



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.14.2.005>
УДК 618.3



Кошулько П.А. ✉, Коренева Е.А., Ерёмина К.Д., Сурков Н.А., Безруков А.Д.,
Новикова А.В., Поляков Г.С., Алехина Е.О., Поликарпов И.В., Хамхоева Ф.М.,
Валеева Е.А., Сивокабыльская Т.Д.

Рязанский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова, Рязань, Россия

Комбинированная терапия воспалительных заболеваний придатков матки как альтернатива стандартным схемам лечения

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Кошулько П.А., Коренева Е.А., Валеева Е.А.; сбор и обработка материала – Ерёмина К.Д., Сурков Н.А., Безруков А.Д.; статистическая обработка данных – Новикова А.В., Поляков Г.С., Сивокабыльская Т.Д.; написание текста – Алехина Е.О., Поликарпов И.В.; редактирование – Кошулько П.А., Хамхоева Ф.М.

Подана: 04.03.2024

Принята: 15.04.2024

Контакты: nikolconnik@gmail.com

Резюме

Цель исследования. Показать преимущество комбинированной терапии (озонотерапия и бактериофаготерапия) по сравнению со стандартными схемами в лечении хронических воспалительных заболеваний придатков матки.

Материалы и методы. В исследование были включены 300 пациенток с хроническими воспалительными заболеваниями придатков матки (ХВЗПМ) в период обострения (хронический сальпингоофорит). Они были поделены на 2 группы по 150 человек: основную группу и группу контроля. Каждая пациентка в обеих группах сдавала посев на микрофлору из цервикального канала с определением чувствительности к антибиотикам и бактериофагам. Пациенткам из основной группы проводили озонотерапию (внутриматочное промывание 800 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 5000 мг/л, а также внутривенное капельное введение 250 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 1200 мг/л), после озонотерапии проводилось промывание полости матки 20 мл бактериофага, а заканчивалось все установкой ватного тампона, смоченного 5 мл бактериофага, в задний свод влагалища. Данные процедуры проводились 1 раз в день в течение 10 дней. Пациентки же из контрольной группы получали антибиотикотерапию препаратами, соответствующими возбудителям, а также противовоспалительную терапию (диклофенак 3,0 в/м 1 р/д и метронидазол 250 мг по 1 таблетке 3 раза в день). Данная схема применялась также в течение 10 дней. Оценку клеточного иммунитета проводили методом непрямой иммунофлюоресценции моноклональными антителами.

Результаты. Показатель $CD3^+$ лимфоцитов в основной группе до лечения – $49,2 \pm 0,6\%$ (после лечения – $59,9 \pm 0,8\%$), в контрольной группе – $50,2 \pm 0,7\%$ (после лечения – $59,7 \pm 0,3\%$). Уровень $CD4^+$ до лечения в основной группе – $38,8 \pm 1,2\%$ (после лечения – $44,9 \pm 1,2\%$), в контрольной – $37,7 \pm 1,4\%$ (после лечения – $33,5 \pm 1,0\%$).

Исходный уровень CD8⁺ лимфоцитов в основной группе – 33,3±0,4% (после лечения – 25,5±0,5%), в контрольной группе – 31,8±0,9% (после лечения – 30,3±0,8%). Иммунорегуляторный индекс в основной группе до лечения – 1,16±0,07 (после лечения – 1,76±0,04), в контрольной группе – 1,18±0,06 (после лечения – 1,1±0,07).

Заключение. На основании полученных данных исследования было доказано преимущество комбинированной терапии (озонотерапия и бактериофаготерапия) по сравнению со стандартными схемами в лечении хронических воспалительных заболеваний придатков матки.

Ключевые слова: бактериофаги, антибиотики, хронические воспалительные заболевания придатков матки, хронический сальпингоофорит, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺

Koshulko P. ✉, Koreneva E., Eremina K., Surkov N., Bezrukov A., Novikova A., Polyakov G., Alehina E., Polikarpov I., Khamkhoeva F., Valeeva E., Sivokabylskaya T.
Ryazan State Medical University named after Acad. I.P. Pavlov, Ryazan, Russia

Combination Therapy for Inflammatory Diseases of the Uterine Appendages as an Alternative to Standard Treatment Regimens

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: research concept and design – Koshulko P., Koreneva E., Valeeva E.; collection and processing of material – Eremina K., Surkov N., Bezrukov A.; statistical data processing – Novikova A., Polyakov G., Sivokabylskaya T.; text writing – Alehina E., Polikarpov I.; editing – Koshulko P., Khamkhoeva F.

Submitted: 04.03.2024

Accepted: 15.04.2024

Contacts: nikolconnik@gmail.com

Abstract

Purpose of the study. Demonstrate the advantage of combined therapy (ozone therapy and bacteriophage therapy) compared to standard protocols in the treatment of chronic inflammatory diseases of the uterine appendages.

Materials and methods. The study included 300 patients with chronic inflammatory diseases of the uterine appendages (chronic salpingo-oophoritis) during exacerbation. They were divided into two groups of 150 individuals each: the main group and the control group. Each patient in both groups underwent a microbial culture test from the cervical canal, with sensitivity testing to antibiotics and bacteriophages. Patients in the main group received ozone therapy (intrauterine lavage with 800 ml of ozone-treated physiological solution with an ozone concentration of 5000 mg/L, as well as intravenous drip infusion of 250 ml of ozone-treated physiological solution with an ozone concentration of 1200 mg/L). After ozone therapy, uterine cavity lavage with 20 ml of bacteriophage was performed, followed by the placement of a cotton swab soaked in 5 ml of bacteriophage in the posterior fornix of the vagina. These procedures were performed once a day for 10 days. Patients in the control group received antibiotic therapy corresponding to the

identified pathogens, as well as anti-inflammatory therapy (diclofenac 3.0 intramuscularly once a day and metronidazole 250 mg orally 3 times a day). This regimen was also applied for 10 days. Cellular immunity was assessed by indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies.

Results. CD3+ lymphocyte levels in the main group before treatment were $49.2\% \pm 0.6\%$ (after treatment – $59.9\% \pm 0.8\%$), in the control group – $50.2\% \pm 0.7\%$ (after treatment – $59.7\% \pm 0.3\%$). The CD4+ level before treatment in the main group was $38.8\% \pm 1.2\%$ (after treatment – $44.9\% \pm 1.2\%$), in the control group – $37.7\% \pm 1.4\%$ (after treatment – $33.5\% \pm 1.0\%$). The initial level of CD8+ lymphocytes in the main group was $33.3\% \pm 0.4\%$ (after treatment – $25.5\% \pm 0.5\%$), in the control group – $31.8\% \pm 0.9\%$ (after treatment – $30.3\% \pm 0.8\%$). The immunoregulatory index in the main group before treatment was 1.16 ± 0.07 (after treatment – 1.76 ± 0.04), in the control group – 1.18 ± 0.06 (after treatment – 1.1 ± 0.07).

Conclusion. Based on the obtained research data, the advantage of combined therapy (ozone therapy and bacteriophage therapy) over standard protocols in the treatment of chronic inflammatory diseases of the uterine appendages has been demonstrated.

Keywords: bacteriophages, antibiotics, chronic inflammatory diseases of the uterine appendages, chronic salpingo-oophoritis, CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+

■ ВВЕДЕНИЕ

Хронические воспалительные заболевания придатков матки (ХВЗПМ) характеризуются продолжительным рецидивирующим течением, часто устойчивым к стандартному лечению, оказывают негативное воздействие на менструальную, сексуальную и репродуктивную функции женщин, а также способны вызывать стойкие нарушения трудоспособности [2]. В развитии продолжительных воспалительных процессов значительную роль играют проявления эндогенной интоксикации и нарушения иммунологического статуса.

Одним из альтернативных методов лечения данных заболеваний, по нашему мнению, является комбинированная терапия (озонотерапия и бактериофаготерапия).

Бактериофаги (фаг, от греч. *phagos* – «пожирающий») – группа вирусов, паразитирующих на бактериях. Препараты бактериофагов состоят из смеси стерильных фильтратов фаголизатов соответствующих бактерий, а антибактериальный эффект их обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки [1, 3].

Озонотерапия входит в категорию физиотерапевтических методов лечения, используется медицинский озон, представляющий собой смесь озона и кислорода. Озон не применяется в чистом виде, им насыщают физиологические растворы. Этот мощный антисептик оказывает значительный лечебный эффект при воспалительных заболеваниях органов малого таза [4].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наглядная демонстрация преимуществ комбинированной терапии (озонотерапия и бактериофаготерапия) по сравнению со стандартными схемами в лечении хронических воспалительных заболеваний придатков матки.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Критериями включения в исследование были: обострение хронического сальпингоофорита; отсутствие ОРВИ, беременности, ВИЧ-инфекции, гепатитов, сифилиса, гонореи.

Критериями исключения из исследования были: отсутствие обострения хронического сальпингоофорита, ОРВИ, беременность, ВИЧ-инфекция, гепатиты, сифилис, гонорея.

Исследование проводилось на базе государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Городская клиническая больница № 8». Проведение данного исследования было одобрено местным этическим комитетом.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием проверки данных на нормальность распределения, числовых характеристик вариационного ряда. Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми группами применялись параметрические критерии Стьюдента (для двух групп), однофакторный дисперсионный анализ (с апостериорными сравнениями по Стьюденту – Ньюману – Кюлзу) и непараметрические методы Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса (для множественных сравнений). Полученные данные были представлены в виде средней квадратической ошибки (m). Уровень статистической значимости (p) принимался равным при $p < 0,05$.

В исследование были включены 300 пациенток с хроническими воспалительными заболеваниями придатков матки (ХВЗПМ) в период обострения (хронический сальпингоофорит). Они были поделены на 2 группы по 150 человек: основную группу и группу контроля. У исследуемых обеих групп нет статистически значимых различий по антропометрическим, возрастным и акушерско-гинекологическим показателям, что представлено в табл. 1 и табл. 2.

Каждая пациентка в обеих группах сдавала посев на микрофлору из цервикального канала с определением чувствительности к антибиотикам и бактериофагам.

Таблица 1
Антропометрические и возрастные показатели
Table 1
Anthropometric and age indicators

Показатели	Контрольная группа	Основная группа	p
Возраст	28,73±2,43	27,45±2,27	>0,05
Масса	62,46±13,2	64,6±15,39	>0,05
Рост	162,7±9,21	165,54±5,33	>0,05

Таблица 2
Показатели акушерско-гинекологического анамнеза
Table 2
Obstetric and gynecological history indicators

Группа	Количество беременностей	Количество родов	Количество медицинских абортов	Количество несостоявшихся выкидышей	Количество полных абортов	Количество неполных абортов
Контрольная	3,07±2,03	2,07±1,05	2,58±1,22	1,68±0,6	1,74±0,27	2,1±0,37
Основная	3,23±2,13	2,1±1,1	2,07±0,92	1,95±0,52	1,89±0,39	1,71±0,43
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05



По результатам данного исследования вышло, что в контрольной и основной группах основным возбудителем по количеству случаев являлся *E. coli*. Далее в порядке убывания идут *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* и *S. aureus*. Статистически значимых различий между исследуемыми группами нет, что отмечено в табл. 3.

Пациенткам из основной группы проводили озонотерапию (внутриматочное промывание 800 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 5000 мг/л, а также внутривенное капельное введение 250 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 1200 мг/л), после озонотерапии проводилось промывание полости матки 20 мл бактериофага, а заканчивалось все установкой ватного тампона, смоченного 5 мл бактериофага, в задний свод влагалища. Данные процедуры проводились 1 раз в день в течение 10 дней. Пациентки же из контрольной группы получали антибиотикотерапию препаратами, соответствующими возбудителям, а также противовоспалительную терапию (диклофенак 3,0 в/м 1 р/д и метронидазол 250 мг по 1 таблетке 3 раза в день). Данная схема применялась также в течение 10 дней. Препараты, применяемые в терапии исследуемых пациенток, представлены в табл. 4.

Оценку клеточного иммунитета проводили с помощью показателей $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ лимфоцитов методом непрямой иммунофлюоресценции моноклональными антителами, а иммунорегуляторный индекс представляли как соотношение $CD4^+/CD8^+$. Эффективность лечения оценивали путем наблюдения за пациентками в течение года.

Материалом исследования являлась фракция лейкоцитов крови. Образцы получали путем забора периферической крови в объеме 10 мл с помощью стерильных вакуумных пробирок APEXLAB, содержащих в качестве антикоагулянта ЭДТА-К3.

Таблица 3
Спектр микробных культур, выделенных у основной и контрольной групп

Table 3
Spectrum of microbial cultures isolated from the main and control groups

Выделенные культуры	Основная группа	Контрольная группа	p
<i>Staphylococcus spp.</i>	22 (14,67%)	28 (18,67%)	>0,05
<i>S. aureus</i>	16 (10,66%)	21 (14%)	>0,05
<i>Streptococcus spp.</i>	26 (17,33%)	23 (15,33%)	>0,05
<i>E. coli</i>	46 (30,67%)	41 (27,33%)	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	40 (26,67%)	37 (24,67%)	>0,05

Таблица 4
Применяемые в лечении препараты бактериофагов основной группы и препараты антибиотиков контрольной группы в зависимости от выделенной культуры

Table 4
Bacteriophage preparations used in the treatment of the main group and antibiotic preparations used in the control group depending on the isolated culture

Выделенные культуры	Бактериофаги	Антибиотики
<i>Staphylococcus spp.</i>	Пиобактериофаг комплексный	Амоксиклав
<i>S. aureus</i>	Пиобактериофаг комплексный	Амоксиклав
<i>Streptococcus spp.</i>	Бактериофаг стрептококковый	Амоксиклав
<i>E. coli</i>	Пиобактериофаг комплексный	Амоксиклав
<i>Enterococcus spp.</i>	Бактериофаг стрептококковый	Амоксиклав

Для получения фракции суспензии лимфоцитов из периферической крови использовали методику, основанную на седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина. В стерильную пластиковую пробирку вносили фиколл-урографин из расчета 0,5 мл на 1 мл полученной суспензии форменных элементов крови. Затем сверху осторожно наслаивали суспензию клеток и центрифугировали при 1800 g 30 мин. (ELMI, CM-6M, Латвия). В результате центрифугирования кровь разделяется на 4 отдельные фракции: первая фракция на дне пробирки содержит эритроциты и обломки клеток крови; вторая – это раствор фиколл-урографина; третья, расположенная над градиентом, – суспензия лимфоцитов; четвертая – образована плазмой с тромбоцитами. Далее в стерильных условиях пипеткой с границы раздела плотности отбирали суспензию лимфоцитов. Для каждого анализа к суспензии 100 мкл лимфоцитов в отдельной пробирке Coulter добавляли 20 мкл соответствующих моноклональных антител фирмы Beckman Coulter (FITC-CD3⁺, PC 7-CD4⁺, APC-CD8⁺), инкубировали 30 минут при температуре +20 °C, добавляли 2 мл фосфатно-солевого буфера (ФСБ) pH=7,2 (производитель) и центрифугировали 10 минут при 400 g (CM-50, Erppendorf, Германия). Ресуспендировали осадок и добавляли в каждую пробирку 20 мкл связанных антител, конъюгированных с флюорохромом (IgG1 мыши), инкубировали в темноте при температуре +4 °C 30 минут, добавляли 2 мл ФСБ и центрифугировали 10 минут при 400 g, ресуспендировав осадок в 300 мкл ФСБ. В итоге проводили учет образцов на проточном цитометре EPICS XL (Coulter Corp., USA), выражая полученные результаты в процентном содержании.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование CD3⁺ лимфоцитов в крови пациенток с ХВЗПМ показало, что их исходный уровень до лечения (во время обострения) составлял в среднем в основной группе 49,2±0,6%, в контрольной группе – 50,2±0,7%, что соответственно в 1,22 и в 1,19 раза меньше нормы ($p>0,05$). При анализе CD3⁺ лимфоцитов в крови после лечения было выяснено, что средний их уровень в основной группе составил 60,7±0,8%, а в контрольной группе – 59,7±0,3% ($p<0,05$). В основной группе после лечения число CD3⁺ клеток соответствовало норме у 79% женщин, а в контрольной группе лишь у 40%, что указано в табл. 5.

Уровень CD4⁺ до лечения составлял 38,8±1,2% – в основной группе и 37,7±1,4% – в контрольной группе и был ниже нормы в 1,16 и в 1,19 раза соответственно ($p>0,05$). После окончания лечения уровень CD4⁺ в основной группе вырос до 44,9±1,2% (в 1,16 раза по сравнению с исходным), что соответствует норме у 63% пациенток, а контрольной группе показатели снизились до 33,5±1,0%, что в 1,13 раза меньше исходного значения ($p<0,05$).

Исходный уровень CD8⁺ лимфоцитов в основной группе составил 33,3±0,4%, в контрольной – 31,8±0,9%, что выше принятых показателей нормы ($p>0,05$). После лечения было зафиксировано уменьшение количества CD8⁺ в 1,3 раза по отношению к первоначальному – до 25,5±0,5%, что соответствует норме, а в контрольной группе в 1,05 раза (30,3±0,8%), что норме не соответствует ($p<0,05$).

При изучении иммунорегуляторного индекса выявлено, что до лечения этот показатель в основной группе был равен 1,16±0,07, а в контрольной – 1,18±0,06, что в 1,3 раза меньше нормы ($p>0,05$). После лечения показатель в основной группе увеличился в 1,5 раза (1,76±0,04) по сравнению с первоначальным показателем, что



Таблица 5
Показатели клеточного иммунитета в основной и контрольной группах
Table 5
Cellular immune parameters in the main and control groups

Группы	CD3 ⁺ , %	CD4 ⁺ , %	CD8 ⁺ , %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Основная группа до лечения (1)	49,2±0,6	38,8±1,2	33,3±0,4	1,16±0,07
Основная группа после лечения (2)	60,7±0,8	44,9±1,2	25,5±0,5	1,76±0,04
Контрольная группа до лечения (3)	50,2±0,7	37,7±1,4	31,8±0,9	1,18±0,06
Контрольная группа после лечения (4)	59,7±0,3	33,5±1,0	30,3±0,8	1,1±0,07
Норма	60–80	40–60	20–30	1,5–2,2
p	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₁₋₄ <0,05 p ₂₋₃ <0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ <0,05	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₁₋₄ <0,05 p ₂₋₃ <0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₃₋₄ <0,05	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₃ <0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₃₋₄ >0,05	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₃ <0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₃₋₄ >0,05

Таблица 6
Количество обострений хронических воспалительных заболеваний придатков матки в основной и контрольной группах после лечения в течение года
Table 6
Number of exacerbations in chronic inflammatory diseases of the uterine appendages in the main and control groups after treatment over a one-year period

Исходы	Основная группа	Контрольная группа	p
Обострение	15 (10%)	111 (74%)	<0,05
Без обострения	135 (90%)	39 (26%)	<0,05

соответствует норме, а в контрольной уменьшился в 1,07 раза (1,1±0,07), что норме не соответствует (p<0,05) и отражено в табл. 5.

Значение нормализации клеточного иммунитета на фоне озono- и бактериофаго-терапии подтверждается клиническим результатом – в основной группе отсутствие рецидивов заболевания в течение 1 года было отмечено у 90% пациенток, а в контрольной группе, после стандартной (традиционной) терапии, лишь у 26% пациен-ток (табл. 6).

■ **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

На основании полученных данных исследования было доказано преимущество комбинированной терапии (озонотерапия и бактериофаготерапия) по сравнению со стандартными схемами в лечении хронических воспалительных заболеваний при-датков матки.

■ **ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

1. Belopol'skaya H., Sidorova I., Shahgireeva L., Belopol'skij A. Possibility of phage therapy of gynaecological infection. *A difficult patient*. 2014;12(9):6–9.

2. Stepanova YU., Shatunova E. Clinical and immunological characteristics of inflammatory diseases of uterine appendages. *Practical Medicine*. 2012;65(9):65–68.

3. Andreeva M., Neklyudova A., Kovaleva T. Bacteriophages in gynaecology. Myth or modern reality? *Lekarstvennyy vestnik*. 2018;12(3):33–38.

4. Grechkanev G., Kotova T., Kachalina T. Influence of ozone therapy on vaginal biocenosis and disease clinic in patients with genitourinary menopausal syndrome and nonspecific vaginitis. *Medical Almanac*. 2021;66(1):40–44.