

© Коллектив авторов, 2020

Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е.

Коррекция мукозального иммунитета и противовирусная терапия часто рецидивирующих хронических тонзиллитов/фарингитов с локальной репликацией герпес-вирусов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Недостаточная эффективность традиционных методов лечения хронических тонзиллитов/фарингитов (ХТ/ХФ), приводит к необходимости более глубокого изучения этио- и иммунопатогенеза этих состояний и поиску новых подходов к терапии таких пациентов.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей мукозального иммунитета у пациентов с хроническим часто рецидивирующим воспалением ротоглотки в сочетании с локальной репликацией вирусов герпес-группы (вирус Эпштейна–Барр, вирус герпеса человека 6-го типа, цитомегаловирус) и оценка клинико-лабораторной эффективности комбинированной терапии.

Материал и методы. В исследование включены 70 пациентов, которые получали комбинированную терапию. До и после лечения проводились анкетирование, посев из ротоглотки на бактериальную флору, количественное определение ДНК герпес-вирусов и определение концентрации α -дефензинов HNP1-3, кателицидина LL-37, лактоферрина, sIgA в слюне.

Результаты. На фоне лечения отмечались снижение доли патогенной микрофлоры, частоты выявляемости и вирусной нагрузки герпес-вирусов, восстановление факторов мукозального иммунитета в ротоглотке пациентов исследуемой группы, а также снижение частоты рецидивов ХТ/ХФ через год после лечения.

Заключение. Доказана клинико-лабораторная эффективность комбинированной терапии часто рецидивирующих ХТ/ХФ.

Ключевые слова: герпес-вирусы; мукозальный иммунитет; антимикробные пептиды; валацикловир; Имунфан® спрей назальный

Статья поступила 21.09.2020. Принята в печать 16.10.2020.

Для цитирования: Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Коррекция мукозального иммунитета и противовирусная терапия часто рецидивирующих хронических тонзиллитов/фарингитов с локальной репликацией герпес-вирусов. Иммунология. 2020; 41 (6): 540–548. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-6-540-548>

Финансирование. В рамках тематического плана осуществления прикладных научных исследований и разработок в сфере здравоохранения, выполняемых ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России по государственному заданию на 2016–2020 гг. по соглашениям №№ 388-00049-16, 388-03-108, 388-03-2018-179, 388-03-2019-110, 388-02-2020-008.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Щубелко Розалия Васильевна –
кандидат медицинских наук,
научный сотрудник,
врач-аллерголог-иммунолог
отделения общей аллергологии
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии»
ФМБА России, Москва,
Российская Федерация
E-mail: spapharia@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6993-9831>

Shchubelko R.V., Zuykova I.N., Shulzhenko A.E.

Correction of mucosal immunity and antiviral therapy of frequently recurrent chronic tonsillitis/pharyngitis with local replication of herpes viruses

National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, 115522, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Insufficient effectiveness of traditional methods of treatment of chronic tonsillitis/pharyngitis (CT/CF), leads to the need for a deeper study of the ethio- and immunopathogenesis of these conditions and the search for new approaches to the treatment of such patients.

Aim – to study the features of mucosal immunity in patients with chronic often recurrent oropharyngeal inflammation in combination with local replication of herpes group viruses (Epstein–Barr virus, Human Herpes Virus 6, Cytomegalovirus) and to evaluate the clinical and laboratory effectiveness of combined therapy.

Material and methods. The study included 70 patients who received combination therapy. Before and after treatment, they conducted questionnaires, oropharyngeal culture for bacterial flora, quantitative determination of herpes virus DNA, and determination of the concentration of α -defensins (HNP1–3), catelicidin LL-37, lactoferrin, and sIgA in saliva.

Results. On the background of treatment was a reduction in the proportion of pathogenic microflora, the rate of detection and viral load herpes viruses, recovery factors, mucosal immunity in the oropharynx of patients of the study group, as well as decrease the frequency of relapses HT/HF in a year after treatment.

Conclusion. The clinical and laboratory effectiveness of combined therapy of frequently recurrent CT/CF has been proved.

Keywords: herpes viruses; mucosal immunity; antimicrobial peptides; valacyclovir; Imunofan® nasal spray

Received 21.09.2020. Accepted 16.10.2020.

For citation: Shchubelko R.V., Zuykova I.N., Shulzhenko A.E. Correction of mucosal immunity and antiviral therapy of frequently recurrent chronic tonsillitis/pharyngitis with local replication of herpes viruses. *Immunologiya*. 2020; 41 (6): 540–8. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-6-540-548> (in Russian)

Funding. As part of the thematic plan for the implementation of applied research and development in the field of healthcare, performed by the Federal state budgetary institution «SSC Institute of immunology» of the FMBA of Russia under the state task for 2016-2020. NN 388-00049-16, 388-03-108, 388-03-2018-179, 388-03-2019-110, 388-02-2020-008.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For correspondence

Rosalia V. Schubelko –
PhD, Researcher,
Allergist-immunologist
of the Department
of General Allergology,
NRC Institute of Immunology,
FMBA of Russia, Moscow,
Russian Federation
E-mail: spapharia@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6993-9831>

Введение

Воспалительные заболевания ротоглотки (тонзиллиты/фарингиты) встречаются чаще среди лиц трудоспособного возраста, и в последние годы отмечаются увеличение частоты перехода их в хронические формы и тенденция к рецидивированию [1].

Понимание роли этиологических факторов, провоцирующих частые рецидивы хронических тонзиллитов/фарингитов (ХТ/ХФ), является первым шагом в решении проблемы. Так, бактериальные патогены – причинно-значимые факторы острого воспаления ротоглотки – часто не имеют ключевого значения при хронизации процесса [2–4]. В последние годы в качестве этиологических агентов, провоцирующих поддержание хронического воспаления ротоглотки, стали рассматривать герпес-вирусы – вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ 6) и цитомегаловирус (ЦМВ) [5–7].

Активность патогенов в макроорганизме зависит от эффективности иммунной защиты, которая в нормальном состоянии ограничивает бесконтрольное размножение и распространение инфекционного агента. Воспалительные процессы, локализованные в ротоглотке, в первую очередь контролируются иммунитетом слизистых оболочек – мукозальным иммунитетом. Мукозальный иммунитет орофарингеальной слизистой

обеспечивается лимфоидной тканью – организованной (лимфоидные миндалины ротоглотки) и диффузной (лимфоидные клетки слизистого, подслизистого слоев, собственной пластинки), а также защитными белками и пептидами слюны [8, 9]. Среди защитных факторов слюны важное место занимают антимикробные пептиды (АМП), которые являются ключевыми компонентами врожденного иммунитета. Эти консервативные молекулы секретируются фагоцитами и эпителиальными клетками и обладают широким спектром антимикробной активности в отношении бактерий, грибов, простейших и вирусов. Благодаря тому, что АМП содержатся в слизи и других жидкостях, находящихся на границе между клетками макроорганизма и окружающей среды, они представляют первую линию защиты, осуществляя первичный неспецифический контакт с патогеном. Очевидно, что дисфункция мукозального иммунитета слизистых оболочек может приводить к активации местной патогенной или условно-патогенной микрофлоры с формированием хронического воспаления [10–14].

Главной мишенью существующих методов лечения пациентов с инфекционным процессом являются причинно-значимые патогены, и суть этих методов в основном сводится к использованию антимикробных химиопрепаратов. Однако постоянное применение ан-

тибактериальной терапии при хроническом рецидивирующем воспалении приводит к развитию лекарственной устойчивости бактериальных патогенов, системным побочным эффектам и не предотвращает возникновение рецидивов воспалительного процесса в ротоглотке [15, 16]. Что касается противовирусной терапии, в настоящее время в отношении локальной репликации герпес-вирусов (ВЭБ, ВГЧ 6, ЦМВ) не изучены ни минимально эффективные дозы противовирусных химиопрепаратов, ни длительность лечения, ни его эффективность.

Иммунотерапия обладает рядом преимуществ перед традиционным этиотропным лечением: не воздействуя непосредственно на микроорганизмы, иммуномодуляторы предоставляют возможное решение проблемы лекарственной устойчивости в отношении химиопрепаратов, позволяют значительно расширить подходы к лечению пациентов с недостаточностью противоинфекционной защиты, обладают потенциально широким спектром активности в отношении патогенов [15–17].

Целью настоящего исследования стало изучение особенностей мукозального иммунитета у пациентов с хроническим часто рецидивирующим воспалением ротоглотки в сочетании с локальной репликацией вирусов герпес-группы (ВЭБ, ВГЧ 6, ЦМВ) и оценка клинико-лабораторной эффективности комбинированной терапии.

Материал и методы

Критерии включения/невключения в исследование. Настоящее исследование проведено на базе отделения общей аллергологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России в 2015–2019 гг. В исследование включены 70 пациентов – 23 (33 %) мужчины и 47 (67 %) женщин в возрасте от 18 до 70 лет, которые обращались амбулаторно по поводу частых обострений хронических воспалительных заболеваний ротоглотки. Исследование проведено в соответствии с разрешением локального комитета по этике ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России с письменного информированного согласия пациентов и добровольцев, выполнялось строго в рамках Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. и протокола конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г.

В среднем частота обострений хронического воспаления ротоглотки составила не менее 5 раз в год, средний показатель по группе – $5,98 \pm 0,17$ раз в год. Длительность анамнеза часто рецидивирующего течения ХТ/ХФ у пациентов, включенных в исследование, составила в среднем $3,14 \pm 0,22$ года, а средняя продолжительность обострения – $9,34 \pm 0,33$ дня.

Критериями включения являлись наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании пациентов обоего пола в возрасте 18–70 лет с документально подтвержденным диагнозом ХТ/ХФ, диагностированным специалистом не ранее чем за 12 мес до включения в исследование, частота рецидивов ХТ/ХФ не менее 4 раз в год, ХТ/ХФ вне периода

обострения; для женщин – наличие отрицательного теста на беременность. Пациенты не должны были получать противовирусную (ациклическими нуклеозидами) и/или любую иммуномодулирующую терапию за 3 мес до включения в исследование.

Критериями неключения являлось наличие ХТ токсико-аллергической формы II (ТАФ II), атрофической и катаральной форм ХФ, хронических риносинуситов, в том числе аллергических; наличие множественного поверхностного или глубокого кариеса; активное курение; наличие положительных результатов серологических тестов на RW, поверхностный антиген вируса гепатита В, антитела к вирусу гепатита С, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ); участие в других клинических исследованиях (и прием исследуемых препаратов) в течение 3 мес до исследования; отсутствие адекватной контрацепции для женщин детородного возраста, период лактации; наличие первичных иммунодефицитов, злокачественных заболеваний в анамнезе (менее 5 лет); наличие психических заболеваний, острых соматических заболеваний или хронических соматических заболеваний в стадии обострения и декомпенсации.

В группу сравнения вошли 75 здоровых добровольцев, не переносивших острых воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей в течение 6 мес перед обследованием (24 мужчины, 51 женщина).

Мониторинг пациентов. Клиническое наблюдение всех пациентов осуществляли в течение 1 года от начала исследования. С целью объективизации анамнеза и систематизации жалоб нами была модифицирована анкета, разработанная специалистами-оториноларингологами [18, 19], с помощью которой проведено анкетирование пациентов исходно и через год после лечения. Анкета включает 22 вопроса, каждый из которых оценивается по 5-балльной системе, где каждый балл соответствует частоте встречаемости критерия: 0 – никогда, 1 балл – 1–2 раза в год, 2 балла – 3–4 раза в год, 3 балла – 5–6 раз в год, 4 балла – постоянно присутствует. В дальнейшем общая сумма баллов подытоживалась, и этот показатель подвергался статистической обработке.

Бактериологическое исследование. Биоматериал для микробиологического исследования забирали стерильным тупфером для взятия мазков (Sarstedt) и доставляли в термоконтейнерах в течение 2 ч с момента забора. Посев осуществляли на следующих питательных средах: кровяной агар с добавлением 5 % крови крупного рогатого скота, на основе колумбийского агара (Pronadisa, Conda, Испания); уриселект (Bio-Rad, США); желточно-солевой агар (на основе солевого агара) и агар Сабуро (Pronadisa, Conda, Испания). Все посевы культивировали по стандартной методике при температуре $37,0^\circ\text{C}$ в течение 24–48 ч. Тинкториальные свойства изучали путем окраски по Граму по общепринятой методике, в соответствии с инструкцией производителя. Биохимическую идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли с помощью полуавтоматического бактериологического фотометра «BBL Crystal AutoReader» (BD Biosciences, США); для дрож-

жевых грибов использовали среду Сабуро (Pronadisa, Испания) с последующей идентификацией на хромогенном агаре (Pronadisa, Conda, Испания), с ручной постановкой чувствительности к антимикотикам (НИЦФ, Москва) труднокультивируемых грибов на автоматическом бактериологическом анализаторе VITEK 2 COMPACT (BioMerieux, Франция) и на автоматическом микробиологическом анализаторе BD Phoenix 100 с последующим подтверждением и чувствительностью к антимикотикам; Slidex pneumokit – сенсibilизированный латекс использовали для определения пневмококков (BioMerieux, Франция); оптохиновый тест; тест с желчью; определение каталазной активности (BioRad, США). Гемолитическую активность культур изучали на агаре с добавлением 5 % эритроцитов барана.

Вирусологическое исследование. Для определения герпес-вирусов и их вирусной нагрузки в крови использовалась венозная кровь, взятая утром натощак. Смешанную слюну с этой же целью собирали утром натощак в стерильные контейнеры и доставляли в течение 2 ч с момента забора. Выявление ДНК ВЭБ, ВГЧ 6, ЦМВ в образцах цельной крови и смешанной слюны проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с применением реагентов АмплиСенс EBV-скрин/монитор-FL, АмплиСенс HHV6-скрин-титр-FL, АмплиСенс CMV-скрин/монитор-FL, рекомендованных ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Исследование мукозального иммунитета. Факторы мукозального иммунитета определяли в смешанной слюне, собранной утром натощак в стерильные контейнеры, которая доставлялась в течение 2 ч с момента забора. Количественное определение нативного кателицидина человека LL-37, α -дефензинов человека HNP1-3, лактоферрина проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Анализ осуществляли в соответствии с инструкциями к наборам реагентов, результаты реакции учитывали на микропланшетном фотометре «MULTISCAN EX» (Thermo Electron Corporation, Германия). Обработку данных и вычисление концентраций исследуемого вещества выполняли с использованием программы Genesis Lite (прибор и программа производства Thermo Electron Corporation, Германия). Для исследования использовали диагностические наборы реагентов Human LL-37, α -дефензин (HNP1-3), Human Lactoferrin (Nucult biotech, Нидерланды). Количественное определение sIgA выполняли с помощью ИФА в образцах смешанной слюны. Для исследования использовали диагностический набор реагентов для иммуноферментного определения sIgA в биологических жидкостях «Секреторный IgA-ИФА» (Хема Со., Ltd., Россия).

Лечение. Все пациенты исследуемой группы получали комбинированную терапию – противовирусный препарат валацикловир перорально в дозе 500 мг 3 раза в день в течение 14 дней и иммуномодулирующий препарат аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (Имунофан®, спрей назальный) интраназально в дозе 50 мкг в каждый носовой ход 2 раза в день в течение

10 дней. Через 14 дней проводили повторный курс Имунофана® спреями назальными в дозе 50 мкг в каждый носовой ход 2 раза в день в течение 10 дней.

Статистический анализ данных. Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica 12.0. Для сравнения двух независимых групп применяли непараметрические критерии Колмогорова–Смирнова, Манна–Уитни, Спирмена, Вилкоксона. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали $\leq 0,05$.

Результаты

Всем пациентам исследуемой группы с целью определения клинической эффективности терапии до начала лечения и в среднем через 1 год после его окончания проведено анкетирование для оценки частоты встречаемости анамнестических и симптоматических критериев. Анкетирование также проводилось участникам группы сравнения (условно-здоровым добровольцам).

По итогам анкетирования до лечения медиана общей суммы баллов у пациентов исследуемой группы составила 35,0 балла (интерквартильная широта от 33 до 39 баллов), что достоверно выше ($p < 0,001$ по тесту Вилкоксона), чем медиана общей суммы баллов этой же группы пациентов в среднем через 1 год после лечения – 22,0 балла (интерквартильная широта от 18 до 26 баллов). Медиана суммы баллов в группе сравнения составила 18,5 балла (интерквартильная широта от 14 до 21 баллов) (рис. 1).

В среднем частота обострений ХТ/ХФ у пациентов исследуемой группы до лечения составляла $5,98 \pm 0,17$ раз в год, а через год после терапии достоверно снизилась до $3,11 \pm 0,11$ раз в год ($p \leq 0,01$ по тесту Вилкоксона).

До лечения в бактериологическом посеве биоматериала из ротоглотки в исследуемой группе доля патогенной микрофлоры выявлена у 32 (46 %) пациентов, условно-патогенной/непатогенной – у 38 (54 %) пациентов. Патогенная микрофлора была представлена следующим образом: *Staphylococcus aureus* у 17 (53,1%) пациентов, *Streptococcus pneumoniae* – у 5 (15,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* – у 1 (3,1 %), *Klebsiella pneumoniae* – у 2 (6,3 %), *Candida albicans* – у 3 (9,4 %), *Escherichia coli* – у 3 (9,4 %), *Serratia marcescens* – у 1 (3,1 %).

Распределение условно-патогенной/непатогенной флоры выглядело следующим образом: *Str. viridans* – 15 (40 %) пациентов, *Str. mitis group*: *Str. mitis* – 3 (8 %), *Str. cristatus* – 2 (5 %), *Str. oralis* – 2 (5 %); *Str. sanguinis group*: *Str. sanguinis* – 2 (5 %), *Str. parasanguinis* – 3 (8 %), *Str. gordonii* – 1 (3 %); *Str. salivarius group*: *Str. salivarius* – 3 (8 %); *Str. anginosus group*: *Str. constellatus* – 2 (5 %), *Str. intermedius* – 3 (8 %); *Neisseria spp* – 2 (5 %) пациента.

Через 14 дней (сразу после окончания 1-го курса лечения) в бактериологическом посеве биоматериала в исследуемой группе патогенная микрофлора встречалась у 24 (34 %) пациентов, условно-патогенная/непатогенная – у 46 (66 %) пациентов; через 3 мес после окончания лечения в бактериологическом посеве из зева

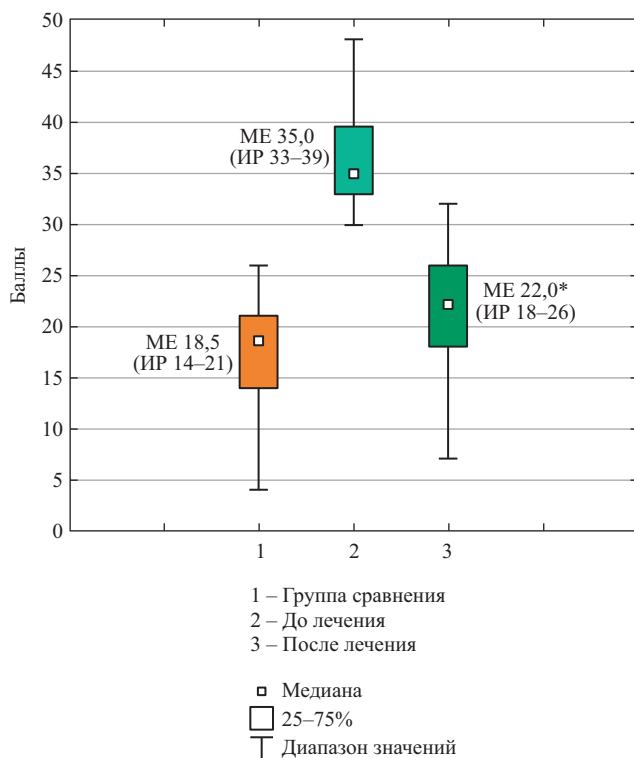


Рис. 1. Динамика частоты встречаемости симптомов (общая сумма баллов по результатам анкетирования) у пациентов, получавших терапию до и в среднем через 1 год после лечения, сопоставление общей суммы баллов после лечения с группой сравнения

* – $p < 0,001$, достоверность по сравнению с показателем до лечения по тесту Вилкоксона.

патогенная микрофлора встречалась у 18 (26 %) пациентов, условно-патогенная/непатогенная – у 52 (74 %) пациентов. Таким образом, сразу после лечения, а также в отдаленном периоде (через 3 мес) отмечается тенденция к снижению доли патогенной микрофлоры в ротоглотке ($p = 0,08$) (рис. 2).

При анализе результатов качественного и количественного определения герпес-вирусов в крови и смешанной слюне пациентов исследуемой группы до и после лечения получены следующие результаты.

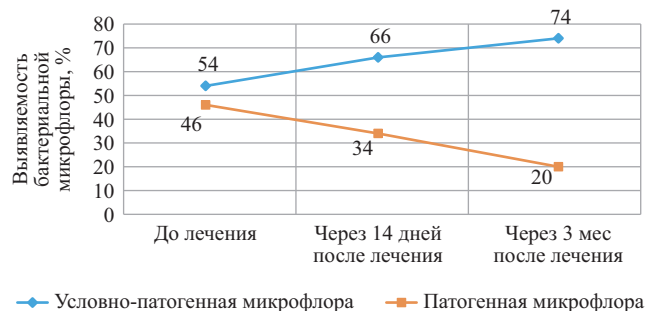


Рис. 2. Динамика распределения бактериальной микрофлоры в ротоглотке пациентов исследуемой группы до и после лечения (через 14 дней, через 3 мес)

В крови всех пациентов исследуемой группы ДНК герпес-вирусов не была обнаружена. Исходно во всех образцах смешанной слюны пациентов исследуемой группы ДНК ВЭБ выявлялась у 70 (100 %) пациентов: в виде моноинфекта – у 13 (19 %) пациентов, в сочетании с ВГЧ 6 у 57 (81 %) пациентов. ДНК ЦМВ не выявлялась ни у одного пациента исследуемой группы.

Через 14 дней (после окончания 1-го курса терапии) ДНК ВЭБ обнаруживалась у 18 (25,7 %) пациентов, что достоверно ниже, чем до лечения ($p = 0,03$): из них ДНК ВЭБ в виде моноинфекта встречалась у 8 (11,4 %) пациентов, в сочетании с ДНК ВГЧ 6 – у 10 (14,3 %) пациентов, что достоверно ниже, чем до лечения ($p = 0,03$). Выявление ДНК ВГЧ 6 в виде моноинфекта наблюдалось у 36 (51,4 %) пациентов. У 16 (22,9 %) пациентов герпес-вирусы в образцах смешанной слюны не выявлялись.

Через 3 мес после окончания терапии ДНК ВЭБ встречалась у 22 (31,4 %) пациентов, что достоверно ниже, чем до лечения ($p < 0,001$), из них ДНК ВЭБ в виде моноинфекта выявлялась у 4 (5,7 %), в сочетании с ДНК ВГЧ 6 – у 18 (25,7 %) пациентов. ДНК ВГЧ 6 в виде моноинфекта выявлялась у 28 (40 %) пациентов, что достоверно выше, чем до лечения ($p = 0,0075$). У 20 (28,6 %) пациентов герпес-вирусы в отдаленном периоде после лечения (3 мес) в смешанной слюне не определялись; этот показатель достоверно выше, чем до лечения ($p = 0,03$) (рис. 3).

При оценке вирусной нагрузки отмечается тенденция к ее снижению. Так, до лечения средняя концентрация ДНК ВЭБ в образцах смешанной слюны пациентов исследуемой группы составила $3,87 \pm 0,21$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел. Через 14 дней, сразу после лечения, средняя вирусная нагрузка ВЭБ снизилась до $1,01 \pm 0,22$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел., и через 3 мес после лечения сохранялась низкая концентрация – $0,87 \pm 0,18$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел. ($p < 0,001$ по тесту Вилкоксона). Средняя концентрация ДНК ВГЧ 6 в смешанной слюне пациентов исследуемой группы до лечения составила $2,79 \pm 0,19$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел. Через 14 дней после лечения средняя концентрация ДНК ВГЧ 6 снизилась до $1,99 \pm 0,20$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел. и сохранялась примерно в таких же значениях через 3 мес после окончания терапии – $1,87 \pm 0,18$ лг кол. копий $\cdot 10^5$ кл. чел. ($p < 0,025$ по тесту Вилкоксона) (рис. 4).

Концентрация α -дефензинов HNP1-3 в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию, исходно до начала лечения составила в среднем 982 ± 110 нг/мл, через 14 дней после окончания 1-го курса терапии снизилась до 951 ± 117 нг/мл, через 3 мес после завершения лечения достоверно выросла в сравнении с исходной их концентрацией до 1152 ± 121 нг/мл ($p < 0,05$ по тесту Вилкоксона). Концентрация α -дефензинов HNP1-3 в слюне участников группы сравнения составила 1341 ± 94 нг/мл (рис. 5).

Концентрация кателицидина LL-37 в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию исходно

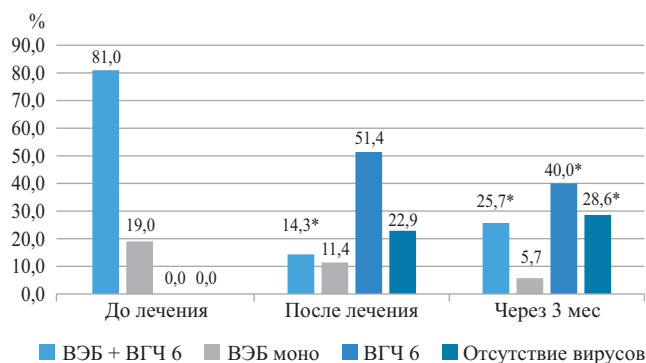


Рис. 3. Динамика частоты встречаемости герпес-вирусов в смешанной слюне пациентов исследуемой группы до и после лечения (через 14 дней, через 3 мес)

* – достоверность различий с показателями до лечения $p \leq 0,03$.

до начала лечения, в среднем по группе составила $21,1 \pm 3,3$ нг/мл, через 14 дней после окончания 1-го курса терапии увеличилась до $28,0 \pm 3,9$ нг/мл, через 3 мес после лечения сохранялась тенденция к росту концентрации кателицидина LL-37 и в этом периоде она составила в среднем $33,4 \pm 3,5$ нг/мл, что достоверно выше в срав-

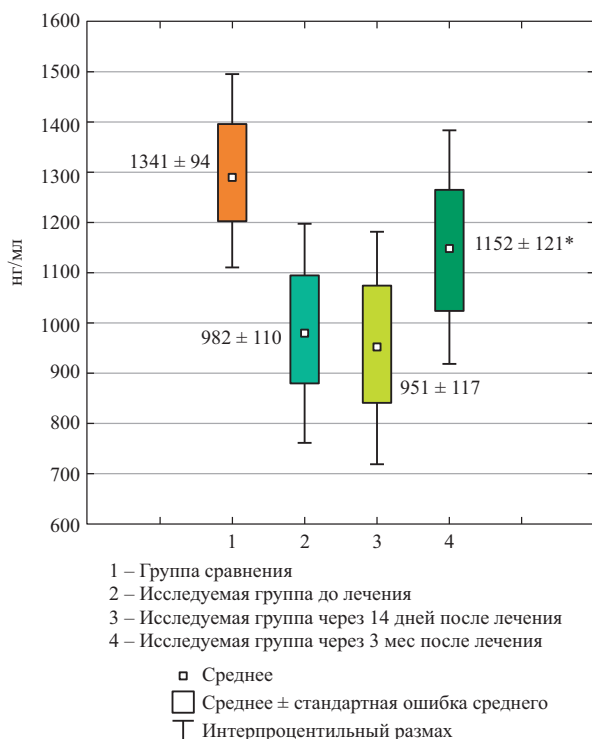


Рис. 5. Динамика концентрации α-дефензинов (HNP1-3) в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию до лечения, через 14 дней после окончания лечения, через 3 мес. Соотношение концентрации α-дефензинов (HNP1-3) в смешанной слюне пациентов, получавших терапию, через 3 мес после лечения с концентрацией его в слюне участников группы сравнения

* – $p < 0,05$, достоверность различий показателей до и после лечения, по тесту Вилкоксона.

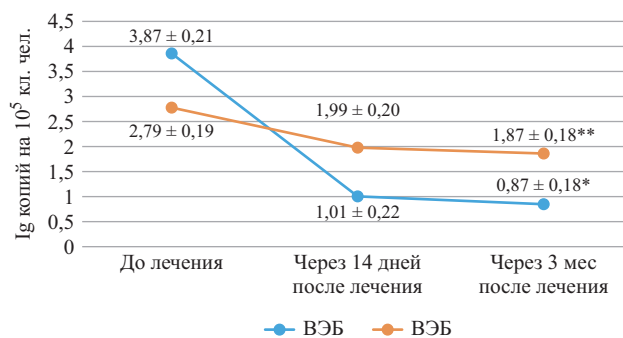


Рис. 4. Динамика вирусной нагрузки для ДНК вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), вируса герпеса человека 6-го типа (ВГЧ 6) у пациентов исследуемой группы до и после лечения (через 14 дней, через 3 мес)

* – $p < 0,001$; ** – $p < 0,025$ по тесту Вилкоксона.

нении с исходной его концентрацией ($p < 0,05$ по тесту Вилкоксона). При этом концентрация кателицидина LL-37 через 3 мес после лечения была выше, чем у участников группы сравнения – $30,3 \pm 3,6$ нг/мл (рис. 6).

Концентрация лактоферрина в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию, исходно до на-

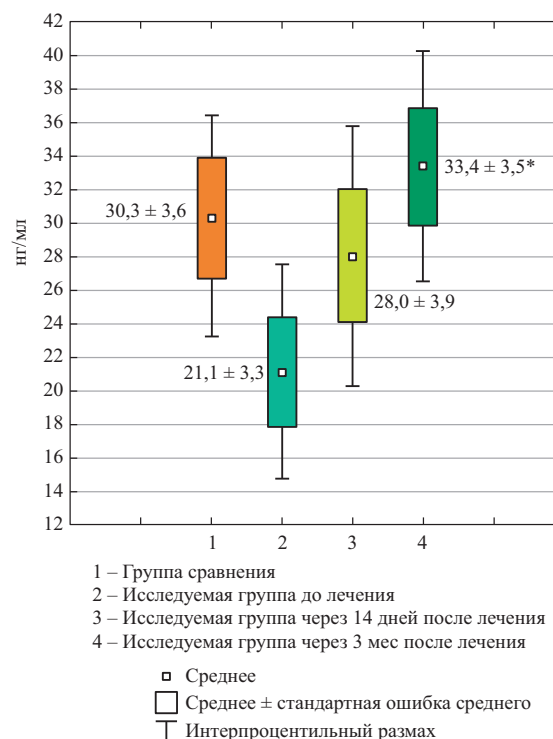


Рис. 6. Динамика концентрации кателицидина LL-37 в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию до лечения, через 14 дней после окончания лечения, через 3 мес. Соотношение концентрации кателицидина LL-37 в смешанной слюне пациентов, получавших терапию, через 3 мес после окончания лечения с концентрацией его в слюне участников группы сравнения

* – $p < 0,05$, достоверность различий показателей до и после лечения по тесту Вилкоксона.

чала лечения, в среднем по группе составила 867 ± 53 нг/мл, через 14 дней после окончания 1-го курса терапии увеличилась до 984 ± 51 нг/мл, через 3 мес после лечения сохранилась тенденция к увеличению концентрации лактоферрина, она составила в среднем по группе 1018 ± 44 нг/мл, что достоверно выше, чем до лечения ($p < 0,011$ по тесту Вилкоксона). При этом концентрация лактоферрина через 3 мес после лечения была выше, чем у участников группы сравнения – 931 ± 54 нг/мл (рис. 7).

Концентрация sIgA в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию, исходно в среднем по группе составила 243 ± 14 мкг/мл, через 14 дней после окончания 1-го курса терапии выросла до 280 ± 17 мкг/мл, через 3 мес после лечения сохранялась тенденция к росту концентрации sIgA, которая в этом периоде составила в среднем 336 ± 26 мкг/мл, что достоверно выше, чем до лечения ($p < 0,02$ по тесту Вилкоксона). При этом концентрация sIgA через 3 мес после лечения была ниже, чем у участников группы сравнения – 367 ± 29 мкг/мл (рис. 8).

Обсуждение

Оценка клиничко-лабораторной эффективности комбинированной терапии, включающей противовирусное средство (валацикловир) и иммуномодулятор (Имуно-

фан® спрей назальный) проводили в группе пациентов с частыми рецидивами ХТ/ХФ и выявленной локальной репликацией герпес-вирусов.

Ранее нами было проведено исследование препарата валацикловир для лечения пациентов с рецидивирующими ХТ/ХФ и репликацией герпес-вирусов в ротоглотке [20]. В этом исследовании мы подобрали минимально эффективную для подавления местной активности герпес-вирусов дозу валацикловира (500 мг 1 таблетка 3 раза в день) и доказали его хорошую переносимость. При этом мы не изучали нарушения со стороны иммунитета оро-фарингеальной слизистой оболочки и не получили убедительных результатов по клинической эффективности проводимой терапии [20]. В текущем исследовании, в связи с выявленными нарушениями в системе мукозального иммунитета в виде определения низких концентраций кателицидина LL-37, α -дефензинов HNP1-3, лактоферрина и sIgA, мы добавили к терапии иммуномодулятор Имунофан® спрей назальный.

У всех пациентов исследуемой группы исходно оценивали бактериально-вирусный микробиоценоз ротоглотки, а также определяли концентрацию кателицидина LL-37, α -дефензинов HNP1-3, лактоферрина и sIgA в слюне. Через 14 дней после 1-го курса лечения и через

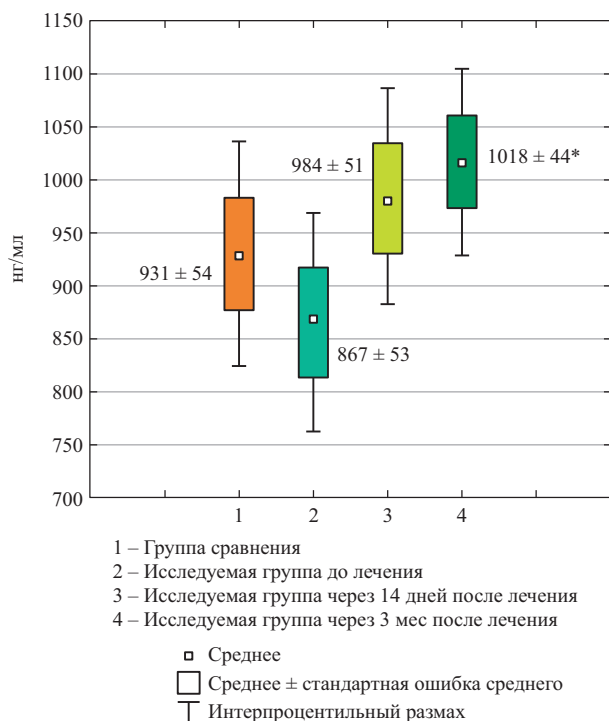


Рис. 7. Динамика концентрации лактоферрина в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию до лечения, через 14 дней сразу после окончания лечения, через 3 мес. Соотношение концентрации лактоферрина в смешанной слюне пациентов, получавших терапию, через 3 мес после окончания лечения с концентрацией его в слюне участников группы сравнения

* – $p < 0,011$ достоверность различий показателей до и после лечения, по тесту Вилкоксона.

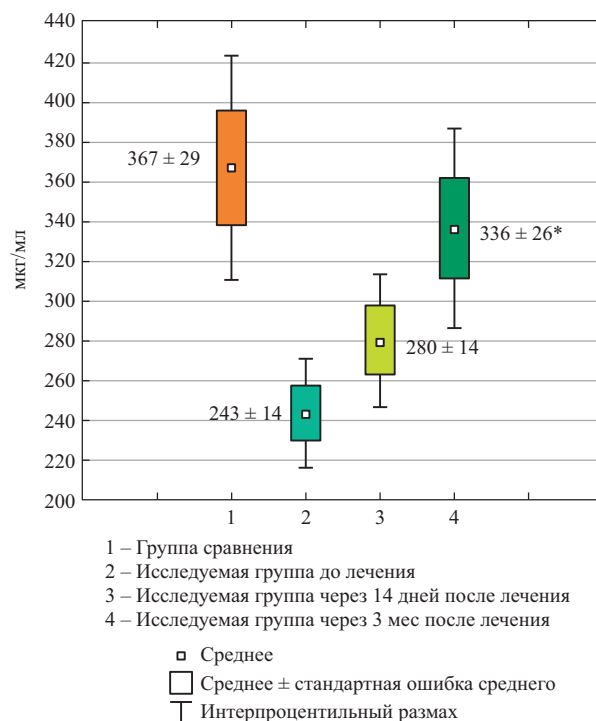


Рис. 8. Динамика концентрации sIgA в образцах смешанной слюны пациентов, получавших терапию до лечения, через 14 дней сразу после окончания лечения, через 3 мес. Соотношение концентрации sIgA в смешанной слюне пациентов, получавших терапию, через 3 мес после окончания лечения с концентрацией его в слюне участников группы сравнения

* – $p < 0,02$, достоверность различий показателей до и после лечения по тесту Вилкоксона.

3 мес после окончания терапии проводили контрольное исследование бактериально-вирусного микробиоценоза ротоглотки и указанных параметров мукозального иммунитета. Через 1 год после лечения оценивалась клиническая эффективность терапии путем анкетирования пациентов и определения количества рецидивов в течение прошедшего года. Частота рецидивов ХТ/ХФ снизилась почти в 2 раза по сравнению с исходными данными: с $5,98 \pm 0,17$ раза в год до $3,11 \pm 0,11$ раза в год ($p \leq 0,01$ по тесту Вилкоксона).

При исследовании бактериальной микрофлоры на фоне лечения отмечалось снижение частоты встречаемости флоры с высоким патогенным потенциалом и преобладание условно-патогенной/непатогенной микрофлоры. Поскольку мы в терапии не применяли антибактериальных средств, то такая динамика по бактериальной микрофлоре, вероятнее всего, обусловлена воздействием иммуномодулирующего средства на мукозальный иммунитет. Используя свойства Имунофана® активировать факторы врожденного иммунитета, усиливать антиоксидантную защиту, фагоцитоз и гибель внутриклеточных патогенов, мы получили подавление активности бактериальной микрофлоры с высоким патогенным потенциалом без применения прямых антимикробных препаратов.

Также на фоне проводимой терапии отмечалось снижение выявляемости и концентрации герпес-вирусов (ВЭБ, ВГЧ 6) в смешанной слюне пациентов уже через 14 дней с сохранением такой тенденции в отдаленном периоде (через 3 мес после лечения). Значительное и стойкое снижение концентрации ДНК ВЭБ и ВГЧ 6 в слюне пациентов исследуемой группы подтверждает эффективность выбранной нами дозы валацикловира (500 мг 1 табл. 3 раза в день). Но в данном случае так же, как и в случае с бактериальной микрофлорой, невозможно исключить дополнительное влияние иммунотропного средства на полученный результат.

У всех пациентов исследуемой группы исходно отмечали более низкую концентрацию факторов мукозального иммунитета (дефензинов HNP1-3), кателицидина LL-37, лактоферрина, sIgA) по сравнению с группой

условно здоровых добровольцев. После лечения все показатели достоверно выросли в сравнении с исходной их концентрацией до начала лечения.

Заключение

Таким образом, применение комбинированной терапии, которая включает противовирусное средство (валациклоvir) и иммуномодулятор (Имунофан® спрей назальный), приводит к подавлению активности патогенной микрофлоры и вирусов герпес-группы (ВЭБ, ВГЧ 6), увеличивает концентрацию факторов мукозального иммунитета (α -дефензинов HNP1-3, кателицидина LL-37, лактоферрина, sIgA) и снижает частоту рецидивов ХТ/ХФ в среднем в 2 раза в течение года наблюдения.

Поиск новых этиологически значимых патогенов и расширение спектра идентификации возбудителей является верным направлением для успешного ведения пациентов с часто рецидивирующими ХТ/ХФ. Дальнейшее изучение тонких уровней иммунной системы при хронических рецидивирующих воспалительных процессах поможет определить новые точки приложения иммуномодуляторов, выявить перспективные химиотерапевтические вещества, а также оптимизировать и индивидуализировать схемы их применения.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Зуйкова И.Н., Щубелко Р.В., Шульженко А.Е.; сбор и обработка материала – Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н.; статистическая обработка – Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н.; написание текста – Щубелко Р.В.; редактирование – Шульженко А.Е.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам клинико-диагностической лаборатории, отдела иммунодиагностики и иммунокоррекции, сотрудникам лаборатории моделирования иммунологических процессов ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России за оказанную помощь в организации и проведении лабораторных исследований.

■ Литература

1. Пальчун В.Т., Магомедов М.М., Крюкова А.И. Руководство по очаговой инфекции в оториноларингологии». Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 224 с.
2. Сагандыкова Н.С. Особенности микрофлоры небных миндалин при хроническом воспалении. Вестник КазНМУ. 2015; 2: 105-7.
3. Борисова О.Ю., Алешкин В.А., Пименова А.С. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией. Инфекция и иммунитет. 2015; 5 (3): 225-32.
4. Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. Journal of clinical microbiology. 2005; 43 (11): 5721-5732. DOI: <https://www.doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>.
5. Berger C., Hug M., Gysin C. et al. Distribution patterns of β - and γ -herpesviruses within Waldeyer's ring organs. Journal of Medical Virology. 2007; 79: 1147-52.
6. Assadian F., Sandström K., Bondeson K. et al. Distribution and molecular characterization of human adenovirus and Epstein-

- Barr virus infections in tonsillar lymphocytes isolated from patients diagnosed with tonsillar diseases. PLoS ONE. 2016; 11 (5): 1-19. DOI: <https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0154814>.
7. Astrid A., Bosch T.M., Biesbroek G. et al. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. PLOS Pathogens. 2013; 9 (1): 1-12. DOI: <https://www.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003057>.
8. Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Мукозальный иммунитет верхних дыхательных путей. Иммунология. 2018; 39 (1): 81-8.
9. Wu R.-Q., Zhang D.-F., Tu E. et al. The mucosal immune system in the oral cavity – an orchestra of T cell diversity. International Journal of Oral Science. 2014; 6: 125-32.
10. Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. Journal of Oral Microbiology. 2013; 5: 1-24. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/proteomes1030275>.
11. Dale B.A., Fredericks L.P. Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. Current Issues in Molecular Biology. 2005; 7 (2): 119-33.

12. Davison G., Allgrove J., Gleeson M. Salivary antimicrobial peptides (LL-37 and alpha-defensins HNP1-3), antimicrobial and IgA responses to prolonged exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 2009; 106: 277–84.

13. Fábíán T.K., Tibor K.F., Hermann P. et al. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012; 13: 4295–320.

14. Khurshid Z., Naseem M., Sheikh Z. Oral antimicrobial peptides: types and role in the oral cavity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016; 24: 515–24.

15. Иммуноterapia в практике ЛОР-врача и терапевта. Под ред. Симбирцев А.С., Лавренова Г.В. СПб. : Диалог, 2018. 456 с.

16. Караулов А.В., Калужин О.В. Иммуноterapia инфекционных болезней: проблемы и перспективы. *Терапевтический архив*. 2013; 11: 100–8.

17. Иммуноterapia. 2-е изд., перераб. и доп. Под ред. Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И., Шульженко А.Е. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. 768 с.

18. Мирзоева Е.З. Способ отбора информационнозначимых симптомов хронического тонзиллита и хронического фарингита. *Российская оториноларингология*. 2015; 2 (75): 60–3.

19. Мирзоева Е.З. Диагностическая значимость симптомов хронического тонзиллита и хронического фарингита. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2014; 12 (4): 32–6.

20. Щубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Герпес-вирусные инфекции человека: клинические особенности и возможности терапии. *Русский медицинский журнал*. 2018; 8 (1): 39–45.

■ References

1. Palchun V.T. Magomedov M.M., Kryukova A.I. Guide to focal infection in otorhinolaryngology. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. 224 p. (in Russian)

2. Sagandykova N.S. Features of the microflora of the Palatine tonsils in chronic inflammation. *Vestnik KazNMU*. 2015; 2: 105–7. (in Russian)

3. Borisova O.Yu., Aleshkin V.A., Pimenova A.S. The microbial composition of the microflora of the oropharynx in patients with tonsillar pathology. *Infektsiya i immunitet*. 2015; 5 (3): 225–32. (in Russian)

4. Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*. 2005; 43 (11): 5721–32. DOI: <https://www.doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>.

5. Berger C., Hug M., Gysin C., et al. Distribution patterns of β - and γ -herpesviruses within Waldeyer's ring organs. *Journal of Medical Virology*. 2007; 79: 1147–52.

6. Assadian F., Sandström K., Bondeson K., et al. Distribution and molecular characterization of human adenovirus and Epstein-Barr virus infections in tonsillar lymphocytes isolated from patients diagnosed with tonsillar diseases. *PLoS ONE*. 2016; 11(5): 1–19. DOI: <https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0154814>.

7. Astrid A., Bosch T.M., Biesbroek G., et al. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLOS Pathogens*. 2013; 9 (1): 1–12. DOI: <https://www.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003057>.

8. Shchubelko R.V., Zuikova I.N., Shulzhenko A.E. Mucosal immunity of the upper respiratory tract. *Immunologiya*. 2018; 39 (1): 81–8. (in Russian)

9. Wu R.-Q., Zhang D.-F., Tu E., et al. The mucosal immune system in the oral cavity – an orchestra of T cell diversity. *International Journal of Oral Science*. 2014; 6: 125–32.

10. Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. *Journal of Oral Microbiology*. 2013; 5: 1–24. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/proteomes1030275>.

11. Dale B.A., Fredericks L.P. Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Current Issues in Molecular Biology*. 2005; 7 (2): 119–33.

12. Davison G., Allgrove J., Gleeson M. Salivary antimicrobial peptides (LL-37 and alpha-defensins HNP1-3), antimicrobial and IgA responses to prolonged exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 2009; 106: 277–84.

13. Fábíán T.K., Tibor K.F., Hermann P., et al. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012; 13: 4295–320.

14. Khurshid Z., Naseem M., Sheikh Z. Oral antimicrobial peptides: types and role in the oral cavity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016; 24: 515–24.

15. Immunotherapy in the practice of ENT doctors and therapists. Ed. Simbirtsev A.S., Lavrenova G.V., SPb.: Dialog, 2018. 456 p. (in Russian)

16. Karaulov A.V., Kalyuzhin O.V. Immunotherapy of infectious diseases: problems and prospects. *Terapevticheskiy archive*. 2013; 11: 100–8. (in Russian)

17. Immunotherapy. 2nd edition, revised and enlarged. Ed. Khaïtov R.M., Ataullakhanov R.I., Shulzhenko A.E., Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 768 p. (in Russian)

18. Mirzoeva E.Z. Method for selecting informative symptoms of chronic tonsillitis and chronic pharyngitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2015; 2 (75): 60–3. (in Russian)

19. Mirzoeva E.Z. Diagnostic significance of symptoms of chronic tonsillitis and chronic pharyngitis. *Verhnevolszhskij medicinskij zhurnal*. 2014; 12 (4): 32–6. (in Russian)

20. Shchubelko R.V., Zuikova I.N., Shulzhenko A.E. Human herpesvirus infections: clinical features and treatment options. *Russian medical journal*. 2018; 8 (1): 39–45.

Сведения об авторах

Щубелко Розалия Васильевна – к.м.н., н.с., врач аллерголог-иммунолог отделения общей аллергологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России; e-mail: spapharia@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6993-9831>

Зуйкова Ирина Николаевна – к.м.н., с.н.с., врач аллерголог-иммунолог отделения общей аллергологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Российская Федерация; e-mail: zuikova_i@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9373-4681>

Шульженко Андрей Евгеньевич – д.м.н., проф., зав. отделением общей аллергологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Российская Федерация; e-mail: shulzhenko_ae@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0268-9350>

Authors' information

Rosaliya V. Schubelko – PhD, Researcher, Allergist-immunologist of the Department of General Allergology, NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: spapharia@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6993-9831>

Irina N. Zuykova – PhD, Senior Researcher, Allergist-immunologist of the Department of General Allergology, NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: zuikova_i@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9373-4681>

Andrey E. Shulzhenko – MD, Prof., Head of the Department of General Allergology NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: shulzhenko_ae@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0268-9350>

ИМУНОФАН

ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

- **ГЕРПЕС, ХЛАМИДИОЗ, ЦМВ**
и другие вирусные инфекции
- **ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ В,**
дифтерия, сальмонеллез
- **ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ**
- **ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ**
у хирургических больных
- **ПРИ ВАКЦИНАЦИИ** для повышения эффективности
и снижения реактогенности вакцин
- **ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ** обострения хронических
инфекционно-воспалительных заболеваний различной
этиологии, протекающих на фоне иммунодефицита



ООО НПП "БИОНОКС"

