

Оценка механизмов антипролиферативной терапии цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени

А.Н. Ригер^{1,2} ✉, Б.И. Керимова³, И.Б. Антонова⁴, Т.А. Моцкобили⁴, Н.В. Мельникова⁴, А.Л. Майор^{5,6}, Н.В. Харченко¹, А.Д. Каприн²

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»; Россия, г. Москва

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, г. Москва

³ ГБУЗ МО «Красногорская больница»; Россия, г. Красногорск

⁴ ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России; Россия, г. Москва

⁵ Центр гинекологии «Фемина»; Швейцария, г. Женева

⁶ Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии; Республика Узбекистан, г. Ургенч

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценка изменений содержания цитокиновых факторов в отделяемом цервикального канала после проведенного противовирусного и иммуномодулирующего лечения у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Дизайн. Проспективное рандомизированное исследование.

Материалы и методы. В исследование были включены 15 пациенток в возрасте от 18 до 49 лет, инфицированных ВПЧ высокого канцерогенного риска (преимущественно 16-го и 18-го типов), с гистологически подтвержденной цервикальной интраэпителиальной неоплазией тяжелой степени. Пациентки в течение 3 месяцев получали 3 курса инозина пранобекс внутрь по 1000 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней с интервалом 10 дней и 3,3'-дииндолилметан интравагинально в виде суппозитория по 100 мг 2 раза в сутки на протяжении 3 месяцев. Всем участницам исследования до и после лечения методом полимеразной цепной реакции проводилось тестирование на ВПЧ и забор слизи из цервикального канала. Содержание цитокинов в отделяемом шейки матки определяли с использованием коммерческого набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ производства Bio-Rad Laboratories Inc. (США) на анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) согласно рекомендациям производителя. В виде отношения концентраций в цервикальной слизи интерлейкина (IL)-10 к IL-17A вычисляли иммунорегуляторный индекс IL-10/IL-17A. Был выполнен корреляционный анализ между значениями фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и IL-10/IL-17A. Статистическую обработку производили с использованием пакета программ Excel 365 и SPSS 20.0. Различия признавались статистически значимыми (нуль-гипотеза отвергалась) при $p < 0,05$.

Результаты. После проведенной терапии у пациенток было выявлено в той или иной степени выраженности снижение цитокинов: IL-17A и IL-1ra, гемокинов: IL-8, интерферон- γ индуцибельного протеина 10 (IP-10) и моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1), а также ростовых факторов: тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB), VEGF и гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (G-CSF). Статистически значимо уменьшилось ($p < 0,05$) содержание в цервикальной слизи IL-1ra, IL-8, IP-10 и VEGF. Тенденция к снижению после окончания лечения ($0,05 < p < 0,1$) обнаружена для IL-17A, G-CSF, MCP-1 и PDGF-BB, а показатель соотношения IL-10/IL-17A увеличился. У 10 (62%) пациенток с финальным отрицательным ВПЧ-тестом прослеживалось статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение содержания в слизи IL-17A, IL-1ra и VEGF. Тенденция к снижению ($0,05 < p < 0,1$) была установлена для G-CSF. У 5 (38%) ВПЧ-положительных пациенток в цервикальной слизи статистически значимо ($p < 0,05$) снизились концентрации IL-8 и VEGF. Выявлена тенденция к снижению ($0,05 < p < 0,1$) содержания MCP-1. При мало меняющихся показателях уровня IL-10 иммунорегуляторный индекс IL-10/IL-17A после лечения увеличился не только в общей группе, но и в выборках участниц как с отрицательными, так и с положительными тестами на наличие ВПЧ-инфекции. Кроме того, лечение привело к снижению VEGF и была выявлена положительная взаимосвязь ($r = 0,41$; $p < 0,05$) между изменениями концентраций VEGF и IL-17A.

Заключение. Комплексное применение инозина пранобекс внутрь с 3,3'-дииндолилметаном местно оказывает иммуномодулирующий, противовоспалительный, противовирусный и, возможно, антиангиогенный и антипролиферативный эффекты. Определение в цервикальной слизи содержания VEGF, IL-10 и IL-17A с последующим вычислением иммунорегуляторного индекса IL-10/IL-17A может быть полезным для прогноза и оценки эффективности лечения ВПЧ-индуцированной дисплазии слизистых шейки матки.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная дисплазия, цитокиновый профиль, слизь цервикального канала, иммуномодулирующая терапия.

Для цитирования: Ригер А.Н., Керимова Б.И., Антонова И.Б., Моцкобили Т.А., Мельникова Н.В., Майор А.Л., Харченко Н.В., Каприн А.Д. Оценка механизмов антипролиферативной терапии цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени.

Доктор.Ру. 2025;24(5):42–49. DOI: 10.31550/1727-2378-2025-24-5-42-49

Assessment of the Mechanisms of Antiproliferative Therapy for Severe Cervical Intraepithelial Neoplasia

A.N. Riger^{1,2} ✉, B.I. Kerimova³, I.B. Antonova⁴, T.A. Motskobili⁴, N.V. Melnikova⁴, A.L. Major^{5,6}, N.V. Kharchenko¹, A.D. Kaprin²

¹ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; Moscow, Russian Federation

² National Medical Research Radiological Centre; Moscow, Russian Federation

³ Krasnogorsk Hospital; Krasnogorsk, Russian Federation

⁴ Russian Scientific Center of Roentgenology and Radiology; Moscow, Russian Federation

⁵ Femina Gynecology Center; Geneva, Switzerland

⁶ Urgench Branch of the Tashkent Medical Academy; Urgench, Uzbekistan Republic

✉ Ригер Александра Николаевна / Riger, A.N. — E-mail: aleksriger96@mail.ru

ABSTRACT

Aim. The aim of the present study was to evaluate the changes in cytokine factors in cervical secretions after antiviral and immunomodulatory treatment in patients infected with the human papillomavirus (HPV).

Design. Prospective randomized study.

Materials and methods. Fifteen female patients aged 18 to 49 years, infected with HPV of high carcinogenic risk (mainly types 16 and 18), with histologically confirmed severe cervical intraepithelial neoplasia were included in the study. Patients received inosin pranobex orally 1000 mg 3 times a day for 10 days at 10-day intervals for 3 courses and 3,3'-diindolylmethane intravaginally as suppositories 100 mg 2 times a day for 3 months. For all study participants were used the polymerase chain reaction method (PCR) to test HPV and cervical mucus sampling before and after treatment. The content of cytokines in cervical mucus was determined using a commercial Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ kit manufactured by Bio-Rad Laboratories Inc. (USA) on a Luminex 200 analyzer (Luminex Corporation, USA) according to the manufacturer's recommendations. Ratio of concentrations in cervical mucus of interleukin (IL)-10/IL-17A was calculated as immunoregulatory index IL-10/IL-17A. Correlation analysis was performed between vascular endothelial growth factor (VEGF) and IL-10/IL-17A. Statistical processing was performed using Excel 365 and SPSS 20.0 software package. Differences were considered statistically significant (the null-hypothesis was rejected) at $p < 0.05$.

Results. After the therapy in the general group of patients, a decrease in cytokines IL-17A and IL-1ra, chemokines IL-8, interferon- γ inducible protein 10 (IP-10) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), as well as growth factors: platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB), VEGF and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (G-CSF). Statistically significant decreasing trend after the end of treatment ($0.05 < p < 0.1$) was found for IL-17A, G-CSF, MCP-1 and PDGF-BB, while the IL-10/IL-17A ratio increased. In a subgroup of 10 patients (62%) with a final negative HPV test, a statistically significant ($p < 0.05$) decrease in mucus IL-17A, IL-1ra and VEGF was observed. A decreasing trend ($0.05 < p < 0.1$) was found for G-CSF. In 5 (38%) HPV-positive patients statistically significantly ($p < 0.05$) decreased the concentrations of IL-8 and VEGF in cervical mucus. There was a tendency to decrease ($0.05 < p < 0.1$) the MCP-1 content. With little change in level of IL-10, the IL-10/IL-17A immunoregulatory index increased after treatment not only in the total group but also in samples of participants with both negative and positive tests for HPV infection. In addition, treatment led to a decrease in VEGF and a positive correlation ($r = 0.41$; $p < 0.05$) was found between changes in VEGF and IL-17A concentrations.

Conclusion. Complex administration of inosine pranobex orally with 3,3'-diindolylmethane topically have immunomodulatory, anti-inflammatory, antiviral and, possibly, antiangiogenic and antiproliferative effects. Determination of VEGF, IL-10 and IL-17A content in cervical mucus followed by calculation of the immunoregulatory index of IL-10/IL-17A could be useful for prognosis and evaluation of treatment efficacy of HPV-induced cervical mucosal dysplasia.

Keywords: cervical intraepithelial dysplasia, cytokine profile, cervical mucus, immunomodulatory therapy.

For citation: Riger A.N., Kerimova B.I., Antonova I.B., Motskobilo T.A., Melnikova N.V., Major A.L., Kharchenko N.V., Kaprin A.D. Assessment of the mechanisms of antiproliferative therapy for severe cervical intraepithelial neoplasia. Doctor.Ru. 2025;24(5):42–49. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2025-24-5-42-49

ВВЕДЕНИЕ

Впервые канцерогенность вирусов папилломы человека (ВПЧ) была установлена в отношении предрака и рака шейки матки. Канцерогенез шейки матки представляет собой многоступенчатый процесс, начинающийся с инфицирования ВПЧ эпителия шейки матки и занимающий от 2 до 10 лет [1]. Однако развитие рака происходит после персистентной или рецидивирующей ВПЧ-инфекции. Существует также множество доказательств в пользу гипотезы о том, что иммунологический статус хозяина и иммунные изменения, вызванные ВПЧ, ответственны за персистентную ВПЧ-инфекцию и последующее развитие цервикальной неоплазии (cervical intraepithelial neoplasia — CIN). Иммунная система уничтожает вирусы и распознает опухолевые антигены, связанные с цервикальным канцерогенезом. Полноценные клеточные и гуморальные иммунные реакции жизненно необходимы для очищения шейки матки от ВПЧ-инфекции [2].

Поскольку специфических препаратов против ВПЧ не существует, лечение направлено или на физическое устранение разрастаний, или на купирование воспаления и стимуляцию иммунного ответа. Низкая эффективность противовирусного лечения дисплазий обусловлена и тем, что после интеграции ВПЧ в геном меняется генетическая конфигурация эпителиальных клеток, а сам вирус больше не присутствует в традиционной форме. Криотерапия, химическая деструкция, электро- и лазероабляция демонстрируют хорошие результаты по удалению диспластических очагов. Тем не менее ввиду сохраняющейся персистирующей ВПЧ-инфекции рецидивы развиваются

у 20–50% больных. Более того, после операции возможно появление папилломатозных разрастаний на новом месте. При излишне агрессивном вмешательстве ВПЧ может ингибировать распознавание опухолевых клеток иммунной системой. В 50% случаев ВПЧ-индуцированный рак заканчивается летально.

Для снижения частоты рецидивов, помимо хирургических методов воздействия, широко применяют терапевтические подходы. Как уже было указано выше, препаратов, избирательно действующих на ВПЧ, не существует, поэтому цель терапии — уменьшить воспаление и повысить иммунный ответ. Иммуномодуляторы активируют натуральные киллеры и зрелые цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+). Пока вирус находится в эпиземальном состоянии, его элиминация достигается за счет активации любого звена иммунитета, как клеточного, так и гуморального. Этим объясняется один из механизмов самоизлечения [2–4].

В доступной литературе представлено достаточно информации о результатах лечения диспластических изменений слизистых цервикального канала разной степени, обусловленных персистенцией ВПЧ, противовирусным препаратом инозин пранобекс. Инозин пранобекс, известный как инозин ацедобен димепранол, изопринозин и метисопринол, оказывает положительное влияние на иммунную систему хозяина, усиливая пролиферацию Т-клеточных лимфоцитов и активность естественных клеток-киллеров, повышая уровень провоспалительных цитокинов и тем самым восстанавливая дефицитные реакции у пациентов с иммунодепрессией. Было показано, что

он может влиять на уровень вирусной РНК и, следовательно, подавлять рост нескольких вирусов. Благодаря своим иммуномодулирующим и противовирусным свойствам, а также профилю безопасности препарат широко применяется с 1971 года против вирусных инфекций и заболеваний, в том числе против ВПЧ. Кроме использования в монорежимах, инозин пранобекс может применяться в сочетании с другими противовирусными препаратами интерферонов — ламивудином или амантадином [2]. Однако сведений о результатах применения комбинации инозина пранобекс с другим иммуномодулятором, 3,3'-дииндолилметаном (DIM), для консервативной терапии диспластических изменений шейки матки в доступной литературе найдено не было.

Индольные соединения, получаемые из крестоцветных овощей, хорошо известны своими иммуномодулирующими и противораковыми свойствами. В частности, индол-3-карбинол и его димерный продукт, DIM, продолжают изучаться на предмет их эффективности против ряда видов рака человека как *in vitro*, так и *in vivo*. Эти соединения являются эффективными индукторами апоптоза, а накапливающиеся данные, подтверждающие их способность модулировать множество клеточных сигнальных путей, свидетельствуют об плейотропном влиянии. Было обнаружено, что DIM предотвращает, или ингибирует, прогрессирование CIN в рак [4].

В связи с вышеизложенным **целью настоящей работы** стала оценка изменений содержания цитокиновых факторов в отделяемом цервикального канала после проведенного противовирусного и иммуномодулирующего лечения у пациенток, инфицированных ВПЧ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования проводили набор пациенток, наблюдавшихся на базе ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России в период с 2023 по 2024 год. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено этическим комитетом РУДН (протокол № 01/2042 от 21.06.2023). Информированное согласие получено от всех пациенток.

Были отобраны 15 (21,6%) пациенток с положительным результатом анализа на ВПЧ 16-го и 18-го типов и гистологически подтвержденной CIN тяжелой степени (III) для лечения комплексом инозина пранобекс и DIM. Средний возраст женщин составил 42,9 года (от 23 до 64 лет). В исследование не включались пациентки с установленной беременностью, лактацией, менструацией и использовавшие вагинальные медикаменты за 3 дня до визита. Исключались инфекционные и аутоиммунные заболевания, прием иммуносупрессивных препаратов за последние 6 месяцев и ранее, злокачественные новообразования в анамнезе.

Для цитологического исследования были взяты соскобы с экзо- и эндоцервикса с последующим окрашиванием мазка по Папаниколу [5]. Микроскопическую оценку клеток и степени поражения плоскоклеточного эпителия проводили по системе Бетесда (The Bethesda System — TBS) [6]. Интраэпителиальные поражения шейки матки высокой степени подтверждали гистологически. Проводилась прицельная биопсия пораженных участков слизистой шейки матки с последующим гистологическим исследованием. Диагноз выставлялся в соответствии с классифи-

кацией опухолей женской половой системы (Всемирная организация здравоохранения, 2020) [7]. Тестирование на ВПЧ осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в материале консервирующего раствора ПАП-теста CellPrep. Соскоб из зоны трансформации и крипт цервикального канала брали вращательными движениями щеточкой, сохраняя ее рабочую часть в консерваторе. После выделения ДНК проводили детекцию результатов ПЦР в режиме реального времени с помощью детектирующих амплификаторов. Для выявления, типирования и количественного определения ВПЧ низкого (6, 11, 44-го типов) и высокого (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82-го типов) канцерогенного риска использовали набор реагентов «HPV квант-21». После амплификации программно рассчитывалось количество копий ДНК вируса в анализируемом образце в логарифмах геномов ВПЧ на 100 тыс. клеток. Пациентки с положительным результатом анализа на наличие ВПЧ высокого канцерогенного риска (16-го и 18-го генотипов) были включены в исследование.

В течение 3 месяцев проводилось комплексное лечение 3 курсами инозина пранобекс внутрь по 1000 мг (2 таблетки) 3 раза в сутки в течение 10 дней с интервалом 10 дней и DIM интравагинально в виде суппозиторий по 100 мг 2 раза в сутки на протяжении 3 месяцев. По завершении лечения пациентки были разделены на подгруппы в соответствии с результатами финального ВПЧ-теста.

Подготовку образцов слизи из цервикального канала до начала и после окончания лечения выполняли в соответствии с рекомендациями производителя наборов для количественного определения цитокинов Bio-Rad Laboratories, Inc. (США). Слизь из цервикального канала забирали стерильными одноразовыми пипетками Пастера в пластиковые пробирки типа Эппендорф. Затем из каждой пробирки отбирали 25 мкл материала и помещали в 100 мкл оригинальной среды для разведения образцов, рекомендуемой производителем коммерческих наборов Bio-Rad Laboratories, Inc. (США). Конечный объем каждой пробы был одинаковым и равным 125 мкл. Полученный материал хранили при температуре –25 °С. Перед проведением мультиплексного анализа его размораживали при комнатной температуре, вортиксовали 30 секунд, центрифугировали в течение 10 минут в режиме 10000 g при температуре 4 °С и отбирали 25 мкл.

Содержание цитокинов, хемокинов и ростовых факторов (пг/мл) в слизи цервикального канала определяли с использованием коммерческого набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ (FGF basic, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF) производства Bio-Rad Laboratories, Inc. (США) на анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) по технологии xMAP с использованием программного обеспечения Luminex xPONENT Version 3.1.

До начала лечения и после окончания иммуномодулирующего воздействия для каждой пациентки в виде отношения концентраций в цервикальной слизи интерлейкина (IL)-10 к IL-17A вычисляли иммунорегуляторный индекс IL-10/IL-17A.

Статистический анализ выполнялся с помощью пакетов программ Excel 365 и SPSS 20.0. Значения полученных показателей после статистической обработки были представлены в виде медианы (Me), максимального (max) и минималь-

ного (min) значений. Дополнительно проверяли гипотезу о различии распределений указанных показателей с помощью непараметрического рангового U-критерия Манна — Уитни. Гипотезу о соответствии распределения изучаемых показателей нормальному закону проверяли согласно непараметрическому критерию Колмогорова — Смирнова. Достоверность различий медиан содержания цитокинов в отделяемом шейки матки между выборками определяли с использованием двустороннего t-теста Стьюдента. Во всех случаях различия признавались статистически значимыми (нуль-гипотеза отвергалась) при $p < 0,05$. Учитывая разнонаправленную динамику, выполнили корреляционный анализ между показателями фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и иммунорегуляторным индексом IL-10/IL-17A.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При измерении концентраций цитокинов, хемокинов и регуляторов клеточного роста в цервикальной слизи у включенных в исследование пациенток различия между показателями до начала и после завершения лечения были выявлены для 8 из 27 исследованных факторов (рис. 1).

Под влиянием иммуномодулирующей терапии в той или иной степени значимости изменилось содержание цитокинов: IL-17A и IL-1ra, хемокинов: IL-8, интерферон- γ индукцибельного протеина 10 (IP-10) и моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1), а также ростовых факторов: тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB), VEGF и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (G-CSF). Статистически значимо ($p < 0,05$) в цервикальной слизи уменьшились показатели IL-1ra: с 198,56 (34,775–384,052) до 63,67 (23,058–351,538) пг/мл, IL-8: с 12,43 (2,312–61,000) до 5,48 (0,533–29,567) пг/мл, IP-10: с 1,88 (0,298–8,619) до 0,71 (0,156–3,664) пг/мл, и VEGF: с 0,78 (0,164–0,927) до 0,19 (0,160–0,750) пг/мл. Тенденция к снижению концентраций после окончания лечения ($0,05 < p < 0,1$) также была обнаружена для IL-17A, G-CSF, MCP-1 и PDGF-BB (рис. 1).

При повторном исследовании персистенции вирусов после проведенного лечения ДНК ВПЧ не была выявлена у 10 (68%) из 15 пациенток. У остальных 5 (32%) женщин сохранялось присутствие первично обнаруженных типов ВПЧ

разной степени выраженности. У пациенток с отрицательными результатами тестов на наличие вирусной ДНК, полученных после иммуномодулирующей терапии, в цервикальной слизи статистически значимо снизилось содержание IL-1ra, VEGF и отмечена тенденция к уменьшению G-CSF. Кроме того, элиминация вирусов сопровождалась значимым снижением концентрации IL-17A по сравнению с показателями до лечения (рис. 2). У пациенток с сохранившейся после проведенного лечения ВПЧ-инфекцией статистически значимо уменьшилось содержание IL-8 и VEGF, а также выявлена тенденция к снижению MCP-1 (рис. 3).

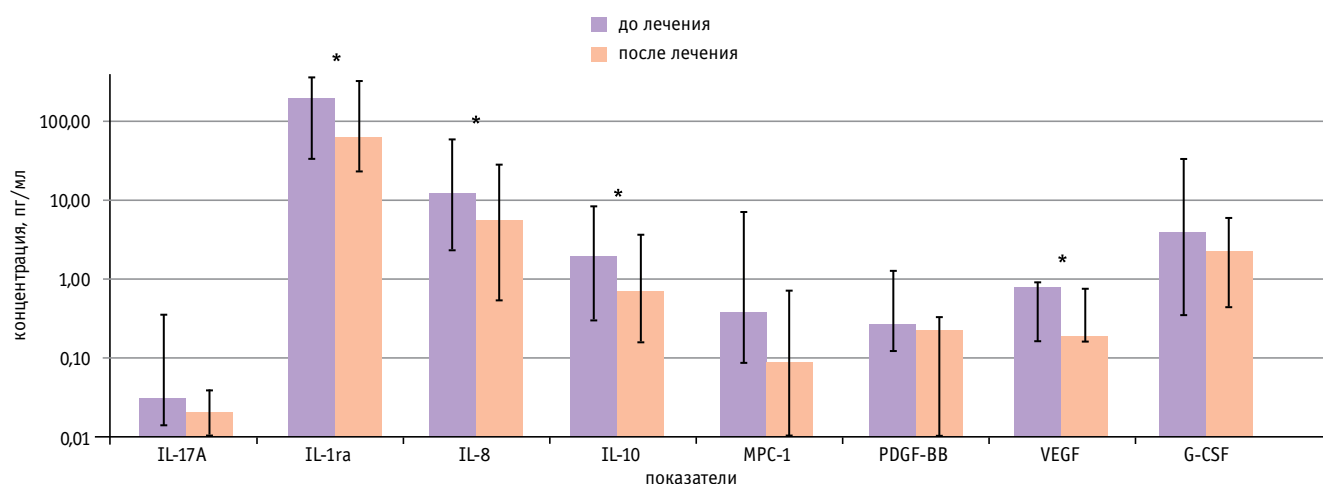
Различий абсолютных значений IL-10 в слизи цервикального канала до и после терапевтических вмешательств у обследованных пациенток не было обнаружено. Однако по завершении лечения иммунорегуляторный индекс IL-10/IL-17A значимо увеличился ($p < 0,05$) по сравнению с начальным этапом (рис. 4). Тенденция к росту этого соотношения после иммуномодулирующей терапии также наблюдалась как при отсутствии, так и при сохраняющейся в повторных пробах ВПЧ-инфекции (рис. 4).

Концентрация VEGF в цервикальной слизи, напротив, значимо снизилась во всех трех выборках (общей группе, подгруппах с элиминацией ВПЧ и с сохраняющейся ВПЧ-инфекцией после проведенной терапии) (рис. 5). Достаточно значимой обратной корреляционной зависимости между ростом индекса IL-10/IL-17A и снижением концентраций VEGF обнаружено не было ($r = -0,15$). Однако была выявлена прямая связь между содержанием в цервикальной слизи VEGF и IL-17A ($r = 0,41$; $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные после проведенного лечения изменения цитокинового профиля неслучайны. В предыдущей работе [8], а также по результатам других исследований [9, 10] отмечено, что в цервикальной слизи при прогрессировании диспластических изменений слизистых шейки матки, особенно при CIN III, значимо меняется содержание многих цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. Было показано, что при CIN III в слизистых цервикального канала в большинстве случаев обнаруживаются типы ВПЧ высокого канцерогенного риска [2]. У таких пациенток в отделяемом

Рис. 1. Содержание цитокинов, хемокинов и ростовых факторов в цервикальной слизи до и после лечения
Fig. 1. Content of cytokines, hemokines and growth factors in cervical mucus before and after treatment



* Здесь и далее в рисунках различия статистически значимы ($p < 0,05$).

* Here and further in the figures, statistical significance is distinguished ($p < 0.05$).

шейки матки увеличивается содержание клеточных факторов, стимулирующих воспалительный процесс на фоне персистирующей ВПЧ-инфекции (IL-12(p70), IL-15, IL-17A, IL-1 β , IL-2), супрессирующих активацию воспаления и противоопухолевый иммунитет (IL-10, IL-13, IL-1ra, IL-5) и способных поддерживать пролиферацию трансформированных вирусом клеток с формированием стромы для очагов канцероматоза (G-CSF, PDGF-BB, фактора некроза опухоли- α (TNF- α) и VEGF) [8]. Следовательно, лечение с использованием комбинации препаратов инозин пранобекс внутрь и DIM в виде интравагинальных свечей должно быть направлено на элиминацию ВПЧ, регуляцию воспалительных процессов на слизистых цервикального канала

Рис. 2. Изменение содержания иммунорегуляторных и ростовых факторов в цервикальной слизи после элиминации вируса папилломы человека (n = 10)

Fig. 2. Changes in the content of immunoregulatory and growth factors in cervical mucus after elimination of human papillomavirus (n = 10)

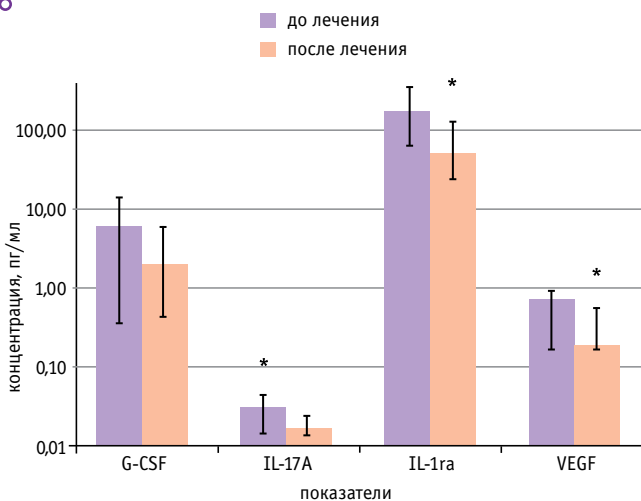
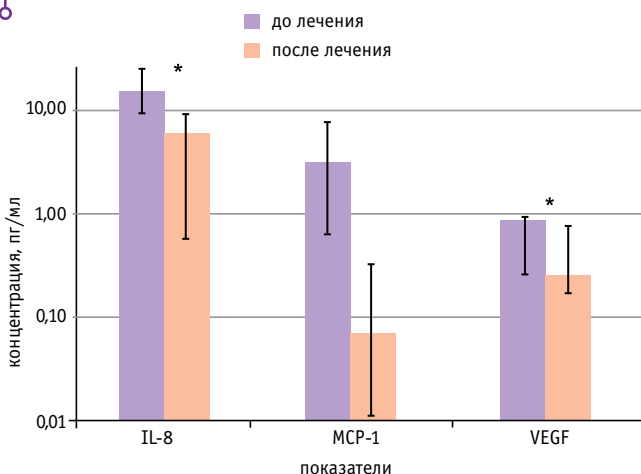


Рис. 3. Изменение содержания хемокинов и ростовых факторов в цервикальной слизи при сохранении первично обнаруженных типов вируса папилломы человека (n = 5)

Fig. 3. Changes in the content of chemokines and growth factors in cervical mucus with the preservation of the primarily detected types of human papillomavirus (n = 5)



и (за счет их иммуномодулирующих свойств) супрессию продукции цитокинов, поддерживающих диспластическую трансформацию тканей.

После проведенной терапии нами было констатируемо снижение содержания в цервикальной слизи цитокинов: IL-17A и IL-1ra, хемокинов: IL-8, IP-10, MCP-1, а также регуляторов клеточного роста и формирования стромы тканей: PDGF-BB, VEGF и G-CSF (рис. 1). Уменьшение концентраций перечисленных факторов свидетельствует о значимом противовоспалительном эффекте с супрессией ангиогенеза и ограничением формирования тканевого матрикса для трансформированного вирусом эпителия цервикального канала. О снижении цитокиновой регуляции и ослаблении воспалительной реакции можно судить по динамике IL-1ra. Баланс между интерлейкинами IL-1a/IL-1b и IL-1ra важен для защиты от инфекций и ограничения повреждения тканей. Уменьшение по механизмам обратной связи IL-1ra и увеличение иммунорегуляторного индекса IL-10/IL-17A

Рис. 4. Иммунорегуляторный индекс IL-10/IL-17A до и после лечения

Fig. 4. Immunoregulatory index IL-10/IL-17A before and after treatment

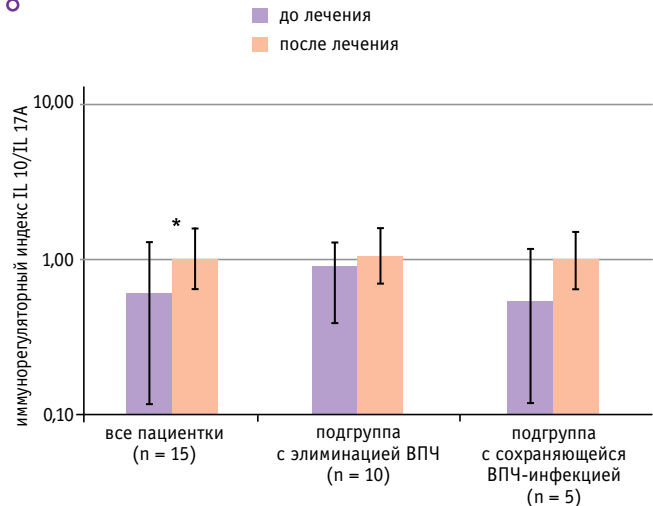
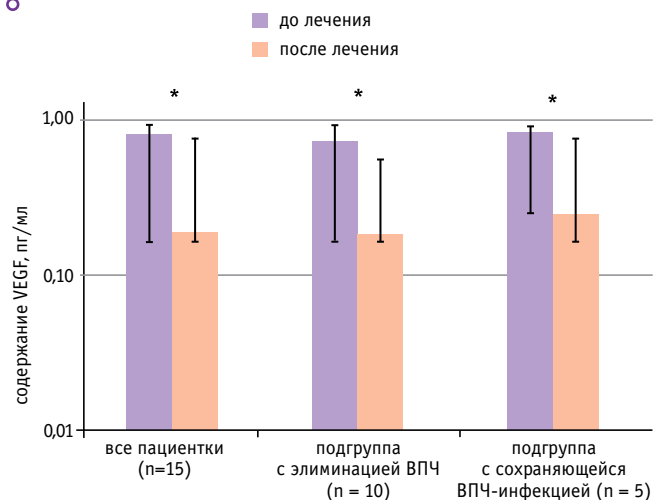


Рис. 5. Содержание фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в цервикальной слизи до и после лечения

Fig. 5. The content of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cervical mucus before and after treatment



дает основание полагать, что комбинация используемых препаратов влияет на механизмы активации хелперных (Th-клеток) и регуляторных Т-клеток (Treg) [11]. Кроме того, у 68% пациенток (10 из 15) при повторных исследованиях установлена элиминация ВПЧ, т. е. у большинства обследованных участниц обнаружен и противовирусный эффект лечения. Полученные результаты можно объяснить иммуномодулирующими свойствами препаратов. В доступной литературе достаточно информации по каждому из них в отдельности [2, 4], однако работ о применении инозина пранобекс вместе с DIM в не было найдено.

На сегодняшний день против ВПЧ не существует специфических препаратов, отсутствует информация о широком применении лекарственных средств, которые бы целенаправленно препятствовали прогрессированию ВПЧ-инфекции или супрессировали цикл этого вируса в цервикальном канале [2]. Используемый в исследовании комплекс инозина пранобекс и DIM обладает разнонаправленным иммуномодулирующим действием и может компенсировать или восстанавливать нарушения иммунорегуляции, вызванные ВПЧ [2, 4, 12, 13].

Противовирусная и противоопухолевая активность инозина пранобекс была продемонстрирована как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако эти эффекты оцениваются как результаты иммуномодулирующего влияния препарата. Тем не менее точный механизм его действия еще остается недостаточно понятным. Было обнаружено, что инозин пранобекс стимулирует общий иммунный ответ, не зависящий от специфических вирусных антигенов. Это указывает на то, что ингибирующее действие препарата может распространяться на процессы транскрипции и трансляции. Действительно, с одной стороны, синтез клеточной РНК и белка заметно угнетается вскоре после вирусной инфекции, а с другой — инозин пранобекс усиливает синтез РНК и белка в клетках хозяина и снижает синтез вирусной РНК. Предполагается, что один из компонентов препарата или даже сам лекарственный комплекс связывается с рибосомами инфицированных клеток, вызывая модификацию структуры рибосом хозяина, что дает преимущество клеточной РНК хозяина над вирусной РНК в борьбе за связывание с сайтами рибосомного комбинирования. Следствием этого может быть супрессия или нарушение трансляции/транскрипции вирусного генетического кода, т. е. препарат оказывает прямое воздействие на синтез вирусной РНК, ингибируя транскрипцию и трансляцию генетического кода на клеточном уровне [4, 12]. В результате этого влияния у 68% повторно обследованных пациенток ВПЧ-инфекция не была обнаружена.

Существуют указания на то, что инозин пранобекс влияет на клеточный и гуморальный иммунитет. Он способен активировать клеточный ответ Th1 и увеличивать продукцию провоспалительных цитокинов (IL-2, интерферона- γ (IFN- γ) и других), но только в стимулированных митогенами или антигенами клетках. Однако, когда клетки-продуценты находились в состоянии покоя, уровень цитокинов оставался неизменным в культурах. Кроме того, повышение концентраций IL-2, IFN- γ и TNF- α и снижение IL-4, IL-5 и IL-10 оценивались *in vitro*, а также системно в сыворотке животных или пациентов [2]. В то же время в цервикальной слизи содержание цитокинов и ростовых факторов при лечении инозином пранобекс в многочисленных работах, представленных в цитируемом обзоре, не исследовалось. У здоровых добровольцев, принимавших инозин прано-

бекс, также оценивалось соотношение популяций иммунорегуляторных клеток. Было отмечено изменение соотношения Tregs и подклассов Ths в сторону большей секреторной активности Treg-клеток с ограничением продукции провоспалительных цитокинов. Проявлением подобных изменений становится увеличение показателей соотношения IL-10/IL-17A после проведенного курса терапии (рис. 4) и достоверное снижение содержания в цервикальной слизи провоспалительных цитокинов и хемокинов (рис. 1). Однако полученные результаты нуждаются в дополнительной оценке на значимо больших группах пациенток.

Следует отметить, что во всех трех выборках (общей группе, подгруппах с элиминацией ВПЧ и с сохраняющейся ВПЧ-инфекцией после проведенной терапии) статистически значимо снизилась концентрация VEGF в цервикальной слизи (рис. 5). VEGF способен ингибировать апоптоз, стимулировать клеточную пролиферацию и локальный ангиогенез, может коррелировать со степенью агрессивности CIN. В частности, активация специфических рецепторов к ростовым эндотелиальным факторам и запуск Ras-Raf-MAP-киназного или PI3K-Akt-пути приводит к изменению пролиферации клеток, ангиогенезу и антиапоптозу [14]. DIM, применяемый внутрь и интравагинально, так же как и инозин пранобекс, обладает плеiotропными свойствами. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что DIM потенциально способен останавливать канцерогенез (шейки матки) [4, 13]. Этот препарат, очевидно, может оказывать иммуномодулирующее, противовирусное и антипролиферативное действие, регулировать процессы апоптоза за счет влияния на многие сигнальные пути, включая ангиогенез и формирование тканевой стромы. На моделях опухолевых клеток человека было показано, что DIM вызывает апоптоз в клетках рака многих органов, в том числе и шейки матки и яичников. Активность DIM основана на механизмах супрессии внутриклеточных регуляторных путей, включающих такие сигнальные точки, как NF- κ B, Akt, Wnt и PI3K/Akt/mTOR-путь. DIM ингибирует каскад NF- κ B, что приводит к нарушению регуляции его целевых генов, таких как VEGF, PDGF-BB и IL-8, которые участвуют в ангиогенезе, инвазии и метастазировании. В результате нарушается биодоступность молекул VEGF и супрессия Ras-Raf-MAP-киназного и PI3K-Akt-сигнального путей. За счет этого DIM обладает способностью к снижению экспрессии онкогенов, деградации гистоновых диацетилаз (HDAC1, HDAC2 и HDAC3) и активации генов-супрессоров опухолей [4, 15]. В дополнение к этому, использованный в комплексе с DIM инозин пранобекс усиливает иммунотерапевтический эффект и противоопухолевые Т-клеточные ответы [16].

Несмотря на влияние инозина пранобекс, модулирующего Т-клетки, достоверной корреляционной связи между увеличением Т-регуляторного индекса IL-10/IL-17A и снижением содержания в цервикальной слизи VEGF выявлено не было ($r = -0,15$). Вероятно, полученный коэффициент связан с малой выборкой. Однако о взаимной зависимости этих показателей в механизмах цитокиновой регуляции формирования CIN свидетельствует положительная связь между изменениями концентраций VEGF и IL-17A ($r = 0,41$; $p < 0,05$) до и после лечения. Кроме того, можно предположить, что измерение содержания VEGF, IL-10 и IL-17A с последующим вычислением иммунорегуляторного индекса IL-10/IL-17A в цервикальной слизи станет полезным для прогноза и оценки эффективности лечения ВПЧ-индуцированной дисплазии слизистых шейки матки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечение пациенток с CIN III, индуцированной ВПЧ высокого риска, привело к снижению в цервикальной слизи содержания IL-17A, IL-1ra, IL-8, IP-10, MCP-1, PDGF-BB, VEGF и G-CSF, увеличению иммунорегуляторного индекса IL-10/IL-17A и элиминации ВПЧ-инфекции в 68% случаев.

Комплексное применение инозина пранобекс внутрь с DIM местно оказывает иммуномодулирующий, противо-

воспалительный, противовирусный и, возможно, антиангиогенный эффекты.

Определение в цервикальной слизи содержания VEGF, IL-10 и IL-17A с последующим вычислением иммунорегуляторного индекса IL-10/IL-17A может быть полезным для прогноза и оценки эффективности лечения ВПЧ-индуцированной дисплазии слизистых шейки матки.

Вклад авторов / Contributions

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого из авторов: Каприн А.Д. — проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Харченко Н.В., Антонова И.Б., Мельникова Н.В. — проверка критически важного содержания, помощь в написании статьи; Ригер А.Н., Моцкобили Т.А., Майор А.Л. — сбор материала, лабораторная работа, статистическая обработка данных, написание текста рукописи; Керимова Б.И. — сбор материала.

All authors made a significant contribution to the preparation of the article, read and approved the final version before publication. Contribution of each of the authors: Kaprin, A.D. — critical content review, approval of the manuscript for publication; Kharchenko, N.V., Antonova, I.B., Melnikova, N.V. — critical content review, assistance in writing the article; Riger, A.N., Motskobili, T.A., Major, A.L. — material collection, laboratory work, statistical processing of data, writing the manuscript; Kerimova, B.I. — material collection.

Конфликт интересов / Disclosure

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

The authors declare no conflict of interests.

Финансирование / Funding source

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

The authors declare that they received no external funding for this study.

Этическое утверждение и информированное согласие / Ethics approval and consent for publication

Исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (протокол № 01/2042 от 21.06.2023). Информированное согласие получено от всех участниц исследования.

The study was approved by the ethics committee of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (protocol No. 01/2042 dated 06.21.2023). Informed consent was obtained from all study participants.

Об авторах / About the authors

Ригер Александра Николаевна / Riger, A.N. — аспирант кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института РУДН; врач-онколог ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0002-2076-2016>. E-mail: aleksriger96@mail.ru

Керимова Бахара Ильхамовна / Kerimova, B.I. — врач акушер-гинеколог ГБУЗ МО «Красногорская больница». <https://orcid.org/0009-0009-2433-6637>. E-mail: bkerimoff@bk.ru

Антонова Ирина Борисовна / Antonova, I.B. — д. м. н., заведующая лабораторией профилактики, ранней диагностики и комбинированного лечения гинекологических заболеваний ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0003-2668-2110>. E-mail: Iran24@yandex.ru

Моцкобили Таигули Автандиловна / Motskobili, T.A. — к. м. н., врач акушер-гинеколог отделения урологии с койками онкоурологии, онкогинекологии, противоопухолевой лекарственной терапии и кабинетами рентген-ударно-волновой дистанционной литотрипсии ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0001-7996-714X>. E-mail: taimoc@mail.ru

Мельникова Надежда Васильевна / Melnikova, N.V. — к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии, онкоцитологии и клеточных технологий в онкологии научно-исследовательского отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России. E-mail: n_melnikova@list.ru

Майор Атилла Люис / Major, A.L. — д. м. н., профессор кафедры гинекологии Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии; врач акушер-гинеколог Центра гинекологии «Фемина». <https://orcid.org/0000-0002-1459-2727>. E-mail: majorattila@outlook.fr

Харченко Наталья Владимировна / Kharchenko, N.V. — д. м. н., профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института РУДН. <https://orcid.org/0000-0002-5352-492X>. E-mail: nata2305@inbox.ru

Каприн Андрей Дмитриевич / Kaprin, A.D. — академик РАН, академик РАО, д. м. н., профессор, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; директор Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>. E-mail: kaprin@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Кулешова О.Б., Домонова Э.А., Акимкин В.Г. Эпидемиологическая характеристика рака шейки матки в Российской Федерации. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024;9(5):22–33. Kuleshova O.B., Domonova E.A., Akimkin V.G. Current epidemiological characteristics of cervical cancer in the Russian Federation. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024;9(5):22–33. (in Russian). DOI: 10.29413/ABS.2024-9.5.3
- Kovachev S.M. A review on inosine pranobex immunotherapy for cervical HPV-positive patients. *Infect. Drug Resist.* 2021;14:2039–49. DOI: 10.2147/IDR.S296709
- Chavez-Dominguez R., Perez-Medina M., Aguilar-Cazares D., Galicia-Velasco M. et al. Old and new players of inflammation

and their relationship with cancer development. *Front. Oncol.* 2021;11:722999. DOI: 10.3389/fonc.2021.722999

- Amarakoon D., Lee W.J., Tamia G., Lee S.H. Indole-3-carbinol: occurrence, health-beneficial properties, and cellular/molecular mechanisms. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2023;14:347–66. DOI: 10.1146/annurev-food-060721-025531
- Хохлова С.В., Коломиец Л.А., Кравец О.А., Морхов К.Ю. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака шейки матки. Злокачественные опухоли. 2021;11(3S2–1):197–217. Khokhlova S.V., Kolomietz L.A., Kravetz O.A., Morhov K.Yu. et al. Practical recommendations for drug treatment of cervical cancer. *Malignant Tumours*. 2021;11(3S2–1):197–217. (in Russian). DOI: 10.18027/2224-5057-2021-11-3s2-13

6. Найяр Р., Уилбур Д., ред. Цервикальная цитология по системе Бетесда: терминология, критерии и пояснения. М.: Практическая медицина; 2017. 304 с. Nayar R., Wilbur D., eds. *Cervical cytology according to the Bethesda system: terminology, criteria and explanations*. M.: Practical medicine; 2017. 304 p. (in Russian)
7. Female Genital Tumours: WHO Classification of Tumours. Vol. 4. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. 632 p.
8. Антонова И.Б., Моцкобили Т.А., Ригер А.Н., Кулик С.В. Измерение уровней цитокинов в слизи цервикального канала как дополнительный диагностический метод определения прогноза у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией. Женское здоровье и репродукция. 2023;1(56). Antonova I.B., Mozkobili T.A., Riger A.N., Kulik S.V. Measurement of levels of cytokines in cervical mucus as additional diagnostic method to define prognosis in women with cervical dysplasia. *Women's Health and Reproduction*. 2023;1(56). (in Russian). URL: <https://whfordoctors.ru/statyi/izmerenie-urovnej-citokinov-v-slizi-cervikalnogo-kanala-kak-dopolnitelnyj-diagnosticheskij-metod-opredeleniya-prognoza-u-zhenshhin-s-cervikalnoj-intrajepitelialnoj-neoplaziej/> (дата обращения: 02.06.2025).
9. Iwata T., Fujii T., Morii K., Saito M. et al. Cytokine profile in cervical mucosa of Japanese patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Clin. Oncol.* 2015;20(1):126–33. DOI: 10.1007/s10147-014-0680-8
10. Scott M.E., Shvetsov Y.B., Thompson P.J., Hernandez B.Y. et al. Cervical cytokines and clearance of incident human papillomavirus infection: Hawaii HPV cohort study. *Int. J. Cancer*. 2013;133(5):1187–96. DOI: 10.1002/ijc.28119
11. Недоспасов С.А., Купраш Д.В., ред. Иммунология по Ярилин. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021. 808 с. Nedospasov S.A., Kuprash D.V., eds. *Immunology according to Yarilin*. M.: GEOTAR-Media; 2021. 808 p. (in Russian). DOI:10.33029/9704-4552-5-IA-2021-1-808
12. Sliva J., Pantzartzi C.N., Votava M. Inosine pranobex: a key player in the game against a wide range of viral infections and non-infectious diseases. *Adv. Ther.* 2019;36(8):1878–905. DOI: 10.1007/s12325-019-00995-6
13. Castañon A., Tristram A., Mesher D., Powell N. et al. Effect of diindolylmethane supplementation on low-grade cervical cytological abnormalities: double-blind, randomised, controlled trial. *Br. J. Cancer*. 2012;106(1):45–52. DOI: 10.1038/bjc.2011.496
14. Venuti A., Paolini F., Nasir L., Corteggio A. et al. Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Mol. Cancer*. 2011;10:140. DOI: 10.1186/1476-4598-10-140
15. Reyes-Hernández O.D., Figueroa-González G., Quintas-Granados L.I., Gutiérrez-Ruiz S.C. et al. 3,3'-Diindolylmethane and indole-3-carbinol: potential therapeutic molecules for cancer chemoprevention and treatment via regulating cellular signaling pathways. *Cancer Cell Int.* 2023;23(1):180. DOI: 10.1186/s12935-023-03031-4
16. Kim S., Jo E.K. Inosine: a bioactive metabolite with multimodal actions in human diseases. *Front. Pharmacol.* 2022;13:1043970. DOI: 10.3389/fphar.2022.1043970 

Поступила / Received: 13.12.2024

Принята к публикации / Accepted: 23.04.2025