

В.М. Боровиков¹, С.Л. Рибалко², Л.Д. Жаркова²

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ СХЕМ ТЕРАПІЇ ПРИ ГЕРПЕТИЧНІЙ ЕКЗЕМІ КАПОШІ

¹Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика²ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”

В статті представлені результати експериментального дослідження ефективності різних схем лікування при герпетичній екземі Капоші. Результати досліджень свідчать про перевагу комбінованих схем лікування цієї патології з використанням протиалергічних та антибактеріальних засобів, як за динамікою титрів інтерферону (в експерименті на мишах), так і за індукцією апоптозу в Т-клітинах людини (на моделі злоякісних Т-клітин Jurkat).

Ключові слова: герпетична екзема, інтерферон, вірус герпесу, апоптоз.

Майже третина населення Землі уражена герпетичною інфекцією і у 50% з них щорічно спостерігаються рецидиви захворювання, оскільки позитивного імунітету проти цієї вірусної інфекції немає. Є дані, що до п'ятирічного віку близько 60% дітей вже інфіковано вірусом герпесу, а до 15 років — майже 90% дітей і підлітків. Більшість людей є довічними вірусоносіями. Причому в 85% випадків первинна інфекція у них перебігає безсимптомно і лише в 15% — у вигляді системної інфекції [2, 6]. Близько 90% міського населення у всіх країнах світу інфіковано одним або декількома типами вірусу герпесу, а рецидивуючі герпесвірусні інфекції спостерігаються у 9–12% мешканців різних країн. Інфікованість і захворюваність постійно зростають, випереджаючи природний приріст населення Землі.

Герпетична екзема — потенційно небезпечне для життя захворювання, обумовлене герпетичною суперінфекцією, яка ускладнює перебіг хронічних дерматозів [1]. Незважаючи на доступність сучасної противірусної терапії, герпетична екзема залишається невідкладним станом в дерматології. Ця патологія є однією із форм герпетичної інфекції, причому збудником можуть бути як віруси простого герпесу (*HSV 1 типу*), так і *HSV 2 типу*. Герпетична екзема може виникнути як внаслідок контактного зараження, так і при реактивації вірусної інфекції.

Фактором, що зумовлює розвиток захворювання є порушення цілісності епідермального бар'єру шкіри внаслідок якого-небудь хронічного процесу в ній, наприклад, атопічного дерматиту; а також внаслідок безпосередньої травматизації шкіри (описані випадки при опіках II ступеня, після дермабразії, контактного дерматиту) [10].

Імуносупресія, частіше медикаментозна, також несе в собі ризик розвитку герпетичного ураження шкіри, наприклад, описані випадки виникнення герпетичної екземи на фоні гормонального лікування вульгарної та листовидної міхурчатки [9, 11].

Деякі захворювання самі по собі спричинюють імунодефіцит. Загострення імунозалежних хронічних захворювань також є сприяючим а іноді і провокуючим фактором для герпесвірусної інфекції. Нарешті, варто звернути увагу на чинники, що сприяють швидкому розвитку *HSV-інфекції*. Наприклад, інсоляція провокує реактивацію герпетичної інфекції: були описані випадки, коли інтенсивна дифузна інсоляція ускладнювалася розвитком герпетичної екземи.

Обидва типи *HSV* здатні інфікувати клітини епітелію шкіри та слизових оболонок, нейрони, а також лімфоцити та інші лейкоцити, що є наслідком тропності вірусу до рецепторів на клітинній поверхні. Причому тяжкість перебігу герпетичної інфекції залежить від ступеню імунодепресії, а характер порушень в імунній системі зумовлений імуносупресивними властивостями вірусу.

Треба зазначити, що інтерферони (ІФН) *ІФН-α*, і *ІФН-β* відносять до цитокінів раннього типу, які мають пряму противірусну дію. Продукція *ІФН-γ* є важливою ланкою створення напруженого протигерпетичного імунітету. Індукція та вироблення *ІФН-γ* макрофагами не тільки є ранньою відповіддю на інфекцію, а й готує більш пізню специфічну імунну відповідь [3].

Відповідно, лікування герпетичної екземи має на меті 2 основні задачі: боротьба з вірусами

герпесу і налагодження адекватної імунної відповіді самого організму. При підозрі на герпетичну екзему терапія повинна бути призначена без зволікання. Ацикловір (герпевір) є стандартом лікування [5]. Препарат активується ферментом вірусу тимідинкіназою. При цьому утворюється активний трифосфат ацикловіру, який конкурентно інгібує вірусну ДНК-полімеразу. Застосовуються також противірусні та імуномодулювальні засоби. Через часте виникнення бактеріальних ускладнень використовуються і протибактеріальні препарати [8]. До загального лікування відноситься і призначення антиалергічних, протигістамінних засобів. Причому при виборі як протиадергічних, так і протибактеріальних препаратів намагаються зупинитися на таких, які самі по собі мають індукуючу активність відносно інтерферону.

Метою роботи було експериментальне вивчення терапевтичних схем на модельних системах репродукції *HSV 2-го типу in vitro* та *in vivo* з метою обґрунтування їхнього практичного застосування в клінічній практиці. Ефективність визначали як за впливом на репродукцію вірусу, так і за динамікою змін продукції інтерферону.

Матеріали і методи

Досліди проводили на лабораторних мишах та в культурах клітин людини. 30 безпородних мишей були розділені на 5 груп відповідно до застосованої схеми. Кожна група містила в собі 6 мишей. Розподіл зазначено в табл. 1. Забір матеріалу здійснювали в кожній групі на другий, четвертий і п'ятий день експерименту.

Дозу введення препаратів для мишей перераховували виходячи з рекомендованих доз препаратів та співвідношення середньої маси миші і людини. В експерименті застосовувалися наступні

дозування препаратів для мишей: герпевір 10 мг в 0,1 мл (суспензія), інтерферон (мишачий) 10^3 МО в 0,1 мл, цефазолін 20 мг в 0,1 мл, супрастин 0,1 мл 2% розчину. В експериментах використовували відповідні фармакопейні препарати. Мишачий ІФН *in vitro* індукували в клітинах *L929 poli I — poli C* в концентрації 50 мкг/мл в присутності ДЕАЕ-декстрану. Титрування мишачого ІФН проводили на культурах *L929*.

Для дослідів *in vitro* застосовували такі перещеплені культури клітин:

Jurkat — суспензійна культура Т-клітинної лімфобластної лейкемії, що походить з периферичної крові хворої на гостру лімфобластну лейкемію дитини;

VERO — клітини нирки африканської зеленої мавпи;

L929 — клітини мишачих фібробластів.

Всі клітини були одержані з колекції культур Інституту вірусології ім. Д. Іванівського РАМН. Культури вирощували за стандартних умов в поживному середовищі *RPMI-1640* з 10% сироватки ембріонів корів в присутності 40 мкг/мл гентаміцину.

В дослідах використовували штам *VC* вірусу герпесу простого (*HSV*) 1-го антигенного типу та вірус везикулярного стоматиту (*VSV*), одержані з музею вірусів Інституту вірусології ім. Д. Івановського РАМН. Інфекційний титр *HSV* за цитопатичною дією (ЦПД) в культурі клітин *VERO* складав $6.0 \lg$ ТЦД₅₀/0,1 мл.

Визначення титрів інтерферону. Мишачий ІФН титрували проти 100 ТЦПД₅₀ *VSV* на клітинах *L929* в 96-луноквих пластинах для культур клітин.

Культури клітин в пластикових планшетах обробляли відповідними розведеннями досліджуваної сироватки мишей, які готували в середовищі *RPMI-1640* + 2% фетальної сироватки телят.

Таблиця 1. Моделювання герпетичної інфекції шкіри. Вивчення динаміки продукції ІФН в сироватці мишей, яким було внутрішньошкірно введено вірус герпесу

№ групи	Кількість тварин	Схема лікування	Забір матеріалу на дослідження		
			2-й день	4-й день	5-й день
1	6	Герпевір	2	2	2
2	6	Герпевір+ІФН	2	2	2
3	6	Герпевір+ІФН+цефазолін	2	2	2
4	6	Герпевір+ІФН+цефазолін+супрастин	2	2	2
5	6	Нелікована герпесвірусна інфекція шкіри (контроль)*	2	2	2

Примітка. * — у мишей цієї групи спостерігалась клінічна картина у вигляді “плішин” на спині у районі введення вірусу.

Через 18 годин інкубації при 37°C в термостаті з подачею 5% CO₂ культуральну рідину видаляли, клітини промивали одноразово розчином Хенкса і заражали VSV з множинністю інфекції 100 ТЦД₅₀. Після адсорбції вірусу клітини промивали розчином Хенкса, додавали свіже живильне середовище з 2% сироватки і інкубували 24 години при 37°C. За титр ІФН в умовних одиницях приймали число, зворотне розведенню досліджуваної сироватки, при якому ЦПД в культурі клітин пригнічувалась на 50% [4].

Для визначення ефективності зазначених препаратів використовували також культуру Т-клітинного лейкозу людини *Jurkat*. Препарати вносили до культурального середовища у концентраціях: герпесвірус 10 мг в 0,1 мл (суспензія), інтерферон альфа людини рекомбінантний 10³ МО в 0,1 мл, цефазолін 20 мг в 0,1 мл, супрастин 0,1 мл 2% розчину. Загальний об'єм проби становив 1 мл. Через 48 год. визначали кількість апоптичних клітин на основі даних, отриманих за допомогою проточного цитометра, а також визначали інфекційний титр шляхом титрування на клітинах *VERO*.

Результати та їх обговорення

Динаміка титрів загального ІФН в сироватці мишей за даними, отриманими через 1, 3 та 4 дні після введення препаратів та вірусу герпесу (по дві миші на кожну часову точку в кожному сполученні препаратів), наведена на рис. 1.

Як бачимо з наведених даних, в разі герпесвірусної інфекції, яку не пригнічували препаратами, відбувається поступове повільне зростання титрів інтерферону, що свідчить про наявність в організмі інфекційного збудника, який стимулює інтерфе-

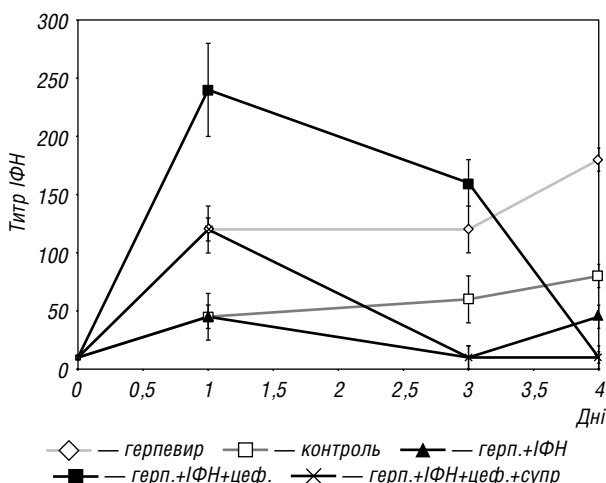


Рисунок 1. Динаміка продукції ІФН при різних експериментальних схемах лікування герпетичної екземи

роноутворення, а з іншого боку є показником активної і адекватної імунної відповіді організму. У мишей, які одержували герпесвірус, зростання титрів інтерферону відбувалося більш швидко і було більш значним. Інша картина спостерігалась в групах, які одержували комплексне лікування, зокрема в разі застосування комплексу герпесвірус + ІФН + цефазолін та герпесвірус + ІФН + цефазолін + супрастин, де стрімкий ріст титрів інтерферону змінювався їхнім зниженням на 4-у добу практично до значень, характерних для інтактних мишей, що свідчило про швидкий початок елімінації збудника з організму.

З наведених даних видно, що найбільш ефективним, виходячи з динаміки інтерфероноутворення, є застосування комбінованих схем лікування із залученням препаратів інтерферону а також антибактеріальних та антиалергічних засобів з інтерферонстимулювальною активністю в порівнянні з вживанням лише герпесвірусу. Швидке зростання титрів інтерферону свідчить про активну відповідь імунної системи на репродукцію вірусу. В той же час подальше швидке падіння титрів свідчить про елімінацію збудника та припинення вірусного процесу під дією застосованої лікувальної схеми.

Відомо, що вірус герпесу добре репродукується в клітинах імунної системи, зокрема в Т-клітинах [7]. Основним механізмом елімінації вірусу герпесу в цьому разі є апоптоз, причому в епітеліальних клітинах він інгібується завдяки вірусним проти-апоптичним генам, а в Т-клітинах такої інгібіції не відбувається. Елімінація вірусу разом із загибеллю Т-клітин є важливим патогенетичним механізмом розвитку герпесвірусної інфекції та спричинених нею процесів в організмі.

Такі ж схеми комбінованого впливу були застосовані і в досліді *in vitro* на клітинах людини, а саме перещеплюваних злоякісних Т-клітинах *Jurkat*. Інфікування вірусом та внесення препаратів до культурального середовища проводили одночасно. Титр інфекційного вірусу та індукцію апоптозу визначали через 48 год. від початку експерименту табл. 2.

Всі препарати, як герпесвірус окремо, так і герпесвірус із сполученням інших препаратів ефективно пригнічували репродукцію вірусу в клітинах. За досліджуваними показниками на перещеплюваних лініях клітин людини визначається певна перевага схем комплексного впливу: в разі схем герпесвірус + ІФН + цефазолін або герпесвірус + ІФН + цефазолін +

Таблиця 2. Індукція апоптозу та репродукція вірусу герпесу в клітинах *Jurkat*, інфікованих вірусом герпесу та оброблених препаратами в зазначених сполученнях

Препарати	Відсоток апоптичних клітин	Інфекційний титр вірусу герпесу на клітинах VERO (log)
Контроль (інтактні клітини)	15,7	–
Контроль вірусу без препаратів	42,1	6
Герпевір	42,4	1,5
Герпевір+ІФН	40,2	1,0
Герпевір+ІФН+цефазолін	50,4	0
Герпевір+ІФН+цефазолін+супрастин	51,8	0

+ супрастин відзначалося збільшення відсотку апоптичних клітин.

Висновки

Наведені дані свідчать про те, що схема комбінованого впливу за участю протибактеріальних та протиалергічних засобів є більш ефективною в моделях *in vitro* та *in vivo*, як за динамікою титрів

інтерферону (в експерименті на мишах), так і за індукцією апоптозу в Т-клітинах людини (на моделі злоякісних Т-клітин *Jurkat*).

Перспективи досліджень полягають в вивченні механізмів підсилення апоптозу під впливом протибактеріальних та протиалергічних засобів та подальшому вивченні комплексних схем терапії в клінічних умовах.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Адаскевич В.П.* Неотложные состояния в дерматологии. / Владимир Петрович Адаскевич. — С-Пб.: Мед. Издательство Триада-Фарм, 2001. — 196 с.
2. *Белозеров Е.С.* Болезни герпесвирусной группы / Е.С. Белозеров, Ю.И. Буланьков. — Элиста: АПП "Джангар", 2005. — 64 с.
3. *Ершов Ф.И.* Система интерферона в норме и патологии / Феликс Иванович Ершов. — М.: Рос АМН, 1996. — 239 с.
4. Определение интерферонового статуса как метод оценки иммунореактивности при различных формах патологии. Пособие для врачей / О.И. Киселев, В.И. Мазуров, В.В. Малиновская [и др.]. — С-Пб, 2002. — 25 с.
5. *Самгин М.А.* Герпетическая экзема Капоши: современные представления о клинике, рациональной терапии и профилактике / М.А. Самгин, А.А. Халдин // Российский журнал кожных и венерических болезней. — 2007. — № 1, пр.: с. 4–8.
6. *Хрянин А.А.* Распространенность вирусов простого герпеса I и II типов (популяционное исследование) / А.А. Хрянин, О.В. Решетников // Вестник Новосибирского гос. университета. — 2007. — Т. 5, № 3. — С. 118–119.
7. Apoptosis and antigen receptor function in T and B cells following exposure to herpes simplex virus / Han JY, Sloan DD, Aubert M [et al.] // *Virology*. — 2007. — Vol. 359, № 2. — P. 253–263.
8. *Brook I.* Secondary bacterial infections complicating skin lesions / I. Brook // *J. Med. Microbiol.* — 2002. — Vol. 51, № 10. — P. 808–812.
9. *Falcos D.* Kaposi's varicelliform eruption in pemphigus foliaceus / D. Falcos, A. Giacomelli, M. Caprioni // *Int. J. Dermatol.* — 1996. — Vol. 35. — P. 809–811.
10. *Kramer S.C.* Kaposi's varicelliform eruption: a case report and review of the literature / S.C. Kramer, C.J. Thomas, W.B. Tyler [et al.] // *Cutis*. — 2004. — Vol. 73, № 2. — P. 115–122.
11. *Zouhair K.* Surinfection herpetique du pemphigus: Six cas. / K. Zouhair, T.E. Ouzzani, S. Azzouzi [et al.] // *Annals Dermatologie et Venereologie*. — 1999. — Vol. 126. — P. 699–702.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗНЫХ СХЕМ ТЕРАПИИ ПРИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМЕ КАПОШИ

В.М. Боровиков¹, С.Л. Рыбалко², Л.Д. Жаркова²

¹Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика

²ГУ "Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины"

В статье представлены результаты экспериментального исследования эффективности различных схем лечения при герпетической экземе Капоши. Результаты исследований свидетельствуют о преимуществе комбинированных схем лечения этой патологии с использованием противоаллергических и антибактериальных средств, как по динамике титров интерферона (в эксперименте на мышах), так и по индукции апоптоза в Т-клетках человека (на модели злокачественных Т-клеток *Jurkat*).

Ключевые слова: герпетическая экзема, интерферон, вирус герпеса, апоптоз.

**EXPERIMENTAL MODELING FOR ASSESSING EFFICACY
OF VARIOUS THERAPEUTIC REGIMENS IN KAPOSI HERPETIC ECZEMA**

V.M. Borovykov¹, S.L. Rybalko², L.D. Zharkova²

¹P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Training, Kyiv

²PI "L.V. Gromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine", Kyiv
The results of the experimental study for assessing efficacy of various therapeutic regimens in Kaposi herpetic eczema have been presented. The data on the dynamics of interferon titers (experiments on mice) and apoptosis induction in human malignant lymphoid T cells Jurkat confirm the advantages of the combined treatment regimens comprising antiallergic and antibacterial agents.

Key words: *herpetic eczema, interferon, herpes virus, apoptosis.*

Рецензент: *д. м. н., професор А.О. Руденко*

УДК 616.24–02.54/57:576/852.211.001.5

О.А. Журило, А.І. Барбова, С.В. Миронченко

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ
МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ
ШТАМІВ *Mycobacterium tuberculosis*,
ЩО ЦИРКУЛЮВАЛИ СЕРЕД ХВОРИХ З ВПЕРШЕ
ДІАГНОСТОВАНИМ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ЛЕГЕНЬ**

ДУ "Національний інститут фізичної реабілітації і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України"

У статті представлені дані вивчення структури, ступеня вираженості і профілю медикаментозної стійкості штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ), що циркулювали в установах пенітенціарної системи серед хворих з активним туберкульозом легень у 2006 році та проведено порівняльний аналіз з аналогічними показниками первинної медикаментозної стійкості штамів МБТ, виділених за той же період часу від хворих, які перебували в стаціонарі Національного інституту фізичної реабілітації і пульмонології (НІФП).

Ключові слова: *туберкульоз, мікобактерія туберкульозу, медикаментозна резистентність.*

В останні роки причини негативних змін в епідеміології туберкульозу пов'язані не тільки зі зниженням соціального рівня життя громадян, незабезпеченістю програм боротьби з туберкульозом, але й зі змінами біологічних характеристик людини і збудника. Інтенсивне поширення туберкульозної інфекції супроводжується наростанням агресивних властивостей збудника — високої життєздатності та медикаментозної стійкості (МС) [4, 5].

Основними причинами, що призводять до розвитку хіміорезистентності (ХР) мікобактерій туберкульозу (МБТ) є неоднорідність мікобактеріальної популяції, варіабельність її складу і ступеня вірулентності МБТ, мінливість біологічних властивостей збудника з одночасною селекцією резистентних особин у результаті неадекватної хіміотерапії [2, 8, 11, 14].

У бактеріальній популяції, що розмножується, завжди є невелике число медикаментозностійких мутантів, які не мають практичного значення, але по мірі зменшення бактеріальної популяції змінюється співвідношення між кількістю медикаментозночутливих і стійких мікобактерій. В цих умовах відбувається розмноження, головним чином, стійких мікобактерій, ця частина бактеріальної популяції збільшується, досягаючи критичної пропорції, іноді навіть перевищуючи її [12, 13]. Своєчасне та якісне визначення медикаментозної стійкості сприяє ефективному лікуванню туберкульозу [7, 9, 10].

Однак, незважаючи на особливу актуальність проблеми хіміорезистентного туберкульозу (ХРТ), в Україні на сьогоднішній день існують