

Оценка эффективности медикаментозной терапии цервикальной интраэпителиальной неоплазии легкой и средней степени тяжести суппозиториями Цервикон-ДИМ (промежуточные результаты клинического исследования)

В.И.Киселев¹, В.М.Друх¹, И.Н.Кузнецов², Е.Л.Муйжнек³, И.А.Аполихина^{4,5}, Е.А.Горбунова⁴, О.И.Пчелинцева¹
¹ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва; ²ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова Минздрава России;
³ЗАО «МираксБиоФарма», Москва; ⁴ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава России, Москва; ⁵ИПО ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России

Резюме

В статье представлены результаты клинического исследования эффективности и безопасности новой фармацевтической композиции на основе дииндолилметана в форме вагинальных суппозиториях Цервикон-ДИМ в трехмесячном курсе консервативного лечения цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) I–II у 78 женщин репродуктивного возраста. Исследование было многоцентровым, рандомизированным, плацебо-контролируемым, двойным слепым и проводилось в параллельных группах. Показано, что интравагинальное применение суппозиториях на основе дииндолилметана в дозе 200 мг/сут эффективно. Полная регрессия CIN по данным гистологического исследования наблюдалась у 85% женщин.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная неоплазия, CIN I, CIN II, дииндолилметан, Цервикон-ДИМ, клиническое исследование, вирус папилломы человека.

Assessment of the drug efficacy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade I–II with pharmaceutical composition Cervicon-DIM in suppository form (Interim results of a clinical trial)

V.I.Kiselev, V.M.Drukh, I.N.Kuznetsov, E.L.Muyzbnek, I.A.Apolikhina, E.A.Gorbunova, O.I.Pchelintseva

Summary

The article presents the results of the clinical study about the effectiveness and safety of the novel pharmaceutical composition Cervicon-DIM in suppository form containing 3,3'-diindolylmethane (DIM) substance in 3 months course of conservative treatment of 78 women childbearing age with CIN I–II. The study was multicenter randomized placebo-controlled double-blind and conducted in parallel groups. We observed efficacy of the therapy of patients with CIN I–II by intravaginal application of the Cervicon-DIM in a dose of 200 mg DIM per day. Complete regression of cervical lesions by the histologic examinations was for 85% women.

Key words: cervical intraepithelial neoplasia, CIN I, CIN II, diindolylmethane, Cervicon-DIM, clinical study, HPV.

Сведения об авторах

Киселев Всеволод Иванович – д-р биол. наук, чл.-кор. РАН, зам. дир. по науке Института медико-биологических проблем ФГАОУ ВО РУДН. E-mail: ekazuieva@yandex.ru, vkis10@mail.ru

Друх Вадим Михайлович – канд. мед. наук, рук. научных проектов Института медико-биологических проблем ФГАОУ ВО РУДН.

E-mail: DrubVM@ilmixgroup.ru

Кузнецов Игорь Николаевич – канд. биол. наук, ассистент каф. клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И.Евдокимова. E-mail: KuznetsovIN@ilmixgroup.ru

Муйжнек Екатерина Леонидовна – канд. биол. наук, дир. по науке ЗАО «МираксБиоФарма». E-mail: MuyzbnekEL@ilmixgroup.ru

Аполихина Инна Анатольевна – рук. гинекологического отд-ния восстановительного лечения ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: apolikhina@inbox.ru

Горбунова Елена Алексеевна – врач акушер-гинеколог гинекологического отд-ния восстановительного лечения ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: fiestagor@gmail.com

Пчелинцева Ольга Игоревна – науч. сотр. Института медико-биологических проблем ФГАОУ ВПО РУДН. E-mail: pchelintseva87@mail.ru

Рак шейки матки (РШМ) – один из наиболее распространенных видов злокачественных опухолей женских половых органов, он составляет 6% от общего числа всех опухолей у женщин. В России ежегодно выявляется около 12 тыс. новых случаев инвазивного РШМ, а умирают от него более 6 тыс. женщин [1]. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) характеризуется интенсивной пролиферацией атипических клеток с нарушением нормального расположения слоев эпителия шейки матки. В зависимости от выраженности гистологических изменений различают цервикальные дисплазии легкой, средней и тяжелой степени (CIN I, CIN II, CIN III). Число случаев прогрессирования CIN в более тяжелую степень колеблется в широких пределах – от 1,4 до 60% (L.Narlan и соавт., 1991). Но при CIN I–II возможна также регрессия заболевания в течение 3–5 лет у 30–60% женщин [2].

Доказано, что вирус папилломы человека (ВПЧ) является экзогенным фактором в этиопатогенезе развития CIN, а в 15–20% провоцирует развитие РШМ [3]. При этом продуктивная репликация ВПЧ возможна лишь в клетках, которые находятся в стадии необратимой дифференцировки, в противном случае инфекция приобретает abortивный характер. Репликация ДНК ВПЧ начинается с образования онкопротеинов E6 и E7, приводящих к трансформации вирусинфицированных клеток путем активации ряда проканцерогенных биологических процессов, таким образом эти белки можно считать вирусными онкогенами [4]. Онкобелок E7 определяется во всех клетках, инфицированных ВПЧ и начавших неопластическую трансформацию вплоть до развития РШМ, и сохраняет устойчивую экспрессию в тканях, пораженных РШМ [5]. Вышеизложенное диктует важность поиска методов терапии CIN и цервицитов вирус-

ной этиологии, нацеленных на снижение персистенции ВПЧ, которые являются предшественниками инвазивных раковых опухолей [6].

В эстроген-чувствительных тканях шейки матки важную роль в развитии новообразований играют женские половые гормоны. Эстрадиол и два его основных метаболита – 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1) и 2-гидроксиэстрон (2-ОНЕ1) – взаимодействуют с эстрогеновыми рецепторами и образуют с ними комплекс гормон–рецептор разной степени стабильности, в результате чего по-разному влияют на метаболическую и пролиферативную активность клеток-мишеней. Метаболит 2-ОНЕ1 обладает умеренными функциями, нормализуя клеточный рост, в то время как 16 α -ОНЕ1, напротив, вызывает длительный канцерогенный эффект и относится к категории «агрессивных» гормонов [7, 8]. При этом онкобелок E7 и «агрессивный» эстроген 16 α -ОНЕ1 взаимно усиливают друг друга, образуя порочный патогенетический круг, приводящий к опухолевой трансформации [9].

Известно, что активная субстанция 3,3'-диндолилметан (ДИМ) – продукт физиологической конверсии индол-3-карбинола (ИЗК) – обладает широким спектром противоопухолевой активности, что было подтверждено в многочисленных экспериментах на животных моделях, а также в ходе клинических исследований [10]. Установлено, что в опухолевых клетках ДИМ блокирует синтез онкобелка E7, препятствует конверсии эстрадиола в 16 α -ОНЕ1, индуцирует процессы избирательного апоптоза вирусинфицированных клеток [11–14]. Также показана противоопухолевая эпигенетическая активность ДИМ, проявляющаяся в ДНК-деметилировании и ингибировании деацетилирования гистонов [15, 16]. Данные свойства ДИМ важны для восстановления активности опухолевых супрессорных генов, эпигенетически блокируемой на этапе раннего канцерогенеза. Кроме того, было продемонстрировано, что ДИМ препятствует ангиогенной, миграционной и инвазивной клеточной активности [17, 18], при этом активность ДИМ избирательна по отношению лишь к опухолевым стволовым клеткам, которые, согласно современным представлениям, являются главной причиной рецидивов и метастазирования [19].

В настоящее время существует ряд фармацевтических композиций на основе ДИМ для перорального применения. В частности, была создана композиция BioResponse-DIM (BR-DIM) на основе пегелированного витамина E (TPGS), которая позволила добиться очень небольшого увеличения биологической доступности ДИМ, его аналогов и производных [20]. Биодоступность и стабильность препарата при хранении смогли достигнуть при разработке формуляции в виде раствора, содержащего 150 мг ДИМ и вспомогательные компоненты органического происхождения – рыбий жир, полисорбат 80 и α -токоферола ацетат (витамин E), помещенный в твердые желатиновые капсулы [21]. Помимо этого разработана формуляция на основе плюроника, биодоступность которой в несколько раз выше по сравнению с чистой субстанцией ДИМ.

Учитывая особенности размножения и персистенции ВПЧ в эпителиальных клетках шейки матки, была разработана фармакологическая композиция на основе ДИМ (Цервикон-ДИМ) для локального применения, которая должна иметь преимущество перед пероральными лекарственными формами за счет достижения более высоких концентраций ДИМ в пораженной ткани при местном использовании [22].

Исходя из сказанного, нами было проведено изучение эффективности консервативного лечения CIN I–II у женщин репродуктивного возраста при применении вагинальных суппозиториях Цервикон-ДИМ, содержащих 100 мг ДИМ в 1 суппозитории в течение 90-дневного курса лечения в зависимости от суточной дозы ДИМ и при сравнении с группой плацебо.

Материал и методы

В исследование были включены 78 пациенток репродуктивного возраста, имеющих аномальную кольпоскопическую картину и гистологически верифицированную CIN I и/или CIN II. Общими для всех них *критериями включения* служили все перечисленные признаки:

- женщины от 18 до 39 лет с диагнозом CIN I и/или CIN II, верифицированным гистологически;
- кольпоскопическая картина поражений шейки матки на фоне зоны трансформации 1-го типа с площадью участков патологического эпителия шейки матки не менее 1,5 см²;
- информированное согласие пациентки на участие в исследовании и возможность прекращения лечения в случае побочных проявлений или других причин, при устном отказе больной;
- согласие использовать барьерный метод контрацепции (презерватив) в течение всего срока исследования.

Критериями исключения служил один из перечисленных признаков:

- беременность или кормление грудью;
- CIN III (тяжелой степени) или CIS (cancer in situ);
- злокачественные новообразования любой локализации;
- инфекции мочеполовой системы в фазе активного воспаления;
- заболевания сердечно-сосудистой и нервной системы, сопутствующая почечная или печеночная недостаточность;
- положительные тесты RW или ВИЧ;
- злоупотребление алкоголем, наркотическая или лекарственная зависимость;
- прием какого-либо экспериментального препарата за 30 дней до применения первой дозы исследуемого препарата.

Данное клиническое исследование было многоцентровым рандомизированным плацебо-контролируемым двойным слепым и проводилось в параллельных группах.

За 45 дней до начала исследования пациентки проходили скрининговое обследование, включающее сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинический и биохимический анализы крови, клинический анализ мочи, электрокардиографию, ультразвуковое исследование органов малого таза, цитологическое исследование, расширенную кольпоскопию (РКС) с фотофиксацией изображения и биопсию шейки матки. После уточнения критериев включения и невключения, рандомизации все пациентки были разделены на 3 группы: женщины из 1-й группы (n=26) получали интравагинально ДИМ 200 мг/сут (по 1 суппозиторию исследуемого препарата 2 раза в сутки); из 2-й группы (n=26) – интравагинально ДИМ 100 мг/сут и плацебо (по 1 суппозиторию исследуемого препарата и 1 суппозиторию с плацебо в сутки), а пациентки 3-й (контрольной) группы (n=26) получали интравагинально только плацебо (по 1 суппозиторию с плацебо 2 раза в сутки). Курс лечения занимал 90 дней без перерыва. Исследователи и пациенты не обладали информацией о приеме в ходе исследования активного препарата или плацебо. Изучался лекарственный препарат Цервикон-ДИМ (ЗАО «ИльмиксГрупп», Россия) в лекарственной форме – вагинальный суппозиторий. Каждый суппозиторий состоял из активного вещества (химическая субстанция 3,3'-ДИМ 100 мг) и вспомогательных веществ (жир твердый 1,9795 г, кросповидон 0,02 г, краситель кармин красный 0,0005 г). Один суппозиторий с плацебо содержал жир твердый 2,0795 г, кросповидон – 0,02 г, краситель кармин красный – 0,0005 г [22]. Исследование предусматривало три визита: в начале, через 30 и 90 дней от старта исследования. Всем женщинам в течение всех визитов проводилось комплексное обследование, включающее: клинические анализы крови и мочи, цитологическое исследование, РКС с фотофиксацией изображения, биопсию выявленных при РКС пораженных участков с гистологическим исследованием. ВПЧ-тест качественный общий и качественный с типированием на вирусы 16 и 18-го типа выполнялся в начале исследования и через 90 дней.

Эффективность терапии препаратом Цервикон-ДИМ оценивали по 3 критериям:

- 1) результатам качественного ВПЧ-теста;
- 2) данным кольпоскопического исследования;
- 3) данным гистологического исследования биоптатов пораженных участков шейки матки, которые стали главным критерием оценки эффективности ДИМ для локального применения.

В качестве метода для качественного определения ДНК ВПЧ использовался метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соскобе эпителия шейки матки. Оценивалась частота эрадикации ВПЧ по данным группового теста на ВПЧ и теста на ВПЧ 16 и 18-го типа.

Кольпоскопия с фоторегистрацией изображений и сравнение их в динамике предусматривали РКС с применением традиционных тестов и использованием терминологии в соответствии с Международной классификацией кольпоскопических терминов, предложенной Номенклатурным комитетом Международной федерации по кольпоскопии и цервикальной патологии в Рио-де-Жанейро в 2011 г. Критерием включения было наличие зоны трансформации 1-го типа. Известно, что в этом случае частота расхождений кольпоскопического, цитологического и гистологического диагнозов минимальная, в то время как при зоне трансформации 3-го типа из-за недостаточной визуализации различия достигают 42% [23]. Основные изменения эпителия шейки матки имели картину в виде разных видов атипического многослойного плоского эпителия после обработки 3% раствором уксусной кислоты и 3% водным раствором Люголя, также определялись патологические сосуды.

Забор материала для морфологической оценки осуществлялся под контролем кольпоскопа с помощью конхотомных биопсийных щипцов для исключения коагуляции краев биоптата. Гистологическое исследование являлось итоговым диагностическим этапом, так как этот метод инвазивный. Показанием для проведения биопсии было выявление патологической зоны трансформации, ацетобелого эпителия с мозаикой и/или пунктиацией, йоднегативного эпителия, атипичных сосудов при проведении РКС. Гистологическое исследование выполнялось последовательно двумя независимыми лабораториями: сначала локальной в исследовательском центре, а затем изучение морфологических образцов, включая парафиновые блоки – в центральной лаборатории, на базе ГБОУ ВПО «РМАПО». По итогам исследования подсчитывалось число пациенток, у которых, согласно данным морфологического исследования, было подтверждено отсутствие CIN. Сохранение фокусов CIN в биоптатах принималось за отрицательный ответ на лечение. Считалось, что произошла частичная регрессия CIN в случае, если CIN II перешла в CIN I.

Эффективность терапии оценивалась по доле пациенток с полной регрессией CIN через 3 мес после начала применения Цервикон-ДИМ на основании результатов гистологического исследования биоптатов пораженных участков шейки матки – как «золотого стандарта» в диагностике CIN. Окончательный анализ данных будет сделан по окончании 6 мес терапии.

Исследование было одобрено Комитетом по этике при Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения и социального развития и локальными этическими комитетами исследовательских центров.

Статистическая обработка данных выполнена на компьютере с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics версии 20.0.0 (IBM Corporation). Для определения статистической значимости различий между группами был использован критерий χ^2 и точный критерий Фишера. Уровень значимости принимался не более 0,05 (двусторонний критерий). Оценка 95% доверительных интервалов (ДИ) для показателя с бинарным типом шкалы произведена по Клопперу–Пирсону.

Результаты исследования

В исследование были включены женщины в возрасте от 19 до 39 лет, средний возраст пациенток в 1-й группе составил 26 лет, во 2 и 3-й – по 27 лет. Таким образом, наиболее часто CIN I–II встречалась у молодых женщин. Этот факт подтверждает многочисленные результаты отечественных и международных исследований о том, что у женщин молодого возраста CIN встречается чаще, чем у женщин более зрелого возраста. По исходным сравнительным характеристикам на этапе скрининга отобранные группы были практически однородны. Группы исследования не различались между собой по основным демографическим показателям: росту (средний – 166 см, $p=0,861$), массе тела (средняя –

62,0 кг, $p=0,284$), индексу массы тела (средний – 23, $p=0,406$), что позволило объединить их для анализа согласно цели исследования, считая выборку исследования гомогенной. Курящими (один из факторов риска развития РШМ) оказались 4 (5,4%) женщины из всех групп: по 2 во 2 и 3-й группе исследования и ни одной – в 1-й. В соответствии с протоколом лечения исследование завершила 61 пациентка.

Из 61 женщины, завершившей исследование, качественный общий ВПЧ-тест и качественный ВПЧ-тест на 16 и 18-й тип вирусов были положительными у 49 (80,33%) пациенток. Через 90 дней лечения эрадикация ВПЧ, согласно данным общего ВПЧ-теста, произошла в 70,59% в 1-й группе, в 58,82% – во 2-й и в 46,67% – в группе, применяющей плацебо (95% ДИ); рис. 1. Значимых различий между числом пациенток с положительным ответом на лечение между 1 и 3-й группой не выявлено: $p=0,155$ (точный критерий Фишера); $p=0,169$ (критерий χ^2). Также отсутствуют статистически значимые различия между числом с положительным ответом на лечение между 2 и 3-й группами: $p=0,370$ (точный критерий Фишера); $p=0,492$ (критерий χ^2).

Согласно данным качественного ВПЧ-теста на 16 и 18-й тип вируса через 90 дней лечения эрадикация ВПЧ в 1-й группе произошла в 70,59%, во 2-й – в 88,24% и в 3-й – в 80,00% (95% ДИ); рис. 2. Значимых различий между числом пациенток с положительным ответом на лечение между 1 и 3-й группой выявлено не было: $p=0,155$ (точный критерий Фишера); $p=0,169$ (критерий χ^2). Также не выявлено значимых различий между числом с положительным ответом на лечение между 2 и 3-й группами: $p=0,437$ (точный критерий Фишера); $p=0,522$ (критерий χ^2). Полученные результаты можно считать относительными, оценивая их, необходимо учитывать ряд обстоятельств. На первом визите, еще до начала лечения, не у всех пациенток был положительный ВПЧ-тест, включая тест на ВПЧ 16 и 18-го типа, несмотря на гистологический подтвержденный диагноз CIN I и/или CIN II. Также, учитывая молодой возраст женщин, часто происходит самостоятельная элиминация вируса из клеток эпителия шейки матки без какого-либо внешнего вмешательства. Кроме того, снижение ВПЧ-инфицирования можно связать с обязательным условием исследования – использовать барьерную контрацепцию на протяжении всего периода лечения, что само по себе является фактором снижения инфицирования и реинфицирования вирусами от партнера.

При контрольном осмотре через 90 дней лечения нормальная кольпоскопическая картина была выявлена в 45,83% в 1-й группе, 36% – во 2-й, 34,78% – в 3-й, контрольной группе (95% ДИ). Несмотря на очевидную более благоприятную картину по данным РКС в 1-й группе, значимых различий между числом пациенток с положительным ответом на лечение между группами выявлено не было. При наличии аномальной кольпоскопической картины проводились прицельная биопсия патологически измененных участков шейки матки и гистологическое исследование биоптатов.

Нормализация данных гистологического исследования до полной регрессии CIN наблюдалась у 17 (85%) пациенток 1-й группы, применявших препарат в дозе 200 мг ДИМ в сутки, и у 15 (68,2%) пациенток 2-й группы, применявших препарат в дозе 100 мг ДИМ в сутки (95% ДИ). В группе с плацебо после курса лечения в течение 90 дней CIN не выявлялась при гистологическом исследовании у 10 (52,6%) пациенток. По результатам статистической обработки во 2-й группе не установлено значимых различий между числом пациенток с положительным и отрицательным ответом на лечение через 3 мес терапии: $p=0,181$ (точный критерий Фишера); $p=0,201$ (критерий χ^2), что связано с небольшим размером выборки. Эффективность терапии во 2-й группе не различалась с эффективностью терапии в 3-й группе (68,20% против 52,60% соответственно), так как значимых различий между числом пациенток с положительным ответом на лечение между двумя группами выявлено не было: $p=0,243$ (точный критерий Фишера); $p=0,309$ (критерий χ^2). Напротив, в 1-й группе эффективность терапии была значимо выше, чем в 3-й (эффективность 85 и 52,6% соответственно): $p=0,032$ (точный критерий Фишера); $p=0,029$ (критерий χ^2); рис. 3. После оконча-

Рис. 1. Показатели эрадикации ВПЧ по данным общего качественного ВПЧ-теста, выявляющего 21-й тип вируса без типирования.



Рис. 2. Эрадикация 16 и 18-го типа ВПЧ по данным качественного теста.



Рис. 3. Эффективность терапии CIN через 90 дней лечения по данным гистологического исследования.



ния лечения пациентки, не имеющие признаков CIN, прекращали применять исследуемый препарат.

На фоне терапии суппозиториями Цервикон-ДИМ отсутствовала значимая динамика показателей артериального давления, электрокардиографии, клинического и биохимического анализов крови, за исключением уровня аспаргатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Было продемонстрировано, что имеется влияние препарата на значения этих показателей, $p=0,034$ и $p=0,018$, значения в 1-й группе были выше.

Всего в ходе исследования зафиксировано 34 нежелательных явления (НЯ): 14 в 1-й группе, 13 – во 2-й, 7 – в группе плацебо. В 18 случаях из 34 НЯ терапия не проводи-

лась, в 16 случаях осуществлялась специализированная терапия. В 4 случаях (1 – в 1-й группе, 2 – во 2-й, 1 – в 3-й) исследование было завершено досрочно в связи с НЯ. Из 34 НЯ для 4 случаев исследователи выявили их связь с приемом препарата (жжение и зуд во влагалище – 2 случая, крапивница – 1, острая респираторная вирусная инфекция – 1). Тем не менее наличие у препарата способности приводить к развитию острой респираторной вирусной инфекции представляется сомнительным из-за отсутствия данных о возможных механизмах этого явления.

Необходимо отметить, что представленные в настоящее время данные о результатах исследования являются промежуточными. Оптимальную дозировку и длительность курса лечения пациенток с CIN I–II препаратом Цервикон-ДИМ можно будет оценить после получения результатов об эффективности 6-месячной терапии, эти данные в настоящее время проходят статистическую обработку и скоро будут представлены для обсуждения.

Обсуждение

В многочисленных плацебо-контролируемых клинических исследованиях детально уточнялась связь между применением пероральных субстанций ИЗК и ДИМ у пациенток с диагнозом CIN и положительной динамикой течения этого заболевания на фоне лечения данными субстанциями.

В исследовании M.Bell и соавт. участвовали 17 женщин с диагнозом CIN II–III [24]. В течение 12 нед каждая из них получала перорально ИЗК в дозе 200 или 400 мг/сут. По результатам исследования полная регрессия CIN произошла у 4 из 8 пациенток, получавших 200 мг/сут ИЗК, и у 4 из 9, получавших 400 мг/сут ИЗК. При этом у всех женщин с выраженной регрессией CIN выявлялось значительное увеличение физиологического метаболита эстрадиола 2-ОНЕ1.

В клиническом исследовании III фазы, выполненном G.Prigoe и соавт., было показано, что применение ДИМ перорально в дозе 2 мг/кг в сутки вызывает клиническое улучшение CIN II–III, однако статистически значимых различий между экспериментальной и контрольной группами при этом не выявлено [25]. Вероятно, такой результат был получен из-за низкой биодоступности тестируемой формуляции ДИМ. В другом клиническом исследовании, где для перорального приема использовались высокие дозы формулированного BioResponse-DIM (BR-DIM), представляющего собой кристаллический ДИМ в микродисперсном крахмале, который имеет биодоступность в 1,5–2 раза больше, чем неформулированный ДИМ, наблюдалось разрешение CIN II и CIN III [26]. Цервикон-ДИМ при интравагинальном введении обладает высокой местной биодоступностью – 72–73% от введенной дозы ДИМ распределяется в тканях влагалища, но низкой системной абсорбцией – лишь 3–4% ДИМ выявляется в системном кровотоке.

Экспериментальные исследования активной субстанции ДИМ in vitro и in vivo дают достаточно оснований для оценки их клинической эффективности как средства профилактики и лечения РШМ [11–14, 27, 28], поэтому можно заключить, что препарат на основе активной субстанции ДИМ обладает высокой противоопухолевой и противовирусной активностью в отношении клеток эпителия шейки матки, пораженных ВПЧ. Полученные нами данные не продемонстрировали выраженный эффект лекарственной субстанции ДИМ на эрадикацию ВПЧ 16 и 18-го типа, тем не менее в нашем исследовании были получены результаты, согласно которым интравагинальное применение ДИМ в суточной дозе 200 мг позволяет достигать элиминации ВПЧ в 70% случаев. Это открывает перспективы в терапии ВПЧ-ассоциированных цервицитов с помощью данной лекарственной субстанции.

Проведенные ранее доклинические исследования продемонстрировали высокую эффективность препарата Цервикон-ДИМ при эрозивно-воспалительных заболеваниях шейки матки: при гистологическом исследовании шейки матки после аппликации Цервикон-ДИМ наблюдалась полная эпителизация поверхности эрозии, и при этом воспалительная инфильтрация в подслизистом слое отсутствовала. Наши данные наглядно показали, что эффективность

Цервикон-ДИМ зависит от дозы препарата, и при суточной дозе 200 мг, применяемой в течение 90 дней, отмечается значительная нормализация кольпоскопической картины, а также регрессия CIN по гистологическим результатам.

При этом Цервикон-ДИМ обладает высоким уровнем безопасности и переносимости, что связано с его лекарственной формой и зоной воздействия. При изучении фармакокинетики препарата Цервикон-ДИМ было показано, что после интравагинального его введения в дозе 100 мг в системном кровотоке экспериментальных животных концентрация ДИМ начинает выявляться через 15 мин, достигая максимальной через 1,5 ч. Общее среднее время присутствия препарата в организме (показатель MRT) составляет около 5,5 ч, период полувыведения препарата – около 3,5 ч. В проведенных ранее исследованиях не выявлялись данные о накоплении препарата в организме и возможности его кумуляции. В нашем исследовании отмечалось повышение уровней аланинаминотрансферазы и аспартатамино-трансферазы всего у 2 пациенток в группе применявших препарат в суточной дозе 200 мг, ощущение зуда и жжения во влагалище отмечалось как на фоне применения суппозиторий с плацебо, так и на фоне суппозиторий с активной субстанцией, в связи с чем нельзя исключить реакцию слизистой на вспомогательные компоненты в суппозиториях и индивидуальную чувствительность к ним.

Заключение

В нашей стране нет единого подхода к лечению CIN I и/или CIN II у молодых женщин. Существующие стандарты оправдывают агрессивный радикализм, который зачастую ведет к нарушению репродуктивной функции. CIN наиболее распространена у женщин именно репродуктивного возраста, что подтвердилось и в нашем исследовании тоже. Деструктивные методы лечения CIN, несмотря на свою доказанную эффективность, являются инвазивными и травматичными, часто нарушают репродуктивные планы пациентки. В то же время длительное динамическое наблюдение и тактика невмешательства, особенно когда пациентка перестает посещать врача, может повлечь за собой дальнейшее прогрессирование процесса. Поэтому поиск консервативного и безопасного метода лечения остается актуальным вопросом в лечении CIN I–II. Проведенное нами исследование показало, что интравагинальное применение препарата Цервикон-ДИМ в дозе как 200 мг ДИМ в сутки, так и 100 мг ДИМ в сутки в течение 90 дней сопровождается улучшением гистологической картины течения CIN I–II и даже их излеченностью. Эффективность терапии в группе пациенток, принимавших препарат в дозе 200 мг ДИМ в сутки, была статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой, использовавшей плацебо. Несомненно, данный неинвазивный способ открывает большие перспективы в консервативном лечении CIN у женщин репродуктивного возраста, демонстрируя бережный и щадящий подход, исключающий коагуляционные повреждения шейки матки, что характерно для деструктивных методов лечения, и является патогенетически обоснованным, учитывая механизм влияния ДИМ на трансформацию клеток, пораженных ВПЧ, и продукцию белка E7. Местная аппликация лекарственного вещества ДИМ, в отличие от системного применения, из-за высокой биодоступности действующего вещества и его минимальной абсорбции характеризуется более высоким уровнем безопасности и переносимости. По данным клинического исследования I фазы, Цервикон-ДИМ не вызывает местных реакций при интравагинальном применении у человека. Исследованная лекарственная форма вагинальных суппозиторий для лечения CIN I–II является более безопасным и эффективным способом терапии с минимальными и редкими побочными эффектами, что также формирует комплаентность пациенток, учитывая локализацию зоны поражения и применение лекарственного средства на локальном уровне.

Для последующего изучения эффективности препарата Цервикон-ДИМ, а также определения оптимальной длительности курса лечения и дозировки начаты дальнейшие клинические исследования.

Литература

1. Прилепская В.Н., Голубенко А.Е. Эпидемиология, этиология и факторы риска заболеваний рака шейки матки. Поликлиническая гинекология. Под ред. В.Н.Прилепской. М., 2005; с. 9–20.
2. Киселев В.И. Молекулярные механизмы патогенеза гиперпластических и диспластических заболеваний репродуктивной системы и пути их фармакологической коррекции. Патология шейки матки и генитальные инфекции. Под ред. В.Н.Прилепской. М.: МЕД-пресс-информ, 2008; с. 53–60.
3. Дмитриева Г.А., Биткина О.А. Папилломавирусная инфекция. М.: Медицинская книга, 2006; с. 76.
4. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология. Руководство. Н. Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2006; с. 520.
5. Ангар Б.С., Броцман Г.Л., Штицер М. Клиническая кольпоскопия. М.: Практическая медицина, 2012; с. 496.
6. Маянский А.Н. Папилломавирусы человека: Возбудители доброкачественных и злокачественных неоплазий. Вопр. диагностики в педиатрии. 2010; 2 (2): 5–11.
7. Chung SH, Wiedmeyer K, Shai A et al. Requirement for estrogen receptor α in a mouse model for human papillomavirus-associated cervical cancer. *Cancer Res* 2008; 68 (23): 9928–34.
8. Morimoto Y et al. Urinary estrogen metabolites during a randomized soy trial. *Nutr Cancer* 2012; 64 (2): 307–14.
9. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М.: ДИТ, 2004.
10. Banerjee S. Attenuation of multi-targeted proliferation-linked signaling by 3,3'-diindolylmethane (DIM): from bench to clinic. *Mutat Res* 2011; 728: 47–66.
11. Zhu J, Li Y, Guan C, Chen Z. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of 3,3'-diindolylmethane in human cervical cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 28 (3): 1063–8.
12. Cben DZ, Qi M, Auburn KJ, Carter TH. Indole-3-carbinol and diindolylmethane induce apoptosis of human cervical cancer cells and in murine HPV16-transgenic preneoplastic cervical epithelium. *J Nutr* 2001; 131 (12): 3294–302.
13. Sepkovic DW, Stein J, Carlisle AD et al. Diindolylmethane inhibits cervical dysplasia, alters estrogen metabolism, and enhances immune response in the K14-HPV16 transgenic mouse model. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18 (11): 2957–64.
14. Dalessandri KM, Firestone GL, Fitch MD et al. Pilot study: effect of 3,3'-diindolylmethane supplements on urinary hormone metabolites in postmenopausal women with a history of early-stage breast cancer. *Nutr Cancer* 2004; 50 (2): 161–7.
15. Wu TY, Kbor TO, Su ZY et al. Epigenetic modifications of Nrf2 by 3,3'-diindolylmethane in vitro in TRAMP C1 cell line and in vivo TRAMP prostate tumors. *AAPS J* 2013; 15 (3): 864–74.
16. Beaver LM, Yu TW, Sokolowski EI et al. 3,3'-Diindolylmethane, but not indole-3-carbinol, inhibits histone deacetylase activity in prostate cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 263 (3): 345–51.
17. Chang X et al. 3,3'-Diindolylmethane inhibits angiogenesis and the growth of transplantable human breast carcinoma in albino mice. *Carcinogenesis* 2005; 26 (4): 771–8.
18. Kim EJ, Shin M, Park H et al. Oral administration of 3,3'-diindolylmethane inhibits lung metastasis of 4T1 murine mammary carcinoma cells in BALB/c mice. *J Nutr* 2009; 139 (12): 2373–9.
19. Semov A, Iourtenko L, Liu LF et al. Diindolylmethane (DIM) selectively inhibits cancer stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 424 (1): 45–51.
20. Zeligs MA et al. US patent 6416.793, Formulation and use of controlled-release indole alkaloids.
21. Kiselev VI. Diindolylmethane-based drug for the treatment of hyperplastic and inflammatory diseases. WO 2011/136691 A1. 2011.
22. Киселев В.И. Суппозитории вагинальные на основе 3,3'-дииндолметана (метилдола) (RU 2318510).
23. Короленкова Л.И., Брюзгин В.В., Ермилова В.Д. Объективные причины гиподиагностики степени эпителиальной неоплазии при предраке и ранних формах рака шейки матки. В кн.: Тезисы первой конференции Общества специалистов-онкологов по опухолям репродуктивной системы. М., 2011; с. 37–8.
24. Bell MC et al. Placebo-controlled trial of indole-3-carbinol in the treatment of CIN. *Gynecol Oncol* 2000; 78 (2): 123–9.
25. Giuseppe del Priore, Deleep Kumar Gudipudi, Nadine Montemarrano et al. Oral diindolylmethane (DIM): pilot evaluation of a nonsurgical treatment for cervical dysplasia. *Gynecol Oncol* 2010; 116 (3): 464–7.
26. Zeligs MA, Sepkovic DW, Manrique C. Absorption-enhanced 3,3'-diindolylmethane: human use in HPV-related, benign and pre-cancerous conditions. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res* 2003.
27. Carter TH, Liu K, Ralph W et al. Diindolylmethane alters gene expression in human keratinocytes in vitro. *J Nutr* 2002; 132 (11): 3314–24.
28. Savino JA, Evans JF, Rabinowitz D et al. Multiple, disparate roles for calcium signaling in apoptosis of human prostate and cervical cancer cells exposed to diindolylmethane. *Mol Cancer Ther* 2006; 5 (3): 556–63.

Авторы выражают признательность клиническим центрам и исследователям, принимавшим участие в исследовании: Л.А.Ашрафяну (Москва); А.В.Головач (Дзержинский, МО); Т.Н.Коломойцевой (Пермь); В.Е.Радзинскому (Москва); С.П.Селиванову (Томск); Л.В.Сутуриной (Иркутск); Н.И.Фадеевой (Барнаул); Р.Ш.Хасанову (Казань); В.Б.Цхай (Красноярск); И.В.Шапиной (Омск).

Научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы были выполнены в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» в рамках исполнения комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства «Производство лекарственных средств на основе биотехнологий для лечения социально значимых заболеваний», финансируемого Министерством образования и науки Российской Федерации в соответствии с постановлением Правительства РФ №218.