії, в яку включали імуномоделюючі біологічні препарати, призводить до відновлення функцій як місцевого, так і загального імунітету. Застосування комбінованої терапії виявилося найбільш раціональним. При веденні хворих на ХСО з метою індивідуалізації лікувальної тактики доцільним є виділення збудника, встановлення рівня антибіотикорезистентності, тестування ізолятів на здатність до біоплівкоутворення та визначення адгезивної активності у формі ізоляту та мікробній асоціації; адекватність антибактеріальної терапії: її режим і своєчасність. З метою діагностики і оцінки місцевого імунного статусу доцільним є визначення в цервікальному й вагінальному секретах рівнів IgA, муцину, фагоцитарної активності нейтрофілів й функціональної активності екстрацелюлярних позаклітинних пасток, а системної імунної відповіді - визначення показників клітинної й гуморальної ланок імунітету й цитокінового статусу. В подальшому для лікування використовувати імуномоделюючі препарати, активною речевиною яких є α-2 інтерферон, які перешкоджають формування біоплівок, завдяки чого знижується відсоток антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, також покращується здатність нейтрофілів формувати позаклітинні пасти, які більш тривай час боряться з виявленими антигенами при розвитку запалення, що сприяє зниженю кількості та вираженості хронізації запальної реакції та в подальшому покращенню репродуктивного здоров’я.

**ВИСНОВКИ**

1. Хронічні запальні захворювання жіночих статевих органів займають провідне місце в структурі гінекологічної патології з частотою 60-80%. При загальному обстежені жінок виявлені специфічні скарги та об'єктивні дані, як для запальних захворювань додатків матки,які після отримання комбінованої терапії мали позитивну динаміку. При виконанні колірного допплерівського картирування спостерігалося підвищення судинного опору кровообігу яєчників за рахунок збільшення індексу резистентності та індексу пульсативності в яєчниковій артерії. Встановлено підвищений рівень пролактину та зниження рівня тіреотропного гормону, що свідчить про компенсовану функцію стрес-реалізуючої системи.

2. Структурна перебудова біоценозу проявлялася підвищенням значущості *S. aureus* (82,6%), *Peptostreptococcus spp*. (78,0%), *Enterococcus* (69,0%) й *E. coli* (64,2%), зменшенням домінування *Lactobacillus spp.* (3,0%). Результати тестування ізолятів на здатність до формування біоплівок довели, що усі вилучені патогени утворювали щільну біоплівку. Зіставлення характеристик росту у двох фізіологічних станах ізолятів дозволило відмітити підвищення щільності біоплівки. Антибіотикорезистентність ізолятів у формі біоплівок вище, ніж у планктонній.

3. Відбувалося порушення імунного статусу з пониженням абсолютних значень субпопуляцій Т-лімфоцитів (CD3+, CD4+, CD8+, CD22+) та підвищенням клітин - «маркерів» апоптозу (CD95+) й циркулюючих імунних комплексів з дисбалансом цитокінового статусу: активація прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-1β, IL-6) супроводжується пригніченням рівня протизапального цитокіну IL-4 та TGF - β. Встановлено, що у цервікальному і вагінальному секретах зустрічаються еозинофіли, макрофаги, базофіли і лімфоцити, але домінуючими клітинами є нейтрофіли. Нейтрофіли секретів нижнього відділу генітального тракту фагоцитують частинки латексу, причому у нейтрофілів цервікального секрету ця функція проявляється сильніше, ніж у гранулоцитів піхви. При люмінісцентному дослідженні цервікального і вагінального секретів зафарбованих акрідіновим помаранчевим препаратів встановлено, що після взаємодії з антигенами in vitro нейтрофіли утворюють позаклітинні сіткоподібні структури, які добре візуалізуються. Вони здатні ефективніше, ніж жива клітина, вловлювати і частинки латексу, і будь-який антиген.

4. Концепція імунопатогенезу полягає в тому, що фактори агресії патогенів активують цитокіновий каскад й призводять до вторинного цитокінзалежного імунного дисбалансу. Тривала продукція прозапальних цитокінів призводить до виснаження клітинної ланки імунітету, пригнічення процесів неспецифічного захисту організму, формування імунопатологічних механізмів супресії клітинного імунітету на етапах диференціювання та проліферації Т-клітин.

5. Проведення комбінованої терапії дозволило нормалізувати показники клітинного, гуморального імунітету та цитокінового статусу. Встановлено, що оптична щільність добових біоплівок ізолятів значно знижується. Запропонована терапія пригнічує здатність ізолятів формувати щільні біоплівки, як один з основних факторів патогенності мікроорганізмів. Кількість фагоцитованих частинок латексу, *E.coli*, *S.aureus*, які виявляються в екстрацелюлярних нейтрофільних пастках цервікального та вагінального секретах жінок після лікування з включенням імуномоделюючих препаратів перевищує аналогічні показники у жінок, які отримували стандартну терапію в середньому у 2 рази.

6. Для покращення діагностики хворих на хронічний сальпінгоофорит проводити визначення антибіотикорезистентності ізолятів у формі біоплівки, оцінку функціональної активності загальної кількості нейтрофілів з урахуванням утворення екстрацелюлярних позаклітинних пасток, дослідження показників місцевого імунітету (вмісту лізоциму, секреції муцину, вмісту С-реактивного білка) та цитокінового статусу (прозапальних цитокінів: TNF-α, IL-1β, IL-6; протизапальних цитокінів: IL-4, TGF-β).

7. На підставі розробленої моделі імунопатогенезу хронічного сальпінгоофориту та механізму утворення позаклітинних нейтрофільних пасток запропоновано схему комбінованої терапевтичної тактики з включенням імуномоделюючих біологічних препаратів, активною речовиною яких є α-2 інтерферон на тлі виявлених імунологічних порушень з урахуванням антибіотикорезистентності та антибіотикочутливості мікробних асоціацій у стані біоплівки.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

З метою діагностики та призначення адекватної протимікробної й імуномоделюючої терапії при комбінованій терапії необхідно:

1. Виконувати тестування вилучених мікроорганізмів на здатність до формування захисних біоплівок, визначати чутливість та резистентність до протимікробних препаратів у стані біоплівки.
2. Проводити діагностику стану імунної системи у хворих на ХСО шляхом визначення показників місцевого імунітету (вмісту лізоциму, секреції муцину, вмісту СРБ) та клітинного імунітету (загальну кількість нейтрофілів й нейтрофільних екстрацелюлярних пасток).
3. До складу комбінованої терапії включати імуномоделюючі біологічні препарати, активною речевиною яких є α-2 інтерферон, які сприяють зменшенню утворення біоплівок мікробними асоціаціями та збільшують здатність нейтрофілів виконувати свою захисну функцію завдяки формування позаклітинних пасток.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Коновал А. О. Значення клініко-гормональних критеріїв при підготовці до екстракорпорального запліднення жінок, хворих на сальпінгофорит/ В. А. Пітько, О. І. Ткачов, І. А. Гузь, О. О. Логінова, А.О. Коновал //Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. – Кіїв-Луганськ, 2011. – Вип. 22. – С. 136-142. *(Здобувачем проведено дослідження гормональних та ультразвукових особливостей ХСО)*.

2. Коновал А. А. Особенности иммунного статуса женщин при бесплодии, обусловленном хроническим сальпингоофоритом /А.А. Коновал // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – Белгород, 2013. – №25(168), вип. 24 – С. 84–89.

3. Коновал А. О. Особливості місцевого імунного стану статевих органів при неплідді на фоні хронічного сальпінгоофориту / Ю. С. Паращук, А. О. Коновал //Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. – Кіїв-Луганськ, 2013. – Вип. 25. – С. 369–381. *(Дисертантом проведено збір та аналіз результатів досліджень, написано основні розділи статті)*.

4. Konoval A. The Relationship Between Reproductive Health and Immune System in Women with Cronic Nonspecific Diseases of the Pelvic Organs / A. Konoval // «Eastern European Scientific Journal», Germany. – 2014. –№5. –С. 16–19. – DOI 10.12851/EESJ201410.

5. Tertyshnyk A. O. Features of sensitivity to antibacterial drugs in patients with nonspecific salpingoophoritis / A. O. Tertyshnyk // The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. – Kharkiv, 2015. – Issue 30. – С. 34–40.

6. Тертишник А. О. Стан мікробіоценозу піхви у пацієнток з неспецифічним хронічним сальпінгоофоритом / А. О. Тертишник // Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. – Чернівці, 2016. – Т. VI, №1(19). – С. 49–54*.*

7. Коновал А. О. Спосіб лікування висхідної інфекції у жінок, хворих на неспецифічний сальпінгоофорит / А. О. Коновал, Ю. С. Паращук // Деклараційний патент України на корисну модель № 115027 від 27.03.2017р. *(Дисертантом виконано лікування хворих, статистичну обробку матеріалу).*

8. Коновал А. О. Спосіб ранньої діагностики органної дисфункції у жінок, хворих на сальпінгоофорит / А. О. Коновал, Ю. С. Паращук // Деклараційний патент України на корисну модель № 115754 від 25.04.2017р. *(Дисертантом виконано обстеження пацієнтів, обґрунтування отриманих результатів).*

9. Konoval A. О. Value of the hormonal status on the preparation to the extracorporeal fertilization of women with chronic salpingo-oophoritis / A. Konoval //Actual questions of development of new drugs (April 25th–26th, 2013, Kharkiv, Ukraine): abstract book./ Р. 202.

10. Коновал А. О. Порівняльна оцінка чутливості до антимікробних препаратів пацієнток з хронічним сальпінгоофоритом в залежності від давності запального процесу / А. О. Коновал // Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики: збірник тез Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій Дню науки (Харків, 16 травня 2013 р.). – Харків, 2013. – С. 99–100.

11. Коновал А. А. Оценка иммунного и цитокинового статуса при хроническом сальпингоофорите у женщин с бесплодием / Ю. С. Паращук, А. О. Коновал // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии: сборник научных трудов конференции с международным участием (Харьков, 4 октября 2013 р.). – Харків, 2013. – С. 127–132. *(Дисертантом наведено дані щодо дисбалансу імунологічного профілю).*

12. Коновал А. А. Состояние иммунного статуса при хроническом сальпингоофорите у женщин с бесплодием / Ю. С. Паращук, А. А. Коновал // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – Київ, 2013. – С. 299–303. *(Здобувачем проведено відбір пацієнтів, статистичну обробку отриманих даних).*

13. Коновал А. О. Комплексна терапія порушення імунітету при запальних захворюваннях органів малого тазу / А. О. Коновал // Медицина третього тисячоліття: збірник тез Міжвузівської конференції молодих вчених та студентів (Харків, 14 січня 2014 р.). – Харків, 2014. – С. 140.

14. Тертишник А. О. Видовий склад мікробіоцинозу піхви при сальпінгоофориті / А. О. Тертишник // Медицина третього тисячоліття: збірник тез Міжвузівської конференції молодих вчених та студентів. – Харків, 2015. – С. 181–182.

15. Tertyshnyk A. Аntibiotic resistance of microorganisms in patients with salpingitis / A. Tertyshnyk // 8th International Scientific Interdisciplinary Congress for medical students and young doctors (May 14th-15th, 2015, Kharkiv, Ukraine): abstract book./ Р. 152–153.

16. Тертишник А. О. Інноваційні підходи до лікування хворих на неспецифічний сальпінгоофорит / Ю. С. Паращук, А. О. Тертишник // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – Київ, 2015. – С. 184–189. *(Дисертантом наведено дані щодо застосування імуномоделюючої терапії).*

17. Konoval A. The impact of immunomodulatory therapy on the microbial associations in women with CSO/ A. Konoval // 9th International Scientific Interdisciplinary Congress for medical students and young doctors (May 19th–20th, 2016, Kharkiv, Ukraine): abstract book./ Р. 179–180.

18. Коновал А. О. Сучасні аспекти антибактеріальної терапії неспецифічного сальпінгоофориту / А. О. Коновал, О. І. Каліновська // Антибактеріальна терапія у XXI сторіччі: проблеми та досягнення. – Харків, 2016. – С. 87–89. *(Дисертантом наведено дані щодо застосування антибактеріальних засобів на основі чутливості мікроорганізмів).*

19. Коновал А. О. Значення пролактіну та імунограми у жінок з хронічним сальпінгоофоритом при підготовці до екстракорпорального запліднення / А. О. Коновал // Збірник тез міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених "Молодь — медицині майбутнього", присвяченій 165-річчю з дня народження В.В. Підвисоцького. - Одеса, 2012. – С. 229-230.

20. Коновал А. О. Значення цитокінового стану у жінок з безпліддям на фоні хронічного сальпінгоофориту / А. О. Коновал // Матеріали 75-ого міжнародного конгресу наукового товариства творчої молоді «Актуальні проблеми теоретичної, клінічної, профілактичної медицини, стоматології та фармації». – Донецьк, 2013. – С. 115.

21. Коновал А. О. Особливості фагоцитарної ланки імунітету у жінок з безпліддям на фоні хронічного сальпінгоофориту / А. О. Коновал // Матеріалина ІV міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених «Актуальні питання експериментальної, клінічної та профілактичної медицини», яка присвячена Міжнародному дню науки. - Вінниця, 2013. – С. 45-46.

22. Коновал А. О. Значення маркерів запалення та імунологічного стану у жінок з хронічним сальпінгоофоритом перед екстракорпоральним заплідненням / А. О. Коновал, І. А. Гузь, О. Д. Демиденко, Н.О. Гладкова // Збірник тез 81-ї науково-практичної конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини, фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених». – Івано-Франківськ, 2012. – С. 10-11. *(Дисертантом наведено дані щодо імунологічних порушень).*

**АНОТАЦІЯ**

**Коновал А.О. Клініко-лабораторні аспекти діагностики і терапії хворих на хронічний сальпінгоофорит.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.01 – акушерство і гінекологія. – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2017.

Робота присвячена удосконаленню діагностики та підвищенню ефективності терапії жінок хворих на ХСО на основі вивчення імунологічних та мікробіологічних особливостей організму, а саме утворення позаклітинних нейтрофільних пасток та здатності мікроорганізмів утворювати біоплівки.

На підставі проведених досліджень у 105 жінок надано комплексну оцінку репродуктивного здоров’я у жінок, хворих на ХСО.

Порівнюючи фагоцитарну активність не змінених нейтрофілів та ефективність утримання бактерій в нейтрофільних пастках при ХСО, визначено, що сітки нейтрофілів, які розташовані позаклітинно, здатні затримати більше, ніж сам нейтрофіл, антигенів.

Вивчена здатність утворення біоплівок мікроорганізмами, що дозволило по-новому підійти до призначення протимікробної терапії і до повної характеристики механізмів, що сприяють розвитку запальної патології.

Дані про структурно-функціональний стан імунної системи при ХСО дозволили обґрунтувати концептуальну модель імунопатологічних механізмів розвитку імунологічних порушень та неспецифічної резистентності.

Аналіз даних, які одержали, свідчить про те, що терапія пацієнток хворих на ХСО за запропонованою схемою з включенням імуномоделюючої терапії призводить до відновлення функцій як місцевого, так і загального імунітету. Застосування комбінованої терапії при ХСО виявилося найбільш раціональним та ефективним.

**Ключові слова:**хронічний сальпінгоофорит, імунна система, мікробіоценоз, позаклітинні нейтрофільні пастки, мікробні біоплівки, антибіотикорезистентність, імуномодулятори.

# АННОТАЦИЯ

**Коновал А.А. Клинико-лабораторные аспекты диагностики и терапии больных на хронический сальпингоофорит.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 - акушерство и гинекология. - Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины, Харьков, 2017.

Работа посвящена совершенствованию диагностики и повышению эффективности терапии женщин с ХСО на основе изучения иммунологических и микробиологических особенностей организма, а именно образования внеклеточных нейтрофильных ловушек и способности микроорганизмов формировать биопленки.

На основании проведенных исследований у 105 женщин предоставлено комплексную оценку репродуктивного здоровья у женщин c ХСО.

Сравнивая фагоцитарную активность неизмененных нейтрофилов и эффективность улавливания бактерий в нейтрофильных ловушках при ХСО, определено, что сетки нейтрофилов, которые расположены внеклеточно, способны задержать больше, чем сам нейтрофилов, антигенов.

Изучена способности образования биопленок микроорганизмами, что позволило по-новому подойти к назначению противомикробной терапии и к полной характеристике механизмов, способствующих развитию воспалительной реакции.

Определение резистентности изолятов к антибактериальным препаратам показало, что все штаммы были вариабельными к антибактериальным препаратам. При опеределении чувствительности к антибактериальным препаратам установлено, что большинство из них были полирезистентными. Исследование чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам в форме биопленок показало, что они невосприимчивы к препаратам в терапевтических дозах.

Анализ особенностей цитокиновой регуляции при ХСО позволил объединить изменения клеточного, фагоцитарного и гуморального звеньев иммунной системы в единый взаимосвязанный механизм. Основные положения иммунопатогенеза основаны на том, что факторы агрессии патогенов активируют цитокиновый каскад и приводят к вторичному цитокинзависимому иммунному дисбалансу. Данные о структурно-функциональном состоянии иммунной системы и цитокинового статуса при ХСО позволили обосновать концептуальную модель иммунопатологических механизмов развития иммунологических нарушений и неспецифической резистентности.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что терапия пациенток с ХСО по предложенной схеме с включением иммуномодулирующей терапии приводит к восстановлению функций как местного, так и общего иммунитета. Применение комбинированной терапии при ХСО оказалось наиболее рациональным и эффективным.

**Ключевые слова**: хронический сальпингоофорит, иммунная система, микробиоценоз, нейтрофильные внеклеточные ловушки, микробные биопленки, антибиотикорезистентность, иммуномодуляторы.

**ABSTRACT**

**Konoval A.A. Clinical and laboratory aspects of diagnostics and therapy of patients with chronic salpingo-oophoritis.**

Thesis for a Candidate's of Medical Sciences Degree by specialty 14.01.01 – Obstetrics and Gynecology. – Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2017.

The work deals with the improvement of the diagnostics and effectiveness of therapy of women with chronic salpingo-oophoritis based on the study of immunological and microbiological features of the organism, namely the formation of extracellular neutrophil traps and the ability of microorganisms to form biofilms.

On the ground of the studies including 105 women comprehensive assessment of the reproductive health in women with chronic salpingo-oophoritis is presented.

Comparing phagocytic activity of unchanged neutrophils and the efficiency of bacterial capturing in neutrophil traps in cases of chronic salpingo-oophoritis it is found that the neutrophil traps, which are located extracellularly, are able to capture more antigens than a neutrophil itself.

The ability of biofilm formation by microorganisms was studied, what allowed to form a novel approach to the administration of antimicrobial therapy and to full characteristics of the mechanisms contributing to the development of the inflammatory reaction.

The lines of evidence on the structural and functional state of the immune system and cytokine status in chronic salpingo-oophoritis allowed to ground a conceptual model of immunopathological mechanisms of the development of immunological disorders and nonspecific resistance.

The analysis of the obtained results shows that the therapy of patients with chronic salpingo-oophoritis on the proposed scheme with immunomodulating therapy leads to the restoration of functions of both local and general immunity. The administration of the combined therapy in case of chronic salpingo-oophoritis is found to be the most rational and effective.

**Key words**: chronic salpingoophoritis, immune system, microbiocenosis, neutrophil extracellular traps, microbial biofilms, antibiotic resistance, immunomodulators.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ЗЗОМТ | – | запальні захворювання органів малого тазу |
| ХСО | – | хронічний сальпінгоофорит |
| ВООЗ | – | Всесвітня організація охорони здоров’я |
| ДНК | – | Дезоксирибонуклеїнова кислота |
| QS | – | Quorum Sensing - феномен відчуття кворуму |
| ПОЛ | – | перекисне окислення ліпідів |
| ІL-2 | – | інтерлейкін 2 |
| ІL-4 | – | інтерлейкін 4 |
| IgA | – | імуноглобулін класу А |
| УЗД | – | ультразвукове дослідження |
| С3 | – | ключовий компонент комплементу |
| СРБ | – | С-реактивний білок (протеїн гострої фази) |
| РІФ | – | реакція імунофлюоресценції |
| МКАТ | – | моноклональні антитіла |
| ФФ | – | фолікулярна фаза |
| ОФ | – | овуляторна фаза |
| ЛФ | – | лютеінова фаза |
| ФСГ | – | фолікулостимулюючий гормон |
| ЛГ | – | лютеінізуючий гормон |
| Прл | – | пролактин |
| Прл | – | естрадіол |
| Е2 | – | запальні захворювання органів малого тазу |
| Пг | – | прогестерон |
| Тс | – | тестостерон |
| ГГ | – | гаптоглобін |
| Кр | – | кортизол |
| ІФА | – | імуноферментний аналіз |
| ІР | – | індекс резистентності |
| ІП | – | індекс пульсативності |
| ТТГ | – | тіреотропний гормон |
| ФІ | – | фагоцитарний індекс |
| ФЧ | – | фагоцитарне число |
| CD3+ | – | кластер диференціації загальної популяції Т-клітин |
| CD4+ | – | Т-хелпери |
| CD8+ | – | цитотоксичні Т-клітини |
| IL-1β | – | інтерлейкін 1β |
| IL-6 | – | інтерлейкін 6 |
| TNF-α | – | фактор некрозу пухлини |
| IL-4 | – | інтерлейкін 4 |
| С3b | – | ключовий компонент комплементу |
| С5 | – | ключовий компонент комплементу |
| ЦІК | – | циркулюючі імунні комплекси |
| CD22+ | – | натуральні В-клітини |
| IgG | – | імуноглобулін класу G |
| CH50 | – | загальна функціональна активність комплемента |
| CD95+ | – | «маркер» апоптозу |
| CD25+ | – | активовані T та В клітини, макрофаги, маркер лімфоцитарної активності |
| sIgA | – | секреторний імуноглобулін А |