

## Иммунотерапия сопровождения с использованием криоконсервированных гемопоэтических клеток кордовой крови в лечении больных подострым сальпингоофоритом

В.И. Грищенко<sup>1</sup>, В.В. Лазуренко<sup>2</sup>, О.В. Мерцалова<sup>2</sup>, Д.И. Конько<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Харьковский государственный медицинский университет, г. Харьков

## Accompanying Immunotherapy Using Cord Blood Cryopreserved Hemopoietic Cells to Treat Patients with Subacute Salpingo-Oophoritis

GRISCHENKO V.I.<sup>1</sup>, LAZURENKO V.V.<sup>2</sup>, MERTSALOVA O.V.<sup>2</sup>, KONKO D.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

<sup>2</sup>Kharkov State Medical University, Kharkov

Изучено влияние трансплантации криоконсервированных гемопоэтических клеток кордовой крови (препарат «Гемокорд») на клинические проявления заболевания и иммунологические показатели больных с подострым сальпингоофоритом. Полученные результаты свидетельствуют о том, что используемый препарат «Гемокорд», помимо выраженного клинического эффекта, оказывает иммуномодулирующее действие.

**Ключевые слова:** подострый сальпингоофорит, трансплантация, криоконсервированные гемопоэтические клетки, кордовая кровь, иммунотерапия сопровождения.

Вивчено вплив трансплантації криоконсервованих гемопоетичних клітин кордової крові (препарат «Гемокорд») на клінічні прояви захворювання та імунологічні показники хворих на підгострий сальпінгоофорит. Отримані результати свідчать про те, що препарат «Гемокорд», крім вираженого клінічного ефекту, має імуномодулюючу дію.

**Ключові слова:** підгострий сальпінгоофорит, трансплантація, криоконсервовані гемопоетичні клітини, кордова кров, імуноterapia супроводу.

The transplantation effect of cord blood cryopreserved hemopoietic cells ("Hemocord" preparation) on the disease clinical manifestations and immunological indices in patients with subacute salpingo-oophoritis was studied. The results obtained testify to the fact, that the used "Hemocord" preparation together with the manifested clinical effect, causes an immune-modulating effect as well.

**Key words:** subacute salpingo-oophoritis, transplantation, cryopreserved hemopoietic cells, cord blood, accompanying immunotherapy.

Воспалительные заболевания женских половых органов по-прежнему представляют собой серьезную медицинскую, социальную и демографическую проблему [3, 6].

Данные публикаций последних лет свидетельствуют об изменении течения воспалительных процессов придатков матки: стали преобладать подострые заболевания [5]. Одной из основных причин подострого течения сальпингоофоритов и недостаточной эффективности противовоспалительной терапии является снижение иммунологической реактивности организма [7]. В связи с этим очевидна необходимость включения иммуностимулирующих препаратов в комплексную патогенетическую терапию данного заболевания.

Следует отметить, что современная медицина, пережив увлечение химическими препаратами и синтетическими медикаментозными средствами,

The inflammatory diseases of female genital organs have been still a serious medical, social and demographic problem [3, 6].

The recent data of publications testify to a change in the inflammatory process course of uterine appendages: there is the prevalence of subacute diseases [5]. One of the main causes for a subacute course of salpingo-oophoritis and insufficient efficiency of anti-inflammatory therapy is a decrease in an organism's immunological reactivity [7]. In this connection the necessity of including the immune-stimulating preparations for a combined pathogenetic therapy of this disease occurred to be evident.

It should be noted, that the current medicine, after going through the "affection" for chemical preparations and synthetic remedies, is aiming at the naturally biological treating methods with a usage

**Адрес для корреспонденции:** Грищенко В.И., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 772-11-19, факс: +38 (057) 772-00-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

**Address for correspondence:** Grischenko V.I., Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the Nat. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +38 (057) 7721119, fax: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

стремится к естественно-биологическим методам лечения с использованием наукоемких технологий [2]. В ИПКиК НАН Украины в рамках программы по трансплантации клеток и тканей разрабатываются эффективные технологии долгосрочного хранения различных биологических объектов, в частности кроветворных клеток различного происхождения [8], в том числе клеток, содержащихся в пуповинной крови [1, 10]. В клинической практике применяется препарат «Гемокорд», представляющий собой суспензию криоконсервированных кроветворных и вспомогательных клеток кордовой (пуповинной) крови в аутологичной плазме, богатой биологически активными веществами: ростовыми факторами, иммуномодуляторами, регуляторными монокинами, интерлейкинами, интерфероном, ферментами, гормонами, микроэлементами, аминокислотами, витаминами и др. Препарат производится по международным стандартам качества, сертифицирован в соответствии с рекомендациями EUROCORD, разрешен к клиническому применению МОЗ Украины [9].

Цель работы – изучение влияния трансфузии препарата «Гемокорд» на состояние иммунитета женщин с подострым сальпингоофоритом при комплексном лечении воспалительных заболеваний придатков матки.

### **Материалы и методы**

Проведено клинико-иммунологическое обследование 48 женщин с клиническими проявлениями подострого воспаления придатков матки.

Контрольную группу составили 20 соматически здоровых женщин, в анамнезе которых отсутствовали воспалительные гинекологические заболевания.

Женщины с подострым сальпингоофоритом были разделены на 2 группы: группу сравнения составили 28 пациенток, которые получали традиционную противовоспалительную терапию; у 20 больных основной группы в комплексном лечении использовали препарат «Гемокорд».

Помимо общеклинического обследования, определения группы крови и Rh-принадлежности (у женщин основной группы) у всех больных проводили бактериоскопическое исследование отделяемого из влагалища, цервикального канала и уретры. Использовали также бактериологический метод определения микрофлоры и ее чувствительности к антибактериальным препаратам. Для диагностирования хламидийной, микоплазменной, уреоплазменной, гарднереллезной и вирусных инфекций применяли метод ДНК-диагностики в ПЦР, титр антител выявляли методом ИФА.

of science intensive technologies [2]. At the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine within the frames of the programme on cell and tissue transplantation there are elaborated the efficient technologies for a long-term storage of different biological objects, in particular, hemopoietic cells of different origin [8], including those, being in cord blood [1, 10]. In clinical practice there is applied the “Hemocord” preparation, which is the suspension of cryopreserved hemopoietic and auxiliary cells of cord (umbilical) blood in autologous plasm, rich with biologically active substances such as: the growth factors, immunomodulators, regulatory monokines, interleukines, interferon, enzymes, hormones, microelements, aminoacids, vitamins etc. The preparation is produced in compliance with the international quality standards, is certified according to the EUROCORD recommendations, is authorised for clinical application by the Ministry of Health Care of Ukraine [9].

The aim of the work was to study the transfusion effect of “Hemocord” preparation on the immunity state of women with subacute salpingo-oophoritis during a combined treatment of inflammatory diseases in uterine appendages.

### **Materials and methods**

There was carried-out the clinical and immunological examination of 48 women with clinical manifestations of subacute inflammation in uterine appendages.

The control group comprised 20 somatically healthy women having no inflammatory gynecological diseases in their anamnesis.

Women with subacute salpingo-oophoritis were divided into 2 groups: the group for comparing consisted of 28 patients with traditional anti-inflammatory therapy; in 20 patients of the main group the “Hemocord” preparation was used in a combined treatment.

In addition to general clinical examination, the determination of blood group and Rh-belonging (in women of main group), the bacterioscopic investigation of discharge from vagina, cervical channel and urethra was performed for all patients. Bacteriological method for determining the microflora and its sensitivity to antibacterial preparations was used as well. For diagnosing Chlamydia, Mycoplasma, Ureaplasma, Gardnerella and viral infections we used the DNA-diagnostics in PCR, the antibody titer was detected with IEA method.

The anti-inflammatory treatment comprised the usage of antibiotics depending on a pathogene. The

Противовоспалительное лечение включало использование антибиотиков в зависимости от возбудителя. Антибактериальную терапию проводили в основном такими препаратами, как цефазолин, цефтриаксон, зинацеф. Для воздействия на анаэробную флору применяли метрогил, для лечения гарднереллезной инфекции - далацин. Для профилактики дисбактериоза назначали нистатин или леворин. Кроме того, применяли витаминотерапию В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, Е, С, дезинтоксикационные, седативные, антигистаминные средства, биостимуляторы (ФиБС, плазмол, стекловидное тело), проводили физиотерапевтические процедуры.

Больным основной группы после антибактериальной терапии внутривенно вводили «Гемокорд», совместимый по АВ0 и Rh-принадлежности (50-60 мл с общим содержанием ядерных клеток не менее  $3 \times 10^8$ ). Посттрансфузионных осложнений не наблюдалось. Иммунологический контроль проводили до начала лечения и на 10-й день после трансфузии препарата.

Иммунологические методы исследования включали определение популяций и субпопуляций лимфоцитов идентификацией CD-молекул, экспрессированных на мембране клеток, методом непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами. Определяли количество Т- и В-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>), Т-супрессоров (CD8<sup>+</sup>), относительное количество 0-лимфоцитов. Для оценки сбалансированности Т-клеточного иммунитета подсчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, лейкоцито-Т-клеточный индекс (ЛТИ) [4]. Уровень иммуноглобулинов (Ig) основных классов (G, A, M) определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини с использованием коммерческих моноспецифических сывороток против иммуноглобулинов человека. Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) измеряли спектрофотометрическим методом преципитации с ПЭГ-6000Д.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по критерию Стьюдента-Фишера.

### Результаты и обсуждение

У 43 женщин (89,6%) обострялся хронический воспалительный процесс, у 5 (10,4%) заболевание выявлено впервые. Длительность заболевания до 1-го года отмечалась в 20,8%, от 1-го до 3-х лет – у 43,8% и более 3 лет – в 35,4% наблюдений. Больные жаловались на боли внизу живота различной степени выраженности, патологические выделения из половых путей, нарушение менструальной, репродуктивной функций. Температура тела была субфебрильной у 14 (29,2%) и нормальной у 33 (68,7%) больных. У всех обследуемых живот при

antibacterial therapy was conducted mostly with such preparations as cefazolin, ceftriaxone and zinacef. In order to affect anaerobic flora we used metrogyl, for treating Gardnerella infection we used dalacin. For dysbacteriosis prevention there were administered nystatin and levorin. In addition, there were applied the vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, E, C therapy, detoxical, sedative, antihistaminic means, biostimulators (FiBS, plasmolum, vitreous body), physiotherapeutic procedures.

The “Hemocord”, compatible by AB0 and Rh-belonging (50-60 ml with total nuclear cell content not less than  $3 \times 10^8$ ), was intravenously injected to the patients of the main group after antibacterial therapy. No post-transfusion complications were observed. The immunological control was accomplished before the treatment beginning and to the 10<sup>th</sup> day after preparation transfusion.

The immunological methods of investigation included the determination of lymphocyte populations and subpopulations by identifying the CD-molecules, expressed on cell membrane, using the method of indirect immune fluorescence with monoclonal antibodies. There were determined the number of T- and B-lymphocytes (CD3<sup>+</sup> and CD19<sup>+</sup>), T-helpers (CD4<sup>+</sup>), T-suppressors (CD8<sup>+</sup>), a relative number of 0-lymphocytes. In order to estimate the equilibrium of T-cellular immunity there were calculated the immune regulatory index (IRI) of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, the leukocyte-T-cellular index (LTI) [4]. The level of immunoglobulins (Ig) of the main classes (G, A, M) was detected by the Mancini's method of radial immune diffusion with usage of commercial monospecific sera against human immunoglobulins. A number of circulating immune complexes (CIC) was measured using spectrophotometrical method of precipitation with PEG-6000.

Statistical processing of the results obtained was carried-out by Student-Fisher criterion.

### Results and discussion

Chronic inflammatory process aggravated in 43 women (89.6 %), in 5 ones (10.4%) the disease was revealed for the first time. The disease duration up to 1 year was noted in 20.8%, from 1 to 3 years in 43.8% and more than 3 years in 35.4% of observations. The patients complained of the pains at the bottom of the abdomen with a different manifestation degree, pathological discharge from genital tracts, disorder in menstrual, reproductive functions. Body temperature was subfebrile in 14 (29.2%) and normal in 33 (68.7%) patients. In all patients the abdomen was soft with palpation, in 34 (70.8%) patients the abdomen was painless, in 14 women (29.2%) the painfulness was observed in

пальпации был мягким, безболезненным, у 34 (70,8%) пациенток, болезненность в нижних отделах отмечалась у 14 (29,2%) больных. Количество лейкоцитов в крови в большинстве наблюдений (89,6%) было в пределах нормы. У 5 больных лейкоцитоз превышал  $9 \times 10^9/\text{л}$  и была увеличена СОЭ (более 15 мм/ч).

При бактериоскопии у 11 (22,9%) больных были выявлены грибы рода *Candida Albicans*, гарднереллы – у 10 (20,8%), трихомонады – у 5 (6,3%), лептотрикс – у 4 (4,8%). При бактериологическом исследовании чаще всего обнаруживали: стафилококк – у 31 (64,6%), стрептококк – у 12 (25%), грибы рода *Candida albicans* – у 11 (22,9%) больных, а также различные представители семейства *Enterobacteriaceae* (*E. Coli*, энтеробактер, *Enterococcus faecalis* и др.). При этом у 32 (66,67%) пациенток микроорганизмы выделялись в различных ассоциациях, из которых наиболее частыми были: стафилококк + грибы рода *Candida*; стафилококк + коринебактерии; стафилококк + *E. Coli* + *Enterococcus faecalis*. Таким образом, у всех больных был выявлен клинически и подтвержден бактериологически подострый сальпингоофорит.

Анализ иммунограмм до начала лечения показал: относительное содержание зрелых тимусзависимых лимфоцитов, выявляемых CD3<sup>+</sup> антителами, составило  $51,6 \pm 1,9\%$ , что ниже по сравнению с контролем ( $65,7 \pm 2,1\%$ ). При этом достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение содержания CD4<sup>+</sup>-клеток ( $26,8 \pm 2,1\%$ ) сопровождалось менее выраженным уменьшением ( $p > 0,05$ ) относительного количества CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $21,4 \pm 1,4\%$ ). Такое перераспределение концентрации Т-хелперов и Т-супрессоров с выраженным снижением ИРИ ( $1,2 \pm 0,1$  против  $1,7 \pm 0,1$  в контроле) предрасполагает к хронизации заболевания и его рецидивированию. Среднегрупповой показатель исходного уровня ЛТИ составил  $7,4 \pm 0,6$  усл. ед. ( $4,6 \pm 0,3$  усл. ед. – в контрольной группе). Следовательно, снижение количественных показателей Т-клеточного звена иммунитета является одной из характерных особенностей состояния иммунной системы у данной категории больных. Относительное содержание в периферической крови больных В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>-клеток) не претерпело достоверных изменений по сравнению с контрольной группой ( $p > 0,05$ ). Характерной особенностью изменения иммунного статуса явилось увеличение содержания 0-лимфоцитов ( $23,2 \pm 1,6$  против  $12,3 \pm 1,1\%$  у женщин контрольной группы). Несмотря на отсутствие значительных изменений в количественном составе В-лимфоцитов, продукция основных классов иммуноглобулинов у большинства больных характе-

lower parts. In the majority of observations (89.6%) the leukocyte amount in blood was within the norm. In 5 patients the leukocytosis exceeded  $9 \times 10^9/\text{l}$  and ESR was increased (more than 15 mm/hr).

During bacterioscopy the *Candida Albicans* fungi were revealed in 11 (22.9%), Gardnerella in 10 (20.8%), Trichomonas in 5 (6.3%), leptothrix in 4 (4.8%) patients. At bacteriological investigation the most frequent were: staphylococcus in 31 (64.6%), streptococcus in 12 (25%), *Candida Albicans* fungi in 11 (22.9%) patients, as well as different representatives of *Enterobacteriaceae* (*E.Coli*, enterobacter, *Enterococcus faecalis*, etc). At the same time in 32 (66.67%) patients the microorganisms were detected in various associations, where the most frequent were such as: staphylococcus + *Candida fungi*; staphylococcus + korynebacteria; staphylococcus + *E.Coli* + *Enterococcus faecalis*. Thus, the subacute salpingo-oophoritis was clinically revealed and bacteriologically confirmed in all patients.

The immunogram analysis before treatment demonstrated the following: a relative content of mature thymus-dependent lymphocytes, revealed by C3<sup>+</sup> antibodies, made  $51.6 \pm 1.9\%$ , that was lower in comparison with the control ( $65.7 \pm 2.1\%$ ). At the same time a statistical and true ( $p < 0.05$ ) decrease in CD4<sup>+</sup>-cell content ( $26.8 \pm 2.1\%$ ) was accompanied by a less manifested reduction ( $p > 0.05$ ) of the CD8<sup>+</sup>-lymphocyte relative number ( $21.4 \pm 1.4\%$ ). Such redistribution of T-helper and T-suppressor concentration with a manifested decrease in IRI ( $1.2 \pm 0.1$  versus  $1.7 \pm 0.1$  in the control) predisposes to the disease chronic course and its relapsing. The average group index of the LTI initial level made  $7.4 \pm 0.6$  rel. units ( $4.6 \pm 0.3$  rel. units in the control group). Consequently, a decrease in qualitative indices of T-cellular link of the immunity is one of the characteristic peculiarities of the immune system state in this category of patients. A relative content of B-lymphocytes (CD19<sup>+</sup>-cells) in peripheric blood of patients did not undergo the statistical and true changes in comparison with the control group ( $p > 0.05$ ). A characteristic feature of the immune status change is an increase in 0-lymphocyte content ( $23.2 \pm 1.6$  versus  $1.1\%$  in the control group's women). In spite of the absence of the considerable changes in B-lymphocyte quantitative composition, the production of the immunoglobulin main classes was characterised in the majority of patients by an increase in IgG ( $14.7 \pm 0.7$  g/l,  $p < 0.05$ ), IgM ( $1.4 \pm 0.2$  g/l,  $p > 0.05$ ) and a IgA decrease ( $2.2 \pm 0.2$ ,  $p < 0.05$ ).

There was observed the initial CIC hyperconcentration in peripheric blood serum ( $130.5 \pm 11.6$  relative units). The important condition of CIC apathogenicity is their prompt elimination from



ризовалась повышением IgG ( $14,7 \pm 0,7$  г/л,  $p < 0,05$ ), IgM ( $1,4 \pm 0,2$  г/л,  $p > 0,05$ ) и снижением IgA ( $2,2 \pm 0,2$ ,  $p < 0,05$ ).

Наблюдалась исходная гиперконцентрация в сыворотке периферической крови ЦИК ( $130,5 \pm 11,6$  усл. ед.). Важным условием апаатогенности ЦИК является их быстрая элиминация из кровяного русла функционирующей макрофагально-фагоцитарной системой (МФС). Показатель, характеризующий поглотительную функцию нейтрофилов периферической крови (фагоцитарное число), а также количество фагоцитирующих нейтрофилов крови были повышены –  $3,9 \pm 0,5$  усл.ед. ( $p > 0,05$ ) и  $89,2 \pm 2,5\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно (у женщин контрольной группы –  $3,4 \pm 0,4$  усл. ед. и  $76,7 \pm 2,3\%$  соответственно), что может свидетельствовать о компенсаторном напряжении клеток МФС. Кроме того, повышенный уровень поглотительной способности фагоцитирующих нейтрофилов периферической крови больных сопровождался подавлением их переваривающей активности, что выражалось в достоверном снижении показателя бактерицидной активности нейтрофилов ( $26,4 \pm 0,6\%$ ) и индекса завершенности фагоцитоза (ИЗФ) –  $0,7 \pm 0,03$  усл.ед.

Таким образом, анализ оценки состояния иммунного статуса больных подострым сальпингоофоритом до лечения свидетельствует о существенных изменениях всех звеньев иммунитета, которые могут рассматриваться как комбинированный тип нарушений иммунного статуса.

Оценка состояния различных звеньев иммунитета данной категории больных (группа сравнения) после использования методов традиционной терапии выявила неоднозначность изменения тех или иных показателей по степени их выраженности и направленности. Анализ полученных результатов показал снижение по сравнению с исходным уровнем среднegrupпового показателя относительного количества  $CD3^+$ -лимфоцитов ( $47,4 \pm 2,1\%$ ,  $p > 0,05$ ). При этом процентное содержание  $CD4^+$ -клеток несколько снижалось ( $24,8 \pm 1,6\%$ ), а у части больных увеличивалось количество Т-супрессоров ( $22,3 \pm 1,7\%$ ) и уменьшалась величина ИРИ до  $1,1 \pm 0,1$  усл. ед. Следовательно, в конце традиционного лечения больных подострым сальпингоофоритом изменение регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов происходило в инвертированной форме. Увеличение количества Т-супрессоров по отношению к Т-хелперам может считаться признаком завершения воспалительного процесса. Однако у части больных восстановление сниженного количества Т-лимфоцитов не сопровождалось нормализацией содержания “нулевых” клеток.

blood channel by the functioning macrophage-phagocyte system (MPS). The index, which characterises the absorptional function of peripheric blood neutrophils (phagocytic number), as well as the amount of phagocytizing blood neutrophils were increased:  $3.9 \pm 0.5$  relative units ( $p > 0.05$ ) and  $89.2 \pm 2.5\%$  ( $p < 0.05$ ), correspondingly (in women of control group there were  $3.4 \pm 0.4$  rel. units and  $76.7 \pm 2.3\%$ , correspondingly), that can testify to a compensatory tension of MPS cells. In addition, an increased level of absorptional capability of peripheric blood phagocytizing neutrophils of patients was accompanied by a suppression of their digestive activity, that was manifested in a considerable and true decrease in the index of neutrophil bactericide activity ( $26.4 \pm 0.6\%$ ) and the index of phagocytosis completion (IPC):  $0.7 \pm 0.03$  rel. units.

Thus, the analysis of evaluation of the immune status of patients with subacute salpingo-oophoritis before treatment testifies to considerable changes in all immunity links, which can be considered as a combined type of immune status disorders.

The evaluation of state of different immune link in this category of patients (comparing group) after using the methods of traditional therapy revealed the random of changes of these or those indices by the degree of their manifestation and orientation. The analysis of the results obtained demonstrated the reduction in comparison with the initial level of the medium group index of a relative  $CD3^+$ -lymphocyte number ( $47.4 \pm 2.1\%$ ,  $p > 0.05$ ). At the same time a percentage content of  $CD4^+$ -cells was slightly decreased ( $24.8 \pm 1.6\%$ ), but in some patients there was an increase in T-suppressor number ( $22.3 \pm 1.7\%$ ) and a decrease in IRI value down to  $1.1 \pm 0.1$  relative units. Consequently, at the end of traditional treatment of patients with subacute salpingo-oophoritis there was a change in the T-lymphocyte regulatory subpopulations in an inverted form. The augmentation of T-suppressor amount in respect of T-helpers can be considered as the sign of the inflammatory process stopping. However in some patients the recovery of a decreased T-lymphocyte number was not accompanied by the normalisation of “zero” cell content.

In the humoral immune link the redistribution of immunoglobulin production was the most considerable after traditional therapy: a decrease in the concentration of serum IgG and IgM ( $12.8 \pm 0.7$  and  $1.2 \pm 0.1$  g/l, correspondingly) and a slight ( $p > 0.05$ ) increase in IgA level ( $2.4 \pm 0.2$  g/l) within the norm. An average group content of CIC decreased to the end of treatment ( $p > 0.05$ ) and made  $113.5 \pm 11.0$  rel. units.

The analysis of state of neutrophil phagocytic activity of peripheric blood revealed the positive

В гуморальном звене иммунитета наиболее значимым после традиционной терапии явилось перераспределение продукции иммуноглобулинов: снижение концентрации сывороточных IgG и IgM ( $12,8 \pm 0,7$  и  $1,2 \pm 0,1$  г/л соответственно) и незначительное ( $p > 0,05$ ) увеличение уровня IgA ( $2,4 \pm 0,2$  г/л) в пределах нормы. Среднегрупповое содержание ЦИК к концу традиционного лечения снизилось ( $p > 0,05$ ) и составило  $113,5 \pm 11,0$  усл. ед.

Анализ состояния фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови выявил положительную динамику среднегрупповых показателей, однако полного восстановления этого звена неспецифической резистентности организма не отмечено. Имела место выраженная активация фагоцитов (фагоцитирующие нейтрофилы периферической крови больных после лечения составили  $96,3 \pm 2,7\%$ , ИЗФ –  $0,9 \pm 0,1$  усл. ед. Таким образом, несмотря на то, что использованная этиотропная и детоксикационная терапия была адекватной и обеспечивала обратное развитие всего комплекса клинических симптомов, у подавляющего большинства больных она не явилась оптимальной с точки зрения коррекции состояния иммунокомпетентной сферы.

На 10-й день после трансфузии криоконсервированной кордовой крови уровень относительного количества циркулирующего пула лимфоцитов периферической крови больных, получавших терапию сопровождения, составил  $31,4 \pm 2,1\%$ , что в 1,4 раза превысило данный показатель в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Улучшились и показатели Т-клеточного звена иммунитета. Так, использование кордовой крови в комплексе с традиционной терапией привело к достоверному увеличению содержания CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $67,8 \pm 3,7\%$ ) и CD4<sup>+</sup>-клеток ( $37,3 \pm 2,8\%$ ), в то время как относительное количество клеток, обладающих супрессорными свойствами (CD8<sup>+</sup>-лимфоциты), не отличалось достоверно от такового в группе сравнения ( $p > 0,05$ ). Показатель ИРИ у пациенток основной группы увеличился в 1,4 раза ( $1,7 \pm 0,1$ ,  $p < 0,05$ ). Наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение содержания в периферической крови 0-клеток ( $9,7 \pm 0,8\%$ ). К наиболее характерным изменениям в показателях иммунного статуса в отношении гуморального звена иммунитета после комплексного лечения с использованием иммунотерапии сопровождения следует отнести повышение концентрации сывороточного уровня IgA ( $3,3 \pm 0,3$  г/л) и снижение количества ЦИК ( $78,4 \pm 5,4$  усл. ед.). Необходимо отметить достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение переваривающей функции нейтрофилов периферической крови больных основной группы: ИЗФ превысил аналогичный показатель в группе сравнения в 1,3 раза и

dynamics of the average group indices, however no complete recovery of this link of an organism's non-specific resistance was observed. There was the manifested phagocyte activation (phagocytosing neutrophils of patients' peripheric blood made after treatment  $96.3 \pm 2.7\%$ , IPC was  $0.9 \pm 0.1$  rel. units). Thus, in spite of the fact, that the used etiotropic and detoxical therapies were adequate and provided a reversible development of all clinical symptoms, from the point of view of an immune competent sphere state correction in the majority of patients it was not optimal.

To the 10<sup>th</sup> day after cryopreserved cord blood transfusion the level of a relative number of the lymphocyte circulating pool of peripheric blood of patients with accompanying therapy made  $31.4 \pm 2.1\%$ , that in 1.4 times exceeded this index for the comparing group ( $p < 0.05$ ). There was the improvement in the T-cell immune link indices. Thus, the usage of cord blood together with traditional therapy resulted in a considerable and true augmentation of CD3<sup>+</sup>-lymphocyte ( $67.8 \pm 3.7\%$ ) and CD4<sup>+</sup>-cell ( $37.3 \pm 2.8\%$ ) content, whereas a relative number of cells with suppressive properties (CD8<sup>+</sup>-lymphocytes) did not significantly differ from that in the group for comparing ( $p > 0.05$ ). The IRI indices in the main group's patients increased in 1.4 times ( $1.7 \pm 0.1$ ,  $p < 0.05$ ). A considerable and true reduction of 0-cell content in peripheric blood ( $9.7 \pm 0.8\%$ ) was observed. An increase in the concentration of IgA serum level ( $3.3 \pm 0.3$  g/l) and a decrease in CIC number ( $78.4 \pm 5.4$  rel. units) should be referred to the most characteristic changes in the immune status indices in respect of the immunity humoral link after a combined treatment with the usage of the accompanying immune therapy. Statistical and true ( $p < 0.05$ ) increase in the neutrophil digestive function of peripheric blood of the main group's patients should be noted. The IPC exceeded the same index in the comparing group in 1.3 times and made  $1.2 \pm 0.1$  rel. units ( $p < 0.05$ ), that testifies to the end of killing effect and the normalisation of blood neutrophil phagocytic activity.

It should be noted as well, that after traditional combined anti-inflammatory therapy the clinical recovery was observed in 15 (53.6%) and the improvement in 11 (39.3%) women. In 2 (7.1%) patients the treatment did not cause a positive result. During combined treatment with "Hemocord" application the clinical recovery occurred in 17 (85%) and a considerable state improvement was in 3 (15%) patients.

## Conclusions

Thus, the study of immune status in women with subacute salpingo-oophoritis allowed to reveal the

составил  $1,2 \pm 0,1$  усл. ед. ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о завершенности киллингового эффекта и нормализации фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

Следует также отметить, что после традиционной комплексной противовоспалительной терапии клиническое выздоровление отмечено у 15 (53,6%) женщин, улучшение – у 11 (39,3%). У 2 (7,1%) больных лечение не дало положительного результата. При комплексном лечении с применением «Гемокорда» клиническое выздоровление наступило у 17 (85%), значительное улучшение состояния – у 3 (15%) больных.

### Выводы

Таким образом, изучение иммунного статуса у женщин с подострым сальпингоофоритом позволило выявить нарушения клеточного иммунитета, наиболее выраженные в Т-звене, повышенный уровень ЦИК, дисбаланс IgA, IgG, IgM, изменение бактерицидной активности и переваривающей функции нейтрофилов. Традиционное противовоспалительное лечение, несмотря на наличие признаков клинического выздоровления, не приводит к нормализации иммунологических показателей. Однократное интравенозное введение «Гемокорда» как терапия сопровождения нормализует количество общих лимфоцитов, Т-лимфоцитов, соотношение субпопуляций тимус-зависимых лимфоцитов, снижение концентрации ЦИК, способствует восстановлению функции нейтрофилов периферической крови у больных с подострым воспалением придатков матки.

### Литература

1. Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть 1. Характеристика гемопоэтического потенциала // Пробл. криобиологии.– 1998.– № 1.– С. 3-24.
2. Грищенко В.И., Прокопюк О.С. Перспективы и возможности использования плацентарной крови // Мед. вести.– 1997.– №4.– С. 26-27.
3. Гуртовой Б.Л., Кулаков В.И., Воропаева С.Д. Применение антибиотиков в акушерстве и гинекологии.– М.: Медицина, 1996.– 140 с.
4. Клиническая иммунология // Под ред. А.В. Караулова.– М.: Мед. информ. агентство.– 1999.– 604 с.
5. Савельева Г.М., Антонова Л.В., Евсеев А.А. Значение дополнительных методов исследования в дифференциальной диагностике подострого аднексита // Акушерство и гинекология.– 1997.– №2.– С. 48-51.
6. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология: Руководство для врачей.– СПб: СОТИС, 1995.– 224 с.
7. Хамадьянова А.У. Клинико-иммунологические особенности хронического неспецифического сальпингоофорита в стадии обострения и комплексное его лечение с применением L-интерферона // Вестник Рос. ассоциации акушеров-гинекологов.– 1999.– № 1.– С. 29-32.

cell immunity disorders, mostly manifested in T-link, an increased CIC level, IgA, IgG, IgM misbalance, change in a bactericide activity and digestive function of neutrophils. Traditional anti-inflammatory treatment, in spite of the presence of clinical recovery signs, does not result in the normalisation of immunological indices. Single intravenous “Hemocord” injection as the accompanying therapy normalises the amount of total lymphocytes, T-lymphocytes, ratio of subpopulations, thymus-dependent lymphocytes, decreases the CIC concentration, contributes to the recovery of peripheric blood neutrophil function in patients with subacute inflammation of uterine appendages.

### References

1. Goltsev A.N., Kalinichenko T.A. Human umbilical cord blood as a source of hemopoietic cells for clinical application. Part I. Nature of hemopoietic potential // Problems of Cryobiology.– 1998.– N1.– P.3-24.
2. Grischenko V.I., Prokopyuk O.S. Perspectives and possibilities of usage of placental blood // Med. vesti.– 1997.– N4.– P. 26-27.
3. Gurtovoj B.L., Kulakov V.I., Voropayeva S.D. Application of antibiotics in obstetrics and gynecology.– Moscow: Meditsina, 1996.– 140p.
4. Clinical immunology / Edited by Karaulova A.V.– Moscow: Med. inform. agentstvo.– 1999.– 604p.
5. Savelyeva G.M., Antonova L.V., Evseev A.A. Importance of additional methods of investigation in differentiated diagnosis of subacute adnexitis // Akusherstvo i ginekologiya.– 1997.– N2.– P. 48-51.
6. Smetnik V.P., Tumulovich L.G. Non-operative gynecology: Manual for physicians.– St-Petersburg: SOTIS, 1995.– 224p.
7. Khamadianova A.U. Clinical and immunological peculiarities of chronic non-specific salpingo-oophoritis in acute condition and its combined treatment with L-interferon application // Vestnik Rossijskoy assotsiatsii akusherov-ginekologov.– 1999.– N1.– P. 29-32.
8. Tsutsayeva A.A., Grischenko V.I., Kudokotseva O.V. et al. Cryopreservation of hemopoietic stem cells out human cord blood // Problems of Cryobiology.– 2000.– N1.– P. 59-63.
9. Tsutsayeva A.A., Kudokotseva O.V., Scheglov A.V. et al. Cord blood as the component of supporting therapy // Problems of Cryobiology.– 2001.– N3.– P. 93.
10. Broxmeyer H.E., Douglas G.W., Hangoc G. et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 1989.– Vol. 86.– P. 3828-3832.

Accepted in 27.01.2004

8. *Цуцаева А.А., Грищенко В.И., Кудокоцева О.В и др.* Криоконсервирование гемопоэтических стволовых клеток из кордовой крови человека // Пробл. криобиологии.– 2000.– №1.– С. 59-63.
9. *Цуцаева А.А., Кудокоцева О.В., Щеглов А.В. и др.* Кордовая кровь как компонент поддерживающей терапии // Пробл. криобиологии.– 2001.– №3.– С. 93.
10. *Broxmeyer H.E., Douglas G.W., Hango G. et al.* Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 1989.– Vol. 86.– P. 3828-3832.

*Поступила 27.01.2004*