

На правах рукописи

**Ермоленко
Дмитрий Константинович**

**ДВУХЭТАПНАЯ ТЕРАПИЯ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ
ГЕНИТАЛЬНОГО ГЕРПЕСА С МОНОТОННЫМ ТИПОМ
РЕЦИДИВИРОВАНИЯ**

14.01.09 – инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург– 2011

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор

Исаков Валерий Александрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Эсауленко Елена Владимировна

доктор медицинских наук,
профессор

Белозеров Евгений Степанович

Ведущая организация:

Федеральное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России»

Защита состоится «20»_декабря_2011 г. в 13.10. часов на заседании диссертационного совета Д 208.090.02 при ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» (198022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» по адресу: 198022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого дом 6/8.

Автореферат разослан « _ » _____ 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор

А.Л.Александров

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Для вирусов простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1/2) характерно широкое распространение в человеческой популяции. Так, эпидемиологические исследования, проведенные под эгидой ВОЗ, позволяют сделать вывод о практически 100% инфицированности населения нашей планеты ВПГ-1/2 типов [De Schryver A. and Meheus A., 1990, Da Ros C.T. and Schmitt C.S., 2008]. Более того, эксперты выражают озабоченность в связи с тем, что рост заболеваемости герпесом опережает темпы прироста населения Земли [Масюкова С.А. и др., 2003]. И наша страна здесь не исключение. Так, по данным К.К.Борисенко [Борисенко К.К., 1997], заболеваемость генитальным герпесом (ГГ) в Российской Федерации составила в 1996 году 10,8 на 100000 населения, и возросла по отношению к 1993 году на 25,9%. Статистический анализ, проведенный в 1997 году, показал, что тенденция заболеваемости ГГ сохранилась, причем, более высокими темпами, чем в предшествующие годы. В этом году заболеваемость указанной патологией составила уже 14,1 (здесь и далее частота заболеваемости приводится на 100000 населения), и увеличилась по отношению к 1996 году на 30%. К 2002 году она достигла 18,2, в 2003 г. – 19,5, 2004 г. - 21,5 [Халдин А.А. и Баскакова Д.В. , 2007]. Вирусы семейства *Herpesviridae*, в том числе и ВПГ, являются пантропными вирусами, способны поражать практически все органы и системы организма хозяина, вызывая латентную, острую и хроническую рецидивирующую формы инфекции. Выделяя проблему ГГ, необходимо подчеркнуть, что ВПГ, помимо способности вызывать острые и хронические заболевания мочеполовой системы человека могут играть потенцирующую роль в развитии неопластических процессов шейки матки и предстательной железы, а также оказывать неблагоприятное, вплоть до фатального, влияние на течение беременности и родов, патологию новорожденности [Исаков В.А. и др., 2006].

Наиболее остро все эти проблемы представлены при таком варианте развития заболевания как ГГ с монотонным типом рецидивирования и тяжёлым течением («менструальный герпес»), характеризующийся обострениями инфекционного процесса до, на фоне, или же, реже, после месячных. Как следует уже из самого определения этого патологического процесса, он проявляет себя у молодых женщин детородного возраста с сохранённой менструальной функцией, ведущих активную половую жизнь, создающих семьи, планирующих и вынашивающих беременность. Это определяет не только эпидемиологическое значение данной формы ГГ и её роль в развитии хронических воспалительных заболеваний женской мочеполовой сферы, но и появление

у потенциального партнера целого комплекса урологических и андрологических нарушений, вплоть до мужского бесплодия. Нельзя забывать и об уже упомянутых ранее, связанных с ГГ серьёзных акушерских и неонатологических проблемах [Макацария А.Д. и Долгушина Н.В., 2004; Сметник В.П. и Тумилович Л.Г., 2006]. И, наконец, подобное течение заболевания является для молодой женщины сильнейшим стрессогенным и психотравмирующим фактором, ограничивающим её социальную активность и снижающим качество жизни. Болезнь препятствует, по её пониманию, нормальной половой жизни и возможности быть матерью, что не только невротизирует больную, но и способно быть триггером в развитии острых психозов и суицидальных тенденций [Patel R., 2004, Green J., 2004, Mindel A. and Marks C., 2005]. Указанные особенности этого варианта ГГ потенцировали целый ряд исследований с целью разработки адекватной терапии. Акцент в ведении таких больных ставится на длительное применение противовирусных химиопрепаратов, которые необходимо использовать в непрерывном режиме в течение 2-5 лет, а порой и дольше. Однако даже такая терапия не исключает повторного рецидивирования заболевания и бессимптомного вирусовыделения [Сметник В.П. и Тумелович Л.Г., 2006; Patel R. et al., 2007; Barlet V.L. et al. 2008; Martin J.M. et al., 2009]. Более того, длительное применение противогерпетических химиопрепаратов повышает риск развития побочных эффектов и формирование устойчивости к ним циркулирующих возбудителей [Гуськова Т.А., 2001; Исаков В.А. и др., 2006; Piret J. and Bovin G., 2010]. Большое значение для пациенток имеет высокая стоимость продолжительного применения современных противогерпетических препаратов, что в условиях экономического кризиса делает их не всегда доступными. На сегодняшний день в нашей стране накоплен значительный клинический опыт в проведении противорецидивной вакцинотерапии ГГ, показана её эффективность и безопасность [Бочаров А.Ф. и др., 1982, Учайкин В.Ф. и Шамшиева О.В., 2006, Молочков В.А. и др., 2009]. Однако детальный анализ литературных источников за последние 35 лет не позволил обнаружить каких-либо работ, посвященных разработке методики вакцинопрофилактики именно ГГ с монотонным типом рецидивирования. В то же время, по литературным данным, попытки вакцинации таких больных по стандартным методикам или малоэффективны, либо вовсе не дают результата.

Цель работы: оптимизировать тактику лечения больных тяжёлой формой генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования на основании изучения иммунопатогенетических особенностей течения заболевания.

Задачи исследования:

1. Выявить иммунологические особенности тяжелых форм ГГ с монотонным типом рецидивирования.
2. Изучить динамику клинических и иммунологических показателей у больных ГГ с монотонным типом рецидивирования с учетом разных схем лечения.
3. Оценить эффективность противорецидивной вакцинотерапии по аллергометрическому методу на основании клинико-иммунологических критериев.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Для тяжелого течения ГГ с монотонным типом рецидивирования («менструальный герпес») характерно нарушение клеточного иммунного ответа, снижение количества CD16⁺, CD25⁺ клеток, способности клеток к выработке IFN I и II типов, изменение цитокинового профиля, что свидетельствует о доминировании Th2-типа иммунного ответа.
2. При тяжелом течении ГГ с монотонным типом рецидивирования доказана эффективность двухэтапного лечения, включающего комплексную терапию с использованием противовирусных химиопрепаратов, интерферонов или интерферогенов и антиоксидантных средств, с последующей вакцинацией по аллергометрической методике.
3. Индивидуальный подбор рабочей дозы и схемы введения вакцины с помощью аллергометрической методики повышают эффективность вакцинации больных рецидивирующим ГГ с монотонным типом рецидивирования.

Научная новизна:

Впервые установлено, что рецидивы ГГ с монотонным типом рецидивирования протекают со снижением количества основных субпопуляций Т-лимфоцитов, CD16⁺ и CD25⁺ клеток, синтеза эндогенных интерферонов, низкими значениями коэффициента IFN- γ /IL-4, что указывает на преобладание Th2-типа иммунного ответа.

Впервые показана эффективность двухэтапного лечения больных ГГ с монотонным типом рецидивирования, включающего сочетанное использование противовирусных и иммуностропных препаратов с последующей вакцинацией, что позволило добиться длительной клинико-иммунологической ремиссии.

Впервые с помощью аллергометрической методики проводили индивидуальный подбор рабочей дозы вакцины и схемы ее введения.

Практическая значимость работы

Доказаны преимущества комплексной двухэтапной терапии больных тяжелой формой ГГ с монотонным типом рецидивирования, позволившей увеличить сроки ремиссии, уменьшить частоту и продолжительность рецидивов заболевания, повысить уровень социальной адаптации пациентов.

Внедрение результатов научного исследования в практику

Результаты работы внедрены в практическую деятельность врачей инфекционных стационаров г. Великий Новгород (Новгородский центр борьбы и профилактики СПИДА, на кафедре МИИИБ ИМО НовГУ им. Ярослава Мудрого), г. Петрозаводск (ГУЗ «Республиканская инфекционная больница», ГУЗ «Республиканский кожно-венерологический диспансер»), г. Санкт-Петербург (амбулаторно-поликлиническое отделение СПб НИИЭМ им. Пастера), внедрены в учебный процесс на кафедрах инфекционных болезней СПб МАПО, СПб ГМУ имени акад. И.П. Павлова, на медицинском факультете СПбГУ.

Материалы диссертации включены в руководства и пособие для врачей (Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Брызжикова Т.С., Черных М.Д., Абазова Ф.И. Информационное методическое письмо// СПб.- 1993.- 23 с).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 29 печатных работ: 14 статей, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК; а также в 7 монографиях и 8 тезисах.

Работа одобрена Локальным этическим комитетом Федерального государственного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора. Протокол № 10 от 14.06.2011 г.

Апробация работы

Материалы и основные положения диссертации доложены на VI Российско-Итальянской научной конференции «Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика» (СПб, 2000); Всероссийской научной конференции, посвященной 103-летию основания кафедры инфекционных болезней ВМА им. С.М.Кирова (СПб, 2001); научной конференции «Проблемы инфекции в клинической медицине» и VIII съезде Итало-Российского общества по инфекционным болезням (СПб, 2002); VI Российском

съезде врачей инфекционистов (СПб, 2003); Российской научно-практической конференции «Узловые вопросы борьбы с инфекцией» (СПб, 2004); Российской научно-практической конференции, посвященной 110-летию кафедры инфекционных болезней ВМА им. С.М.Кирова «Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины» (СПб, 2006); Российской научно-практической конференции «Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения», ВМА им. С.М.Кирова (СПб, 2008); I Ежегодном Всероссийском. Конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2009); III Ежегодном Всероссийском. Конгрессе по инфекционным Болезням (Москва, 2011).

Личный вклад автора

Проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, собраны, изучены и проанализированы анамнестические данные, собраны данные из первичной медицинской документации.

Автор лично проводил клинико-лабораторный и инструментальный мониторинг 200 больных с тяжелым рецидивирующим течением ГГ и наличием в анамнезе неудачной вакцинотерапии с продолжительностью наблюдения от 5 до 8 лет; участвовал в разработке лечебно-профилактической тактики при ведении больных часто рецидивирующей формой ГГ, отработывал условия проведения вакцинопрофилактики рецидивов ГГ по аллергометрической методике. Результаты обследования занесены в компьютерную базу, математико-статистическая обработка данных исследования осуществляли с помощью табличного редактора Excel и пакета программ по статистической обработке данных STATISTICA for Windows, V. 5.0 (Stat Soft Inc., 1995). Часть результатов исследования подвергнута дополнительной статистической обработке с использованием программы Prism 4.03 software (GraphPad Prism, www.graphpad.com) и применением непарного двустороннего t-теста Стьюдента. Доля участия автора в накоплении, обобщении и анализе материалов составляет 100%.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 161 странице машинописного текста на русском языке и включает введение, аналитический обзор литературы, характеристику материалов и методов исследования, 2 главы собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 35 рисунками и 10 таблицами. Список литературы содержит 79 источников отечественных авторов и 118 источников зарубежных авторов.

Общая характеристика клинических наблюдений и методов исследования

Для проведения работы методом случайной выборки было отобрано 100 женщин без нарушений менструального цикла в возрасте от 26 до 37 лет, страдающих ГГ с частотой рецидивирования не реже 1 раза в месяц и длительностью заболевания от 3 до 8 лет. Критериями исключения были сопутствующие соматические или инфекционные заболевания, сахарный диабет, беременность, онкологическая патология, отягощённый гастроэнтерологический анамнез, непереносимость противовирусных препаратов из группы ациклических нуклеотидов, детский и пожилой возраст больных. У всех пациенток был характерный монотонный тип рецидивирования с малоизменяющейся продолжительностью ремиссии. Обострения заболевания отмечались у 63 (63%) в поздней лютеиновой фазе, у 26 (26%) в фазе десквамации менструального цикла, у 11 (11%) больных четкой зависимости рецидивирования от фазы менструального цикла установить не удалось.

Все пациентки в прошлом проходили курсы лечения ГИ с использованием различных противовирусных и иммуностропных препаратов, что способствовало временному облегчению течения заболевания. У всех пациенток также, осуществлялись попытки проведения активной специфической иммунотерапии путём назначения противогерпетических вакцин. Однако в 68 (68%) случаях это приводило к рецидиву заболевания в период вакцинации, что послужило причиной отказа больных от продолжения вакцинотерапии. У 32 (32%) пациенток вакцинотерапия не способствовала снижению частоты рецидивирования.

Первый (подготовительный) этап терапии

Методом случайной выборки рассматриваемый контингент был разделён на 4 группы по 25 человек в зависимости от характера получаемой терапии. Больные первой группы получали фамвир («Novartis Pharma», Швейцария) по 0,125 г 2 раза в сутки в течение 5 дней (курсовая доза 1,25 г). Остальные пациенты кроме фамвира принимали дополнительно амиксин (тилорон, ООО «Фармстандарт», Россия) по 0,125 г, в первые двое суток ежедневно, затем через 48 часов, в курсовой дозе 2,5 г (вторая группа); циклоферон (метилглюкамина акридонацетат, ЗАО «Полисан», Россия) по 2 мл 12,5% раствора внутримышечно ежедневно в 1-й и 2-й дни лечения, затем через 48 часов до 8 дня лечения, в дальнейшем через 72 часа до 23 дня лечения, всего 10 инъекций, на курс 2,5 г (третья группа); ректальные суппозитории виферон 3 (ООО «Ферон», Россия), содержащие 1 млн МЕ α -2b интерферона рекомбинантного с антиоксидантами витаминами Е и С, 2 раза в сутки с интервалом в 12 часов ежедневно первые 10 дней,

затем ещё 20 дней через день (четвертая группа). Характеристика четырех групп пациентов по характеру проводимой терапии на подготовительном этапе (табл. 1).

Таблица 1

Препараты, получаемые пациентами различных групп

Группы больных	1 группа (n=25)	2 группа (n=25)	3 группа (n=25)	4 группа (n=25)
Вводимые лекарственные препараты	Фамвир (*1,25г)	Фамвир (1,25 г) +амиксин (2,5 г)	Фамвир (1,25 г) + циклоферон (2,5 г)	Фамвир (1,25 г) + виферон 3 (40 млн МЕ)

*- курсовая доза

Второй этап, введение противогерпетической вакцины

После проведения курса подготовительной терапии, при условии отсутствия рецидивирования ГИ в течение, как минимум, месяца были отобраны 40 пациенток (с продолжительность ремиссии от 32 до 68 дней) для проведения дальнейшей противорецидивной вакцинотерапии. Для снижения риска рецидивирования ГИ введение противогерпетической вакцины («ВИТАГЕРПАВАК», вакцина герпетическая культуральная инактивированная сухая, «Витафарма», г. Москва) проводилось по алергометрической методике [Диагностика, клинические особенности и лечение внутриглазного герпеса. Методические рекомендации, - составители Краснов М.М. и др., Утверждены МЗ СССР 13.10.1989]. Перед применением препарата для определения порогового разведения выполнялась очаговая аллергическая проба. Эффективность вакцинации оценивали по критериям, предложенным И.Ф. Баринским и Ф.Р. Махмудовым (2010), а именно: значительное улучшение - увеличение межрецидивного периода в 3 раза и более; улучшение - увеличение межрецидивного периода в 1,5-2 раза; отсутствие эффекта - сохранение частоты рецидивирования.

Критерии клинической эффективности терапии

В основу оценки эффективности проводимой терапии был положен целый ряд параметров. Прежде всего, это динамика угасания основных клинических проявлений заболевания: 1) симптомы интоксикации (слабость и познабливание); 2) субъективная симптоматика (боли, жжение и зуд); 3) средняя площадь герпетических высыпаний; 4) общая продолжительность рецидива; 5) продолжительность межрецидивного периода.

Лабораторные исследования

Для выявления в клиническом материале (отделяемом из уретры, цервикального канала и шейки матки, мест высыпаний) ВПГ-1/2 использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и прямое иммунофлюоресцентное исследование. Всем больным были

выполнены клинический анализ крови и оценка иммунного статуса. Подсчитывали количество различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток; оценивали интерфероновый статус, определяли концентрацию IL-4, IFN- γ и IFN- α/β в сыворотке периферической крови. Для проведения анализа субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови пациенток использовали метод непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами, полученными к дифференцировочным антигенам, локализованным на поверхности исследуемых клеток [Тотолян А.А. и др., 1999]. Уровень продукции IFN- α и IFN- β лейкоцитами периферической крови пациенток, индуцированной вирусом болезни Ньюкасла, а также продукцию IFN- γ , индуцированного фосфоглицериновым альдегидом (ФГА), определяли по методу, описанному ранее [Ершов Ф.И. и Готовцева Е.П., 1989]. Содержание IL-4, IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови больных определяли с помощью набора реагентов Pro Con (ТОО Протеиновый контур, Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка результатов

Математическую обработку полученных данных осуществляли с использованием компьютерных программ Excel (Microsoft Inc., 1985-1997), STATISTICA for Windows, V. 5.0 (Stat Soft Inc., 1995). Статистический анализ данных, имеющих ключевое значение в иммунопатогенезе ГИ, были подвергнуты дополнительной статистической обработке с использованием программы Prism 4.03 software (GraphPad Prism, www.graphpad.com) и применением непарного двустороннего t-теста Стьюдента. Полученные данные дополнительной статистической обработки приведены в приложении к диссертации.

Результаты исследования и обсуждение

Первый (подготовительный) этап лечения

Оценка клинической эффективности подготовительной терапии

В основу оценки эффективности проводимого лечения положена продолжительность основных клинических проявлений рецидива заболевания. Анализ полученных результатов показал, что вне зависимости от используемых схем подготовительной терапии во всех рассматриваемых группах пациенток с ГГ отмечено достоверное снижение длительности познания, жжения и зуда в местах высыпаний, а также общей продолжительности рецидива и средней площади герпетических элементов. Различия в изучаемых группах отмечены лишь при оценке болевых ощущений в местах клинических проявлений ГГ. Показано, что средняя продолжительность болевых ощущений в первой группе до начала лечения составляла

3,3±0,16 дня, во второй – 2,2±0,64 дня, в третьей – 3,6±0,84 дня, в четвертой – 2,0±0,34 дня ($p>0,05$). Проведённая терапия привела к достоверному снижению их продолжительности до 1,51±0,23 дня в первой группе. В остальных группах болевые ощущения в период рецидива заболевания не отмечались ни у одной из пациенток (рис.1).

Таким образом, включение в терапевтические схемы помимо фамвира индукторов интерферона (амиксина и циклоферона), а также препарата интерферонового ряда виферона, хотя и способствовало нивелированию болей (по сравнению с монотерапией фамвиром), не привело к достоверным различиям в купировании такой симптоматики как слабость, жжение и зуд в местах высыпаний.

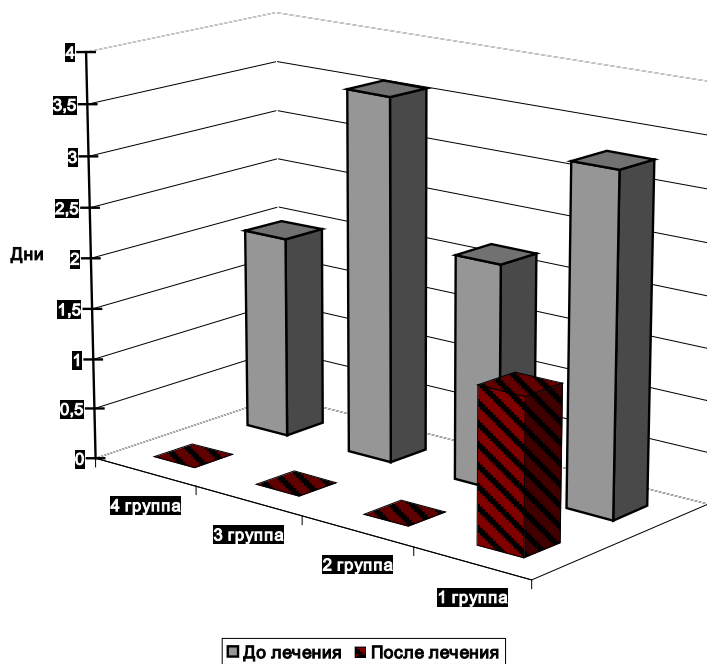


Рис.1. Продолжительность болевых ощущений до и после лечения.

Оценка иммунологической эффективности подготовительной терапии

Показано, что рецидив ГГ у пациенток рассматриваемых групп характеризуется низким уровнем основных показателей клеточного иммунного ответа, снижением количества $CD16^+$ и $CD25^+$ клеток, нарушением способности клеток периферической крови к выработке IFN I и II типов, низкими титрами IFN- γ и наоборот, высокими IL-4, невысокими значениями коэффициента IFN- γ /IL-4. Это позволяют констатировать преобладание Th2 типа иммунного ответа, что обосновывает включение в терапию

острой фазы ГГ противовирусных препаратов в сочетании с интерферонами или их индукторами.

Проведённая терапия способствовала достоверному увеличению показателей клеточного иммунного ответа, причём максимально эти изменения отмечены у больных третьей и четвёртой групп. Лечение привело к достоверному повышению уровня CD16⁺ клеток у пациенток четвертой группы, а CD25⁺ клеток у контингента третьей и четвертой групп (табл. 2).

Дополнительно проводилась оценка уровня ключевых цитокинов, прямо участвующих в патогенезе ГИ (табл. 3). Во всех группах отмечено достоверное увеличение способности клеток периферической крови к выработке IFN I и II типов. Однако до уровня физиологической нормы эти показатели изменялись лишь у больных второй, третьей и четвёртой групп. В этих же группах было достоверное снижение титров IL-4, максимально у больных последних двух групп. Это обусловило увеличение коэффициента, определяемого как отношение IFN- γ /IL-4. При этом, любая форма терапии приводила к увеличению коэффициента IFN- γ /IL-4. Однако наиболее значимые его изменения отмечены в тех группах, где были включены иммуностропные препараты.

Несмотря на отсутствие существенных различий в воздействии на редукцию клинических проявлений рецидива ГГ рассматриваемых терапевтических композиций, отмечается достоверное восстановление клеточных реакций и неспецифической защиты организма. Таким образом, включение в комплексную терапию больных тяжелым ГГ с монотонным типом рецидивирования противогерпетического препарата фамвир в сочетании с IFN или его индукторами способствует оптимизации клеточного иммунного ответа и цитокинового профиля пациентов (поляризация иммунного ответа по Th1-типу). Такая подготовительная терапия является важным условием для проведения последующей вакцинации.

Таблица 2

Динамика изменений показатели клеточного иммунного ответа, а также иммуноцитов CD16⁺, CD25⁺ у пациентов различных групп на фоне терапии (кл.х10⁹/л)

Показатели	1 группа Фамвир		2 группа Фамвир+амиксин		3 группа Фамвир + циклоферон		4 группа Фамвир + виферон 3	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
CD3 ⁺ клетки	0,65±0,08	0,91±0,01 *	0,79±0,06	1,24±0,09 *	0,77±0,05	1,38±0,02 *, **	0,51±0,05	1,66±0,05 *, **
CD4 ⁺ клетки	0,33±0,05	0,49±0,02 *	0,35±0,05	0,66±0,03 *	0,32±0,08	0,73±0,09 *, **	0,27±0,08	0,79±0,06 *, **
CD8 ⁺ клетки	0,37±0,05	0,45±0,13 *	0,35±0,08	0,55±0,06 *	0,46±0,13	0,65±0,10 *, **	0,38±0,08	0,78±0,05 *, **
CD16 ⁺ клетки	0,24±0,02	0,24±0,02	0,29±0,04	0,28±0,03	0,26±0,04	0,29±0,03	0,23±0,02	0,31±0,02*
CD25 ⁺ клетки	0,23±0,04	0,26±0,03	0,27±0,03	0,31±0,02	0,29±0,03	0,39±0,02 *	0,23±0,03	0,40±0,02 *

Примечание: *- достоверная разница (p<0,05) между показателями до и после терапии,
** - достоверная разница (p<0,05) в изменениях показателей между группами

Таблица 3

Динамика изменений показателей цитокинового профиля сыворотки периферической крови больных различными групп

Показатели	1 группа Фамвир		2 группа Фамвир+амиксин		3 группа Фамвир + циклоферон		4 группа Фамвир + виферон 3	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До Лечения	После лечения	До лечения	После лечения
IFN 1 (типа (выработка, МЕ/мл)	108,57 ±17,64	154,88±11,32 *	126,34±18,33 *	252,56 ±9,3 *	118,66±22,46	288,82 ±7,88 *, **	121,33±18,92	324,38 ±9,24 *, **
IFN II типа (выработка, МЕ/мл)	56,82 ± 13,34	88,87 ±9,82 *	68,72 ±15,33	148,39 ±8,36 *	54,36 ±12,82	164,52 ±5,32 *, **	61,18 ±13,34	186,52 ±4,38 *, **
IFN-γ (пг/мл)	1,94±0,26	2,52±0,22	2,26±0,38	3,11±0,32 *	2,66±0,32	3,50±0,33 *	2,63±0,37	3,28±0,30 *
IL-4 (пг/мл)	5,34±0,73	4,91±0,47	5,41±0,45	4,21±0,36*	5,48±0,40	3,75±0,34 *	5,08±0,48	3,41±0,20 *
IFN-γ / IL-4 кф.	0,36	0,51*	0,42	0,74 *	0,49	0,93*	0,52	0,96*

Примечание: *- достоверная разница ($p < 0,05$) между показателями до и после терапии,** - достоверная разница ($p < 0,05$) в изменениях показателей между группами

Второй этап лечения

Использование герпетической вакцины для профилактики рецидивов ГГ

Учитывая патогенетические особенности заболевания, а также неудачные попытки вакцинотерапии у всех пациенток в анамнезе, за основу была взята аллергометрическая методика, позволяющая не только снизить, но и оптимизировать антигенную нагрузку. Курс противорецидивной вакцинотерапии пациенткам начинали не ранее чем через месяц после завершения этапа подготовительного лечения. Необходимыми условиями для её начала помимо отсутствия клинических проявлений рецидива заболевания и нормализации показателей иммунограммы, было отсутствие в этот период острых инфекционных и неинфекционных заболеваний, стабильные социальные условия (спокойная и ровная обстановка в семье и на рабочем месте и т.д.). На основании этих критериев, в указанные сроки, для дальнейшего лечения были отобраны 40 человек. Из первой группы подготовительного этапа для дальнейшего лечения не удалось отобрать никого, из второй группы условиям для вакцинации соответствовали 7 (17,5%) больных, из третьей - 12 (30%) и из четвёртой - 21 (52,5%) человек.

Клиническая эффективность противорецидивной вакцинотерапии

После вакцинации у 23 (57,5%) пациенток в течение 3 месяцев наблюдений рецидивов ГГ не было отмечено (значительное улучшение). У 11 (27,5%) больных спустя 2 месяца (улучшение) после противорецидивной вакцинотерапии всё же наблюдались повторные обострения. Однако клинические симптомы были достоверно менее выражены, чем до лечения. И, наконец, у 6 (15%) больных проведённое лечение не привело к изменению течения заболевания (отсутствие эффекта). Побочных реакций не было.

Влияние вакцинации на показатели иммунного статуса больных

Вакцинация способствовала дальнейшему улучшению (после предварительного этапа терапии) и стойкой нормализации основных показателей клеточного иммунного ответа, CD16⁺ и CD25⁺ клеток. Отмечены также увеличение титров IFN- γ и, наоборот, снижение уровня IL-4 в сыворотке периферической крови пациенток, что привело к дополнительному повышению коэффициента IFN- γ /□IL-4 (табл. 4).

Следовательно, можно полагать, что происходило не только усиление Th1-зависимых иммунных реакций, но и значительное подавление Th2-опосредованных иммунных процессов. Последние, как известно, не ассоциированы с протективным иммунитетом как при лечении рецидивов ГИ, так и при оценке эффективности вакцинотерапии. Таким образом, можно полагать, что эффективность профилактической вакцинотерапии определяется не только предложенной схемой вакцинации, но также и правильным выбором комплексной терапии на подготовительном этапе.

Изменения иммунологических показателей периферической крови пациентов до и после вакцинотерапии

Показатель	Результаты вакцинопрофилактики	
	До	После
CD3 ⁺ клетки (показатель x 10 ⁹ кл /л)	1,02±0,05	1,28±0,06*
CD4 ⁺ клетки (показатель x 10 ⁹ кл /л)	0,56±0,03	0,69±0,03*
CD8 ⁺ клетки (показатель x 10 ⁹ кл /л)	0,45±0,02	0,56±0,03*
CD16 ⁺ клетки (показатель x 10 ⁹ кл /л)	0,22±0,01	0,36±0,03*
CD25 ⁺ клетки (показатель x 10 ⁹ кл /л)	0,25±0,02	0,41±0,03*
IFN-γ (пг/мл)	2,43±0,32	4,49±0,54*
IL-4 (пг/мл)	4,14±0,17	2,92±0,56*
IFN-γ/IL-4	0,57	1,54**

Примечание: * - достоверные различия (p<0,05) между показателями до и после терапии; ** - достоверные различия (p<0,0001) между показателями до и после терапии.

Таким образом, предложенная двухэтапная терапия тяжелых форм ГГ с монотонным типом рецидивирования должна проводиться под тщательным клинико-иммунологическим контролем. Для повышения эффективности вакцинотерапии необходима предварительная подготовка больного (фармакологическая премедикация вакцинального процесса) с назначением комплексной терапии - сочетанное использование противогерпетических химиопрепаратов с IFN или индукторами IFN, что обеспечивает синергидный и аддитивный эффект. Второй этап - противорецидивная вакцинотерапия по аллергометрической методике, показал клиническую и иммунологическую эффективность у 85% пролеченных больных. При этом доказано формирование у больных Th1-типа иммунного ответа, что является более предпочтительным при выздоровлении от вирусных инфекций. В 15% случаев эффект от лечения отсутствовал.

ВЫВОДЫ:

1. Рецидивы генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования протекают со снижением количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, CD16⁺ клеток, угнетением

синтеза эндогенных интерферонов, низким соотношением IFN- γ /IL-4, что обусловлено преобладанием Th2-типа иммунного ответа.

2. Монотерапия современным противовирусным препаратом (фамвир) и его комбинации с иммуностимулирующими средствами (IFN и его индукторы) практически не отличаются по способности редуцировать клиническую симптоматику рецидива тяжелой формы генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования.

3. Комплексная терапия тяжёлого рецидива генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования, включающая сочетанное использование фамвира, IFN/индукторов IFN (виферон, циклоферон) и антиоксидантов приводит к более значимому, чем в случае монотерапии фамвиром, увеличению количества лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺ клеток, восстановлению способности к выработке эндогенных IFN- α и IFN- γ , повышению значений коэффициента IFN- γ /IL-4, что характеризует формирование Th1-типа иммунного ответа.

4. Среди иммуностимулирующих средств, применяемых в комплексной терапии с фамвиром, оптимальные результаты были получены при использовании виферона и циклоферона. Они оказывают максимальное стимулирующее влияние на количество CD4⁺, CD8⁺ клеток, синтез эндогенных IFN- α/β и IFN- γ , повышают значения коэффициента IFN- γ /IL-4.

5. Объективными критериями для проведения противорецидивной вакцинотерапии у больных с тяжёлым течением генитального герпеса и монотонным типом рецидивирования являются: 1) увеличение межрецидивного периода не менее чем в 1,5 раза; 2) нормализация показателей иммунограммы, свидетельствующих о проявлении Th1-типа иммунного ответа (повышение содержания в периферической крови CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, повышение значений коэффициента IFN- γ /IL-4), а также нормальный уровень CD16⁺, CD25⁺ клеток.

6. Оптимальный эффект противорецидивной вакцинации больных тяжёлым генитальным герпесом с монотонным типом рецидивирования, имевших в анамнезе неудачные попытки профилактической вакцинации по стандартным программам, достигается индивидуальным подбором доз и схем вакцинации алергометрическим методом. Это способствует снижению антигенной нагрузки и десенсибилизации организма, увеличению межрецидивного периода в 1,5-3 раза и более у 85% пролеченных пациенток, усилению Th1-зависимых иммунных реакций.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Проведению противорецидивной вакцинотерапии у больных тяжёлым ГГ с монотонным типом рецидивирования должна предшествовать комплексная терапия

фамвиром в сочетании с IFN (виферон) или индукторами IFN (циклоферон или амиксин). Лечение больных следует проводить под иммунологическим контролем: определение в периферической крови CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺ и CD25⁺ клеток, способность клеток к выработке IFN I и II типов, содержание IFN- γ и IL-4, а также коэффициента IFN- γ / IL-4 до и после терапии.

Второй этап лечения - противорецидивную вакцинотерапию следует начинать не ранее, чем через 4 недели после наступления клинико-иммунологической ремиссии. Вакцинацию рекомендуется проводить внутрикожно по аллергометрической методике с выбором максимально низкой дозы противогерпетической вакцины («рабочая доза»).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ермоленко Д.К., Норман Л.Л., Ласунская Е.Б., Воейкова А.В., Ермоленко Е.И. Иммунологическая характеристика больных с различными формами генитального герпеса// Сб. трудов молодых ученых: «Актуальные вопросы клинической аллергологии и иммунологии» С.-Петербург, 1994 - С. 114-119.

2. Исаков В.А., Сафронова М.М., Семенов А.Е., Ермоленко Д.К., Карпович Е.Ю. Медико-социальное значение и современная терапия генитального герпеса// Int. J. Immunorehabilitation. - 1996.- № 2. - Р. 11-26.

3. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Исаков Д.В. Антивирусные препараты// Medical Market.- 1998.- № 29.- С. 26-28.

4. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Рыбалкин С.Б. Применение циклоферона в терапии урогенитальных инфекций// в сб. «Циклоферон - от эксперимента в клинику» Санкт-Петербург .2002, С. 176-181.

5. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Карпович Е.Ю., Сафронова М.М. Комплексная терапия бактериальных инфекций сопутствующих генитальному герпесу. //Terra Medica, 1998. - № 2. - С. 3-8.

6. Исаков В.А., Ермоленко Д.К. Терапия герпетической инфекции// в сб. «Акт. вопр. педиатрии, акуш., гинек. и детской хирургии». Ульяновск. 2002. - С 53-55.

7. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Исаков Д.В. Медико-социальное значение и современная терапия герпесвирусных инфекций// Эпидемиология и вакцинопрофилактика.- 2003. - №4. - С. 19-25.

8. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Черныш С.И. Перспективы терапии генитального герпеса// Аллергология и иммунология. 2008.- Т.9. - №3.- С.296-298.

9. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Гончаров С.Б.. Иммунопатогенез и современная терапия рецидивирующего герпеса// Современные проблемы инфекционной патологии человека. Сб. научн. трудов. Вып.2.- Минск, Беларусь. 2009. -С. 265-270.

10. Ермоленко Е.И., Фураева В.А., Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Суворов. А.Н. Противогерпетическая активность пробиотиков// Росс. журн. кож. и вен. бол. Прил.: Герпес. - 2009. - №2. - С. 20-24.

11. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Коваленко А.Л., Ермоленко Е.И.. - Использование циклоферона в терапии рецидивирующего простого герпеса// Рос.журн.кож. и вен. бол. Прил.: Герпес. – 2010. - № 1. – С. 18-23.

12. Ермоленко Е.И., Фураева В.А., Исаков В.А. , Ермоленко Д.К, Суворов А.Н. - Угнетение репродукции вируса простого герпеса 1 типа пробиотическими бактериями в системе *in vitro*// Вопросы вирусологии. - 2010. -№4. -С. 25-28.

13. Ермоленко Д.К. Патогенетическое обоснование применения иммуностропных препаратов в терапии герпетической инфекции// Вестник Санкт-Петербургского университета, серия 11, Медицина, выпуск 4.- 2010. - С. 23-29.

14. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Коваленко А.Л., Ермоленко Е.И. Использование циклоферона в терапии рецидивирующего простого герпеса// Рос. журн. кож. и вен. бол., Прил.: Герпес. - 2010. - № 1. - С. 18-23.

15. Рахманова А.Г. Исаков В.А. Пригожина В.К., Ермоленко Д.К., Черных М.Д., Чайка Н.А. Клиника и лечение герпети- ческой инфекции. - СПб, Издательство «ССЗ», 1996.- 56 с.

16. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Черных М.Д. Терапия герпетической инфекции.- СПб, Изд-во «Гиппократ», 1993. – 40 с.

17. Ермоленко Д.К., Исаков В.А. Актуальность проблемы субклинические формы генитального герпеса// сб. «Проблема инфекции в клинической медицине» Научн. конференция и VII съезд Итало-Российского общества по инфекционным болезням , Санкт-Петербург, 2002, С. 108-109.

18. Исаков В.А., Ермоленко Д.К. Терапия герпетической нфекции// Актуальные вопросы педиатрии, акушерства, гинекологии и детской хирургии.- Ульяновск.- 2002.- С. 53-55.

19. Ермоленко Е.И., Ермоленко Д.К., Исаков В. А., Зарх Г.А. Выделение стрептококков группы В у беременных женщин с субклинической формой генитального герпеса// Материалы XXXVIII научно-практической конференции дерматовенерологов и врачей смежных специальностей Санкт-Петербурга на тему: «Актуальные проблемы дерматовенерологии», 2003, С. 54.

20. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Шишкин М.К. Новые технологии вакцинопрофилактики рецидивов простого герпеса // Вестник Рос. военно-мед. академии. Приложение. Ч.1.-2008.-№2 (22).- С.91.

21. Ермоленко Д.К., Исаков В.А. Эффективность использования малых доз вакцины для профилактики рецидивов генитального герпеса // Тез. докладов 1-я Международная Конференция «Проблемы диагностики, лечения и профилактики герпесвирусных инфекций» 24-26 марта 2008г. Москва. - С. 32-34.

22. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Шишкин М.К. Современные технологии вакцинопрофилактики рецидивов генитального герпеса. // Четвертая междунар. конф. «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями» 2-4 июня 2008г. СПб. – С.63.

23. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Шишкин М.К. Новые технологии вакцинопрофилактики рецидивов простого герпеса // Вестник Рос. военно-мед. академии. Приложение. Ч.1.-2008.-№2 (22).- С. 91.

24. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Ермоленко К.Д. Сочетанная терапия генитального герпеса ацикловиром и лактулозой. /3-ей Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции. Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия» СПб., 3-4 июня 2010г.-С. 39-40.

25. Березина Л.А., Куляшова Л.Б., Ермоленко Д.К., Исаков В.А. Иммунологические критерии эффективности вакцинотерапии при рецидивирующей герпетической инфекции. // Развитие научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями. Матер. междунар. конф. СПб, 18-20 мая 2010 г.- С. 47.

26. -29. (Так Ермоленко сделал в Автореферате).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПГ (ВПГ-1, ВПГ-2 и ВПГ1/2)– вирусы простого герпеса (1 типа и 2 типа и двух типов одновременно)

ВВЗ - вирус герпеса варицелла-зостер

ГГ– генитальный герпес

ГИ – герпетическая инфекция

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ИКК – иммунокомпетентные клетки

ИПК – иммунопрезентирующие клетки

РЛС – регистр лекарственных средств

NK – натуральные киллеры

NKT – регуляторные T-клетки, экспрессирующие маркеры натуральных киллеров

Treg - T регуляторные клетки

Th1 -T-хелперы 1 типа

Th2 – T-хелперы 2 типа

IL - интерлейкины

IFN- γ , IFN- β , IFN- α , IFN- λ – интерфероны γ , β , α , λ

TNF – фактор некроза опухоли

TLR (toll-like receptors) – толл-подобные рецепторы