

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ГАЛАВИТ® В ТЕРАПИИ МИКС-ИНФЕКЦИЙ ГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА

О. Гизингер, доктор биологических наук, профессор,
Ю. Нефедьева, кандидат медицинских наук
Южно-Уральский государственный медицинский университет,
Челябинск
E-mail: ogizinger@gmail.com

Обсуждаются иммуотропные эффекты препарата Галавит® (Сэлвим, Россия) в терапии вирусно-бактериальных инфекций урогенитального тракта. Оценено влияние препарата Галавит® на показатели врожденного и адаптивного иммунитета в комплексной терапии воспалительных заболеваний урогенитального тракта (этиологические агенты – вирус герпеса 2-го типа и уреамикоплазмы) женщин репродуктивного возраста. Результаты исследования показали, что включение препарата Галавит® в комплексную схему терапии в начальной дозе 100 мг ежедневно (5 инъекций), затем – по 100 мг через день (5 инъекций) и в завершение курса – 10 ректальных суппозиториях 1 раз в 3 дня способствует нормализации факторов антимикробной защиты и разрешению клинических симптомов.

Ключевые слова: Галавит®, комплексная терапия, врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет.

В настоящее время отмечается тенденция к учащению микс-сочетанных хронических заболеваний урогенитального тракта бактериальной и вирусной природы [4, 8, 13]. По данным Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России (Москва), один из наиболее распространенных вирусных агентов в венерологической практике – герпесвирусы [7]. В подавляющем большинстве случаев генитального герпеса инфекционным агентом является вирус простого герпеса (ВПГ) типа 2 (ВПГ2). Исследования последних лет указывают на частое сочетание герпетической инфекции гениталий с условно-патогенными уреамикоплазмами [2, 7, 13]. Несмотря на то, что *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* относят к условно-патогенным микроорганизмам, их выявляемость у женщин с воспалительными заболеваниями мочевыводящих путей, нижнего и верхнего отделов репродуктивного тракта, невынашиванием беременности, внутриутробным инфицированием плода и новорожденного значительно выше, чем в целом в популяции [1, 14]. Более чем у 30% пациенток, страдающих уретритами, циститами, цервицитами, эндометритами, *U. urealyticum* является в качестве этиологического агента в концентрации >КОЕ 10⁴/мл, что в сочетании с персистенцией герпесвирусов в организме человека может сформировать специфический иммунодефицит.

На развитие такого негативного клинико-иммунологического сценария влияет способность герпесви-

русов, попав однажды в организм, пожизненно персистировать в нем и вызывать многообразные формы заболеваний на фоне иммунных дисфункций [13]. Реактивация вируса, т.е. переход от персистенции к активной репликации, наблюдается при нарушении динамического равновесия между иммунным гомеостазом макроорганизма и активностью вирусов, что отражает срыв контролирующих механизмов хозяина [6]. Способность к длительному персистированию обусловлена наличием у герпесвирусов многочисленных механизмов, воздействующих на формирование противовирусной иммунной защиты и приводящих к уклонению патогенов от иммунологического надзора [3, 8].

Иммунная система, эволюционно призванная обеспечивать генетическое постоянство внутренней среды организма и защиту от патогенов, вследствие различных экзогенных и эндогенных причин может работать неэффективно [12]. Причиной иммунной недостаточности, приводящей как к дебутированию, так и к утяжелению течения сопутствующих заболеваний бактериальной и вирусной природы, является наличие дисфункций врожденного и адаптивного иммунного ответа [3, 11]. При терапии микс-инфекции (вирусной и микоплазменной) следует учитывать особенности биологии возбудителя и характер иммунных реакций организма на присутствие данного патогена. Этиопатогенетическая терапия не всегда дает ожидаемый специалистами положительный эффект, что ставит перед дерматовенерологами, гинекологами и иммунологами задачу поиска и внедрения в практику комплексных схем терапии [1, 2]. Положительный опыт использования иммуномодуляторов в терапии воспалительных заболеваний урогенитального тракта позволил внедрить в клиническую практику ряд новых лечебных подходов [2, 7, 10, 12, 13]. Рассматривая клиническую эффективность каждого нового метода лечения, необходимо с особой тщательностью подходить к оценке ответных иммунных реакций организма, четко понимая возможности иммунокомпетентных клеток и их иммунологический репертуар [13]. Включение препарата Галавит® (Сэлвим, Россия), активным компонентом которого является производное фталгидраза, обладающего противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, в комплексные схемы терапии воспалительных заболеваний показало его высокую клинико-иммунологическую эффективность [10, 11] и обоснованность применения комплексной схемы в лечении сочетанных вирусно-микоплазменных инфекций урогенитального тракта у женщин.

Нами оценена клинико-иммунологическая эффективность комплексной схемы терапии заболеваний урогенитального тракта, этиологическим агентом которых являются ВПГ2 и уреамикоплазмы (*U. urealyticum*, *M. hominis*), с использованием препарата Галавит®.

Исследования проведены на базе Южно-Уральского государственного медицинского университета и областного кожно-венерологического диспансера Челябинска (главный врач – д.м.н. О.Р. Зиганшин). План исследования соответствовал положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) с учетом разъясняющего примечания п. 29, одобренного Генеральной ассамблеей ВМА (Сеул, 2008). Средний возраст женщин, принимавших участие в исследовании, составил 29,9±0,2 года. До начала терапевтических мероприятий всем пациенткам проводилась диагностика с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) для подтверждения наличия герпесвирусной инфекции (*U. urealyticum*, *M. hominis*). Мате-

риалом для выделения и последующей амплификации ДНК ВПГ2, *U. urealyticum*, *M. hominis* послужили соскобы эпителия цервикального канала. ДНК возбудителей выявляли методом ПЦР с использованием тест-систем производства Центрального НИИ эпидемиологии (ЦНИИЭ) Роспотребнадзора (Москва). Экстракция нуклеиновых кислот для последующих ПЦР-исследований производилась с использованием набора серии ДНК-сорб производства ЦНИИЭ. Для выяснения диагностического титра *U. urealyticum*, *M. hominis* у всех пациенток определяли количество этих возбудителей с помощью тест-системы «Микоплазма-Дуо» (Bio-Rad Laboratories), титр $\geq 10^4$ КОЕ/мл считался диагностически значимым.

Критериями включения в исследование являлись: наличие ВПГ2, уреамикоплазм в цервикальном канале в титре $\geq 10^4$ КОЕ/мл; наличие анамнеза герпетического поражения половых органов; клиническая картина рекуррентного герпеса половых органов в периоде продромы или обострения, при этом время от момента появления высыпаний – ≤ 48 ч; полноценная контрацепция у женщин детородного возраста. Все пациентки в течение 1 года, предшествующего исследованию, не принимали иммуномодулирующих препаратов. При постановке диагноза были учтены требования Клинических рекомендаций по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями (Москва, 2013).

Методом произвольной выборки были сформированы следующие группы пациенток: 1-я – группа стандартной терапии + Галавит® (n=30); эти пациентки получали препарат джозамицин – по 500 мг 2 раза в сутки, ацикловир – по 500 мг 2 раза в день в комплексе с препаратом Галавит®: начальная доза – 100 мг каждый день (5 инъекций); затем – по 100 мг через день (5 инъекций); в завершение курса – 10 суппозитория для ректального применения 1 раз в 3 дня. 2-я – группа стандартной терапии (n=27); эти женщины получали только противовирусную и антибактериальную терапию и не получали иммуномодулятора. 3-ю группу составили здоровые женщины (n=20) от 17 до 35 лет, отобранные при проведении профилактических осмотров; у них в анамнезе не было декомпенсированных системных заболеваний, ВИЧ-инфекции, инфекций, передаваемых половым путем.

Авторы статьи обращают внимание читателей на то, что препарат Галавит® был включен в схему терапевтических мероприятий после консультаций женщин у иммунолога и проведения комплекса иммунологических исследований, делающих обоснованным применение данной схемы терапии микс-инфекции. При выборе данного иммуномодулятора немаловажным явился факт наличия у препарата Галавит® выраженного противовоспалительного эффекта [11]. Кроме того, Галавит® при использовании в терапевтических дозах хорошо сочетался со средствами этиотропной терапии [11].

Анамнестически в обеих группах средняя продолжительность заболевания (время с момента появления 1-го клинического эпизода) составила 3 года, частота рецидивов – не менее 6 раз в год (средняя частота в обеих группах – 8 раз в год). Все пациентки были осмотрены врачом-дерматовенерологом. Объективное обследование включало в себя наружный осмотр места поражения; фиксировали состояние кожных покровов и слизистых: наличие пузырьков, язвочек, корочек, гиперемии; уточняли жалобы пациенток на зуд, жжение, ухудшение общего состояния, подъем тем-

пературы, миалгии. В процессе обследования выяснилось, что у всех пациенток были жалобы на пузырьковые или эрозивные высыпания в области гениталий, зуд, жжение. Учитывая системное действие препарата Галавит®, у всех пациенток исследовали количество лейкоцитов в периферической крови до и после терапевтических мероприятий; лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методами. Методом проточной цитофлуориметрии оценивали фенотип клеток крови, поглотительную способность лейкоцитов с определением активности и интенсивности фагоцитоза [5]. Кислородозависимый метаболизм фагоцитов с оценкой активности и интенсивности в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте (тест восстановления нитросинего тетразолия) был исследован на проточном цитофлуориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США), для чего венозную кровь пациенток забирали в пробирку с ЭДТА в количестве 5 мл. Уровень цитокинов в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с тест-системами «Вектор-Бест» (Россия) [9]. Для контроля данных исследований использовали сыворотки крови здоровых доноров; результаты варьировали от 0 до 10 пг/мл. Для статистической обработки полученных данных использовали пакет прикладных программ Statistica for Windows 7.0 с вычислением среднего арифметического и его стандартной ошибки. Достоверность различий средних величин оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Статистические процедуры, используемые для анализа качественных признаков, включали в себя построение таблиц сопряженности с вычислением одностороннего точного критерия Фишера. В соответствии с общепринятой практикой статистических оценок уровень $p \leq 0,05$ был признан приемлемой границей статистической значимости, когда вероятность различия превышала 95%.

Пациентки основной и группы сравнения обратились за медицинской помощью во время рецидива герпесвирусной инфекции; средняя продолжительность болезни составляла $4,2 \pm 0,25$ года. На момент проведения клинического осмотра 35,4% пациенток имели эрозии в области малых половых губ, у 39,5% выявлены поражения на задней спайке, у 24,1% отмечалось поражение шейки матки. В 1-й группе (стандартная терапия + Галавит®) разрешение клинических симптомов отмечалось уже на 3-й день от начала лечения, в то время как во 2-й группе (стандартная терапия) острая фаза местного воспаления купировалась только к 5-му дню. Полная реэпителизация в обеих группах наступила к началу 7-го дня лечения. При этом возбудитель ВПГ2 в мазках методом ПЦР не выявлялся у 97% больных 1-й группы и у 95% – 2-й. Кроме того, отмечено увеличение длительности клинической ремиссии в отдаленном периоде в 1-й группе до 4 мес (в среднем – до 68 дней); во 2-й группе она составила 35 дней.

Иммунный статус пациенток, страдающих генитальной герпесвирусной инфекцией, представлен в табл. 1. У пациентов, страдающих генитальной рецидивирующей герпесвирусной инфекцией, были выявлены иммунные дисфункции, возможно, сформированные персистенцией вируса герпеса в организме. До начала терапии были выявлены снижение количества Т-клеток-супрессоров и повышение количества дубльнегативных лимфоцитов, что может соответствовать снижению противовирусной активности макроорганизма. Выявленное снижение общего количества НК-клеток, снижение количества фагоцитирующих клеток может способствовать развитию вторичных бактериальных

инфекций из-за угнетения защитных функций организма. Отмеченный нами сниженный уровень молекул адгезии (CD54⁺ и CD11b⁺) у обследованных женщин до начала лечения мог в конечном итоге привести к нарушению формирования местного иммунитета, хронизации воспалительных процессов [12].

Кроме того, у пациенток до начала лечения отмечено снижение абсолютных и относительных показателей В-лимфоцитов (CD19⁺), сопряженное с увеличением опосредованного апоптоза (CD95⁺). Высокий уровень клеток, экспрессирующих рецептор к интерлейкину (ИЛ)2 (CD25⁺), при нормальных показателях активированных Т-лимфоцитов HLA-DR⁺, свидетельствовал об активации Т-хелперов 1-го типа (Th1) и развитии иммунных реакций по типу Th1. Активация Т-лимфоцитов с последующей их пролиферацией и дифференциацией в эффекторные клетки – один из необходимых этапов развития иммунного ответа. HLA-DR является маркером не только поздней, но и длительной активации клеток, т.е. HLA-DR-позитивные лимфоциты длительно циркулируют в крови, экспрессия этого маркера наиболее полно отражает активационное состояние клеток. Поэтому именно HLA-DR наиболее часто используется для изучения

клеточной активации при вирусных инфекциях, а динамика этого показателя позволяет оценивать степень воспалительного процесса и мониторировать эффективность лечения: динамическое снижение этого показателя свидетельствует о стихании воспалительной реакции [15]. Низкий уровень молекул адгезии (CD54⁺ и CD11b⁺) указывал на нарушение формирования местного иммунитета и хронизацию воспалительного процесса, клинически регистрируемую при сборе анамнеза (см. табл. 1). В 1-й группе после окончания терапии нормализовались популяции Т-, В- и Nk-клеток, соотношение Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток, количество Т-активированных лимфоцитов.

В 1-й группе индекс завершенности фагоцитоза нормализовался у 87% пациенток (во 2-й – только у 42%), количество активных фагоцитов повысилось у 86% женщин (во 2-й группе – у 50%), содержание Т-лимфоцитов нормализовалось у 64% (во 2-й группе – у 46%), уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) снизился до нормы у 73% (во 2-й группе – у 55%), иммунорегуляторный индекс повысился у 79% (во 2-й группе – у 43%); табл. 2.

На дисглобулинемию в сыворотке крови больных указывало повышение уровня IgG, что характерно для хронического процесса при повышенном содержании показателей ЦИК (см. табл. 2). В сыворотке крови обнаружено увеличение уровней провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли-α, ИЛ1, ИЛ6, ИЛ8, которые являются медиаторами местной воспалительной реакции и острофазового ответа на уровне организма, стимулируя целый комплекс защитных реакций. Повышенный уровень цитокинов свидетельствует о развитии локального или общего воспаления [11]. Анализ иммунологических показателей в 1-й группе после завершения терапии выявил достоверное увеличение количества CD4⁺-лимфоцитов и NK-клеток до нормальных величин. Кроме того, наблюдался подъем уровней интерферона (ИФН)-α и ИФНγ. Повышение выработки ИФНα способствует подавлению репликации вируса, увеличивая экспрессию антигенов HLA 1-го класса, вследствие чего повышается чувствительность вирусинфицированных клеток к цитотоксическому действию Т-лимфоцитов. Кроме того, под действием ИФНα активируются NK-клетки, в результате чего усиливается синтез ИФНγ, являющегося важнейшим фактором в дифференцировке Т-хелперов и

Таблица 1
Динамика показателей иммунного статуса женщин до и после комплексной терапии с применением иммуномодулятора Галавит® (M±m)

Показатель, %	Здоровые женщины (n=20)	Больные обеих групп до лечения (n=57)	1-я группа (n=30) после лечения	2-я группа (n=27) после лечения
CD3	57,4±2,32	52,31±2,25	56,42±1,99*	53,3±1,75
CD3 ⁺ CD4 ⁺	44,81±1,4	30,41±1,34	45,73±1,22*	36,4±1,22
CD3 ⁺ CD8 ⁺	28,9±2,22	19,33±1,23	27,92±2,11*	22,3±1,11
CD4/CD8	2,42±0,41	1,72±0,53	2,32±0,49*	1,62±0,44
CD16 ⁺ 56 ⁺	7,41±1,21	4,11±0,91	7,24±1,11*	5,22±0,21
CD19 ⁺	15,11±0,87	6,74±0,53	15,21±1,15*	8,71±0,66
CD95 ⁺	34,22±1,55	75,09±0,51	33,16±1,33*	55,01±0,61
CD4 ⁺ CD8 ⁺	0,14±0,11	0,64±0,12	0,13±0,16*	0,43±0,11
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	1,08±0,12	1,41±0,19	1,10±0,12*	1,21±0,13
CD25 ⁺	2,92±0,11	6,72±0,91	3,31±0,55*	4,72±0,91
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	3,23±0,31	6,92±1,34	3,12±0,33*	4,81±0,44
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	0,69±0,11	0,75±0,3	0,66±0,13*	0,68±0,12
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	5,73±0,21	9,34±0,86	5,45±0,57*	7,21±0,44

Примечание. * – здесь и в табл. 2: показатели, статистически значимо отличающиеся от аналогичных показателей 2-й группы; CD – кластеры дифференцировки.

Таблица 2
Динамика показателей иммунного статуса женщин до и после комплексной терапии с применением иммуномодулятора Галавит®

Показатель	Здоровые	Все больные до лечения	1-я группа (n=30) после лечения	2-я группа (n=27) после лечения
Фагоцитарная активность нейтрофилов, %	55–70	47,2±3,1	60,9±3,2*	53,8±4,1%
Индекс завершенности фагоцитоза	>1,0	0,86±0,02	1,15±0,03*	0,94±0,05
Количество активных фагоцитов, •10 ⁹ /л	2,5–2,9	1,93±0,03	2,74±0,02*	2,55±0,03*
ЦИК	До 1,0	3,35±0,03	0,85±0,02*	1,87±0,05

развитии противовирусной защиты. Что касается фагоцитарного звена иммунитета, то в 1-й группе по сравнению со 2-й выявлен достоверный рост фагоцитарной активности нейтрофилов и их фагоцитарного числа.

Из анализа данных табл. 1 и 2 видно, что нормализация иммунологических показателей под влиянием препарата Галавит® выражена значительно больше, чем при использовании терапевтической схемы без иммуномодулятора. При этом анализ данных молекулярно-генетических исследований показал, что в группе, в которой была применена схема комплексной терапии, элиминация вируса герпеса и уреамикоплазм наступала значительно быстрее, что авторы связывают со способностью препарата Галавит® влиять на функционально-метаболическую активность макрофагов.

Данные исследования позволяют сделать следующие выводы:

- иммуномодулятор аминодигидрофталазиндион натрия (Галавит®) оказывает иммунокорректирующее действие на факторы антимикробной защиты у больных, страдающих хронической рецидивирующей герпесвирусной и уреамикоплазменной инфекцией, увеличивая содержание CD4⁺ лимфоцитов и Nk-клеток, активирующих систему ИФН;
- применение препарата Галавит® в комплексной терапии пациентов с генитальной формой хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекции сокращает длительность рецидивов и заметно уменьшает их частоту в отдаленном периоде, а также ускоряет процесс эрадикации уреамикоплазм.

Литература

1. Гизингер О.А., Летяева О.И. Иммуномодуляторы в гинекологии: к вопросу о клинико-микробиологической эффективности и иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении микоплазменной инфекции урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста // Врач. – 2014; 3: 46–9.
2. Гизингер О.А., Летяева О.И. Иммуномодуляторы в комплексном лечении микоплазменной инфекции урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста // Врач. – 2014; 2: 62–7.
3. Гизингер О.А., Долгушин И.И., Летяева О.И. Факторы местного иммунитета репродуктивной системы у женщин с хламидийной инфекцией // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2005; 4: 65–9.
4. Гизингер О.А., Летяева О.И., Плеханова Е.В. и др. Иммунотерапия в коррекции дисфункций факторов врожденного и адаптивного иммунитета при осложненной урогенитальной инфекции // Рос. иммунол. журн. – 2013; 7 (2–3): 272–3.

5. Дьяконова В.А., Пак В.Г., Будихина А.С. Оценка функциональной активности фагоцитарной системы человека в норме и при патологии // М., 2008; 123 с.

6. Иванов А.А., Гладких О.П., Кузнецова А.В. и др. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в патологии // Молекулярная медицина. – 2005; 2: 16–21.

7. Кубанова А.А., Рахматуллина М.Р. Урогенитальные инфекционные заболевания, вызванные генитальными микоплазмами: клинич. рекомендации // Вестн. дерматол. и венерол. – 2009; 3: 65–72.

8. Летяева О.И., Гизингер О.А., Зиганшин О.Р. Генитальный герпес: долгосрочные подходы к терапии пожизненной инфекции // Клин. дерматол. и венерол. – 2013; 6: 61–4.

9. Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В. и др. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа // Информ. бюл. «Новости Вектор-Бест». – 2004; 4 (34).

10. Серов В.Н., Твердикова М.А., Вересова А.А. Иммуномодуляторы в комплексной терапии воспалительных заболеваний органов малого таза // РМЖ. – 2011; 20: 1218–23.

11. Шульженко А.Е., Зуйкова И.Н. Галавит® в терапии хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекции // Новые лекарства. – 2003; 3: 23–7.

12. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы // М., 2009; 352 с.

13. Халдин А.А., Львов А.Н., Маркова Ю.А. и др. Стандартизация ведения пациентов с рецидивирующим простым герпесом: терапия, профилактика и консультирование // Соврем. проблемы дерматовенерол., иммунол. и врачебной косметол. – 2010; 2: 59–65.

14. Viscardi R., Hasday J. Role of Ureaplasma species in neonatal chronic lung disease: epidemiologic and experimental evidence // Pediatr. Res. – 2009; 65 (5): 84–90.

15. Kar M., Sengupta J., Bhargava V. Immunohistochemical localization of macrophage CD68⁺, HLA-DR⁺, L1⁺ and CD44⁺ subsets in uterine endometrium during different phases of menstrual cycle // J. Physiol. Pharmacol. – 2004; 48 (3): 293–303.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL RATIONALE FOR THE USE IN THERAPY IMMUNOMODULATOR GALAVIT® MIX-INFECTIIONS OF THE GENITAL TRACT

Professor **O. Gizinger**, Biol. Dr.; **Yu. Nefed'eva**, Candidate of Medical Sciences

The article discusses the effects of the drug immunotropic Galavit® (Selba, Russia) in the treatment of viral and bacterial infections of the urogenital tract. Purpose – to assess the impact of the drug on Galavit® indicators of innate and adaptive immunity in the complex therapy of inflammatory diseases of the urogenital tract of women of reproductive age, the etiological agent of which are: herpes simplex virus type 2 and U. urealyticum и M. hominis.

The results of the study showed that the introduction of the drug to patients in a comprehensive scheme Galavit® therapy at an initial dose 100 mg daily (5 injections); followed by 100 mg every other day (5 injections); At the end of the course-10 rectal suppository 1 time in 3 days promotes normalization factors antimicrobial protection and resolution of clinical symptoms.

Key words: Galavit®, complex therapy, innate immunity, adaptive immunity.