

Влияние эпигена на систему матричных металлопротеиназ при вирусных инфекциях половых органов

Д.м.н., с.н.с. А.В. ШУРШАЛИНА¹, к.м.н., н.с. Л.В. КРЕЧЕТОВА, н.с. М.М. ЗИГАНШИНА

Effect of epigen on the matrix metalloproteinase system in genital viral infections

A.V. SHURSHALINA, L.V. KRECHETOVA, M.M. ZIGANSHINA

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова (дир. — акад. РАМН проф. Г.Т. Сухих), Москва

С целью оценки локального действия эпигена — противовирусного препарата (фирма «Cheminova»), у 30 женщин с папилломавирусной инфекцией, 30 — с типичной формой генитального герпеса и 30 больных с цитомегаловирусной инфекцией половых органов проводили исследование слизи цервикального канала на содержание матричных металлопротеиназ MMP-1 и тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ TIMP-1 до лечения и сразу после его окончания. Контрольную группу составили 10 здоровых женщин репродуктивного возраста. Установлено, что на фоне вирусной инфекции отмечается повышение локальной активности MMP-1 и одновременное снижение уровня TIMP-1. Эпиген нормализует уровни матричных металлопротеиназ MMP-1 и их ингибиторов TIMP-1, что свидетельствует о его выраженном антидеструктивном и протективном действии на кожу и слизистые оболочки гениталий.

Ключевые слова: женщины, половые органы, вирусные инфекции, матричные металлопротеиназы, эпиген.

To evaluate the local action of epigen, an antiviral agent («Cheminova»), the cervical mucus from 30 women with papillomavirus infection, 30 with typical genital herpes, and 30 patients with genital cytomegalovirus infection was tested for the levels of the matrix metalloproteinases MMP-1 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases TIMP-1 before and after treatment. A control group included 10 healthy women of reproductive age. Enhanced local MMP-1 activity and concomitantly lowered TIMP-1 levels were noted in the presence of viral infection. Epigen was found to normalize the levels of matrix metalloproteinases MMP-1 and their TIMP-1 inhibitors, suggesting its marked antedestructive and protective effects on the genital skin and mucosae.

Key words: women, genitals, viral infections, matrix metalloproteinases, epigen.

Результаты последних исследований показали, что вирусы способны поддерживать воспалительный процесс в зоне поражения с изменением структурно-функциональных характеристик ткани, вызывать изменения антигенной структуры инфицированных клеток, индуцируя появление аутоантител, могут быть индукторами неопластических трансформаций [2, 5, 10, 13, 18, 20]. Локальные изменения слизистых оболочек и кожи при вирусной инвазии проявляются развитием в ткани воспалительных инфильтратов, активацией клеток иммунной системы, изменением уровня цитокинов, факторов роста и протеолитических ферментов, активацией ангиогенеза, нарушением пролиферации и апоптоза клеток, изменением экспрессии генов [1, 3, 6, 7, 13, 16, 21].

В последнее время доказана способность вирусов влиять на тканевую систему протеолитических ферментов — матричных металлопротеиназ (ММР) и их ингибиторов (ТИМР), таким образом проявляется воспалительный деструктивный потенциал вируса [7, 13, 18, 20, 21]. Обширное семейство ММР представлено группой родственных по структуре цинк- и кальцийзависимых эндопептидаз, которые экспрессируются во всех органах и тканях и играют ключевую роль в тканевом ремоделировании, репарации ткани, опухолевом росте, а также участвуют в регуляции менструального цикла, овуляции, имплантации, беременности и послеродовой инволюции матки. ММР делятся на коллагеназы (ММР-1, -8, -13), желатиназы (ММР-2, -9), стромелизины (ММР-3, -10, -11), матрилизины (ММР-7, -26), металлоэластазы (ММР-12) и связанные с мембраной

ММР (ММР-14, -16). Экспрессия ММР и ТИМР регулируется различными цитокинами, факторами роста (TGF- β), гормонами, некоторые из которых специфичны к определенным типам клеток, некоторые — универсальны [4, 9, 15, 17, 19]. В целом интенсивность процессов деструкции ткани определяется способностью антигенов микроорганизма индуцировать дисбаланс в системе тканевых ММР и их ингибиторов. Некоторые исследователи предлагают определять уровень ММР в качестве маркеров воспалительного процесса, например, использовать тест на ММР-8 для определения интраамниотической инфекции при преждевременном разрыве плодных оболочек [11, 14].

В настоящее время с целью терапии вирусных инфекций половых органов применяются различные группы лекарственных препаратов, воздействующих на репликацию вирусов, активирующих систему противовирусной защиты, создающих напряженный типоспецифический иммунитет и др. [2, 5, 8, 10]. При оценке действия различных противовирусных препаратов интересным представляется исследование системы протеолитических ферментов как важных медиаторов воспалительных реакций и маркеров эффективности терапии.

Материал и методы исследования

С целью исследования локального действия глицирризиновой кислоты (экстракт *Glycyrriza glabra*, препарат «Эпиген», фирма «Cheminova») при вирусных инфекциях половых органов в исследование были включены 100 жен-

щин в возрасте от 17 до 40 лет, инфицирование у которых было доказано путем определения в половом тракте вирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции.

Все пациентки были разделены на следующие группы:

1-я группа — 30 женщин с папилломавирусной инфекцией половых органов;

2-я группа — 30 женщин с типичной формой генитального герпеса (легкой и средней степени тяжести);

3-я группа — 30 женщин с цитомегаловирусной инфекцией половых органов;

контрольная группа — 10 здоровых женщин репродуктивного возраста.

С целью оценки механизма действия исследуемого препарата использовалась модель моноинфекции и монолечения. В каждой группе пациенткам проводили местную терапию эпигеном ($n=20$) и препаратом плацебо ($n=10$) в течение 1 мес, препарат наносили ежедневно по 2–3 раза на слизистые оболочки половых органов путем распыления, при локализации поражений на шейке матки препарат применяли интравагинально с помощью специальной насадки. Назначение препарата или плацебо в группах проводили слепым методом. Во время исследования лечение другими противовирусными препаратами не проводилось. Клиническую эффективность терапии оценивали в ходе лечения, период последующего наблюдения составил 6 мес.

С целью оценки локального действия эпигена до лечения и сразу после его окончания проводили исследование слизи цервикального канала на содержание MMP-1 и TIMP-1. Для проведения исследования слизь из цервикального канала брали универсальным зондом, встряхивали на вортексе в течение 1 мин, смывали в 1 мл фосфатно-солевого раствора, затем центрифугировали в течение 3 мин при 3000 об/мин. Надосадок немедленно замораживали и хранили до выполнения реакций при температуре -80°C . В образцах слизи из цервикального канала с помощью иммуноферментного анализа определяли содержание тканевых MMP-1 и TIMP-1. Уровни этих факторов в цервикальной слизи нормировали по содержанию белка в пробах, который определяли колориметрическим методом с помощью бицинониновой кислоты.

Результаты исследования

Данные анализа динамики клинических симптомов инфекции после применения эпигена свидетельствуют о высокой клинической эффективности препарата. При типичной форме генитального герпеса (легкой и средней степени тяжести) на фоне лечения длительность и клиническая выраженность рецидивов герпеса по субъективной оценке больных значительно уменьшились, что позитивно повлияло на их качество жизни. По сравнению с плацебо на фоне применения эпигена отмечались быстрое купирование симптомов вульводинии, зуда, жжения, дискомфорта в области герпетических высыпаний вульвы и влагалища, более быстрое заживление поражений, ускорение процессов эпителизации зон поражения, значительное сокращение зоны гиперемии вокруг герпетических элементов и реакции регионарных лимфатических узлов. Значительное снижение на фоне лечения местной

воспалительной реакции, окружающей герпетические элементы, и ускорение процессов репарации ткани способствовали снижению риска присоединения вторичной бактериальной инфекции и развитию осложнений.

На фоне терапии эпигеном у пациенток с экзофитными формами папилломавирусной инфекции гениталий отмечалось купирование симптомов стойкого дискомфорта, зуда и жжения в области наружных половых органов через 4–6 дней от начала применения препарата. При наличии небольших и множественных кондилом вульвы и влагалища отмечено значительное уменьшение экзофитных образований в размере и общей площади поражения. При цитомегаловирусной инфекции исходно только у 6 пациенток отмечались симптомы вульводинии, которые были быстро купированы на фоне терапии эпигеном.

Важной задачей исследования была оценка влияния препарата на локальную активность протеолитических ферментов на уровне цервикального канала при вирусных инфекциях.

При анализе системы тканевых протеолитических ферментов MMP-1 и их ингибиторов TIMP-1 как ключевых эффекторов тканевого ремоделирования и важных маркеров воспалительного процесса при всех видах вирусных инфекций выявлено исходное повышение активности MMP-1 (рис. 1–3). При генитальном герпесе в 1-й группе исходный уровень MMP-1 в 2,5 раза превышал его значения в контрольной группе ($p<0,05$), при папилломавирусной инфекции во 2-й группе — в 2,1 раза ($p<0,05$), при цитомегаловирусной инфекции в 3-й группе изменения уровня MMP-1 были менее значительны — отмечено повышение уровня маркера на 24% по сравнению с таковым в контрольной группе ($p>0,05$). Локальный уровень

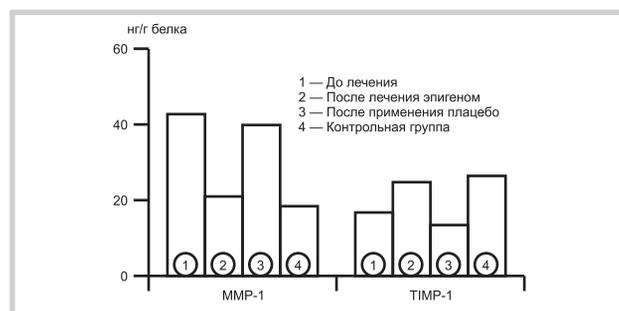


Рис. 1. Динамика уровня MMP-1 и TIMP-1 в слизи цервикального канала после применения эпигена и плацебо при генитальном герпесе.

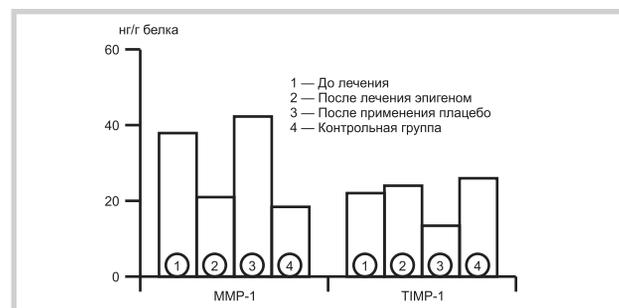


Рис. 2. Динамика уровня MMP-1 и TIMP-1 в слизи цервикального канала после применения эпигена и плацебо при папилломавирусной инфекции.

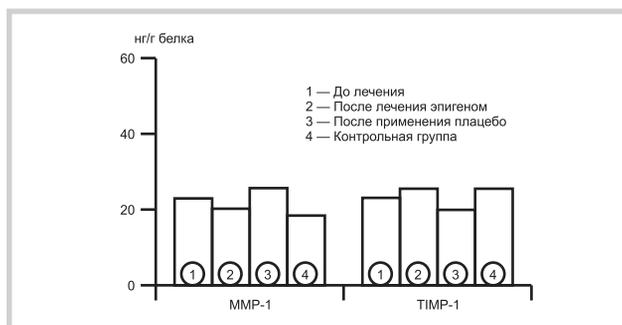


Рис. 3. Динамика уровня MMP-1 и TIMP-1 в слизи цервикального канала после применения эпигена и плацебо при цитомегаловирусной инфекции.

тканевых ингибиторов TIMP-1 во всех группах был ниже контрольных значений, данная тенденция была особенно выражена в 1-й группе, однако изменения были статистически незначимы ($p > 0,05$).

При анализе действия эпигена на уровень тканевых MMP после лечения выявлено достоверное снижение уровня протеолитических ферментов до контрольных значений: в 1-й группе уровень MMP-1 снизился в 2,25 раза по сравнению с ее исходными значениями ($p < 0,05$), во 2-й группе — в 1,9 раза ($p < 0,05$), в 3-й группе — уровень снизился незначительно ($p > 0,05$). Терапия эпигеном привела к повышению протективных свойств слизистой оболочки за счет повышения до контрольных значений уровня тканевых ингибиторов металлопротеиназ: в 1-й группе уровень TIMP-1 повысился в 1,6 раза по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$), во 2-й группе — на 20% ($p < 0,05$), в 3-й группе повышение маркера было статистически незначимым ($p > 0,05$). При применении плацебо во всех группах отмечено дальнейшее прогрессирование нарушений в системе MMP-1/TIMP-1: отмечалось повышение уровня MMP и снижение содержания TIMP.

Обсуждение полученных результатов

Хроническая персистенция вирусных агентов приводит к нарушению медиаторных межклеточных взаимодействий, активации факторов роста, которые в свою очередь активируют процессы пролиферации и апоптоза клеток, ангиогенез, склерозирование, в результате чего часто

формируется самоподдерживающаяся патологическая система с четко выраженным воспалительным компонентом. При нарушении медиаторных взаимодействий и клеточного ансамбля иммунный барьер слизистых оболочек и кожи неполноценен, что приводит к активации условно-патогенной флоры, присоединению вторичной инфекции и в конечном итоге к усилению воспалительного процесса [4, 6, 7, 19, 20].

MMP являются важными модуляторами воспалительного процесса, их уровень регулируется, в частности, уровнем провоспалительных Th1-цитокинов. MMP участвуют как в физиологической, так и в патологической воспалительной реакции, регулируя барьерные функции, оказывая протеолитическое действие, влияя на активность воспалительных хемокинов и цитокинов, на миграцию лейкоцитов и ангиогенез [13, 14, 16, 19]. В последнее время появились данные о так называемом двойном эффекте («dual personality») некоторых MMP, в частности MMP-2 и MMP-9, которые при воспалении могут выступать как про- или противовоспалительные медиаторы [12].

В результате исследования было показано, что на фоне вирусной инфекции отмечается достоверное повышение локальной активности MMP-1 и одновременное снижение уровня тканевых ингибиторов TIMP-1 в слизи цервикального канала, а это является важным показателем интенсивности воспалительного процесса и подтверждает наличие у вирусов деструктивного потенциала различной степени выраженности.

Подтверждение нормализующего влияния эпигена на систему MMP и их ингибиторов в половом тракте является важным результатом исследования и впервые позволяет сделать заключение о том, что, кроме противовоспалительного эффекта, препарат оказывает выраженное антидеструктивное и протективное действие на слизистые оболочки полового тракта.

Выводы

1. Эпиген может быть успешно использован в комплексной терапии вирусных инфекций гениталий.
2. Применение препарата с лечебной и профилактической целью позволяет восстановить полноценность защитного барьера кожи и слизистых оболочек гениталий и в случае вирусной инвазии снизить иммунные нарушения в зоне поражения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность. Клинико-диагностика 1998; 11: 21—32.
2. Марченко Л.А. Генитальная герпетическая инфекция у женщин (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М 1997; 41.
3. Пальцев М.А. Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях. Арх патол 1996; 6: 3—7.
4. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М 1995; 159.
5. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М: Трида-Х 2005; 304.
6. Шубич М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса. Арх патол 1997; 2: 3—8.
7. Carr D.J., Tomanek L. Herpes simplex virus and the chemokines that mediate the inflammation. Curr Top Microbiol Immunol 2006; 303: 47—65.
8. Center for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease treatment guidelines 2006; MMWR 2006; 55 (No.RR-11).
9. Gill S.E., Parks W.C. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. Int J Biochem Cell Biol 2008; 40: 6—7: 1334—1347.

10. *Gordon J.D., Speroff L.* Handbook for Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. PA: Lippincott Williams & Wilkins 2002; 515.
11. *Kim K.W., Romero R., Park H.S.* A rapid metalloproteinase-8 bedside test for the detection of intraamniotic inflammation in women with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynec* 2007; 197: 3: 292.
12. *Le N.T., Xue M.* The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front Biosci* 2007; 1: 12: 1475—1487.
13. *Lee S., Zheng M., Kim B.* Role of matrix metalloproteinase-9 in angiogenesis caused by infection with herpes simplex virus. *J Clin Invest* 2002; 110: 8: 1105—1111.
14. *Manicone A.M., McGuire J.K.* Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Semin Cell Biol* 2008; 19: 1: 34—41.
15. *Reynolds J.J.* Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Dis* 1996; 2: 1: 70—76.
16. *Saalbach A., Arnhold J., Lessig J.* Human Thy-1 induced secretion of matrix metalloproteinase-9 and CXCL8 from human neutrophils. *Eur J Immunol* 2008; 38: 5: 1391—1403.
17. *Stamenkovic I.* Extracellular matrix remodeling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 2003; 4: 448—464.
18. *Straat K., de Klark R., Gredmark S.* Infection of human cytomegalovirus alters the MMP-9/TIMP-1 balance in human macrophages. *J Virol* 2008; 22: 43—45.
19. *Van Lint P., Libert C.* Chemokines and cytokines processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 6: 135—1381.
20. *Wuest T.R., Carr D.J.* The role of chemokines during herpes simplex virus infection. *Front Biosci* 2008; 13: 1: 4862—4872.
21. *Yang Y.N., Bauer D., Li H.P.* Expression of matrix metalloproteinases in experimental herpes simplex virus keratitis. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2004; 40: 6: 395—399.