

ИНАКТИВИРОВАННАЯ ДИВАКЦИНА ПРОТИВ ВИРУСОВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1 И 2 ТИПОВ КАК СРЕДСТВО ЭФФЕКТИВНОЙ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ РЕЦИДИВОВ ГЕНИТАЛЬНОГО ГЕРПЕСА

И.Ф. Баринский¹, Ф.Р. Махмудов²

¹НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского МЗ и СР РФ, Москва

²Кафедра кожных и венерических болезней Азербайджанского медицинского университета, Баку

Профилактика рецидивов генитального герпеса инактивированной герпетической дивакциной «Витагерповак» против вирусов простого герпеса 1 и 2 типов имеет ряд преимуществ перед наиболее часто используемой в практике симптоматической терапией: прекращение рецидивов или достоверное сокращение рецидивов и соответственно увеличение продолжительности межрецидивного периода, уменьшение степени проявления клинических симптомов рецидивов, отсутствие привыкания к действующему препарату.

В работе показано преимущество комбинированного применения вакцины «Витагерповак» и иммуномодулятора «Гиаферон» перед вакцинацией. Новая лекарственная форма препарата в виде свечей (*per rectum*) позволяет не только усилить иммуногенность и протективные свойства вакцины, но и сократить кратность ее применения и обеспечить удобство использования больными.

Ключевые слова: вакцина, иммуногенность, профилактика рецидивов, иммуномодулятор

AN INACTIVATED BIVACCINE AGAINST HSV-1, 2 AS A TOOL FOR IMMUNOPROPHYLAXY OF GENITAL HERPES

I.F. Barinsky, F.R. Mahmudov

Prevention of genital herpes recurrences by use of the inactivated vaccine against herpes simplex viruses I and 2 called Vitaherpavac has a number of advantages over the most often applied symptomatic therapy: reduction reinfection or a significant decrease of recurrences and a corresponding prolongation interrecurrences period, the cease of viremia and a decrease the severity of the clinical symptoms, the absence of accommodation to the active preparation.

We studied a combined application of Vitaherpavac and the immunomodulator Hyaferon in comparison with a simple vaccination. The new therapeutic form of the vaccine, suppositories (*per rectum*) allows to not only increase the immunogenicity and the protective properties of the vaccine, but also to lower the frequency of its application and make it more convenient in use.

Key words: vaccine, immunogenicity, prophylaxis of recurrency, immunomodulator

На эффективность коммерческих противогерпетических вакцин влияет ряд обстоятельств, связанных как с качеством вакцин, так и с особенностями герпесвирусной инфекции и со способом применения вакцины [1, 2, 3, 4]. В нашей работе была использована инактивированная формалином дивакцина против вирусов простого герпеса 1 и 2 типов «Витагерповак», которая используется в РФ с 2005 года

как средство профилактики рецидивов герпетической болезни [5].

Материалы и методы

Для вакцинации был отобран 61 больной рецидивирующим генитальным герпесом в возрасте от 21 до 45 лет. Пациенты получали вакцину «Витагерповак» согласно инструкции по применению, в период ремиссии, не ранее 5

дней после последнего рецидива. Курс вакцинации составил 5 внутрикожных инъекций, которые проводили с интервалом в 7-10 дней [5]. Увеличение длительности межрецидивного периода в 3 раза оценивали как значительное улучшение, увеличение ремиссий в 1,5-2 раза – как улучшение. Сокращение длительности рецидивов менее чем в 1,5 раза при сохранившейся частоте обострений расценивалось как отсутствие терапевтического эффекта [1, 4].

Длительность вирусемии оценивали методом ПЦР и в опытах иммунофлуоресцентного исследования мазков крови больных, как описано ранее [1, 4].

Определение относительного содержания показателей популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови.

Фенотипический состав лимфоцитов периферической крови оценивали по наличию мембранных дифференцировочных и активационных антигенов методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к следующим детерминантам: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD22⁺, HLA-DR. Оценивали соотношение, которое показывало величину иммунорегуляторного индекса (ИРИ=CD4⁺/CD8⁺) [2].

Для определения активационного состава Т-клеточного звена иммунитета была исследована экспрессия антигенов HLA-DR⁺.

Для выделения моноклеаров использовали смесь фиколла и верографина с плотностью 1,077 г/мл. Клетки выделяли стандартно центрифугированием венозной гепаринизированной крови. Интерфазный слой снимался и отмывался центрифугированием. Клетки инкубировали в пробирке с 20 мкл рабочего раствора моноклональных антител, после чего отмывали буферным раствором, центрифугировали и добавляли к клеточному осадку флуоресцентный краситель (FITC). Флуоресценцию учитывали под микроскопом ЛЮМАМ ЛБИ-15.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) оценивали методом осаждения полиэтиленгликолем (молекулярная масса 6000) 3% и 4% экспресс-турбометрическим методом, основанным на свойстве полиэтиленгликоля различных концентраций неспецифически преципитировать комплексы антиген-антитело и изменении поглощения света при прохождении его через преципитат.

Динамику общих иммуноглобулинов клас-

сов А, М, G определяли методом радиальной иммунодиффузии с помощью диагностических тест-наборов. Метод основан на измерении диаметра кольца преципитации, образующегося при внесении исследуемой сыворотки в лунки, вырезанные в слое агара с диспергированной в нем специфической антисывороткой.

Количественное содержание цитокинов в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем («Протеиновый контур», Россия).

Тип вторичного иммунодефицитного состояния у больных оценивали в соответствии с классификацией ВОЗ: клеточный, гуморальный, смешанный или комбинированный типы нарушений.

Для оценки нарушений иммунной системы использовали универсальный метод оценки иммунных расстройств, разработанный Земсковым А.М. (1996). Степень иммунных расстройств для этой цели рассчитывалась по предложенной формуле автора:

Показатель конкретного больного

Показатель, принятый за норму – 1,0×100

В случае получения положительных значений оценивали степень активации (стимуляции) иммунной системы, при отрицательных значениях – степень иммунной недостаточности. Если полученные значения лежат в интервале 1-33% – это соответствует первой (I) степени иммунных расстройств, от 34 до 66% – второй (II) степени иммунных расстройств, в пределах 67-100% и выше – третьей (III) степени иммунных расстройств.

Далее определяли формулу расстройств иммунной системы (ФРИС) и рейтинговый алгоритм, устанавливаемый по величине степени иммунных расстройств.

Результаты и обсуждение

Полученные нами результаты показали, что через 6 месяцев после вакцинотерапии у 19 (31,1%) больных наблюдалось значительное улучшение (увеличение межрецидивного периода в 3 раза), у 35 (57,3%) – улучшение (ремиссия увеличивалась) в 1,5-2 раза и только у 7 (11,6%) терапевтический эффект был слабо выражен или отсутствовал (рис. 1).

При этом, большинство больных (38 человек) прекратили лечение в связи с наступившим улучшением в результате вакцинации. У 52% из них (20 больных) клинические симпто-

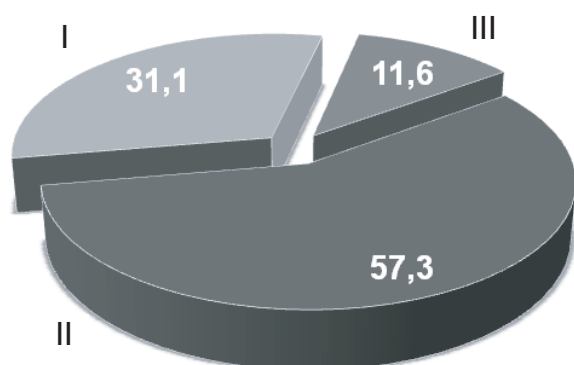


Рис. 1. Результаты вакцинотерапии больных, страдающих рецидивирующим генитальным герпесом.

I – Увеличение продолжительности ремиссии в 3 раза
II – Увеличение продолжительности ремиссии в 1,5-2 раза
III – Эффект слабо выражен

мы рецидивирующего генитального герпеса полностью отсутствовали (рис. 2).

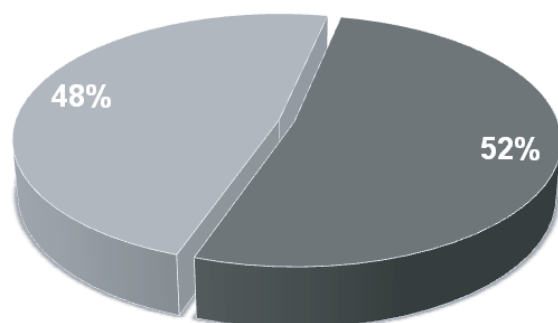


Рис. 2. Результаты лечения больных, страдающих рецидивирующим генитальным герпесом, после регулярной вакцинации

Ни у одного из пациентов не наблюдалось признаков поствакцинальных реакций общего или местного характера сразу после введения вакцины, через 10 дней, а также через 6 месяцев после окончания вакцинации.

Рецидивы болезни после вакцинотерапии наблюдались у 41,0% больных, однако длительность течения рецидивов уменьшилась в среднем с 8 дней (до вакцинотерапии) до 2-3 дней (после вакцинотерапии). При этом рецидивы, возникавшие у больных, получавших «Витагерпавак», носили abortивный характер, были менее продолжительными и характеризовались снижением интенсивности субъективного и объективного симптомокомплекса, продромального периода и клинических симптомов, связанных с вирусемией [2].

У 36 (59,0%) больных генитальным герпесом рецидивов заболевания в течение всего срока

наблюдения (6 месяцев) не было (табл. 1).

Таблица 1

Динамика клинических показателей у больных рецидивирующим генитальным герпесом в ходе вакцинотерапии

Клинические показатели	До вакцинотерапии	После вакцинотерапии
Длительность ремиссии	2 месяца	6 месяцев у 36 (59,0%) пациентов
Частота рецидива	5-10 раз в год	2-3 раза в год
Длительность рецидива	3-8 дней	2-3 дня

Таким образом, согласно современной классификации клинических форм рецидивирующего герпеса [3], новые рецидивы у данных больных можно рассматривать как abortивную форму герпетической инфекции, возникающую на фоне или после применения антигерпетических препаратов.

Результаты иммунологического обследования больных до и после вакцинотерапии представлены в таблице 2. До лечения в группе обследованных больных формула расстройств иммунной систем имела следующий вид: CD3² CD4² CD8¹ CD16² CD22¹⁺ IgA¹⁺ IgM² IgG¹⁺ ЦИК¹⁺ и соответствовала II степени иммунных расстройств. После проведения вакцинотерапии ФРИС у больных рецидивирующим генитальным герпесом выглядела следующим образом: CD3¹⁻ CD4¹⁻ CD8¹⁺ CD16¹⁻ CD22¹⁺ IgA¹⁺ IgM¹⁻ IgG¹⁺ ЦИК¹⁺ и соответствовала I степени иммунных расстройств.

Через 6 месяцев после вакцинации изменения ФРИС носили следующий характер: CD3¹⁻ CD4¹⁺ CD8¹⁻ CD16¹⁻ CD22¹⁺ IgA¹⁺ IgM¹⁻ IgG¹⁺ ЦИК¹⁺ и также соответствовала I степени иммунных расстройств.

Следовательно, вакцина «Витагерпавак» обладает определенным иммунокорригирующим эффектом, снижая степень иммунных расстройств у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией. Вместе с тем, характер изменений ФРИС через 6 месяцев после вакцинации не носил дальнейшей позитивной динамики.

Анализ полученных результатов показал, что после проведения вакцинотерапии имелись достоверные различия ($p < 0,05$) по отношению к

Таблица 2

Динамика показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных рецидивирующим генитальным герпесом при вакцинации

Показатели	Больные (n=61)					Контроль
	До лечения	После вакцинотерапии	ОПП %	Через 6 месяцев после вакцинотерапии	ОПП %	
Т-лимфоциты, % CD3 ⁺	39,5 (38,3 -40,7)*	48,9 (45,4 -52,4) *#	23,7	59,7 (54,1 -65,3) #51,1		66,5 (62,8 -70,2)
Т-хэлперы, % CD4 ⁺	31,0 (29,6 -32,4) *	37,3 (34,1 -40,5) *	20,3	48,1 (45,2 -51,0) #	55,2	46,4 (43,4 -49,4)
Т-супрессоры/ цитотоксические лимфоциты, % CD8 ⁺	29,2 (28,5 -29,9)	29,6 (25,5 -33,7)	1,4	29,0 (25,1 -32,9)	0,6	29,5 (26,7 -32,3)
ИРИ, ед. CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,06 (1,03 -1,08)*	1,26 (1,20 -1,33) *#	18,8	1,65 (1,55 -1,75) #	55,6	1,57 (1,52 -1,62)
Т-лимфоциты/ киллеры, % CD16 ⁺	8,5 (7,7 -9,3) *	12,1 (10,8 -13,4) *#	42,3	14,6 (12,1 -17,1)* #	71,7	17,0 (15,6 -18,7)
В-лимфоциты (CD22 ⁺), %	25,1 (24,5 -25,7)*	25,8 (24,3 -27,3)*	2,7	23,0 (19,9 -26,1)	8,3	20,1 (18,5 -21,7)
IgA, г/л	2,50 (2,35 -2,65)*	2,45 (2,37 -2,53)*	2,0	2,31 (2,24 -2,38) #	7,6	2,24 (2,11 -2,37)
IgM, г/л	0,97 (0,81 -1,07)*	1,33 (1,19 -1,47) *#	37,1	1,65 (1,58 -1,72)* #	70,1	1,76 (1,68 -1,84)
IgG, г/л	16,26 (15,56 -16,97)*	15,32 (13,98 -16,66)*	5,7	13,39 (12,26 -14,52) #	17,6	12,55 (12,34 -12,76)
ЦИК, опт. ед	82,3 (77,4 -87,1)*	74,0 (68,1 -79,9)	10,1	69,2 (60,3 -78,1) #	15,9	64,8 (60,0 -69,6)

* – различия достоверны по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$)

– различия достоверны по сравнению с показателями до лечения ($p < 0,05$)

контрольным значениям и к началу лечения. Вакцина «Витагерпавак» оказывает достоверное воздействие на интерфероновый и интерлейкиновый статус больных рецидивирующим генитальным герпесом, о чем свидетельствуют полученные через 6 месяцев результаты исследования (табл. 3). Вирусемия является обязательным этапом в патогенезе герпетической инфекции. Вирус в крови при острых формах заболевания обнаруживается в продромальном периоде болезни, а также на ее ранних стадиях [1]. При хронических формах герпетической инфекции ВПГ и его антиген могут быть выявляе-

ны в плазме или клетках крови при обострении процесса [4]. С целью изучения влияния вакцинации на динамику вирусемии определяли ее уровень при хронических формах генитальной герпетической инфекции до и после вакцинотерапии. Вирус в крови выявляли методами ПЦР и МФА. В случае сомнительных результатов данные ПЦР подтверждали выделением вируса на чувствительных к ВПГ культурах клеток.

Данные, представленные в таблице 4, свидетельствуют о том, что вакцинация способствует элиминации вируса из крови и, тем самым, прекращению вирусемии.

Таблица 3

Динамика показателей цитокинового статуса у больных рецидивирующим генитальным герпесом при вакцинации

Показатели	Больные (n=61)					Контроль (n=60)
	До лечения	После вакциноотерапии	ОПП %	Через 6 месяцев после вакциноотерапии	ОПП %	
ИЛ-1p, пг/мл	391,9 (384,1-399,7)*	235,1 (216,4-253,8)*#	40,0	70,4 (66,1-74,7) #	82,0	66,7 (59,5-73,9)
ИЛ-2, пг/мл	110,3 (106,0-114,6)*	89,3 (78,7-0,0)**	19,0	50,9 (42,2-59,6) #	53,8	45,5 (42,4-48,6)
ИЛ-4, пг/мл	195,7 (187,4-204,0)*	115,3 (98,1-132,5)**	41,0	27,2 (21,9-32,5)	86,1	23,8 (18,3-29,3)
ИЛ-6, пг/мл	83,1 (80,3-85,9)*	56,5 (48,9-64,1)*"	32,0	22,3 (18,1-26,5) #	73,2	20,4 (15,9-24,9)
ИФНγ, пг/мл	33,5 (32,9-34,1)	53,1 (40,7-65,5)* #	58,5	54,5 (51,7-57,3)**	62,7	40,0 (33,2-46,8)

* – различия достоверны по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$)

– различия достоверны по сравнению с показателями до лечения ($p < 0,05$)

Таким образом, применение инактивированной специфической вакцины «Витагерпавак» у больных рецидивирующим генитальным герпесом не провоцирует рецидивов заболевания, не вызывает аллергических реакций. Этиотропное лечение вакциной «Витагерпавак» имеет ряд преимуществ перед наиболее часто используемой в практике симптоматической терапией: воздействие непосредственно на реакции клеточного иммунитета [1, 3, 4], отсутствие привыкания к действующему веществу, сокращение количества рецидивов, увеличение продолжительности межрецидивного

периода, уменьшение степени проявления клинических симптомов рецидивов, элиминации вируса простого герпеса из крови и прекращение вирусемии. На сегодняшний день перспективным направлением исследований, направленных на повышение лечебной и профилактической эффективности вакцин, является разработка их сочетанного применения с иммуномодуляторами [3].

Учитывая полученные нами ранее данные о снижении ряда показателей иммунного статуса у больных с рецидивирующим генитальным герпесом, нами было проведено сравнительное кли-

Таблица 4

Влияние вакцинации на вирусемию

Группа обследованных	До вакцинации				После вакцинации			
	ПЦР		МФА	Выделение вируса	ПЦР		МФА	Выделение вируса
	лейкоциты	плазма			лейкоциты	плазма		
Больные ГГ	27/5	27/0	27/18	5/5	27/0	27/0	27/4	5/0
Клинически здоровые	18/0	18/0	28/0	-	-	-	-	-

Примечание.

В числителе – число обследованных; в знаменателе – количество положительных результатов.

Прочерк – исследование не проводили.

нико-иммунологическое обследование больных по двум схемам. Пациенты были разделены на две группы, каждой из которых было проведено лечение вакциной «Витагерпавак». Пациентам первой группы (28 больных) назначали вакцину в сочетании с гиафероном. Пациентам второй группы (25 больных) – только вакцину.

Во избежание провокации рецидива нами рекомендуется следующая схема терапии, проводимая в период ремиссии:

- курс гиаферона по 1 суппозиторию 2 раза в день в течение 10 дней;

- на 8-е сутки терапии гиафероном проводят 1-ю инъекцию вакцины «Витагерпавак»; 2-ю и последующие инъекции вакцины «Витагерпавак» назначают с интервалом 7-10 дней.

Эффективность проведенного лечения оценивали по уменьшению длительности и интенсивности клинических проявлений простого герпеса во время рецидивов, по сокращению

продромального периода и болевого синдрома, по увеличению длительности межрецидивного периода до 6 месяцев после начала лечения.

Как видно из таблицы 5, эффективность комбинированной терапии во всех группах была выше, чем при монотерапии. При этом предложенная схема комбинированного лечения на фоне вакцинации позволяет повысить эффективность проводимого лечения и получить выраженный положительный эффект более чем в 95% случаев.

Таким образом, проведенные исследования показали преимущество комбинированного применения вакцины «Витагерпавак» и иммуномодулятора «Гиаферон».

На основе вакцины «Витагерпавак», используемой для внутрикожного введения, нами была разработана свечевая форма вакцины по оригинальной прописи.

Испытуемая вакцина представляет собой

Таблица 5

Результаты комбинированного лечения больных рецидивирующим генитальным герпесом вакциной "Витагерпавак" в сочетании с иммуномодулятором "Гиаферон"

Схема терапии	Противорецидивный эффект					
	Значительное улучшение		Улучшение		Без эффекта	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Витагерпавак + гиаферон (n=28)	21	39,3*	6	57,1	1	3,6*
Витагерпавак (n=25)	7	28,0	14	56,0	4	16,0

* – различия достоверны по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$)

цельновирсионную инаktivированную формалином культуральную вакцину против вирусов простого герпеса 1 и 2 типов в виде свечей, предназначенную для использования в качестве иммунобиологического препарата для профилактики рецидивов герпесвирусной инфекции. Свечевая форма герпетической вакцины имеет стандартные размеры и содержит в жировой основе три дозы лиофилизированной вакцины для парентерального применения.

Для решения вопроса о внедрении в медицинскую практику свечевой формы герпетической вакцины «Витагерпавак» в программу исследования были включены 18 больных рецидивирующим генитальным герпесом. Паци-

енты получали свечевую форму вакцины согласно инструкции по применению (по 2 суппозитории ректально в течение 5 дней).

Программой исследования предусматривалось определение влияния свечевой формы вакцины «Витагерпавак» на клинико-иммунологические показатели больных в процессе вакцинотерапии.

Рецидивы болезни после вакцинации свечевой формой отмечались у 6 (33,3%) больных. Вместе с тем, длительность течения рецидивов уменьшилась с 5-8 дней до вакцинации до 2-3 дней после вакцинации, что было сравнимо с данными, полученными при использовании сухой инаktivированной вакцины. У 11 больных

(61,1%) рецидивов заболевания в течение 6 месяцев после вакцинации не отмечалось (табл. 6).

Таким образом, новая технология производства лекарственной формы вакцинного препарата в виде свечей (*per rectum*) в отличие от уже существующих герпетических культуральных инактивированных поливакцин позволяет не

только усилить иммуногенность и протективные свойства вакцины, но и сократить кратность ее применения при одновременном повышении лечебно-профилактических свойств, снижении риска парентерального инфицирования вирусами СПИД, гепатита В и С, обеспечить удобство использования.

Таблица 6

Динамика клинических показателей

Клинические показатели	Сухая инактивированная вакцина «Витагерпавак» (n=61)		Свечевая форма вакцины «Витагерпавак» (n=18)	
	До вакцинации	После вакцинации	До вакцинации	После вакцинации
Длительность ремиссии	2 месяца	6 месяцев у 36 (59,0%) пациентов	2 месяца	6 месяцев у 11 (61,1%) пациентов
Частота рецидива	5-10 раз в год	2-3 раза в год	5-10 раз в год	2-3 раза в год
Длительность рецидива	3-8 дней	2-3 дня	5-8 дней	2-3 дня

Резюмируя полученные данные необходимо еще раз отметить, что лечение больных рецидивирующей генитальной герпесвирусной инфекцией представляет сложную задачу, требует дифференцированного подхода, который определяется клинической формой заболевания, тяжестью его течения, возрастом пациента, наличием сопутствующей патологии [2, 3].

В связи с этим, одним из методов лечения и профилактики рецидивов генитальной герпесвирусной инфекции является вакцинация современным вакцинным препаратом «Витагерпавак», а свечевая форма этой вакцины по результатам нашего исследования обладает хорошей переносимостью и выраженной лечебной эффективностью.

Литература:

1. Баринский И.О., Шубладзе А.К., Каспаров А.А., Ребенюк В.Н. Герпес (Этиология, диагностика, лечение). М, 1986, 270 стр.
2. Самгин М.А., Халдин А.А. Простой герпес (дерматологические аспекты) М., 2002, 160 стр.
3. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпес-вирусная инфекция человека. С-Пб. 2006, 304 стр.
4. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Давыдова А.А. с соавт. Механизм лечебного эффекта герпетической поливакцины при хронической герпетической

инфекции – Герпес (приложение к "Российскому журналу кожных и венерических болезней"), 2007, 2, стр. 20-24.

5. Вакцинопрофилактика. Иммунизация вакциной "Витагерпавак" (герпетическая культуральная инактивированная сухая) для профилактики рецидивов инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типов. Методические рекомендации МР 3.3.1. 0002-10. Издание официальное. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации, Москва. 2010. 12 стр.

Информация об авторах:

Баринский Игорь Феликсович – руководитель лаборатории сравнительной вирусологии ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Иванковского МЗ и СР РФ, д.м.н., профессор. Москва 123098, ул. Гамалеи 16, тел. 499 190 3048. E-mail barinsky@mail.ru

Махмудов Фарид Рифат – профессор кафедры кожных болезней Азербайджанского медицинского института, д.м.н. Тел. +994 12 597 27 92. E-mail fariddoc@mail.ru