

Низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки: терапевтические и патогенетические возможности активированной глицирризиновой кислоты

И.О. Боровиков¹, И.И. Куценко¹, Х.И. Горринг¹, Э.Р. Рубина¹, В.П. Булгакова^{1,2}

¹ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия

²ООО «Клиника Екатерининская», Краснодар, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение: актуальность проблемы распространенности вируса папилломы человека (ВПЧ) среди населения обуславливает его способность к малигнизации пораженных им тканей, особенно это касается рака шейки матки (РШМ), являющегося 4-м наиболее распространенным видом рака у женщин и 7-м в целом. Отсутствие эффективных стратегий профилактики, скрининга и лечения предраковых поражений шейки матки — плоскоклеточных интраэпителиальных поражений является основной причиной высокого уровня заболеваемости РШМ.

Цель исследования: оценка эффективности локальной терапии активированной глицирризиновой кислотой (АГК) (препарат Эпиген Интим в форме 0,1% спрея) у пациенток с низкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки (low-grade squamous intraepithelial lesion — LSIL).

Материал и методы: проведено исследование результатов лечения 76 женщин с LSIL препаратом Эпиген Интим. Проводилось клиническое, кольпоскопическое, цитогистологическое и цитобиохимическое исследование. Диагноз LSIL был обоснован при клинико-микробиологическом и цитологическом обследовании (жидкостная цитология). Диагностика инфицированности ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) осуществлялась путем ПЦР с набором реагентов для генотипирования 12 типов ВПЧ ВКР. Проводилась оценка окислительных процессов в слизистой шейки матки (определение NO, реактивных форм кислорода и липидов), активности ферментов макрофагов (миелопероксидаза, кислая фосфатаза и неспецифическая эстераза). 30 условно здоровых женщин, проходивших плановый медосмотр, составили группу цитобиохимического контроля.

Результаты исследования: нормальная кольпоскопическая картина у женщин с LSIL через 30 дней после проведенного лечения АГК была зарегистрирована у 85,5% пациенток, а в ходе годовичного мониторинга возросла до 90,8%. Отсутствие койлоцитарной атипии через 1 мес. после лечения выявлено у 81,6% пациенток, в течение годовичного мониторинга — у 89,5%. Также в процессе терапии зарегистрированы изменения цервикальных окислительных процессов — интенсивность ЭПР сигнала LOO снизилась в 3,8 раза, NO — в 2,4 раза, а O₂ практически перестали регистрироваться. При этом в ферментах макрофагов цервикальной зоны отмечено повышение активности миелопероксидазы в среднем на 54,4±5,9%, кислой фосфатазы — на 63,9±6,4% и неспецифической эстеразы — более чем в 2 раза.

Заключение: выявлена высокая клиническая эффективность локальной терапии АГК женщин с LSIL с нормализацией иммунных и оксидативных процессов цервикальной зоны.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки, глицирризиновая кислота, Эпиген Интим.

Для цитирования: Боровиков И.О., Куценко И.И., Горринг Х.И. и др. Низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки: терапевтические и патогенетические возможности активированной глицирризиновой кислоты. РМЖ. Мать и дитя. 2019;2(*):1–5.

Low-grade squamous intraepithelial lesion: therapeutic and pathogenic properties of activated glycyrrhizinic acid

I.O. Borovikov¹, I.I. Kutsenko¹, H.I. Gorring¹, E.R. Rubinina¹, V.P. Bulgakova^{1,2}

¹Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

²LLC "Clinic Ekaterininskaya", Krasnodar, Russian Federation

ABSTRACT

Background: the importance of human papilloma virus (HPV) prevalence is accounted for by HPV malignancy including cervical cancer. Cervical cancer is the fourth most commonly occurring cancer in women and the seventh most commonly occurring cancer overall. The lack of effective preventive, screening, and treatment strategies for precancerous cervical lesions (i.e., squamous intraepithelial lesions) is the major cause of high cervical cancer prevalence.

Aim: to assess the efficacy of local treatment with activated glycyrrhizinic acid (Epigen Intim, 0.1% spray) in women with low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL).

Patients and Methods: 76 women who received Epigen Intim were enrolled. Clinical examination as well as colposcopy, cytology, and cytobiochemistry were performed. LSIL diagnosis was verified by clinical microbiological and cytological studies (fluid cytology). Infection

with high-risk HPV was verified by PCR for the detection of 12 high-risk HPV types. Oxidative processes in cervical mucosa were assessed by measuring NO, reactive oxygen species, and lipids. Macrophage enzyme activity was evaluated by myeloperoxidase, acidic phosphatase, and non-specific esterase. 30 healthy women were cytochemical controls.

Results: 85.5% and 90.8% of women with LSIL had a normal colposcopy in 30 days and a year, respectively, after the treatment with activated glycyrrhizinic acid. No koilocytotic atypia was revealed in 81.6% and 89.5% of women in 30 days and a year, respectively, after the treatment. The treatment has also resulted in the changes in cervical oxidation processes, i.e., electron paramagnetic resonance (EPR) signal intensity of lipid peroxyl radicals has reduced by 3.8 times and NO by 2.4 times while EPR signals of O₂ were almost undetectable. As to cervical macrophage enzymes, the activity of myeloperoxidase and acidic phosphatase has increased by 54.4 ± 5.9% and 63.9 ± 6.4%, respectively, while the activity of non-specific esterase has increased more than twice.

Conclusion: high clinical efficacy of the local treatment with activated glycyrrhizinic acid for LSIL (which have resulted in the normalization of immune and oxidation processes in the cervix) was demonstrated.

Keywords: human papilloma virus, squamous intraepithelial lesion, glycyrrhizinic acid, Epigen Intim.

For citation: Borovikov I.O., Kutsenko I.I., Gorring H.I. et al. Low-grade squamous intraepithelial lesion: therapeutic and pathogenic properties of activated glycyrrhizinic acid. Russian Journal of Woman and Child Health. 2019;2(*):2–5.

ВВЕДЕНИЕ

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) на современном этапе развития общества является одной из самых распространенных инфекций, передающихся половым путем (количество инфицированных вирусом папилломы человека (ВПЧ) в мире за последнее 10 лет возросло более чем в 10 раз), с высокой контагиозностью [1–3]. Особенную актуальность проблемы распространенности ВПЧ среди населения обуславливает его способность к малигнизации пораженных им тканей, особенно это касается рака шейки матки (РШМ), являющегося 4-м наиболее распространенным видом рака у женщин и 7-м в целом [2]. Отсутствие эффективных стратегий профилактики, скрининга и лечения предраковых поражений шейки матки — плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (squamous intraepithelial lesion — SIL) является основной причиной высокого уровня заболеваемости РШМ [4]. Инфекция ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) (в основном 16 и 18 типов) является основным фактором риска развития РШМ, при этом онкогены ВПЧ Е6 и Е7, содержащиеся в этих типах ВПЧ, необходимы для канцерогенеза и инвазии [5, 6]. При нарушении функций ключевых клеточных опухолевых супрессоров (белков p53 и pRb) эти вирусные онкопротеины immortalизируют и трансформируют клетки человека, создавая основу для прогрессирования рака [7]. В связи с этим изучение факторов патогенеза цервикальных ВПЧ-поражений представляет особую актуальность.

Также в настоящее время крайне актуальным считается вопрос лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в зависимости от степени тяжести, тем более что этиотропной терапии данного заболевания не существует. Поиск новых химиопрофилактических и противоопухолевых средств, более эффективных, но менее токсичных, вызвал большой интерес к фитохимическим соединениям. Глицирризиновая кислота (глицирризин), получаемая из солодки, обладает противовоспалительными, антиоксидантными, противовирусными и противоопухолевыми свойствами [7, 8]. Было продемонстрировано, что метаболит глицирризина — 18β-глицирретиновая кислота вызывает апоптоз в раковых клетках шейки матки SiHa [9]. В исследовании A. Farooqui et al. (2017) систематизировано влияние глицирризина на линию раковых клеток шейки матки HeLa [10]. Было показано, что воздействие глицирризина снижало жизнеспособность раковых клеток шейки матки, с изменением их формы, уменьшением размера и отслоением от поверхности с образованием кластеров, т. е. глицирризин вызывал гибель клеток посредством апоптоза, что подтверждает аналогич-

ные результаты других авторов [11]. Также A. Farooqui et al. подтверждено, что дозозависимая активация каспазы-8, —9 и —3 в клетках HeLa, обработанных глицирризином, может вызывать апоптотическую гибель клеток, действуя через рецептор на поверхности клетки, а также через митохондриальный путь [10]. Кроме того, было показано, что глицирризин индуцирует избыточную генерацию активных форм кислорода (АФК) в раковых клетках шейки матки, что ведет к дисфункции митохондрий и последующему апоптозу и остановке прогрессирования клеточного цикла клеток HeLa в фазе G0/G1 путем блокирования перехода из фазы G0/G1 в фазу S [10]. Таким образом, результаты проведенных независимых исследований позволили установить, что глицирризиновая кислота проявляет *in vitro* антипролиферативные и апоптотические свойства в отношении раковых клеток шейки матки, вызывая разрушение митохондриального мембранного потенциала, увеличение генерации АФК, активацию каспаз как внешнего, так и внутреннего пути гибели клеток, а также индукцию остановки клеточного цикла в фазе G0/G1.

Исходя из вышеизложенного, **целью исследования** явилась оценка эффективности локальной терапии активированной глицирризиновой кислотой (АГК) (препарат Эпиген Интим в форме 0,1% спрея) у пациенток с низкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки (low-grade squamous intraepithelial lesion — LSIL).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено сравнительное открытое исследование результатов лечения 76 женщин с низкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения 19–42 лет (средний возраст — 26,1 ± 4,1 года) и 30 условно здоровых женщин, проходивших плановый медосмотр (группа цитобиохимического контроля) (средний возраст — 25,8 ± 2,4 года). База исследований — кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, женские консультации г. Краснодара. Диагноз LSIL устанавливался на основании клинико-микробиологического, кольпоскопического и цитологического обследования (жидкостная цитология — Pap smear test). Диагностику инфицированности различными типами ВПЧ проводили с помощью ПЦР (тест-система АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL, Россия), позволяющей выявлять и генотипировать ВПЧ высокого канцерогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59 типов) с детекцией в режиме реального времени.

Окислительные процессы в слизистой шейки матки (определение NO, реактивных форм кислорода (суперок-

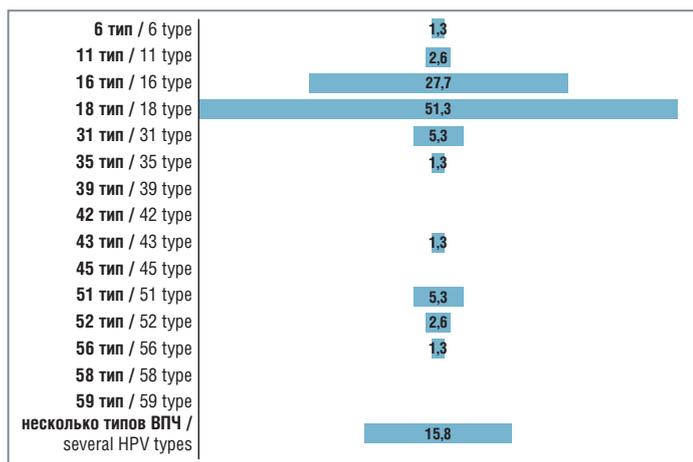


Рис. 1. Типы ВПЧ

Fig. 1. HPV types

сидрадикалы, O_2^-) и липидов (пероксидрадикалы, LOO^-) определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) (радиоспектрометр «РЭ-1307», Россия). Цитохимическую активность ферментов макрофагов слизистой шейки матки (кислой фосфатазы (КФ), миелопероксидазы (МПО) и неспецифической эстеразы (НЭ)) регистрировали по среднему цитохимическому показателю.

Пациенткам ($n=76$), которым на основании клинико-микробиологического исследования был поставлен диагноз LSIL, проведена топическая терапия препаратом глицирризиновой кислоты — Эпиген Интим в виде вагинального 0,1% спрея, который применялся 5 р./сут интравагинально в течение 14 дней 1 раз в 6 мес. в течение 1 года. Клинико-микробиологическую эффективность лечения оценивали через 30 дней и 1 год после окончания терапии. Исследование про-/антиоксидантной системы и цитохимии макрофагов проводили через 10 дней и 1 год после окончания терапии глицирризиновой кислотой.

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики (критерий Фишера (F) для оценки непараметрических показателей групп малых выборок и Стьюдента (t) для независимых групп), с использованием программы Statistica 6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что основными вирусами, ответственными за патологию шейки матки в виде LSIL у 76 женщин, являются ВПЧ высокого канцерогенного риска (89,6%) (рис. 1). Из них основными типами ВПЧ являются 18 (51,3%) и 16 (27,7%). Также эпидемиологическое значение имеют другие типы высокоонкогенных вирусов, в частности 31 (5,3%) и 51 (5,3%).

Патогенез любого паранеопластического процесса подразумевает изменения молекулярных и субклеточные механизмов: изменение транспорта электронов, активация образования генераторов свободных форм кислорода и пероксидрадикалов, снижение антиоксидантной активности клеток. Исследование оксидативного статуса цервикальной зоны показало, что при LSIL интенсивность ЭПР-сигнала пероксидрадикалов (LOO^-) повышается в 3,8 раза, начинают регистрироваться супероксидрадикалы (O_2^-), практически отсутствующие в контрольной группе, возрастает в 3,5 раза интенсивность сигнала оксида азота (рис. 2). Что

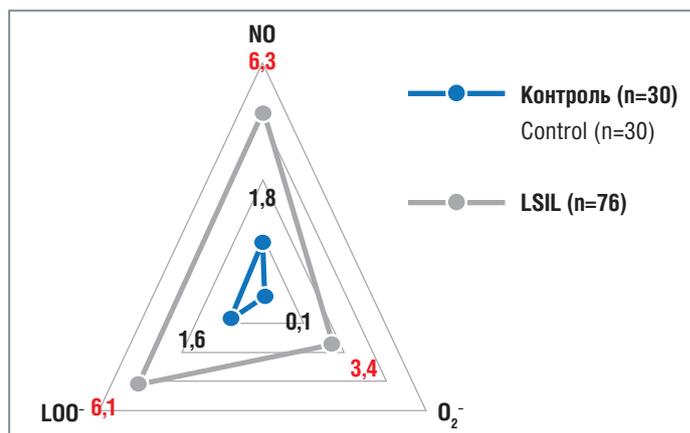


Рис. 2. Состояние оксидативной системы слизистой шейки матки

Fig. 2. State of the oxidative system of cervical mucosa

доказывает факт активизации образования свободнорадикальных форм кислорода с интенсификацией перекисного окисления липидов в эпителиоцитах шейки матки при реализации ПВИ, которые становятся факторами, нарушающими структуры клеточных мембран, метаболических процессов и играют значительную роль в патогенезе перехода процесса в хроническую форму, и, возможно, в малигнизации процесса.

Неоспоримым фактом является, что МПО в присутствии H_2O_2 имеет выраженные бактерицидные и противовирусные свойства, влияя на клетки, пораженные ВПЧ, таким образом, по количеству пероксидазоположительных макрофагов косвенно можно судить о микробицидной и цитотоксической активности слизистых, в т. ч. при специфическом воспалении, вызванном ВПЧ-агрессией.

Активность МПО, отражающей один из компонентов кислородзависимой бактерицидной системы макрофагов цервикальной зоны, при LSIL была в среднем в 3,9 раза ниже, а НЭ, отражающей субактивационные свойства макрофагов, — в 3,0 раза ниже ($p<0,05$), чем у пациенток группы контроля (табл. 1). Одним из специфических маркеров лизосом макрофагов является КФ, также отмечается корреляционная зависимость между активностью лизосомальной КФ и функциональной активностью макрофагов. При ПВИ сенсibilизированные лимфоциты в присутствии антигена могут выделять лимфокины, активирующие макрофаги, в результате чего изменяется их ферментативная активность, кроме того, сами папилломавирусы могут оказывать прямые иммунодепрессивные, либо активирующие эффекты, изменяя функциональную активность фагоцитов. При этом активность КФ при LSIL практически не от-

Таблица 1. Активность ферментов (средний цитохимический показатель) макрофагов цервикальной зоны

Table 1. Activity of enzymes (ACI) of macrophages of cervical zone

Группа/Group	МПО/MPO	КФ/AP	НЭ/NSE
Контроль/Control (n=30)	192,4±13,7	148,4±9,6	94,5±7,1
LSIL (n=76)	48,1±4,4	119,1±7,9	31,8±4,6

Примечание. КФ – кислая фосфатаза, МПО – миелопероксидаза, НЭ – неспецифическая эстераза.

Note. MPO – myeloperoxidase, AP – acidic phosphatase, NSE – non-specific esterase.

4. Arbyn M., Castellsague X., DeSanjose S. et al. Worldwide burden of cervical cancer. *Ann. Oncol.* 2011;22:2675–2686. DOI: 10.2147/IJWH.S50001.
5. Moody C., Laimins L. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat. Rev. Cancer.* 2010;10:550–560. DOI: 10.1038/nrc2886.
6. Uyar D., Rader J. Genomics of cervical cancer and the role of human papillomavirus pathobiology. *Clin. Chem.* 2014;60(1):144–146. DOI: 10.1373/clinchem.2013.212985.
7. Ashrafian L.A., Kishlev V.I., Alesikova O.I., Ponomareva Y.V. Results of conservative therapy of patients with cervical intraepithelial neoplasia I-II degree (CIN I-II). *Akusherstvo i ginekologiya.* 2015;12:103–109 (in Russ.).
8. Landy R., Pesola F., Castañón A., Sasieni P. Impact of cervical screening on cervical cancer mortality: estimation using stage-specific results from a nested case-control study. *Br. J. Cancer.* 2016;115(9):1140–1146. DOI: 10.1038/bjc.2016.290.
9. Baltina L. Chemical modification of glycyrrhizic acid as a route to new bioactive compounds for medicine. *Curr. Med. Chem.* 2013;10:155–171. DOI: 10.2174/0929867033368538.
10. Farooqui A., Khan F., Khan I., Ansari I.A. Glycyrrhizin induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and cell cycle arrest at G0/G1 in HPV18+ human cervical cancer HeLa cell line. *Biomed Pharmacother.* 2018;97:752–764. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.147.
11. Li C., Ma C., Zhang W., Wang J. The immune function differences and high-risk human papillomavirus infection in the progress of cervical cancer. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2014;5(35):557–561. PMID: 25423704.

Сведения об авторах:

¹Боровиков Игорь Олегович — д.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, ORCID iD 0000-0001-8576-1359;

¹Куценко Ирина Игоревна — д.м.н., заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии, ORCID iD 0000-0003-0938-8286;

¹Горринг Хава Израилловна — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, ORCID iD 0000-0002-4039-5700;

¹Рубинина Эдита Рубеновна — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, ORCID iD 0000-0002-7599-2257;

^{1,2}Булгакова Вера Павловна — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, ORCID iD 0000-0002-8388-8644.

¹ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, 350063, Россия, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4.

²ООО «Клиника Екатеринбургская». 350063, Россия, г. Краснодар, ул. Героя Яцкова, д. 2/2.

Контактная информация: Боровиков Игорь Олегович, e-mail: bio2302@mail.ru. **Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 16.07.2019.

About the authors:

¹Igor O. Borovikov — MD, PhD, assistant professor of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, ORCID iD 0000-0001-8576-1359;

¹Irina I. Kutsenko — MD, PhD, Head of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, ORCID iD 0000-0003-0938-8286;

¹Hava I. Gorrinng — MD, postgraduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, ORCID iD 0000-0002-4039-5700;

¹Edita R. Rubinina — MD, postgraduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, ORCID iD 0000-0002-7599-2257;

^{1,2}Vera P. Bulgakova — MD, postgraduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, ORCID iD 0000-0002-8388-8644.

¹Kuban State Medical University. 4, Mitrofan Sedin Str., Krasnodar, 350063, Russian Federation.

²LLC "Clinic Ekaterininskaya". 2/2, Hero I.V. Yatskov Str., Krasnodar, 350063, Russian Federation.

Contact information: Igor O. Borovikov, e-mail: bio2302@mail.ru. **Financial Disclosure:** no author has a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests. Received 16.07.2019



СПРЕЙ для наружного и местного применения 0,1%

Действующее вещество – глицирризиновая кислота активированная

Форма выпуска: флаконы 60 мл и 15 мл



Обладает активностью в отношении вируса папилломы человека, герпесвируса 1 и 2 типа, цитомегаловируса

Разрешен к применению на всех сроках беременности и лактации



Укомплектован специальной вагинальной насадкой для равномерного орошения влагалища и шейки матки

Спрей Эпиген Интим –

местное средство с прямым противовирусным, противовоспалительным и регенерирующим эффектом

Произведено по заказу «Хемигруп Франс С.А.», Франция для ООО «Инвар», Россия