

## ЛЕЧЕНИЕ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ И ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ СО ВТОРИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

Л.С. Овчаренко, А.А. Вертегел, Т.Г. Андриенко, В.П. Медведев, И.И. Редько, Н.В. Жихарева, И.В. Самохин

Медицинская академия последипломного образования, г. Запорожье

**Резюме.** В ходе исследования установлено, что растительный препарат Флавозид® является эффективным средством этиопатогенетической терапии ВПГ-1 и ЦМВ-инфекции у детей со вторичным иммунодефицитом. Флавозид® обладает противовирусным действием, в том числе реализующимся через усиление синтеза оксида азота. Доказан иммулотропный эффект препарата, характеризующийся активацией фагоцитоза и клеточного звена иммунитета, увеличением продукции  $\gamma$ -интерферона. Действие Флавозида является поликомпонентным, отвечает современным требованиям, что позволяет применять его в качестве препарата выбора при комплексной терапии детей с ВПГ-1 и ЦМВ-инфекциями.

**Ключевые слова:** дети, герпес, цитомегаловирус, иммунодефицит,  $\gamma$ -интерферон, оксид азота.

### Введение

В настоящее время известно около 100 видов герпесвирусов, заселяющих нашу планету. У человека их выявлено 8 видов: вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1, ВПГ-2), тип 3 – вирус ветряной оспы или опоясывающего лишая (ВВО-ОЛ, варицелла-зостер), тип 4 – вирус Эпштейна–Барра (ВЭБ), тип 5 – цитомегаловирус человека (ЦМВ), вирусы герпеса человека 6-го, 7-го и 8-го типов.

Согласно данным экспертов ВОЗ, в человеческой популяции вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) регистрируется у 98–99 % населения, а заболевания, вызываемые герпесвирусами, занимают второе место (15,8 %) после гриппа (35,8 %) среди причин смерти от вирусных инфекций [4]. Частота выявления цитомегаловируса среди населения колеблется от 45 до 98 % [1].

Важной особенностью упомянутых инфекций является способность вирусов герпеса к выработке специфических белков, подавляющих Т-клеточный иммунитет, функцию цитотоксических лимфоцитов, макрофагов, естественных киллеров (ЕК), тропность вирусов к клеткам иммунной системы (В-лимфоцитам, Т- и ЕК-клеткам), что сопровождается персистенцией вирусов в этих клетках на протяжении всей жизни [2]. Возможность длительного бессимптомного носительства вирусов герпеса создает предпосылки для неконтролируемого постоянного действия вируса на геномный аппарат хозяина, в том числе иммунные клетки, обуславливая развитие вторичных иммунодефицитных состояний. Таким образом, вирусы герпеса могут являться как причиной хронической персистирующей инфекции, так и фактором, способствующим формированию иммунных нарушений. В этой ситуации терапия герпесвирусной инфекции становится ведущим компонентом предупреждения возникновения состояний, связанных с иммунными дисфункциями, то есть наличия рецидивирующих заболеваний, в том числе респираторного тракта.

Залогом успеха терапии таких комбинированных состояний является, кроме этиотропного, обязательное иммулотропное воздействие. При этом для проведения иммунотерапии и иммунопрофилактики крайне важно знание цитокин-индуцирующей направленности иммунного препарата с целью опре-

деления ожидаемого эффекта с учетом типа воспалительного процесса.

Инновационной альтернативой использования противовирусных нуклеозидов для лечения герпесвирусной инфекции является отечественный препарат Флавозид®, 100 мл сиропа которого содержит 2 мл протектазида – флавоноидных гликозидов диких злаковых: щучки дернистой (*Deschampsia caespitosa*) и вейника наземного (*Calamagrostis epigeios*). Препарат обладает вирусостатической (за счет ингибирования вирусоспецифических ферментов тимидинкиназы, ДНК-полимеразы) и интерфероногенной активностью (вследствие стимуляции синтеза эндогенного  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферона).

Продукция  $\gamma$ -интерферона ( $\gamma$ -ИФН) осуществляется Т-лимфоцитами. Этот цитокин активизирует макрофаги, стимулирует фагоцитоз, нейтрофилы, клеточный иммунитет, естественные киллеры. Через индукцию NO-синтазы  $\gamma$ -ИФН усиливает цитотоксичность макрофагов, в качестве иммуномодулятора повышает и/или понижает антителообразование, тормозит аллергический ответ (секрецию IgE) [3].

Важную роль в защите организма от вирусной персистенции играет оксид азота (NO), концентрация которого увеличивается под действием бактериальных липополисахаридов, эндотоксинов, интерлейкина-1,  $\gamma$ -ИФН, фактора некроза опухоли, интерлейкина-2. NO является одним из главных факторов антипатогенной активности клеток неспецифической иммунной защиты (макрофаги, моноциты, нейтрофилы и др.). Оксид азота разрушает множество различных патогенов (вирусы, бактерии, грибы, простейшие, паразиты) или останавливает их рост, что особенно важно для детей с рецидивирующими инфекционными заболеваниями. Также NO является мощным ингибитором репликации вирусных копий и играет важную роль в ответе макроорганизма на вирусную инвазию [5].

Таким образом, знание цитокин- и NO-индуцирующих характеристик препарата Флавозид®, наряду с его инновационными преимуществами, позволит расширить перечень показаний и модифицировать режим приема препарата с наименьшим риском для пациента и послужит основанием для формирования комплексной программы иммуномодуляции у

детей, инфицированных вирусами герпеса и сопутствующим вторичным иммунодефицитом.

**Цель** исследования — улучшение показателей состояния здоровья у детей с вторичным иммунодефицитом, инфицированных ВПГ-1 или ЦМВ, путем использования противовирусного и иммуностропного свойств препарата Флавозид®.

**Материал и методы исследования**

Исследование проводилось в Доме грудного ребенка «Солнышко» (гл. врач — Г.Г. Галкина) и Запорожском городском детском иммунологическом центре на базе детской клинической больницы № 1 (гл. врач — В.И. Лихачева).

Под наблюдением находилось 50 детей в возрасте 6 месяцев–5 лет, из них 25 — дети с вторичным иммунодефицитом, инфицированные ВПГ-1 и получавшие Флавозид® (I группа) и 25 (II группа) — пациенты со вторичным иммунодефицитом, инфицированные ЦМВ, получавшие препарат Флавозид® («Экофарм», Украина, регистрационный номер UA/5013/01/01). Курс терапии — 4 недели. Контрольную группу составили 25 условно здоровых детей.

Критериями определения вторичного иммунодефицита (ВИД) послужили клинические проявления иммунной дисфункции в виде рецидивирующих заболеваний органов дыхания (синусит, тонзиллит, ларинготрахеит, бронхит), а подтверждения ВПГ-1 или ЦМВ-инфицирования — выявление в крови специфических IgM, нарастание титра специфических IgG в крови в парных сыворотках с интервалом 10–12 суток, выявление в буккальном соскобе ДНК ВПГ-1 или ЦМВ с помощью ПЦР-диагностики.

Режим приема Флавозида: внутрь за 20–30 минут до еды на протяжении 4-х недель (1–3-й день — по 1–2 мл 3 раза в сутки; начиная с 4-го дня — по 1–3 мл 2 раза в сутки).

На начальной стадии исследования следовало определить противовирусную, иммуностимулирующую (цитокининдуцирующую) активность препарата Флавозид® при лечении детей с ВИД, инфицированных ВПГ-1 или ЦМВ, а затем установить направленность иммуностропного эффекта данного лекарственного средства.

В ходе исследования определялись процентное соотношение изменения исходных (начало исследования) и конечных (спустя 4 недели) показателей специфических анти-ВПГ-1 IgG, IgM, анти-ЦМВ IgG,

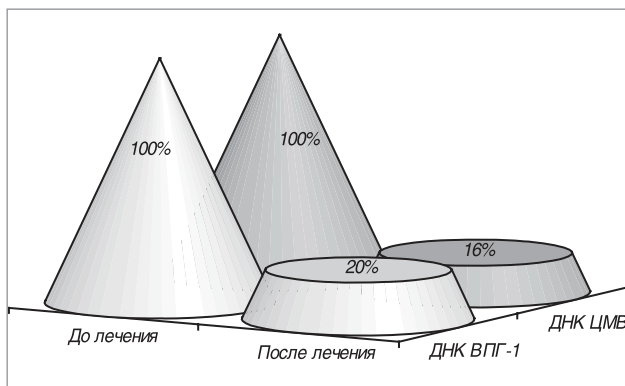


Рис. 1. Количество пациентов с положительными результатами ПЦР-диагностики ВПГ-1 и ЦМВ-инфицирования до и после лечения Флавозидом.

IgM, фрагментов вирусного генома в материале буккального соскоба, концентрации активных метаболитов оксида азота в сыворотке крови и общих симптомов, а также состояния иммунной системы (фагоцитоз, клеточный и гуморальный иммунитет,  $\gamma$ -ИФН) у пациентов, принимавших участие в научной работе. Также отслеживались нежелательные явления и реакции на препарат. Оценка переносимости и контроль побочных реакций осуществлялись на основании жалоб, данных объективного клинического осмотра и результатов лабораторных показателей (ежедневно на протяжении всего исследования).

Кровь для исследования иммунной системы брали из кубитальной вены утром натощак. Обследование проводилось в динамике до и после лечения. Определение состояния иммунитета проводилось: методом прямого розеткообразования с эритроцитами, покрытыми моноклональными антителами к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25 (ВМУ, г. Витебск, Беларусь); с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), определения индекса завершенности фагоцитоза, фагоцитарного числа, индекса активации нейтрофилов, лейкоцитарной пероксидазы, установления уровней IgA, G и M в плазме крови методом радиальной иммунодиффузии в агаре (G. Mancini и др., 1965). Количественное определение  $\gamma$ -ИФН проводилось методом иммуноферментного анализа на фотометре-анализаторе SUNRISE («TECAN» Австрия) с использованием ИФА тест-систем «Гамма-ИФН-ИФА» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Также проводилось исследование содержания в сыворотке крови активных метаболитов оксида азота (нитраты, нитриты). Расчет проводился в мкмоль/л в перерасчете на нитрит-ион [6].

Полученные результаты обрабатывались методом вариационной статистики с помощью непараметрического критерия U Вилкоксона–Манна–Уитни. В процессе обработки полученных результатов использовался персональный компьютер с привлечением пакета программ Microsoft Excel.

Исследование было проведено в соответствии с этическими принципами Медицинского исследования, проводимого на людях, которые были приняты

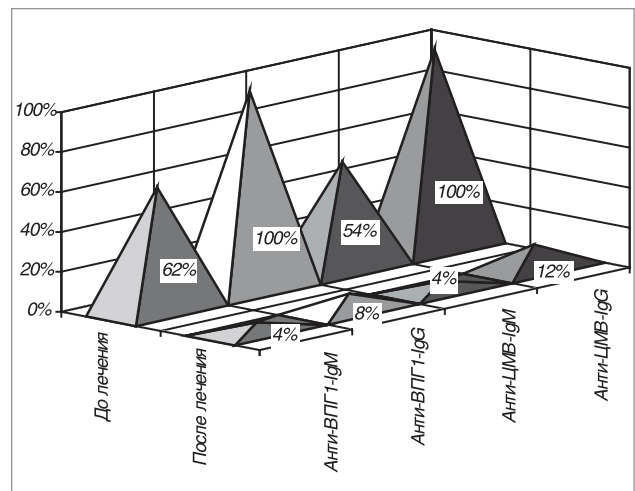


Рис. 2. Количество пациентов с положительными (или сомнительными) титрами специфических антител к ВПГ-1 и ЦМВ в процессе терапии Флавозидом.

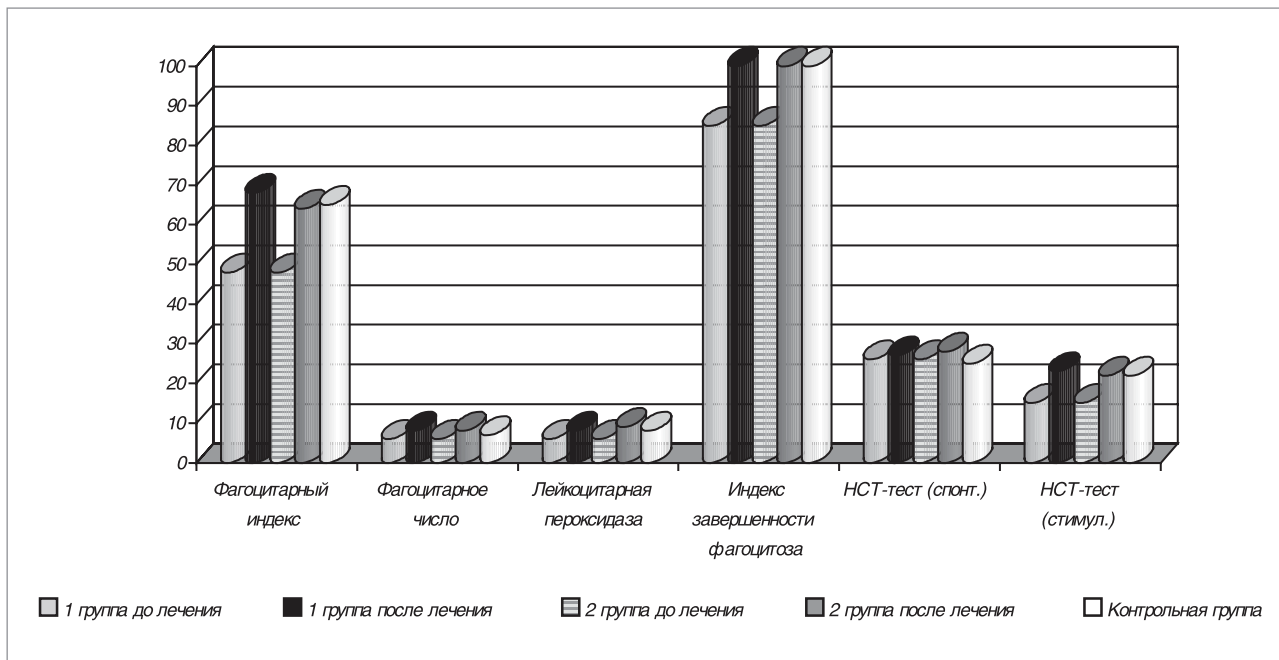


Рис. 3. Динамика показателей фагоцитоза у обследованных детей в процессе терапии.

Хельсинской декларацией и Качественной клинической практикой (GCP).

**Результаты исследований и их обсуждение**

Начиная с 7–10 дня терапии Флавозидом, у детей отмечался регресс неспецифической симптоматики хронической вирусной инфекции. Это проявилось усилением дневной активности, а также улучшением аппетита и общего эмоционального фона у всех пациентов, повышением концентрации внимания во время занятий с воспитателем и восприятия учебного материала у детей в возрасте от 3-х до 5-ти лет.

Выявленный эффект связан с устранением астенизирующего влияния персистирующей герпесвирусной инфекции, что явилось одним из наиболее ранних и важных клинических критериев эффективности проводимой терапии Флавозидом, так как других проявлений ВПГ-1 или ЦМВ-инфицирования у пациентов групп наблюдения исходно не отмечалось, а, следовательно, объективный мониторинг симптоматики был мало возможен.

Общая особенность для данного типа инфекций (отсутствие манифестации клинических симптомов при заражении и обычном течении) обусловила необходимость определения лабораторных маркеров, характеризующих ВПГ-1 и ЦМВ-инфицирования у детей.

У 25 (100 %) детей I группы перед началом исследования в буккальном соскобе был обнаружен фрагмент генома ВПГ-1. После терапии Флавозидом количество таких обследованных снизилось до 5 (20 %;  $p < 0,05$ ). Такая же тенденция отмечалась и у детей с ЦМВ-инфекцией: после лечения Флавозидом с положительным результатом было зарегистрировано 4 (16 %) случая ( $p < 0,05$ ). Учитывая, что у всех пациентов отмечался латентный характер течения герпесвирусной инфекции, то полученные результаты можно расценить как наличие у Флавозида достаточного противовирусного эффек-

та по отношению к ВПГ-1 и ЦМВ при лечении детей с сопутствующими иммунными нарушениями в виде ВИД (рис. 1).

Результаты динамического наблюдения за детьми с положительными титрами специфических антител к ВПГ-1 и ЦМВ показали, что у всех пациентов регистрировались высокие титры специфических IgG, при этом диагностические титры специфических IgM были положительны не у всех обследованных. Учитывая, что подавляющее количество детей имели клинически определяемые проявления иммунодефицитного состояния, то отсутствие специфических IgM у части пациентов может быть следствием иммунных нарушений. Такая картина может вводить в заблуждение врача при обследовании детей с ВИД, что требует проведения у данного контингента пациентов комплексного исследования нескольких показателей (IgM, IgG, фрагмент генома).

В результате 4-недельной терапии Флавозидом сомнительные диагностические титры анти-ВПГ1-IgM и анти-ЦМВ-IgM сохранились у 1 (4 %) ребенка из каждой группы, что не требовало дополнительной терапии.

Сомнительные диагностические титры анти-ВПГ1-IgG и анти-ЦМВ-IgG сохранились у 2 (8 %) пациентов I группы и 3 (12 %) – II. Это также не служило основанием для модификации терапии, однако во всех случаях требовало мониторинга выявленных показателей. Через месяц сероконверсия у таких пациентов не наблюдалась, что, принимая во внимание данные ПЦР-диагностики, дало возможность оценить результаты терапии как хорошие, особенно учитывая наличие сопутствующего иммунного дефицита. При этом клинически у этих детей также отмечалось улучшение общей симптоматики.

С учетом наличия у детей клинических проявлений ВИД в процессе терапии осуществлялся иммунологический мониторинг, результаты которого представлены на рис. 3–5.

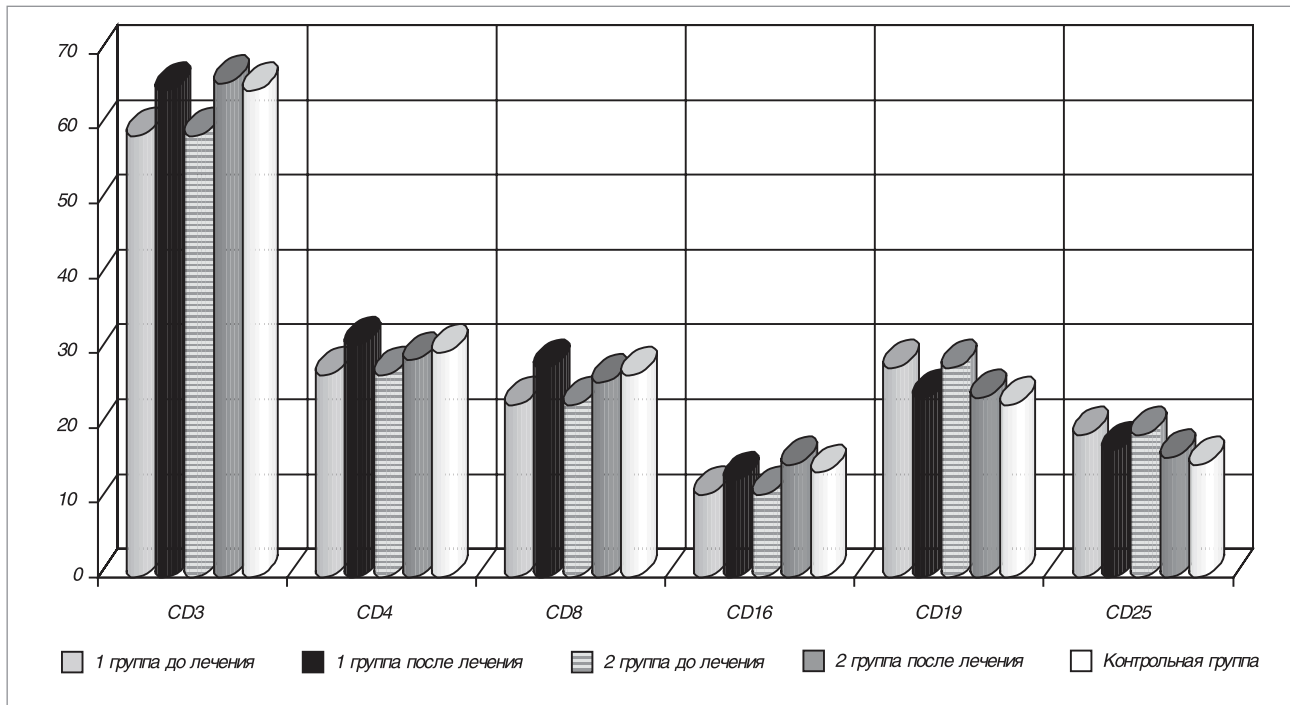


Рис. 4. Динамика показателей количества субпопуляций лимфоцитов у обследованных детей в процессе терапии.

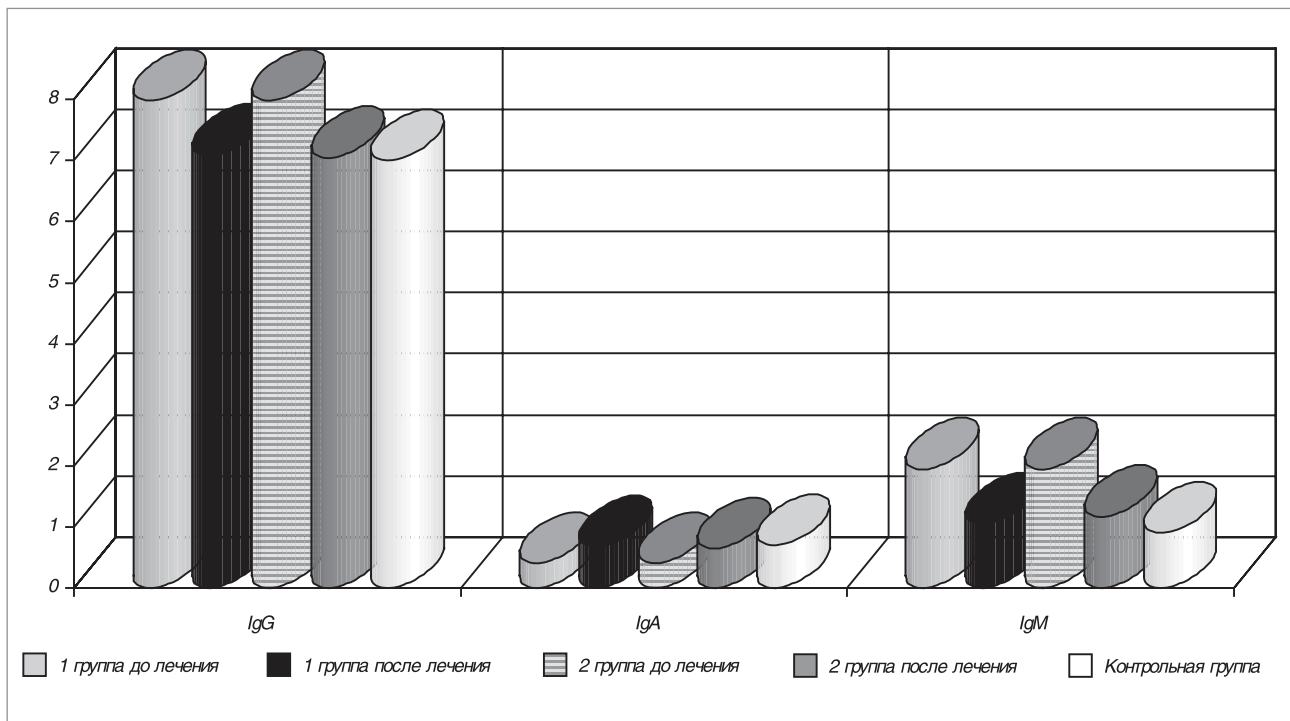


Рис. 5. Показатели концентрации иммуноглобулинов у обследованных детей в процессе терапии.

Анализ показателей фагоцитарной функции выявил повышение всех исходно сниженных значений фагоцитоза, особенно применительно к фагоцитарному числу ( $p < 0,05$ ), индексу завершенности фагоцитоза и стимулированному НСТ-тесту (рис. 3), что указывает на нормализацию фагоцитарного потенциала макро- и микрофагов вследствие терапии Флавозидом.

На оптимизацию иммунорегуляторных свойств макрофагов указывают результаты исследования субпопуляций лимфоцитов (рис. 4). Установлено увели-

чение количества CD3, CD4, CD8, CD16 ( $p < 0,05$ ), что является показателем усиления общего защитного противомикробного потенциала иммунной системы, а также маркером активации противовирусного иммунитета за счет восстановления количества естественных и цитотоксических киллеров. Об иммунорегуляторном действии Флавозида свидетельствуют параллельное снижение уровней CD19 и CD25 ( $p < 0,05$ ), а снижение количества CD25 указывает на ослабление гиперактивности воспалительного процесса у пациентов групп наблюдения, что является

Содержание активных метаболитов оксида азота в сыворотке крови

Показатель	Группа пациентов						контрольная
	I			II			
	до лечения	через 2 недели терапии	после лечения	до лечения	через 2 недели терапии	после лечения	
Активные метаболиты оксида азота, мкмоль/л	16,98	17,39*	17,08	17,05	17,42*	17,10	16,81

\* – Достоверность различий показателей до и после лечения,  $p < 0,05$ .

положительным моментом для предупреждения истощения защитных реакций.

Также с целью определения системного значения снижения CD19 были исследованы уровни сывороточных иммуноглобулинов (рис. 5). Зарегистрировано уменьшение исходно высокой концентрации IgG и M ( $p < 0,05$ ) до нормальных значений за счет активизации клеточного звена иммунитета и подавления общего напряжения иммунитета. Так как эти данные фиксировались параллельно со снижением уровней специфических ВПГ-1 и ЦМВ антител, выявленный эффект можно расценивать как восстановление физиологических параметров иммунной системы в условиях купирования хронической вирусной инфекции.

Учитывая наличие ВИД у детей групп наблюдения, важным является сохранность показателей гуморального звена иммунитета в пределах нормальных возрастных значений, способных оказывать протективный противомикробный эффект. Об этом свидетельствует повышение (нормализация) содержания сывороточного IgA, что является проявлением устранения иммуносупрессивного действия ВПГ-1 и ЦМВ при их длительной латентной персистенции у пациентов.

Для более точного определения состояния противовирусного потенциала иммунитета и точной оценки иммунорегуляторного эффекта Флавозида у детей групп наблюдения определялся уровень  $\gamma$ -ИФН (рис. 6). Повышение концентрации  $\gamma$ -ИФН в обеих группах ( $p < 0,05$ ) демонстрирует способность Флавозида усиливать клеточные (противовирусные) иммунные реакции в условиях повышенной потребности, что обеспечивает дополнительное положительное действие по элиминации внутриклеточных (в том числе вирусных) патогенов. Установленный эффект является важным фактором, обеспечивающим успех терапии герпесвирусной инфекции, при которой необходимо комплексное этиологическое и иммуотропное воздействие.

Кроме того, за счет ингибирующего действия  $\gamma$ -ИФН на синтез IgE Флавозид® способен уменьшать сенсibilизирующее влияние микробных антигенов и токсинов на организм ребенка. Установленный эффект в отношении увеличения концентрации  $\gamma$ -ИФН указывает на целесообразность использования данного препарата при лечении детей с сопутствующей аллергической патологией с целью иммунной коррекции (подавления) аллергической воспалительной реакции.

Учитывая, что  $\gamma$ -ИФН способен индуцировать NO-синтазу и повышать концентрацию оксида азота (NO) [3], играющего важную роль в защите организма от вирусной персистенции, в ходе работы

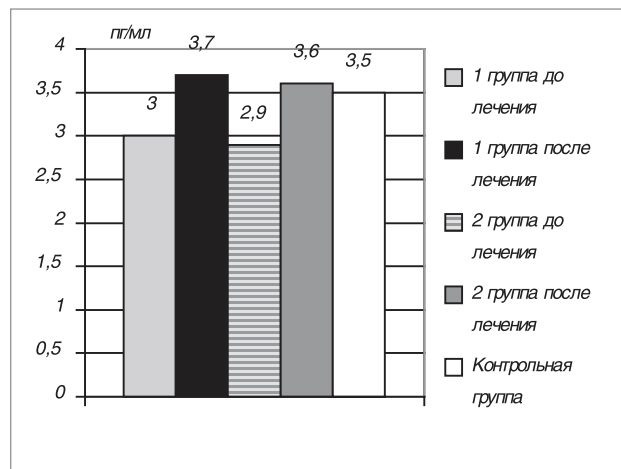


Рис. 6. Показатели концентрации  $\gamma$ -ИФН у обследованных детей в процессе терапии.

определялась концентрация активных метаболитов NO в сыворотке крови пациентов (см. таблицу).

В процессе терапии Флавозидом было установлено повышение концентрации активных метаболитов NO, что указывает, с одной стороны, на дополнительный биохимический аспект противовирусного действия препарата, а с другой – о влиянии  $\gamma$ -ИФН на активацию NO-зависимого звена ингибирования вирусов. Роль  $\gamma$ -ИФН в этом процессе подтверждается тем, что после окончания терапии концентрация активных метаболитов NO остается повышенной, так же как и  $\gamma$ -ИФН. Этот эффект является положительным, так как NO уничтожает множество различных патогенов или останавливает их рост, что особенно важно для детей с ВИД в программе их реабилитации и профилактики бактериальных осложнений.

Таким образом, применение Флавозида при лечении детей с хронической ВПГ-1 или ЦМВ-инфекцией на фоне сопутствующего ВИД продемонстрировало его поликомпонентную противовирусную и иммунную активность. Эрадикация герпес-вирусов при использовании Флавозида способна снизить антигенную нагрузку на организм ребенка с патологией иммунитета, скорректировать физиологические защитные реакции и уменьшить вирус-индуцированный иммунодефицит.

Комплекс установленных эффектов (вирусингибирующий, интерферогенный, иммуотропный, биохимический NO-зависимый) определяет высокую эффективность препарата и позволяет рекомендовать Флавозид® в качестве этиопатогенетического средства первой линии в комплексной терапии ВПГ-1 и ЦМВ-инфекции у детей со вторичным иммунодефицитным состоянием.

**Литература**

1. Андрейчин М.А., Чоп'як В.В., Господарський І.Я. Клінічна імунологія та алергологія. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 370 с.
2. Богадельников И.В. Герпесвирусы в организме человека: наказание или благо? // Новости медицины и фармации. – 2006. – № 20–22. – С. 14–15.
3. Дранник Г.М., Свідро О.В. TORCH-інфекції: герпес // Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія. – 2006. – № 1. – С. 68–73.
4. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передающихся половым путем. – М.: Мед. литература. – 2004. – 272 с.
5. Оксид азота в механизмах патогенеза внутриклеточных инфекций / Проскураков С.Я., Бикетов С.И., Иванников А.И., Скворцов В.Г. // Иммунология. – 2000 – № 4. – С. 9–19.
6. Calabrese V., Bates T.E., Stella A.M. NO-synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neuro-degenerative disorders: role oxidant/antioxidant balance // Neurochem. Res. – 2000. – № 25. – P. 1315–1341.

**ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕТИЧНОЇ ТА ЦИТОМЕГАЛОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ ІЗ ВТОРИННИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ**

*Л.С. Овчаренко, А.О. Вертегел, Т.Г. Андриєнко, В.П. Медведєв, І.І. Редько, Н.В. Жихарева, І.В. Самохін*

**Резюме.** Дослідженням встановлено, що рослинний препарат Флавозід® є ефективним засобом етіопатогенетичної терапії ВПГ-1 і ЦМВ-інфекції у дітей із вторинним імунодефіцитом. Флавозід® має противірусну дію, що реалізується у тому числі через посилення синтезу оксиду азоту. Доведений його імунотропний ефект, що характеризується активацією фагоцитозу і клітинної ланки імунітету, а також збільшенням продукції γ-інтерферону. Вплив Флавозиду є полікомпонентним, відповідає сучасним вимогам, що дозволяє застосовувати його в якості препарату вибору при лікуванні дітей із ВПГ-1 та ЦМВ-інфекціями.

**Ключові слова:** діти, герпес, цитомегаловірус, імунодефіцит, γ-інтерферон, оксид азоту.

**THE TREATMENT OF HERPES AND CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN CHILDREN WITH THE SECOND IMMUNE DEFICIT**

*L.S. Ovcharenko, A.A. Vertegel, T.G. Andrienko, V.P. Medvedev, I.I. Redko, N.V. Zhihareva, I.V. Samohin*

**Summary.** The vegetable preparation Flavozidum® is the effective mean of etiopathogenetic therapy of HSV-1 or CMV-infection in children with the second immune deficit in research is set. The Flavozidum® possesses the antiviral action, realized through increasing of nitric oxide synthesis, inclusive. The Flavozidum® immune effect characterizes by activating of phagocytosis and cellular link of immunity, increase of γ-interferon synthesis. The action of Flavozidum® is policomponent and answers the modern requirements for the inclusion in the program of HSV-1 or CMV-infection therapy as a mean of the first line in children.

**Key words:** children, herpes, cytomegalovirus, immune deficit, γ-interferon, nitric oxide.