

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ЦЕРВИКОН-ДИМ У ПАЦИЕНТОК С ДИАГНОЗОМ CIN 1-2

Друх В.М.¹, Кузнецов И.Н.², Андрианова Е.А.³, Барановский П.М.⁴

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия, e-mail: imbp-rudn@yandex.ru;

²Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия, e-mail: msmsu@msmsu.ru;

³Закрытое акционерное общество «ИльмиксГрупп», Москва, Россия, e-mail: info@ilmixgroup.ru;

⁴Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия, e-mail: nrcki@nrcki.ru

Проведено изучение безопасности нового препарата Цервикон-ДИМ на основе дииндолилметана (ДИМ), представленного в лекарственной форме «суппозитории вагинальные». В исследование безопасности было включено 90 пациенток с верифицированным диагнозом цервикальная интраэпителиальная неоплазия 1-2 степени (CIN 1-2). Первая группа получала препарат Цервикон-ДИМ в дозе 200 мг ДИМ в сутки в течение 160 дней. Вторая группа получала плацебо. В ходе исследования в обеих группах в общей сложности было зафиксировано 5 нежелательных явлений (НЯ) (5,6%): 3 НЯ в экспериментальной группе (Цервикон-ДИМ 200 мг/сут), 2 НЯ - в группе плацебо. Все зарегистрированные НЯ имели незначительную выраженность. Серьезных НЯ ни в одной группе отмечено не было. Сделан вывод о благоприятном профиле безопасности препарата Цервикон-ДИМ.

Ключевые слова: 3,3'-дииндолилметан (ДИМ), суппозитории, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, CIN, безопасность, клинические исследования.

A STUDY OF SAFETY OF CERVIKON-DIM MEDICATION IN PATIENTS WITH CIN GRADE 1-2

Drukh V.M.¹, Kuznetsov I.N.², Andrianova E.A.³, Baranovskiy P.M.⁴

¹Peoples' Friendship University of Russia (PFUR), Moscow, Russia, e-mail: imbp-rudn@yandex.ru;

²Moscow State Medical Stomatological University (MGMSU), Moscow, Russia, e-mail: msmsu@msmsu.ru;

³CJSC «IlmixGroup», Moscow, Russia, e-mail: info@ilmixgroup.ru;

⁴National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russia, e-mail: nrcki@nrcki.ru

This study was performed to evaluate the safety of the Cervikon-DIM medication based on 3,3'-diindolylmethane (DIM) in form of vaginal suppositories. A total of 90 patients with verified cervical intraepithelial neoplasia (CIN 1-2) were enrolled. First experimental group received Cervikon-DIM medication for 160 days in doses of 200 mg DIM per day. The second group received placebo. A total of five adverse events (AEs) (5,6%) in both groups were reported: 3 AEs - in experimental group (Cervikon-DIM 200 mg/day) and 2 AEs were registered in placebo group. All AEs were of mild intensity. In both groups there were no reported serious adverse events. We concluded that Cervikon-DIM medication has a favorable safety profile.

Keywords: 3,3'-diindolylmethane (DIM), suppositories, cervical intraepithelial neoplasia, CIN, safety, clinical trials.

Рак шейки матки (РШМ) остается четвертым по распространенности видом рака среди женщин [8]. В 2012 г. во всем мире было зарегистрировано 528 тыс. новых случаев заболеваемости РШМ. При этом в развитых странах показатели заболеваемости и смертности на 100 тыс. человек женского населения составили, соответственно, 58,3 и 28,4 случаев [7].

Злокачественной прогрессии в РШМ предшествуют диспластические изменения эпителия шейки матки (ШМ). По классификации ВОЗ в зависимости от степени выраженности выделяют цервикальные интраэпителиальные неоплазии (CIN) легкой,

умеренной и тяжелой степени (CIN 1, CIN 2 и CIN 3, соответственно), являющиеся, согласно современным представлениям, последовательными стадиями малигнизации эпителия ШМ. CIN 1 переходит в умеренную или тяжелую форму дисплазии в 11-22% случаев [13], в то время как CIN 2 и CIN 3 относятся к группе предраковых поражений ШМ с высокой вероятностью прогрессирования в рак [12].

Развитие неоплазий обычно сопровождается инфицированием эпителиальной ткани вирусом папилломы человека (ВПЧ) и последующей интеграцией ДНК вируса в геном клетки. Экспрессия вирусных онкобелков E6 и E7 приводит к патологическому нарушению регуляции клеточного цикла, и, как следствие, неконтролируемой клеточной пролиферации [6]. Стимуляция пролиферации ВПЧ-инфицированных клеток наблюдается также под действием гормонального фактора, а именно повышенного уровня 16 α -гидроксиэстрогена (16 α -ОНЕ1), образующегося в результате метаболической конверсии эстрадиола [15]. Неоплазии, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией, сопровождаются также подавлением активности иммунной системы организма, что может привести к необратимым процессам канцерогенеза эпителия ШМ [16].

Патогенетическим фактором CIN, вызывающим нарушения дифференцировки и целостности эпителия ШМ, является также хроническое воспаление, вызванное механическими травмами ШМ или инфекциями, передаваемыми половым путем [18].

Не менее важным условием развития злокачественных неоплазий является дисбаланс эпигенетических процессов. В экспериментальных исследованиях продемонстрирован рост уровня метилирования опухоль-супрессорных генов по мере прогрессирования CIN [5].

Деструктивные методы лечения CIN являются наиболее распространенными в клинической практике, однако при устранении лишь морфологических элементов ткани процессы репарации замедляются, а вероятность рецидивов сохраняется. Использование иммуномодулирующей терапии часто используется как сопутствующая терапия неопластических процессов шейки матки, однако в большинстве случаев не приводит к регрессу заболевания [17].

Вещество индол-3-карбинол (ИЗК) и его физиологический метаболит 3,3-дииндолилметан обладают мультитаргетной активностью в отношении молекулярных механизмов патогенеза CIN. В экспериментальных исследованиях ИЗК и ДИМ подавляют жизнедеятельность ВПЧ-трансформированных клеток, благодаря антипролиферативным, проапоптотическим и иммуномодулирующим свойствам (стимуляция IFN γ -зависимых сигнальных каскадов) [2, 4, 14]. Известно, что активные субстанции ИЗК и ДИМ также нормализуют метаболизм эстрадиола, ингибируя синтез 16 α -ОНЕ1, обладающего выраженными канцерогенными свойствами [9].

Подавление патологических процессов в цервикальной зоне с помощью ИЗК и ДИМ осуществляется также за счет нейтрализации ядерного фактора NF-κB, отвечающего за воспалительные ответы [18]. Большое значение имеет недавно обнаруженная ДНК-деметилюющая активность ДИМ, приводящая к восстановлению активности опухолевых супрессорных генов [11]. Кроме того, активная субстанция ДИМ препятствует ангиогенной клеточной активности, сопровождающей гипер- и неопластические процессы в цервикальной зоне [3]. Избирательная активность ДИМ показана также в отношении опухолевых стволовых клеток, которые, согласно современным представлениям, являются главной причиной рецидивирования злокачественных опухолей [10].

Препарат Цервикон-ДИМ с повышенной биодоступностью ДИМ в лекарственной форме «суппозитории вагинальные» был разработан с целью обеспечить безопасную и эффективную терапию диспластических заболеваний шейки матки.

Материалы и методы

Тестовые композиции. Суппозитории вагинальные Цервикон-ДИМ (3,3'-дииндолилметан) (100 мг ДИМ на суппозиторий; ЗАО «ИльмиксГрупп», Россия), содержащие липофильную основу, поливинилпирролидон и бутилгидроксианизол; суппозитории с плацебо.

Пациенты и лечение. В исследование безопасности препарата Цервикон-ДИМ было включено 90 пациенток в возрасте 18-39 лет с гистологически верифицированной цервикальной интраэпителиальной неоплазией 1-2 степени (CIN 1-2). Площадь участков дисплазии цервикального эпителия не должна была быть менее 1 см².

За 45 дней до начала периода активной терапии испытуемые проходили скрининговое обследование, включающее сбор анамнеза, физикальный осмотр, кольпоскопию, ПАП-тест, биопсию шейки матки, УЗИ органов малого таза, клинический и биохимический анализ крови, анализ мочи, ЭКГ. Из исследования исключались пациентки с повышенной чувствительностью к компонентам препарата и имеющие аллергические реакции на йодсодержащие препараты в анамнезе. Были исключены пациентки с инфекцией мочеполовой системы в фазе активного воспаления, заболеваниями сердечно-сосудистой и нервной системы, почечной или печеночной недостаточностью, а также имеющие злокачественные новообразования любой локализации, цервикальную интраэпителиальную неоплазию 3-ей степени (CIN 3) или CIS (*cancer in situ*). В качестве критериев исключения из исследования были также приняты положительные тесты RW или ВИЧ, беременность и лактация, злоупотребление алкоголем, наркотическая или лекарственная зависимость. Не допускалось использование других экспериментальных препаратов за 30 дней до приема первой дозы исследуемого препарата.

После подписания информированного согласия испытуемых распределили на две группы по пациенток в каждой. Пациенткам первой группы исследуемый препарат назначался в дозе 200 мг ДИМ в сутки (1 суппозиторий исследуемого препарата 2 раза в сутки). Вторая группа пациенток получала препарат сравнения (1 суппозиторий с плацебо 2 раза в сутки). Активная терапия проводилась в течение 160 дней. Исследование предусматривало четыре контрольных визита: в начале исследования, через 30, 90 и 160 дней после начала исследования.

Оценка безопасности и переносимости терапии проводилась клинически и с помощью инструментально-лабораторных методов исследования. Мониторинг безопасности исследуемой терапии проводился на основании анализа жалоб, данных физикального осмотра, клинического анализа крови, общего анализа мочи, биохимического анализа крови (определение уровня глюкозы, белка, креатинина, общего билирубина, активности аспаргатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ)). Проводилось измерение температуры тела, частоты сердечных сокращений (ЧСС), частоты дыхательных движений (ЧДД), систолического и диастолического артериального давления (САД и ДАД), регистрация ЭКГ. Все нежелательные явления (НЯ), наблюдавшиеся в процессе исследования, регистрировались с учетом их характера, степени выраженности и длительности.

Статистическая обработка. Для выявления зависимости между частотой НЯ и группой исследования использовали критерий хи-квадрат (χ^2) и критерий Фишера. Оценка 95% доверительных интервалов проводилась с использованием метода Клоппера-Пирсона. Статистический анализ данных и оформление результатов проводился с использованием пакетов SPSS Statistics 19.0 и Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение

В исследование безопасности терапии препаратом Цервикон-ДИМ в дозе 200 мг ДИМ в сутки было включено 90 пациенток с диагнозом CIN 1-2. Основными методами исследования стали анализ НЯ, инструментальные исследования и клинические анализы. Исследуемые группы пациенток были сопоставимы по демографическим данным и основным жизненным показателям, что позволило объединить пациенток в группы исследования. Терапия проводилась в течение 160 дней с контрольными визитами через 30, 90 и 160 дней после приема первой дозы препарата.

Общее количество пациенток, у которых отмечались НЯ (все визиты) представлено ниже (таблица 1). Всего в ходе настоящего исследования зафиксировано 5 нежелательных явлений (5,6%) (2 в группе плацебо и 3 в группе Цервикон).

Таблица 1

Количество пациенток с нежелательными явлениями (за весь период исследования) в группах исследования

Наличие НЯ у пациентки	Группа			
	Цервикон–ДИМ 200 мг/сут.		Плацебо	
	Частоты	% в группе	Частоты	% в группе
Нет	41	93,2	44	95,7
Да	3	6,8	2	4,3

В группе плацебо НЯ отмечались у 4,3% пациентов (2 из 46, 95% ДИ 0,6-15,5%); в группе терапии препаратом Цервикон-ДИМ НЯ отмечались у 6,8% пациентов (3 из 44, 95% ДИ 1,4-18,7%). Не обнаружены значимые различия в группах терапии Цервикон-ДИМ по сравнению с группой плацебо, по количеству пациентов, у которых было отмечено наличие НЯ ($p=0,479$ – точный критерий Фишера, $p=0,609$ – критерий хи-квадрат).

Был также проведен анализ зарегистрированных НЯ. Виды НЯ представлены в таблице 2.

Таблица 2

Виды нежелательных явлений в группах исследования (160 дней терапии)

Вид НЯ	Количество НЯ	
	Цервикон–ДИМ 200 мг/сут	Плацебо
Жжение и зуд во влагалище	2	1
Анемия	1	
Зуд вульвы		1

Серьезные НЯ, случаи смертей, а также серьезные нежелательные реакции в ходе настоящего исследования не отмечены.

Таким образом, проведенное клиническое исследование показало хороший профиль безопасности препарата. Побочные эффекты в экспериментальной группе встречались с такой же частотой, как и в группе плацебо, и при этом были практически полностью ограничены местными проявлениями. По сравнению с результатами изучения безопасности препарата, полученными во II фазе клинических исследований [1], можно отметить отсутствие НЯ, связанных с повышением печеночных трансаминаз. По-видимому, этот факт указывает на случайный характер данных проявлений, тем более, что значимых различий в частоте НЯ между группами тогда также отмечено не было.

Научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы были выполнены в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» в рамках исполнения договора № 02.G25.31.0080 от «23» мая 2013 г. на реализацию комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства «Производство лекарственных средств на основе биотехнологий для лечения социально значимых

Список литературы

1. Безопасность фармацевтической композиции на основе дииндолилметана в виде суппозиторий у пациенток с CIN 1-2 (II фаза) / В.И. Киселев, Л.А. Ашрафян, В.М. Друх и др. // Вестник РНЦПР МЗ РФ. – 2015. – Т.15
2. 3,3'-Diindolylmethane increases serum interferon- γ levels in the K14-HPV16 transgenic mouse model for cervical cancer / D.W. Sepkovic, L. Raucci, J. Stein et al. // *In Vivo*. – 2012. – Vol. 26(2). – P. 207-11.
3. 3,3'-Diindolylmethane inhibits angiogenesis and the growth of transplantable human breast carcinoma in athymic mice / X. Chang, J.C. Tou, C. Hong et al. // *Carcinogenesis*. – 2005. – Vol. 26(4). – P. 771-778.
4. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of 3,3'-diindolylmethane in human cervical cancer cells / J. Zhu, Y. Li, C. Guan et al. // *Oncol. Rep.* – 2012. – Vol. 28(3). – P.1063-8.
5. Assessment of gene promoter hypermethylation for detection of cervical neoplasia / G.B. Wisman, E.R. Nijhuis, M.O. Hoque et al. // *Int. J. Cancer*. – 2006. - Vol. 119(8). – P. 1908-1914.
6. Burd, E.M. Human papillomavirus and cervical cancer // *Clin Microbiol Rev.* – 2003. – Vol. 16(1). – P. 1–17.
7. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012 / J. Ferlay, E. Steliarova-Foucher, J. Lortet-Tieulent et al. // *Eur. J. Cancer*. – 2013. – Vol. 49(6). – P. 1374-403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027. Epub 2013 Feb 26.
8. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet] / Ferlay, I. Soerjomataram, M. Ervik et al. // Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; J. GLOBOCAN 2012 v1.1, 2014. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 16/01/2015.
9. Diindolylmethane inhibits cervical dysplasia, alters estrogen metabolism, and enhances immune response in the K14-HPV16 transgenic mouse model / D.W. Sepkovic, J. Stein, A.D. Carlisle et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2009. – Vol. 18(11). – P. 2957-2964.
10. Diindolylmethane (DIM) selectively inhibits cancer stem cells / A. Semov, L. Iourtchenko, L.F. Liu, et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. – Vol. 424(1). – P. 45-51.
11. Epigenetic modifications of Nrf2 by 3,3'-diindolylmethane in vitro in TRAMP C1 cell line and in vivo TRAMP prostate tumors / T.Y. Wu, T.O. Khor, Z.Y. Su et al. // *The AAPS J.* 2013. – Vol. 15(3). – P. 864-874.

12. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia / W.P. Soutter, P. Sasieni, T. Panoskaltsis // *Int. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 118(8). – P. 2048-55.
13. Oster, A.G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: A critical review // *Int. J Gynecol. Pathol.* – 1993. – Vol. 12. – P.186–192.
14. Placebo-controlled trial of indole-3-carbinol in the treatment of CIN / M.C. Bell, P. Crowley-Nowick, H.L. Bradlow et al. // *Gynecol Oncol.* 2000. - Vol. 78(2). - P. 123-29.
15. Requirement for Estrogen Receptor Alpha in a Mouse Model for Human Papillomavirus-Associated Cervical Cancer / S. Chung, K. Wiedmeyer, A. Shai et al. // *Cancer Res.* – 2008. – Vol. 68(23). – P. 9928–34.
16. Results from a dose response study using 3,3'-diindolylmethane in the K14-HPV16 transgenic mouse model: cervical histology / D.W. Sepkovic, J. Stein, A.D. Carlisle et al. // *Cancer Prev.Res. (Phila).* 2011. Vol. 4(6). P. 890-6.
17. Systemic alpha-interferon (Wellferon) treatment of genital human papillomavirus (HPV) type 6, 11, 16, and 18 infections: double-blind, placebo-controlled trial / M. Yliskoski, K. Syrjänen, S. Syrjänen et al. // *Gynecol. Oncol.* – 1991. – Vol. 43(1). P. 55-60.
18. Targeted regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF-κB signaling by indole compounds and their derivatives: mechanistic details and biological implications for cancer therapy / A. Ahmad, B. Biersack, Y. Li et al. // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2013. – Vol. 13(7). – P. 1002-13.

Рецензенты:

Пальцев М.А. , д.м.н., профессор, президент ЗАО «ИльмиксГрупп», г. Москва;

Киселев В.И., д.б.н., профессор, президент ЗАО «МираксБиоФарма», г. Москва.