

Комплексное лечение больных рецидивирующим генитальным герпесом на основании исследования цитокинов на системном и локальном уровнях

На правах рукописи

КОЗЫРЕВА ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ НА ОСНОВАНИИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЯХ

14.00.11 – кожные и венерические болезни

14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор Матушевская Елена Владиславовна

Доктор медицинских наук, профессор Ковальчук Леонид Васильевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор Баткаев Эдуард Алексеевич

Доктор биологических наук, профессор Хромова Серафима Семеновна

Ведущее научное учреждение:

Российский университет дружбы народов

Защита диссертации состоится «26» марта 2007 года в 14.00 часов на заседании диссертационного Совета К 208.072.03 при Российском государственном медицинском университете по адресу: 127997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО РГМУ Росздрава

Автореферат разослан «22» февраля 2007 года

Ученый секретарь диссертационного Совета

доктор медицинских наук, профессор Л.Ф. Марченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Одной из наиболее актуальных проблем современной медицины являются инфекционные заболевания, в том числе вызываемые вирусами. Среди вирусных заболеваний человека герпетическая инфекция (ГИ) занимает одно из ведущих мест. Генитальный герпес (ГГ) – одна из форм герпетической инфекции, занимающий по распространенности 3 место по данным ВОЗ среди инфекций, передающихся половым путем [Соколовский Е.В.,2000]. В настоящее время ГГ представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему. Рецидивы генитального герпеса могут осложняться воспалительными заболеваниями мочеполовой системы [Гомберг М.А, 2004]. Высокая распространенность ГГ связана с тем, что передача вируса происходит как в период клинического обострения, так и в бессимптомный период. Бессимптомное вирусовыделение встречается чаще у пациентов с ВПГ-2 типа [Leone P.,2005;Parent D.,2005]. Форма инфекционного процесса определяется не только свойствами вируса, но и особенностями иммунной системы организма хозяина [Бутов Ю.С.,2000].

ГИ характеризуется развитием вторичного иммунодефицита с избирательным поражением клеток макрофагально-моноцитарного ряда, дефектом в системе цитокинов [Zanetti G.,2005]. В частности нарушается баланс цитокинов интерлейкин 12 и интерферон, играющих значительную роль в противовирусной защите организма больных рецидивирующим ГГ [Aravalli R.N. et al.,2005; Parker JN et al.,2006]. У больных с тяжелым течением ГИ, как правило, наблюдается угнетение клеточного иммунитета, незавершенность фагоцитоза, преобладание зрелых форм вируса. [Дубенский В.В.,2002; Халдин А.А.,2004].

В настоящее время используется комбинированная схема лечения ВПГ, включающая в себя: базисную терапию (подавление репликации вируса) и препараты, повышающие резистентность макроорганизма [Самгин М.А., Халдин А.А.,2002].

Препаратами, действующими непосредственно на герпесвирусы являются ациклические нуклеозиды – ацикловир, валцикловир и др. [Кубанова А.А., Масюкова С.А., 1996; Кунгуров Н.В. с соавт., 2000; Козлова В.И., Пухнер А.Ф.,2000]. У некоторых пациентов, страдающих ГГ, в процессе лечения

развивается резистентность к ацикловир - содержащим препаратам или они изначально не оказывают лечебного действия [Кубанова А.А. с соавт.,1997; Самгин М.А., Халдин А.А.,2000].

Увеличение темпов роста заболеваемости герпесвирусной инфекции, новые аспекты патогенеза и недостаточная эффективность существующей терапии диктует необходимость в разработке современных эффективных методов лечения.

На кафедре иммунологии Российского государственного медицинского университета разработан оригинальный препарат суперлимф (Регистрационный №. 000516/01-2001) – иммуномодулятор с прямым противомикробным действием. По своему составу суперлимф - это сбалансированный комплекс цитокинов: интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли (ФНО), миграцию ингибирующего фактора (МИФ), трансформирующих факторов роста 1 (ТФР 1) и 2 (ТФР 2) и противомикробных протегрин-подобных пептидов. Противовирусный эффект «Суперлимфа» обусловлен не только прямым ингибирующим действием препарата на репликацию вируса герпеса, но и опосредованным через активацию цитотоксических клеток-эффекторов (макрофагов, естественных киллеров и др), что также происходит в результате действия цитокинов [Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., 1999; Баркевич, 2005].

В связи с этим, представляется целесообразным включение иммуномодулирующего препарата с прямым противовирусным действием в современную терапию генитального герпеса.

Цель исследования

Разработка комплексной схемы лечения больных рецидивирующим генитальным герпесом с использованием иммуностропного препарата с прямым противовирусным действием (суперлимф) на основе изучения цитокинового статуса.

Задачи исследования:

- 1) Изучить эффективность препарата суперлимф в лечении генитального герпеса при монотерапии и в комплексной терапии.
2. Исследовать содержание цитокинов (ИЛ-12 и ИФ) у больных генитальным герпесом в сыворотке крови в стадии обострения и в процессе лечения.
3. Определить концентрацию ИЛ-12 и ИФ в отделяемом из уретры у больных генитальным герпесом и оценить информативность этого метода до и после лечения.
4. Оценить динамику выявляемости ВПГ у больных РГГ до и после лечения.

Научная новизна работы

Изучены патогенетически значимые нарушения концентрации цитокинов на системном и локальном уровнях. Впервые у больных рецидивирующим генитальным герпесом обнаружено снижение концентрации ИЛ12 и ИФ в сыворотке крови и значительное их увеличение в эпителиальных тканях уретры. Установлено, что определение концентрации ИЛ12 и ИФ в отделяемом из уретры является при данной патологии более информативным, по сравнению с определением их системных уровней.

Определена высокая эффективность нового комплексного подхода в лечении рецидивирующего генитального герпеса с применением иммуномодулятора топического действия (суперлимф) в сочетании с ацикловиром, позволившего значительно увеличить сроки ремиссии у больных генитальным герпесом.

Практическая значимость

На основании исследования патогенеза генитального герпеса разработан и обоснован комплексный подход к лечению генитального герпеса с использованием иммуностимулирующего препарата суперлимф и противовирусного препарата ацикловир.

Эффективность лечения подтверждена клиническими и иммунологическими исследованиями. С целью контроля проводимого лечения показано исследование цитокинов ИЛ12 и ИФ, играющих важную роль в реализации противовирусного иммунного ответа.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Установлено снижение уровней ИЛ12 и ИФ в сыворотке крови и повышение концентрации данных цитокинов на локальном уровне в отделяемом из уретры у больных РГГ.
2. Комплексная терапия больных РГГ высоко эффективна при тяжелой и постоянно рецидивирующей формах заболевания. Монотерапия суперлимфом эффективна у больных легкой и среднетяжелой формах заболевания. У 37 (92,5%) больных после комплексного лечения ВПГ методом ПЦР выявлен не был.
3. Комплексная терапия суперлимфом и ацикловиром приводит к развитию клинического выздоровления, коррелирующего с нормализацией уровней цитокинов в сыворотке крови и в уретре, обеспечивающая стойкую клиническую ремиссию от 1 до 3 лет.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на совместных заседаниях и научно-практических конференциях кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», кожно-венерологического клинического диспансера № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы (Москва, 2005, 2006гг.); на 13 Российском

национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2006); на юбилейной научно-практической конференции памяти профессора М.М.Желтакова «Хронические дерматозы: новые аспекты патогенеза и терапии. Инфекции, передаваемые половым путем». (Москва, 2006).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты работы внедрены в лечебную и лабораторную практику кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, кожно-венерологического клинического диспансера №1 Департамента здравоохранения г. Москвы, кожно-венерологического клинического диспансера № 29 Департамента здравоохранения г. Москвы.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы и трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы. Библиографический указатель включает 292 источника: 185 на русском и 107 на иностранных языках. Работа изложена на 136 страницах компьютерного текста, содержит 21 рисунок, 18 таблиц, 4 фотографии и 1 схему.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Клинико-лабораторные исследования проводились на базе Кожного венерологического клинического диспансера №1 Департамента Здравоохранения города Москвы. Иммунологические исследования проведены на кафедре иммунологии Российского Государственного Медицинского Университета.

В исследование включено 105 пациентов в возрасте от 20 до 60 лет с диагнозом рецидивирующий генитальный герпес, 60 (57%) мужчин и 45 (43%) женщин. Длительность заболевания у пациентов варьировала от 6 месяцев до 15 лет. Длительность течения рецидивов колебалась от 5 до 14 дней. У большинства пациентов, входящих в исследование, отмечалось тяжелое (45%) и средней тяжести (28%) течение инфекции.

Все пациенты, включенные в исследование, рандомизированы на 3 группы методом случайной выборки и равномерно распределены во все группы по возрасту, полу, продолжительности и тяжести заболевания в зависимости от получаемой лекарственной терапии.

Первую группу (I) составили 25 пациентов (15 мужчин и 10 женщин). Больные этой группы получали лечение препаратом «Суперлимф», который применяли в виде суппозиторий (25 ЕД) ректально на ночь № 10. Одновременно суперлимф

применяли наружно в виде аппликаций на высыпания и эрозии 5 раз в день в течение 5-7 дней. Вторая группа (II) в количестве 40 пациентов (26 мужчин и 14 женщин) принимала ацикловир по 200 мг 5 раз в день 5-10 дней. Третья группа (III) – 40 пациентов (22 мужчины и 18 женщин) получали комплексное лечение препаратами: Ацикловир 200 мг 5 раз в день 5-10 дней + Суперлимф (по представленной выше схеме).

Препарат суперлимф представляет собой иммуномодулятор с прямым противомикробным действием. Суперлимф выпускается в виде суппозиторий ректальных и вагинальных 25 ЕД по 10 штук в блистере, а также в виде лиофилизированного порошка для приготовления раствора для местного применения, содержащего 0,1 мг активного вещества.

Для верификации диагноза и определения типа возбудителя всем пациентам проводилось исследование ДНК ВПГ методом ПЦР и определение титра АТ методом ИФА. Исследовано содержание ИЛ-12 и ИФ у больных РГГ на системном и локальном уровнях. Определение ИЛ-12 и ИФ осуществлялось при помощи тест-систем фирмы BioSource International, основанных на методе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Исследуемым материалом являлась сыворотка больных, а также соскоб эпителия из уретры. Исследования проводились в начале обострения и после проведенного лечения. В качестве контроля была набрана группа здоровых добровольцев. Соскобы из уретры и содержимое пузырьков получали с помощью стерильных одноразовых зондов (зонд универсальный 3Г Бу-''ЦМ+'' для взятия материала из цервикального канала и уретры), которые помещали в специальную полипропиленовую пробирку типа "Eppendorf объемом 1.5 мл в 100 мкл стерильного физиологического раствора и замораживали для дальнейшего хранения в течение месяца.

Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием компьютерного программного комплекса SPSS 13. Данные оценивали с использованием критерия Стьюдента (t) для определения достоверности различий между выборками и критерия Спирмана (r). Различия между величинами признавали статистически достоверными при уровне значимости 95% ($p = 0,05$).

Результаты собственных исследований

Клинико-эпидемиологические особенности генитального герпеса

В исследование включено 105 пациентов в возрасте от 20 до 60 лет с диагнозом рецидивирующий генитальный герпес. Диагноз установлен на основании анамнестических данных; жалоб больных на пузырьковые и эрозивные высыпания на коже и слизистых, зуд, жжение, болезненность; анализа клинической картины; данных лабораторных методов исследования: обнаружение ДНК ВПГ в соскобах из урогенитального тракта и элементов высыпания методом ПЦР, а также типоспецифических антител к ВПГ 1,2 в сыворотке крови методом ИФА.

Герпетические высыпания представляли собой сгруппированные везикулярные элементы, содержащие прозрачный экссудат, на отечно-гиперемизованном фоне и

сопровождались чувством зуда, жжения, покалывания, боли. После вскрытия полостных элементов, образовывались полициклические эрозии, образующие корочки.

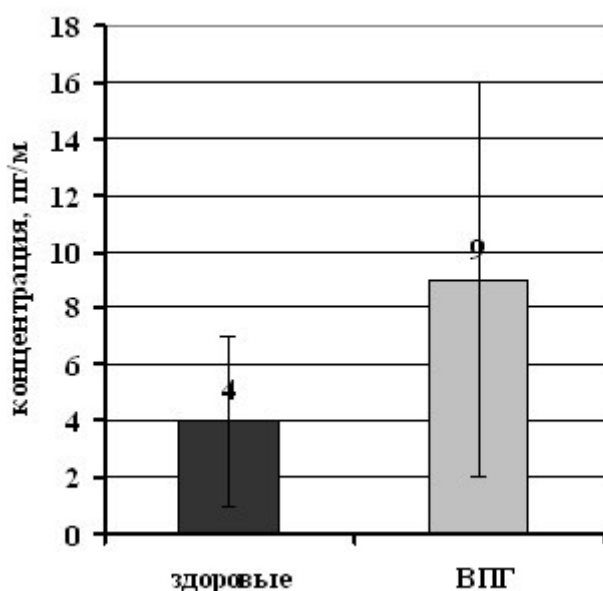
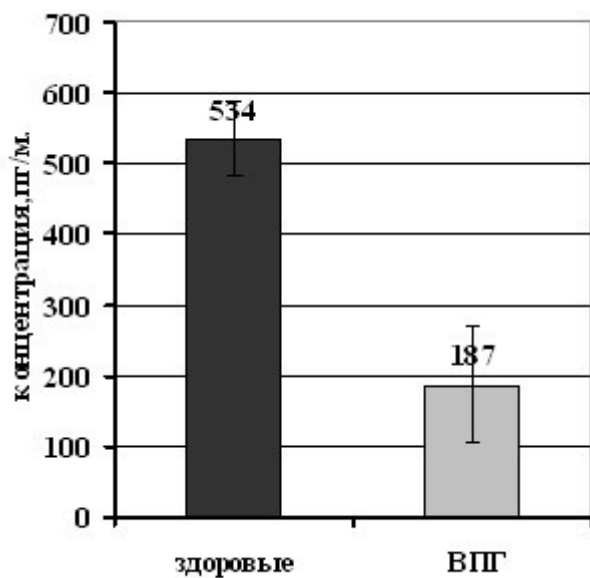
Определение АТ к ВПГ методом ИФА показало наличие IgG к обоим типам вируса (ВПГ1+ВПГ2) у большинства пациентов (56%), у 37% больных АТ были обнаружены к ВПГ 2 типа и у 7% к ВПГ1 типа. Методом ПЦР наиболее часто у больных выявлялся ВПГ 2 типа (61%), у 34% больных определялись оба типа возбудителя (ВПГ1+ВПГ2) и у наименьшего количества больных (5%) обнаруживался ВПГ 1 типа.

Изучение концентрации ИЛ12 и ИФ у больных генитальным герпесом на системном и локальном уровнях

Исследовано содержание цитокинов у больных РГГ на системном и локальном уровнях. В сыворотке крови 36 больных РГГ в стадии обострения и 12 здоровых доноров определено содержание цитокинов ИЛ-12 и ИФ. Также было изучено содержание данных цитокинов в отделяемом из уретры 14 больных РГГ и 5 здоровых людей.

Содержание ИЛ-12 в сыворотках здоровых доноров составило 534 ± 82 пг/мл и 187 ± 53 пг/мл ($p < 0,05$) в сыворотках больных ГГ. ИФ выявлялся в сыворотках в незначительной концентрации (4 ± 3 пг/мл у здоровых доноров и 9 ± 7 пг/мл у больных ГГ), при этом достоверных отличий по его уровню между группами выявлено не было (Рис.1). В тоже время необходимо отметить, что ИЛ-12 выявлялся в сыворотке 100% обследованных доноров и больных, в то время как ИФ – у 20% здоровых доноров и у 80% больных герпесом.

Рисунок 1. Концентрация ИЛ-12 и ИФ в сыворотке здоровых людей и больных рецидивирующим генитальным герпесом.

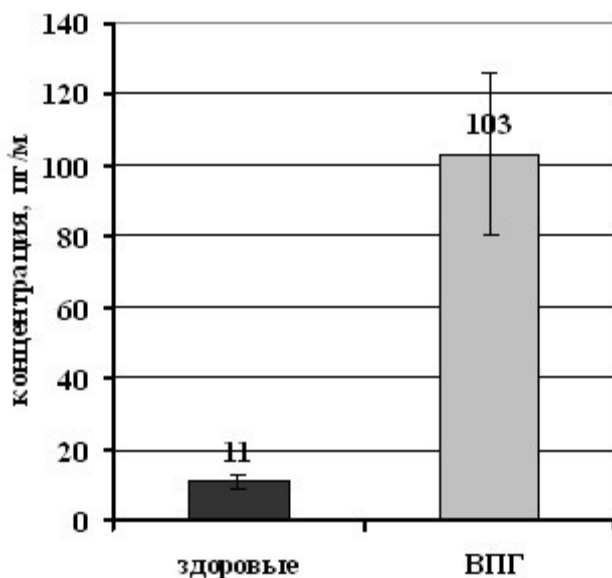
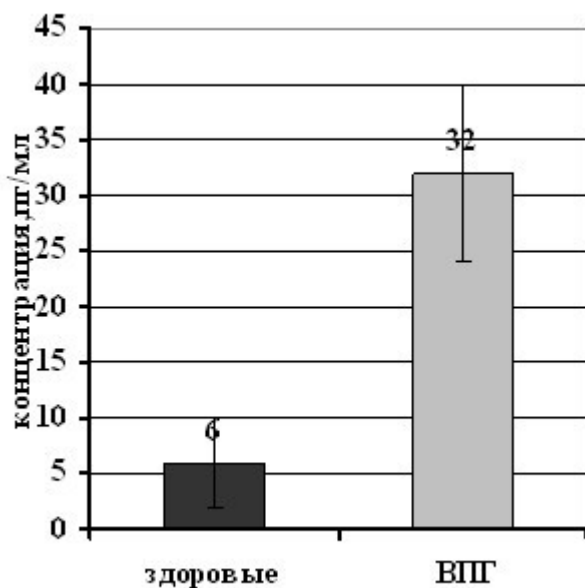


* $p < 0,05$ - достоверные отличия между группами по критерию Уилкоксона

Цитокины во многих случаях демонстрируют неоднозначность эффектов действия, что, в свою очередь, приводит к высокой вариабельности содержания цитокинов не только при развитии патологии, но и при физиологическом состоянии организма. В связи с этим, перспективным представляется изучение локального содержания цитокинов в биологических жидкостях организма, где в меньшей степени сказывается влияние системных факторов регуляции иммунитета со стороны нервной и эндокринной систем.

При исследовании уровней данных цитокинов в отделяемом из уретры больных ГИ было установлено, что в данном случае обнаруживаются более значимые изменения в выработке цитокинов (Рис.2), а именно: в 5 раз увеличивается содержание ИЛ-12 (32 ± 8 пг/мл у больных и 6 ± 4 пг/мл у здоровых) и более чем в 9 раз – ИФ (103 ± 23 пг/мл у больных и 11 ± 2 пг/мл у здоровых).

Рисунок 2. Концентрация ИЛ-12 и ИФ в отделяемом из уретры больных рецидивирующим ГГ по сравнению со здоровыми людьми.



* - достоверные отличия между группами по критерию Уилкоксона $p < 0,05$

При анализе данных по содержанию исследуемых цитокинов в сыворотках больных удалось отметить достоверные различия по концентрации ИЛ-12 и ИФ между группой больных, у которых в методом ПЦР было обнаружено наличие ДНК ВПГ 1-го и 2-го типов, и группой больных, у которых было обнаружено наличие ДНК только одного типа вируса (Таблица 1).

Таблица 1. Сравнительное содержание цитокинов в сыворотке больных в зависимости от типа ВПГ

цитокины	ВПГ 1	ВПГ 2	ВПГ 1+ ВПГ 2
Концентрация ИЛ-12 сыворотка, пг/мл	217±70	216±52	119±15*
Концентрация ИФ сыворотка, пг\мл	11±6	15±6	5±4

* $p < 0,05$ - достоверные отличия между группами по критерию Уилкоксона

При совместном инфицировании ВПГ1 + ВПГ2 содержание цитокинов в сыворотке крови ниже, чем при их индивидуальном инфицировании.

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что, по всей видимости, исследование цитокинов на локальном уровне является более информативным, при данной патологии. Однако определение сывороточных уровней цитокинов также может являться полезным для уточнения патогенеза заболевания.

Результаты лечения

Результаты лечения больных генитальным герпесом

Изучалась эффективность проведенной терапии у больных ГГ в исследуемых группах. Критериями оценки эффективности являлись следующие параметры: длительность течения рецидива, время эпителизации, длительность ремиссии и частота рецидивов в отдаленном периоде, характер течения рецидива после лечения. Определялось время достижения клинического выздоровления в группах исследования.

Длительность течения рецидива у больных в процессе лечения Суперлимфом (1-ая группа) снизилась с $8,3 \pm 0,37$ дней до $6,0 \pm 0,23$ дней ($p < 0,01$). Во второй группе принимавшей Ацикловир длительность рецидива уменьшилась с $8,2 \pm 0,28$ дней до $6,6 \pm 0,2$ дней ($p < 0,01$). У пациентов получавших комплексное лечение препаратами Суперлимф и Ацикловир длительность течения рецидива сократилась с $8,4 \pm 0,29$ дней до $5,6 \pm 0,16$ дней ($p < 0,01$) (Таблица 3).

Таблица 3. Длительность течения рецидива в среднем в исследуемых группах до и после лечения.

Исследуемая группа	Длительность течения рецидива	
	До лечения	После лечения
1-ая группа	8,3±0,37	6,0±0,23**
2-ая группа	8,2±0,28	6,6±0,2**
3-я группа	8,4±0,29	5,6±0,16**

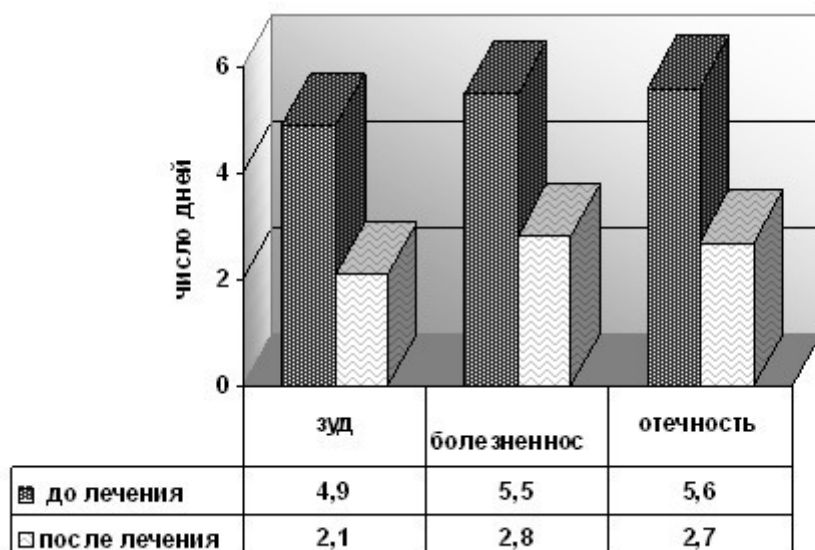
** $p < 0,01$ достоверность различий до и после лечения

Помимо длительности течения рецидива оценивалась его тяжесть.

Проведен анализ клинических симптомов заболевания, до и после лечения у больных в исследуемых группах

У больных первой группы время регрессии основных симптомов заболевания в процессе лечения уменьшилось. Наиболее значимо лечение суперлимфом повлияло на такие симптомы как отечность, зуд и болезненность, время исчезновения этих симптомов составило $2,8 \pm 0,22$ дней, $2,28 \pm 0,18$ дней и $2,9 \pm 0,22$ дней соответственно $p < 0,001$. Терапия ацикловиром в большей степени изменила сроки исчезновения эритемы, которые до лечения составляли $9,74 \pm 0,29$ дней, а после лечения $-6,74 \pm 0,31$ дней ($p < 0,01$). У больных 3-й группы длительность регрессии симптомов ГГ на фоне лечения ацикловиром и суперлимфом уменьшилась от 40% до 57%. Динамика основных симптомов ГИ пациентов, получавших комплексное лечение, представлена на рисунке 3.

Рисунок 3. Динамика основных симптомов заболевания в процессе лечения в 3-й группе исследования.



** $p < 0,001$ достоверность различий до и после лечения

Время достижения клинического выздоровления в 1 группе составило $6,0 \pm 0,23$ дней ($p < 0,01$), во второй группе - $6,6 \pm 0,2$ дней ($p < 0,01$) и в 3 группе $5,6 \pm 0,16$ дней ($p < 0,01$).

Оценивалась длительность ремиссии у пациентов исследуемых групп в течение 6 месяцев (Таблица 4).

Таблица 4. Динамика сроков ремиссии в исследуемых группах.

Исследуемые группы	Длительность ремиссии					
	6 месяцев		Увеличение в 2 раза		Не изменилась	
	абс	%	абс	%	абс	%
1-ая группа	7	28%	12	48%	6	24%

2-ая группа	5	13%	23	57%	12	30%
3-я группа	22	55%	13	32%	5	13%

Наилучшие показатели сроков ремиссии наблюдались у пациентов, принимавших комплексное лечение противовирусным и иммуномодулирующим препаратами.

Все пациенты отмечали хорошую переносимость препарата суперлимф, как при монотерапии, так и в комплексном лечении с ацикловиром. Аллергических и других побочных реакций при приеме препарата отмечено не было.

Оценка эффективности лечения осуществлялась по следующим параметрам: 1) значительное улучшение – быстрое купирование субъективных ощущений, регресс высыпаний и сокращение длительности рецидива в 1,5-2 раза, а также достижение стойкой ремиссии и отсутствие рецидивов в течение 6 месяцев; 2) улучшение – сокращение длительности и тяжести течения рецидива, а также незначительное удлинение сроков ремиссии; 3) отсутствие эффекта – развитие рецидива проходило без изменений.

Оценивая эффективность терапии суперлимфа (1-ая группа) значительное улучшение отмечено у 28% (7) больных, у 48% (12) пациентов наблюдалось улучшение, у 24% (6) больных отмечено отсутствие эффекта. Таким образом, лечение было эффективным у 76% (19) пациентов 1-ой группы. Все пациенты этой группы отмечали снижение и быстрое исчезновение субъективных ощущений, таких как зуд, покалывание, болезненность.

Во второй группе оценивалась эффективность лечения ацикловиром. Значительное улучшение наблюдалось у 13% (5) больных, улучшение отмечалось у 57% (23) пациентов, отсутствие эффекта зафиксировано у 30% (12) пациентов. Лечение было эффективным у 70% (28) пациентов.

В третьей группе мы оценивали эффективность комплексного лечения ацикловира и суперлимфа. Значительное улучшение наблюдалось у 55% (22) больных, улучшение отмечалось у 32% (13) пациентов, отсутствие эффекта было зафиксировано у 13% (5) пациентов. Лечение было эффективным у 87,5% (35) пациентов. Также пациенты этой группы отмечали снижение субъективных ощущений, таких как зуд, покалывание, болезненность и ускорение процессов эпителизации.

Проведенное исследование показало высокую клиническую эффективность комплексного лечения препаратами Суперлимф и Ацикловир у больных РГГ. Также эффективной была монотерапия иммуномодулирующего препарата Суперлимф.

Повторное определение антигена ВПГ из уретры методом ПЦР после лечения выявило следующие результаты (рисунок 4).

Рисунок 4. Выявление ВПГ у больных методом ПЦР после лечения

В группе больных получавших монотерапию препаратом суперлимф у 21 (84%) пациента ВПГ не выявлялся. Во второй группе пациентов, принимавших в качестве лечения препарат ацикловир у 31 (77,5%) больного ВПГ обнаружен не был. В группе пациентов комплексного лечения препаратами ацикловир и суперлимф у 37 (92,5%) больных ВПГ выявлен не был.

По данным проведённого корреляционного анализа по коэффициенту Спирмана выявлено наличие достоверной положительной очень сильной корреляционной зависимости ($r=0,918$ $p=0,001$) между тяжестью заболевания и эффективностью лечения в группе получавшей комплексное лечение (3-я группа): лечение было эффективнее у больных страдающих тяжелой формой ГГ.

Исследование уровней цитокинов у больных РГГ после проведенного лечения

Изучено содержание цитокинов в сыворотке крови больных ГГ в исследуемых группах (Таблица 5).

Таблица 5. Концентрация ИЛ-12 и ИФ на системном и локальном уровне у больных ВПГ до и после лечения.

Исследуемый материал	Ил-12 С, пг/мл		ИФ С, пг/мл	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Сыворотка				
1-ая группа	195±37	205±39	9±7	5±4
2-ая группа	187±43	183±47	3±2	3±2

3-я группа	174±35	267±53*	6±2	11±8
Отделяемое из уретры				
3-я группа	30±6	15±5*	92±13	16±6*

* $p < 0,05$.- достоверные отличия по критерию Уилкоксона

Только у больных, получавших комплексную терапию ацикловиром и суперлимфом, происходит статистически достоверное увеличение концентрации ИЛ-12 в сыворотке (174±35 пг/мл до лечения и 267±53 пг/мл после лечения). Концентрация ИФ в сыворотке больных всех трех групп достоверно не отличалась, до и после лечения. На локальном уровне в отделяемом из уретры после лечения происходило снижение концентрации ИЛ12 и ИФ, т.е. их содержание нормализовалось при сравнении с уровнями здоровых людей.

Таким образом, наиболее патогенетически значимые изменения уровней цитокинов получены нами при изучении их локального содержания, при этом терапевтическая эффективность комплексной схемы лечения, коррелирует с нормализацией уровней цитокинов в отделяемом из уретры.

ВЫВОДЫ

1. Монотерапия суперлимфом обладает высокой клинической эффективностью у 76% больных, снижает длительность течения рецидива с 8,3±0,37 дней до 6,0±0,23 дней ($p < 0,01$). Комплексный метод лечения ГГ, включающий суперлимф и ацикловир, показал высокую терапевтическую эффективность у 87,5% пациентов. Время клинического выздоровления у пациентов получавших комплексное лечение составило 5,6±0,16 дней ($p < 0,01$).

2. Содержание ИЛ-12 в сыворотках больных ГГ значительно снижено (187±53 пг/мл $p < 0,05$), по сравнению со здоровыми донорами (534±82 пг/мл). ИФ выявлен в сыворотках в незначительной концентрации (4±3 пг/мл у здоровых доноров и 9±7 пг/мл у больных ГГ). После комплексного лечения происходит увеличение уровня

ИЛ-12 (267 ± 53 пг/мл $p < 0,05$), уровень ИФ в сыворотке крови больных до и после лечения достоверно не отличается.

3. В отделяемом из уретры больных ГГ обнаруживаются более значимые изменения в выработке цитокинов, а именно: в 5 раз увеличивается содержание ИЛ-12 (32 ± 8 пг/мл у больных и 6 ± 4 пг/мл у здоровых) и в 9 раз – ИФ (103 ± 23 пг/мл у больных и 11 ± 2 пг/мл у здоровых) $p < 0,05$. После комплексной терапии концентрация ИЛ-12 снижается до 15 ± 5 пг/мл ($p < 0,05$) и содержание ИФ уменьшается до 16 ± 6 пг/мл в отделяемом из уретры.

4. У 105 (100%) исследуемых больных до лечения был выявлен ВПГ методом ПЦР. После комплексного лечения препаратами суперлимф и ацикловир у 92,5% (37) больных вирус не выявлен. В группе больных получавших монотерапию препаратом суперлимф ВПГ не был выявлен у 84% (21) пациентов.

Практические рекомендации.

1. Для определения тактики ведения пациента и подбора соответствующего метода терапии, а также контроля проводимого лечения показано исследование цитокинов ИЛ12 и Иф, играющих важную роль в реализации противовирусного иммунного ответа.

2. Наиболее достоверное определение нарушений баланса цитокинов осуществляется на локальном уровне (в отделяемом из уретры).

3. Больным тяжелой и постоянно рецидивирующей формами заболевания рецидивирующего ГГ рекомендуется комплексная терапия препаратами суперлимф и ацикловир. Суперлимф применяется в виде суппозиторий (25 ЕД) ректально на ночь ежедневно № 10. Одновременно суперлимф назначается наружно в виде аппликаций на высыпания и эрозии 5 раз в день в течение 5-7 дней. Ацикловир применяется по 200 мг 5 раз в день 5-10 дней.

4. Монотерапия препаратом Суперлимф показана пациентам с легкой и среднетяжелой формами генитального герпеса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Матушевская Е.В., Козырева О.В. Опыт применения препарата Суперлимф в комплексной терапии рецидивирующего генитального герпеса. // «Хронические дерматозы: новые аспекты патогенеза и терапии. ИППП». Юбилейная научно практическая конференция памяти профессора М.М.Желтакова. Москва, 2004. С 46 – 47.
2. Козырева О.В., Ковальчук Л.В., Матушевская Е.В. Клиническое и иммунологическое обоснование применения препарата Суперлимф при лечении генитального герпеса. // IX Всероссийский съезд дерматовенерологов. Москва, 2005, том 2, с. 91.

3. Козырева О. В., Матушевская Е.В., Ковальчук Л.В., Баркевич О.А. Оценка эффективности иммуностропного препарата с прямым противовирусным действием при лечении генитального герпеса. // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. - 2006. -№1 - с. 77.

4. Козырева О.В., Ковальчук Л.В., Матушевская Е.В. Роль цитокинов в развитии иммунного ответа у больных рецидивирующим генитальным герпесом. // «Новые аспекты патогенеза, диагностики и терапии в дерматовенерологии, микологии и врачебной косметологии» 3-я Ежегодная научно-практическая конференция. Москва, 2006.-С 42.

5. Козырева О. В., Матушевская Е.В., Ковальчук Л.В., Баркевич О.А.

Опыт применения суперлимфа в лечении герпесвирусной инфекции.// Клиническая дерматология и венерология.-2007.-№1 – с.16-19

6. Козырева О. В., Матушевская Е.В., Ковальчук Л.В. Иммуномодулирующая терапия в комплексном лечении рецидивирующего генитального герпеса. // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. - 2007. -№1-с.45-51

7. Козырева О.В. Комплексное лечение генитального герпеса на основании исследования цитокинов на системном и локальном уровнях. // Вестник Российского государственного медицинского университета.-2007.-№2-с.41

Список сокращений

АТ – антитела

ВПГ – вирус простого герпеса

ГГ – генитальный герпес

ГИ –герпетическая инфекция

ИЛ – интерлейкин

ИППП – инфекции передаваемые половым путем

ИФ - интерферон

ИФА – иммуноферментный анализ

МИФ – миграцию ингибирующий фактор

ПГ – простой герпес

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РГГ – рецидивирующий генитальный герпес

ТФР – трансформирующий фактор роста

ФНО – фактор некроза опухоли

Ig – иммуноглобулины