

Коррекция нарушений цитобиохимических процессов в слизистой шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии

Д.м.н. И.О. Боровиков, Е.Э. Герасименко, Х.И. Горринг

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрен опыт применения локальной формы биофлавоноида дигидрокверцетина (Фламена®) в коррекции про-/антиоксидантных локальных нарушений слизистой цервикальной зоны при легкой степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN I).

Цель исследования: оценка возможности коррекции нарушений окислительных процессов в слизистой шейки матки при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях с помощью локального применения препарата дигидрокверцетина (Фламена®).

Материал и методы: методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) исследованы изменения парамагнитных центров слизистой шейки матки у 64 женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией легкой степени (30 женщин — контрольная группа). Исследовались свободный оксид азота (NO), реактивные формы кислорода (супероксид-радикалы, O_2^-) и липидов (пероксид-радикалы, LOO^-). ЭПР-спектры регистрировались на радиоспектрометре «РЭ-1307» (Россия). Цитохимия макрофагов слизистой шейки матки (миелопероксидаза, кислая фосфатаза и неспецифическая эстераза) изучалась с целью определения их активации в условиях патологического процесса.

Результаты исследования: установлено, что при ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ) поражениях шейки матки легкой степени (CIN I) интенсивность ЭПР-сигнала пероксид-радикалов (LOO^-) увеличивается на 278,9% ($p < 0,05$), также регистрируются сигналы супероксид-радикалов (O_2^-), которые в контрольной группе не определяются, увеличение интенсивности сигнала ЭПР NO возрастает на 233,3% по сравнению с контролем.

Заключение: таким образом, доказано, что в случае ВПЧ-инфицирования в ткани шейки матки происходит интенсификация образования реактивных форм азота и кислорода в эпителиоцитах с изменением молекулярных, субклеточных и клеточных структур, что играет значительную роль в патогенезе заболевания. Эти нарушения могут способствовать малигнизации пораженных клеток и инициации опухолевого процесса. В процессе терапии дигидрокверцетином интенсивность ЭПР-сигнала спин-меченных пероксид-радикалов (LOO^-) уменьшилась в 3,8 раза, спин-меченного NO — в 2,4 раза, а супероксид-радикалы (O_2^-) практически перестали регистрироваться.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная неоплазия, оксидативный статус, слизистая шейки матки, биофлавоноиды, дигидрокверцетин, Фламена.

Для цитирования: Боровиков И.О., Герасименко Е.Э., Горринг Х.И. Коррекция нарушений цитобиохимических процессов в слизистой шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии. РМЖ. Мать и дитя. 2018;1(2):108–111.

Correction of cyto-biochemical process disorders of cervical mucosa with cervical intraepithelial neoplasia

I.O. Borovikov, E.E. Gerasimenko, H.I. Gorring

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

ABSTRACT

The article describes the experience of using a topical form of bioflavonoid dihydroquercetin (Flamena®) in the correction of pro-/antioxidant local disorders of cervical mucosa with a mild cervical intraepithelial neoplasia (CIN I).

Aim: to evaluate the possibility of correcting disorders of oxidative processes in the cervical mucosa with cervical intraepithelial neoplasia using topical application of the drug dihydroquercetin (Flamena®).

Patients and Methods: an electron paramagnetic resonance (EPR) method was used to study changes in the paramagnetic centers of the cervical mucosa in 64 women with mild cervical intraepithelial neoplasia (30 women — the control group). Free nitrogen oxide (NO), reactive forms of oxygen (superoxide radicals, O_2^-) and lipids (peroxide radicals, LOO^-) were studied. The EPR spectra were recorded on an RE-1307 radio spectrometer (Russia). Cytochemistry of macrophages of the cervical mucosa (myeloperoxidase, acid phosphatase and nonspecific esterase) was studied in order to determine their activation under the conditions of the pathological process.

Results: It was found that in the case of mild HPV-associated cervical neoplasia (CIN I), the intensity of the EPR signal of peroxide radicals (LOO^-) increases by 278.9% ($p < 0.05$), and signals of superoxide radicals (O_2^-) are also recorded that are not detected in the group, an enhancement in the intensity of the EPR signal of NO increases by 233.3% compared with the control.

Conclusion: thus, it has been proven that in the case of HPV infection in cervical tissue, there is an intensification of the formation of reactive forms of nitrogen and oxygen in epithelial cells, with changes in molecular, subcellular and cellular structures, which plays a significant role in the pathogenesis of the disease. These disorders can contribute to the malignancy of the affected cells and the initiation of the tumor process. During therapy with dihydroquercetin, the intensity of the EPR signal of spin-labeled peroxide radicals (LOO^-) decreased 3.8 times, spin-labeled NO — 2.4 times, and superoxide radicals (O_2^-) practically stopped to be recorded.

Key words: cervical intraepithelial neoplasia, oxidative status, cervical mucosa, bioflavonoids, dihydroquercetin, Flamena.

For citation: Borovikov I.O., Gerasimenko E.E., Gorring H.I. Correction of cyto-biochemical process disorders of cervical mucosa with cervical intraepithelial neoplasia. Russian Journal of Woman and Child Health. 2018;1(2):108–111.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из самых распространенных и контагиозных заболеваний, передающихся половым путем, является папилломавирусная инфекция (ПВИ). Актуальность проблемы диагностики, патогенеза и совершенствования терапии данного заболевания обусловлена, во-первых, крайне высокой частотой распространения инфекции: число инфицированных в мире за последнее десятилетие увеличилось более чем в 10 раз [1–3]. Во-вторых, ПВИ сложна для диагностики и лечения: более 15% женщин, не имеющих симптомов ПВИ, являются ее носительницами и источниками передачи [4], и хотя существует много методов лечения ПВИ, частота рецидивов инфекции остается высокой, ни один из методов не является полностью эффективным [2, 5]. Возникает необходимость длительного последующего наблюдения за больными, т. к. не исключена опасность развития рецидивов и малигнизации [6, 7]. В-третьих, вирус папилломы человека (ВПЧ) рассматривается как этиологический фактор развития рака шейки матки [7, 8]. Поэтому изучение факторов патогенеза ВПЧ-поражения шейки матки представляет особую актуальность.

В патогенезе каждого паранеопластического процесса значительную роль играют молекулярные и субклеточные механизмы: нарушение транспорта электронов, усиление образования генераторов свободных форм кислорода и пероксид-радикалов, понижение антиоксидантной активности крови [6–8]. За счет воздействий свободных радикалов происходит повреждение клеточных структур, что приводит к патологическим изменениям в тканях с возможным запуском неопластических процессов [9, 10].

Дигидрохверцетин входит в группу биофлавоноидов — водорастворимых веществ растительного происхождения. Биофлавоноиды содержатся в листьях, цветах и плодах многих растений [9–14]. В большом количестве дигидрохверцетин содержится в корневой части лиственницы сибирской и даурской [10, 11]. Этот биофлавоноид относится к группе витамина Р. В связи с исключительными антиоксидантными свойствами дигидрохверцетин через защиту ДНК от продуктов метаболизма активизирует иммунную систему человека, мобилизуя защитные силы организма, замедляет процессы старения, предотвращает развитие различных патологий [9–13]. Дигидрохверцетин обладает антиоксидантной, капилляропротекторной, противовоспалительной, гепатопротекторной, репродуктивной активностью. Под его воздействием свободные радикалы могут восстанавливаться в стабильную молекулярную форму, не способную участвовать в цепи аутоокисления [10, 12–14].

В настоящее время в российской фармакологии появился новый уникальный антиоксидантно-фосфолипидный комплекс с липосомальной формой дигидрохверцетина, содержащий лишь природные компоненты: дигидрохверцетин (0,4%), лецитин (3%), глицин (5%) и антисептик растительного происхождения (0,01%) — **Фламена**[®] гель вагинальный («Фламена», Россия) (ТУ9393-002-78083079-2008; регистрационное удостоверение № ФСР2010/06687; сертификат соответствия № РОСС RU.ИМ26.В00369). Данный лекарственный комплекс способен купировать локальные воспалительные процессы, стимулировать регенерационные процессы, способствует восстановлению клеточных мембран, нормализации клеточного метаболизма и регуляции свободнорадикальных процессов. Все вышеперечисленное делает логичным применение данного препарата в комплексном лечении фоновых заболеваний шейки матки.

Цель исследования: оценка возможности коррекции нарушений окислительных процессов в слизистой шейки матки при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях с помощью локального применения препарата дигидрохверцетина (Фламена[®]).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 64 пациентки, находившиеся на лечении в базовой акушерско-гинекологической клинике КубГМУ, женских консультациях № 4 и № 5 г. Краснодара, Краевым перинатальным центром ГБУЗ ДККБ, у которых выявлена легкая степень цервикального интраэпителиального поражения (CIN I). Также в обследование были включены 30 условно здоровых женщин, проходивших плановый медосмотр (группа цитобиохимического контроля). Диагноз CIN I устанавливался на основании клинко-микробиологического и цитологического обследования (жидкостная цитология — Pap-smear test). Диагностику инфицированности различными типами ВПЧ проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Оценка окислительных процессов в слизистой шейки матки: определение NO, реактивных форм кислорода (супероксид-радикалы, O²⁻) и липидов (пероксид-радикалы, LOO⁻). В основе метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) лежит феномен поглощения микроволнового излучения сверхвысоких частот частицами, обладающими некомпенсированным магнитным моментом. Образцы цервикального смыва помещали в полиэтиленовые трубочки диаметром 0,5 см и длиной 1–1,5 см и замораживали при температуре жидкого азота (-196 °С). ЭПР-спектры регистрировались на радиоспектрометре «РЭ-1307» (Россия), снабженном компьютерной программой накопления сигналов. Определение свободного NO в образцах цервикального смыва — спин-метка диэтилдитиокарбамат натрия (DETC) (SIGMA) 1,75 мг/мл жидкости, O²⁻ — спин-ловушка 5,5-диметил-1-пирилин-N-оксид (DETC) (SIGMA) 5 мг/мл, LOO⁻ — спин-ловушка α-фенил-tert-бутилнитрон (PBN) (SIGMA) 50 мг/мл жидкости.

Цитохимия макрофагов слизистой шейки матки изучалась с целью определения их активации в условиях патологического процесса: кислую фосфатазу (КФ) определяли по Burstone в модификации Zeza, миелопероксидазу (МПО) — по Gracham и Karnovsky, неспецифическую эстеразу (НЭ) — по Burus и Nayhoe. Регистрацию активности ферментов макрофагов проводили по среднему цитохимическому показателю (СЦП).

Всем пациенткам, которым на основании клинко-микробиологического исследования был поставлен диагноз CIN I, проведена топическая терапия препаратом дигидрохверцетина — Фламена[®] в виде вагинального геля (вагинальный комплект — покрытие раневое гелевое), который применялся 1 р./сут в течение 10 дней.

Исследование про-/антиоксидантной системы и цитохимии макрофагов проводили через 10 и 30 дней после окончания терапии дигидрохверцетином.

Статистическую обработку данных проводили в соответствии с методами, принятыми в вариационной статистике, с использованием свободного программного обеспечения — системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008), достоверным считали различие при p<0,05. Для оценки корреляционных взаимосвязей отдельных изучаемых параметров использовали коэффициент Пирсона (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования выявлено, что при CIN I интенсивность ЭПР-сигнала пероксид-радикалов (LOO^-) увеличивается в 2,8 раза, регистрируются сигналы супероксид-радикалов (O^{2-}), которые в контрольной группе не выявляются, также возрастает в 2,3 раза по сравнению с контролем интенсивность ЭПР-сигнала NO (рис. 1).

Анализ окислительных процессов в шейке матки при CIN I в процессе терапии (через 10 дней после окончания лечения дигидрохверцетином) выявил, что интенсивность ЭПР-сигнала LOO^- снизилась в 3,8 раза ($p < 0,005$), NO — в 2,4 раза, а O^{2-} практически перестали регистрироваться (табл. 1). Через 1 мес. после окончания терапии не было выявлено существенной динамики по данным параметрам, кроме еще более существенного снижения активности пероксид-радикалов (в 4,2 раза от исходного уровня), т. е. практически до границы нивелирования.

В настоящее время доказано, что МПО в присутствии перекиси водорода и окисляемого кофактора действует против различных микроорганизмов и участвует в их детоксикации [12, 13], при этом образуя в фагоцитах сильную бактерицидную систему. По количеству пероксидазоположительных макрофагов и по содержанию в них активного фермента можно судить о потенциальной защитной активности слизи, в т. ч. и при воспалении урогенитальной системы, вызванном ВПЧ-инфицированием.

Активность МПО у больных CIN была более чем на треть ($p < 0,05$) ниже таковой, определенной у группы цитобиохимического контроля (табл. 2; рис. 2), при этом активность КФ, отображающая функциональную активность макрофагов, практически не отличалась от соответствующего параметра контроля, тогда как активность НЭ, отражающая субактивационные свойства макрофагов, находилась на достоверно более низком уровне ($p < 0,05$). В процессе лечения дигидрохверцетином (на 10-е сут после окончания терапии)

выявлено достоверное повышение активности МПО на 61% ($p < 0,01$), КФ — на 62% ($p < 0,001$) и НЭ — в 4,2 раза ($p < 0,001$) (рис. 3). Через 30 дней от момента окончания лечения активность МПО практически не изменилась и, несмотря на некоторое превышение, достоверно не отличалась от значений контроля. Активность КФ и, в особенности, НЭ также снижалась, приближаясь к значениям группы контроля.

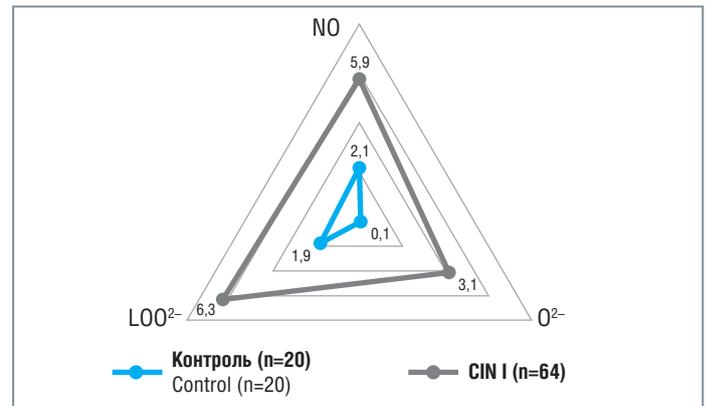


Рис. 1. Состояние окислительной системы слизистой шейки матки

Fig. 1. Condition of the oxidative system of the cervical mucosa

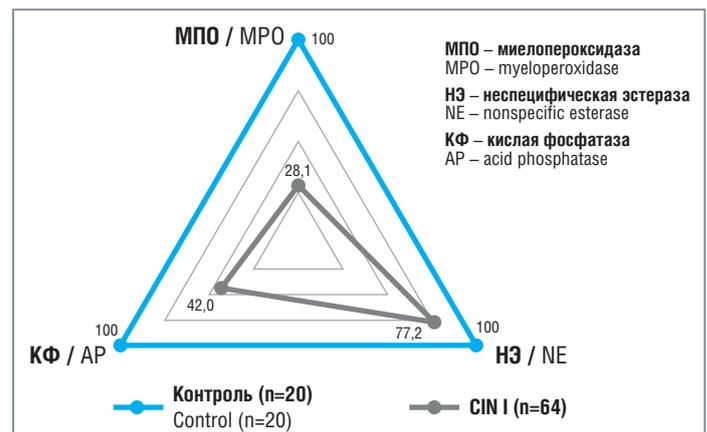


Рис. 2. Активность ферментов макрофагов цервикальной зоны (% от контроля)

Fig. 2. Enzyme activity of macrophages of the cervical zone (% of control)

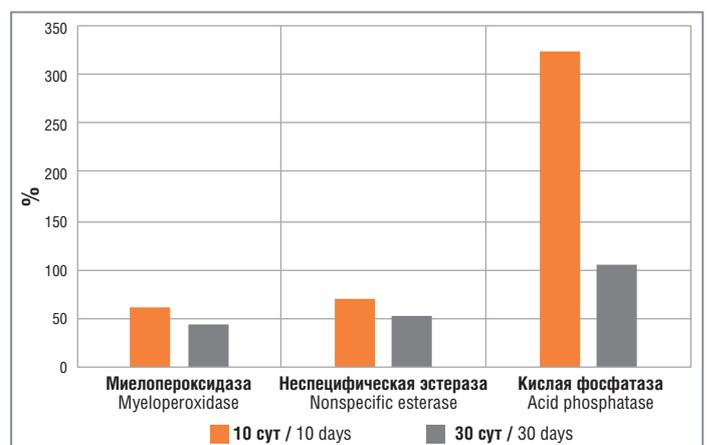


Рис. 3. Ферменты макрофагов цервикальной зоны в процессе лечения

Fig. 3. Macrophage enzymes in the cervical zone during treatment

Таблица 1. Состояние окислительной системы слизистой шейки матки в процессе терапии

Table 1. Condition of the oxidative system of the cervical mucosa during treatment

Радикалы, нМ/г·ч Radicals, nM/g·h	NO	O^{2-}	LOO^-
Контроль / Control	2,1±0,19	0±0,02	1,9±0,14
До терапии / Before treatment	5,9±1,18	3,1±0,27	6,3±1,62
10 дней / 10 days	2,5±0,21	0,1±0,03	1,8±0,16
30 дней / 30 days	2,8±0,38	0,1±0,04	1,1±0,12

Таблица 2. Активность ферментов (СЦП) макрофагов цервикальной зоны

Table 2. Enzyme activity (ACI) of macrophages of the cervical zone

Ферменты макрофагов цервикальной слизи Macrophages enzymes of the cervical zone	Миелопероксидаза Myeloperoxidase	Кислая фосфатаза Acid phosphatase	Неспецифическая эстераза Nonspecific esterase
Контроль (n=30) Control (n=30)	161,1±11,4	131,4±6,1	89,3±5,9
CIN I (n=64)	45,3±3,7	101,4±6,2	37,5±3,1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исходя из анализа результатов исследований, можно заключить, что в случае ВПЧ-инфицирования в ткани шейки матки происходит активация оксидативных систем с образованием реактивных форм азота и кислорода, которые становятся причиной изменений молекулярных, субклеточных и клеточных структур и играют значительную роль в патогенезе заболевания и утяжелении степени поражения. Эти нарушения могут способствовать малигнизации пораженных клеток и инициации опухолевого процесса. Применение препарата, содержащего биофлавоноид дигидрохверцетин (Фламена®), способствует нормализации оксидативных процессов в слизистой шейки матки, что в дальнейшем может способствовать нивелированию неопластических процессов в ней и выздоровлению. Кроме того, нормализуя активность ферментной системы макрофагов цервикальной зоны, дигидрохверцетин способствует повышению локального иммунитета с возможностью элиминации клеток, пораженных ВПЧ.

Литература/References

1. Аполихина И.А. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008:32. [Apolihina I.A. Virus genital infection in women. M.: GEOTAR-Media. 2008;32 (in Russ.).]
2. Башмакова М.А., Савичева А.М. Папилломавирусная инфекция. М.: Медицинская книга; Н. Новгород: из-во НГМА, 2012:21. [Bashmakova M.A., Savicheva A.M. Papillomavirus infection. M.: Medical book; Nizhny Novgorod: NGMA. 2012:21 (in Russ.).]
3. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: (руководство практикующего врача). М.: ГЭОТАР-Медиа. 2015:144. [Rogovskaya S.I. Papillomavirus infection in women and pathology of the cervix: (The guidance of a practicing physician). M.: GEOTAR-Media. 2015:144 (in Russ.).]
4. Васильев М.М., Богатырева И.И., Котова Л.К. Современные аспекты папилломавирусной инфекции уrogenитального тракта. М., 2014:124. [Vasiliev M.M., Bogatyryeva I.I., Kotov L.K. Modern aspects of papillomavirus infection of the urogenital tract. M., 2014:124 (in Russ.).]
5. Молочков В.А., Киселев В.И., Рудых И.В., Щербо С.Н. Папилломавирусная инфекция — клиника, диагностика, лечение: пособие для врачей. М., 2008:32. [Molochkov V.A., Kiselev V.I., Rudykh I.V., Scherbo S.N. Virus Infection-clinic, diagnosis, treatment: Manual for Doctors. M., 2008:32 (in Russ.).]
6. Gross G., Jablonska S., Pfister H. Genital Papillomavirus Infections Modern Diagnosis and Treatment. — Springer-Verlag, 2013:449.
7. Snijders P., van den Brule A., Meijer C. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. J. Pathology. 2013;201:1–6.
8. Патология шейки матки и генитальные инфекции. Под ред. проф. В.Н. Прилепской. М.: МЕДпресс-информ, 2012: 383. [Cervical pathology and genital infections / ed. prof. V.N. Prilepskaya. M.: MEDpress-inform. 2012:383 (in Russ.).]
9. Алиев О.И., Маслов М.Ю. Антирадикальная активность экдистерон- и флавоноидсодержащих растительных экстрактов. Проблемы экспериментальной и клинической медицины. 2006;1:45–47.

- [Aliyev O.I., Maslov M.Yu. Antiradical activity ekdisteron- and flavonoids herbal extracts. Problems of experimental and clinical medicine. 2006;1:45–47 (in Russ.).]
10. Achike F., Kwan C. Nitric oxide, human diseases and the herbal products that affect the nitric oxide signalling pathway. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2013;30:605–615.
 11. Макарова М.Н., Макаров В.Г. Молекулярная биология флавоноидов (химия, биохимия, фармакология). Руководство для врачей. СПб.: Санкт-Петербургский институт фармации, 2010:428. [Makarov M.N., Makarov V.G. Molecular Biology of flavonoids (chemistry, biochemistry, pharmacology). A guide for doctors. SPb.: St. Petersburg Institute of Pharmacy, 2010:428 (in Russ.).]
 12. Эммануэль Н.М., Захарова Н.А., Тюкавкина Н.А. Антирадикальная эффективность некоторых природных фенольных соединений. Ж. общей химии. 2012;6:1414–1420. [Emmanuel N.M., Zakharova N.A., Tjukavkina N.A. Antiradical effectiveness of some natural phenolic compounds. J. General Chemistry. 2012; 6:1414–1420 (in Russ.).]
 13. Теселкин Ю.О., Жамбалова Б.А., Бабенкова И.В. и др. Антиоксидантные свойства дигидрохверцетина. Биофизика. 2006;3(41):620–624. [Teselkin Yu.O., Zhambalova B.A., Babenkova I.V. et al. Antioxidant properties Dihydroquercetin. Biophysics. 2006;3(41):620–624 (in Russ.).]
 14. Колхир В.К., Тюкавкина Н.А., Быков В.А. и др. Диквертин — новое антиоксидантное и капиллярпротекторное средство. Хим-фарм. журнал. 2015;9:61–64. [Kolhir V.K., Tjukavkina N.A., Bykov V.A. et al. Dikvertin is a new antioxidant and capillary protective agent. Chem-Pharm. Mag. 2015;9:61–64 (in Russ.).]

Сведения об авторах: Боровиков Игорь Олегович — д.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии; Герасименко Евгения Эдуардовна — клинический ординатор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии; Горринг Хава Израйловна — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии. ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. 350063, Россия, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4. **Контактная информация:** Боровиков Игорь Олегович, e-mail: bio2302@mail.ru. **Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах и методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 16.10.2018.

About the authors: Igor O. Borovikov — MD, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology; Evgeniya E. Gerasimenko — clinical resident of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology; Gorrin I. Hava — graduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology. Kuban State Medical University. 4, Sedina 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. **Received 16.10.2018.**

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЖЕНСКОГО ЗДОРОВЬЯ

ФЛАМЕНА®

ИНТРАВАГИНАЛЬНЫЙ ГЕЛЬ

- Липосомальный комплекс «ФЛАМЕНА» — препарат вашего выбора для профилактики, моно- и комплексного лечения гинекологических заболеваний, а также применения в хирургии, пластической хирургии и репродуктологии.
- Высокая эффективность в сокращении сроков заживления ран и купировании воспалительных процессов подтверждена в ходе доклинического и клинического применения.

«ФЛАМЕНА» ЗНАЧИТЕЛЬНО ИЗМЕНИТ ВАШ ПОДХОД К РЕШЕНИЮ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ В АКУШЕРСТВЕ И ГИНЕКОЛОГИИ!

Производитель: Научная компания «Фламена», www.flamena-a.ru, e-mail: info@flamena-a.ru, Instagram: flamena_a, тел.: +7(918)083-12-88

