

ISSN 0300-9092



АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

3

2009

А. В. ШУРШАЛИНА, Л. В. КРЕЧЕТОВА, М. М. ЗИГАНШИНА, Г. Т. СУХИХ

ЛОКАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭПИГЕН ИНТИМ СПРЕЙ (ГЛИЦИРРИЗИНОВАЯ КИСЛОТА) ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова Росмедтехнологий, Москва

Глицирризиновая кислота применена у 90 больных с вирусной инфекцией половых органов. Под влиянием лечения отмечено снижение уровня провоспалительных и повышение содержания противовоспалительных цитокинов, что свидетельствует о выраженном противовоспалительном и иммуномодулирующем эффекте препарата.

Ключевые слова: цитомегаловирус, инфекция половых органов, генитальный герпес, папилломавирусная инфекция половых органов, цитокины про- и противовоспалительные.

A. V. Shurshalina, L. V. Krechetova, M. M. Ziganshina, G. T. Sukhikh

LOCAL ACTION OF GLYCYRRHIZIC ACID IN GENITAL VIRAL INFECTIONS

V. I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Russian Agency for Medical Technologies, Moscow

Glycyrrhizic acid was applied to 90 patients with genital viral infection. With the treatment, there was a reduction in the level of proinflammatory cytokines and an increase in the content of anti-inflammatory cytokines, suggesting the marked anti-inflammatory and immunomodulatory effects of the agent.

Key words: cytomegalovirus, genital infection, genital herpes, genital papillomavirus infection, pro- and anti-inflammatory cytokines.

Вирусные инфекции половых органов продолжают привлекать пристальное внимание исследователей и клиницистов вследствие роста заболеваемости, значительной контагиозности и потенциальной онкогенности.

Исследования последних лет 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 и развитие хронической формы ДВС-синдрома, могут быть индукторами неопластических трансформаций [2, 5–7, 12, 18].

Вирусная инвазия часто сопровождается системными реакциями в виде изменения уровня и соотношения цитокинов, факторов роста, активности протеолитических ферментов, активации системы интерферона, изменения фенотипического состава клеток иммунной системы. Локальные изменения слизистых оболочек и кожи характеризуются проявлением в ткани воспалительных инфильтратов, активацией клеток иммунной системы, изменением соотношения цитокинов Th1/Th2, изменением синтеза факторов роста и протеолитических ферментов, активацией ангиогенеза, нарушением пролиферации и апоптоза клеток, изменением экспрессии генов [1, 4, 6, 7, 12, 15, 18, 19].

Являясь важной причиной развития гинекологической, акушерской и неонатальной патологии, вирусные инфекции в настоящее время представ-

ляют собой серьезную терапевтическую проблему [2, 5, 8, 10]. Современный арсенал противовирусных средств, позволяющих блокировать репликацию вирусных агентов, вызывать состояние контролируемой ремиссии или создавать напряженный типоспецифический иммунитет, ограничен отдельными видами и типами вирусов. Поэтому поиск новых лекарственных средств, способных нивелировать локальные последствия агрессивного вторжения вирусных агентов на территорию слизистых оболочек, является актуальной и своевременной задачей.

Материал и методы исследования

Изучение локального действия глицирризиновой кислоты (экстракт *Glycyrriza glabra*, препарат Эпиген интим, "Cheminova") проведено у 100 женщин с различной вирусной инфекцией половых органов, доказанной путем детекции вирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции.

1-ю группу составили 30 женщин с папилломавирусной инфекцией, 2-ю группу — 30 женщин с типичной формой генитального герпеса, 3-ю группу — 30 пациенток с цитомегаловирусной инфекцией. Контрольная группа — 10 здоровых женщин репродуктивного возраста.

Для оценки механизма действия исследуемого препарата использовали модель моноинфекции и монотерапии. В каждой группе проводили местную терапию глицирризиновой кислотой ($n = 20$) или препаратом плацебо ($n = 10$) в течение 1 мес. Препарат наносили ежедневно по 2–3 раза на слизистую оболочку половых органов путем распыления, при локализации поражений на шейке матки его применяли интравагинально с использованием специальной насадки. Назначение препарата или плацебо проводили слепым методом. Во время проведения исследования лечения другими проти-

Для корреспонденции:

Шуршалина Анна Владимировна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова Росмедтехнологий

Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Телефон: (8-495) 438-26-01

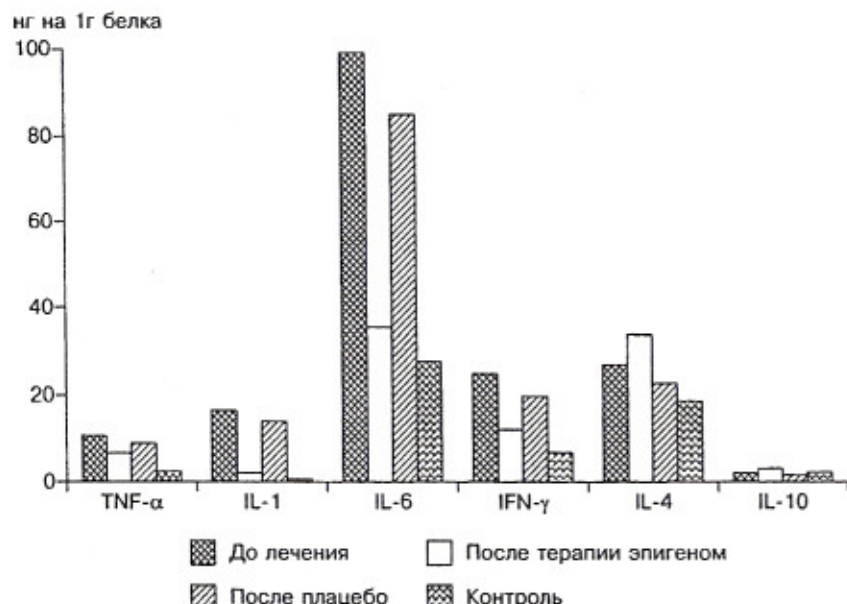


Рис. 1. Динамика уровня цитокинов в цервикальном канале после применения глицирризиновой кислоты/плацебо при генитальном герпесе.

вовирусными средствами не проводили. Клиническую эффективность терапии оценивали в процессе лечения, период последующего наблюдения составил 6 мес.

Для оценки локального действия глицирризиновой кислоты до лечения и сразу после его окончания в слизи цервикального канала определяли содержание провоспалительных Th1-цитокинов (IL-1β, IL-6, TNF-α и IFN-γ), противовоспалительных Th2-цитокинов (IL-4, IL-10), а также матричных металлопротеиназ (MMP-1) и тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ (TIMP-1).

Слизь из цервикального канала брали универсальным зондом, встряхиванием на вортексе в течение 1 мин смывали в 1 мл фосфатно-солевого раствора, далее 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 IL-1β, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNF-α, IL-4 ("Цитокин", Россия), а также тканевых MMP-1 и TIMP-1 ("Chemicon", США). Уровень факторов в цервикальной слизи нормировали по содержанию белка в пробах, который определяли колориметрическим методом с помощью бичинхониновой кислоты ("Sigma", США).

Результаты исследования

Анализ динамики клинических симптомов инфекции после применения препарата Эпиген интим свиде-

тельствует 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 уменьшилась, что позитивно повлияло на качество жизни пациенток. По сравнению с плацебо на фоне применения глицирризиновой кислоты отмечалось быстрое купирование симптомов вульводинии, зуда, жжения, дискомфорта в области герпетических высыпаний, более быстрое заживление поражений (в среднем на $2 \pm 0,78$ дня по сравнению с плацебо), 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 Эпиген интимом у пациенток с экзофитными формами папилломавирусной инфекции отмечено купирование симптомов стойкого дискомфорта, зуда и жжения в области наружных половых органов через 4–6 дней после начала применения препарата. При наличии небольших и множественных кондилом вульвы и влагалища произошло значительное уменьшение размеров экзофитных образований и общей площади поражения. При цитомегаловирусной инфекции исходно только у 6 пациенток отмечены симптомы вульво-

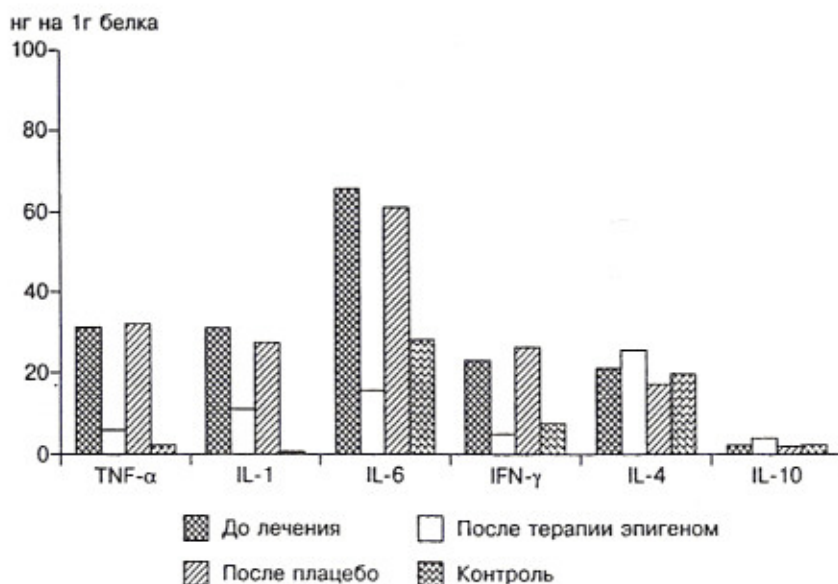


Рис. 2. Динамика уровня цитокинов в цервикальном канале после применения глицирризиновой кислоты/плацебо при папилломавирусной инфекции.

динии, которые были быстро купированы на фоне терапии глицирризиновой кислотой.

Основной задачей исследования являлась оценка влияния глицирризиновой кислоты на локальные молекулярно-биологические процессы в половых органах при вирусных инфекциях. При анализе содержания провоспалительных цитокинов в цервикальном канале до лечения во всех группах больных было установлено, что персистенция вирусной инфекции сопровождается значительным увеличением содержания Th1-цитокинов, что отражает интенсивность воспалительных реакции в ткани и является важным маркером фазы активации вирусной инфекции. При всех типах вирусной инфекции локальный уровень Th1-цитокинов превышал контрольные значения. При генитальном герпесе в 1-й группе содержание IL-1 β было повышено в 33,2 раза, IL-6 — в 3,5 раза, TNF- α — в 4,6 раза и IFN- γ — в 3,6 раза; при папилломавирусной инфекции во 2-й группе уровень IL-1 β был повышен в 62,4 раза, IL-6 в 2,4 раза, TNF- α — в 13,6 раза и IFN- γ — в 3 раза; при цитомегаловирусной инфекции в 3-й группе содержание IL-1 β было повышено в 18,6 раза, IL-6 — в 1,3 раза, TNF- α — в 3,7 раза и IFN- γ — в 2,8 раза (во всех случаях $p < 0,05$ по отношению к контрольным значениям). Уровень регуляторных противовоспалительных Th2-цитокинов во всех группах до лечения был ниже контрольных значений, что свидетельствует об индуцированном вирусами угнетении системы противовоспалительной защиты ткани. Однако эти изменения были достоверно незначимыми ($p > 0,05$) (рис. 1–3).

При анализе системы тканевых протеолитических ферментов матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов как ключевых эффекторов тканевого ремоделирования и важных маркеров воспалительного процесса во всех группах выявлено повышение локальной активности MMP-1. При генитальном герпесе в 1-й группе исходный уровень MMP-1 в 2,5 раза превышал контрольные значения ($p < 0,05$), 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 — повышение на 24% по отношению к контролю ($p > 0,05$). Локальный уровень тканевых ингибиторов TIMP-1 во всех группах был ниже контрольных значений. Данная тенденция особенно выражена в 1-й группе, однако эти изменения были достоверно незначимы ($p > 0,05$).

После курса терапии препаратом Эпиген интим локальное содержание Th1-цитокинов в цервикальном канале снизилось до контрольных значений. Динамика изменений была особенно показана

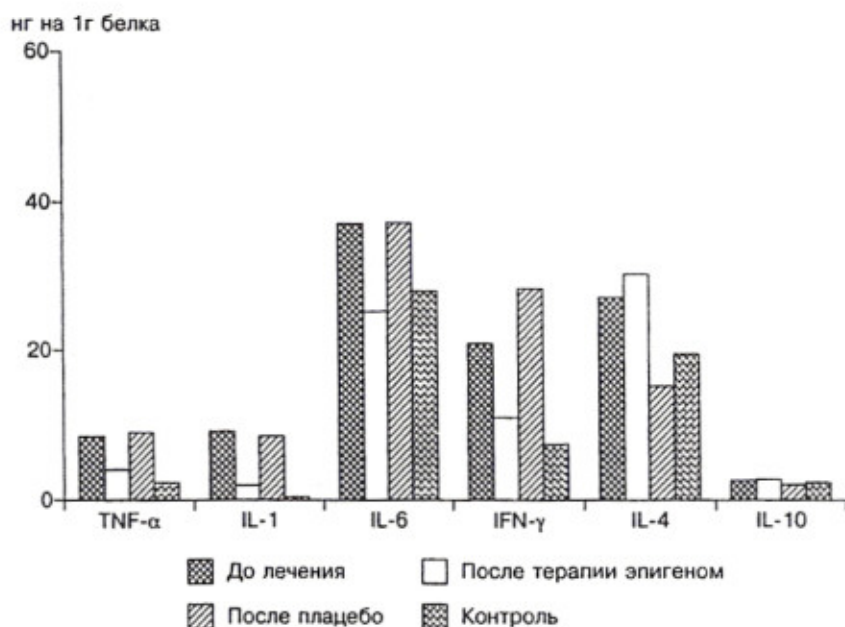


Рис. 3. Динамика уровня цитокинов в цервикальном канале после применения глицирризиновой кислоты/плацебо при цитомегаловирусной инфекции.

тельна в 1-й группе больных с генитальным герпесом, в которой исходная интенсивность воспалительных реакций была максимальной. Папилломавирусная и цитомегаловирусная инфекции сопровождались менее выраженными воспалительными реакциями, использование глицирризиновой кислоты привело к нормализации уровня цитокинов до контрольных значений. Лечение привело к усилению защитного потенциала слизистой оболочки, для которого характерна активация противовоспалительных Th2-цитокинов. Так, содержание IL-4 и IL-10 повысилось, в ряде случаев превысив контрольные значения. При применении плацебо уровень провоспалительных Th1-цитокинов и регуляторных Th2-цитокинов незначительно колебался за счет волнообразности самого вирусного инфекционного процесса, но достоверно не изменился ($p > 0,05$ во всех группах по сравнению с исходными значениями и контролем).

Что касается содержания тканевых матриксных металлопротеиназ, то после лечения произошло снижение активности протеолитических ферментов до контрольных значений. В 1-й группе содержание MMP-1 снизилось в 2,25 раза ($p < 0,05$ по отношению к исходным значениям), во 2-й группе — в 1,9 раза ($p < 0,05$ по отношению к исходным значениям), в 3-й группе — снижение было незначительным ($p > 0,05$). Терапия препаратом привела к повышению протективных свойств слизистой оболочки. Выявлено повышение до контрольных значений содержания тканевых ингибиторов металлопротеиназ: в 1-й группе уровень TIMP-1 повысился в 1,6 раза ($p < 0,05$ по отношению к исходным значениям), во 2-й группе — на 20% ($p < 0,05$ по отношению к исходным значениям), в 3-й группе повышение маркера было достоверно незначимым ($p > 0,05$). На фоне применения плацебо во всех группах отмечено дальнейшее про-

грессирование нарушений в системе MMP-1/TIMP-1 с активацией матриксных металлопротеиназ и снижением содержания их тканевых ингибиторов.

Инфекционный процесс в целом представляет собой сложную систему интеграции микро- и макроорганизма с вовлечением целого каскада различных молекулярно-биологических факторов и сопряженных с ними клеточных и тканевых процессов. Хроническая персистенция вирусных агентов приводит к нарушению медиаторных межклеточных взаимодействий, изменению ангиоархитектоники ткани, активации факторов роста, которые в свою очередь активируют процессы пролиферации клеток и ангиогенез. Таким образом, часто формируется самоподдерживающаяся замкнутая 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, 17, 18].

Вирусные инфекции всегда сопровождаются активацией цитокиновых каскадов и факторов роста как на локальном, так и на системном уровне. Цитокины и факторы роста, являясь медиаторами межклеточных взаимодействий, регулируют характер, глубину и продолжительность иммунного воспалительного ответа. При этом соотношение цитокинов Th1/Th2 характеризует интенсивность воспалительного процесса, что позволяет оценивать эффективность проводимой противовоспалительной терапии [1, 3, 4]. В последнее время выявлены способности вирусов влиять на тканевую систему протеолитических ферментов — матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов — и тем самым проявлять свой воспалительный литический потенциал [16, 17–19]. Обширное семейство матриксных металлопротеиназ представлено группой родственных по структуре цинкзависимых эндопептидаз, которые играют ключевую роль в тканевом ремоделировании, деградациии базальных мембран и экстрацеллюлярного матрикса, участвуют в процессах репарации ткани, а также являются важным компонентом воспалительного процесса [9, 11, 13, 14, 16, 17].

В результате проведенного исследования было показано, что персистенция вирусных инфекции половых органов сопровождается локальным повышением уровня провоспалительных Th1-цитокинов с одновременным угнетением системы защиты, в частности снижением уровня регуляторных противовоспалительных Th2-цитокинов. Применение глицирризиновой кислоты сопровождается нормализацией соотношения цитокинов Th1 и Th2: уровни ключевых провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF- α и IFN- γ снизились до контрольных значений, содержание противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 повысилось, что свидетельствует о выраженном противовоспалительном и иммуномодулирующем эффекте препарата. Одновременно выявлено нормализующее влияние препарата Эпиген интим на систему матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов со снижением патологического литического потенциала инфекционных агентов.

Таким образом, Эпиген интим может быть успешно использован в комплексной терапии вирусных инфекций половых органов. Можно считать доказанным иммуномодулирующее действие препарата Эпиген интим на факторы местного иммунитета при вирусных инфекциях половых органов. Применение препарата Эпиген интим для лечения вирусных инфекций половых органов ускоряет положительную динамику клинической картины: достоверно (в среднем на $2 \pm 0,78$ дня) ускоряет эпителизацию зон поражения, снижает местную воспалительную реакцию.

Применение препарата Эпиген интим возможно с I-го триместра беременности, в том числе в качестве предгравидарной подготовки. Применение препарата в период предгравидарной подготовки у пациенток с вирусными инфекциями позволит снизить иммунологическую напряженность в зоне поражения слизистых оболочек и создать состояние наибольшего иммунологического благополучия наступлению беременности.

Применение препарата Эпиген интим возможно с I-го триместра беременности, в том числе в качестве предгравидарной подготовки. Применение препарата в период предгравидарной подготовки у пациенток с вирусными инфекциями позволит снизить иммунологическую напряженность в зоне поражения слизистых оболочек и создать состояние наибольшего иммунологического благополучия наступлению беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кашкин К. П. // Клин. лаб. диагн. — 1998. — № 11. — С. 21–32.
2. Марченко Л. А. Генитальная герпетическая инфекция у женщин (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1997.
3. Пальцев М. А., Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия. — М., 1995.
4. Пальцев М. А. // Арх. пат. — 1996. — № 6. — С. 3–7.
5. Сидельникова В. М. Привычная потеря беременности. — М., 2005.
6. Шубич М. Г. // Арх. пат. — 1997. — № 2. — С. 3–8.
7. Carr D. J., Tomanek L. // Curr. Top. Microbiol. Immunol. — 2006. — Vol. 30, N 3. — P. 47–65.
8. Center for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease treatment guidelines 2006. Morbid. Mortal. Wkly Rep. — 2006. — Vol. 55. — No. RR-11.
9. Gill S. E., Parks W. C. // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2008. — Vol. 40, N 6–7. — P. 1334–1347.
10. Gordon J. D., Speroff L. Handbook for Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. — Philadelphia, 2002. — P. 515.
11. Kim K. W., Romero R., Park H. S. // Am. J. Obstetr. Gynecol. — 2007. — Vol. 197, N 3. — P. 292.
12. Lee S., Zheng M., Kim B. // J. Clin. Invest. — 2002. — Vol. 110, N 8. — P. 1105–1111.
13. Manicone A. M., McGuire J. K. // Semin. Cell Biol. — 2008. — Vol. 19, N 1. — P. 34–41.
14. Reynolds J. J. // Oral Dis. — 1996. — Vol. 2, N 1. — P. 70–76.
15. Saalbach A., Arnhold J., Lessig J. // Eur. J. Immunol. — 2008. — Vol. 38, N 5. — P. 1391–1403.
16. Stamenkovic I. // J. Pathol. — 2003. — N 4. — P. 448–464.
17. Van Lint P., Libert C. // J. Leukoc. Biol. — 2007. — Vol. 82, N 6. — P. 135–138.
18. Wuest T. R., Carr D. J. // Front. Biosci. — 2008. — Vol. 13, N 1. — P. 4862–4872.
19. Yang Y. N., Bauer D., Li H. P. // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. — 2004. — Vol. 40, N 6. — P. 395–399.

Поступила 15.12.08