

© Коллектив авторов, 2014  
УДК 616.98:576.858-036.11/12-084:615.37/372

**И. Ф. Баринский**  
докт. мед. наук

**Ф. Р. Махмудов**

**Э. Ю. Мордвинцева**

**О. В. Сергеев**

НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского, Москва

## Специфические инактивированные вакцины и иммуномодуляторы как средство экстренной профилактики острых вирусных инфекций и рецидивов хронических вирусных заболеваний

Для усиления иммуногенности вакцин применяют сочетанное их использование с иммуномодуляторами. В качестве последних в наших экспериментальных клинических исследованиях при клещевом энцефалите (КЭ) и герпетической инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типа, использовали выпускаемые в России препараты «Ридостин», «Гиаферон», «Полирибонат», «Тимозин». Результаты экспериментальных исследований на примере КЭ у мышей показали достоверную защиту при экспериментальной профилактике препаратами «Ридостин» и «Полирибонат» в сочетании со специфической инактивированной вакциной «Энцевир». При хронической герпетической инфекции применена специфическая вакцина «Витагерпавак» в сочетании с иммуномодулятором Гиаферон у 28 больных для профилактики рецидивов заболевания. Предложенная схема комбинированного лечения позволила получить положительный противорецидивный эффект в 96 % случаев при часто рецидивирующем генитальном герпесе. Таким образом, наши исследования при КЭ и хронической герпетической инфекции свидетельствуют о перспективности сочетанного применения вакцин и иммуномодуляторов для экстренной профилактики острых инфекций и рецидивов хронических форм заболеваний.

*Ключевые слова:* вирус простого герпеса, вирус клещевого энцефалита, рецидив, вирусемия, вакцина, иммуномодулятор, цитокин, клеточный иммунитет, антитела

В последние годы существенно возрос интерес исследователей к использованию иммуномодуляторов для повышения общей резистентности организма к вирусным инфекциям. Иммуномодуляторы объединяет одно общее свойство — все они имеют точки приложения, то есть определенные мишени среди клеток иммунной системы. Отобранные для клинического использования иммуномодуляторы можно применять при широком круге заболеваний вирусной этиологии, активируя через определенные клетки-мишени иммунную систему и увеличивая резистентность к этим инфекциям. Кроме того, иммуномодуляторы можно применять в сочетании со специфическими инактивированными вакцинами при терапии и профилактике острых и персистентных вирусных инфекций, повышая, с одной стороны, иммуногенность вакцин и предотвращая развитие вторичных иммунодефицитных состояний организма, с другой [1].

Низкая иммуногенность инактивированных вирусных вакцин обусловлена, по-видимому, введением в организм недостаточных количеств специфического антигена. Поэтому при использовании профилактических и, в особенности, лечебных вакцин прибегают к многократным вакцинациям для формирования стойкого специфического противовирусного иммунитета [1]. Иным методом усиления иммуногенности вакцин является их применение с адъювантами, а в последнее время — и с иммуномодуляторами [2].

Экстренная специфическая профилактика вирусных инфекций предполагает использование либо активных этиологических антивирусных препаратов, либо введение специфических вакцинных препаратов в комбинации с иммуномодуляторами. В этой связи, представляет интерес исследование эффективности ряда отечественных иммуномодуляторов, а также их сочетанного применения со специфическими вакцинами для экстренной профилактики экспериментальных арбовирусных инфекций и рецидивов герпетической инфекции.

Игорь Феликсович Баринский  
e-mail: barinsky@mail.ru

## Материалы и методы

В работе использован вирус клещевого энцефалита, КЭ (штамм «Софьин»), инфицирующая доза 10 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл при его подкожном введении. Вирус получен из лаборатории музея вирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского (Москва).

Опыты проводили на беспородных мышах с массой тела 6–7 г, *BALB/c* и *СВА* — с массой тела 10–12 г из питомника РАМН. Все работы с животными проводили строго по «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для исследования была взята вакцина КЭ «Энцефир» культуральная очищенная концентрированная, инактивированная, сорбированная жидкая (ФГУП «НПО «Микроген», Россия), которую вводили мышам по 0,2 мл внутривентриально за 3 дня до инфицирования. Оценку факторов гуморального иммунитета проводили в реакции нейтрализации по общепринятой методике.

Вакцина против вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа (ВПГ-1 и -2) «Витагерпавак» получена из «фирмы «Витафарма» (Москва).

Исследовали следующие препараты производства РФ: «Ридостин» (ЗАО «Вектор-медика»), «Гиаферон» (фирма «Витафарма»), «Полирибонат» и «Пептидогликан-160» (ПГ-160) (НИКТИ БАВ ГНЦ ВБ «Вектор», Бердск), «Тимозин» (ООО НПП «Фарма-клон»). Все исследуемые иммуностимуляторы вводили животным в дозировках в соответствии с рекомендациями фирм-производителей на 1 кг массы тела животных.

На модели КЭ было изучено иммуностимулирующее действие указанных выше препаратов. Эффективность иммуностимулирующего действия препаратов определяли: а) по уровню защиты животных, получивших вакцину в сочетании с иммуномодулятором, в сравнении с животными, получившими только вакцину; б) по средней продолжительности жизни животных, определяемой в соответствии со стандартной методикой [3]; в) по уровню гуморального иммунного ответа (вируснейтрализующие антитела), определяемого у мышей в реакции нейтрализации [1]; г) по стимуляции клеточного иммунитета, определяемого *in vivo* по уровню лечебной активности иммунных Т-лимфоцитов [4].

Больные с хронической герпетической инфекцией получали вакцину «Витагерпавак» согласно инструкции в период ремиссии, не ранее пяти дней после последнего рецидива. Курс вакцинации составил пять внутривенных инъ-

екций, которые проводили с интервалом 7–10 дней [5]. Увеличение длительности межрецидивного периода в 3 раза оценивали как значительное улучшение, увеличение ремиссий в 1,5–2 раза — как улучшение. Сокращение длительности рецидивов менее чем в 1,5 раза при сохранившейся частоте обострений расценивали как отсутствие терапевтического эффекта [1, 5]. Длительность вирусемии оценивали методом ПЦР-диагностики и в опытах иммунофлюоресцентного исследования мазков крови больных, как указано ранее [1, 6].

Для статистической обработки результатов применяли двусторонний критерий Фишера и критерий  $\chi^2$ . Различие показателей считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

*Результаты исследований на модели КЭ.* Противовирусная активность исследуемых препаратов на беспородных мышах, зараженных 10 ЛД<sub>50</sub> вируса КЭ, представлена в табл. 1. Данные таблицы свидетельствуют о достоверной защите при разных схемах введения трех препаратов «Ридостин», «Полирибонат» и «Пептидогликан». Обращает внимание тот факт, что статистически достоверная доля защиты получена при использовании Ридостина по профилактической схеме (– 24 ч, – 4 ч), а Полирибоната и ПГ-160 — при использовании по лечебной схеме. Иммуномодулятор Тимозин оказался в данном опыте неэффективным.

При исследовании влияния изучаемых препаратов на формирование поствакцинального иммунитета к КЭ при однократной иммунизации экспериментальных животных (мышей линии *СВА* и *BALB/c*) отмечена также достоверная эффективность препаратов на выживаемость животных. При этом отмечено увеличение доли защиты животных при комплексном применении препарата с вакциной и увеличение их средней продолжительности жизни при последующем инфицировании вирусом КЭ. Представленные в табл. 2 данные свидетельствуют о достоверном увеличении защиты и средней продолжительности жизни иммунизированных мышей даже при однократном введении иммуномодуляторов Ридостин, Полирибонат, ПГ-160 и вакцины. В данной серии опытов Тимозин был эффективен.

Таким образом, исследования позволили выявить ряд перспективных иммуномодуляторов при экспериментальных инфекциях, вызванных флавивирусом КЭ. Все это подтверждает необходимость дальнейшего целенаправленного

Таблица 1

**Влияние иммуномодуляторов при разных схемах их введения на выживаемость и среднюю продолжительность жизни мышей, инфицированных вирусом клещевого энцефалита**

Препарат	Разовая доза препарата	Схема введения препарата, часы	Эффективность профилактики	Средняя продолжительность жизни	p<
Ридостин	50 мг/мышь подкожно	-24ч	60	11,0	0,01
		-4ч	60	14,0	0,001
		+4ч	30	11,3	0,01
		+48ч	0	10,6	-
Пептидогликан (ПГ-160)	0,5 мг/мышь подкожно	-24ч	10	9,8	0,05
		-4ч	10	9,7	0,05
		-4ч+4ч+24ч	40	12,2	0,01
		4ч+4ч+24ч+48ч+72ч	35	11,5	0,01
Полирибонат	0,5 мг/мышь подкожно	-24ч	10	10,4	0,05
		-3ч	0	9,6	-
		-3ч+3ч+24ч	20	11,2	0,01
		+3ч+24ч+48ч+72ч	20	11,4	0,05
Тимозин	4 мкг/мышь подкожно	-24ч +3ч	-	10,5	0,05
			15	11,3	0,05

Контроль вируса КЭ п/к 10 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл. Выживаемость 5–10 %. Средняя продолжительность жизни 9,0–9,3

Таблица 2

**Эффективность профилактики и средняя продолжительность жизни мышей СВА и BALB/c при однократном введении иммуномодулятора у интактных и иммунизированных животных**

Неиммунизированные мыши			Иммунизированные мыши		
препарат	эффективность профилактики	средняя продолжительность жизни	препарат	эффективность профилактики	средняя продолжительность жизни
Тимозин — 4 мкг/мышь -24 ч до КЭ	-	9,6	Вакцина+Тимозин -24 ч до КЭ	40	10,3
Ридостин — 50 мг/мышь -4 ч до КЭ	50	11	Вакцина+Ридостин -4 ч до КЭ	65	14
Полирибонат — 0,5 мг/мышь -24 ч до КЭ	20	9,7	Вакцина+Полирибонат -24 ч до КЭ	55	12
ПГ-160 — 0,5 мг/кг -24 ч до КЭ	20	9,8	Вакцина+ПГ-160 -24 ч до КЭ	40	13,8
Контроль вируса КЭ 10 ЛД <sub>50</sub>	0	9,2	Вакцинация однократная (в разведении 1:1)	30	10,4

изучения противовирусных препаратов, обладающих иммуномодулирующими свойствами, на моделях арбовирусных инфекций.

Сравнительное исследование изучаемых иммуномодулирующих препаратов у интактных и вакцинированных животных выявило усиление их противовирусного действия при сочетанном использовании со специфическими вакцинами, что также свидетельствует об иммуностимулирующей способности изученных препаратов.

Стимулирующее действие Ридостина на киллерную активность «иммунных» лимфоцитов в опытах адоптивного переноса против альфавирусной инфекции в ранее проведенных ис-

следованиях [6], а также его стимулирующее действие на факторы гуморального иммунитета позволяет отнести данный препарат к перспективным и рекомендовать его для дальнейших клинических испытаний при КЭ, так как эта инфекция эндемична для РФ.

*Результаты исследования при хронической герпетической инфекции.* Применение вакцины «Витагерпавак» без иммуномодулятора показало, что через 6 мес из 61 больного с хронической генитальной герпетической инфекцией у 19 (31,1%) было значительное улучшение (увеличение межрецидивного периода в 3 раза), у 35 (57,3%) — улучшение (ремиссия увеличилась в 1,5–2 раза) и только у 7 (11,6%)

терапевтический эффект был слабо выражен или отсутствовал. Ни у одного из больных не наблюдали признаков поствакцинальных реакций общего или местного характера сразу после введения вакцины, через 10 дней, а также через 6 мес после окончания вакцинации.

Учитывая полученные нами ранее данные о снижении ряда показателей иммунного статуса у больных с рецидивирующим генитальным герпесом, нами было проведено сравнительное клинико-иммунологическое обследование больных по двум схемам. Пациенты были разделены на две группы: 1-я — 28 больных, которым была назначена вакцина в сочетании с Гиафероном; 2-я — 25 больных — только вакцина.

Во избежание провокации рецидива нами рекомендуется следующая схема терапии, проводимая в период ремиссии: курс Гиаферона по одному суппозиторию 2 раза в день в течение 10 дней; на 8-е сутки терапии Гиафероном проводят одну инъекцию вакцины «Витагерпавак»; 2-ю и последующие инъекции вакцины назначают с интервалом 7–10 дней.

Эффективность проведенного лечения оценивали по уменьшению длительности и интенсивности клинических проявлений простого герпеса во время рецидивов, по сокращению продромального периода и болевого синдрома, по увеличению длительности межрецидивного периода до 6 мес после начала лечения.

Как видно из *табл. 3*, эффективность комбинированной терапии во всех группах была выше, чем при монотерапии. Предложенная схема позволяет повысить эффективность проводимого лечения и получить выраженный положительный эффект более чем в 95 % случаев. Таким образом, исследования показали преимущество комбинированного применения вакцины «Витагерпавак» и иммуномодулятора «Гиаферон» по сравнению с вакцинотерапией.

Приведенные в этой статье результаты исследований, как и ранее опубликованные нами

сведения [1–4, 6, 7], позволили выявить ряд перспективных иммуномодуляторов (Ридостин, Полирибонат, Пептидогликан), которые могут быть использованы при экспериментальных арбовирусных инфекциях с профилактической и даже с лечебной целью. В то же время, другие известные иммуномодуляторы (Тимозин) такими свойствами не обладали.

Применение отобранных нами иммуностимуляторов в комбинации со специфическими вакцинами для экстренной профилактики экспериментальных арбовирусных инфекций было эффективнее на 10–15% (Ридостин, Пептидогликан, Полирибонат). Следует также отметить, что сочетанное применение специфической вакцины с Тимозином при экспериментальной КЭ-инфекции у мышей позволило повысить их устойчивость до 40–50%.

Предварительная проверка в экспериментах позволит получить сведения о возможности использования иммуностимуляторов в сочетании с вакцинами в клинико-эпидемиологической практике. Следует специально обратить внимание на то, что коммерческие вакцины используются в практике при арбовирусных инфекциях (КЭ, желтой лихорадке) уже в течение многих десятков лет.

В последние годы появилось новое поколение иммуномодуляторов (Иммунофан, Полиоксидоний, Ронколейкин и другие) [8], которые также подлежат аналогичной проверке в экспериментах. Среди изученных нами отечественных иммуномодуляторов наибольшей активностью и широким спектром действия обладал Ридостин, который может быть рекомендован для клинико-эпидемиологических испытаний со специфическими вакцинами при КЭ у инфицированных в очагах инфекции. При хронических формах герпетической инфекции нами показано преимущество комбинированного применения вакцины «Витагерпавак» и иммуномодулятора Гиаферон по сравнению с монотерапией.

Таблица 3

## Сопоставление результатов лечения больных рецидивирующим генитальным герпесом

Схема терапии	Противорецидивный эффект					
	значительное улучшение		улучшение		без эффекта	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Витагерпавак + Гиаферон, n=28	21	39,3*	6	57,1	1	3,6*
Витагерпавак, n=25	7	28,0	14	56,0	4	16,0

\* Статистически достоверные различия в применении вакцины в комбинации с Гиафероном по сравнению с данными по применению только вакцины

## Заключение

Таким образом, наши исследования эффективности ряда препаратов при клещевом энцефалите и хронической герпетической инфекции

свидетельствуют о перспективности сочетанного применения специфических вакцин и иммуномодуляторов для экстренной профилактики острых инфекций и рецидивов хронических форм заболеваний.

## Литература

1. Баринский И. Ф., Шубладзе А. К. Этиология хронических вирусных нейроинфекций. М.: Медицина, 1980.
2. Баринский И. Ф., Ершов Ф. И., Ионова О. И., Тазулахова Э. Б. Сочетанное применение специфической вакцины и индукторов интерферона для профилактики и лечения экспериментального клещевого энцефалита // Вопр. вирусол. 1984. № 2. С. 214–217.
3. Баринский И. Ф., Лазаренко А. А., Алимбарова Л. М., Давыдова А. А. Эффективность сочетанного применения иммуномодуляторов и вакцины при клещевом энцефалите в эксперименте // Вопр. вирусол. 2011. Т. 56. № 4. С. 45–47.
4. Баринский И. Ф., Лазаренко А. А., Алимбарова Л. М. Изучение эффективности использования отечественных иммуномодуляторов, а также их сочетанного действия со специфическими вакцинами при экспериментальных арбовирусных инфекциях // Иммунология. 2012. Т. 33. № 4. С. 181–183.
5. Вакцинопрофилактика. Иммунизация вакциной «Витагерпавак» (герпетическая культуральная инактивированная сухая) для профилактики рецидивов инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типов: Методические рекомендации МР 3.3.1. 0002-10. М., 2010.
6. Баринский И. Ф., Алимбарова Л. М., Лазаренко А. А., и др. Эффективность применения поливакцины «Витагерпавак» и иммуномодулятора «Гиаферон» в противорецидивной терапии генитального герпеса // Terra medica. 2013. Т. 73. № 3. С. 12–18.
7. Баринский И. Ф., Алимбарова Л. М., Лазаренко А. А., Давыдова А. А. Иммуномодуляторы и специфические инактивированные вакцины в экстренной профилактике экспериментальных арбовирусных инфекций // Вопр. вирусол. 2013. Т. 58. № 4. С. 35–39.
8. Ершов Ф. И. Современный арсенал противовирусных препаратов // Вопр. вирусол. 2012 (Прилож. 1). С. 169–179.

*I. F. Barinsky, F. R. Makhmudov, E. Y. Mordvintseva, O. V. Sergejev*

Research Institute of Virology named after D. I. Ivanovsky, Moscow

### **Specific inactivated vaccines and immunomodulators as means of emergency prevention of acute viral infections and relapse prevention of chronic viral diseases**

To enhance the immunogenicity of the vaccines applicable their combined use with immunomodulators. As the latest in our experimental clinical studies with tick-borne encephalitis (TBE) and herpes infections caused by herpes simplex virus (HSV) types 1 and 2 used the drugs produced in Russia ridostin, giaferon, poliribonat, thymosin. The results of experimental studies on the example of TBE in mice showed a significant protection at experimental drug prevention by ridostin and poliribonat in combination with a specific inactivated vaccine entsevir. In chronic herpes infection applied specific vaccine «Vitaгерpavaк» was used in combination with an immunomodulator giaferon in 28 patients in order to prevent recurrence of the disease. The proposed scheme combined treatment allowed to receive positive effect in 96 % of cases with frequently recurrent genital herpes. Thus, our studies with TBE and chronic herpes infection indicate the prospects of the combined use of vaccines and immunomodulators for emergency prevention of acute infections and relapse prevention of chronic diseases.

**Key words:** *herpes simplex virus encephalitis, relapse, viremia, a vaccine, an immunomodulator, a cytokine, a cell-mediated immunity, antibody*