

На правах рукописи

СЕРГЕЕВА НАТАЛЬЯ СЕРГЕЕВНА

**ОСОБЕННОСТИ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО
ГЕНИТАЛЬНОГО ГЕРПЕСА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО
ВОЗРАСТА**

14.01.10 - кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва - 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор

Тищенко Андрей Леонидович

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук,
профессор

Гомберг Михаил Александрович

ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения г. Москвы», главный научный сотрудник

доктор медицинских наук,
доцент

Чернова Надежда Ивановна

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, профессор кафедры кожных и венерических болезней

Ведущая организация:

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Защита диссертации состоится «__» _____ 2018 г. в 15.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.26 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10/2

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационном центре (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.
Автореферат размещен на сайте <http://dissovet.rudn.ru>

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.203.26,
кандидат медицинских наук **Баткаева Надежда Владимировна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность исследования. На современном этапе герпетическая инфекция является одной из наиболее распространенных и социально значимых вирусных инфекций человека в мире. По оценке ВОЗ в 2015 году 67% населения в мире в возрасте до 50 лет были инфицированы вирусом герпеса I типа. Согласно данным американских исследователей, около 30 млн взрослых в США страдают генитальным герпесом и каждый год регистрируется еще примерно 500 тысяч новых случаев заболевания [M. Groves 2016; J. Jin, 2016; R. Winer, 2006; K. Workowski, 2010].

В силу пожизненной персистенции вируса герпеса в организме человека, высокого процента формирования рецидивирующих форм инфекции, а также торпидности к существующим методам лечения, генитальный герпес занимает одно из ведущих мест среди инфекций, передающихся половым путем. Как следствие, за последние годы в клинической практике значительно увеличилось число больных, страдающих хроническими, часто рецидивирующими формами герпетической инфекции, которые сопровождаются определенными нарушениями иммунного статуса и трудно поддаются лечению [И.О. Боровиков и др., 2016; О.И. Сидорович и др., 2016; А.А. Халдин, 2013; С. Johnston et al., 2016].

Генитальный герпес представляет серьезную медико-социальную проблему для женщин репродуктивного возраста, поскольку при длительном течении инфекции вирус оказывает многостороннее иммуносупрессивное воздействие. Герпетическая инфекция может приобретать крайне тяжелые формы на фоне снижения иммунной защиты организма, в том числе и физиологического, как это происходит во время беременности. Рецидивы герпеса во время беременности могут привести к выкидышам, преждевременным родам, патологии плода и новорожденного, что имеет особое значение для женщин репродуктивного возраста [Л.А. Марченко и др., 2011; С.А. Масюкова и др., 2010; K. Kato et al. 2015].

Обострения генитального герпеса могут способствовать развитию хронических воспалительных заболеваний мочеполовой системы, а при длительном течении увеличивать риск развития рака шейки матки [Л.А. Марченко и др., 2009; С.А. Масюкова и др., 2010].

Нельзя не отметить нарушения психоэмоциональной сферы, особенно при генитальном герпесе тяжелого течения, сопровождающегося частыми рецидивами. Вызывает беспокойство не только физическое, но и психологическое, социальное воздействие герпеса на жизнь больных женщин. Снижение самооценки, депрессия, проблемы в личной жизни и многое другое значительно снижают качество жизни, которому в последние годы уделяется особое внимание [Д.К. Ермоленко и др., 2013; В.А. Исаков и др., 2015; В.В. Подольский и др., 2014; P. Hsu et al. 2016]. На основании вышеизложенного, лечение рецидивирующего герпеса у женщин репродуктивного возраста по-прежнему является актуальной задачей, в частности, проблема выбора эффективного метода терапии с учетом особенностей физиологии женского организма.

Степень разработанности темы исследований. Противовирусные химиопрепараты широко применяются в практическом здравоохранении в качестве эпизодической или длительной супрессивной терапии монопрепаратом или в составе комплексного лечения. Они избирательно подавляют процессы репликации вируса герпеса, что приводит к состоянию клинической ремиссии, однако эти препараты практически не влияют на частоту рецидивирования, в том числе при устойчивости к тимидинкиназе. По данным Борисова И.В. «монотерапия ациклическими нуклеозидами во многих случаях не позволяет сохранить состояние клинической ремиссии у больных на длительный период времени. Частые рецидивы герпесвирусной инфекции определяют необходимость совершенствования патогенетического лечения, а комплексный терапевтический подход может в значительной степени повысить клиническую эффективность лечебных мероприятий у больных герпетической инфекцией» [И.В. Борисов, 2007; В.А. Исаков и др., 2015; Е.П. Турова и др., 2014; С. Vombatch et al. 2016, J.Cohen 2017]. В связи с этим, перспективным является внедрение в привычные стандарты комплексного лечения, включающего ациклические нуклеозиды и различные иммуномодуляторы, дополнительных средств специфической иммунизации, применяемых с лечебной и профилактической целью, а именно вакцин. [И.Ф. Баринский и др., 2015; Т.И. Долгих и др., 2014].

По мнению ряда авторов, герпетические вакцины и иммуномодуляторы способны смещать иммунологическое равновесие в сторону Т-хелперов

первого порядка, повышать синтез ИЛ-2, интерферона гамма и вызывать значительное ослабление Th2-опосредованных иммунных процессов, что является значимым в терапии вирусных инфекций [Д.К. Ермоленко и др., 2013; Л.Г. Зайцева и др., 2012].

Отношение к применению герпетической вакцины в терапии герпесвирусной инфекции неоднозначно. По некоторым данным, эффективность применения вакцины оценивается как невысокая, а попытки вакцинации по стандартным методикам малоэффективны или вообще не дают результата. В тоже время другие авторы изучали сравнительную клиническую и иммунологическую эффективность успешного применения вакцины в комплексной терапии герпетической инфекции у мужчин и не обнаружили существенных различий при оценке лабораторных параметров сывороточной крови при парентеральном и местном ее применении [И.Ф. Баринский и др., 2014]. Принимая во внимание положительные результаты использования герпетической вакцины в свечевой форме, представляется перспективным клиническое исследование факторов местного иммунного ответа, что до настоящего времени не было изучено.

При анализе литературных источников стало известно об успешном применении герпетической вакцины у женщин с тяжелой формой генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования. Авторы рекомендовали сочетанную терапию рецидивов герпеса при использовании двухэтапной аллергометрической методики применения вакцины, основанной на индивидуальном подборе доз и доказали ее преимущество перед стандартным лечением [Ермоленко Д.К., 2011; В.А. Исаков и др., 2015].

Важным фактором иммунной защиты против герпеса является раннее подавление репликации вируса, уже в первые часы после инфицирования, осуществляемое макрофагами, активность которых, в свою очередь, определяется состоянием лизосомного аппарата и локализованных в нем ферментов. Учитывая способность макрофагов к фагоцитозу вируса герпеса, являющегося внутриклеточным патогеном, перспективной задачей является изучение фагоцитарной активности макрофагов, а именно способности к захвату антигена, активности лизосомного аппарата, в частности лизосомального фермента катепсина Д [Л.Г. Зайцева и др., 2017; V. Stoka, 2016, M. Szymczak, 2016, C. Zhao et al., 2016]. В экспериментах по иммунизации

мышей чувствительной и устойчивой к ВПГ линий, была показана важность изучения состояния лизосомного аппарата, локализованных в нем ферментов, а также факторов, которые осуществляют раннюю неспецифическую противовирусную защиту [Л. Г.Зайцева и др., 2017; И.В. Матвеева и др., 2016]. Несомненна связь этих факторов с уровнем эстрадиола, поскольку в научной литературе есть данные о влиянии эстрогенов на дифференцировку Т клеточного ответа и регуляцию презентации антигена [Ch. Kaushic et al., 2003; C. Wira et al., 2000]. Изучение факторов естественной резистентности на слизистых оболочках урогенитального тракта у женщин важно для понимания локальных механизмов развития противовирусной защиты на слизистых в месте внедрения вируса. Эти факторы, находящиеся под гормональным контролем, до сих пор не были изучены.

Цель исследования

Оптимизация комплексного лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста с учетом состояния компонентов местной иммунной защиты влагалища и фазы менструального цикла.

Задачи исследования

1. Выявить клинико-эпидемиологические особенности рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста.
2. Определить особенности барьерных функций слизистой оболочки влагалища и цитокинового профиля вагинального секрета у женщин с рецидивирующим течением генитального герпеса в соответствии с фазами менструального цикла.
3. Обосновать возможность взаимосвязи между фазами менструального цикла и эффективностью противовирусной терапии, интерферонотерапии и вакцинотерапии при генитальном герпесе у женщин на основе иммунологических параметров.
4. Разработать алгоритм реализации оптимизированной системы диагностических и лечебных мероприятий при рецидивирующем генитальном герпесе у женщин репродуктивного возраста с учетом фаз менструального цикла.
5. Доказать клинико-психологическую эффективность лечения генитального герпеса у женщин, оптимизированного в соответствии с фазами

менструального цикла и иммунологическими критериями.

Научная новизна

В процессе выполнения исследований впервые:

- Клинически и лабораторно апробирована гипотеза о взаимосвязи эффективности комплексного лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста с фазами менструального цикла и состоянием местного иммунитета.

- Получены данные, касающиеся диагностической ценности лизосомального фермента катепсина Д для оценки барьерных функций слизистой оболочки вагинальной полости женщин при рецидивирующем генитальном герпесе и зависимости его активности от фазы менструального цикла.

- Установлены особенности цитокинового профиля и уровня интерферонов в вагинальных смывах здоровых женщин и женщин с рецидивирующим генитальным герпесом в разные фазы менструального цикла.

- Отобраны лабораторные критерии, характеризующие взаимосвязь между фазами менструального цикла и состоянием иммунной защиты слизистой оболочки влагалища у женщин с рецидивирующим генитальным герпесом.

- Предложен алгоритм диагностики и оптимизированной комплексной терапии рецидивирующей герпетической инфекции гениталий у женщин с учетом фаз менструального цикла и состояния иммунной защиты слизистой оболочки влагалища.

- На основе информативных лабораторно-иммунологических критериев разработаны показания для поэтапного проведения терапии рецидивирующего генитального герпеса у женщин в соответствии с фазами менструального цикла.

- Показана клиничко-психологическая эффективность оптимизированной в соответствии с фазами менструального цикла схемы комплексного лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы связана с получением клиничко-лабораторного обоснования для гипотезы о взаимосвязи эффективности применения лечебных препаратов противовирусного и иммуностропного

действия при рецидивирующем генитальном герпесе у женщин репродуктивного возраста с фазами менструального цикла и состоянием иммунной защиты слизистой оболочки влагалища.

Практическая значимость работы определяется разработкой оптимизированной схемы противорецидивной терапии генитального герпеса и показаний для сроков ее проведения в соответствии с фазами менструального цикла, оценки ее эффективности и возможность коррекции на основе показателей иммунной защиты слизистой оболочки влагалища, что может быть особенно актуально при непереносимости аналогов нуклеозидов. Все особенности реализации оптимизированной схемы лечения нашли отражение в алгоритме диагностики и лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста.

Положения, выносимые на защиту

1. Особенности клинического течения рецидивов при генитальном герпесе у женщин репродуктивного возраста и состояние иммунной защиты слизистой оболочки влагалища связано с фазами менструального цикла.

2. Информативные показатели состояния иммунной защиты слизистой оболочки влагалища могут служить обоснованием и показанием к проведению поэтапного противорецидивного лечения генитального герпеса в соответствии с фазами менструального цикла.

3. Оптимизированная в соответствии с фазами менструального цикла схема лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста обладает выраженной клинической эффективностью и улучшает качество жизни пациенток.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Полученные результаты были доложены на:

- 4-ом Международном Медицинском Конгрессе общества русскоговорящих докторов Иордании. Амман, 2-4 октября 2013 г.
- IV Московском форуме «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики». Москва, 15-17 октября 2014 г.

- Весенней сессии XXII- го Междисциплинарного симпозиума «Новое в дерматовенерологии, косметологии, гинекологии, андрологии». Москва, 16-18 марта 2016 г.

- Научно-практической конференции «Актуальные вопросы терапии и профилактики герпесвирусных инфекций» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ. Москва, 31 мая 2016 г.

- Научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии», посвященной 20-летию ФПКМР МИ РУДН» МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Москва, 2 декабря 2017 г.

По результатам диссертационных исследований опубликованы 6 работ, в том числе 3 статьи в журналах из перечня, рекомендованного ВАК РФ, и 1 методические рекомендации.

Степень достоверности исследований устанавливалась статистическими методами, а также путем контроля эффективности предлагаемого метода лечения рецидивирующего генитального герпеса. Автор лично принимала участие в формировании групп исследования, сборе и обработке материала на всех этапах выполнения работы, ее написании, докладах и публикациях по полученным результатам.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования используются в практической деятельности отделения дерматовенерологии и дерматоонкологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», а также в учебном процессе кафедры кожных и венерических болезней ФПКМР РУДН. С участием Сергеевой Н.С. подготовлены и изданы методические рекомендации «Иммунизация вакциной «Витагерпавак» (герпетическая культуральная инактивированная сухая) для профилактики рецидивов инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типов. Результаты исследования использованы при подготовке лекционного курса по теме «Герпесвирусные инфекции кожи и слизистых» на кафедре кожных и венерических болезней ФПКМР РУДН.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы по материалам и методам исследования, 3 глав собственных исследований, заключения и обсуждения, выводов, практических рекомендаций, 2-х приложений и списка литературы,

содержащих 107 отечественных и 108 зарубежных авторов. Диссертация изложена на 123 страницах компьютерного текста и включает 17 таблиц и 21 рисунок.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Объем, характер и методы проведенных исследований

Исследования проводились на клинических базах кафедры кожных и венерических болезней медицинского факультета РУДН в период с 2006 по 2016 годы, где было обследовано и пролечено 70 больных женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим герпесом гениталий тяжелого течения, составившими основную группу исследования. В качестве контроля было обследовано 120 здоровых женщин репродуктивного возраста. Все обследованные являлись жителями города Москва.

Диагностика герпетической инфекции осуществлялась на основании клинических данных, результатов полимеразной цепной реакции, определения специфических IgM- и IgG-антител к ВПГ-1 и ВПГ-2.

При клиническом исследовании у всех больных уточнялись и анализировались данные анамнеза (давность заболевания, частота рецидивов заболевания, наличие соматической отягощенности). Проводился анализ динамики клинической симптоматики: прекращение свежих высыпаний, исчезновение болезненности, начало инволюции кожных высыпаний.

Проводился мониторинг маркеров ранней фазы иммунной защиты в вагинальных клетках в течение менструального цикла. Вагинальные смывы получали посредством обработки влагалища 20 мл физиологического раствора с 7 по 28 день менструального цикла. Клеточный осадок отделяли центрифугированием при 1200 об/мин. в течение 10 минут для определения катепсина Д и фиксации антигена. В полученном вагинальном секрете определяли концентрацию провоспалительных цитокинов (ИЛ 1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-4), а также интерферонов α и γ . Количественное определение цитокинов проводили методом твердофазного ИФА с использованием моноклональных антител коммерческих тест-систем («Протеиновый контур», Россия).

Осуществление комплексного медико-психологического исследования

пациентов с рецидивирующим генитальным герпесом заключались в использовании краткого общего опросника оценки статуса здоровья - SF-36.

Препараты, использованные в схемах назначений:

1. Валацикловир - по 500 мг 2 раза в сутки, продолжительность лечения 5 дней.

2. Гиаферон (действующее вещество - рекомбинантный человеческий альфа 2в -интерферон 500 000 МЕ, гиалуроновая кислота), суппозитории ректальные. Рекомендуемая схема предусматривает использование свечевой формы 2 раза в сутки, продолжительность лечения 10 дней.

3. Витагерпавак, сухая инактивированная культуральная поливакцина против ВПГ-1 и ВПГ-2. Вакцина применяется в стадии ремиссии после полного исчезновения клинических проявлений. Препарат вводят внутрикожно в область внутренней поверхности предплечья с помощью шприца в разовой дозе 0,2 мл. Курс вакцинации при герпетической инфекции кожи и слизистых состоит из 5 инъекций, которые проводят с интервалом в 7 дней. Через 6 месяцев проводили повторный курс вакцинации (5 инъекций).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ SPSS, версия 21. Сравнительная статистика частотных данных осуществлялась с применением однофакторного дисперсионного анализа (ONE WAY ANOVA). Метод основан на определении критерия Фишера (F) для распределения данных между группами исследования и вероятности различий по распределению частотных данных (p). Сравнительная статистика количественных показателей осуществлялась непараметрическим способом (данные не давали нормального распределения) с определением критерия Манна-Уитни и его вероятности (p). Достоверность различий устанавливалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первая задача исследования предусматривала выявление клинико-эпидемиологических особенностей рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста.

Наиболее характерным признаком заболевания было развитие рецидивов, анализ частоты которых у больных рецидивирующим генитальным герпесом показал, что 57% больных имели от 1 до 4 рецидивов, а 43% больных - от 5 до 10 рецидивов в год. Была отмечена зависимость частоты рецидивов в год от типа ВПГ.

Ведущим признаком развития рецидива, помимо симптомов интоксикации, было появление высыпаний. При этом наиболее часто локализация пузырьковых высыпаний у обследованных пациенток была в области больших половых губ, малых половых губ, реже - на кожных покровах перианальной зоны.

Разносторонний анализ клинических признаков рецидивирующего генитального герпеса у женщин выявил, что к числу особенностей развития рецидивов относится их связь с типом вирусного возбудителя (чаще при ВПГ-2), а также с менструальным циклом. В частности, зарегистрирована достоверно более высокая частота клинических проявлений в лютеальную фазу цикла.

Следующая задача исследования заключалась в определении особенностей барьерных функций слизистой оболочки влагалища и цитокинового профиля вагинального секрета у женщин с рецидивирующим течением генитального герпеса в соответствии с фазами менструального цикла.

Изучение состояния местных барьерных функций слизистой оболочки влагалища как в норме, так и в условиях ремиссии генитального герпеса после рецидива проводилось в соответствии с отдельными фазами менструального цикла.

Так, исследованию на уровень активности катепсина Д подвергался пул вагинальных клеток, а результат оценивался в виде тирозинового эквивалента (мкг тирозина в 0,2 мл исследуемой клеточной суспензии) и выражался в единицах активности (ЕА). У здоровых женщин максимальное повышение активности этого лизосомального фермента достигалось в период 9-12 дня менструального цикла и совпадало по времени с пиком продукции эстрогенов в ходе фолликулярной фазы менструального цикла. В остальные периоды ферментативная активность этого белка колебалась в очень небольших пределах на относительно невысоком уровне.

У больных рецидивирующим герпесом с локализацией в гениталиях с самого начала имелась тенденция к более высоким значениям активности катепсина Д, но вначале она не носила достоверного характера. Только с 13 дня по 22 день менструального цикла, то есть с периода овуляции вплоть до поздней секреторной фазы, активность катепсина Д в 3,1-3,7 раза начинала превышать таковую у здоровых людей, достигая максимума на 19-22 день менструального цикла (рисунок 1).

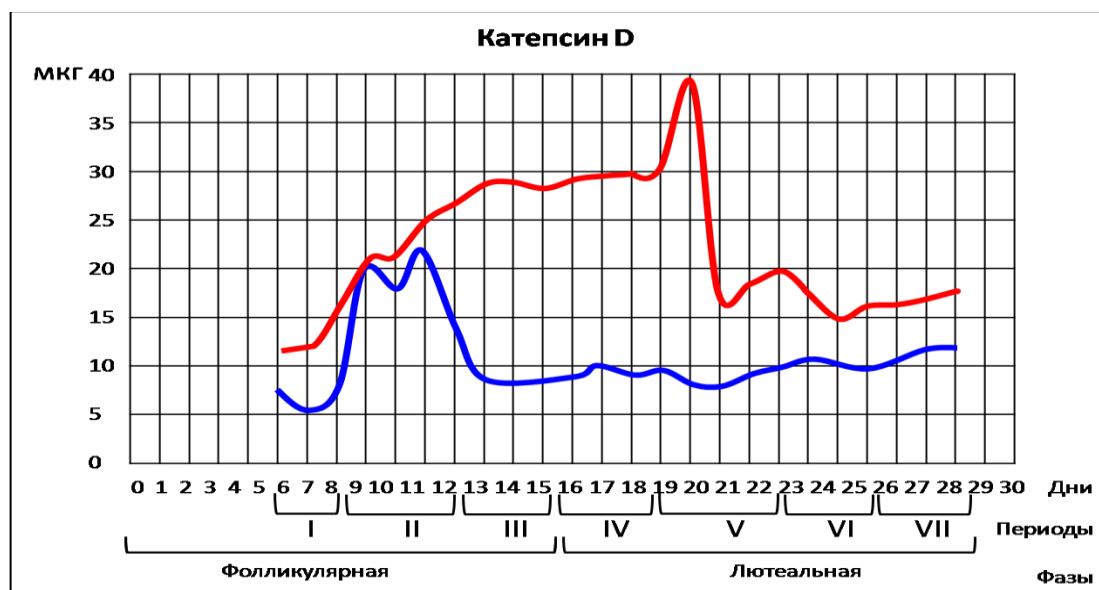


Рис. 1. Динамика изменений активности катепсина Д в клетках слизистой оболочки влагалища по дням менструального цикла у больных рецидивирующего генитального герпеса и у здоровых женщин

Далее изучалась адгезивная способность клеток слизистой оболочки влагалища по отношению к бактериальной взвеси в соответствии с фазами менструального цикла. Уровень захвата бактерий определяли после 45-минутной инкубации клеток с вакциной и выражали в импульсах/минуту в 0,2 мл клеточной суспензии. У здоровых женщин при изучении способности к захвату антигена клетками вагинального пула было показано отсутствие достоверных изменений со стороны этого параметра в течение менструального цикла. У больных рецидивирующим генитальным герпесом показатели адгезивной активности клеток влагалища были несколько выше, но достоверных различий с группой контроля не проявляли.

Вычислялся также индекс активности (ИА) клеток слизистой оболочки влагалища, который определяли как соотношение активности катепсина Д к уровню захвата антигена. Его динамика во многом напоминала динамику катепсина Д, но уступала последнему по степени выраженности.

Планом исследования предусматривалось также определение в вагинальном секрете уровней ИФНа и ИФН γ как у здоровых женщин, так и у больных рецидивирующим генитальным герпесом в соответствии с фазами менструального цикла (рисунки 2 и 3).



Рис. 2. Динамика изменений ИФНа в вагинальном секрете по дням менструального цикла у больных рецидивирующим генитальным герпесом и у здоровых женщин

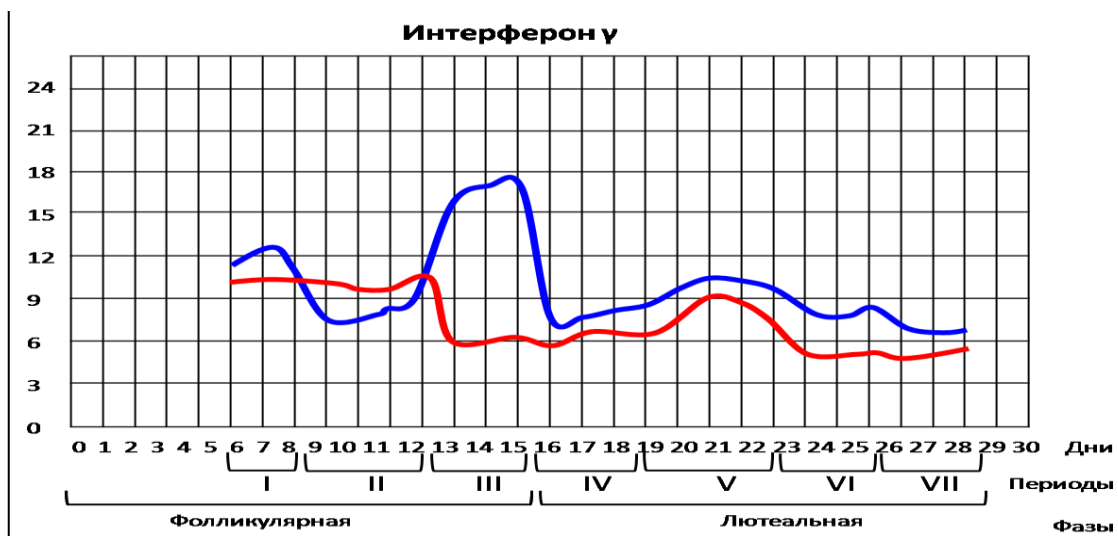


Рис. 3. Динамика изменений ИФН γ в вагинальном секрете по дням менструального цикла у больных рецидивирующим генитальным герпесом и у здоровых женщин

Было показано, что динамика интерферонов I и II типа в соответствии с менструальным циклом примерно совпадали как у здоровых женщин, так и у больных рецидивирующим генитальным герпесом. В то же время имелись достоверные различия в этих показателях у больных и здоровых женщин, которые регистрировались на 13-15 день менструального цикла, то есть в период овуляции. У здоровых женщин в этот период наблюдался пик уровня ИФНа, содержание которого в вагинальном секрете возросло в 1,6 раза, а

затем, начиная с 16-го дня, возвращалось к исходным значениям. У женщин с рецидивирующим генитальным герпесом в целом уровень ИФНа был ниже, чем в контрольной группе, не происходило и значительного прироста его уровня в период овуляции. Примерно аналогичную динамику у здоровых женщин имел и уровень ИФН γ .

Содержание в вагинальном секрете противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) имело некоторые общие черты. У здоровых женщин был очень характерен отрицательный пик в содержании всех трех цитокинов, который наблюдался в период овуляции. Для интерлейкина-8 как хемокина динамика изменений в ходе менструального цикла была выражена более отчетливо (рисунок 4).

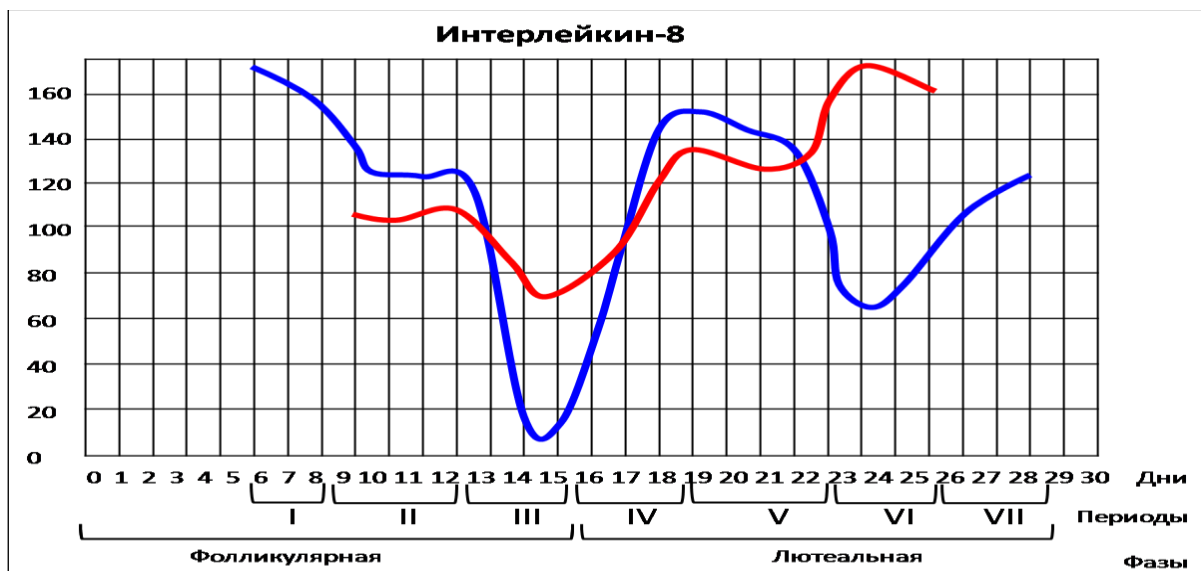


Рис. 4. Динамика изменений ИЛ-8 в вагинальном секрете по дням менструального цикла у больных рецидивирующим генитальным герпесом и у здоровых женщин

Аналогичным изменениям подвергался и такой противовоспалительный цитокин как ИЛ-10 (в меньшей степени ИЛ-4), то есть по мере роста уровней провоспалительных цитокинов возрастал и их контроль.

Полное соответствие динамики провоспалительных и противовоспалительных цитокинов показывает, что рост провоспалительного потенциала не связано с нарушением его контроля, а имеет другие причины, к числу которых, возможно, принадлежат гормональные сдвиги в лютеальную фазу менструального цикла

В целом следует подчеркнуть, что в фолликулярную фазу менструального цикла вплоть до овуляции защитные реакции слизистых оболочек у женщин с герпетической инфекцией и здоровых женщин примерно совпадают.

В период овуляции наиболее характерным сдвигам подвергается интерфероновый статус, при этом содержание ИФНа и ИФН γ , участвующих в формировании адекватной иммунной реакции на вирусную инфекцию, при рецидивирующем генитальном герпесе не претерпевает характерного нарастания, как у здоровых женщин, и остается на низких значениях.

В лютеальную фазу менструального цикла у больных с генитальным герпесом на ранних этапах регистрируется снижение барьерных функций на фоне предполагаемого роста антигенной нагрузки, маркером которого служит достоверное нарастание активности катепсина Д.

На поздних стадиях лютеальной фазы (так называемый поздний секреторный период) ведущим местным иммунологическим проявлением у женщин, страдающих рецидивирующим генитальным герпесом, служит высокий уровень провоспалительных цитокинов (особенно, ИЛ-8), который не подвергался эффективному контролю со стороны противовоспалительных цитокинов, несмотря на их высокое содержание в вагинальном секрете.

Третья задача исследования была посвящена обоснованию возможности взаимосвязи между фазами менструального цикла и эффективностью противовирусной терапии, интерферонотерапии и вакцинотерапии при генитальном герпесе у женщин на основе иммунологических параметров.

Влияние противовирусной терапии на лабораторно-иммунологические критерии взаимосвязи рецидивирующего генитального герпеса и фаз менструального цикла у женщин были рассмотрены на примере валацикловира — препарата, действующее вещество которого в организме человека быстро и почти полностью превращается в ацикловир, который после фосфорилирования приобретает противовирусную активность.

Данные, полученные после 5-дневного использования препарата, показали, что проведение противовирусной терапии на примере валацикловира в относительно малой степени сказывалось на изменениях показателей барьерных и иммунных функций слизистой оболочки влагалища, характерных для рецидивирующего генитального герпеса в соответствии с фазами и периодами менструального цикла.

Это обстоятельство позволяет предположить опосредованное воздействие противовирусной терапии на местный иммунитет и отсутствие необходимости

связывать сроки проведения противовирусной терапии с менструальным циклом.

В качестве препарата интерферона α 2b в наших исследованиях использовался гиаферон в свечевой форме. Курс интерферонотерапии проводился в течение 10 дней в период ремиссии. Часть женщин начинали применять гиаферон в срок, предшествующий периоду падения уровней интерферонов - на 9-12 день менструального цикла, а часть женщин для сравнения - на 19-22 день.

Влияние интерферонотерапии на показатели местных защитных реакций в соответствии с фазами и периодами менструального цикла было выражено в значительно большей степени, чем при противовирусной терапии. В целом прием препарата интерферона α 2b повышал уровень ИФНа (в меньшей степени ИФН γ) в вагинальном секрете в период овуляции, но только при назначении на 9-12 день менструального цикла, чего не наблюдалось при назначении препарата на 19-22 день.

Довольно значительные изменения в процессе интерферонотерапии претерпевала активность катепсина Д. Содержание этого лизосомального белка в клеточном пуле влагалища при назначении препарата интерферона только на 9-12 день менструального цикла достоверно падало и приближалось по значениям к контролю.

Начало интерферонотерапии на 9-12 день приводило также к более значительному, чем при назначении на 19-22 день, нарастанию уровня ИЛ-4, связанному с индукцией гуморального иммунного ответа. В качестве препарата для вакциноотерапии рецидивирующего генитального герпеса использовался витагерпавак - сухая инактивированная культуральная поливакцина против ВПГ-1 и ВПГ-2 для внутрикожного введения.

Учитывая тот факт, что высокая активность катепсина Д может способствовать разрушению антигенов вакцины, при анализе данных их группировка проводилась по 2-м факторам - периоду менструального цикла и активности катепсина Д, достоверно различающегося в группах женщин, получивших интерферонотерапию на 9-12 день менструального цикла (низкая активность) и на 19-22 день (высокая активность).

Анализ проводился по четырем категориям женщин с рецидивирующим генитальным герпесом, получившим противовирусную терапию

валацикловиrom в период рецидива, интерферонотерапию и последующую вакцинацию в разные периоды менструального цикла:

(1) женщины с началом интерферонотерапии на 9-12 день менструального цикла и вакцинации на 9-12 день;

(2) женщины с началом интерферонотерапии на 9-12 день менструального цикла и вакцинации на 19-22 день;

(3) женщины с началом интерферонотерапии на 19-22 день менструального цикла и вакцинации на 9-12 день;

(4) женщины с началом интерферонотерапии на 19-22 день менструального цикла и вакцинации на 19-22 день.

При всех способах применения иммунобиологических препаратов для предупреждения рецидивов генитального герпеса были получены достоверные сдвиги по большинству изучаемых параметров. Наиболее информативными с этой точки зрения были: активность катепсина Д, уровни ИЛ-8 и ИЛ-4. В то же время среди всех категорий женщин с отклонением их параметров по периодам менструального цикла наиболее близкую реакцию по соответствию контрольным значениям показал вариант, при котором начало интерферонотерапии приходилось на 9-12 день, а начало вакцинации - на 19-22 день менструального цикла (рисунок 5).

Помимо связи с периодом менструального цикла, вся совокупность полученных данных позволила определить иммунологические показания к началу интерферонотерапии:

- активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалища - выше 20 единиц активности с 13-го по 22-й дни менструального цикла;

- уровень ИФНа в вагинальном секрете - ниже 30 ЕД/мл.

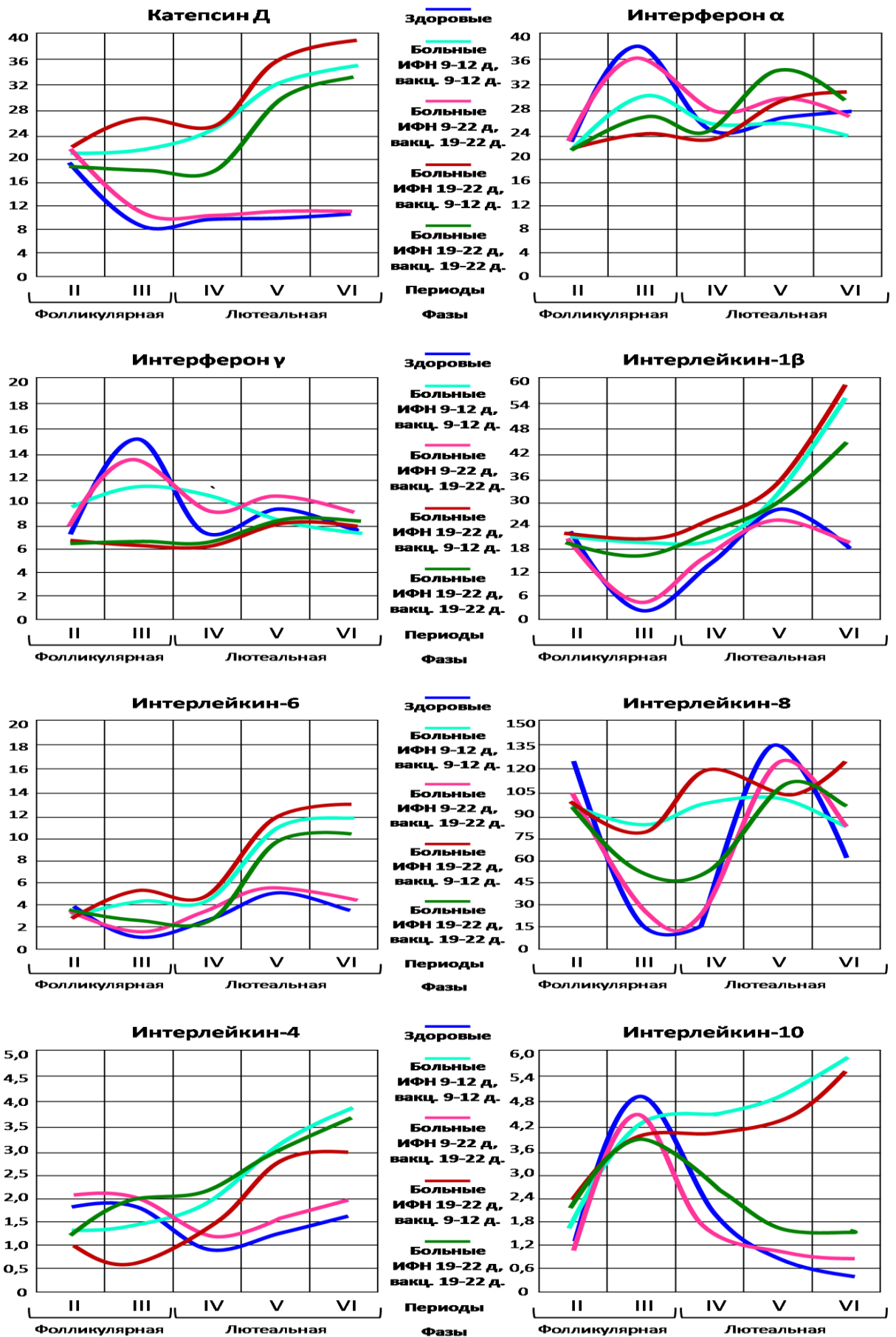


Рис. 5. Динамика показателей вагинального секрета по периодам менструального цикла у здоровых женщин и больных рецидивирующим генитальным герпесом до и после лечения

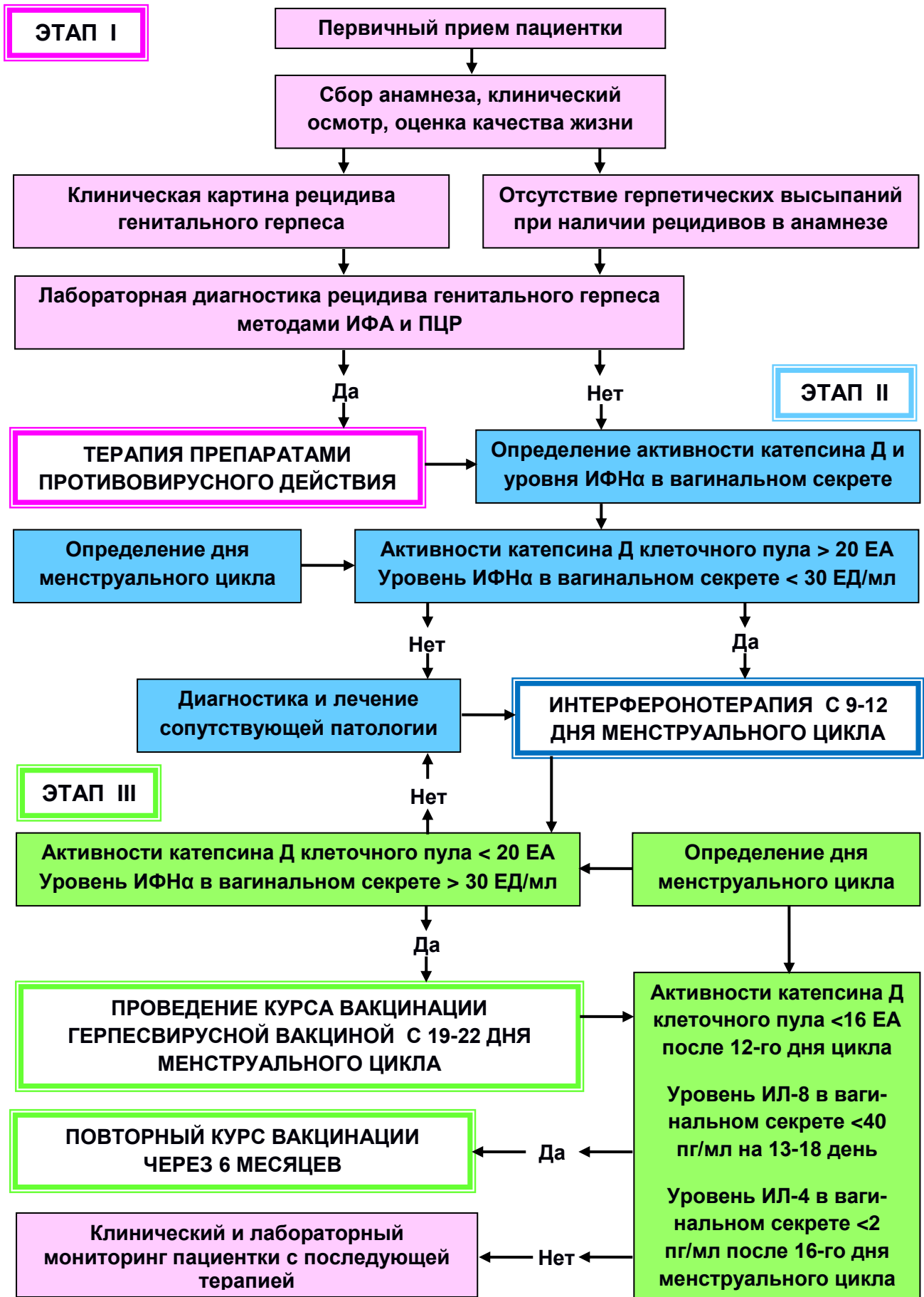


Рис. 6. Алгоритм диагностики и лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста

Для определения эффективности интерферонотерапии и показаний к началу вакцинации рекомендуется следующий набор лабораторных критериев:

- активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалища - ниже 20 единиц активности после 12-го дня менструального цикла;

- уровень ИФНа в вагинальном секрете - выше 30 ЕД/мл после 12-го дня менструального цикла.

Для определения эффективности вакцинации получен следующий набор лабораторных критериев:

- активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалища - ниже 16 единиц активности после 12-го дня менструального цикла;

- уровень ИЛ-8 в вагинальном секрете - ниже 40 пг/мл с 13-го по 18-й день менструального цикла;

- уровень ИЛ-4 в вагинальном секрете - ниже 2 пг/мл после 16-го дня менструального цикла.

На основании всей совокупности данных был разработан алгоритм реализации оптимизированной системы диагностических и лечебных мероприятий при рецидивирующем генитальном герпесе у женщин репродуктивного возраста, что входило в четвертую задачу исследования. На каждом этапе алгоритма следовало учитывать рекомендуемые лабораторные критерии как для оценки эффективности этапа проведенной терапии, так и показаний к переходу на следующий этап (рисунок 6).

Наконец, заключительная задача исследований была посвящена доказательству клинико-психологической эффективности лечения генитального герпеса у женщин, оптимизированного в соответствии с фазами менструального цикла и иммунологическими критериями.

Влияние терапии на клиническое течение заболевания у больных рецидивирующим генитальным герпесом после применения оптимизированной схемы терапии и остальных женщин с неоптимизированной схемой оценивали до начала проведения терапии, а также в ближайшем и отдаленном периоде (в течение года после окончания лечения). Было установлено, что у больных, получавших оптимизированную схему лечения с учетом менструального цикла, в течение года после терапии отмечалось достоверное уменьшение частоты, длительности и тяжести течения рецидивов

генитального герпеса, в то время как все изменения этих показателей у больных группы сравнения были статистически недостоверными.

Анализ катамнеза показал, что состояние стойкого клинического выздоровления сохранилось у 24% пациентов основной группы при наблюдении свыше 1 года, в то время как у пациентов группы сравнения данная цифра составила только 8%.

Наряду с более высокой частотой отсутствия симптомов при оптимизированной схеме лечения у 76% больных уже к 5-м суткам от начала рецидива отмечалось значительное клиническое улучшение и угасание симптомов заболевания. Так, проявления генитального герпеса на 5-е сутки лечения у больных группы сравнения уменьшилась в 1,8 раза, в тоже время у больных основной группы - в 6,4 раза (рисунок 7).

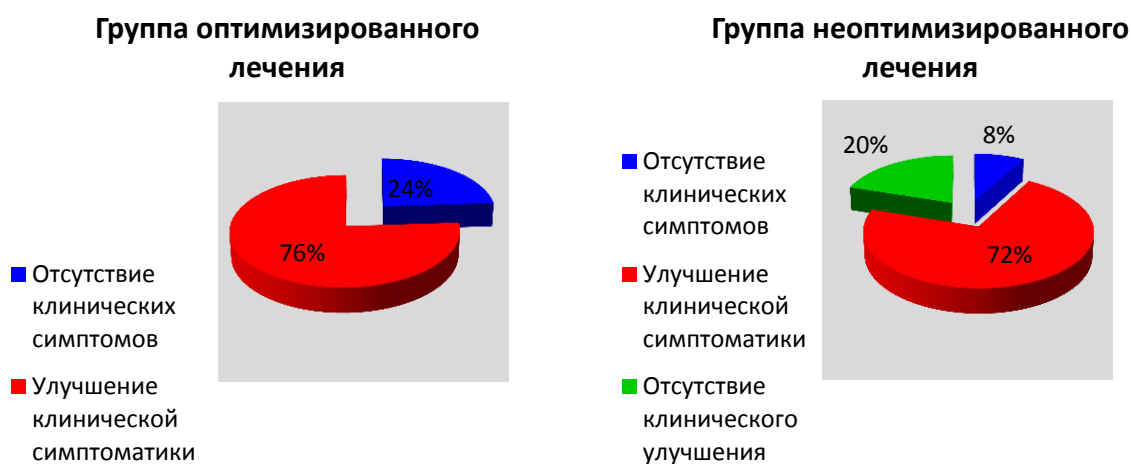


Рис. 7. Эффективность оптимизированной и неоптимизированной схем лечения на 5-е сутки рецидива генитального герпеса

Помимо клинической эффективности оптимизированной схемы лечения генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста проводилась оценка качества жизни у больных в группах сравнения с помощью опросника Health Status Survey (SF-36).

Показано, что в группе женщин, получавших оптимизированную в соответствии с менструальным циклом схему лечения, показатели оценки качества жизни в баллах после лечения в ряде случаев даже достоверно превышали таковые у здоровых женщин. Это касалось оценки роли физических проблем в ограничении жизнедеятельности, жизнеспособности, социальной активности, психического здоровья (рисунок 8).

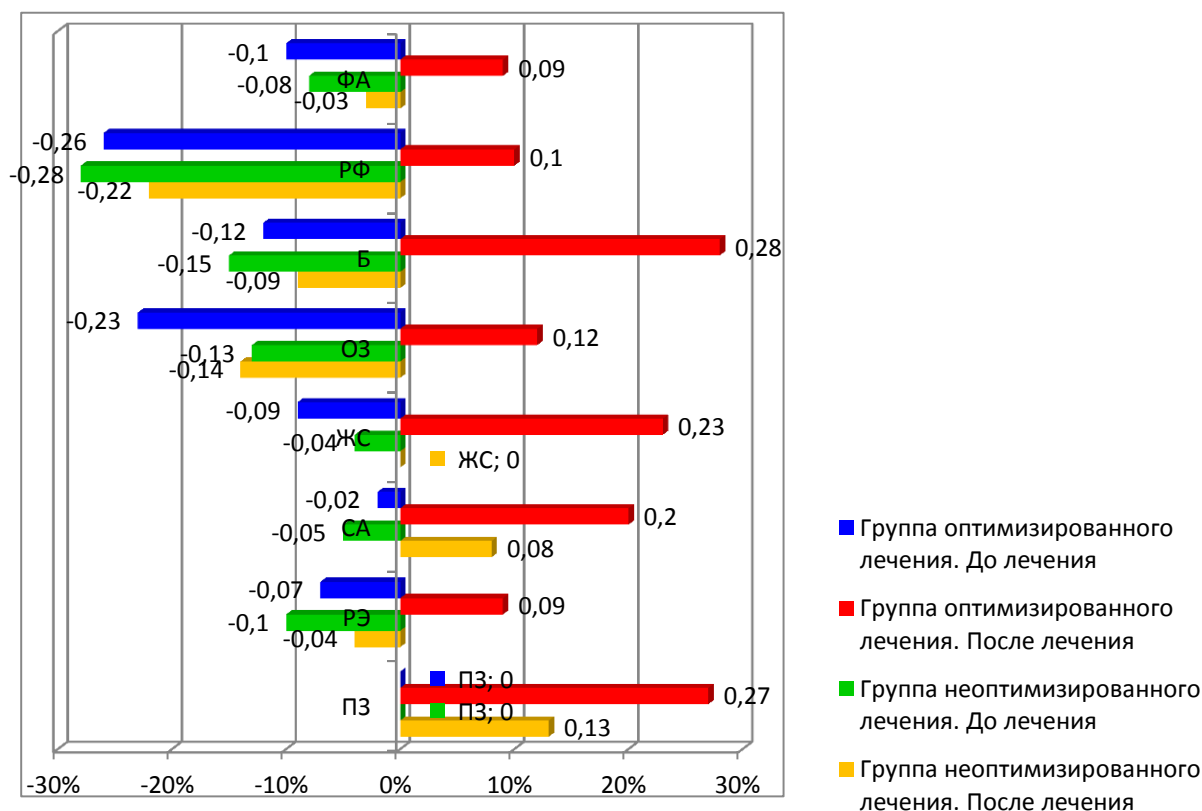


Рис. 8. Проценты отклонения от контроля показателей качества жизни у женщин с рецидивирующим генитальным герпесом в группах сравнения (ФА - физическая активность; РФ - роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности; Б - роль болевых ощущений в ограничении жизнедеятельности; ОЗ - общее здоровье; ЖС - жизнеспособность; СА - социальная активность; РЭ — роль эмоциональных проблем в ограничении жизнедеятельности; ПЗ - психическое здоровье)

В конечном итоге в результате проведенных исследований удалось подтвердить гипотезу о взаимосвязи эффективности комплексного лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста с фазами менструального цикла и состоянием местной иммунной защиты, а также предложить оптимизированную схему лечения этого заболевания и алгоритм ее осуществления.

ВЫВОДЫ

1. Частота развития рецидивов генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста зависит от типа вирусного возбудителя (3-4 рецидива в год при ВПГ-1 и 6-7 рецидивов в год при ВПГ-2), а также от фазы менструального цикла: рецидивы развиваются в 4,8 раз чаще после 16-го дня менструального цикла.

2. Состояние местных реакций врожденного иммунитета у здоровых

женщин зависит от периода менструального цикла и значительно отличается в период овуляции (13-15 день): в составе клеточного пула влагалища достоверно возрастает активность катепсина Д, в вагинальном секрете повышаются уровни ИФНа, ИФНγ, ИЛ-10 на фоне падения уровней провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8).

3. Состояние местных реакций врожденного иммунитета у больных рецидивирующим генитальным герпесом значительно отличается от такового у здоровых женщин по характеру взаимосвязи с фазами менструального цикла: в период овуляции наблюдается относительно низкий уровень ИФНа и ИФНγ, а в лютеальную фазу цикла (после 16-го дня) - резкое возрастание активности катепсина Д, уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

4. Комбинированное применение препарата с противовирусным действием при развитии рецидива, препарата ИФНа 2вв предовуляторный период (на 9-12 день менструального цикла) и герпетической вакцины в лютеальную фазу цикла (на 19-22 день) позволяет корректировать состояние местных реакций врожденного иммунитета до их соответствия показателям у здоровых людей в разные периоды менструального цикла.

5. Разработанный алгоритм реализации оптимизированной схемы лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста опирается на следующие информативные критерии: показания к началу интерферонотерапии - активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалища >20 ЕА на 13-18 день менструального цикла, уровень ИФНа в вагинальном секрете - <30 ЕД/мл; эффективность интерферонотерапии и показания к началу вакцинации - активность катепсина Д <20 ЕА, уровень ИФНа >30 ЕД/мл после 12-го дня менструального цикла; эффективность вакцинации - активность катепсина Д <16 ЕА после 12-го дня менструального цикла, уровень ИЛ-8 в вагинальном секрете ≤ 40 пг/мл с 13-го по 18-й день менструального цикла, уровень ИЛ-4 в вагинальном секрете <2 пг/мл после 16-го дня менструального цикла.

6. Применение оптимизированной схемы лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста в соответствии с предложенным алгоритмом сокращает число и продолжительность рецидивов в анамнезе, вызывает падение выраженности симптомов заболевания как по их интенсивности, так и по продолжительности, способствует росту частоты

случаев отсутствия рецидивов в течение 1 года наблюдения до 24%, улучшает качество жизни пациентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для лечения рецидивирующего генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста рекомендуется оптимизированная поэтапная схема с учетом фаз менструального цикла.

I этап. После верификации диагноза генитального герпеса при наличии рецидива назначается препарат противовирусного действия в соответствии с рекомендуемым курсом его применения. При отсутствии клинически выраженного рецидива переходят ко второму этапу.

II этап. Определяют активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалищного смыва и уровень ИФНа в вагинальном секрете на 13-18 дни менструального цикла. При активности катепсина Д >20 ЕА и ИФНа <30 ЕД/мл на 9-12 день менструального цикла назначают препарат для интерферонотерапии, при отсутствии этих критериев пациентка подлежит повторному обследованию. По окончании приема препарата интерферона вновь контролируют те же показатели. При активности катепсина Д <20 ЕА и ИФНа >30 ЕД/мл после 19-го дня менструального цикла переходят к третьему этапу.

III этап. При успешности интерферонотерапии при нормальных значениях катепсина Д по иммунологическим критериям женщине на 19-22 день менструального цикла назначают герпетическую вакцину. После окончания вакцинации на 17-18 день следующего менструального цикла определяют активность катепсина Д в составе клеточного пула влагалищного смыва и уровни ИЛ-8 и ИЛ-4 в вагинальном секрете. При активности катепсина Д <16 ЕА, уровне ИЛ-8 <40 пг/мл, уровне ИЛ-4 <2 пг/мл вакцинацию считают успешной и повторяют введение вакцины через 6 месяцев.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Иммунизация вакциной «Витагерпавак» (герпетическая культуральная инактивированная сухая) для профилактики рецидивов инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типов [Текст] / Д.К. Львов, И.Ф. Баринский, А.А. Лазаренко, Л.М. Алимбарова, М.С. Воробьева, О.А. Бархалева, А.А. Каспаров, А.Л. Тищенко, Н.С. Сергеева, И.И. Самойленко // Методические рекомендации. - М. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. - 2010. - 12 с.

2. Сергеева, Н.С. Гормональная регуляция продукции катепсина D и уровня фагоцитоза в вагинальных клетках женщин [Текст] / Н.С. Сергеева, Л.Г. Зайцева, И.В. Киреева, И.И. Самойленко, Е.В. Нагурская // Клиническая дерматология и венерология. - 2010. - С. 76-82.

3. Зайцева, Л.Г. Уровень цитокинов в разные фазы менструального цикла в вагинальных секретах здоровых и ВПГ-инфицированных женщин [Текст] / Л.Г. Зайцева, Н.С. Сергеева, А.Л. Тищенко, Г.М. Шапошникова, И.В. Киреева, И.И. Самойленко, Е.Н. Семенова, Е.В. Нагурская // Клиническая дерматология и венерология. - 2012. - №5. - С. 26-30.

4. Зайцева, Л.Г. Катепсин D и противовоспалительные цитокины – показатели сбалансированности мукозного иммунного ответа в вагине в норме и при инфицировании вирусом простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) [Текст] / Н.С. Сергеева, И.В. Киреева, Г.М. Шапошникова, В.А. Бехало, А.Л. Тищенко, Е.В. Нагурская // Аллергология и иммунология. - 2013. - № 4. - С. 260-265.

5. Tishchenko, A.L. Mucosal immunity in the vagina in healthy women and in women infected with HPV-2 [Text] / A.L. Tishchenko, N.S. Sergeeva, S.N. Jareer Goussous, L.G. Zaytseva, E.V. Nagurskaya// Amman, Jordan 2013. - P. 36-38

6. Сергеева, Н.С. Новый подход к использованию специфической противогерпетической вакцины для лечения и профилактики рецидивов генитального герпеса у женщин репродуктивного возраста [Текст] / Н.С. Сергеева, А.Л. Тищенко, Л.Г. Зайцева, Е.В. Нагурская // Сборник научных публикаций "Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций". - 2016. - С. 50-58.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АВЦ -	антивоспалительные цитокины
ВПГ -	вирус простого герпеса
ГГ-	генитальный герпес
ГИ-	герпетическая инфекция
ИЛ -	интерлейкины
ИФН -	интерферон
ИФА -	иммуноферментный анализ
ИППП -	инфекции, передающиеся половым путем
ПВЦ-	противовоспалительные цитокины
ИА-	индекс активности
ПЦР -	полимеразная цепная реакция
РГГ -	рецидивирующий генитальный герпес
Ig -	иммуноглобулины
SF-36 -	краткий общий вопросник оценки статуса здоровья

ОСОБЕННОСТИ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ГЕНИТАЛЬНОГО ГЕРПЕСА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Диссертационное исследование посвящено поиску метода оптимизации комплексного лечения генитального герпеса у женщин с учетом состояния компонентов местной иммунной защиты влагалища и фазы менструального цикла.

Получены данные, касающиеся диагностической ценности лизосомального фермента катепсина Д для оценки барьерных функций слизистой оболочки влагалища и зависимости его активности от фазы менструального цикла. Установлены особенности цитокинового профиля и уровня интерферонов в вагинальных смывах женщин в различные фазы менструального цикла. Проведено клинико-лабораторное обоснование взаимосвязи эффективности применения противовирусных препаратов с фазой менструального цикла и состоянием иммунной защиты влагалища при рецидивирующем генитальном герпесе у женщин. Разработан алгоритм диагностики и оптимизированной комплексной терапии рецидивирующей

герпетической инфекции у женщин с учетом фаз менструального цикла и состояния иммунной защиты слизистой оболочки влагалища, в том числе у пациенток с резистентностью к нуклеозидам.

THERAPY FEATURES OF RECURRENT GENITAL HERPES AMONG WOMEN IN REPRODUCTIVE AGE

The dissertation research is devoted to finding the optimal treatment method of genital herpes in women taking into account the state of the local immune defense components of the vagina and the phase of the menstrual cycle.

The obtained data concerning the diagnostic value of the lysosomal enzyme cathepsin D will be used to assess the mucous membrane barrier function of the vagina and the influence of the menstrual cycle on its activity. The cytokine profile features and the level of interferon in the vaginal washings of women in different phases of the menstrual cycle were established. The obtained clinical-laboratory results demonstrate the relationship between the anti-viral drugs effectiveness, the menstrual cycle and the state of the vaginal immune defence in patients with recurrent genital herpes in women. The diagnostic algorithm and optimized complex therapy of recurrent herpes infection in women taking into account the phases of the menstrual cycle and the state of immune defence mechanism of the vaginal mucosa, including patients with resistance to nucleoside, were developed.