

# ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАФАРМ У БОЛЬНЫХ ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ

Е.В. Свидро

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

## Резюме

У статті наведено результати досліджень 55 пацієток основної групи та 38 — контрольної групи з рецидивною герпетичною інфекцією. Усім пацієткам призначали ацикловір по 1 таблетці (200 мг) 5 разів на добу протягом тижня (базисна стандартна терапія). Хворим основної групи протягом 10 днів додатково внутрішньом'язово вводили препарат ЕРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм по 2 мл 1 раз на добу. Під час досліджень було встановлено, що призначення ЕРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм пацієткам із рецидивною герпетичною інфекцією в комплексі з ацикловіром сприяє стимуляції спонтанної ІФН- $\gamma$ -синтезуючої здатності Т-хелперів першого типу й збільшенню нестимульованої та ЛПС-індукованої продукції ІЛ-12 моноцитами. Це, у свою чергу, сприяє прискоренню початку ремісії (в середньому на  $2,7 \pm 0,4$  дня) і підвищенню її стійкості, знижуючи число рецидивів із 8-12 до 2-3 на рік.

## Ключові слова

Рецидивна герпетична інфекція, лікування, ацикловір, ЕРБИСОЛ.

Частые и длительные проявления герпеса служат маркерами имеющихся иммунных дефектов и требуют выработки общепризнанных единых взглядов на возможность их коррекции. Использование традиционного лечения не ведет к окончательному решению данной проблемы. В то же время создаются новые иммуностропные препараты, влияние которых на пациентов с ВПГ-индуцированными заболеваниями следовало бы уточнить и создать необходимые терапевтические алгоритмы. Примером такого лечебного средства является препарат из группы эрбисолов —

© Е.В. Свидро

Эрбисол® УЛЬТРАфарм, производимый НПЦ «ЭРБИС», г. Киев. Это негормональный комплекс гликопептидов, пептидов, нуклеотидов и аминокислот, выделенных из куриной эмбриональной ткани [Николаенко А.Н., 1998].

Иммуномодулирующее действие препарата ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм (по результатам исследований на животных и клетках человека *in vitro*) может быть связано с усилением продукции цитокинов ІЛ-1, ІЛ-2,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -ІFN, активирующих преимущественно клеточный иммунитет. Таким образом, одним из показаний к назначению данного препарата могут



быть и вирусные инфекционные заболевания, в частности ВПГ-генеза. Стимуляция, вызываемая препаратом, направлена на усиление противовирусной сопротивляемости независимо от исходного спонтанного уровня концентрации перечисленных выше медиаторов.

Исходя из данных эксперимента и I фазы клинической апробации, ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм нетоксичен, лишен кумулятивных свойств, аллергогенной, тератогенной, мутагенной и канцерогенной активности.

**Цель исследования** — оценка эффективности и переносимости иммуномодулятора ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм в комплексной терапии рецидивирующей формы генитального герпеса у женщин.

Клиническое исследование проводилось как открытое контролируемое параллельное и выполнялось в соответствии с требованиями, предъявляемыми ко II фазе клинических испытаний.

## Материалы и методы

Для исследования отобрали 93 женщины в возрасте  $33,1 \pm 2,4$  года с ВПГ-инфекцией с ПЦР-подтвержденным наличием *Herpes simplex* 1 и/или 2 (ВПГ1 и ВПГ2) и ожидаемыми уровнями содержания специфических IgM и G в крови (ИФА) [1, 2]. Для отбора больных также применялись общие принципы диагностики воспалительных процессов с учетом данных анамнеза, общеклинического и гинекологического обследований. У 87 (93,4%) женщин частота рецидивов генитального герпеса превышала 8 эпизодов в год, чаще после месячных или перенесенных инфекций. Обычно манифестация симптомов на фоне традиционной терапии длилась 10-12 дней, а при отсутствии лечения задерживалась до 2-3 недель.

Планируемое клиническое наблюдение за больными охватывало 12 месяцев. В динамике (до лечения и на 21-й день от его начала) оценивались показатели общих анализов крови и мочи, лейкограммы, биохимические параметры крови и данные иммунологических тестов. Последние включали: иммунофенотипирование лимфоцитов при помощи моноклональных антител к антигенам CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup> методом лазерной проточной цитометрии, содержание общего количества IgM, IgG и IgA — методом ИФА, общее количество циркулирующих иммунных комплексов

(ЦИК) — методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле и фагоцитарные индекс (ФИ) и число (ФЧ) — в латексном тесте. Контрольными иммунологическими параметрами служили величины соответствующих показателей и их средние значения при тестировании 30 практически здоровых женщин-добровольцев, демографические данные которых совпадали с таковыми у наших пациентов. Спонтанную и митогенстимулированную продукцию цитокинов определяли в клеточных супернатантах с использованием иммуноферментных тест-систем фирмы DIACON Research (Франция) на аппарате STAT-Fax-303 Plus.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 9.0 for Windows 2000 на ПК IBM Pentium II. При оценке полученных значений высчитывали следующие параметры: средние значения, ошибку средней, стандартное отклонение, критерий достоверности Стьюдента. Для дополнительного контроля достоверности полученных значений их обработку производили с использованием непараметрических статистических методов: метод Манна — Уитни с поправкой Йейтса — для оценки различий данных по продукции цитокинов в наблюдаемых группах, метод Уилкоксона — для оценки эффективности лечения [4].

Обследуемые пациентки были разделены на основную (исследуемую, или группу И) — 55 лиц и контрольную (группу К) группы — 38 лиц. Все наблюдаемые пациентки принимали ацикловир по 1 таблетке (200 мг) 5 раз в сутки в течение недели (базисная стандартная терапия). Больным основной группы 10 дней подряд внутримышечно вводили препарат ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм по 2 мл 1 раз в сутки.

Терапевтическая эффективность и переносимость проведенного лечения определялись клинически и соотносились с результатами лабораторного обследования. Статистическую обработку полученных результатов проводили с учетом достоверности разницы по критерию Фишера — Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

Было подтверждено, что генитальный герпес у 73,7% (n=28) охваченных исследованием больных контрольной и 72,7% (n=40) основной групп ассоциировался с выявлением ВПГ 2-го типа.

Введение больным основной группы препарата ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм в комплексе с приемом внутрь ацикловира привело к выраженному клиническому эффекту уже к исходу 3-х суток, а окончательное нивелирование симптомов происходило на 5-7-е сутки. В контрольной группе это наблюдалось к исходу 7-х и на 7-9-е сутки соответственно.

У пациенток основной группы была достигнута стойкая клиническая ремиссия. У 7 (12,7%) пациенток были отмечены рецидивы за период наблюдения. В контрольной группе рецидивы были отмечены у большей части — 26 (68,4%), при этом у 8 пациенток наблюдалось по 2 рецидива.

При наблюдении за пациентками в течение 6 месяцев после терапии было выявлено 16 рецидивов у 11 женщин основной и 41 эпизод у 24 пациенток группы контроля, т.е. у двух третей контрольной группы.

Годичный срок наблюдения за состоянием пациенток после окончания лечения позволил установить, что у 18 больных основной группы имелись 28 эпизодов рецидивирования генитального герпеса. В контрольной группе рецидивами было охвачено абсолютное большинство больных (34 из 38 женщин), т.е. общее число рецидивов составляло 79 случаев.

Анализ результатов проведенной терапии в целом представлен в табл. 1.

Следует вспомнить, что каждая пациентка при обращении в клинику обследовалась иммунологически (средние величины определяемых показателей приведены в табл. 2). Очевидно, что иммунокомпromетированные больные герпесвирусной инфекцией до начала терапии в периферической крови имели увеличенное количество лимфоцитов как в процентном, так и абсолютном выражении, при этом содержание CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов достоверно не отличалось от значений в группе здоровых женщин, а доля CD4<sup>+</sup> Т-хелперов была снижена, абсолютное количество последних находилось в границах нормы, но имело тенденцию к уменьшению. Что касалось CD19<sup>+</sup> В-лимфоцитов и CD8<sup>+</sup> цитотоксических клеток, то их относительное содержание имело тенденцию к увеличе-

Таблица 1

Сравнительная эффективность лечения больных (абс. ч./%)

Эффективность	Исследуемая группа (n=55)		Контрольная группа (n=38)	
	21-й день от начала терапии	через 3 мес. от начала терапии	21-й день от начала терапии	через 3 мес. от начала терапии
Высокая	53 (96,4%)	51 (92,7%)	35 (92,1%)	14 (36,8%)
Низкая	2 (3,6%)	4 (7,2%)	3 (7,9%)	24 (63,1%)

Таблица 2

Иммунологические показатели у больных исследуемой и контрольной групп до лечения (M±m)

Параметры	Границы нормы (n=30)	Здоровые доноры (n=30)	Исследуемая группа (n=55)	Контрольная группа (n=38)
Лимфоциты, %/абс. число	19-37 800-3600	25,5±0,3 1620±34,6	34,9±3,6 1848±142,3	33,7±3,5 2115±151,4
CD3 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	40-60 600-1600	52,0±5,1 1130±420,0	55,2±3,6 1357±468,0	58,8±4,9 1236±442,1
CD19 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	15-30 200-600	27,0±4,7 454±56,0	37,2±3,7 631±72,5	36,1±3,4 578±78,0
CD4 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	30-40 400-800	34,0±3,9 680±68,0	24,6±1,7 519±73,5	26,2±1,4 522±51,6
CD8 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	15-20 200-400	16,0±3,8 336±82	21,9±2,4 484±47,1	23,7±2,2 530±59,3
CD4: CD8	1,6-2,2	2,4±0,12	1,06±0,20	1,02±0,24
ЦИК, ед. опт. пл.	0,04-0,09	0,06±0,03	0,13±0,04	0,14±0,07
IgG, г/л	7-18	11,5±3,05	13,04±1,38	15,04±1,27
IgA, г/л	0,8-3,7	1,3±0,2	1,86±0,26	1,65±0,16
IgM, г/л	0,4-2,2	0,99±0,2	1,37±0,37	1,47±0,27
ФИ, %	40-70	65±12	63,0±3,2	58,0±3,2
ФЧ, ед.	8-12	6,1±1,1	9,5±1,7	8,5±1,3

Примечание: достоверные отличия относительно практически здоровых доноров (p<0,05).

Таблица 3

Иммунологические показатели у обеих групп больных герпесвирусной инфекцией после терапии (M±m)

Параметры	Границы нормы (n=30)	Здоровые доноры (n=30)	Исследуемая группа после лечения (n=55)	Контрольная группа после лечения (n=39)
Лимфоциты, %/абс. число	19-37 800-3600	25,5±0,3 1620±34,6	38,9±3,4 2193±316,8	40,1±1,6 2082±305,1
CD3 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	40-60 600-1600	52,0±5,1 1130±420,0	65,3±3,9 1785,9±165,8	56,6±0,9 1204±23,5
CD19 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	15-30 200-600	27,0±4,7 454±56,0	22,1±3,0* 407,2±58,2*	29,4±0,7 586±71,4
CD4 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	30-40 400-800	34,0±3,9 680±68,0	32,4±3,7* 746,3±122,6*	31,3±2,1 691±62,6
CD8 <sup>+</sup> -клетки, %/абс. число	15-20 200-400	16,0±3,8 336±82	27,8±3,7* 583,3±106,3*	20,8±1,6 427±53,8
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,6-2,2	2,4±0,12	1,27±0,42*	1,62±0,13
ЦИК, ед. опт. пл.	0,04-0,09	0,06±0,03	0,10±0,02*	0,15±0,01
IgG, г/л	7-18	11,5±3,05	13,5±1,64	14,4±0,33
IgA, г/л	0,8-3,7	1,3±0,2	1,3±0,14	1,67±0,05
IgM, г/л	0,4-2,2	0,99±0,2	1,3±0,16	1,57±0,6
ФИ, %	40-70	65±12	74,4±5,7	54,6±1,4
ФЧ, ед.	8-12	6,1±1,1	11,7±1,1	7,7±0,2

Примечание: \* — достоверные отличия относительно значений до лечения (p<0,05).



нию, при этом абсолютное число также возрастало, что приблизило соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов ( $CD4^+/CD8^+$ ) к 1,0. Достоверное возрастание ЦИК не сопровождалось увеличением содержания IgM, G и A, а также весомыми изменениями искомым параметров фагоцитарного звена, что довольно часто встречается при хронических заболеваниях с частым рецидивированием (обострениями) или при частичном сохранении у больных симптомов заболевания в период ремиссии.

Результаты проводимых исследований в основной и контрольной группах на 21-й день от начала проводимой терапии отражены в табл. 3.

Как видно из приведенных в таблице данных, в ходе терапии в группе, где пациентам назначали ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм, сохранился умеренный лимфоцитоз, возросло количество  $CD3^+$ -лимфоцитов за счет Т-хелперов, умеренно снизилось количество  $CD8^+$ - и  $CD19^+$ -клеток, а также содержание ЦИК. Остальные показатели достоверной динамики не продемонстрировали. В группе контроля достоверным оказалось лишь снижение числа  $CD19^+$ -клеток.

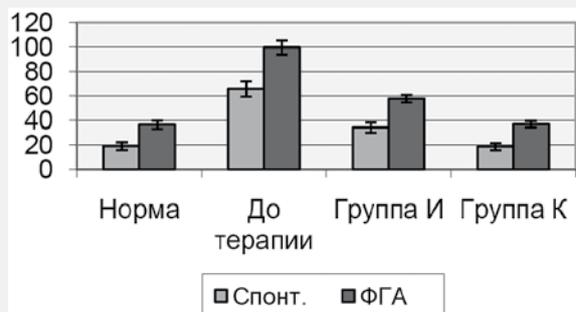
В дальнейшем выборе исследования, направленного на изучение состояния цитокинового синтеза, ориентиром служили литературные данные о наличии у больных герпетической инфекцией дефектов, обнаруживаемых при определении содержания медиаторов иммунитета в различных биологических средах (сыворотка крови, ликвор, содержимое везикул, слюна и т.д.), а также уровня способности клеток, извлеченных из различных тканей, к цитокиновой продукции в условиях *in vitro* [5-7]. Вторым ориентиром служили общеизвестные сведения о ведущей роли клеточного иммунного ответа в антивирусном, в том числе противогерпетическом, иммунитете. И, наконец, третьим вектором в поиске иммунных повреждений были собственные данные о характере изменений цитокинпродуцирующей функции клеток под воздействием различных разведений препарата ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм *in vitro*. Главный акцент в работе был сделан на определении возможной активности иммуномодулятора в отношении мононуклеаров периферической крови с учетом уровней спонтанной и ЛПС-индуцированной продукции клетками  $TNF-\alpha$  и IL-12. Кроме того, изучали спонтанный и ФГА-индуцированный синтез IFN- $\gamma$ , IL-4 и IL-10.

Изучение цитокинового профиля больных рецидивирующей герпетической инфекцией показало, что до лечения у больных имели место: значительно сниженные показатели спонтанной и ФГА-индуцированной продукции IFN- $\gamma$  (средние значения иллюстрирует рис. 1 —  $19,12 \pm 3,2$  и  $36,5 \pm 3,4$  пкг/мл при норме  $65,8 \pm 6,3$  и  $99,7 \pm 5,7$  пкг/мл соответственно), менее значительно был угнетен синтез IL-12 (в среднем, как видно из рис. 2, уровень спонтанной продукции составлял  $21,23 \pm 3,4$ , ЛПС-стимулированной —  $31,62 \pm 3,8$  при нормальных величинах в пределах  $32,3 \pm 2,6$  и  $50,2 \pm 4,2$  пкг/мл соответственно). В то же время спонтанная продукция клетками  $TNF-\alpha$  оказалась недостоверно ( $p < 0,05$ ) повышенной (рис. 3) и равнялась  $21,66 \pm 12,1$  в сравнении со здоровыми лицами —  $16,3 \pm 4,6$  пкг/мл. Митогениндуцированная продукция практически не была изменена —  $31,88 \pm 4,8$  при норме в  $35,67 \pm 2,4$  пкг/мл.

Ситуация после проведенной терапии была оценена также с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни (Т) с поправкой Йейтса ( $\mu_T$ ,  $\sigma_T$ , z), что позволило выявить различия в изменчивости иммуноло-

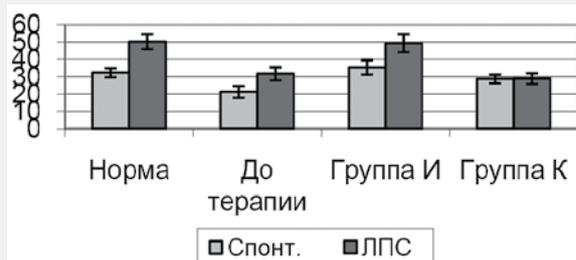
**Рисунок 1**

Средние уровни продукции ИФН-гамма у больных HSV-инфекцией в динамике лечения ( $M \pm m$ , пкг/мл)



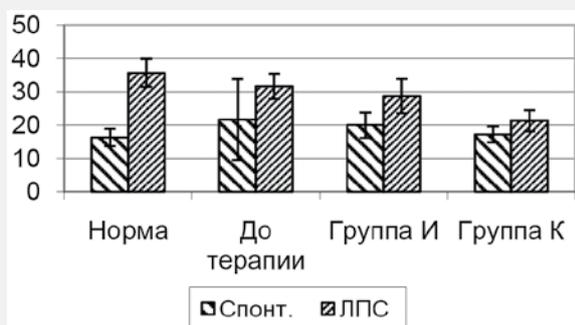
**Рисунок 2**

Средние уровни продукции ИЛ-12 у больных рецидивирующей HSV-инфекцией на фоне терапии ( $M \pm m$ , пкг/мл)



**Рисунок 3**

Средние уровни продукции ФНО-альфа моноцитами крови у больных HSV-инфекцией на фоне терапии (M±m, пкг/мл)



гических параметров, вызванные разницей в осуществленном лечении. Наиболее четкие признаки достоверного отличия показателей в контроле и исследуемой группе после окончания терапии были в отношении спонтанной продукции IFN- $\gamma$  Т-хелперами 1-го типа, а также неиндуцированной и ЛПС-активированной продукции IL-12.

Необходимо вспомнить об особом предназначении IFN- $\gamma$  при герпесе [5], способном напрямую влиять на зараженные вирусом клетки. Нельзя также пренебречь и потенцирующим воздействием данного цитокина относительно иных видов клеточной цитотоксичности, особенно у НК-клеток и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов.

Вероятно, усиленная ЭРБИСОЛОМ УЛЬТРАфарм межклеточная кооперация (Т-хелперы через IFN- $\gamma$  активируют киллинговые эффекты моноцитов, а последние, в свою очередь, приводят к IL-12-зависимому возрастанию числа самих CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов 1-го типа и оптимизируют опосредованные ими виды иммунного ответа) в ходе реализации анти-HSV-иммунитета и полностью подтверждает правильность применения данного иммунокорректора.

Корреляция изменений иммунолабораторных признаков с видом осуществленной терапии определялась с учетом непараметрического коэффициента Уилкоксона (W), который засвидетельствовал, что убедительнее всего терапия препаратом ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм влияла на увеличение спонтанной и индуцированной продукции IL-12, также обратила на себя внимание обратная корреляция между уровнем спонтанного синтеза TNF- $\alpha$  и характером лекарственных воздействий.

Представляется важным, что уровни продукции TNF- $\alpha$  мы имели возможность выяв-

лять и на 8-й день от начала терапии — был зафиксирован существенный прирост преимущественно спонтанного синтеза, однако по истечении третьей недели уже определялись величины ниже, чем в 1-й день. Возможно, это свидетельствует об истинно корригирующем влиянии ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм на иммунные реакции, опосредованные Т-лимфоцитами через цитокиновые команды, и предполагает, что при отсутствии потребности в поддержании высокой активности воспалительной реакции иммуномодулятор перестал оказывать существенное влияние на начальные этапы воспаления, в большей степени определяя напряженность работы киллерных клеток, призванных уничтожать инфицированные вирусом клетки.

Поскольку возрастание продукции IL-12, спонтанного синтеза IFN- $\gamma$  и нестимулированной продукции TNF- $\alpha$  мононуклеарами периферической крови больных клинически сочеталось с более благоприятным течением герпесвирусной инфекции на протяжении полугода с момента окончания терапии, следует задуматься о необходимости индивидуальной (персонифицированной) оценки этих показателей у всех лиц с частыми и длительно рецидивирующими HSV-заболеваниями, что позволит очертить круг показаний для назначения препарата ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм.

**Выводы**

В соответствии с установленными данными клинко-иммунологической эффективности используемого в исследовании комплексного лечения генитального герпеса с применением иммуномодулятора ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм отмечалось повышение клинической результативности терапии у женщин с 8 и более рецидивами инфекции в течение года со снижением агрессивности течения заболевания.

**На основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:**

1. Рецидивы генитального герпеса у иммуносупрессированных женщин на системном уровне сопровождаются достоверными изменениями в клеточном звене (ростом общего числа лимфоцитов при относительном снижении числа CD4<sup>+</sup>-клеток и соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>), а также увеличенным содержанием ЦИК.
2. Во время активации персистирующей инфекции, вызванной вирусами простого



- герпеса 2-го типа, наблюдается угнетение способности клеток к спонтанному и индуцированному синтезу IL-12 и спонтанной TNF $\alpha$ -продукции. Выраженность этих нарушений прямо коррелирует с риском развития частых и длительных рецидивов инфекции.
3. Назначение ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм при ВПГ-индуцированных заболеваниях приводит у большинства пациенток к коррекции дисбаланса в продукции IL-12 и IFN- $\gamma$ , преимущественно путем стимуляции спонтанной IFN- $\gamma$  синтезирующей способности на фоне увеличения спонтанной и ЛПС-индуцированной способности мононуклеаров к продукции IL-12.
  4. Использование ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм у женщин с частыми и длительными рецидивами генитального герпеса позволило достоверно ускорить начало ремиссии (в среднем на  $2,7 \pm 0,4$  дня) и повысить ее стойкость, снижая число рецидивов с 8-10 до 2-3 в год.
  5. Во время исследования ЭРБИСОЛ® УЛЬТРАфарм продемонстрировал низкую токсичность и хорошую переносимость у всех 55 пациенток.

*Надійшла до редакції 09.06.2017 р.*

## Список использованной литературы

1. Диагностика герпес-вирусных инфекций человека: меморандум совещания ВОЗ. — Бюллетень ВОЗ. — 2001. — Т. 69, № 3. — С. 11-19.
2. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путем. — М.: Мед. лит., 2014. — 281 с.
3. Марченко Л.А., Лушкова И.П., Шуршалина А.В. Лечение больных с рецидивирующим генитальным герпесом // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2004. — Т. 3, № 6. — С. 90-93.
4. Стентон Г. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 463 с.
5. Costello M.T., Sabatini M. et al. Herpes simplex virus infection for current methods for laboratory detection // Clinical Microbiology Newsletter. — 2006. — № 28 (24). — P. 185.
6. Harandi A.M., Svennerholm B., Holmgren J. and Eriksson K. Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 are important in innate defense against genital herpes simplex virus type 2 infection in mice but are not required for the development of acquired  $\gamma$ -interferon-mediated protective immunity // J. Virol. — 2001. — Vol. 75. — P. 6705-6709.
7. Vischer H.F., Siderius M., Leurs R., Smit M.J. Herpesvirus-encoded GPCRs: neglected players in inflammatory and proliferative diseases // Nat. Rev. Drug Discov. — 2014. — Vol. 13. — P. 123-139.

## The experience of application of immunomodulator ERBISOL® ULTRAPharm in patients with genital herpes

**O. Swidro**

### Abstract

It has been established that the prescription of erbisol ultrapharm in the patients with relapses of Herpes simplex infection in complex therapy with acyclovir is a stimulating the spontaneous ability of Th1-cells to IFN- $\gamma$ -production and increase it and LPS-inductory ability of monocytes in respect of IL-12. This therapy helps accelerate early remission (average  $2.7 \pm 0.4$  days) and increase its stability, reducing the number of relapses of 8-12 to 2-3 on the year.

**Keywords:** recurrent herpetic infection, treatment, acyclovir, ERBISOL.