

Міністерство
охорони здоров'я України
Івано-Франківська
державна медична академія

Засновник та видавець
Івано-Франківська
державна медична академія
Свідоцтво про державну
реєстрацію серії ІФ №275
від 3.10.1994 року

Рекомендовано до друку
Вченою Радою
Івано-Франківської
державної медичної академії
протокол №1 від 14 січня 2003 р.

Адреса редакції:
Україна,
76000 м.Івано-Франківськ,
вул. Галицька, 2
Медична академія
Телефон: (03422) 3-15-29, 2-23-01
факс (03422) 2-42-95
E-mail: feal@il.if.ua

Комп'ютерний набір і
верстка редакції журналу
"Галицький лікарський вісник"
Підписано до друку 23.01.2003 р.
Формат 60/88 1/2 Обсяг - 8 друк. арк.
Друк офсетний. Наклад 200
Тираж здійснено у видавництві
Івано-Франківської державної медичної
академії.
Свідоцтво про внесення до Державного
реєстру суб'єкта видавничої справи
ДК №1100 від 29.10.2002 р.
76000, м.Івано-Франківськ,
вул. Галицька, 2.

ГАЛИЦЬКИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ВІСНИК

Щоквартальний науково-практичний часопис
Заснований в 1994 році

Том 10 - число 1 - 2003
частина I

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор - *Є. М. Нейко*

Боцюрко В.І. (відповідальний секретар)
Вакалюк І.П.
Василюк М.Д.
Глушко Л.В. (заступник головного редактора)
Смельяненко І.В.
Ковальчук Л.Є.
Михайлюк І.О.
Орият С.Я.
Рожко М.М.
Сельська О.В.
Середюк Н.М. (заступник головного редактора)
Шевчук М.Г.
Шутка Г.В.

Редакційна рада

Бальцер К. (Дюссельдорф, ФРН)
Волошин О.І. (Чернівці)
Геник С.М. (Івано-Франківськ)
Головач І.Ю. (Івано-Франківськ)
Гончар М.Г. (Івано-Франківськ)
Гудивок І.І. (Івано-Франківськ)
Мізіук М.І. (Івано-Франківськ)
Поворозник В.В. (Київ)
Швед М.І. (Чернопіль)
Якимчук В.М. (Івано-Франківськ)

- В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - № 1 - С.16-19.
5. Мареев В.Ю., Скворцов А.А., Челмакина С.М. и др. Способны ли ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента эффективно контролировать активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы при длительном лечении хронической сердечной недостаточности? // Кардио-логия - 1999. - № 2. - С.27-34.
6. Мещинен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этопия, тиопия, додеция и их производных) на обмен веществ в норме и патологии. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. К., 1991. - 37 с.
7. Серкова В.К., Салобай В.А., Гуцько П.П. Активність ренину плазми у хворих з серцевою недостатністю // Праці XIV з'їзду терапевтів України. - Київ, 1998. - Ч. II. - С.241-242.
8. Стальная И.Д., Гарничвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии - М. Медицина, 1977. - С.66-68.
9. Хехт А. Введение в экспериментальные основы современной патологии сердечной мышцы - М. Медицина, 1975. - 76 с.
10. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биохимических материалах // Лаб. дело. - 1985. - № 11. - С. 678 - 681.
11. Buser P.T., Zhu P., Hornstein P. et al. Cardioprotection by the AT₁-receptor blocker losartan is dependent on bradykinin receptor activation // J. Amer. Coll. Cardiol. - 1997. - V.29. - P.267A.
12. Bussato V.C.W., Cicilini M.A., Mill J.G. Increased angiotensin-converting enzyme activity in the left ventricle after infarction // Braz. J. Med. and Biol. Res. - 1997. - V.30. № 5. - P.679-687.
13. Carey R.M., Wang Zhi-Qin, Siragy Helmy M. Role

of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function // Hypertension. - 2000. - V.35, № 1, P12 - P.155-163.

14. Muller D.N., Dechend R., Mervaala Eero M.A. et al. NF- κ B inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats // Hypertension. - 2000. - V.35, № 1, P12. - P.193-201.

15. Urata H., Healy B.H., Stewart R. et al. Angiotensin II forming pathways in normal and failing human hearts // Circ Res. - 1990. - V.66. - P.883-890.

Kukharchuk O.L., Chipko T.M.

The Effects of Losartan on Lipid Peroxidation and the Activity of Enzymes of Antiradical Protection in the Myocardium with Different Kinds of Experimental Heart Failure

Summary. It has been proved experimentally that an increase of excessive loading on the heart intensifies the generation of oxygen active forms and lipid peroxidation and suppresses the activity of the enzymes of the antioxidant protection in the myocardium. Losartan contributes to the normalization of the intensity of the formation of oxygen active forms and lipid peroxidation processes in case of simulation of an increase of excessive loading, and also in animals with a simultaneous excessive loading and a decrease of the venous return to the heart. Losartan causes a sharp intensification of the processes of oxygen radical formation and lipid peroxidation and, at some time, considerably lowers the activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in animals with an isolated decrease of the venous return.

Key words: losartan, heart, oxygen radicals, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Надійшла 28.10.2002 року.

УДК 616.617-002-076.1-08

Лебедюк М.М., Федчук В.П., Николаєвський В.В., Бажора Ю.І.

Сучасні підходи у діагностиці актуальних урогенітальних інфекцій

Кафедра шкірно-венеричних хвороб (зав. каф. - д.м.н., проф. Г.І.Лобановський); кафедра клінічної імунології, генетики та медичної біології (зав. каф. - д.біол.н., проф. Ю.І.Бажора) Одеського державного медичного університету.

Одеський науково-дослідний центр інфекцій, що передаються статевим шляхом (директор - к.м.н., М.М.Лебедюк)

Резюме. У статті розглядаються проблеми комплексного підходу до діагностики інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), як одного з головних компонентів успішного лікування та профілактики цих хвороб. Наведені результати власних досліджень щодо ефективності виявлення збудників ІПСШ методами прямої імунофлюоресценції, полімеразної ланцюгової реакції, а також визначення титрів антитіл різних класів до цих збудників у сироватці крові хворих протягом лікування. Зроблено порівняння швидкості, чутливості та специфічності цих методів. Доведена висока ефективність методу ПЛР, зокрема у виявленні компонентів асоціації збудників, а також серологічних методів у визначенні стадій перебігу захворювання. Зроблено висновок про необхідність комплексного підходу у діагностиці ІПСШ, особливо при хронічних інфекціях.

Ключові слова: Урогенітальні інфекції, діагнос-

тика, полімеразна ланцюгова реакція, антитіла.

Останнім часом у багатьох публікаціях, що присвячені проблемі лабораторної діагностики урогенітальних інфекцій, підкреслюється необхідність застосування різноманітних сучасних діагностичних методів, що є підставою успішної етіологічної розшифровки запальних процесів та їх адекватної своєчасної терапії [1,2].

У цей час не викликає сумнівів значущість досить великої групи збудників інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ) - бактерій, найпростіших, вірусів, грибів (*S. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *T. vaginalis*, *C. albicans*, *Virus herpes simplex*, *Papillomavirus*

тощо) у виникненні хронічної уrogenітальної патології. Недосконалість їх діагностики веде до не своєчасної, етіологічно не обґрунтованої терапії, що може стати причиною непліддя, пієлонефритів, позаматкової вагітності, акушерської патології. Є дані про тератогенну та мутагенну дію мікоплазм, уреоплазм та вірусів [2].

Однак, до цього часу не існує єдиної думки щодо стратегії та тактики лабораторної діагностики вищевказаної уrogenітальної патології. Між тим, розв'язання цієї проблеми є насущним, так як у системі практичної охорони здоров'я існує гострий дефіцит інформації про переваги та недоліки методів діагностики, що застосовуються для діагностики ПСШ. Недостатньо розроблені питання інтерпретації результатів лабораторних досліджень із застосуванням нових технологій. Така ситуація веде до настороженого, а частіше й до негативного ставлення практичних лікарів до нових молекулярно-генетичних та імунологічних методів діагностики. Не є секретом й те, що у багатьох установах охорони здоров'я (жіночих консультаціях, поліклініках тощо) головними методами діагностики хламідіозу, трихомоніазу та ін. є світлова мікроскопія мазків, а у кращому випадку – одноразове дослідження сироватки крові щодо наявності антитіл до деяких збудників. Таким чином, застосовуються мало специфічні та недостатньо інформативні методи, що, природно, відображається на якості лабораторної діагностики та ефективності лікування.

Крім того, існують об'єктивні труднощі у лабораторній діагностиці актуальних уrogenітальних інфекцій. Серйозними проблемами є різноманіття природи їх збудників, наявність мікст-інфекцій при хронічній уrogenітальній патології [4], а також недотримання правил збору, зберігання, транспортування матеріалу та технології лабораторних досліджень. Важливою обставиною є своєрідність клінічної картини ПСШ, що характеризуються відсутністю яскравих клінічних проявів, торпідним перебігом, що також утруднює діагностику та поєднанням настороженості лікарів та хворого [3].

У зв'язку з вищевикладеним, виникає необхідність застосування широкого спектру методів лабораторної діагностики та необхідність проведення досліджень різноманітних біологічних матеріалів (зшкребки слизових оболонок органів сечостатевої системи, сік простати, сироватка крові та ін.)

Задачею даної роботи було визначення сучасних підходів до розробки уніфікованої стратегії діагностики захворювань, що викликають ПСШ та інтерпретації результатів лабораторних досліджень на основі застосування різних методів: полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), прямої імунофлюоресценції (ПІФ), визначення рівнів антитіл IgG та IgA до ряду збудників.

Досвід застосування ПЛР, накопичений до цього часу, свідчить про високу ефективність застосування цього методу у діагностиці багатьох інфекційних захворювань, включно ПСШ [6,8]. Головними перевагами ПЛР є дуже висока специфічність (до 100%) та чутливість (також до 100%), що дозволяє застосовувати її для діагностики не тільки гострих, а й хронічних, латентних, в'ялотекучих інфекцій. Це є особливо важливим для діагностики

ПСШ. Крім того, універсальність процедури дослідження дозволяє ідентифікувати практично усі відомі мікроорганізми, віруси, гриби, найпростіші на мінімальній кількості біологічного матеріалу, а також документувати результати досліджень і створювати комп'ютерні бази даних. Методи ПЛР-генотипування із застосуванням довільних праймерів дозволяють розширити спектр ПЛР-досліджень і використовувати цей метод для таксономічної ідентифікації мікроорганізмів, їх серо- та біоварів, а також визначити їхню чутливість до лікарських засобів.

Однак, досвід застосування ПЛР у практичній діагностиці свідчить й про деякі недоліки цього методу, що пов'язані, у першу чергу, з особливостями клінічної інтерпретації результатів ПЛР-аналізу. Це обумовлено дуже високою чутливістю цього методу. Наприклад, позитивні результати ПЛР свідчать про наявність ДНК збудника у дослідному зразку. Але це, можливо, є рештки ДНК мікроорганізмів, які поки що не еліміновані з організму хворого. Тому при позитивних результатах ПЛР-діагностики потрібно розрізняти хворобу, носійство або наслідки хвороби. Це є особливо важливим, наприклад, при застосуванні ПЛР для контролю ефективності лікування та диспансерному нагляді.

Крім того, за своїм принципом ПЛР є якісним методом і не може надати інформації про вірусне або бактеріальне навантаження у хворого. У цей час активно розробляються методи кількісної ПЛР, але поки що вони не можуть бути широко застосованими для діагностики ПСШ.

Вказані труднощі, на нашу думку, мають бути подолані при сумісному застосування ПЛР та інших методів.

Методи імунофлюоресценції, наприклад, ПІФ ґрунтуються на зв'язуванні антигенів збудників, що знаходяться у дослідному зразку, з діагностичними антитілами, що мічені флюорохромами. Створення комплексу "антиген-антитіло" реєструється за наявністю специфічного свічення за допомогою люмінесцентного мікроскопу. Матеріалом для дослідження є зшкребки слизових оболонок уrogenітального тракту.

До переваг методу можна віднести відносно швидкість та досить високу чутливість та специфічність [2,9]. Але цей метод має багато недоліків, до яких у першу чергу відносяться труднощі об'єктивного обліку результатів аналізу (необхідний досвід лікаря-лаборанта), а також неможливість оцінювати загальний вигляд препарату, що в цілому у значній мірі знижує інформативність методу. Крім того, досить вузьким є спектр збудників, які можливо діагностувати за допомогою цього методу: хламідії, уреоплазми, мікоплазми, трихомонади та віруси.

Визначення рівнів антитіл до збудників ПСШ у сироватці крові методом імуноферментного аналізу є єдиним на цей час методом, який дозволяє визначити стадію захворювання (гостра, хронічна, рецидив, релікція), а також оцінити імунний статус організму хворого, що відіграє важливу роль у призначенні комплексного лікування [10,11]. Метод оснований на утворенні комплексів "антиген-антитіло" у рідкому середовищі, що супроводжується зміною оптичної щільності. Кількісна оцінка рівнів титрів антитіл здійснюється за допомогою

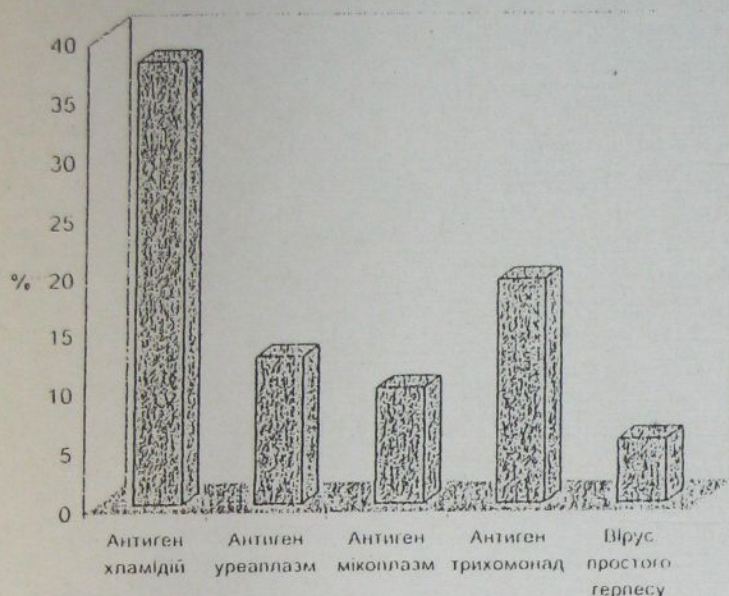


Рис. 1. Частота виявлення ПСШ з використанням методу ПІФ

спектрофотометрів з подальшою математичною обробкою.

Цей метод є придатним для виявлення рівнів антитіл класів IgG, IgM та IgA проти хламідій, трихомонад, токсоплазм, вірусів герпесу, та цитомегаловірусу.

Недоліками цього методу є необхідність застосування досить коштиного обладнання, а також складність обліку, а особливо інтерпретації результатів під час визначення рівнів титрів антитіл різних класів. Ці показники залежать від реактивності імунної системи кожного хворого, тому можливо тільки мати на увазі поняття так званих "межових" або "діагностичних" титрів. Крім того, для отримання діагностично значимих результатів необхідним є двократне, а краще трьохкратне дослідження рівнів антитіл для визначення динаміки показників.

Матеріал і методи дослідження

Діагностичні дослідження були проведені у 362 чоловіків у віці від 20 до 45 років з хронічними уретропростатитами невстановленої етіології, а також у 230 жінок у віці від 20 до 47 років, які страждали кольпітами, хронічними цервіцитами та аднекситами. Тривалість захворювання складала від 4 місяців до 12 років.

Матеріалом для досліджень методом ПЛР та ПІФ були знімки слизових оболонок уретри і секрет простати (у чоловіків), знімки слизових піхви, церві кального каналу та уретри у жінок. Матеріалом для визначення титрів антитіл була сироватка крові. У кожному зразку методом ПІФ та ПЛР визначали наявність *S. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *T. vaginalis*, *Virus herpes simplex*, додатково методом ПЛР – наявність *Cytomegalovirus* та *Papillomavirus*. У сироватці крові здійснювалося кількісне визначення рівнів титрів антитіл класів А та G до хламідій, трихомонад, вірусів герпесу та цитомегаловірусу.

Для проведення ПЛР-діагностики були застосовані тест-системи для виявлення ДНК збудників ПСШ виробництва фірм „Літєх” та „Ампілісенс” (м. Москва, Росія). Визначення рівнів титрів антитіл у сироватці крові було проведено за допомогою тест-систем виробництва ІІІФ „Вектор-Бест” (м. Новосибірськ, Росія). Виявлення ДНК та антитіл здійснювалося згідно з інструкціями по

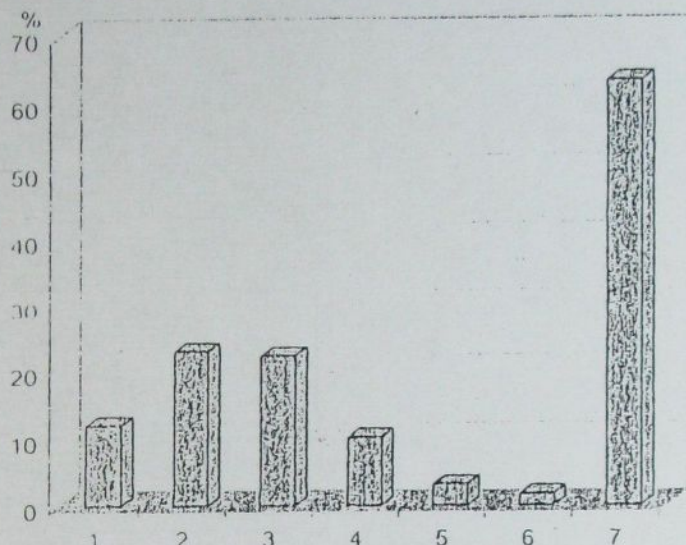


Рис. 2. Асоціації збудників ПСШ, що виявлюються за допомогою методу ПЛР

1. Моно інфекція *Chlamydia trachomatis*
2. *Virus herpes simplex*
3. *Ureaplasma urealyticum*
4. *Mycoplasma hominis*
5. *Cytomegalovirus*
6. *Papillomavirus*
7. *Trichomonas vaginalis*

застосуванню цих тест-систем.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати первинних досліджень з використанням методу ПІФ наведені на рис. 1. Виявляємість хламідійного антигену за допомогою цього методу складала 37,8% серед усіх хворих. Майже в 2 рази (у 19,2%) рідше виявлялися трихомонади. Значно нижчою виявилася виявляємість уреоплазм та мікоплазм (відповідно 12,5% та 9,8%), а також вірусу простого герпесу (5,4%).

За допомогою методу ПЛР ДНК *S. trachomatis* була виявлена у 278 з 592 випадків, що складає 47,0% хворих, які були обстежені. Показники виявлення інших ПСШ були також значно вищими ніж при використанні методу ПІФ. Крім хламідій, метод ПЛР дозволив виявити інших збудників актуальних уrogenітальних інфекцій та їх асоціації (рис 2). Найчастіше хламідійна інфекція була асоційована з трихомонадами (в 63,2% випадків), в 2,8 разів рідше – з вірусом простого герпесу (22,9% хворих), майже у такій кількості спостерігалися асоціації з уреоплазмами (22,2 % випадків). Мікоплазми, цитомегаловірус та папіломавірус зустрічалися відповідно у 10,2%, 3,2% та 1,8% обстежених пацієнтів. Необхідно підкреслити, що, за даними ПЛР, хламідійна моноінфекція спостерігалася лише у 12,0% загальної кількості випадків.

Результати діагностики ПСШ методом ПЛР свідчать про його високу ефективність та чутливість. Остання перевищує чутливість методу ПІФ при діагностиці вищевказаних патогенів в 1,25-1,6 разів. Крім того, за допомогою ПЛР можливим є виявлення, наприклад, цитомегаловірусу, папіломавірусу та інших збудників, які неможливо виявити іншими методами.

Слід відмітити, що обидва вищевказаних мето-

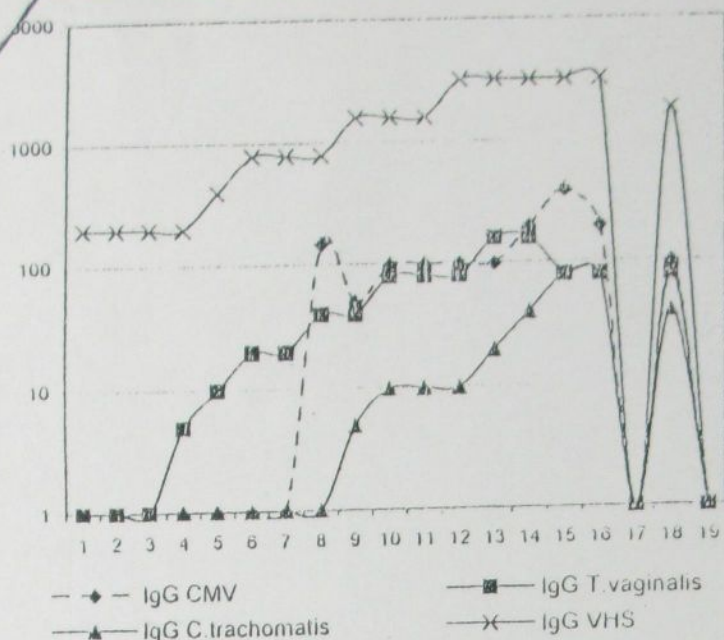


Рис. 3. Динаміка титрів антитіл IgG до збудників ІСШ протягом лікування, під час реінфекції та рецидивів захворювання

ди (ПФ та ПЛР) є якісними та не дозволяють виявити кількісні показники перебігу ІСШ. З метою визначення динаміки титрів антитіл до збудників ІСШ нами був застосований метод імуноферментного аналізу сироватки крові на наявність антитіл класів А та G у різні терміни перебігу захворювання.

Протягом досліджень нами визначалися титри антитіл IgG та IgA до *C. trachomatis*, а також титри антитіл класу IgG до *T. vaginalis*, цитомегаловірусу та вірусу простого герпесу. Дослідження були проведені при первинному обстеженні хворого, 2-3 рази протягом лікування, при контрольних обстеженнях, а також при наявності рецидивів або реінфікування. Результати досліджень подані на рис. 3.

Дослідження титрів антитіл IgG дозволило зробити висновок про те, ще ріст рівнів титрів антитіл починається здебільшого наприкінці третього тижня хвороби, а досить високі показники (1:80 - 1:160 та вище у *C. trachomatis*, 1:40 - 1:80 у *T. vaginalis*, 1:400-1:800 у цитомегаловірусу та 1:1600-1:3200 у вірусу простого герпесу) спостерігаються протягом 3-4 місяців після початку захворювання. Про наявність рецидиву або реінфікування свідчить зростання титрів після їх зменшення. У разі підвищення рівнів титру IgG до збудників після закінчення лікування потрібно провести виявлення титрів IgA для диференціації рецидиву або реінфекції.

Таким чином, виявлення титрів антитіл IgG, які вважаються антитілами хронічної фази захворювання, дозволяє визначити стадію перебігу хвороби, а також явища реінфекції та рецидиву хвороби. Важливо підкреслити, що за допомогою цього методу можливо оцінити ступінь імунореактивності організму та при необхідності призначити імунокорегуючу терапію.

Висновки

1. Найбільш чутливим та специфічним мето-

дом діагностики ІСШ є метод ПЛР. Він також дозволяє визначити найбільш широке коло збудників.

2. Виявлення динаміки титрів антитіл проти збудників ІСШ дозволяє виявити стадію захворювання, оцінити ступінь імунореактивності організму.

3. Найбільш доцільним є застосування комплексної діагностики ІСШ, яка включає ПФ як метод первинного скрінингу, ПЛР та імуноферментний аналіз як методи поглибленої етіологічної розшифровки ЗПСШ.

Література

1. Адашкевич В.П. Заболевания, передаваемые половым путем.-Витебск: Изд-во Витебского медицинского института, 1997.- 310 с.
2. Хламидиоз. Современные подходы к диагностике и лечению / Е.Г.Бочкарев, Ю.В.Сергеев, М.А.Вашмакова и др.// М., 2000.- 320 с.
3. Мавров И.И. Нарушение репродуктивной функции у больных урогенитальным хламидиозом и уреаплазмозом // Вест.дерматол.-1992.-11.-С.72-75
4. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий.- М.: ИИД "Феникс".-1997.- 536 с.
5. Цитомегаловирусная инфекция у беременных / Фарбер Н.А., Чешик С.Г., Иванова Л.А. и др.// Клини. вирусология.- 1987.-№ 7-8.-С.69-72
6. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. (п/ред С Херрингтона и Дж. Макги).- Пер. с англ.- М.: Мир, 1999.- 558 с.
7. Щербо С.И., Макаров В.В. ПЦР-диагностика заболеваний, передаваемых половым путем // Клиническая лабораторная диагностика.-1998.-№ 2.- С.21-24
8. Ehrlich G.D. The Impact of the PCR in Clinical Medicine // JAMA.-2000.- V 283.-№12.- P.1544-1546
9. Сравнительная оценка современных лабораторных методов диагностики трихомониаза / Головкин А.В., Гомер А.И., Дюдюн А.Д. и др.// Дерматология, косметология, сексопатология.-1998.- 1.- С.148-150
10. Мавров Г.И. Определение антител к *C. trachomatis*, прикарисекающих к классам IgG, IgM, IgA с помощью иммуноферментного анализа у больных воспалительными заболеваниями урогенитального тракта.// Вест. дерматол.-1987.-2.-С.10-13
11. Попович Т.Г. Оценка серологических методов диагностики хламидиозов.// Микробиол.журн.-1989.-С. 43-2.-С.188-191

Lebediuk M.M., Fedchuk V.P., Nikolaevsky V.V., Bazhora Yu.I. The Current Approaches to the Diagnosis of Actual Urogenital Infections

Summary. The research is devoted to the problem of over-all approach to the diagnostics of sexually transmitted diseases (STD), which is one of the main components of successful treatment and prophylaxis of these infections. Results of different methods of laboratory diagnostics including direct immune fluorescent method, polymerase chain reaction (PCR) and ELISA are shown. ELISA method was used for estimation of IgA and IgG antibodies levels in blood serum before, during and after treatment. When compared, results of PCR diagnostics were more effective and sensitive, especially for the revealing of agents associations components. ELISA method should be used for quantitative researches and disease stage definition.

Key words: diagnostics, polymerase chain reaction, antibodies.

Надійшла 28.10.2002 року.