

ГБОУ ВПО Уральский государственный
медицинский университет
Минздрава России

Институт органического синтеза им.
И.Я.Постовского УрО РАН



**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ НОВОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ
В КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ
ПАЦИЕНТОВ С ПРОСТЫМ ГЕРПЕСОМ ГУБ**

Ваневская Е.А., Мандра Ю.В.,
Чупахин О.Н., Хонина Т.Г.

г. Екатеринбург
2015 год

Актуальность

В настоящее время герпетические инфекции являются самыми распространенными вирусными заболеваниями человека

**Распространенность
вируса простого герпеса:**

-по данным российских авторов - до 90 %

Почтарь В.Н., Македон А.Б., Скиба В.Я., 2008

Игнатовский А.В., 2012

Андреева Ю.В., Булгакова А.И., Валеев И.В., 2012

**-по данным зарубежных авторов – 6-90%
в зависимости от типа вируса Herpes:**

Warren Terri, 2009

Westley S., Seymour R., Staines K., 2011

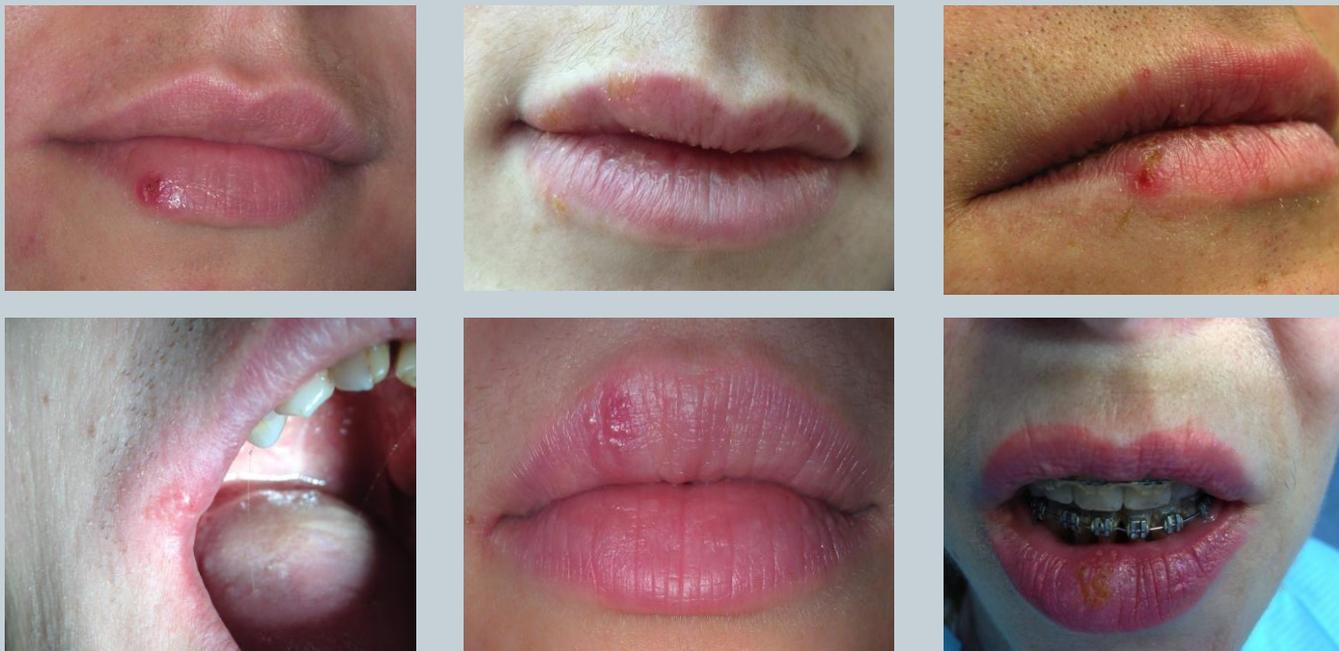
Parys S.P., Leman T., Gurfinkel R., 2013



Рис.1. Летальность заболеваний, вызванных различными вирусными инфекциями по данным ВОЗ

Актуальность

- **нарастание инфицированности населения (до 20 млн человек/год)**
- **высокая вариабельность клинических проявлений**
- **сложность патогенеза и иммунных нарушений**



*Полукчи А.К., 2009
Львов Н.Д., 2012
Сăpraru, С. L., 2010
Hodgdon A., 2013*

Рис.2. Полиморфизм клинических проявлений герпетической инфекции

Цель исследования

Повышение эффективности комплексного лечения больных простым герпесом губ путем обоснованного местного применения новой фармакологической композиции.

Задачи исследования

- 1) Выявить особенности соматического и стоматологического статуса пациентов с простым герпесом губ.
- 2) Исследовать общее и местное действие новой фармакологической композиции на основе Силативита с Триазавирином в эксперименте на животных.
- 3) Оценить эффективность клинического применения новой фармакологической композиции в комплексном лечении больных простым герпесом губ.
- 4) Усовершенствовать алгоритм комплексного лечения больных простым герпесом губ.

Материалы и методы исследования

Новая фармакологическая композиция

Основа средства - кремнийорганический
глицерогидрогель (Силативит)



Патент РФ №2255939, 2005 г.

Свойства:

- высокая транскутантная активность
- противоотечная активность
- ранозаживляющий эффект
- ускорение эпителизации
- отсутствие токсичности

Чупахин О.Н., Хонина Т.Г., Ларионов Л.П., 2006

Хонина Т.Г., 2010

Чернышева Н.Д., 2011



Рис.3.Новая
фармакологическая
композиция на основе
Силативита с
Триазавирином

Материалы и методы исследования

Триазавирин - противовирусный препарат семейства азолазинов (синтетический аналог пуриновых нуклеозидов (гуанина)).

Патент РФ №2294936, 2005 г.

Патент РФ №2343154, 2007 г.

Спектр противовирусной активности – широкий (РНК- и ДНК-содержащие вирусы, преимущественно РНК).

Основной механизм действия – ингибирование синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов. Проявляет противовирусную активность преимущественно *in vivo*.

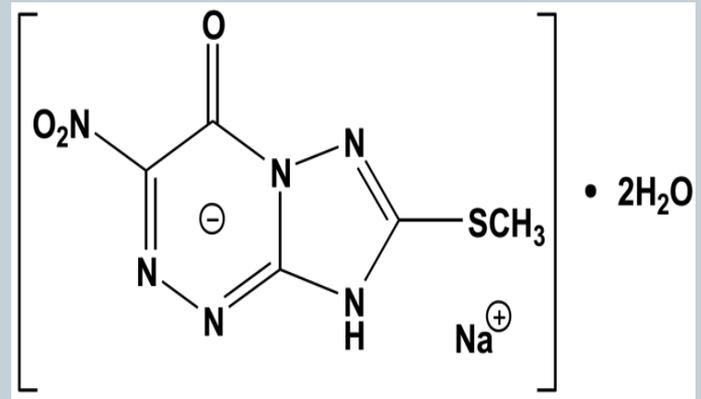


Рис. 4. Триазавирин (C₅H₇N₆NaO₅S) – натрия 7-метилтио-3-нитро-4-оксо-1,4-дигидро[1,2,4] триазоло[5,1-с] [1,2,4]триазин-1-ид дигидрат

Шестакова Т.С., 2011

Уломский Е.Н., 2011

Киселев О.И., Деева Э.Г., 2012

Материалы и методы исследования

Композиции изготовлены в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН под руководством академика О.Н.Чупахина.

Заявка №2014100727

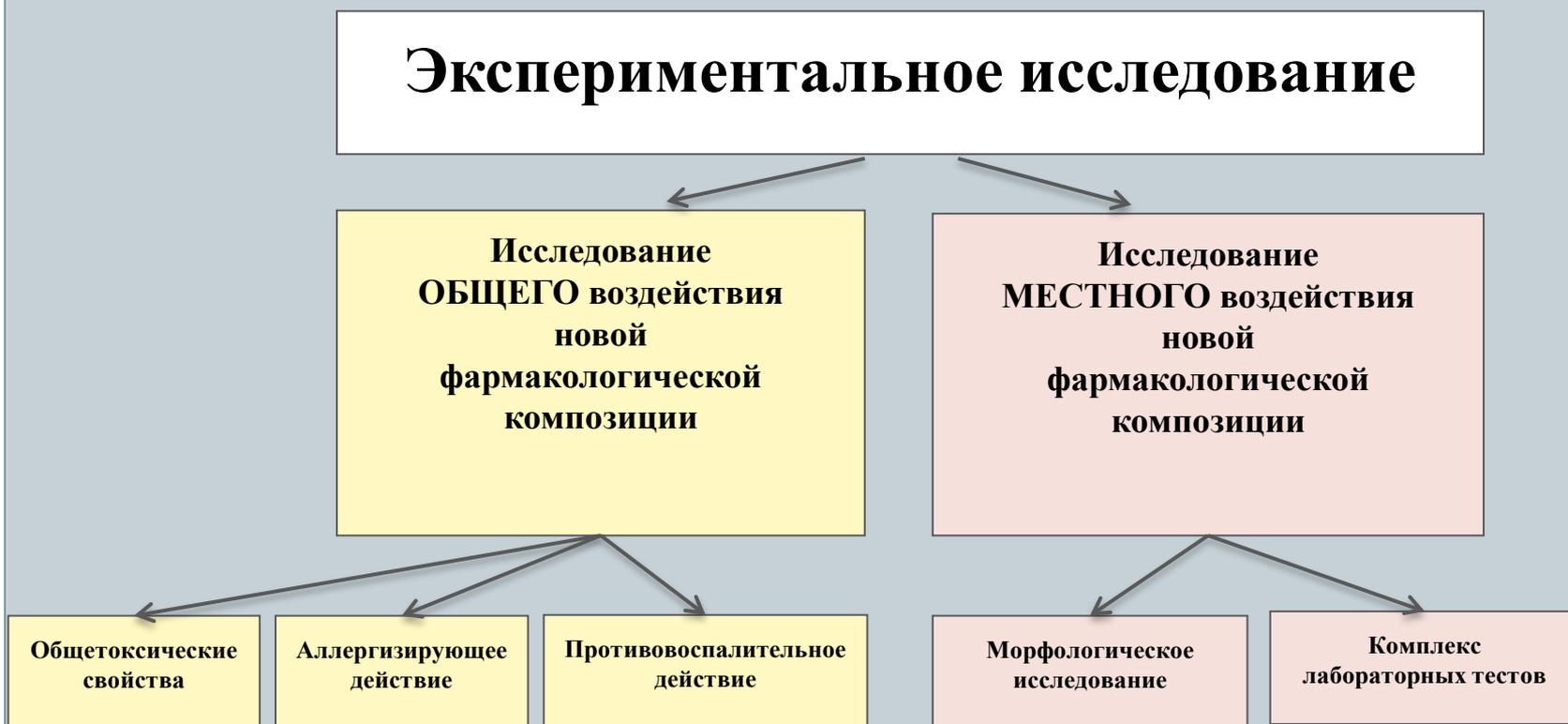
«Фармацевтическая композиция для лечения герпетических инфекций»;

заявл. 09.01.2014 г.

Чарушин В.Н., Чупахин О.Н., Хонина Т.Г.,
Ваневская Е.А., Мандра Ю.В., Григорьев С.С.,
Жегалина Н.М., Светлакова Е.Н., Власова М.И.,
Шимова М.Е.



Дизайн экспериментального исследования



Дизайн экспериментального исследования разработан под руководством проф., д.м.н. Л.П.Ларионова.

Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, М.:Гриф и К., 2013

Ершов Ф.И., Тазулахова Э.Б., Наровлянский А.Н., Миронов А.Н., Меркулов В.А., Ленева И.А., 2013

Алтухов В.В., 2006

Материалы и методы экспериментального исследования общего воздействия композиции

Таблица 1. Распределение животных по разделам работы

Исследуемые свойства		Объект исследования			
		Мыши	Крысы	Морские свинки	Кролики
Общетоксическое действие	Острая токсичность	40	20	-	-
	Субхроническая и хроническая токсичность	-	40	-	-
	Оценка показателей гексеналового сна	-	20	-	-
Аллергизирующее действие	Метод накожных аппликаций	-	10	-	-
	Конъюнктивальная проба	-	-	-	5
	Реакция общей анафилаксии	-	-	5	-
	Местное раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки	-	-	-	5
	Кожно-резорбтивное действие	-	10	-	-
Противо воспалительное действие	Противоотечное действие	-	20	-	-
	Анальгетическая активность	20	-	-	-

Материалы и методы экспериментального исследования местного воздействия композиции

Методика эксперимента

Воссоздание патологических элементов (пузырьки, эрозии) на слизистой оболочке нижней губы животных производилось путем нанесения термической травмы ($t=98-100^{\circ}\text{C}$, $t=10\text{ c}$).

Болезненные манипуляции животным выполняли в условиях контролируемого рауш-наркоза.



Рис.5. Методика нанесения термической травмы

Материалы и методы экспериментального исследования местного воздействия композиции

Группы животных

```
graph TD; A[Группы животных] --> B[Исследуемая группа № 1]; A --> C[Исследуемая группа № 2]; A --> D[Контрольная группа];
```

Исследуемая группа № 1

Местная обработка патологических элементов новой фармакологической композицией

Исследуемая группа № 2

Отсутствие обработки патологических элементов

Контрольная группа

Здоровые животные

*Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, М.: Гриф и К., 2013
Ершов Ф.И., Тазулахова Э.Б., Наровлянский А.Н., Миронов А.Н., Меркулов В.А., Ленева И.А., 2013*

Материалы и методы экспериментального исследования местного воздействия композиции

Морфологическое исследование

Забор материала для морфологического исследования осуществляли до воздействия, через 1, 5, 7, 10, 14 дней.

Методы окраски препаратов:

- окраска по Романовскому-Гимзе (определение структурных изменений)
- окраска по ван Гизону и Вейгерту (исследование волокон)

Морфологическое исследование проводилось в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН (к.м.н., зав.лабораторией морфологии Медведева С.Ю.).

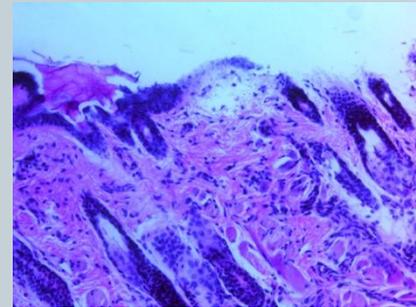


Рис.6.Окраска препарата по Романовскому-Гимзе, Ув.×160

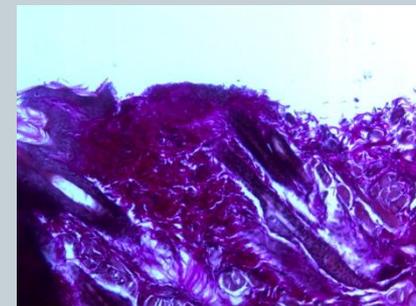


Рис.7.Окраска препарата по ван Гизону и Вейгерту, Ув.×320

Материалы и методы экспериментального исследования местного воздействия композиции

Лабораторное исследование

Забор материала для лабораторных исследований проводили до эксперимента, через 5, 7, 14 суток.

Общий клинический анализ крови:

- определение количества лейкоцитов (WBC)
- определение количества эритроцитов (RBC)
- определение количества тромбоцитов (PLT)
- определение количества гемоглобина (HGB)

Биохимический анализ сыворотки крови:

- определение активности аминотрансфераз (АЛТ, АСТ)
- определение уровня общего белка
- определение уровня мочевины

Лабораторные исследования выполнены в отделе общей патологии ЦНИЛ УГМУ (проф., д.м.н. Базарный В.В.).

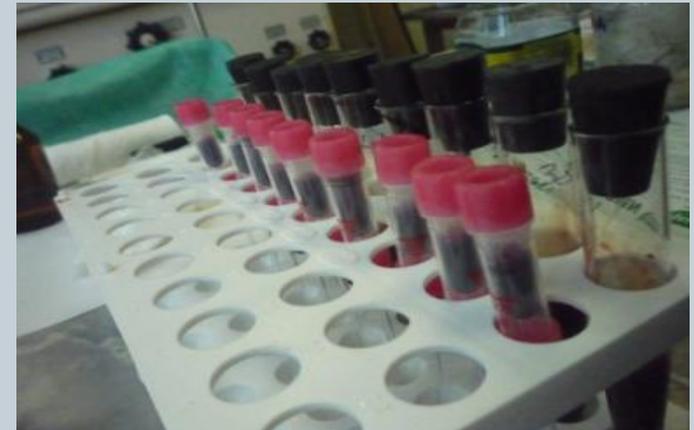


Рис.8.Исследование крови лабораторных животных

Результаты экспериментального исследования общего воздействия композиции



Рис.9. Содержание животных
в условиях вивария



Рис.10.Состояние животных в эксперименте по
оценке острой токсичности



Рис.11.Наблюдение в «открытом поле»
в эксперименте по оценке хронической
токсичности

Результаты экспериментального исследования местного воздействия композиции



А)



Б)



В)

Площадь эрозий
в исследуемой группе № 1
на 30,5% меньше, чем
в исследуемой группе №2.

Рис.12. Слизистая оболочка нижней губы крысы на 5 сутки эксперимента:

А) исследуемая группа №1, Б) исследуемая группа № 2, В) контрольная группа



А)



Б)



В)

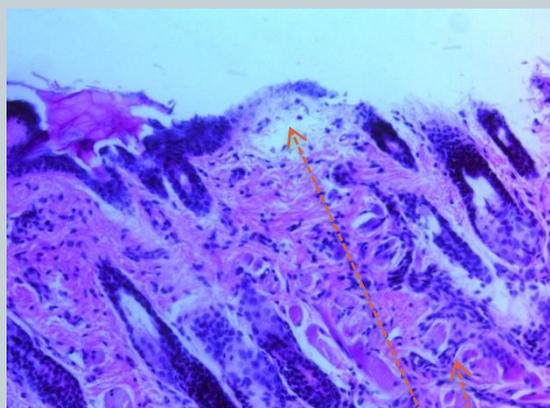
В исследуемой группе № 1
эрозии эпителизированы
полностью, что на 57,5%
меньше, чем в исследуемой
группе №2.

Рис.13. Слизистая оболочка нижней губы крысы на 14 сутки эксперимента:

А) исследуемая группа, Б) исследуемая группа №2, В) контрольная группа

Результаты морфологического исследования

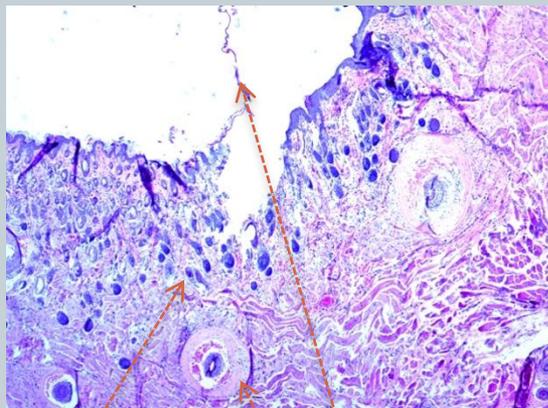
5-7 сутки эксперимента



Дефект эпидермиса

Лейкоцитарная инфильтрация

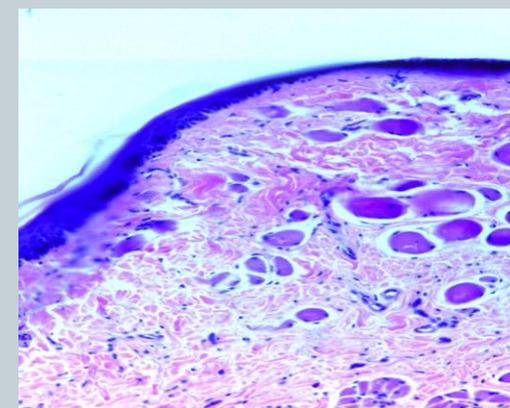
А)



Некротически измененные
клетки

Полнокровные сосуды

Б)



В)

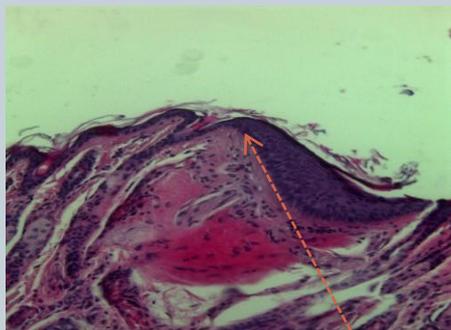
Рис.14. Результаты морфологического исследования через 5-7 дней после начала эксперимента,

Ув.×160, 320:

А) исследуемая группа №1; Б) исследуемая группа №2; В) контрольная группа

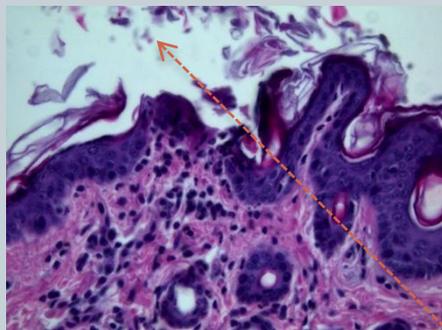
Результаты морфологического исследования

10-14 сутки эксперимента



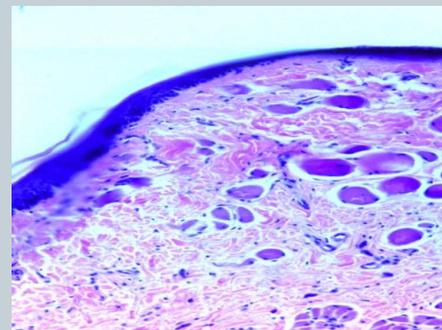
Непрерывная
базальная мембрана

А)



Некротически измененные клетки
Лейкоцитарная инфильтрация

Б)



В)

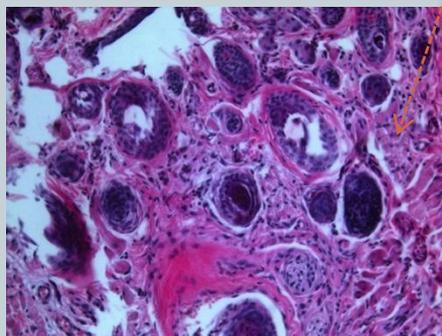
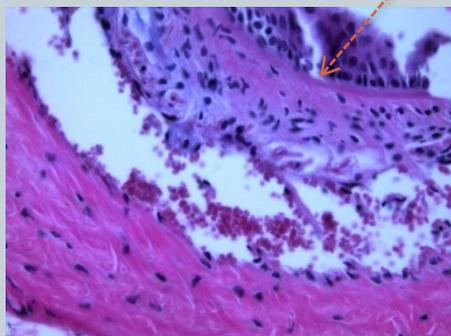


Рис.15. Результаты морфологического исследования через 10-14 дней после начала эксперимента, Ув.×160, 320: А) исследуемая группа №1; Б) исследуемая группа №2; В) контрольная группа

Результаты гематологического исследования

Таблица 2.

Изменение гематологических показателей крови лабораторных животных

Параметры	Сроки наблюдения, сут	Исследуемая группа	Группа сравнения	Контрольная группа	P
Эритроциты (RBC), $10^9/\text{л}$	0	$6,75 \pm 0,40$			$p \leq 0,05$
	5	$6,61 \pm 0,60$	$6,53 \pm 0,50$	$6,74 \pm 0,60$	
	7	$6,67 \pm 0,40$	$6,61 \pm 0,45$	$6,73 \pm 0,30$	
	14	$6,73 \pm 0,50$	$6,69 \pm 0,55$	$6,75 \pm 0,60$	
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	0	$6,03 \pm 0,35$			
	5	$8,33 \pm 0,15$	$8,15 \pm 0,16$	$6,02 \pm 0,19$	
	7	$7,78 \pm 0,09$	$8,08 \pm 0,07$	$6,02 \pm 0,17$	
	14	$6,22 \pm 0,10$	$6,55 \pm 0,17$	$6,05 \pm 0,08$	
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	0	$489,00 \pm 10,00$			
	5	$457,00 \pm 9,00$	$468,00 \pm 10,00$	$490,00 \pm 7,00$	
	7	$482,00 \pm 13,00$	$479,00 \pm 11,00$	$487,00 \pm 7,00$	
	14	$489,00 \pm 15,00$	$484,00 \pm 9,00$	$489,00 \pm 8,00$	
СОЭ, мм/ч	0	$2,70 \pm 0,20$			
	5	$5,85 \pm 0,30$	$6,05 \pm 0,35$	$2,69 \pm 0,30$	
	7	$3,55 \pm 0,30$	$4,15 \pm 0,29$	$2,70 \pm 0,26$	
	14	$2,65 \pm 0,25$	$3,10 \pm 0,26$	$2,70 \pm 0,24$	

Результаты гематологического исследования

Показатели общего анализа крови



Рис.16.Динамика содержания лейкоцитов в крови экспериментальных животных, $10^9/\text{л}$ ($p \leq 0,05$)

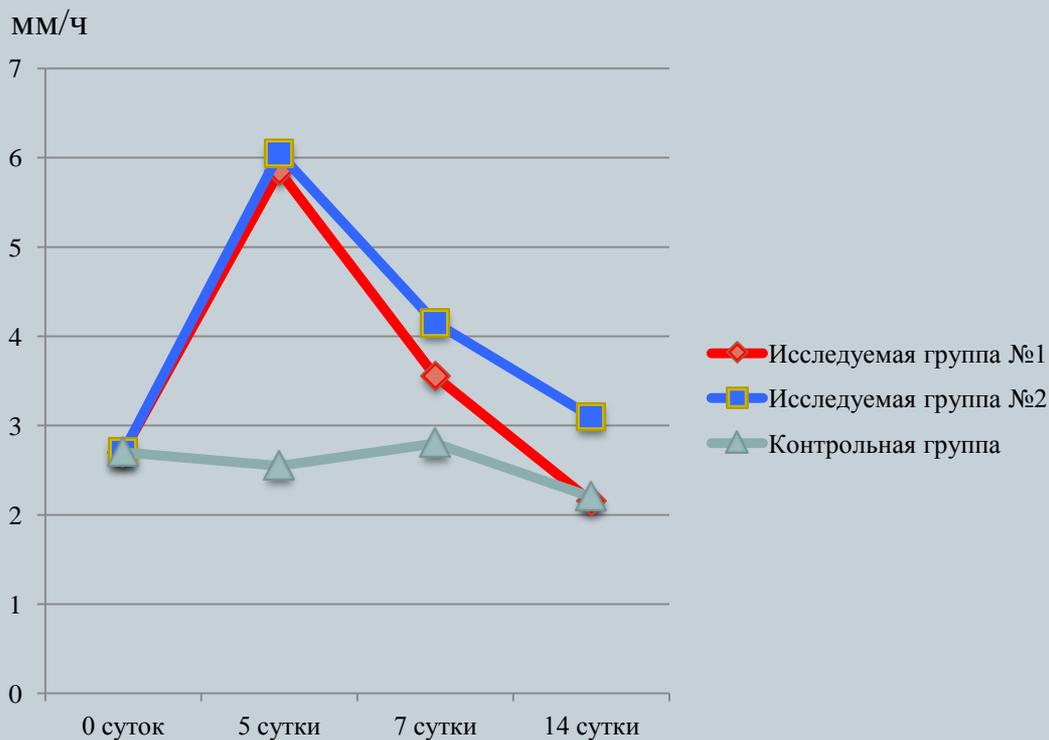


Рис.17.Динамика изменения СОЭ в крови экспериментальных животных, мм/ч ($p \leq 0,05$)

Материалы и методы клинико-лабораторного исследования

Место проведения исследования – СП УГМУ, сентябрь 2011 г. - декабрь 2013 г.
(Главный врач – к.м.н., доц. Т.Н.Стати)

Критерии включения пациентов в исследование:

- данные анамнеза настоящего заболевания (частота рецидивирования свыше 2 раз в год)
- наличие клинических проявлений, позволяющих поставить диагноз простой герпес губ (B00.11)
- наличие достоверных критериев постановки диагноза по данным дополнительных методов исследования
- информированное согласие пациентов на проведение исследования

Исследуемая группа

53 человека (мужчины и женщины 25-44 лет) -
в схему комплексного лечения включены аппликации
новой фармакологической композиции



Группа сравнения

54 человека (мужчины и женщины 25-44 лет) –
традиционная схема комплексного лечения



Рис.18.Новая фармакологическая композиция

Материалы и методы клинического исследования

Клинические методы обследования:

- сбор анамнеза
- осмотр полости рта
- стоматологические индексы:
 - индекс интенсивности кариеса КПУ(з)
 - упрощенный индекс гигиены ОНI-S (Green – Vermillion, 1964)
 - индекса РМА (модификация С.Parma, 1960)
 - пародонтальный индекс (Russel, 1956)
- соматический статус (совместно с ГБУЗ СО СОКВД)

Социологические методы обследования:

- оценка уровня боли с помощью ВАШ (VAS Pain) (Hawker G.A. et al., 2011)
- оценка качества жизни пациентов с помощью опросника ОНIP-49-RU (Гилева О.С., 2009 г.)

Функциональные и рентгенологические методы:

- лазерная доплеровская флоуметрия (ЛАКК-02)
- ОПТГ, КЛКТ



Рис.19. Внешний осмотр

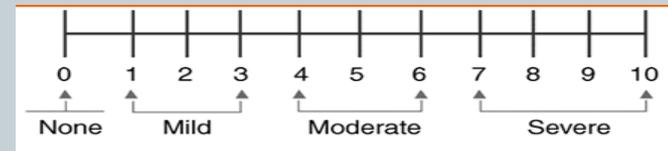


Рис.20. Визуально-аналоговая шкала боли (VAS)



Рис.21. Аппарат ЛАКК-02

Материалы и методы лабораторного исследования

Реакция иммунофлуоресценции (РИФ)

(ФГУН Екатеринбургский НИИ Вирусных инфекций Роспотребнадзора,
проф., д.м.н. Мальчиков И.А.)

Бутенко А.М., Львов Д.К., 2008

Islam N., Bhattacharyya I., Cohen D., 2013



Рис.22. Герпетические высыпания на красной кайме губ



Рис.23. Мазок эпителия слизистой оболочки рта больного

Материалы и методы лабораторного исследования

Лабораторное исследование состава ротовой жидкости

(Отдел общей патологии ЦНИЛ УГМУ, проф., д.м.н. Базарный В.В.)

Общие показатели

определены с помощью диагностических тест-полоски Multistix Bayer:

- 1) pH
- 2) общий белок
- 3) количество лейкоцитов

Иммунологические показатели

определены методом твердофазного гетерогенного ИФА с использованием тест-систем «Вектор-Бест» и регистрацией результатов на фотометре Multiscan:

- 1) лактоферрин (ЛФ)
- 2) секреторный иммуноглобулин А (SIgA)
- 3) интерферон- α (ИФ- α)



Рис.24. Пробирки с ротовой жидкостью пациентов

Базарный В.В., 2012

Лукашева Е.В., Рыскина Е.А., 2011

Растегина Т.А., 2005

Алгоритм комплексного лечения

Комплексное лечение

Общее

Противовирусные препараты per os

Иммуномодуляторы

Поливитамины

Местное

подбор методов и средств гигиены

профессиональная гигиена полости рта

санация полости рта

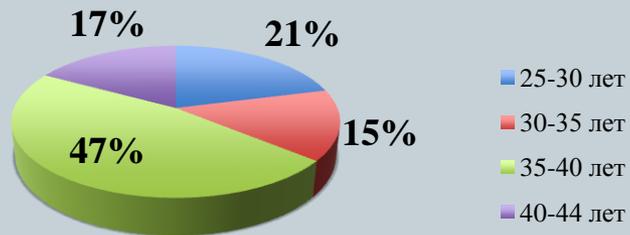
местные противовирусные препараты

Исследуемая группа
аппликации новой
фармакологической композиции
(3 раза в день до эпителизации)

Группа сравнения
аппликации мази Ацикловир 5%
(5 раз в день до эпителизации)

Результаты первичного обследования

Клиническая характеристика пациентов



Средний возраст - 37,3 года.

Рис.25. Возрастная структура пациентов, принявших участие в исследовании

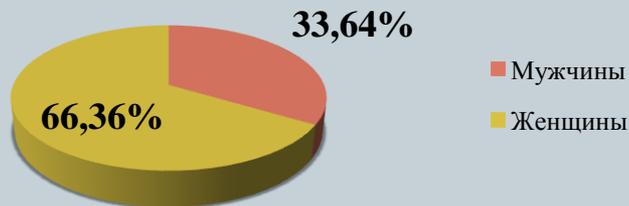


Рис.26. Половой состав пациентов, включенных в исследование

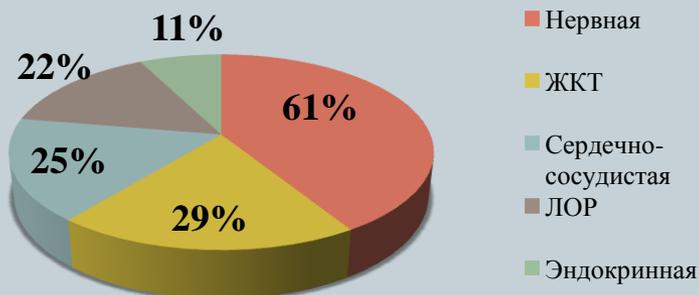


Рис.27. Структура сопутствующей соматической патологии пациентов, включенных в исследование

Результаты первичного обследования

Клинические методы

Жалобы: зуд, жжение, появление высыпаний на красной кайме губ.

Осмотр:

- на красной кайме губ единичные или сгруппированные пузырьки, эрозии;
- у 15% пациентов эрозии на гиперемизированной слизистой оболочке рта.



Рис.28. Герпетические высыпания на красной кайме губ

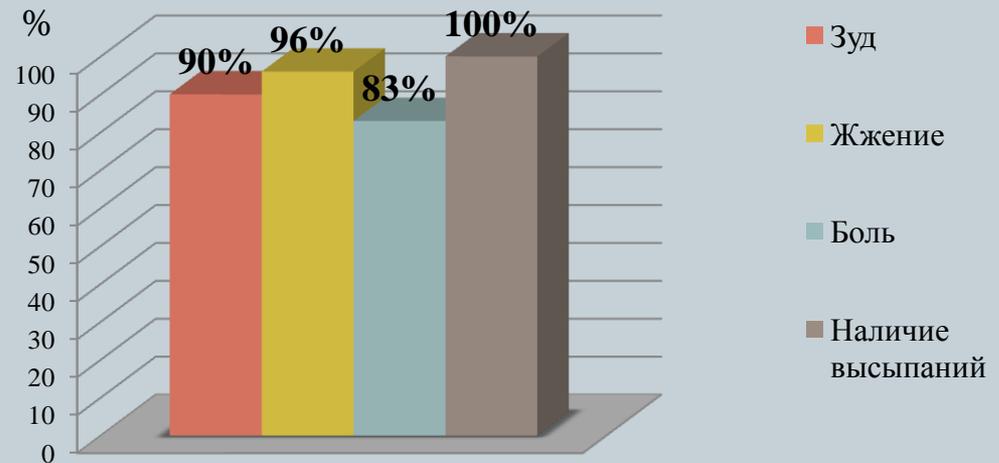


Рис.29. Жалобы, предъявляемые пациентами при первичном обследовании

Результаты первичного обследования

Социологические методы:

ВАШ боли, специализированный опросник ОНП-49-RU

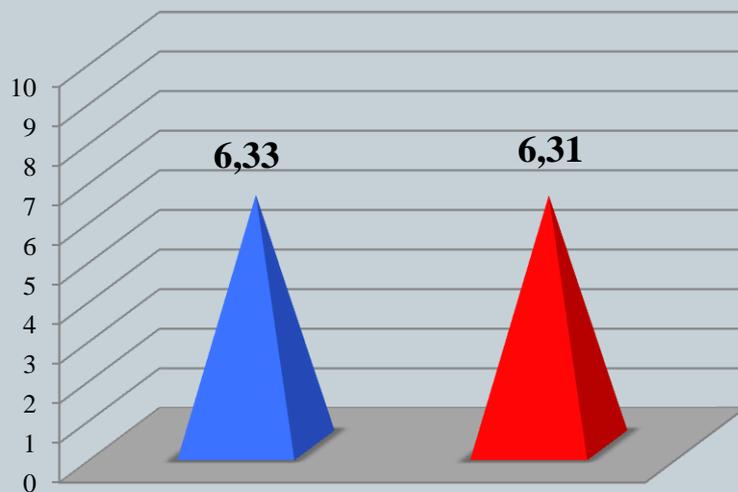


Рис.30. Результаты оценки состояния пациентов с использованием ВАШ боли до комплексного лечения ($p \leq 0,05$)

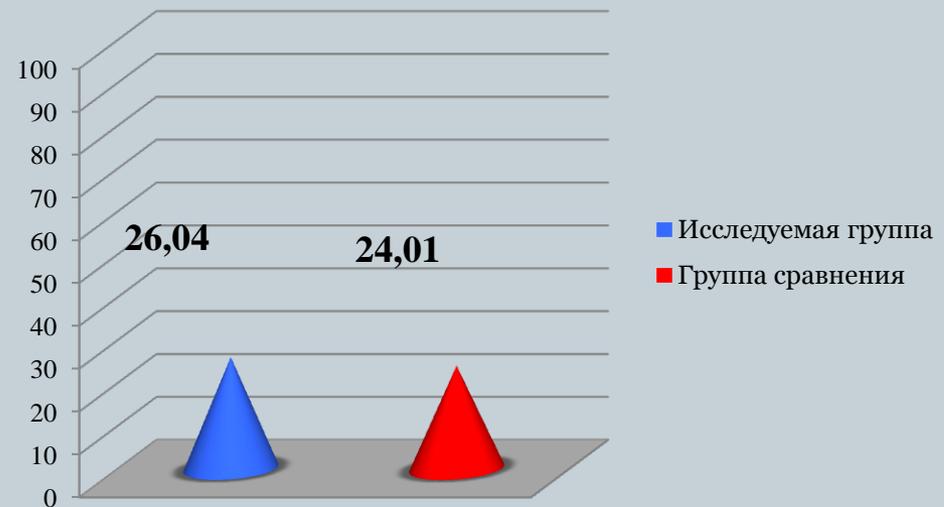


Рис.31. Результаты оценки КЖ пациентов с помощью опросника ОНП-49-RU до комплексного лечения ($p \leq 0,05$)

Результаты первичного обследования

Стоматологические индексы, функциональное исследование

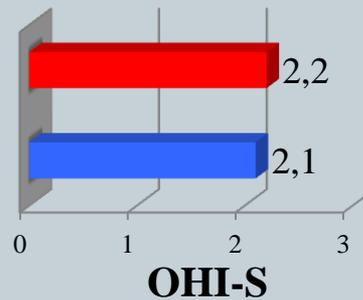
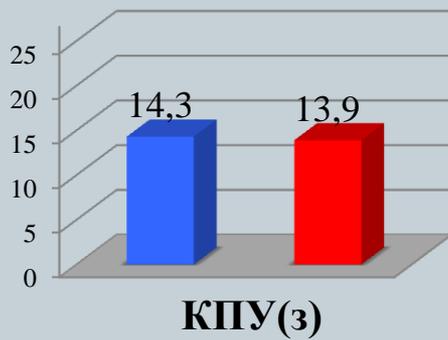


Рис.32. Исследование стоматологического статуса

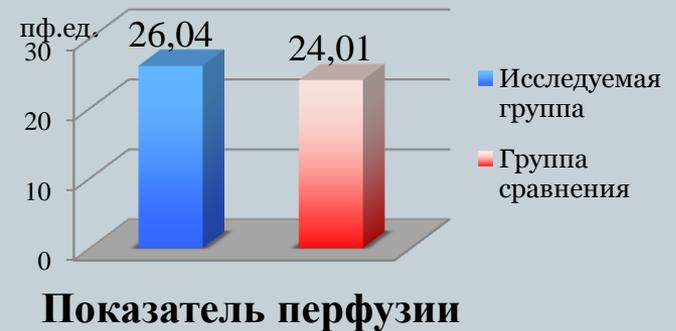
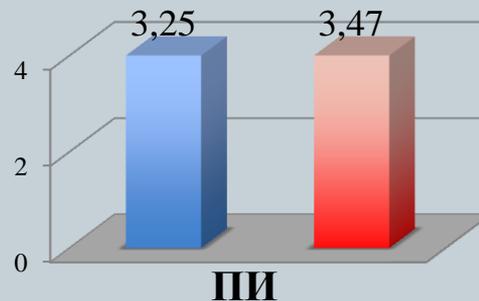
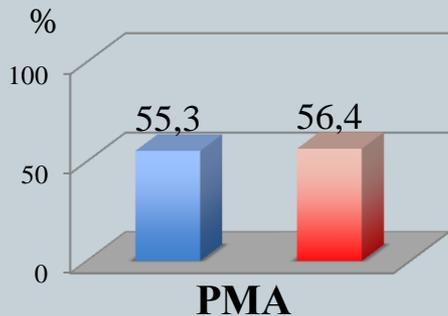


Рис.33. Значения стоматологических индексов и результаты ЛДФ до комплексного лечения ($p \leq 0,05$)

Результаты первичного обследования

Лабораторные методы обследования: исследование мазка эпителия методом РИФ

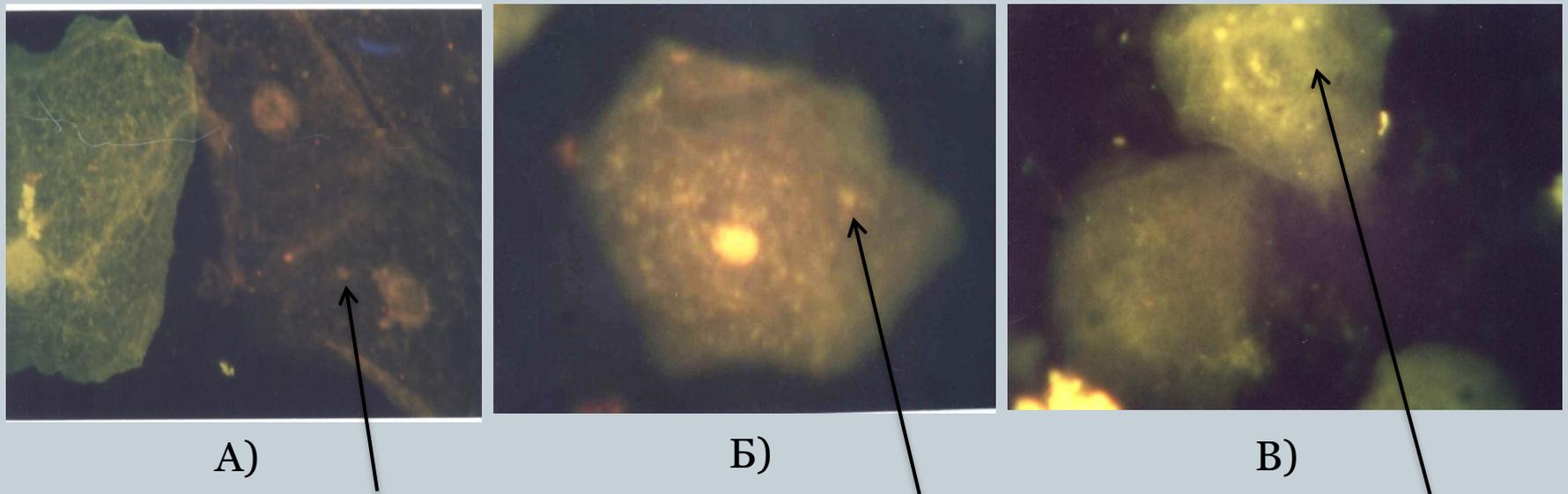


Рис.34. Флюоресцирующие включения вирусных частиц в эпителиальных клетках:
а) интенсивность свечения +;
б) интенсивность свечения ++;
в) интенсивность свечения +++.

Результаты первичного обследования

Лабораторные методы обследования: исследования ротовой жидкости, общий анализ крови



Рис.35. Общие и иммунологические показатели ротовой жидкости

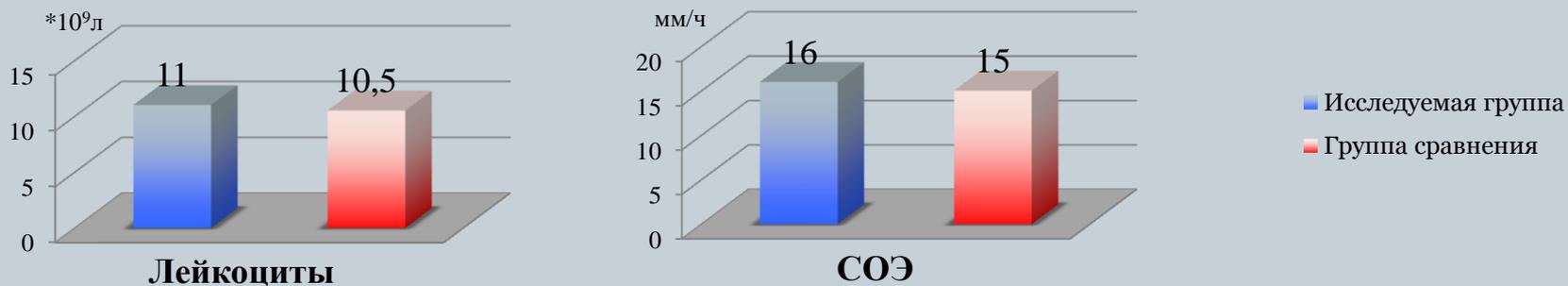


Рис.36. Показатели общего анализа крови при первичном обследовании

Результаты исследования

Результаты клинического обследования в контрольные сроки наблюдения

Средние сроки эпителизации патологических элементов

Исследуемая группа
 $5,2 \pm 0,04$ суток

Группа сравнения
 $7,3 \pm 0,06$ суток



А)



Б)

Рис.37. Состояние красной каймы губ после лечения:
А) исследуемая группа №1, Б) группа сравнения

Результаты исследования

Социологические методы в контрольные сроки наблюдения: ВАШ боли, специализированный опросник ОНП-49-RU



Рис.38. Результаты оценки состояния пациентов с использованием ВАШ боли на 14 сутки ($p \leq 0,05$)



Рис.39. Результаты оценки КЖ пациентов с помощью опросника ОНП-49-RU на 14 сутки ($p \leq 0,05$)

Результаты исследования

Стоматологические индексы, ЛДФ в контрольные сроки наблюдения

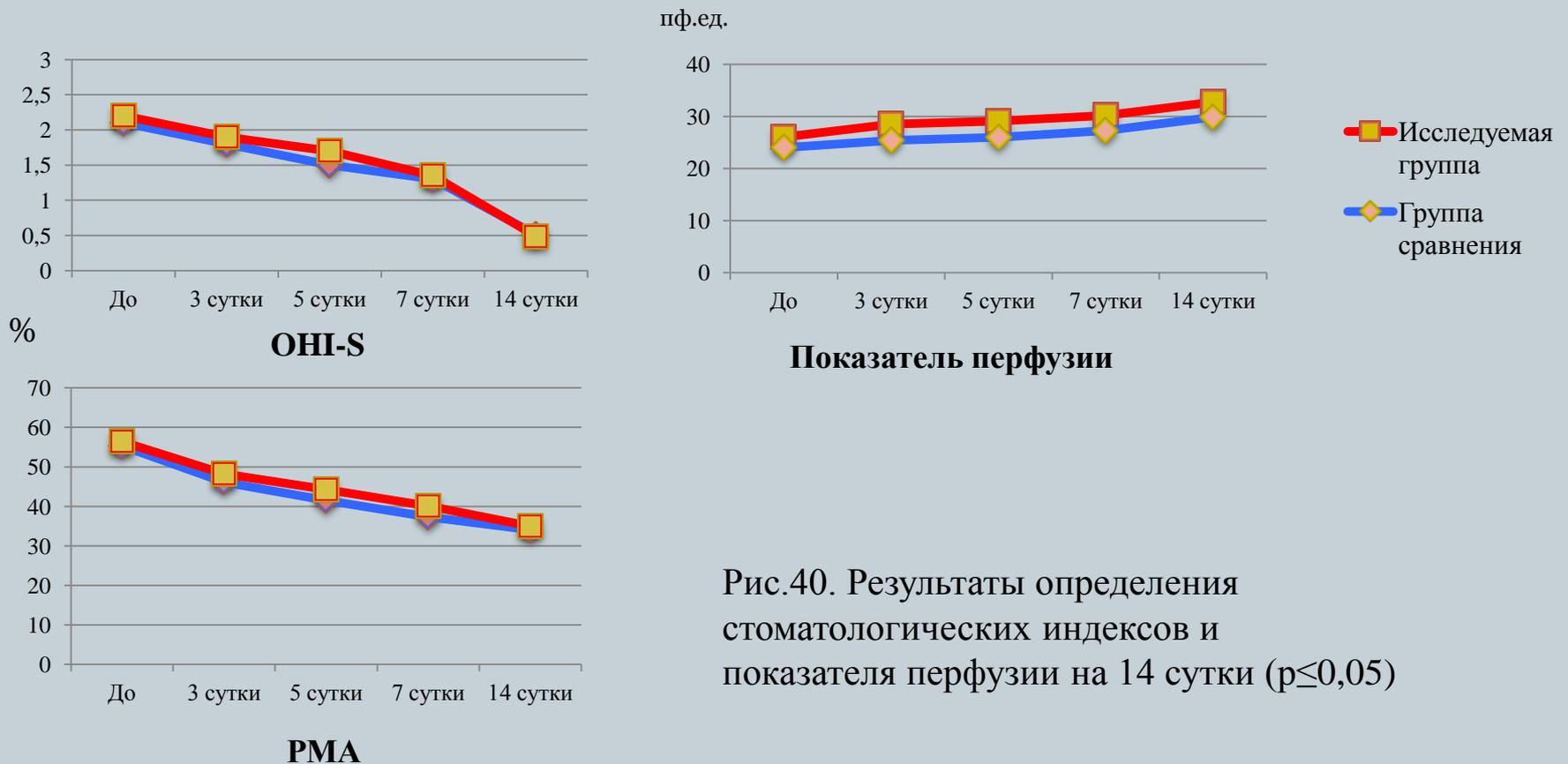


Рис.40. Результаты определения стоматологических индексов и показателя перфузии на 14 сутки ($p \leq 0,05$)

Результаты исследования

Лабораторные методы обследования: исследования ротовой жидкости, общий анализ крови

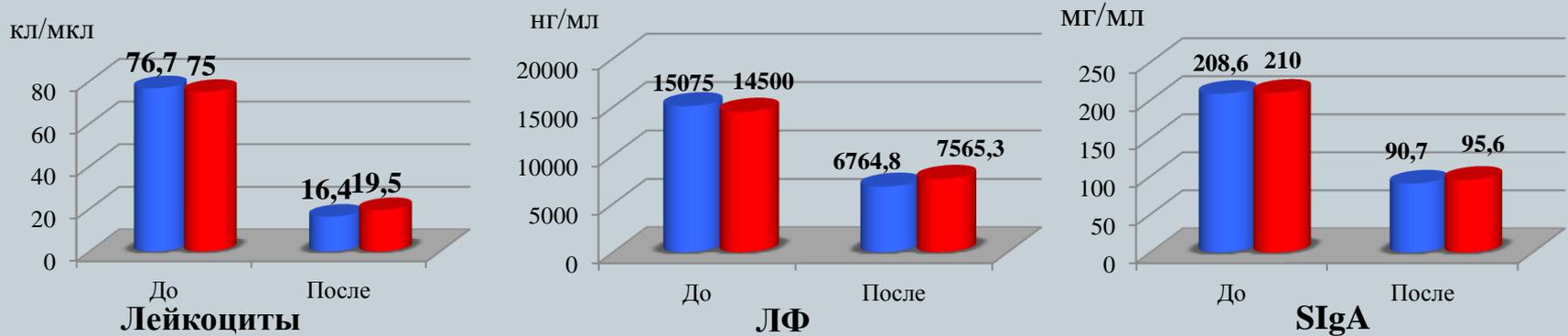


Рис.41. Результаты исследования общих и иммунологических показателей ротовой жидкости

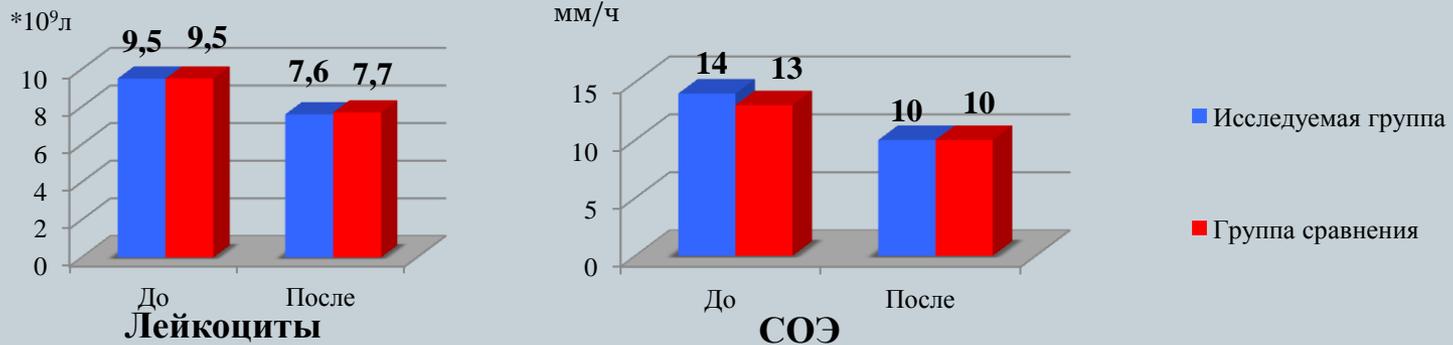
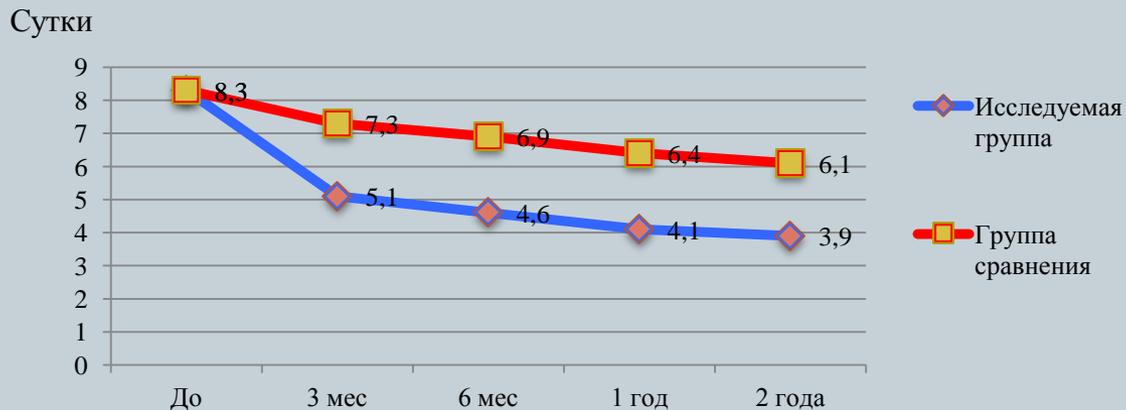
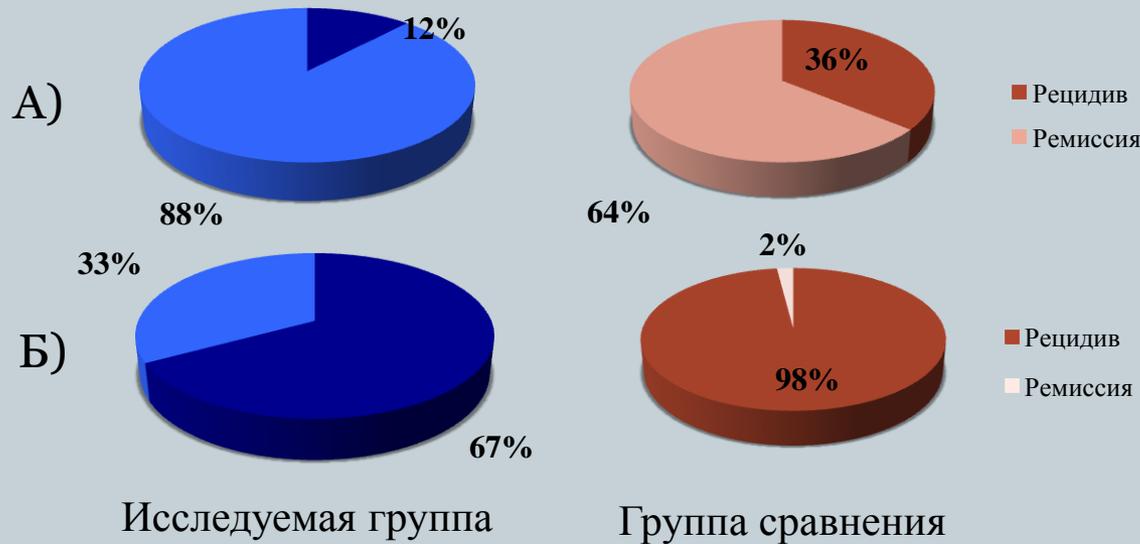


Рис.42. Результаты общего анализа крови пациентов после комплексного лечения

Результаты диспансерного наблюдения



Выводы

- 1) При анализе сопутствующей соматической патологии больных простым герпесом губ выявлено превалирование заболеваний нервной системы (61,95%), желудочно-кишечного тракта (28,57%), сердечно-сосудистой системы (24,33%), ЛОР-органов (21,45%). Стоматологический статус пациентов с простым герпесом губ отличался высокой интенсивностью кариеса зубов ($KPY(z)=14,1\pm 2,0$), неудовлетворительным уровнем индивидуальной гигиены полости рта ($ONI-S=2,15\pm 0,22$), воспалением тканей пародонта ($PMA=55,9\pm 4,6\%$).
- 2) В эксперименте на животных доказано отсутствие общей токсичности, безопасность, местное противовоспалительное и ранозаживляющее действие новой фармакологической композиции Силативита с Триазавирином.
- 3) Применение новой фармакологической композиции на основе Силативита с Триазавирином повышает эффективность комплексного лечения больных простым герпесом губ в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения (положительная динамика клинико-лабораторных показателей, сокращение частоты и продолжительности рецидивов заболевания, в среднем, в 1,6 раза).
- 4) Оптимизация алгоритма комплексного лечения больных простым герпесом губ путем включения новой фармакологической композиции на основе Силативита с Триазавирином позволяет
 - стабилизировать клиническое состояние пациентов на протяжении 2-летнего периода наблюдения в 67% случаев;
 - улучшить показатели стоматологического здоровья, в среднем, в 1,8 раза;
 - повысить качество жизни, обусловленное стоматологическим здоровьем, в среднем, в 2,5 раза.

Практические рекомендации

- Комплексное обследование и лечение пациентов с простым герпесом губ рекомендуется проводить совместно с врачами смежных специальностей (дерматолог, инфекционист, клинический иммунолог, невролог, гастроэнтеролог, оториноларинголог и др.).
- В алгоритме комплексного лечения больных простым герпесом губ в качестве местного противовирусного препарата рекомендуется использовать новую фармакологическую композицию на основе Силативита с Триазавирином (2% гель) путем нанесения тонким слоем на пораженные участки 3 раза в сутки с интервалом 8 ч в течение 3 дней.

Спасибо за внимание!



Благодарности

Академику Чупахину О.Н.,

д.м.н., проф.Базарному В.В.,

д.м.н., проф.Ларионову Л.П.,

д.х.н. Хониной Т.Г.,

д.м.н. Мальчикову И.А.,

к.м.н. Медведевой С.Ю.,

сотрудникам СО СОКВД.