

Интерферон альфа-2

В комплексной иммунотерапии хронического упорно-рецидивирующего орофациального герпеса

И. В. Нестерова*, доктор медицинских наук, профессор

С. В. Ковалева**, кандидат медицинских наук

Л. В. Ломтатидзе**, кандидат биологических наук

Л. Н. Кокова**, кандидат медицинских наук

**РУДН, Москва*

***Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар*

Ключевые слова: интерферонкорректирующая терапия, герпес, заместительная терапия, противовирусный иммунитет, Виферон.

Интерфероны (ИФН) относятся к классу индуцибельных белков позвоночных и представляют собой гликопротеиды с молекулярной массой 20—30 кД. ИФН были открыты в 1957 г. Айзексом и Линдеманом [3] как факторы, определяющие феномен интерференции.

т. е. распространение явления невосприимчивости к повторному заражению различными вирусами, возникшей при первом контакте с другим вирусом. Ранее по происхождению различали три вида ИФН (альфа, бета и гамма) и два типа — I и II. ИФН-альфа — вирусный или лейкоцитарный ИФН, в основном продуцируется лейкоцитами, в том числе Т- и В-лимфоцитами, макрофагами, нейтрофильными гранулоцитами (НГ), эпителиальными клетками, плазматонными дендритными клетками (пДК.) и т. д. ИФН-бета — вирусный или фибробластный ИФН, продуцируется фибробластами, ИФН-бета — иммунный — регуляторный ИФН, в основном продуцируется Т-лимфоцитами и естественными киллерными клетками (ЕКК). ИФН-альфа и ИФН-бета объединены в [тип, а ИФН-гамма отнесен ко II типу ИФН. В настоящее время уже известно, что I тип семейства человеческих ИФН включает еще и дополнительные виды, например ламбда, каппа, омега, ню. ИФН I и II типа реализуют свои эффекты через когнитивные рецепторные комплексы — соответственно интерфероновый альфа-рецептор (IFNAR) и интерфероновый гамма-рецептор (IFNGR), присутствующие на поверхностных мембранах различных клеток [18]. При первом контакте с вирусами происходит немедленная активация врожденного иммунитета, в частности, продукция интерферонов I типа (ИФН) и провоспалительных цитокинов, которые инициируют последующее более позднее включение в активную работу механизмов противовирусного адаптивного иммунитета. Выделившиеся из инфицированных вирусами клеток. ИФН I типа воздействуют на соседние незараженные клетки, активируя в них противовирусные защитные механизмы, создавая в них, таким образом, состояние, которое называют «противовирусным статусом». Вирусы, высвобождаемые из первично инфицированных клеток, неэффективно реплицируются в клетках, которые стали находиться в состоянии «противовирусного статуса» [9].

По мнению Malmgaard L. (2004) [5] ИФН являются краеугольным камнем врожденного противовирусного иммунитета и играют центральную роль в исходе вирусных инфекций, т. к. система ИФН обладает универсальным по своей сути механизмом уничтожения чужеродной ДНК и РНК. Действие ее направлено на распознавание, уничтожение любой генетически чужеродной информации (вирусов, бактерий, хламидий, микоплазм, патогенных грибов, опухолевых клеток и т. д.). Кроме выраженного противовирусного действия, система ИФН обладает также иммуномодулирующим, противоопухолевым, антипролиферативным эффектами.

LevinS. и HahnT. еще в 1981 году [4] продемонстрировали, что при острой вирусной инфекции значительно повышаются уровни ИФН и более 70% клеток находятся в состоянии анти-вирусного статуса, т. е. защищены ИФН от заражения вирусами, во время как при тяжелых вирусных инфекциях система ИФН дефектна, т. е. находится в состоянии функционального дефицита. Описано, что острая вирусная инфекция может приводить к истощению системы ИФН — транзиторной иммуносупрессии, что может в свою очередь приводить к присоединению вторичной инфекции. Не так давно описаны врожденные дефекты IFNAR-2 и IFNGR, которые сопровождались клиническими проявлениями снижения противовирусной резистентности [5, И].

В то же время показано, что вирусы могут не только ускользать от воздействия ИФН, но и ингибировать их действие, нарушая их продукцию посредством разнообразных механизмов. Продемонстрировано, что большое количество вирусов продуцирует белки, имеющие возможность ингибировать синтез и продукцию ИФН-альфа и ИФН-гамма [10]. Герпесвирусы способны не только ускользать от внимания системы ИФН, но и активно используют контрмеры для борьбы с системой ИФН, блокируя различные механизмы, отвечающие за продукцию и секрецию ИФН-альфа, ИФН-бета, ИФН-гамма [6—8]. Описаны вторичные (приобретенные) дефекты в системе ИФН у лиц, страдающих повторными ОРВИ и различными герпесвирусными инфекциями, при этом в ряде случаев частота рецидивов хронической герпетической (HSV1) инфекции может достигать 16—24 эпизодов в год [2]. В то же время малоизученным, но чрезвычайно актуальным остается вопрос об особенностях состояния ИФН-статуса и других базисных механизмов противовирусного иммунитета у лиц, страдающих хронической герпе-

тической (HSV1) инфекцией с частыми рецидивами. Не менее актуальным, с нашей точки зрения, является определение значимости роли терапии ИФН-альфа и поиск адекватных методов интерфероно- и иммунотерапии при указанной патологии.

Целью исследования явилось изучение состояния системы интерферонов и основных механизмов противовирусного иммунитета при хроническом орофациальном герпесе, характеризующемся упорно-рецидивирующим течением, с дальнейшей разработкой методов интерфероно- и иммунотерапии.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 108 пациентов обоего пола (35 мужчин и 73 женщины), в возрасте от 20 до 55 лет, страдающих хроническим орофациальным герпесом, упорно-рецидивирующего течения. Частота рецидивов составила от 16 до 24 и более эпизодов в год. Давность заболевания колебалась от 1,5 до 10 и более лет. Ранее все пациенты получали лечение синтетическими противовирусными препаратами (Зовиракс (ацикловир), Валтрекс (валацикловир)). Однако проводимое лечение не предупреждало рецидива заболевания. Разработаны клинические критерии, характеризующие клинические особенности проявлений болезни, оценивающие тяжесть болезни, наличие и длительность продромального периода, лихорадку, длительность острого периода, болевой синдром, лимфоаденопатию, количество очагов и общую площадь кожно-слизистых поражений, быстроту выхода в ремиссию и длительность ремиссии. Наличие HSV1 в 100% случаев подтверждено методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и серодиагностики в периоде обострения заболевания. Оценка состояния пациентов с использованием клинических критериев проводилась трижды: до лечения, сразу же после лечения и через год после окончания курса интерфероно- и иммунотерапии.

Для оценки ИФН-статуса использовали метод Григорян С. С. и Ершова Ф. И. (1996) [1], с определением, в том числе, индуцированной продукции ИФН-альфа (индуктор — вирус Нью-Кастла) и ИФН-гамма (индуктор — стафилококковый энтеротоксин) в культуре мононуклеаров. Тестирование состояния основных клеточных механизмов врожденного и адаптивного противовирусного иммунитета проводили методом проточной цитометрии, используя проточный цитометр FACScan (Becton Dickinson, USA), после пробоподготовки цельной крови. Были использованы панели специфических моноклональных антител производства Immunotech (Beaman Coulter) к поверхностным антигенам лимфоцитов. Определяли количество CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD56⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺HLA-DR⁺, CD8⁺HLA-DR⁺, CD8⁺CD25⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD56⁺HLA-DR⁺, CD19⁺. Определение концентрации сывороточных IgG, IgM, IgA проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, активность оксидазных микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов (НГ) методом хемилюминесценции. Исследования ИФН-статуса и состояния иммунной системы проводили дважды: до и после лечения. Весь материал был подвергнут статистической обработке с использованием методов вариационной статистики с расчетом средних величин (M), ошибок средних величин ($\pm m$) средних квадратичных отклонений ($\pm \delta$). Достоверность различия между отдельными средними величиной определялась с помощью t-Критерий Стьюдента. Наблюдаемые различия считались не случайными, когда вероятность «р» ошибочного принятия нулевой гипотезы не превышала 0.5. Вычисления проводились с использованием компьютерной программы Biostat 4.0 для Windows и DOM IBM-PC

Результаты и обсуждение

Проведено клинко-анамнестическое исследование, в котором были оценены особенности клинической картины хронического орофациального герпеса, имевшего упорно-рецидивирующее течение. Оценка проводилась в соответствии с разработанными нами клиническими критериями. Так, частота обострений хронического орофациального герпеса составила в среднем $19,6 \pm 0,5$ эпизода в год, при этом длительность продромального периода от 6 до 24 часов имела место у 67,6% пациентов, в то время как более длительный продромальный период — от 25 до 48 часов — был отмечен у 32,4% пациентов. Тяжесть проявлений болезни в остром периоде была различной, однако следует отметить преобладание легкого течения болезни — в более чем 70% случаев. Длительность острого периода колебалась, на фоне лечения синтетическими противовирусными препаратами, от 7 до 14 дней и составила $10,9 \pm 0,3$ дня. Повышение температуры, познабливание, головная боль, изменение настроения в продромальном периоде и в первые 2—3 суток обострения болезни отмечены у 39,8%, выраженный болевой синдром — у 66,6%, лимфоаденопатия — у 52,8% пациентов. Как правило, кожно-слизистые очаги инфекции локализовались в типичных для пациента местах (верхняя и нижняя губы, крылья носа, носовые ходы, подбородок, щеки, ротовая полость). Количество очагов колебалось от I до 3. Общая площадь кожно-слизистых поражений составляла от 2,0 см² до 6 см², в среднем — $4,9 \pm 0,1$ см². Длительность ремиссии колебалась от 11 до 25 дней и составляла в среднем $18,9 \pm 0,4$ дня.

Дефекты ИФН-статуса были выявлены в 100,0% случаев, при этом у всех пациентов имело место значительное нарушение индуцированной продукции ИФН-альфа, а у 73,1% — ИФН-гамма. Различные нарушения Т-клеточного звена иммунной системы (дефицит CD3⁺, и/или CD3⁺CD4⁺, и/или CD3⁺CD8⁺, и/или CD3⁺CD56⁺, повышение количества CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов) обнаружены у 76,9% пациентов, дефицит естественных клеток-киллеров (ЕКК) (CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺) — у 47,2%, гуморального звена (дефицит IgG и/или IgM) — у 29,6%, нейтрофильных гранулоцитов (нейтропения и/или дефект оксидазных систем) — у 66,7% пациентов. Таким образом, у всех пациентов преобладали комбинированные нарушения ИФН-статуса и иммунной системы в тех или иных комбинациях. Обращает внимание, что нарушения индуцированной продукции ИФН-альфа *in vitro* были выявлены во всех наблюдаемых случаях хронического упорно-рецидивирующего орофациального герпеса, вызванного HSV1. Как правило, уровни индуцированного ИФН-альфа были значительно ниже нижней границы референсных значений. Эта находка свидетельствует о невозможности системы ИФН больных с хронической HSV1-инфекцией при контакте с вирусной нагрузкой *in vivo* отвечать адекватным синтезом и секрецией ИФН-альфа. т. е. фактически о блокаде синтеза и секреции ИФН-альфа. Из этого следует, что система ИФН таких больных не способна адекватно отвечать на индукторы. При этом можно предположить, что даже если в первый момент их использования возможен минимальный ответ, то в дальнейшем система ИФН может быть надолго выведена из строя. Именно поэтому, с нашей точки зрения, просматривается отчетливая необходимость проведения на первых этапах лечения хронической упорно-рецидивирующей герпетической инфекции заместительной интерферонкорректирующей терапии, направленной на восстановление циркулирующего в крови ИФН-альфа до уровня, который был бы достаточен для осуществления полноценной противовирусной защиты и, по-возможности,, максимальной элиминации вируса.-

При этом следует отметить, что использовалось последовательное чередование курсов Изопринозина и Ликопада на фоне базисной виферонотерапии.

С учетом того факта, что возможность элиминировать вирусы группы герпеса существует лишь в период их репликации, т. е. в период обострения, выстраивалась и тактика лечения. В остром периоде в начале проводимой терапии или в периоде обострения герпетической инфекции на первых этапах лечения доза Виферона удваивалась и подключались дополнительно: синтетический противовирусный препарат Фамвир (750 мг/сутки) на 5/7/10 дней, параллельно проводилась локальная терапия — Виферон гель с частотой обработки зоны слизисто-кожных поражений до 5—7 раз в сутки в течение 5/7/10 дней. Длительность терапии, проводимой в остром периоде, зависела от быстроты регрессии клинических проявлений.

На фоне проводимой терапии имела место позитивная клинико-иммунологическая динамика. Так, через год после окончания курса интерфероно- и иммунотерапии количество рецидивов хронического орофациального герпеса уменьшилось в 6,3 раза, — с $19,6 \pm 0,5$ до $3,4 \pm 0,08$ ($p < 0,001$). При этом более чем у 50% пациентов частота обострений составила не более 1—2 раз за год. Длительность продромального периода уменьшилась в 3,5 раза, а в ряде случаев (47,2%) он не имел какой-либо выраженности вообще. Отмечено, что повышение температуры, познабливание, головная боль, изменение настроения в продромальном периоде и в первые 2—3 суток обострения болезни, выраженный болевой синдром, лимфоаденопатия, наблюдаемые ранее, регрессировали полностью. Значительно уменьшилась выраженность клинических проявлений в остром периоде и его длительность. Так, если ранее длительность острого периода колебалась, на фоне лечения синтетическими противовирусными препаратами, от 7 до 14 дней и составляла в среднем $10,9 \pm 0,3$ дня, то через год после лечения она уменьшилась до $4,2 \pm 0,3$ ($p < 0,05$). Площадь кожно-слизистых очагов поражений уменьшилась в 2—2,5 раза. Значительно увеличилась длительность ремиссии с $18,9 \pm 0,4$ до $113,9 \pm 3,7$ ($p < 0,001$) дней (табл.).

Полное восстановление индуцированной продукции ИФН-альфа имело место у 66,7% пациентов, выраженная тенденция к восстановлению — у 24,1%, а сохраняющееся нарушение ответа на индукцию в системе *in vitro* — у 9,2% пациентов. По всей видимости, в последних случаях наблюдались врожденные дефекты синтеза ИФН-альфа, что коррелировало с клиническими проявлениями болезни — эти пациенты болели с детства, хуже всех ответили на лечение и нуждались в проведении дальнейшей заместительной интерферонотерапии. Восстановление уровней индуцированной продукции ИФН-гамма продемонстрировали 81,5% больных. Позитивная динамика восстановления Т-клеточного звена иммунной системы отмечена в 84,3% случаев, ЕКК — в 81,5%, гуморального звена — в 76,9%, количества и фагоцитарной активности НГ — в 86,1% и 91,6% случаев соответственно.

С нашей точки зрения, базисная пролонгированная терапия Вифероном является патогенетически обоснованным методом лечения хронического орофациального герпеса, имеющего упорно-рецидивирующее течение, поскольку хронизация и упорное рецидивирование инфекционного процесса связаны, в первую очередь, с дефектами функционирования системы ИФН и сочетающимися с ними различными повреждениями Т-клеточного звена иммунитета, ЕКК, гуморального звена, системы НГ, что можно трактовать как первичный или вторичный иммунодефицит (ИД) с вирусным инфекционным синдромом. В этих случаях базисная интерферонотерапия — дифференцированная виферонотерапия высокими, средними и низкими дозами при комбинированных ИД — должна сочетаться с направ-

ленной иммуномодулирующей терапией, способствующей оптимизации восстановления дефектных звеньев противовирусного иммунитета. При этом, с нашей точки зрения, необходимо учитывать и различную по степени выраженности вирусного инфекционного синдрома и особенности нарушений иммунную систему при ИД. Заместительная терапия Вифероном показана лицам, имеющим первичные, генетически обусловленные, врожденные или приобретенные нарушения в системе ИФН. В случаях наличия первичных нарушений в системе ИФН пациенты нуждаются в проведении базисного курса восстановительной терапии, дающего возможность максимально элиминировать вирусные антигены, а далее необходимо осуществить подбор доз для проведения постоянной заместительной терапии Вифероном. Лицам с приобретенными поражениями в системе ИФН после проведения курса базисной терапии, как правило, показана иммунопрофилактика в критические для пациента периоды. В таких случаях иммунопрофилактика должна проводиться более низкими дозами препарата.

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что применение Виферона у пациентов с упорно-рецидивирующими инфекциями, вызванными HSV1, имеет серьезное этио- и иммунопатогенетическое обоснование. Именно эти пациенты имеют глубокие нарушения в системе ИФН, выражающиеся в первую очередь в дефектах индуцированного синтеза ИФН-альфа и ИФН-гамма, что диктует необходимость проведения заместительной интерферонотерапии адекватными дозами Виферона на первом этапе лечения, с последующим снижением доз препарата вплоть до окончательной отмены. Проведение на этом фоне последовательной иммуномодулирующей терапии Изопринозином и Ликопадом дает выраженную иммунологическую эффективность за счет восстановления, более чем у 75% пациентов, нормального функционирования дефектных звеньев противовирусного иммунитета, что, в свою очередь, обуславливает позитивную клиническую эффективность у 84,3% пациентов, страдающих хроническим упорно-рецидивирующим орофациальным герпесом. ■

Литература

1. Григорян С. С., Ершов Ф. Я. Методические принципы определения интерферонового статуса. Система интерферона в норме и при патологии. М., 1996. С. 147—155.
2. Нестерова И. В., Малиновская А. В., Тараканов В. А., Ковалева С. В. Интерфероно- и иммунотерапия в практике лечения часто и длительно болеющих детей и взрослых. Изд.: Capricorn Publishing Inc., 2004. 160 с.
3. Isaacs A., Lindenmann J. Virus interference 1. The interferon // Proc. R. Soc. London Ser. B Biol. Sci. 1957. Vol. 147. P. 258—267.
4. Levin S., Hahn T. Evaluation of the human interferon system in viral disease // Clin. Exp. Immunol. 1981. Vol. 46. P. 475—483.
5. Medmggaard L. Induction and regulation of IFNs during viral infections // J. Interferon Cytokine Res. 2004. Vol. 24. № 8. P. 439—454.
6. Melciyorsen J., Malikumen S., Paludan S. R. Activation and Evasion of Innate Antiviral Immunity by Herpes Simplex Virus // Viruses. 2009. Vol. 1. P. 737—759.
7. Mossman K. L., Ashkar A. A. Herpesviruses and the innate immune response // Viral Immunol. 2005. Vol. 18, № 2. P. 267—281.
8. Paladino P., Mossman K. L. Mechanisms Employed by Herpes Simplex Virus 1 to Inhibit the Interferon Response // Journal of Interferon & Cytokine Research. 2009. Vbl. 29, № 9. P. 599-608.
9. Randall R. E., Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures // J. Gen. Virol. 2008. Vol. 89. P. 1-47.
10. Weber E., Kochs G., Haller O. Inverse interference: how viruses fight the interferon system // Viral Immunol. 2004. VÖl. 17, № 4. P. 498—515.
11. Zhang S. Y., Poisson-Dupuis S., Chappier A. et al. Inborn errors of interferon (IFN)-mediated immunity in humans: insights into the respective roles of IFN-alpha/beta, IFN-gamma, and IFN-lambda in host defense // Immunol. Rev. 2008. Vol. 226. P. 29-40.