

# ФАРМАКОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ НОВОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ЭПИГАЛЛОКАТЕХИН–3-ГАЛЛАТ, НА МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ-ОНКОСУПРЕССОРОВ У ПАЦИЕНТОК С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИЕЙ

**И.С. Сидорова, А.Л. Унаниян**

ФГОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»  
*ул. Трубецкая, 8-2, Москва, Россия, 119991*

**В.М. Друх**

ФГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»  
*ул. Миклухо-Макля, 6, Москва, Россия, 117198*

**Е.Л. Муйжнек**

ЗАО «МираксБиоФарма»  
*Кутузовский пр-кт, 12-2, Москва, Россия, 121248*

Целью исследования была разработка патогенетически обоснованного направления терапии и профилактики патологических процессов шейки матки с учетом выявления метилирования генов-супрессоров опухолевого роста и формирования групп повышенного онкологического риска у больных с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки в репродуктивном возрасте. Была оценена патогенетическая эффективность комплексной терапии шейки матки у 127 пациенток репродуктивного возраста с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки до и после комбинированного лечения с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества эпигаллокатехин–3-галлат (EGCG). Показано, что применение фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, способствует деметилированию генов-супрессоров опухолевого роста, что характеризует его в качестве эффективного онкопротектора при предраковых процессах шейки матки. Спустя год после комплексной и комбинированной терапии (в том числе хирургического лечения при наличии показаний к операции) с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, ни в одном случае не наблюдалось рецидивирования патологического процесса шейки матки у больных с доброкачественными процессами, CIN I и CIN II.

**Ключевые слова:** CIN, профилактика рака, метилирование генов, EGCG.

Рак шейки матки (РШМ) составляет 16% от общего числа злокачественных опухолей репродуктивных органов женщин и занимает третье место. В Российской

Федерации заболеваемость РШМ на 2008 г. составляет 110,2 на 100 000 женщин. Отмечается рост заболеваемости среди молодых женщин до 40 лет. В 2008 г. в России зарегистрировано 13 375 новых случаев РШМ, а летальность больных составила 19,4% [4].

В развитии опухолевых процессов важную роль играют эпигенетические нарушения экспрессии генов. В результате аномального метилирования подавляется образование белковых продуктов, необходимых для нормального клеточного цикла, дифференцировки и апоптоза [1—3].

К настоящему времени идентифицировано много генов, эпигенетические повреждения которых являются основным механизмом их инактивации при развитии опухоли [1], в частности, гены-супрессоры опухолевого роста *HIC1*, *MLH1*, *RASSF1*, *MGMT*, *N33*, *CDH1*.

Согласно многочисленным литературным данным, субстанция эпигаллокатехин-3-галлат EGCG является эффективным ингибитором ключевого фермента ДНК-метилирования — ДНК-метилтрансферазы. Это приводит к блокировке гиперметилирования вновь синтезированных ДНК-цепей, в результате чего происходит ре-экспрессия «молчащих» генов-супрессоров опухоли [5; 6].

Целью исследования являлась разработка патогенетически обоснованного направления терапии и профилактики патологических процессов шейки матки с учетом выявления метилирования генов-супрессоров опухолевого роста и формирования групп повышенного онкологического риска у больных с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки в репродуктивном возрасте.

**Материалы и методы исследования.** Настоящее исследование проводилось на базе кафедры акушерства и гинекологии № 1 ГОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ГКБ № 40 г. Москвы и ОАО «Лечебный центр» (г. Москва), и включало в себя проспективный и ретроспективный анализ 127 пациенток репродуктивного возраста с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки.

Критерии включения — репродуктивный возраст, морфологически верифицированные случаи доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки. Возраст обследованных женщин колебался в пределах 20—44 лет и в среднем составил  $31,4 \pm 1,57$  лет.

Все женщины распределены на четыре группы в зависимости от морфологической верификации патологического процесса шейки матки (табл. 1).

Таблица 1

Распределение женщин по группам обследования

| Группы                     | Количество обследованных |
|----------------------------|--------------------------|
| Доброкачественные процессы | 42                       |
| CIN I                      | 33                       |
| CIN II                     | 27                       |
| CIN III                    | 25                       |

Всем пациенткам проводились: общее клиническое исследование; бактериоскопическое и бактериологическое исследование мазков; обследование на инфек-

ции передающиеся половым путем (ИППП) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); определение вирусной нагрузки методом Hybrid Capture II (Digene-тест); цитологическое исследование; расширенная кольпоскопия; морфологическое и генетическое исследования биопсийного материала; УЗИ с доплерометрией.

Новая фармацевтическая композиция (производства ЗАО «МираксБиоФарма»), содержащая в качестве действующего вещества эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), назначалась пациенткам 1, 2 и 3 групп в дозировке 180 мг/сут (в пересчете на EGCG) в течение 6 месяцев. Частота метилирования генов-онкосупрессоров определялась до лечения и через 6 месяцев после его окончания (то есть через 1 год после начала терапии).

**Результаты и обсуждение.** Основным критерием в определении уровня радикальности вмешательства являлась степень тяжести заболевания и вероятность развития CIN III (табл. 2).

Таблица 2

**Степень риска развития CINIII**

| Степень риска | Первая группа<br>(n = 42) | Вторая группа<br>(n = 33) | Третья группа<br>(n = 27) | Всего<br>(n = 102) |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|
| Низкая        | 28<br>66,7%               | 16<br>48,5%               | —                         | 44<br>43,1%        |
| Умеренная     | 13<br>30,9%               | 12<br>36,4%               | 8<br>29,6%                | 33<br>32,4%        |
| Высокая       | 1<br>2,4%                 | 5<br>15,2%                | 19<br>70,4%               | 25<br>24,5%        |

Пациенткам первой, второй и третьей группы лечение проводилось в амбулаторных условиях и в гинекологическом отделении стационара. Пациентки четвертой группы были направлены на лечение к онкогинекологу (табл. 3).

Таблица 3

**Методы хирургического лечения**

| Методы хирургического лечения | Первая группа<br>(n = 42) | Вторая группа<br>(n = 33) | Третья группа<br>(n = 27) | Четвертая группа<br>(n = 25)* | Всего больных<br>(n = 127) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| Радиоволновая деструкция      | 18<br>42,9%               | 16<br>48,5%               | —                         | —                             | 34<br>26,8%                |
| Радиоволновая эксцизия        | 1<br>2,4%                 | 12<br>37,5%               | 17<br>63%                 | 8<br>32%                      | 38<br>29,9%                |
| Радиоволновая конизация       | —                         | —                         | 10<br>37,0%               | 17<br>68%                     | 27<br>21,3%                |
| Лазеровапоризация             | 8<br>19,0%                | —                         | —                         | —                             | 8<br>6,3%                  |
| Всего                         | 27<br>64,3%               | 28<br>84,8%               | 27<br>100%                | 25<br>100%                    | 107<br>84,2%               |

\* пациентки были направлены к онкогинекологу.

После деструктивных методов лечения осмотр шейки матки и кольпоскопию проводили через 6 недель, затем наблюдение осуществляли 1 раз в 3 месяца с проведением осмотра, кольпоскопии, цитологического исследования и ВПЧ-контроля в течение первого года.

При обследовании пациенток через 3 месяца после хирургического лечения отмечалась нормализация кольпоскопических картин, цитологических мазков. Кроме того, выявлено значительное снижение положительных результатов Digene-теста, что соответствует литературным данным [7].

Все пациентки первой, второй и третьей групп в процессе комплексной терапии, после деструктивных (при наличии показаний к операции) методов лечения принимали фармакологическую композицию, содержащую в качестве действующего вещества EGCG.

В процессе исследования была оценена патогенетическая эффективность комплексной терапии шейки матки у больных в изучаемых группах до и после комбинированного лечения с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG. Выявлена частота метилирования генов-супрессоров опухолевого роста после комбинированной и комплексной терапии с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, у больных изучаемых группы (после контрольной прицельной микробиопсии через 1 год после лечения) (табл. 4—6).

Таблица 4

**Частота метилирования генов-супрессоров опухолевого роста после комплексной терапии с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, у больных первой группы (после контрольной прицельной микробиопсии через 1 год после лечения)**

| Ген-супрессор  | Первая группа до лечения<br><i>n</i> = 42 | Первая группа после лечения<br><i>n</i> = 42 |
|----------------|---|--|
| <i>MLH1</i>    | 1<br>2,4%                                 | —*   |
| <i>HIC1</i>    | 3<br>7,1%                                 | 1*<br>2,4%                                   |
| <i>RASSF1A</i> | 2<br>4,8%                                 | —*   |
| <i>MGMT</i>    | 1<br>2,4%                                 | —*   |
| <i>N 33</i>    | —   | —*   |
| <i>CDH1</i>    | —   | —*   |

Примечание: \* — различие значимо по сравнению с первой группой ( $p < 0,05$ ).

Таблица 5

**Частота метилирования генов-супрессоров опухолевого роста после комплексной терапии с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, у больных второй группы (после контрольной прицельной микробиопсии через 1 год после лечения)**

| Ген-супрессор  | Вторая группа до лечения<br><i>n</i> = 33 | Вторая группа после лечения<br><i>n</i> = 33 |
|----------------|---|--|
| <i>MLH1</i>    | 3<br>9,1%                                 | —*   |
| <i>HIC1</i>    | 6<br>18,2%                                | 1*<br>3,0%                                   |
| <i>RASSF1A</i> | 11<br>33,3%                               | 1*<br>3,0%                                   |
| <i>MGMT</i>    | 1<br>3,0%                                 | —*   |
| <i>N 33</i>    | —   | —*   |
| <i>CDH1</i>    | —   | —*   |

Примечание: \* — различие значимо по сравнению с первой группой ( $p < 0,05$ ).

**Частота метилирования генов-супрессоров опухолевого роста после комплексной терапии с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, у больных третьей группы (после контрольной прицельной микробиопсии через 1 год после лечения)**

| Ген-супрессор  | Третья группа до лечения<br><i>n</i> = 27 | Третья группа после лечения<br><i>n</i> = 27 |
|----------------|---|--|
| <i>MLH1</i>    | 9<br>33,3%                                | 2*<br>6,1%                                   |
| <i>HIC1</i>    | 16<br>59,3%                               | 2*<br>6,1%                                   |
| <i>RASSF1A</i> | 12<br>44,4%                               | 2*<br>6,1%                                   |
| <i>MGMT</i>    | 2<br>6,1%                                 | —*   |
| <i>N 33</i>    | 4<br>14,8%                                | —*   |
| <i>CDH1</i>    | —   | —*   |

Примечание: \* — различие значимо по сравнению с первой группой ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты оценки частоты метилирования свидетельствуют о статистически значимом снижении частоты метилирования генов-супрессоров опухолевого роста на фоне комплексной терапии с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, у больных с патологическими процессами шейки матки, что обосновывает применение данного препарата с целью снижения риска онкологической трансформации у всех больных с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки.

Спустя год после комплексной и комбинированной терапии (в том числе хирургического лечения при наличии показаний к операции) с применением фармакологической композиции, содержащей в качестве действующего вещества EGCG, ни в одном случае не наблюдалось рецидивирования патологического процесса шейки матки у больных первых трех групп, что подтверждает высокую клиническую эффективность предложенной тактики терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Аганезова Н.В. Влияние внутривлагалищной гормональной контрацепции на биоценоз влагалища и слизистую оболочку шейки матки // Патология шейки матки и генитальные инфекции / Под ред. проф. В.Н. Прилепской. М.: МЕДпресс-информ, 2008. С. 136—141.
- [2] Аполихина И.А., Е.Д. Денисова, Г.Н. Ворожцов и др. Лечебные и профилактические аспекты папилломавирусной инфекции гениталий // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. 2009. № 1. С. 26—30.
- [3] Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии. М.: Гэотар-мед, 2004. С. 287.
- [4] Залетаев Д.В., Немцова М.В., Бочков Н.П. Метилирование ДНК как этиологический фактор канцерогенеза // Вестник РАМН. 2002. № 4. С. 6—11.
- [5] Fang M., Chen D., Yang C.S. Dietary polyphenols may affect DNA methylation // J Nutr. 2007. Vol. 137. 1 Suppl. P. 223S—228S.
- [6] Li Y., Tollefsbol T.O. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components // Curr Med Chem. 2010. Vol. 17. № 20. P. 2141—51.
- [7] Montz F.J. Impact of therapy for cervical intraepithelial neoplasia on fertility // Am. J. Obstet Gyn. 2004. Vol. 175. № 2. P. 1129—1136.

## REFERENCES

- [1] *Aganezova N.V.* Effect of intravaginal hormonal contraception on vaginal biocenosis and the mucous membrane of the cervix // *Pathology of the cervix and genital infections* / Ed. prof. V.N. Prilepskaya. M.: MEDpress Inform, 2008. P. 136—141.
- [2] *Apolikhina I.A., Denisova E.D., Vorozhtsov G.N. et al.* Medical and preventive aspects of genital human papillomavirus infection // *Effective pharmacotherapy in obstetrics and gynecology*. 2009. № 1. P. 26—30.
- [3] *Bauer G.* Color Atlas of colposcopy. M.: GEOTAR med, 2004. P. 287.
- [4] *Zaletaev D.V., Nemtsova M.V., Bochkov N.P.* DNA methylation as an etiological factor in carcinogenesis // *Journal of Medical Sciences*. 2002. № 4. P. 6—11.
- [5] *Fang M., Chen D., Yang C.S.* Dietary polyphenols may affect DNA methylation // *J Nutr*. 2007. Vol. 137. 1 Suppl. P. 223S—228S.
- [6] *Li Y., Tollefsbol T.O.* Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components // *Curr Med Chem*. 2010. Vol. 17. № 20. P. 2141—51.
- [7] *Montz F.J.* Impact of therapy for cervical intraepithelial neoplasia on fertility // *Am. J. Obstet Gyn.* 2004. Vol. 175. № 2. P. 1129—1136.

## **IMPACT OF NEW PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG) ON METHYLATION OF THE TUMOR SUPPRESSOR GENES IN PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA**

**I.S. Sidorova, A.L. Unanyan**

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (1<sup>st</sup> MSMU)  
*Trubetskaya str., 8/2, Moscow, Russia, 119991*

**V.M. Drukh**

Peoples' Friendship University of Russia  
*Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russia, 117198*

**E.L. Muyzhnek**

ZAO «MiraxBioPharma»  
*Kutuzovskiy av., 12, Moscow, Russia, 121248*

Purpose: to develop preventive measures and reasonable therapy of pathological processes in the cervix uteri based on detection of methylation of tumor suppressor genes and groups at high-risk of cancer among patients of reproductive age with benign and premalignant cervical processes. Effectiveness of complex pathogenetic treatment of the cervix uteri has been evaluated in 127 women of reproductive age with benign and premalignant cervical processes before and after the combined treatment with a pharmaceutical composition containing active substance epigallocatechin-3-gallate (EGCG). Shown that pharmaceutical composition containing EGCG contributes demethylation of the tumor suppressor genes that confirm powerful oncoprotector action in treating precancerous lesions. One year after the complex combined therapy (including surgery) with pharmaceutical composition containing EGCG, recurrent cervical pathological processes have not been detected in patients with benign lesions, CIN I and CIN II.

**Key words:** CIN, cancer prevention, genes methylation, EGCG.