

ИЗМЕНЕНИЕ ЛОКАЛЬНОГО УРОВНЯ ИНТЕРФЕРОНОВ 3-ГО ТИПА У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ INOSINE PRANOBEX

Невежкина Т.А.¹, Костюшко А.В.¹, Красников В.Е.¹,
Матюшкина Л.С.¹, Бовдуй М.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² КГБУЗ «Надеждинская центральная районная больница», г. Владивосток, Россия

Резюме. Папилломавирусная инфекция остается одной из главных причин развития патологических состояний репродуктивного тракта женщин. Одним из первых механизмов защиты от данной инфекции является врожденный иммунитет, одним из элементов которого является система интерферонов. Учитывая способность вируса к иммунной эвазии и отсутствие единых клинических рекомендаций и протоколов по ведению и лечению женщин с папилломавирусной инфекцией, изучение возможности применения иммуномодулирующих препаратов является актуальным вопросом, как для фундаментальной, так и клинической медицины. В настоящее время существует множество противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, применяющихся при лечении вирус-ассоциированных заболеваний урогенитального тракта с дисбалансом Th1/Th2-типа, однако наиболее эффективным и безопасным при ПВИ являются препараты с действующим веществом Inosine pranobex. Цель исследования – определение интерферонов 3-го типа у женщин в цервикальной слизи до и после терапии Inosine pranobex.

Проведено обследование 42 пациенток с папилломавирусной инфекцией, получавших терапию препаратами с действующим веществом Inosine pranobex. Средний возраст женщин составил 31±4,1 лет. Определение уровней IL-29 (IFNλ1) и IL-28 (IFNλ3) в цервикальной слизи проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США).

Уровень IL-29 (IFNλ1) был увеличен во всех группах в сравнении с группой контроля. В группе после лечения показатели были достоверно выше, в сравнении с группой до применения терапии. IL-28 (IFNλ3) имел противоположные IL29 (IFNλ1) результаты. Так, в группах до и после терапии, показатели были снижены в сравнении с референсными величинами. В группе после терапии показатель повышался в сравнении с группой до лечения, демонстрируя динамику к восстановлению до референсных значений. Особенность динамики исследуемых показателей может быть связана как с ранним периодом оценки, ввиду большей длительности иммунологических изменений, ведущих к индукции экспрессии генов промоторов, так и недостаточной стимуляцией данных генов. Применение Inosine pranobex статистически значимо повлияло на повышение уровня IL-29 (IFNλ1) уже через

Адрес для переписки:

Невежкина Татьяна Андреевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690033, Россия, г. Владивосток, пр. 100 лет
Владивостоку, 62, кв. 20.
Тел.: 8 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Address for correspondence:

Nevezhkina Tatyana A.
Pacific State Medical University
690033, Russian Federation, Vladivostok, 100 let Vladivostoku
ave., 62, apt. 20.
Phone: 7 (914) 672-89-45.
E-mail: www.tanya.ru9292@mail.ru

Образец цитирования:

Т.А. Невежкина, А.В. Костюшко, В.Е. Красников, Л.С. Матюшкина, М.А. Бовдуй «Изменение локального уровня интерферонов 3-го типа у женщин с папилломавирусной инфекцией до и после лечения Inosine pranobex» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 519-524.
doi: 10.46235/1028-7221-1064-LCI
© Невежкина Т.А. и соавт., 2021

For citation:

T.A. Nevezhkina, A.V. Kostyushko, V.E. Krasnikov, L.S. Matyushkina, M.A. Bovdуй "Local changes in the type 3 interferons in women with human papillomavirus infection before and after treatment with Inosine pranobex", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 519-524.
doi: 10.46235/1028-7221-1064-LCI
DOI: 10.46235/1028-7221-1064-LCI

месяц после терапии. Учитывая генетическое сродство интерферонов 3-го типа, мы можем предполагать, что применение препаратов Inosine pranobex у пациентов с папилломавирусной инфекцией оправдано и способно положительно повлиять на прогноз заболевания за счет индукции неспецифического иммунного ответа.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, *IFNλ1*, *IFNλ3*, цервикальная слизь, мукозальный иммунитет, *Inosine pranobex*

LOCAL CHANGES IN THE TYPE 3 INTERFERONS IN WOMEN WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH INOSINE PRANOBEX

Nevezhkina T.A.^a, Kostyushko A.V.^a, Krasnikov V.E.^a,
Matyushkina L.S.^a, Bovdui M.A.^b

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b Nadezhdinsky Central District Hospital, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Papillomavirus infection remains one of the main causes of pathological conditions of the female reproductive tract. Innate immunity is one of the first protective mechanisms against this infection, with interferon system being one of its elements. Due to ability of HPV for immune evasion, and lack of uniform clinical recommendations and protocols for management and treatment of women with papillomavirus infection, further studies on probable usage of immunomodulatory drugs are an urgent issue for both fundamental and clinical medicine. Currently, a lot of antiviral and immunomodulatory drugs is used in the treatment of virus-associated diseases of urogenital tract associated with a Th1/Th2 type imbalance. However, the drugs with Inosine pranobex as active substance seem to be the most effective and safe drugs for PVI. The aim of our study was to determine type 3 interferons in the cervical mucus of the women before and after Inosine pranobex therapy.

We have examined 42 patients with papillomavirus infection treated with drugs with the active substance Inosine pranobex. The average age of women was 31 ± 4.1 years. The levels of IL-29 (IFNλ1) and IL-28 (IFNλ3) in cervical mucosa were determined using specific reagents from R&D Diagnostics Inc. (USA). The levels of IL-29 (IFNλ1) were increased in all the groups compared to controls. After treatment, these indexes were significantly higher, compared with the group before treatment. IL-28 (IFNλ3) had opposite results to IL-29 (IFNλ1). Thus, in the groups of samples taken before and after therapy, the indexes increased in comparison with the group before treatment, demonstrating the course of recovery towards reference values. The dynamics of studied indexes may be associated with early evaluation period, due to longer duration of immunological changes leading to induction of promoter gene expression, as well as due to insufficient stimulation of these genes. Usage of Inosine pranobex was associated with significantly increased levels of IL-29 (IFNλ1) as soon as a month after therapy. Taking into account genetic homology of type 3 interferons, we may assume that the use of Inosine pranobex drugs in the patients with papillomavirus infection is substantiated, and it may positively affect prognosis of the disease, due to induction of the non-specific immune response.

Keywords: human papillomavirus, *IFNλ1*, *IFNλ3*, cervical mucosa, mucosal immunity, *Inosine pranobex*

Введение

На сегодняшний день папилломавирусная инфекция (ПВИ), вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ), является одной из глобальных проблем во всем мире. ПВИ остается одной из главных причин развития патологических состояний, начиная от репродуктивных нарушений, внутриутробной инфекции и заканчивая онкогенезом. Особенностью вируса является то,

что, находясь внутриэпителиально, он не распознается антигенпрезентирующими клетками. Интеграция и репликация вируса происходит в клетках, которые будут вскоре отторгнуты. В связи с этим при попадании в организм человека нет специфических признаков вирусемии, цитолиза и воспаления. Одним из первых механизмов защиты репродуктивного тракта женщины является врожденный мукозальный иммунитет, который,

в свою очередь, включает патогенетические механизмы против ВПЧ, усиливая выработку одних из важных цитокинов, вырабатываемых, в первую очередь, интерферонов [3].

Отсутствуют единые клинические рекомендации по ведению и лечению женщин с ПВИ.

В настоящее время существует множество противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, применяющихся при лечении вирус-ассоциированных заболеваний урогенитального тракта с дисбалансом Th1/Th2-типа, однако наиболее эффективным и безопасным при ПВИ являются препараты с действующим веществом Inosine pranobex [5].

Inosine pranobex обладает способностью восстанавливать функции лимфоцитов при иммуносупрессии, стимулирует мембранные рецепторы на поверхности Th и предупреждает снижение активности лимфоцитарных клеток, нормализуется включение в них тимидина. Иммуномодулирующая способность препарата проявляется активацией врожденного иммунитета, с увеличением продукции интерлейкинов, а также хемотаксической и фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов и полиморфно-ядерных клеток. Препарат обладает тимозиноподобным действием и стимулирует клеточный иммунитет, он особенно эффективен при клеточном иммунодефиците, который характерен для рецидивирующей ВПЧ-инфекции [1]. Остается малоизученным влияние ВПЧ на изменение интерфероновой регуляции мукозального иммунитета (в цервикальной слизи) женщин.

Цель исследования – определение интерферонов 3-го типа у женщин в цервикальной слизи до и после терапии Inosine pranobex.

Материалы и методы

Проведено обследование 42 пациенток с папилломавирусной инфекцией, получавших противовирусную и иммуномодулирующую терапию препаратами с действующим веществом Inosine pranobex – основная группа, которые распределены на подгруппы: I – до лечения, II – после лечения. Средний возраст женщин составил $31 \pm 4,1$ лет. Контрольную группу составили 15 женщин без инфекционных процессов урогенитального тракта, в том числе и ПВИ. Средний возраст женщин составил $28 \pm 2,2$ лет. Обследование на ВПЧ проводили согласно общепринятым стандартам, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени и методом гибридного захвата (Digene-тест). Биологический материал забирался два раза: 1-й раз – после обследования женщин и постановки диагноза, 2-й раз – через месяц после лечения. Назначение препаратов, с действующим веще-

ством Inosine pranobex, проводилось согласно инструкции к применению препарата по 2 табл. (1000 мг) 3 раза в день, 28 дней.

Определение уровня IL-29 (IFN λ 1) и IL-28 (IFN λ 3) в цервикальной слизи проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчеты количества цитокина проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Анализ полученных результатов проводился при помощи программы SPSS v. 16. методом вариационной статистики с использованием двухвыборочного t-критерия Стьюдента и критерия Манна–Уитни (p). Количественные признаки, не имеющие нормального распределения, оценивались с помощью непараметрических методов и представлены в виде медианы (Me), 25% и 75% квартилей (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Статистически достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Уровень IL-29 (IFN λ 1) был увеличен во всех группах в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$). Группы до и после применения терапии также имели достоверные различия. Так, в группе после лечения показатели были достоверно выше, в сравнении с группой до применения терапии ($p_{1,2} < 0,05$) (табл. 1).

IL-28 (IFN λ 3) имел противоположные IL-29 результаты. Так, в группах до и после терапии показатели были снижены в сравнении с референсными величинами ($p < 0,001$). В группе после терапии показатель повышался в сравнении с группой до лечения ($p_{1,2} < 0,06$), демонстрируя динамику к восстановлению до референсных значений (табл. 1).

Увеличение уровня IFN λ 1 во всех основных группах свидетельствует о его основной биологической функции, которая напрямую связана с защитой эпителиальных клеток от чужеродного агента, а именно на месте контакта во внутренних половых органов. Однако показатели до терапии были несколько ниже, что говорит о недостаточной локальной выработке интерферона для удаления вируса из эпителиальных клеток. Повышение уровня IFN λ 1 в группе после лечения свидетельствует о противовирусном и иммуномодулирующем эффекте Inosine pranobex, за счет индукции выработки эндогенного интерферона, а также усиления работы мукозального противовирусного иммунного ответа, активации цитотоксичности NK-клеток, усиление презен-

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ IL-29 И IL-28B ТИПА У ЖЕНЩИН ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CHANGES IN THE LEVEL OF IL-29 AND IL-28B TYPE IN WOMEN BEFORE AND AFTER TREATMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, пг/мл Indicators, pg/ml	p-значение p-value	Основная группа Main group (n = 42)		Группа контроля Control group (n = 15)
		До терапии Группа 1 Before therapy Group 1 (n = 42)	Через 1 месяц после лечения Группа 2 1 month after treatment Group 2 (n = 42)	
IL-29 (IFNλ1)	p ₁₋₂ < 0,05	93,38* (10,09-152,49)	105,22* (50,48-170,83)#	78,7 (66,91-95,54)
IL-28B (IFNλ3)	p ₁₋₂ < 0,06	48,02** (19,88-82,54)	57,78** (26,31-95,01)	116,19 (100,5-128,1)

Примечание. Статистически значимая достоверность различий между группами с группой контроля: * – p < 0,05 ; ** – p < 0,001; статистическая достоверность межгрупповых различий: # – p < 0,05, где 1-2 – исследуемые группы.

Note. Statistically significant significance of differences between groups with the control group: *, p < 0.05 ; **, p < 0.001; statistical significance of intergroup differences: #, p < 0.05, where 1-2 study groups.

тации вирусных антигенов Т-лимфоцитам и стимуляции функции ряда других клеток, участвующих в защите от вирусов [1, 4, 8].

IFNλ3 был снижен как в группе до лечения, так и после в сравнении с контрольными значениями, однако следует отметить, что последовательность нуклеотидов в гене IFNλ1 имеет высокое сродство к регуляторным факторам интерферонов 3 (IRF3), тогда как промотор IFNλ3 имеет высокое сродство к IRF7. Следовательно, ответ IFNλ3 представляет собой замедленную кинетику по сравнению с IFNλ1 [11].

Репликация вируса индуцирует экспрессию генов IFN 1-го (IFNα, IFNβ) и 3-го (IL-28B и IL-29) типов через TLR-зависимые и независимые пути. IFN 3-го типа генетически отличаются от 1-го типа, однако их сходные биологические противовирусные функции предполагают, что их экспрессия регулируется одинаковым образом [2, 9, 11]. Ряд исследователей показали, что структурная и функциональная характеристика последовательности нуклеотидов генов IFNλ1 и IFNλ3 схожи с генами IFNβ и IFNα. Связывание фактора регуляции IFN (IRF) с промоторным участком IFNλ является одним из наиболее важных событий для экспрессии генов интерферонов. Эктопическая экспрессия компонентов TLR7 (MyD88 и IRF7), TLR3 (область содержащий индуцируемый адаптерный фактор Toll/IL-1R) или путей передачи сигналов, индуцируемых ретиноевой кислотой (RIG-I), вызывала активацию промотора IFNλ1, тогда как промотор IFNλ3 эффективно активировался только за счет сверхэкспрессии MyD88 и IRF7. Нарушение экспрессии Pin1, недавно идентифицированного

супрессора IRF3-зависимого противовирусного ответа, снижает активацию промотора IFN, индуцированную любым из этих трех путей передачи сигнала, включая MyD88-зависимый. Данные исследователей предполагают, что ген IFNλ1 регулируется активируемыми вирусом IRF3 и IRF7, что напоминает экспрессию гена IFNβ, тогда как экспрессия гена IFNλ3 в основном контролируется IRF7, таким образом напоминая экспрессию гена IFNα [6, 9, 10, 11].

Заключение

Таким образом, семейство интерферонов 3-го типа может являться одним из основных факторов, определяющих активность мукозального иммунитета у женщин с ПВИ. Особенность динамики исследуемых показателей, характеризующаяся положительным трендом повышения содержания IFNλ1 и тенденцией к увеличению IFNλ3, может быть связана как с ранним периодом оценки, ввиду большей длительности иммунологических изменений, ведущих к индукции экспрессии генов промоторов, так и недостаточной стимуляцией данных генов. Применение Inosine pranobex статистически значимо повлияло на повышение уровня IL-29 уже через месяц после терапии. Аналогичное влияние на IL-28B в рамках нашей работы зарегистрировано не было, что требует дальнейших исследований, в том числе с пролонгацией периода наблюдения. Однако, учитывая генетическое сродство данных интерферонов, мы можем предполагать, что применение препаратов Inosine pranobex у пациентов с ПВИ оправдано и способно положительно повлиять на прогноз заболевания.

Список литературы / References

1. Дикке Г.Б., Остроменский В.В. Применение иммуномодуляторов в комплексной терапии инфекций нижнего отдела урогенитального тракта у женщин // Гинекология, 2019. Т. 21, № 1. С. 69-74. [Dikke G.B., Ostromensky V.V. Immunomodulators use in a treatment of lower urogenital tract infections in women. *Ginekologiya = Gynecology*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 69-74. (In Russ.)]
2. Кныш С.В., Малков В.А., Просекова Е.В., Ковальчук В.К. Особенности интерферонового статуса у пациентов с опоясывающим герпесом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2018. №4 (74). С. 34-36. [Knysh S.V., Malkov V.A., Prosekova E.V., Kovalchuk V.K. Features of interferon system in patients with herpes zoster. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal* 2018, no. 4 (74), pp. 34-36. (In Russ.)]
3. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Викулов Г.Х., Гомберг М.А., Хрянин А.А. Эффективность и безопасность глюкозаминилмурамилдипептида в лечении заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека: систематический обзор // Акушерство, гинекология и репродукция, 2019. Т. 13, № 2. С. 132-154. [Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Khizroeva J.Kh., Vikulov G.Kh., Gomberg M.A., Khryanin A.A. Efficacy and safety of glucosaminylmuramyl dipeptide in treatment of human papillomavirus-associated diseases: a systematic review. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 132-154.
4. Симбирцев А.С. Иммунопатогенез и перспективы иммунотерапии коронавирусной инфекции. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии, 2020. Т. 12, № 4. С. 7-22. [Simbirtsev A.S. Immunopathogenesis and perspectives for immunotherapy of coronavirus infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2020, Vol. 12, no. 4, pp. 7-22. (In Russ.)]
5. Хрянин А.А., Кнорринг Г.Ю. Остроконечные кондиломы: современные возможности терапии и проблема комплаенса пациентов // РМЖ. Мать и дитя, 2019. Т. 2, № 2. С. 96-101. [Khryanin A.A., Knorring G.Yu. Pointed warts: current treatment modalities and treatment compliance. *RMZh. Mat i ditya = Russian Journal of Woman and Child Health*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 96-101. (In Russ.)]
6. Davidson S., McCabe T.M., Crotta S., Gad H.H., Hessel E.M., Beinke S., Hartmann R., Wack A. IFNlambda is a potent anti-influenza therapeutic without the inflammatory side effects of IFNalpha treatment. *EMBO Mol. Med.*, 2016, Vol. 8, pp. 1099-1112.
7. Lee S., Baldridge M.T. Interferon-lambda: a potent regulator of intestinal viral infections. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 749. doi: 10.3389/fimmu.2017.00749.
8. Nelson M., Rubio R., Lazzarin A., Romanova S., Luetkemeyer A., Conway B., Molina J., Xu D., Srinivasan S., Portsmouth S. Safety and efficacy of pegylated interferon lambda, ribavirin, and daclatasvir in HCV and HIV-coinfected patients. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2017, Vol. 37, no. 3, pp. 103-111.
9. Österlund P.I., Pietilä T.E., Veckman V., Kotenko S.V., Julkunen I. IFN regulatory factor family members differentially regulate the expression of type III IFN (IFN-λ) Genes. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, no. 6, pp. 3434-3442.
10. Zheng Y., Li H., Yu J., Zhao H., Wang S.E., Ren X. Interferon-λs: Special immunomodulatory agents and potential therapeutic targets. *J. Innate Immun.*, 2013, Vol. 5, pp. 209-218.
11. Zhou J., Wang Y., Chang Q., Ma P., Hu Y., Cao X. Type III interferons in viral infection and antiviral immunity. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2018, Vol. 51, no. 1, pp. 173-185.

Авторы:

Невежкина Т.А. — ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Костюшко А.В. — к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Nevezhkina T.A., Assistant Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Kostyushko A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Красников В.Е. — к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Krasnikov V.E., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Матюшкина Л.С. — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Matyushkina L.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Бовдуй М.А. — врач — акушер-гинеколог, онколог, заведующий гинекологическим отделением КГБУЗ «Надеждинская центральная районная больница», г. Владивосток, Россия

Bovdui M.A., Clinical Obstetrician-gynecologist, Clinical Oncologist, Head, Department of Gynecology, Nadezhdinsky Central District Hospital, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 19.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 19.07.2021
Accepted 20.08.2021