В. С. СМИРНОВ, Т. А. КУДРЯВЦЕВА

ВАРТОЦИД (ИМИХИМОД)

ГИППОКРАТ
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2017

В. С. СМИРНОВ, Т. А. КУДРЯВЦЕВА

ВАРТОЦИД
(ИМИХИМОД)

Санкт-Петербург
Гиппократ
2017

УДК 615.37:616.006:616.085:616.5
ББК Р 281.794:Р 353:Р 569.60
С50

Смирнов В. С., Кудрявцева Т. А.
С50 Вартоцид (имихимод). — СПб.: Гиппократ, 2017. — 144 с.: ил.

ISBN 978-5-8232-0638-9

Монография посвящена описанию модификатора иммунного ответа — имихимода, выпускаемого под оригинальным названием Aldara® и его генерического аналога, производимого в Российской Федерации под названием Вартоцид. Описаны молекулярные механизмы противовирусного и противоопухолевого действия препарата. Обсуждены результаты его клинического применения при лечении папилломавирусной инфекции и некоторых злокачественных опухолях кожи.

Книга представляет интерес для дерматологов и онкологов, также полезна для студентов старших курсов и интернов.

The monograph is devoted to a description of the immune response modifier — imiquimod produced under the trade name Aldara® and its generic counterpart produced in the Russian Federation under the name Wartotsid. We describe the molecular mechanisms of antiviral and anticancer action of the drug and discuss the results of its clinical application in the treatment of human papillomavirus infection and certain malignant skin tumors.

The book may be of interest to dermatologists and oncologists, and can be useful for graduate students and interns.

УДК 615.37:616.006:616.085:616.5
ББК Р 281.794:Р 353:Р 569.60

© В. С. Смирнов, Т. А. Кудрявцева, текст, ил., 2017
ISBN 978-5-8232-0638-9 © Гиппократ, оформление, 2017

ВВЕДЕНИЕ

Врожденный иммунитет представляет собой систему иммунного реагирования, которая первой встречает внедрившийся патоген, и её основная задача — быстрое распознавание «своего» и «не своего». В основе этого лежит восприятие уникальной молекулярной структуры патогена. Обнаружение рецепторов клеток, распознающих молекулярный образ (паттерн) патогена, имело фундаментальное значение для понимания внутриклеточных регуляторных процессов и оказало заметное влияние на биологию и медицину. Эти рецепторы были названы толл-подобными (Toll-like receptor) — TLR. В результате этого открытия, удостоенного Нобелевской премии, стало понятно, что устоявшееся мнение о двух системах иммунитета — врожденного (неспецифического) и приобретенного (специфического) — не совсем корректно, поскольку врожденный иммунитет тоже является достаточно специфичным. Были раскрыты молекулярные механизмы, с помощью которых появилась возможность разработки новых препаратов для лечения заболеваний как вирусной, так и невирусной этиологии.

У человека открыто 10 толл-подобных рецепторов (TLR1–10), а у мышей — 13. Часть этих рецепторов — TLR1, 2, 4, 5, 6, 10 — экспрессирована на клеточной поверхности, часть — TLR3, 7, 8, 9 — в эндосомах. TLR4 может быть экспрессирован и на поверхности клетки, и в эндосоме.

Существует определенная специфичность распознавания. Так, продукты бактериального происхождения (бактериальные

полисахариды, бактериальные антигены и др.) распознаются поверхностными TLR, тогда как нуклеиновые кислоты, вирусы и некоторые синтетические молекулы — внутриклеточными рецепторами. В результате подобного взаимодействия ассоциированных с патогеном молекулярных образов и соответствующих им рецепторов запускается каскад молекулярных реакций, конечной целью которого является уничтожение патогена или его презентация системе приобретенного (адаптивного) иммунитета для последующей выработки специфических субстанций (клеточных и гуморальных) и формирования иммунной памяти. Таков общий, предельно упрощенный, механизм иммунной защиты.

Счастливой находкой стало открытие вещества, взаимодействующего с TLR, производного имидазола, в частности имидазолхинолинамина, получившего название имихимод. Это химическое соединение было получено и охарактеризовано двумя французскими исследователями — Ж.-Д. Андре и Д. Ж. М. Лаганом, сотрудниками Rickers Laboratory Inc (США) в 1987 г. (US Patent 4698338).

Первоначально имихимод предлагался как бронхолитическое средство и противовирусный препарат. В дальнейшем было установлено, что противовирусные свойства обусловлены его взаимодействием с рецептором TLR7. В результате препарат был переквалифицирован в иммуномодификатор. В этом качестве он был зарегистрирован американским агентством FDA для применения при аногенитальных бородавках, базально-клеточной карциноме, актиническом (лучевом) кератозе и плоскоклеточном раке.

В настоящее время имихимод в виде крема 5% (Aldara®), 3,75% и 2,5% (Zyclara®) разрешен к клиническому применению в США, Евросоюзе, Канаде, Австралии и других странах.

После окончания срока действия патента препараты имихимода для наружного применения в виде генерических (воспроизведенных) аналогов зарегистрированы в Китае, Индии, Уругвае. В Российской Федерации воспроизведенный аналог имихимода крема 5% зарегистрирован под названием Вартоцид и разрешен только для местного лечения наружных аногенитальных борода-

вок у взрослых. Принятые наименования препаратов представлены ниже:

- Имихимод — лекарственная субстанция с химическим названием 1-(2-метилпропил)-1Н-имидазо [4,5-с] -хинолин-4-амин;
- Aldara® — оригинальный лекарственный препарат: Имихимод крем 5 % для наружного применения (США);
- Вартоцид — воспроизведенный генерический лекарственный препарат: Имихимод крем 5 % для наружного применения (Россия);
- Кераворт — воспроизведенный генерический лекарственный препарат: Имихимод крем 5 % для наружного применения (Индия).

Оригинальный препарат имихимод основательно исследован. На момент написания этой книги общее число опубликованных статей в базе данных PubMed превысило 2 500. Существует большое количество рандомизированных исследований, а Кокрановская библиотека выпустила несколько метаобзоров.

Вместе с тем, он практически неизвестен широкому кругу российских врачей, которые далеко не всегда имеют возможность познакомиться с имеющимися мировыми публикациями. Именно это послужило предпосылкой для написания данной книги. В ней авторы попытались в максимально сжатом виде обсудить основные свойства препарата и возможности его клинического применения. Масштаб накопленных данных и допустимый объем книги не позволили авторам обсудить все интересные аспекты этого препарата. Надеемся, что эта работа будет продолжена.

Авторы считают приятным долгом выразить благодарность своим семьям за великодушное терпение, проявленное при работе над текстом книги. Мы выражаем искреннюю благодарность руководству «Медико-биологического научно-производственного комплекса „Цитомед“» и его генеральному директору А. Н. Хромову за предоставленную возможность написать эту книгу. Авторы также выражают признательность проф. Р. Меджитову (R. Medzitov, Yale University USA) за предоставленные иллюстрации и высказанные замечания по TLR-рецепторам и проф.

I. Marazzi (Icahn School of Medicine of Mount Sinai, USA) за полезные советы при подготовке материалов 1-й главы монографии. Морфологические исследования выполнены в отделе патоморфологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта под руководством проф. И. М. Кветного.

Глава 1

ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ

В начале XX столетия впервые было сформировано понятие иммунитета, и практически сразу же его разделили на два основных типа: преформированный, или природный, иммунитет, названный врожденным, или неспецифическим, и приобретенный иммунитет, формирующийся в результате контакта с болезнетворным агентом [11]. В последующем врожденный иммунитет долгое время оставался на положении Золушки, а максимальное внимание уделялось проблеме приобретенного иммунитета, возникающего как следствие контакта организма хозяина и вакцины. В этот период были созданы вакцины против сибирской язвы, бешенства, оспы, полиомиелита, многочисленные анатоксины. Некоторые ученые уже предрекали близкий упадок иммунологии, вызванный разработкой все новых вакцин, и связанное с этим снижение интереса к иммунологии в целом. Однако создание Ф. Бернетом [34] теории иммунитета и последующее открытие Р. Медаваром (Medawar) феномена толерантности убедительно доказало, что предсказания о скорой смерти иммунологии были несколько преувеличены. Начиная со 2-й половины XX столетия, в иммунологии наблюдается быстрый прогресс, связанный с пониманием механизмов врожденного распознавания компонентов микроорганизмов и их непосредственного участия в защите организма человека или животного от инфекции. Теперь понятно, что адаптивный (приобретенный) иммунитет определяет многое, но не всё в механизме защиты от инфекции. По-настоящему революционным стало открытием

того, что наличие или отсутствие определённых молекул в организме во многом определяет его способность противостоять разрушающему воздействию патогена или его продуктов, например токсинов. Важным также было осознание того факта, что каждый конкретный возбудитель бактериальной, грибковой, протозойной или вирусной природы обладает неким набором характерных признаков, образующих его молекулярный образ [204, 309].

Новый этап развития теории врожденного иммунитета берет свое начало в 1980 г., когда C. Nüsslein-Volhard [224] установила существование особого гена, ответственного за дорсовентральную дифференциацию дрозофил, причем дефект этого гена сопровождался повышенной восприимчивостью этих насекомых к грибковой инфекции. Автор назвала этот новый белок Toll-рецептором (Toll — *нем*. отличный, восхитительный). Через несколько лет другой исследователь, C.A. Jr. Janeway [152], высказал гипотезу, что любой патоген обладает некими структурными особенностями, которые распознаются особыми рецепторами, названными толл-подобными. Отметим, что за оба открытия авторам были присуждены Нобелевские премии.

Открытие TLR как компонентов, распознающих консервативные структуры патогенов, значительно продвинуло вперед понимание путей и механизмов распознавания вторгшегося возбудителя, лежащих в основе врожденного иммунного ответа. Стало понятно, что термин «неспецифическая резистентность», которым определяли реакцию организма на вторжение патогенного возбудителя, не совсем корректен и не отражает всей сложности взаимоотношений патогена с организмом восприимчивого хозяина. Следовательно, негативная или позитивная реакция организма на вторгшийся или собственный антиген лежит в основе патогенеза всех инфекционных и аутоиммунных процессов [153, 204].

В дальнейших исследованиях было установлено, что позвоночные имеют набор из 13 TLR, из них у человека пока обнаружено 10 рецепторов [6, 204, 205]. На *рис. 1* и в *табл. 1* представлена упрощенная классификация TLR человека, относящихся, как известно, к рецепторам 1-го типа.

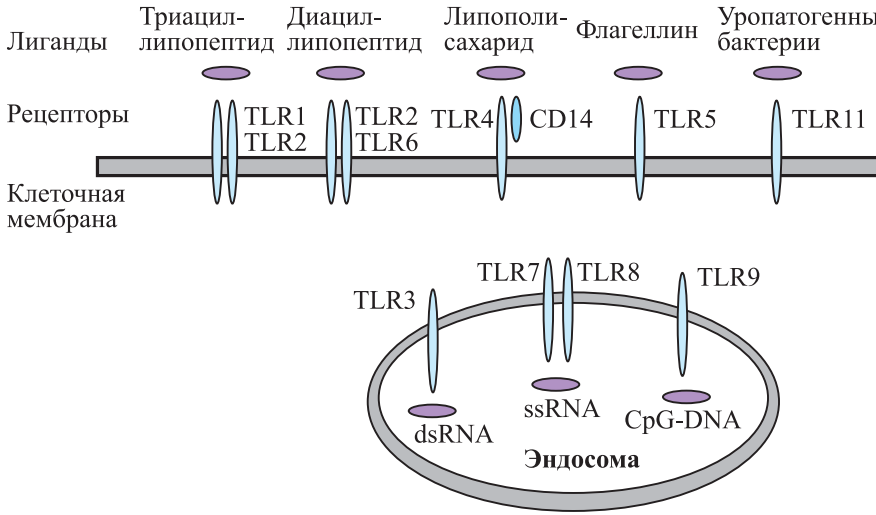


Рис. 1. **Размещение TLR на клеточной мембране и эндосоме их лиганды** (по личному разрешению Р. Меджитова)

Таблица 1. **Димеризация и места локализации TLR**

Вид димеризации	Локализация
Гетеродимеры: 1+2; 2+6	На клеточной мембране: 1, 2, 4, 5, 6, 10
Гомодимеры: 3, 4, 7, 8, 9, 10	На эндосоме: 3, 7, 8, 9

Вместе с тем, TLR — не единственные молекулярные структуры, ответственные за распознавание патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (ПАМП). Существуют также еще RIG-I-подобные рецепторы, Nod-подобные рецепторы, AIM2-подобные рецепторы, лектиновые рецепторы С-типа и внутриклеточные сенсоры ДНК — cGAS [20]. Каждый из этих рецепторов участвует в огромном количестве внутриклеточных путей. Среди этого разнообразия рецепторов TLR были охарактеризованы первыми и изучены лучше других.

Все TLR в неактивном состоянии существуют в мономерном виде, а после активации лигандом они образуют димерные формы, причем TLR1 и 2, а также TLR2 и 6 образуют между собой

гетеродимеры, а все остальные рецепторы — гомодимеры [202]. Отметим, что в своей основе все TLR имеют практически одинаковую архитектуру, представленную на *рис. 2* [57]. Как видно из этой схемы, над клеточной или эндоплазматической мембраной расположена та часть рецептора, которая непосредственно контактирует с патогеном. Она представляет собой соленоидоподобную аминокислотную спираль, образованную богатыми лейцином повторами (*рис. 3*). Такая форма воспринимающей части считается наиболее функциональной, поскольку позволяет связываться с несколькими лигандами [206]. Было показано, что каждый TLR проявляет специфичность к нескольким веществам (лигандам), имеющим порой весьма разнородную структуру. Из этого вытекает единственный вывод о том, что распознавание чужеродных патогенов является относительно специфичным и опирается на способность организма воспринимать определенные молекулы. Над клеточной или эндоплазматической мембраной расположена та часть рецептора, которая непосредственно контактирует с консервативными структурами патогенов ПАМП [95, 223]. По своей

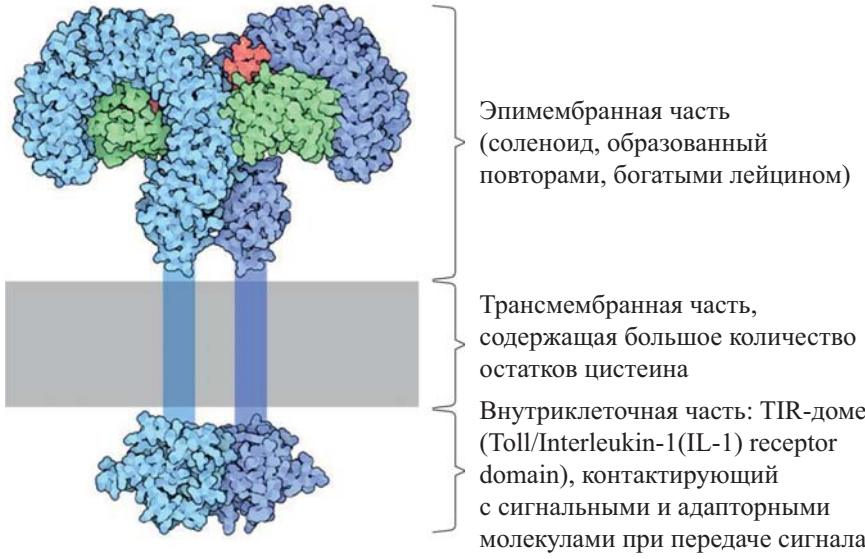


Рис. 2. **Принципиальная схема строения TLR**
(по личному разрешению Р. Меджитова)

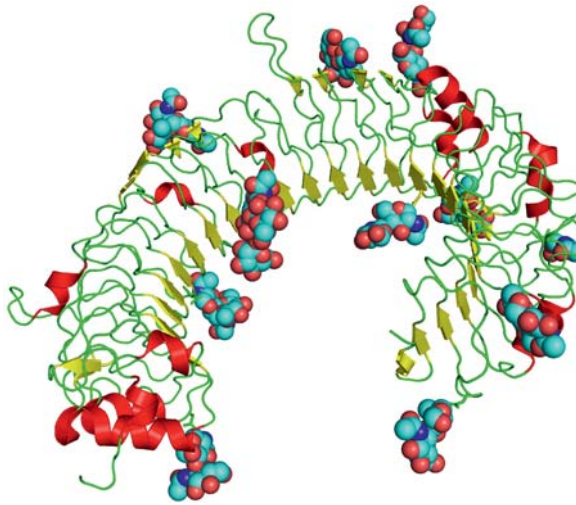


Рис. 3. **Изогнутый повтор TLR3, богатый остатками лейцина**
(по личному разрешению Р. Меджитова)

структуре TLR уникальны, и это, естественно, обусловливает такую же уникальность механизмов их функционирования.

С момента открытия TLR началось интенсивное изучение молекулярных механизмов их действия, и к настоящему моменту они считаются самыми изученными объектами регуляторной системы организма. Это, с одной стороны, позволило понять многие механизмы, лежащие в основе патогенеза различных заболеваний, а с другой — выявить возможные терапевтические мишени и создать новые фармакологические препараты.

Существуют некоторые отличия между всеми TLR, связанные, в частности, с локализацией в пределах клетки. Одна часть рецепторов локализована в цитоплазматической мембране. У человека к ним относятся TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10. Другая группа, в которую входят TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, локализована во внутренних компартментах, таких как эндоплазматический ретикулум (ЭР), эндосомы, лизосомы, эндолизосомы. Такие различия в топографии рецепторов имеют глубокий биологический смысл. Так, поверхностные рецепторы распознают, преимущественно, бактериальные антигены, в том числе липиды, липопротеины, белки, компоненты клеточной стенки бактерий. Ина-

че говоря, поверхностные TLR распознают структуры, первично контактирующие с цитоплазматической мембраной, в то время как внутриклеточные TLR распознают одно- и двухцепочечные нуклеиновые кислоты.

К настоящему времени молекулярные механизмы, лежащие в основе переноса информации от TLR к ДНК и последующего ответа, изучены довольно подробно, что позволяет уверенно проследить путь, по которому информация от бактерии или вируса попадает в исполнительную структуру, в качестве которой выступает ДНК клетки хозяина [163, 206]. Отметим, что многочисленные процессы переноса сигнала с ПАМП, в качестве которых могут выступать бактериальные клетки и вирусы или их фрагменты, в данной главе обозначены термином «сигналинг»; передача сигнала от TLR ниже по цепи участвующих в этом процессе молекул названа «нисходящим (downstream) сигналингом», обратный процесс назван «восходящим (upstream) сигналингом». Нам представлялось уместным привести эти пояснения для однозначной трактовки англоязычных терминов, не имеющих русскоязычных аналогов.

Процесс передачи сигнала (сигналинг) начинается с переноса TLR-рецептора из ЭР на поверхность клетки или во внутриклеточную эндосому. Причем, перенос TLR3, 7, 8 и 9 из ЭР в эндосому строго контролируется трансмембранным белком UNC93B1 в координации с белком LRRC59. Кроме того, еще один ЭР-резидентный белок PRAT4A регулирует выход TLR1, 2, 4, 7 и 9 из ЭР и их перемещение на плазматическую мембрану или в эндосомы. После соответствующего процессирования TLR переходят в активную форму, в которой они приобретают способность связываться со своими агонистами, в том числе с ПАМП, в результате чего TLR димеризуются и формируют комплекс «агонист–рецептор». При этом происходят конформационные изменения в эпимембранных цепях рецепторов, которые активируют проксимальный участок рецептора, называемый TIR-доменом (TIR = toll/interleukin1-receptor domain) из-за его сходства с аналогичным участком IL-1 рецептора (*рис. 4*).

Активированный TIR-домен рекрутирует вспомогательную адаптерную молекулу TIRAP/MAL (TIRAP = TIR domain containing

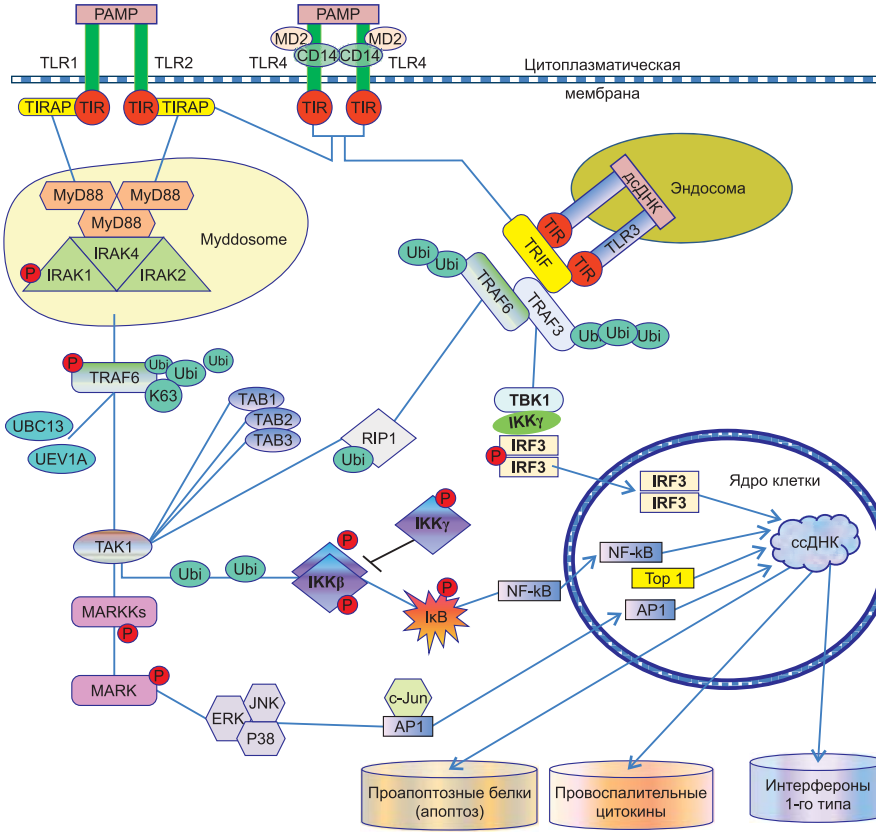


Рис. 4. **Пути передачи сигнала с TLR** (пояснение в тексте):

TLR — toll-like receptor; **MyD88** — фактор 88 миелоидной дифференцировки; **TIR** — толл-IL-1-рецепторный домен; **TIRAP/Mal** — адапторный протеин, содержащий TIR-домен/ MyD88-подобный адаптор; **IRAK** (1, 2, 3, 4, M) — киназа, ассоциированная с рецептором IL-1; **TRAF6** — фактор 6, ассоциированный с фактором некроза опухоли α (TNF-α); **TAK1** — киназа, активированная трансформирующим фактором роста-β; **TAB** (1, 2) — белки, связывающие TAK1; **IKK** (α, β, γ) — киназный комплекс, связывающий IκB, — негативный регулятор транскрипции; **MAP** — серин-треониновая протеинкиназа; **P38** — митоген-активированная протеинкиназа; **NF-κB** — фактор трансляции, запускающий каскад провоспалительных цитокинов; **AP1** — активаторный белок 1 — фактор трансляции, **ssDNA** — суперспиральная ДНК; **Top 1** — топоизомераза 1; **TRIF** — TIR-домен, содержащий адаптер, индуцирующий ИФНβ; **TRAF3** — фактор, ассоциированный с TNF-α; **IKKε** — киназный комплекс, ингибирующий IκB; **TBK1** — серин/треониновая протеинкиназа; **IRF3, IRF7** — регуляторные факторы интерферона. На схеме не показан путь миграции TLR4 рецептора с поверхности клетки в эндосому. TRIF-зависимый сигналинг реализуется после миграции рецептора в эндосому. **PAMP** — связанный с патогеном молекулярный паттерн

adaptor protein или; Mal — MyD88 adapter-like), которая активирует белок миелоидной дифференцировки 88 (Myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88)). В свою очередь, MyD88 привлекает комплекс киназ, семейства IRAK (IL1-receptor associated kinase), который образует сигнальный комплекс, названный миддосомой (myddosoma). Активация семейства IRAK-киназ происходит в определенной последовательности. Так, в первую очередь активируется IRAK4, а затем IRAK1 и IRAK2, а IRAK3 выполняет функцию негативного регулятора активности IRAK4 и IRAK1 [244]. IRAK1 затем самофосфорилируется на нескольких участках молекулы, что приводит к высвобождению MyD88 из миддосомы [63, 163]. После активации, IRAK1 взаимодействует с TRAF6 (TNF-receptor associated factor 6), запуская RING-домен (really interesting new gene) E3 убиквитинлигазы для TRAF6. В свою очередь, TRAF6 вместе с убиквитин-конъюгирующими энзимами и UEV1A (Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1A) запускает связанную с K63 полиубиквитинацию самого TRAF6 и протеинкиназного комплекса TAK1 (Transforming growth factor beta-activated kinase 1) [163), который формирует комплекс с семейством регуляторных белков TAB1, TAB2 и TAB3. Основная функция двух последних — активация функции TAK1 во взаимодействии с полиубиквитиновыми цепями, генерированными TRAF6 [17]. Активированная TAK1, в свою очередь, может транслировать нисходящий сигнал двумя путями (см. рис. 4).

Согласно первому пути, TAK1 активирует IKK (IκB kinases) комплекс, включающий две активных киназы IKKα и IKKβ [183], третий член семейства IKKγ (NEMO-NF-kappa-B essential modulator) выполняет функцию негативного регулятора двух других членов семейства [175]. Основная функция IKK-комплекса — быстрое фосфорилирование и последующая деградация ингибиторных белков семейства IkB (IκBα, IκBβ и IκBε), которые в нестимулированном состоянии связывают NF-κB в неактивном состоянии. В результате деградации IκB, фактор трансляции подвергается протеасомной обработке и транслоцируется в ядро, запуская экспрессию провоспалительных цитокинов [175, 222].

По другому пути нисходящего сигналинга, TAK1 активирует и фосфорилирует семейство митоген-активированных протеинкиназ (MARKKs — Mitogen activated protein kinases) до MARK при

участии аксессорных молекул ERK (extracellular signal-regulated kinases), JNK (c-Jun N-terminal kinases) и p38, что, в свою очередь, сопровождается фосфорилированием и активацией фактора трансляции AP-1, и уже этот фактор перемещается в ядро, где он индуцирует экспрессию воспалительных цитокинов и проапоптозных белков [210].

Кроме MyD88-зависимого пути переноса сигнала, который характерен для большинства TLR, существуют альтернативные пути, характерные для TLR3 [163, 238]. Как известно, TLR3 локализован в эндосоме и распознает двухспиральную ДНК вирусного происхождения (см. рис. 4). После связывания с лигандом сигнал переносится к терминальному домену TIR, а затем рекрутируется TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β), который, в свою очередь, привлекает TRAF3 и TRAF6. Убиквитинирование этих комплексов облегчает генерацию реактивных форм кислорода (ROS).

TRAF6 рекрутирует киназу RIP1, которая взаимодействует с TAK1 комплексом, а затем с MARK-киназами с последующей активацией экспрессии воспалительных цитокинов [163]. TRAF3, в свою очередь, привлекает IKK-подобные киназы TBK1 и IKKi совместно с IKKγ для фосфорилирования IRF3 (Interferon regulatory factor 3), который димеризуется и транслоцируется в ядро, где запускает экспрессию ИФН 1-го типа [162].

Дальнейшие события между факторами трансляции и синтезом провоспалительных цитокинов остаются загадочными. Как известно, ядерная ДНК клетки существует в суперспирализованном состоянии, и для начала экспрессии необходимо перевести ее в транскрипционно активное состояние. Эту функцию выполняют две топоизомеразы 1 и 2, основное действие которых — изменение конформационного состояния суперспиральной ДНК путем ее раскручивания и сматывания во время ремоделирования хроматина, транскрипции, репликации и рекомбинации ДНК [236]. Однако остается вопрос, каким образом и что именно управляет факторами трансляции: топоизомеразы или непосредственно суперспиральная ДНК? Одним из возможных вариантов ответа является допущение существования наборов NF-κB, именуемых как REL (Release factor), которые образуют димеры, способные взаимодействовать непосредственно с молекулой ДНК [219]. Однако пока

неясно, как взаимодействует топоизомераза с димерами семейства REL. В то же время, участие топоизомераз в экспрессии воспалительных цитокинов не вызывает сомнения, поскольку ингибирование топоизомеразы 1 подавляет выработку провоспалительных цитокинов и защищает организм от смерти в результате воспаления [245]. Столь же загадочны и пути передачи сигналов с других трансляционных факторов — AP1 и IRF3.

Особняком стоит TLR4. Расположенный на поверхности цитоплазматической мембраны, он может переносить сигнал как через MyD88-зивисимый, так и через TRIF-зависимый путь [214].

TLR2 относится к типичным поверхностным трансмембранным рецепторам, состоящим из трех частей (см. рис. 2). Эпимембранная часть расположена непосредственно на внешней поверхности клеточной мембраны, за ней следует трансмембранный участок, пронизывающий клеточную мембрану, а на внутренней стороне расположен TIR-домен, который участвует в запуске MyD88-зависимого пути. При контакте с агонистами, в качестве которых выступают липопептиды бактерий, TLR2 образует функциональные гетеродимеры с TLR1, TLR6 и, возможно, — с TLR10 для распознавания различных липопротеинов из микроорганизмов [144, 217]. TLR2, в зависимости от второго компонента гетеродимера, обладают определенной специфичностью. Так, гетеродимеры TLR1/2 являются рецепторами для триациллипопептидов, найденных в бактериях и микобактериях [237], тогда как гетеродимеры TLR2/6 распознают диациллипопептиды, липопептид, активирующий макрофаги (MALP-2), выделенный из *M. fermentans* [218]. Интересно, что уровень активации TLR2 увеличивается в присутствии CD14 и CD36 [32].

Многочисленные исследования указывают на роль TLR2 в повреждении тканей, вызванном ишемией/реперфузией и связанном с инсультом или инфарктом миокарда, или трансплантацией солидных органов [141, 311].

TLR3 — своеобразный рецептор, отличающийся от всех остальных. Он расположен внутриклеточно на поверхности эндосомы. Имея типичное для TLR строение, он способен запускать,

по меньшей мере, два разных сигнала (см. рис. 4). Как и другие внутриклеточные TLR-рецепторы, он распознает нуклеиновые кислоты, в частности связывает вирусную двухспиральную РНК (дсРНК), а также два синтетических лиганда TLR3, имитирующих дсРНК, — полирибоинозиновую-полирибоцитидиловую (поли I:C) и полиаденилову-полиуридиловую (поли A:U) кислоты [94]. После связывания с TRIF, последний может рекрутировать TRAF3 или TRAF6 (см. рис. 4). В первом случае нисходящий сигнал завершается экспрессией ИФН 1-го типа, во втором — сигнал активирует TAK1-киназу с последующей активацией NF-κB и синтезом провоспалительных цитокинов. Важно отметить, что активация TLR3 приводит к примированию перекрестно-реагирующим антигеном $CD8^+$ Т-клеток посредством молекул 1-го типа главной системы гистосовместимости (major histocompatibility complex — MHC) с последующей генерацией цитотоксических лимфоцитов [34, 94]. Кроме того, TRIF-зависимый сигналинг, следующий за активацией TLR3, приводит к увеличению синтеза ИФН 1-го типа, который еще больше усиливает этот процесс [94]. Показано, что синтетический лиганд TLR3, поли I:C, при его совместном интраназальном применении с инактивированной гриппозной вакциной активирует секреторный и системный гуморальные ответы, что сопровождается комплексной защитой против гомологичных и гетерологичных вирусов, в частности вирусов гриппа, включая высокопатогенный серотип H5N1 [146, 279].

TLR4 был первым рецептором этого семейства, идентифицированным у млекопитающих, и считается наиболее изученным членом среди всех TLR [95, 203]. Это поверхностный трансмембранный рецептор, TIR-домен которого, как и у других трансмембранных TLR-рецепторов, расположен на внутренней стороне цитоплазматической мембраны. TLR4 распознает бактериальные липополисахариды (ЛПС), компоненты наружной мембраны грам-негативных бактерий, вызывающих септический шок, белки некоторых опухолей (меланома), для чего он нуждается в ML2, CD14 и ЛПС-связывающем белке [20, 162, 235, 328]. Кроме того, TLR4 участвует в распознавании слитых белков респираторно-синцитиального вируса, оболочечных белков вируса опухоли мо-

лочной железы мышей, пневмолизина *Streptococcus pneumoniae* и выделенного из растений цитостатического препарата паклитаксел (paclitaxel) [153].

Перенос сигнала с TLR4 может осуществляться двумя путями — MyD88-зависимым и TRIF-зависимым. Выбор пути зависит от места его локализации. В процессе распознавания бактериальных продуктов TLR4 проводит сигнал по MyD88-зависимому пути (см. рис. 4) [124]. После активации MyD88-зависимого пути TLR4 подвергается динаминзависимому эндоцитозу и перемещается в эндосому, где формирует сигнальный комплекс с TRAM и TRIF, но не с TIRAP и MyD88, что завершается активацией IRF3 и экспрессией ИФН 1-го типа [20, 162].

Таким образом, TLR4 способен регулировать воспалительный ответ и интерфероногенез. Это свойство может быть использовано при разработке новых фармакологических препаратов [95].

TLR5 экспрессированы на поверхности многих клеток. Как и другие поверхностные TLR, они переносят нисходящий сигнал посредством MyD88-зависимого пути. Агонистом для этого рецептора является флагеллин [20]. Последний представляет собой белок, участвующий в формировании жгутиков многих бактерий, таких как *Helicobacter pylori, Vibrio cholera* [308], флагеллиноподобный протеин у *Campylobacter jejuni* и др. Флагеллин взаимодействует с TLR5 через консервативный D1 домен [95]. Растворимые мономерная и полимерная формы лиганда, как показано в экспериментальных моделях, взаимодействуют с TLR5 и проявляют адъювантные свойства, включая увеличение количества костимулирующих молекул на дендритных клетках, их последующее созревание или активацию, пролиферацию Т-клеток и секрецию моноцитами IL-10 и TNF-α.

TLR9 представляет собой внутриклеточный рецептор, вовлеченный в распознавание ДНК бактериального и вирусного происхождения, а также собственной ДНК в составе иммунных комплексов. Как и другие эндосомальные TLR, он передает нисходящий сигнал через MYD88 путь, активируя NF-κB и запуская экспрессию провоспалительных цитокинов [163]. Кроме того, он

также может действовать и через IRF7-сигналинг, запуская экспрессию ИФН 1-го класса [20, 162].

TLR9 определяет чужеродную ДНК по присутствию неметилированных CpG мотивов. TLR9 экспрессируется В-клетками и плазмацитоподобными дендритными клетками. Кроме того, TLR9 активирует NK-клетки, Т-клетки, В-клетки, моноциты и макрофаги [94]. В результате запускается экспрессия провоспалительных цитокинов Th1 типа: IL-6, IL-1, TNF-α, ИФНγ и IL-12 [95]. В свою очередь, активация Th1 иммунитета, а также экспрессия IL-12 и ИФН 1-го типа вызывают сильную активацию цитотоксических Т-лимфоцитов, способных уничтожать вирусные патогены и опухолевые клетки. Кроме того, активация TLR9 на В-клетках сопровождается формированием клеточных и гуморальных ответов [113, 335].

TLR7 и **TLR8** являются трансмембранными белками, которые структурно близки между собой и экспрессированы на эндосомах. Их основное предназначение — распознавание преимущественно вирусных нуклеиновых кислот, к числу которых относятся двуспиральная РНК из вирусов, богатых U или GU олигонуклеотидами, таких как RNA40 и U5 области ВИЧ-1 RNA, а также вирусы гриппа, Коксаки, вирус гепатита С [87, 190, 303]. Активация TLR7/8 также может достигаться синтетическими лигандами, известными как имидазолхинолины, такими как R-848 (Резихимод) или R-837 (Имихимод), имеющими некоторое структурное сходство с гуанозином (*рис. 5*). Имихимод преимущественно активирует TLR7, а резихимод — TLR7 и TLR8 [132].

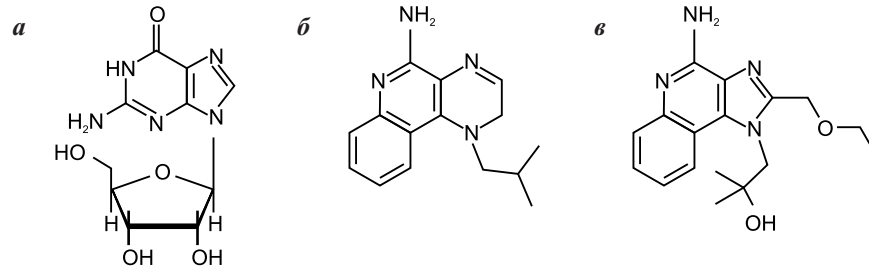


Рис. 5. **Структурная формула гуанозина (*а*), имихимода (*б*) и резихимода (*в*)**

TLR7 экспрессирован, в основном, в легких, мозге, желудке, плаценте и мононуклеарных клетках периферической крови, а также в дендритных клетках, моноцитах, макрофагах и В-лимфоцитах [221]. У человека TLR7 состоит из 1049 аминокислот, имеет эктодомен из двадцати семи богатых лейцином повторов (LRR — leucine-rich repeat), трансмембранный домен (TM) и цитоплазматический (TIR) домен [192, 200]. Эктодомен локализован в эндосоме и подвергается воздействию кислого pH [149]. Активация TLR7 тесно связана с протеолитическим созреванием во внутренней зоне между LLR14 и 15, в пределах нескольких предполагаемых участков протеолитического расщепления [139, 199]. Кроме того, удаление N-конца имеет важное значение для сигналинга, но не для связывания лиганда; таким образом, может произойти процесс реассоциации, аналогичный таковому на TLR8 [103, 295].

Исходно TLR7 и TLR8 локализованы в плазматической сети, но затем мигрируют в эндосому, где встречаются с агонистами. Эта миграция происходит при посредничестве резидентного эндоплазматического белка UNC93B1, ассоциированного как с TLR7, так и TLR8. Интересно, что эти рецепторы обладают клеточно-специфичной локализацией. Рецептор, мигрировавший в эндосому, активируется под воздействием природного (например вирусной РНК) или синтетического (имихимод) лиганда и запускает нисходящий сигналинг. На *рис. 6* представлена очень упрощенная схема прохождения сигнала от TLR7/8, локализованных на эндосоме к ядру клетки. С помощью этой схемы мы хотели показать, что эти рецепторы способны реагировать на агонист по обоим сигнальным путям. Это сопровождается, с одной стороны, синтезом провоспалительных цитокинов, а с другой — выработкой значительного количества ИФН 1-го типа. Показано, что для продукции ИФН 1-го типа необходим комплекс MyD88 и IRF7, дополнительно содержащий такие факторы, как TRAF3, TRAF6, IRAK4, IRAK1, IKKa, OPNi, и Dock2 [265]. В составе этого комплекса IRAK1 и/или IKKα фосфорилирует IRF7, который транслоцируется в ядро, где запускает экспрессию ИФН 1-го типа. Одновременно с этим другой комплекс, включающий MyD88-IRAK4-TRAF6 (последний на рис. 6 не показан), запускает комплекс NF-κB, ответственный за

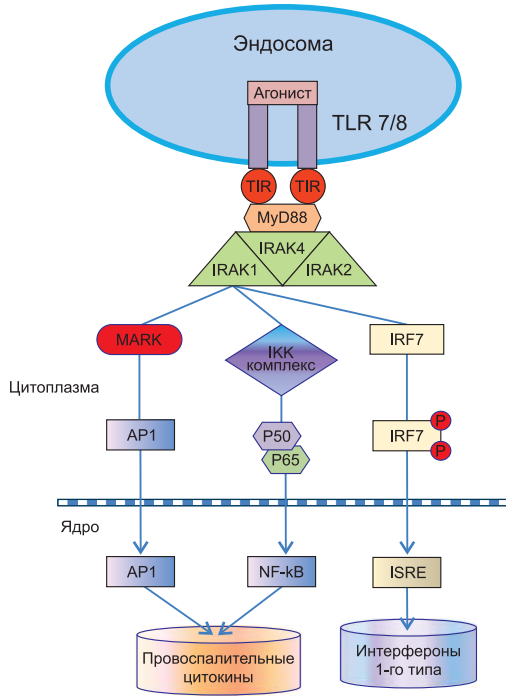


Рис. 6. **TLR7/8-сигналинг**
(для упрощения приведены только ключевые молекулы) [275]:
AP1 — активаторный белок 1; **IKK** — IκB киназы; **IRAK** — киназа, ассоциированная с рецептором IL-1; **IRF** — регулирующий фактор интерферона; **ISRE** — стимулированный интерфероном респонсивный элемент; **MAPK** — активированная митогеном протеинкиназа; **MyD88** — первичный отвечающий ген 88 миелоидной дифференцировки; **NF-κB** — ядерный фактор-κB; **TIR** — Толл/IL-1-рецептор

экспрессию провоспалительных цитокинов [163]. Эта способность запускать одновременно или последовательно два сигнальных пути объясняет фармакологическую эффективность синтетических агонистов TLR7/8 — имихимода и резихимода — при лечении папилломавирусной инфекции и других заболеваний, в том числе базально-клеточной карциномы, плоскоклеточного рака, актинического кератоза и др.

Резюмируя общие и весьма краткие описания TLR, отметим, что открытие патогенраспознающих рецепторов послужило мощ-

ным толчком к разработке новых фармакологических средств лечения многих заболеваний. Глава эта еще далеко не закрыта, и с каждым днем появляются все новые данные, свидетельствующие о важнейшей роли этих рецепторов в поддержании гомеостаза и устойчивости организма к различным патологическим воздействиям. Одним из перспективных направлений в этом отношении является поиск новых синтетических агонистов TLR и их применение в фармакологии. Примером такого подхода является, например, синтез и изучение агониста TLR7 — имихимода, завершившееся разработкой и последующим использованием его в медицинской практике для топического применения.

Глава 2

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СИНТЕЗА

Из истории имидазолхинолинов. Создание кольца имидазол-[4,5-c]-хинолина впервые описано O. G. Backeberg и соавт. в 1938 г. [36]. Однако результаты, описанные и в этом, и в следующем сообщении тех же авторов [37], были спустя несколько лет опровергнуты в работе E. Koenigs, J. Freund [167] на основании более точного анализа структуры полученных продуктов.

Первым корректно описанным синтезом 1H-имидазол[4,5-c]-хинолина считается работа G. V. Bachman и соавт. [35], в которой приведено получение и применение в качестве противомалярийного препарата 1-(6-метокси-8-хинолинил)-2-метил-1H-имидазол[4,5-c]-хинолина.

A. R. Surrey и соавт. [288] синтезировали 3-нитро- и 3-амино-4-диалкиламино-алкиламинохинолины для использования в качестве противомалярийных и антибактериальных препаратов.

Свойствами антиконвульсанта и препарата для лечения сердечно-сосудистых заболеваний обладал синтезированный [2-(4-пиперидил)этил]-1H-имидазол[4,5-c]-хинолин.

Европейский патент EP-A-145,340 заявил 1H-имидазол[4,5-c]-хинолины в качестве бронходилататоров, а 1H-имидазол[4,5-c] хинолина-4-амин — как противовирусное средство.

Приведенные выше примеры показывают, что химия имидазолхинолинов достаточно интересна, а их биологическое дей-

ствие может распространяться на ЦНС, сердечно-сосудистую систему, а также на бактериальные и вирусные инфекции.

Строение, физические и химические свойства. Представитель класса имидазолхинолинов имихимод имеет структуру, представленную на *рис. 7*.

IUPAC: 1-(2-метилпропил)-1H-имидазол[4,5-c]-хинолин-4-амин. Брутто формула — $C_{14}H_{16}N_4$, MW-240, 304 Da, твердое вещество белого цвета. Растворим в DMSO: 3 mg/mL, в H_2O: < 1 mg/mL, в EtOH: < 1 mg/mL; растворим в жирных кислотах, $T_{пл}$ — 294 °C, LogP — 3.457, pKa —7.3.

Спектр (*рис. 8*) имеет типичные полосы поглощения с характеристическими частотами соответствующих функциональных групп: 566, 693, 759 (C-H ароматическая связь), 1034, 1183, 1396, 1465, 1530, 1583, 1647, 1696, 3096 (-NH_2), 3178 (ароматическая связь), 3333 (N-H).

Данные ЯМР-спектроскопии приведены на *рис. 9*. Спектр снят в дейтерированном диметилсульфоксиде при 300 MHz. В процессе снятия спектра были получены следующие сигналы:

- 0,9 м. д. синглет (-CH_3);
- 2,2 м. д. мультиплет (-N-CH_2-CH-(CH_3)$_2$);
- 4,4 м. д. дуплет (-N-CH_2-CH-(CH_3)$_2$);
- 6,5 м. д. синглет (-NH_2);
- 7,2 м. д.; 7,4 м. д. триплет (-CH-) у 7 и 8 атомов углерода хинона;
- 7,6 м. д.; 8,0 м. д. дуплет (-CH-) у 6 и 9 атомов углерода кольца хинона;
- 8,1 м. д. синглет (-CH-) у 2 атома углерода имидазольного кольца.

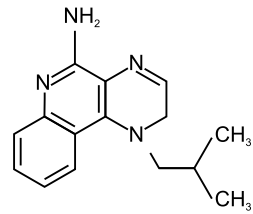


Рис. 7. **Структурная формула имихимода**

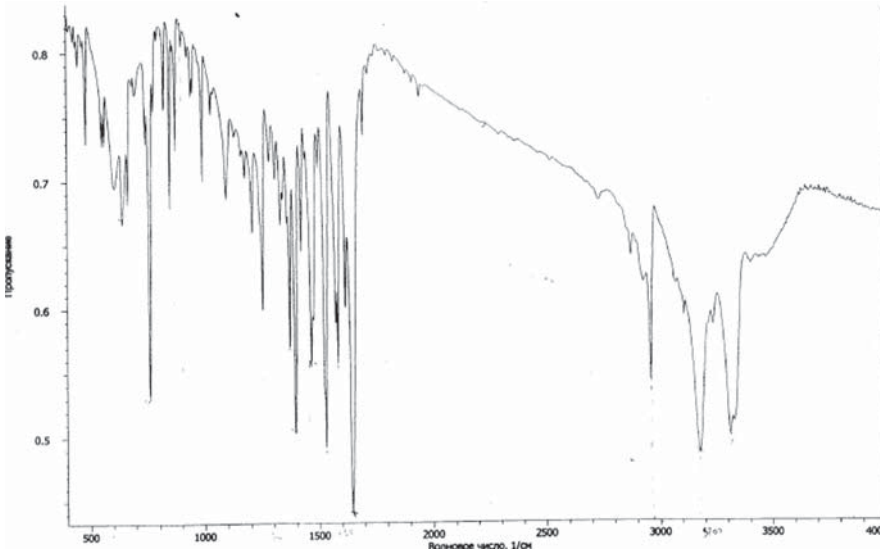


Рис. 8. **ИК-спектр имихимода.**
Приведен инфракрасный спектр препарата, снятый в диске с KBr (1,0 мг препарата в 300,0 мг KBr) в области от 4000 до 400 $см^{-1}$

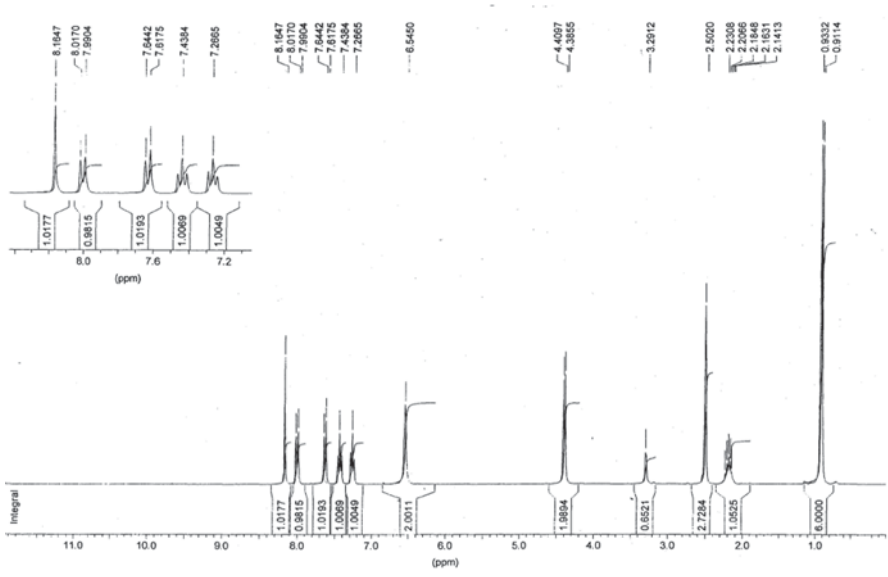


Рис. 9. **Спектр протонного магнитного резонанса имихимода**

Данные ПМР-спектроскопии в хлороформе:

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 1.08 (d, 6H); 2.37–2.43 (m, 1H); 4.41 (d, 2H); 7.73 (ddd, 1H, J_1=7.0 J_2=8.5 J_3=1.5 Hz); 7.68 (ddd, 1H, J_1=7.0 J_2=8.3 J_3=1.3 Hz); 8.09–8.13 (m, 2H); 8.22–8.27 (m, 1H).

Таким образом, результаты исследования методом протонного магнитного резонанса показали, что химические сдвиги сигналов протонов соответствуют структуре вещества $C_{14}H_{16}N_4$.

Синтез. В настоящее время известно четыре схемы получения субстанции имихимода.

Первая схема, представленная на *рис. 10*, начинается с реакции хинолина (2) с хлороксидом фосфора, в ходе которой ОН-группа в положении 4 замещается на Cl (соединение 3). Далее проводят реакцию с изобутиламином в присутствии триэтиламина. Полученное соединение (4) восстанавливают в толуоле методом каталитического гидрогенолиза на платиновом катализаторе (Pt/C) с получением дизамещенного хинолина (5), имеющего аминогруппы в положениях 3 и 4. На следующей стадии реакция с триэтил-орто-эфиром приводит к замыканию кольца и получению 1Н-имидазол[4,5-с]-хинолинового производного (6). Последующее окисление атома N в пятом положении и введение Cl хлороксидом фосфора приводит к соединению (1), которое после обработки аммиаком в метаноле дает имихимод. К недостаткам этой схемы можно отнести большое число нитросоединений (2, 3, 4 и 7), которые, как известно, требуют обеспечения особой пожаро- и взрывобезопасности процесса.

Вторая схема синтеза имихимода (*рис. 11*) начинается с нитрования соединения (9) с последующим введением двух атомов хлора в положения 2 и 4 соединения (10), с получением 2,4-дихлорнитрохинолина (11). Реакция с изобутиламином позволяет получить промежуточный продукт (12). Далее следует восстановление нитрогруппы в положении 3, с последующей конденсацией хинолина, имеющего аминогруппы в 3 и 4 положениях (13), который после реакции с триалкил-ортоэфиром дает 4-хлор-1Н-имидазол [4,5-с]хинолин (1). Соединение (1) обрабатывают аммиаком в метаноле с получением имихимода. Этот метод также является сложным и трудоемким, а неоднократное использование нитропроизводных (10, 11 и 12) включает вышеупомянутые риски.

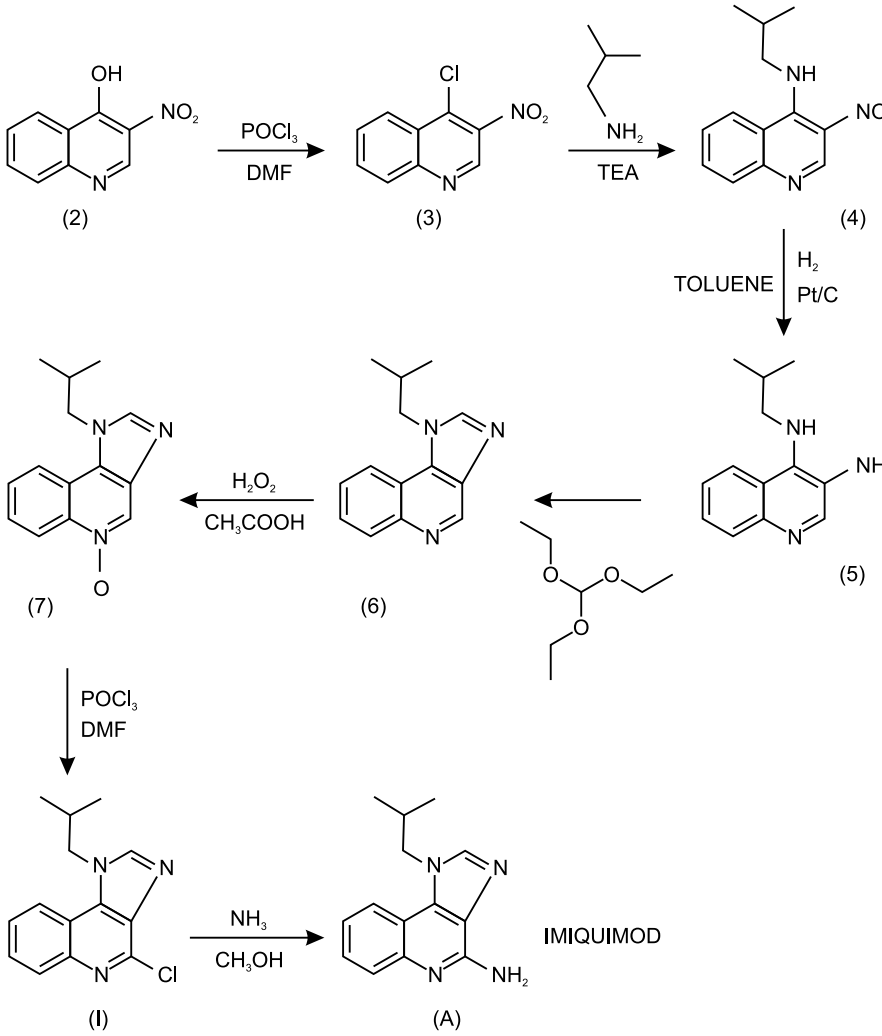


Рис. 10. **Первая схема получения имихимода**

Третья схема синтеза (*рис. 12*) представлена в патенте № WO 97/48704. Процесс включает получение промежуточного продукта (15), которое требует, в частности, использования азотной кислоты и азида натрия. Это соединение, а также другие промежуточные продукты, характеризуется одновременным присутствием нитрогруппы и тетразольного кольца. Как известно, подобное со-

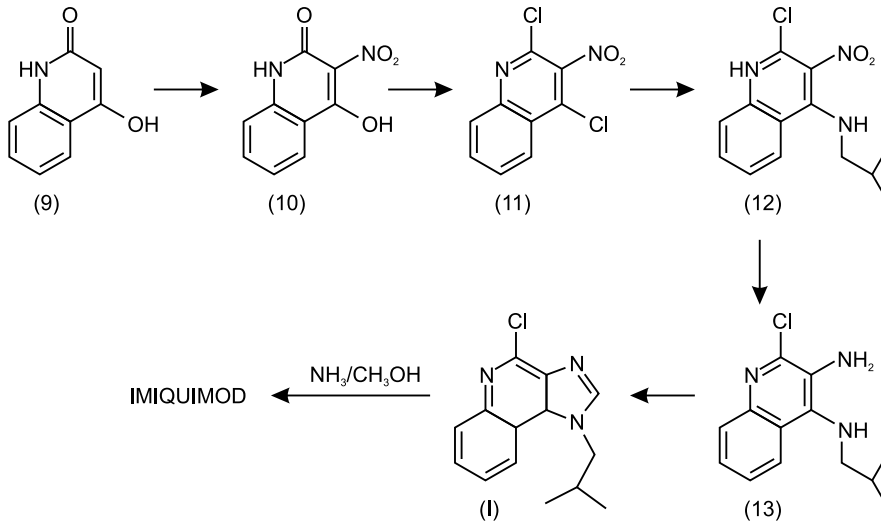


Рис. 11. **Вторая схема получения имихимода**

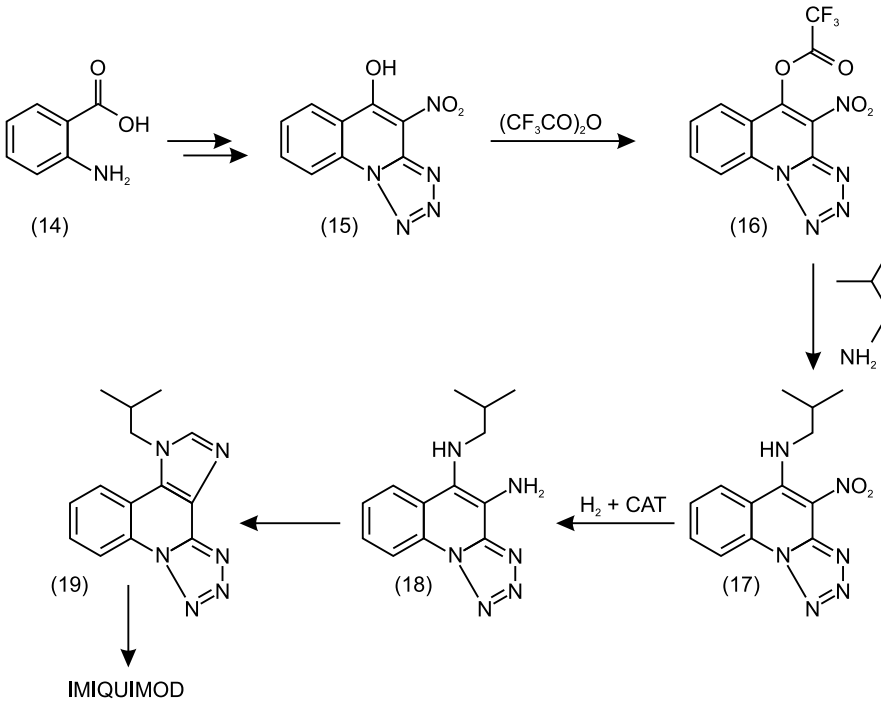


Рис. 12. **Третья схема получения имихимода**

четание функциональных групп делает молекулу нестабильной, а само вещество — взрывоопасным. Кроме того, эти синтезы также являются длительными и трудоемкими.

Четвертый, лабораторный способ получения имихимода, предложенный в патенте EP 1529781 A1, основан на реакции 1-изобутил-1,5-дигидро-имдазо[4,5-а]-хинолин-4-она с хлорирующим агентом (*рис. 13*).

Готовая лекарственная форма — крем Вартоцид. Главной целью при разработке Вартоцида (имихимод крем 5% для наружного применения) было создание доступного препарата для лечения аногенитальных бородавок в виде фармацевтической композиции в лекарственной форме «крем для местного применения», содержащей комбинацию имихимода, олеиновой кислоты и моноэтилового эфира диэтиленгликоля, обладающей высоким терапевтическим эффектом вследствие хорошей чрескожной проникающей способности, отсутствием аллергических реакций, стабильностью при хранении. Эти качества достигаются за счет оптимального соотношения компонентов и совершенствования технологии изготовления.

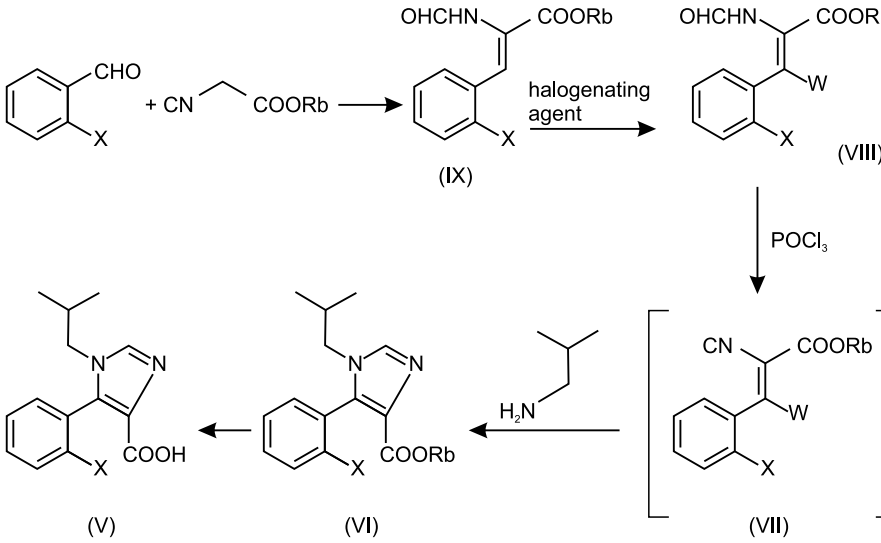


Рис. 13. **Четвертая схема получения имихимода**

Имихимод представляет собой планарную ароматическую молекулу, которая обладает свойством образовывать межмолекулярные связи за счет стекинг-взаимодействия. Сильные межмолекулярные связи и способность к стекингу делают имихимод нерастворимым в воде и большинстве органических растворителей. Стоит отметить, что растворы имихимода также крайне нестабильны из-за образования межмолекулярных ассоциатов, которые с течением времени выпадают в осадок.

Разработка способа доставки имихимода к различным слоям дермы является очень сложной задачей из-за его крайне низкой растворимости в большинстве фармацевтически приемлемых растворителей и плохой кожной проницаемости.

Вследствие вышеуказанных свойств лекарственная форма имихимода может быть создана в виде эмульсионной композиции. Такие композиции типа «масло в воде», содержащие имихимод, могут быть получены путем приготовления масляной фазы — растворения имихимода в жирной кислоте с последующим добавлением воды. Содержание воды в фармацевтической композиции может составлять 45–85 %. Стоит отметить, что содержание воды в составе крема не должно быть высоким, так как в эмульсии молекулы имихимода будут избыточно контактировать с молекулами воды с образованием водородных связей между ними. Это может привести к образованию межмолекулярных ассоциатов с их последующим осаждением.

Для достижения желаемого клинического эффекта имихимод, применяемый местно, должен пройти сквозь верхние слои кожи и взаимодействовать с клетками эпидермиса. Это является сложной задачей, поскольку, несмотря на маленькую молекулярную массу, имихимод плохо проникает через кожу, вероятно из-за очень низкой растворимости в роговом слое и нижележащих тканях. Эпидермальная концентрация, необходимая для терапевтической эффективности имихимода, в настоящее время неизвестна. Исследования на культурах клеток показали, что самая низкая эффективная концентрация, индуцирующая продукцию цитокинов, составляет 0,1–0,5 мкг/мл [211], в то время как высокие концентрации (25–50 мкг/мл) обладают прямой проапоптозной активностью [263].

Для подбора оптимального состава готовой лекарственной формы было проведено исследование растворимости субстанции имихимода в различных фармацевтически приемлемых растворителях. Растворы были получены после 24-часового перемешивания на магнитной мешалке при комнатной температуре, после удаления нерастворившегося остатка. Количество растворившегося вещества определяли методом ВЭЖХ с использованием колонки С18. Самая высокая растворимость имихимода отмечена в олеиновой кислоте — 74 мг/мл (*табл. 2*). В случае использования полиэтиленгликолей (ПЭГ) растворимость линейно возрастала с ростом молекулярной массы [299].

I. Telo и соавт. также исследовали чрескожное проникновение имихимода из его насыщенных растворов на различных моделях — цельная свиная кожа, кожный лоскут — эпидермис и дерма, изолированная дерма. Полученные после 6-часовой аппликации соответствующего насыщенного раствора результаты приведены в *табл. 3*. Из данных таблицы видно, что проникновение имихимода в различные слои кожи во многом определяется проникающей способностью растворителя, то есть его ведущей ролью в проникновении и удержании имихимода в различных слоях кожи.

Таблица 2. **Растворимость субстанции имихимода в различных растворителях**

Растворитель	Молекулярная масса	Растворимость, мг/мл
Олеиновая кислота	286,46	73,86 ± 14,2
Твин-80	1310	0,66 ± 0,02
Моноэтиловый эфир диэтиленгликоля	134,7	1,11 ± 0,07
ПЭГ 600	600	12,83 ± 1,58
ПЭГ 400	400	7,3 ± 1,84
ПЭГ 200	200	1,98 ± 0,38
2-Пирролидон	85,1	1,64 ± 0,12
Диметилсульфоксид	78,13	1,29 ± 0,13

Таблица 3. **Содержание имихимода в дермальных моделях после 6-часовой аппликации насыщенных растворов [299]**

Растворитель	Дермальная модель	Эпидермис, мкг/см^2	Дерма, мкг/см^2	Кожа, мкг/см^2
Твин-80	Цельная свиная кожа	0,26 ± 0,08	0,06 ± 0,03	0,33 ± 0,06
2-Пирролидон	Цельная свиная кожа	0,48 ± 0,27	0,22 ± 0,22	0,69 ± 0,48
Моноэтиловый эфир диэтилен-гликоля	Цельная свиная кожа	0,32 ± 0,14	0,06 ± 0,04	0,38 ± 0,17
ПЭГ 200	Цельная свиная кожа	0,12 ± 0,12	0,06 ± 0,07	0,17 ± 0,19
ПЭГ 400	Цельная свиная кожа	0,20 ± 0,05	0,23 ± 0,13	0,43 ± 0,16
ПЭГ 600	Цельная свиная кожа	0,79 ± 0,63	0,36 ± 0,20	1,14 ± 0,81
	Кожный лоскут	1,39 ± 1,05	0,40 ± 0,12	1,79 ± 0,98
	Изолированная дерма	—	61,90 ± 20,79	61,90 ± 20,79
Олеиновая кислота	Цельная свиная кожа	1,02 ± 0,38	0,61 ± 0,10	1,62 ± 0,40
	Кожный лоскут	3,16 ± 0,93	1,05 ± 0,74	4,03 ± 1,20
	Изолированная дерма	—	2,80 ± 2,44	2,80 ± 2,44
Диметилсуль-фоксид	Цельная свиная кожа	0,61 ± 0,08	0,41 ± 0,33	1,02 ± 0,27

На основании приведенных данных литературы было принято решение использовать в качестве основного растворителя для имихимода олеиновую кислоту, а в качестве вспомогательного — моноэтиловый эфир диэтиленгликоля, обладающий проводниковыми свойствами. Таким образом, лекарственная форма в виде крема должна содержать комбинацию имихимода, олеиновой кислоты и моноэтилового эфира диэтиленгликоля, обладать высоким терапевтическим эффектом, хорошей чрескожной проникающей способностью, отсутствием аллергических реакций,

стабильностью при хранении за счет оптимального соотношения компонентов.

Олеиновая кислота — одноосновная ненасыщенная карбоновая кислота, бесцветная вязкая жидкость, температура кипения 225–226 °С (10 мм рт. ст.), плотность 0,825 г/см^3 (20 °С). Получают олеиновую кислоту главным образом из оливкового масла, в котором содержание её достигает 70–85 %. Она легко растворяется в этаноле, не растворяется в воде, хорошо смешивается с маслами в любых пропорциях, совместима с пропиленгликолем, лецитином, пальмитиновой, стеариновой и линолевой кислотами, фосфолипидами, витаминами (в том числе Е и А), керамидами. Олеиновая кислота в здоровой коже находится в балансе с линолевой кислотой в соотношении 1,4:1. В отличие от линолевой кислоты, которая проникает в кожу быстро, но неглубоко, олеиновая кислота проникает в глубокие ее слои, но не очень быстро, что делает ее идеальной основой лекарственных форм в виде крема для местного применения.

Моноэтиловый эфир диэтиленгликоля — современный транскутанный проводник, обладающий высокими проводниковыми свойствами, что обеспечивает дозированную доставку имихимода через кожу вглубь тканей и благодаря своей высокой растворяющей способности выполняет роль эффективного связующего для прочих компонентов готовой лекарственной формы. Моноэтиловый эфир диэтиленгликоля обладает также важным свойством дозированного высвобождения введенных вглубь тканей активных веществ (в нашем случае имихимода). Транскутанные свойства моноэтилового эфира диэтиленгликоля в 2,5 раза выше, чем у диметилсульфоксида, он не вызывает аллергических реакций и не обладает столь резким запахом. Применение моноэтилового эфира диэтиленгликоля в приготовлении основы крема Вартоцид обеспечивает очевидные преимущества как с точки зрения физико-химических характеристик готовой формы, так и с точки зрения характеристик высвобождения и абсорбции препарата. В частности, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля особенно эффективно повышает абсорбцию активного ингредиента благодаря своей способности растворять дермальный липидный барьер, обладает пленкообразующими свойствами.

Таким образом, выбор олеиновой кислоты и моноэтилового эфира диэтиленгликоля в качестве растворителей для субстанции имихимода и в составе крема Вартоцид научно обоснован. Состав готовой лекарственной формы крема Вартоцид (на 1 г) приведен ниже.

Активное вещество, на 1 г крема:	***Количество***
Вартоцид крем 5%	50,0 мг
Вспомогательные вещества:	
Феноксиэтанол	2,0 мг
Метилпарагидроксибензоат	2,0 мг
Пропилпарагидроксибензоат	1,0 мг
Олеиновая кислота	350,0 мг
Диэтиленгликоля моноэтиловый эфир	35,0 мг
Карбомер (карбомер интерполимер)	1,5 мг
Карбомер (карбомер кополимер)	2,5 мг
Полисорбат-20	2,5 мг
Троламин	2,0 мг
Вода очищенная	До 1000,0 мг

Устойчивость эмульсионных систем. На последующих этапах оценивали устойчивость созданного эмульсионного крема Вартоцид в сравнении с имеющимися аналогами — оригинальным препаратом Aldara® и воспроизведенным аналогом Кераворт. В фармацевтической промышленности предъявляются жесткие требования к стабильности эмульсий. Под этим в основном подразумевается коллоидная стабильность — отсутствие расслаивания эмульсионной композиции при центрифугировании — и термостабильность — отсутствие расслаивания при длительном нагревании [53].

В эмульсиях могут происходить следующие процессы:

– прямая или обратная седиментация;
– флокуляция;
– обращение фаз;
– коалесценция;
– Оствальдово созревание [297].

Процесс седиментации происходит под влиянием внешних сил — гравитационных и центробежных. Наблюдается осаждение или всплытие капель эмульсии. Седиментационная устойчивость характеризует способность дисперсной фазы сохранять равномерное распределение частиц дисперсной фазы по всему объему. Седиментационная устойчивость эмульсии определяется в первую очередь размером частиц. Чем меньше размер капель, тем больше они участвуют в броуновском движении и седиментации практически не подвергаются.

Флокуляция — объединение двух и более капель в агрегаты, является следствием действия ван-дер-ваальсовых сил, которые обратно пропорциональны расстоянию между каплями.

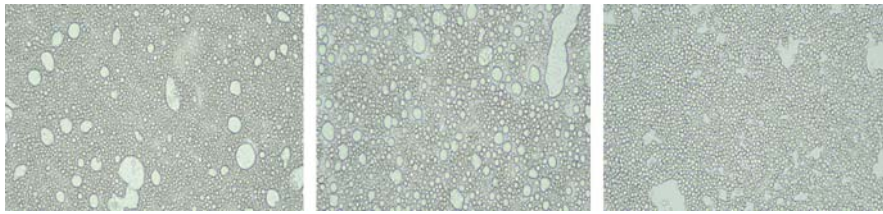
Обращение фаз, то есть изменение типа эмульсии от «масло в воде» до «вода в масле» и наоборот, может происходить при изменении факторов, влияющих на гидрофильно-липофильный баланс, или при изменении концентрации раствора в дисперсной фазе.

Коалесценция представляет собой процесс слияния нескольких капель эмульсии, при котором выделяются в чистом виде отдельные компоненты эмульсии. При соприкосновении двух капель их поверхностная пленка истончается и разрывается, в результате чего капли объединяются вместе, при этом часть их содержимого выделяется наружу [296].

Сравнительное микроскопическое исследование Вартоцида, оригинального препарата Aldara® и воспроизведенного аналога Кераворта. С целью изучения степени дисперсности крема Вартоцид было проведено его микроскопическое исследование в сравнении с оригинальным препаратом Aldara® и воспроизведенным аналогом Керавортом (*табл. 4, рис. 14*). Из приведенных микрофотографий можно сделать вывод об идентичности эмульсий препарата Aldara® (*а*) и Вартоцид (*в*). Степень диспергирования жировой фазы для обоих препаратов одинакова, размер капелек дисперсной фазы составляет менее 5,0 мкм. Степень флокуляции для этих проб незначительна и не различается от препарата к препарату. Малый размер капелек жировой фазы обеспечивает эмульсиям высокую седиментационную устойчивость. Эмульсия препарата Кераворт менее однородна, размер капелек дисперсной фазы для составляет 5–10 мкм, при этом наблюдается

Таблица 4. **Характеристика оригинального (Aldara®) и воспроизведенных препаратов (Кераворт, Вартоцид) 5% крема имихимода**

Образец	Описание	Количество, %	Размер частиц эмульсии, наличие кристаллов
Aldara®	Крем белого цвета, однородный, без комочков и посторонних включений, без расслоения	4,84	Кристаллы не обнаружены. Ровная гомогенная эмульсия с капельками размером менее 5 мкм (на микрофотографии возможно наличие пузырьков воздуха), см. рис. 14, а
Кераворт	Крем белого цвета, однородный, без комочков и посторонних включений, без расслоения	5,05	Кристаллы не обнаружены. Ровная гомогенная эмульсия с капельками размером 5–10 мкм (на микрофотографии возможно наличие пузырьков воздуха), см. рис. 14, б
Вартоцид	Крем белого цвета, однородный, без комочков и посторонних включений, без расслоения, со специфическим запахом	4,99	Кристаллы не обнаружены. Ровная гомогенная эмульсия с капельками размером менее 5 мкм (на микрофотографии возможно наличие пузырьков воздуха), см. рис. 14, в



а ***б*** ***в***

Рис. 14. **Дисперсность препаратов Aldara® (*а*), Кераворт (*б*), Вартоцид (*в*), производимых в виде 5% эмульсионного крема типа «масло в воде».** Микроскоп МИКМЕД-6, ув. 400 (окуляр ×10, объектив ×40) в обычном свете

небольшое количество слипшихся, агрегировавших капелек жировой фазы.

Таким образом, физико-химические исследования показали, что воспроизведенный препарат Вартоцид по этим параметрам полностью соответствует оригинальному прототипу и, учитывая приведенные в последующих главах результаты изучения биологической и клинической эффективности, с достаточным основанием может быть признан соответствующим препарату Aldara®.

Внутриклеточные мишени имихимода. Для липофильных, гидрофобных соединений, имеющих внутриклеточный рецептор, всегда крайне актуален вопрос о проникновении вещества в клетку. Исследования на плазмацитоподобных дендритных клетках (для которых TLR7 и TLR8 являются единственными экспрессируемыми молекулами из семейства TLR) показали, что имихимод концентрируется в LAMP1+CD63+HLA-DR+ эндосомах. Белки LAMP1 и CD63 представляют собой маркеры поздних эндосом и лизосом, для которых характерен кислый pH. У плазмацитоподобных дендритных клеток эндолизосомальный компартмент специализирован на антигенной презентации через MHCII, поэтому можно сказать, что имихимод локализуется в MHC. Но так как имихимод представляет собой слабое основание, способное к пассивной диффузии сквозь клеточную мембрану, высказано предположение, что в начале имихимод пассивно проникает в клетку, после чего аккумулируется в MHC, где протонируется и уже не выходит наружу [252].

Как уже говорилось выше, имихимод является агонистом TLR7. Рецептор представляет собой трансмембранный белок с внутриклеточной локализацией на мембране эндосомы. TLR7 экспрессируется, главным образом, в легких, головном мозге, желудке, плаценте, а также в мононуклеарных клетках периферической крови, таких как дендритные клетки, моноциты, макрофаги и B-лимфоциты [293]. В организме человека этот белок состоит из 1049 аминокислот, сгруппированных в эктодомен с 27 лейцин-богатыми регионами (LLR), трансмембранный домен и цитозольный TIR домен рецептора [192]. Эктодомен располагается внутри эндосомы. В процессе активации рецептора эктодомен

подвергается воздействию кислого pH, отщепляется и перемещается в ядрышко [199]. Активация TLR7 вообще сильно зависит от протеолитических процессов, происходящих внутри зоны между 14 и 15 LLR [139]. Интересно, что удаление N-концевого участка рецептора имеет значение только для сигналинга, но не для связывания с лигандом [145]. Процессы рецепторной перестройки для TLR7 и TLR8 аналогичны, что еще раз говорит об их структурном сходстве [103, 151].

Как известно, математические методы моделирования являются одним из основных способов прогнозирования структуры рецепторов, а также форм лиганд-рецепторного взаимодействия. Гомологичное моделирование *in silico* представляется надежным методом предсказания 3D-структуры белка, особенно при отсутствии данных рентгеноструктурного анализа и кристаллографии, как в случае с TLR7.

Считается, что корректные данные после выравнивания аминокислотных последовательностей для исследуемого белка-рецептора могут быть получены, если расхождения в аминокислотной последовательности между ним и белком-шаблоном не превышают 30% [317]. Аминокислотные последовательности TLR7 и TLR8 имеют 72,7% сходства, а кодирующие их гены идентичны на 42,3% [4]. На *рис. 15* приведена модель димерной формы рецептора TLR7, полученной методом гомологичного моделирования с использованием данных кристаллографии для TLR8 [111].

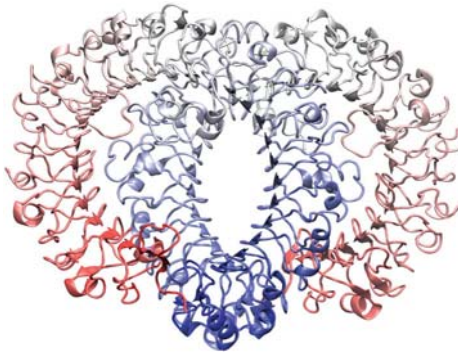


Рис. 15. **Новая модель димера TLR7, полученная с использованием кристаллографической структуры TLR8 в качестве шаблона.** N-конец пептидной цепи выделен красным, С-конец – синим цветом

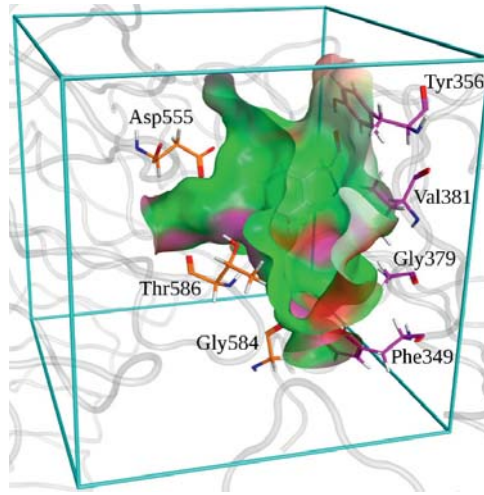


Рис. 16. **Зона связывания для TLR7** [111] (пояснение в тексте)

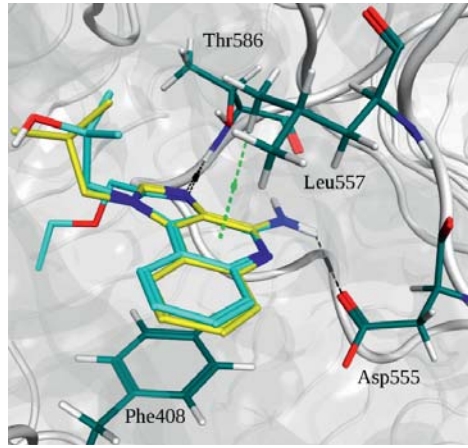


Рис. 17. **Ориентация молекул производных имидазолхинолина внутри связывающего центра TLR7.**

Основные взаимодействующие атомы углерода для имихимода выделены желтым цветом. Основные взаимодействующие атомы углерода для резихимода показаны голубым. Взаимодействующие атомы углерода аминокислотных остатков — темно-зеленые. Атомы водорода — синие. Полярные атомы водорода выделены белым цветом. Атомы кислорода — красные. Поверхность рецепторного кармана показана серым цветом. Водородные связи — черные. C-H-π взаимодействие сопряженной системы имихимода и алифатического радикала Leu557 выделено светло-зеленым

С помощью молекулярного докинга была определена трехмерная структура связывающего кармана TLR7 (*рис. 16*) [117, 317]. Было показано, что зона связывания рецептора расположена вокруг остатков Asp555 и Thp574/586. Гидрофобная зона выделена зеленым цветом, полярный участок — фиолетовым, зоны молекулы, обращенные к растворителю, показаны красным, связывающий участок рецептора, используемый для работе в программе Autodock, — светло-зеленым. Консервативные аминокислотные остатки для TLR7 и TLR8 выделены оранжевым цветом для первого мономера и сиреневым — для второго. Консервативные остатки Asp555, Gly584, Thr586, Phe349, Tyr356, Gly379, Val381, and Phe408 образуют связывающую зону (карман) рецептора. Энергия связывания, вычисленная с помощью программы Autodock 4.1. с использованием алгоритма Ламарка, составляет от –6,09 ккал/моль до –8,53 ккал/моль для имихимода и резихимода, соответственно.

Как следует из *рис. 17*, оба производных имидазолхинолина похожим образом встраиваются в рецепторный карман TLP7 [111]. Видно, что остаток лейцина в положении 557 играет ключевую роль для связывания имихимода и TLR7. Таким образом, с помощью методов математического моделирования определены структура рецептора имихимода — TLR7, аминокислотная последовательность и трехмерная структура связывающего участка рецептора, а также вычислены энергии связывания между имихимодом и TLR7.

Представленные сведения дают общее представление о структуре связывающего центра TLR7, что в совокупности с методами химического синтеза имихимода и комплекса исследований по созданию лекарственной формы воспроизведенного препарата Вартоцид и его сопоставления с оригинальным кремом Aldara® дает основание для последующей оценки его биологических и фармакологических свойств.

Глава 3

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Биологические свойства и фармакодинамика имихимода. Первоначально имихимод, как уже упоминалось, предполагали применять при лечении бронхолегочной патологии в качестве бронхолитического средства. Однако в последующем было показано, что терапевтически приемлемым свойством является его способность подавлять вирусную инфекцию и опухолевый рост. Как оказалось, противовирусные и противоопухолевые свойства реализуются через систему врожденного иммунитета, в частности через индукцию ИФН 1-го типа и провоспалительных цитокинов [256]. Эти данные в совокупности с первоначальной гипотезой о том, что имихимод является специфическим агонистом TLR7, позволили сформулировать вероятный механизм его действия [256, 260]. Учитывая, что имихимод является селективным агонистом TLR7, стало понятно, что преобладающим, если не единственным, путем переноса сигнала от эндосомы в ядро клетки является MyD88-зависимый путь [133]. Это полностью соответствует спектру продуцируемых им провоспалительных цитокинов: ИФНα, TNF-α, IL-1, -8, -12 и др. [114, 260, 316]. В общем виде схема сигналинга представлена на *рис. 18*.

Прямые доказательства MyD88-зависимого пути были получены на плазмацитоподобных дендритных клетках, которые экспрессируют практически только два TLR — TLR7 и TLR8 [93]. Авторами было показано, что в ответ на применение имихимода и резихимода клетки отвечали мощным выбросом ИФНα, а учи-

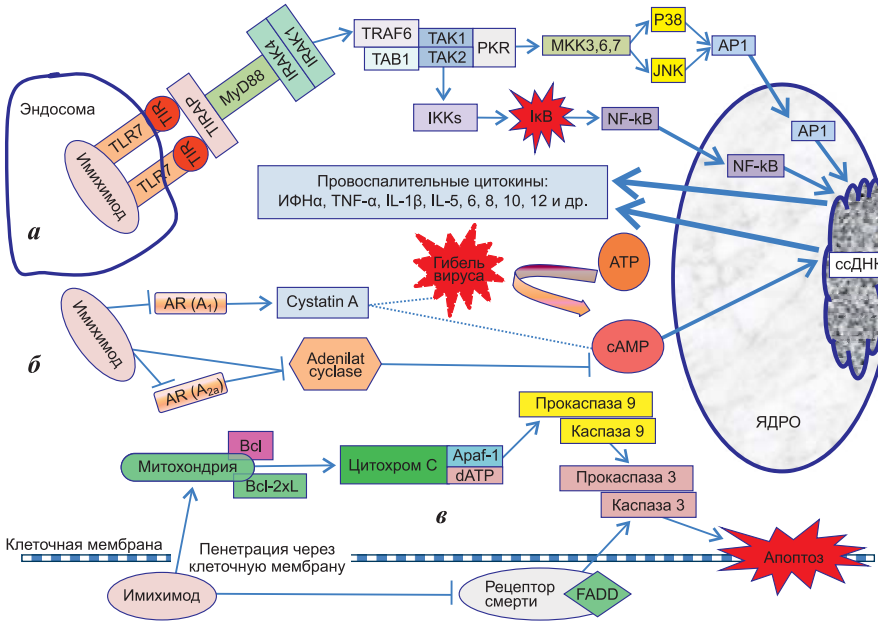


Рис. 18. **Возможные механизмы действия имихимода** [2, 258, 259]: *а* — перенос сигнала и индукция синтеза провоспалительных цитокинов по MyD88-зависимому пути; *б* — перенос сигнала и синтез провоспалительных цитокинов по аденилатциклазному пути; *в* — проапоптозное действие имихимода

тывая агонистические взаимоотношения имихимода и TLR7, можно полагать, что в основе лежит именно MyD88-зависимый путь. Кроме того, макрофаги от MyD88 и TLR-7-дефицитных мышей не отвечали на имидазолхинолин [133]. Это же мнение было поддержано и другими исследователями [2, 260].

Считается, что выработка ИФН 1-го типа — важный фактор противовирусного действия имихимода [241, 306]. В частности, было показано, что имихимод индуцирует ранний синтез цитокинов. Максимальный пик секреции наблюдается через 2 ч после введения. После достижения максимальной концентрации цитокина в кровяном русле наблюдается постепенное снижение синтеза, и к исходу 12–24 ч их содержание не отличается от такового в контроле. Эти результаты позволили объяснить противовирусные свойства имихимода. Стало понятно, что он действует

на вирус опосредованно, через индукцию интерферонов, изменяя течение и исход инфекционного процесса (см. рис. 18).

Вторым направлением MyD88-зависимого пути является выработка провоспалительных цитокинов (см. рис. 5 и рис. 18, *а*). Стоит отметить, что применение имихимода сопровождается стимуляцией не только ИФНα, но также IL-6, IL-8, MIP-1α, TNF-α [33, 260]. Наконец, MyD88-зависимый путь через активацию IRAK-киназ может активировать и интерферон-респонсивные молекулы, в частности IRF7, запуская синтез ИФН 1-го типа [234]. Иначе говоря, провоспалительная активность имихимода реализуется в первую очередь посредством MyD88-зависимого пути.

Исследуя возможные механизмы действия имихимода, M. P. Schön и соавт. [260] установили, что провоспалительные цитокины в дендритных клетках могут экспрессироваться и в отсутствие TLR7 рецепторов. Учитывая некоторое сходство имихимода с аденозином, было высказано предположение о возможности реализации провоспалительного действия имихимода через аденозиновые рецепторы [260]. Однако при этом возникает некоторая неопределенность, поскольку имихимод, как антагонист аденозиновых рецепторов и аденилатциклазы, должен был бы снижать провоспалительное действие, но этого не происходит.

Более того, именно провоспалительными свойствами препарата объясняется его противовирусное действие при заражении вирусом простого герпеса, в том числе клеток линии FL, несущих нефункциональные TLR7/8 [160]. Авторы показали, что противовирусное действие имихимода при герпесе может быть связано с экспрессией цистатина А — ингибитора цистеиновых протеаз, который активируется в ответ на подавление А1. В этом же исследовании Y. Kan и соавт. [160] было показано, что цистатин А-зависимым действием в отношении вируса простого герпеса обладает только имихимод, но не резихимод.

Таким образом, в общих чертах механизм TLR7-независимого действия имихимода заключается в антагонистическом ингибировании аденилатных рецепторов А1 и аденилатциклазы (см. рис. 18, *б*). При этом в результате ингибирования А1, активируется цистатин А, оказывающий, по данным авторов, прямое вирулицид-

ное действие на вирус простого герпеса (HSV), кроме того, не исключены экспрессия и высвобождение ИФН 1-го типа. Однако, по крайней мере по состоянию на 2017 г., точные механизмы взаимодействия имихимода и аденилатных рецепторов остаются не до конца изученными.

Третьими по порядку, но не по важности являются проапоптогенные свойства имихимода, выявленные исследователями, отметившими достоверное увеличение апоптозных клеток в ответ на применение имихимода в больших дозах [261]. При этом проникший в клетку имихимод активирует высвобождение из митохондрий цитохрома С при участии BcL2 пути (см. рис. 18, *в*). Конечным результатом этих событий является реализация эффекторных механизмов, позволяющих обойти резистентность опухоли через апоптозный сигналинг [263]. В присутствии имихимода высвободившийся цитохром С связывает белок, инициирующий апоптоз (Apaf 1). В результате связывания цитохрома С +Apaf + dATP формируется апоптосома, которая связывает прокаспазу 9 с последующим ее высвобождением после специфического расщепления [60]. В свою очередь, каспаза-9 с помощью каспаза-3 расщепляющего сайта высвобождает каспазу-3 из ее протоформы [338], и уже зрелая каспаза-3 запускает непосредственно механизм апоптоза [52].

Таким образом, имихимод имеет, по меньшей мере, три механизма действия:

- MyD88-зависимый путь синтеза провоспалительных цитокинов;
- аденилатный путь синтеза провоспалительных цитокинов;
- апоптозный путь элиминации опухолевых клеток (см. рис. 18).

Итак, у специалистов, занятых исследованием и клиническим применением имихимода, сложилось единое мнение о том, что TLR7-сигналинг является ведущим механизмом реализации противовирусной и противоопухолевой активности имихимода [33, 155, 184, 260, 306 и др.]. При анализе всего массива литературы мы не нашли ни одного источника с иными выводами. Это стало понятно даже раньше, чем было установлено, что имихимод является агонистом TLR7 [129]. Как уже было отмечено, действие

имихимода реализуется через индукцию, синтез и высвобождение провоспалительных цитокинов, в первую очередь ИФН 1-го типа, IL-1, -6, -8, -10, -12, TNF-α и других [114, 260, 316].

Влияние имихимода на продукцию провоспалительных цитокинов, в частности IL-6 и IL-8, было подтверждено *in vitro* в процессе культивирования иммортализованных эндотелиоцитов EA.hy 926, в присутствии различных концентраций имихимода. Как видно из данных *табл. 5*, имихимод дозозависимо стимулировал выработку IL-6 с высокой степенью достоверности. Аналогичным образом дозозависимо возрастала выработка IL-8, однако связь между дозой и наблюдавшимся эффектом была не столь значительна и достоверных различий с контролем не получено, возможно вследствие относительно небольшой экспериментальной выборки (n=8).

При нанесении имихимода в виде 1% или 5% крема на кожу безволосых мышей в зоне обработки увеличивается выработка mRNA ИФНα и TNF-α. Кроме того, повышается содержание клеток Лангерганса в коже, которые при этом активируются и мигрируют в регионарные лимфоузлы и могут стимулировать презентацию антигена Т-клеткам [147].

Таблица 5. **Высвобождение IL-6 и IL-8 в культуре эндотелиоцитов EA.hy 926 под действием имихимода *in vitro***

Препарат, доза	**Интерлейкин**	
	IL-6	**IL-8**
Имихимод, мкг/мл		
100	56,51±2,49*	245,70±57,20
50	55,82±5,78**	226,93±57,83
25	53,11±5,97**	216,00±50,69
12,5	47,78±3,35**	215,25±52,64
6,25	40,99±2,77	200,73±47,29
ДМСО (контроль), 0,2%	34,27±3,42	171,60±29,63
Контроль культуры клеток	33,28±2,61	193,48±25,16

Примечание. ДМСО — диметилсульфоксид; звездочками отмечены достоверные отличия между контрольными и опытными лунками: *p<0,01; **p<0,05. Данные представлены в виде средней±стандартное отклонение, n=8 [171]

В мононуклеарных клетках периферической крови человека, особенно в моноцитах, имихимод способен индуцировать продукцию цитокинов, включая ИФНα, TNF-α, IL-1, -6, -8, -10, -12, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), макрофагальный воспалительный белок-1А и макрофагальный хемотаксический белок (MCP-1), в результате активации факторов, связывающих промоторные регионы ИФНα и других цитокинов с последующей активацией транскрипции [70, 211].

Подтверждением способности вызывать индукцию ИФН могут служить исследования динамики синтеза ИФН у интактных белых мышей, которым однократно подкожно вводили препарат имихимода в дозах 0,5; 1 и 10 мкг/кг (*рис. 19*). Через 1, 2, 4, 8 и 24 ч у животных брали кровь из ретробульбарного венозного сплетения, отделяли сыворотку, в которой определяли содержание ИФН методом биологического титрования [1]. Показано, что подкожное введение имихимода сопровождается отчетливым увеличением выработки ИФН, максимум которой приходится на 4 ч после введения препарата, при этом концентрация цитокина отчетливо зависела от дозы препарата. Максимальную продукцию цитокина наблюдали в ответ на введение 10 мкг/кг имихимода. Важно отметить, что следовую активность ИФН, индуцированного имихимодом в дозе 10 мкг/кг, наблюдали до 24 ч.

В другом опыте этой серии мы оценивали влияние кратности введения имихимода на синтез ИФН. С этой целью, как и в работе M. J. Reiter и соавт. [241], препарат в дозе 10 мкг/кг вводили

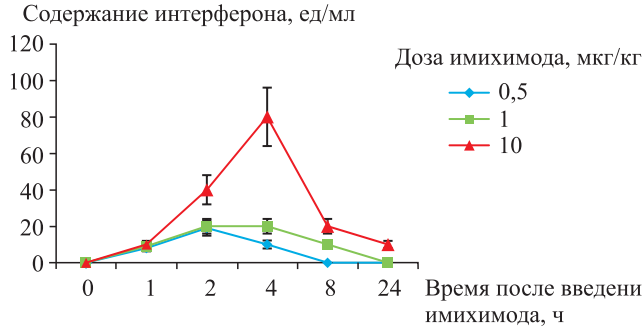


Рис. 19. **Динамика содержания интерферона в сыворотке крови белых мышей при однократном подкожном введении разных доз имихимода**

подкожно 1, 2, 3 и 4 раза с интервалом 2 ч. Титр ИФН оценивали через 2 ч после введения последней дозы каждой кратности. Как следует из данных *рис. 20*, многократное введение имихимода в течение 8 ч сопровождалось дозозависимым увеличением индукции ИФН. Максимальный уровень отмечен через 2 ч после введения четырех доз. Эти результаты подтверждают данные M. J. Reiter и соавт.

Сопоставление полученных данных с опубликованными ранее результатами демонстрирует высокую степень подобия. Наблюдающиеся различия могут быть объяснены отличиями в популяциях экспериментальных животных. В наших исследованиях, в отличие от работы M. J. Reiter и соавт. [241], были использованы не линейные, а беспородные мыши. Кроме того, препарат вводили подкожно, а не перорально, и в меньших дозах. Наконец, в наших исследованиях и в работе M. J. Reiter и соавт. использовали разные методы титрования ИФН 1-го типа.

Имихимод способен опосредованно стимулировать продукцию ИФНγ — цитокина Т-хелперов 1-го типа (Th1) в культурах клеток селезенки и костного мозга мышей, а также в культуре мононуклеарных клеток периферической крови человека. Однако имихимод не стимулирует Т-клетки для последующей индукции Т-клеточных цитокинов, таких как IL-2, -4 или -5. Представляют интерес особенности активации имихимодом экспрессии ИФНγ. Так, показа-

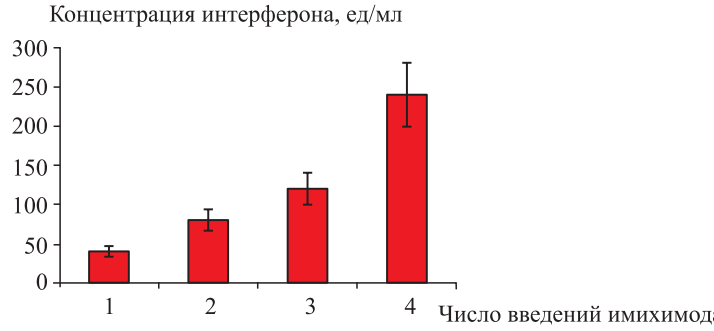


Рис. 20. **Концентрация ИФН при различной кратности подкожного введения имихимода в дозе 10 мкг/кг.** Мышам (по 10 в каждой группе) вводили имихимод 1, 2, 3 и 4 раза. ИФН титровали биологическим методом в сыворотке, взятой через 2 ч после введения последней дозы

но, что имихимод увеличивает продукцию ИФНγ, IL-10 и эффекторную функцию Т-клеток в очаге плоскоклеточного рака, а также стимулирует продукцию перфорина и гранзима, которые опосредуют активность цитотоксических клеток. Вместе с тем, имихимод не влиял на продукцию ИФНγ нормальными клетками кожи [142].

ИФНα может индуцировать субъединицу B2 рецептора IL-12 и продукцию ИФНγ [313]. Таким образом, Th1-клетки могут быть главным источником ИФНγ, однако цитотоксические Т-клетки и натуральные киллерные клетки также могут продуцировать ИФНγ после стимуляции имихимодом. Продолжительная противовирусная защита после местной аппликации имихимода может быть связана со стимуляцией клеток Лангерганса в ответ на повышенные уровни ИФНα, ИФНγ, IL-10 и -12 [142, 188, 313].

Предполагалось, что имихимод может ингибировать продукцию Th2 цитокина—IL-5 в клеточных системах человека и мыши [313]. Однако позднее эти данные не нашли подтверждения. Напротив, было показано, что имихимод не оказывал достоверного влияния на секрецию В-лимфоцитами ($CD19^+$) провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-1α, -1β, -6, -13, -8, и -10, TNF-α, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, IP-10 [15]. Данные подтверждают, что имихимод может быть полезен при лечении патологических состояний, при которых необходимо увеличение Th1-ответа, например при атопических заболеваниях [258].

При применении имихимода регресс бородавки, по-видимому, связан с индукцией локальных цитокинов и клеточной инфильтрацией, в совокупности приводящими к выработке клеточно-опосредованного иммунного ответа [66]. Несколько иные механизмы обеспечивают, по-видимому, противоопухолевое действие имихимода (см. рис. 19).

В механизме противоопухолевого действия имихимода, наряду с его провоспалительной активностью, важную роль занимают его цитотоксическое, проапоптозное и антиангиогенное свойства. Так, в результате связывания имихимода с TLR7 на плазмацитоподобных дендритных клетках, последние генерируют выработку большого количества провоспалительных цитокинов (*рис. 21*), которые, в свою очередь, вызывают сильный Th1-клеточный иммунный ответ в виде стимуляции клеток Лангерганса, макрофа-

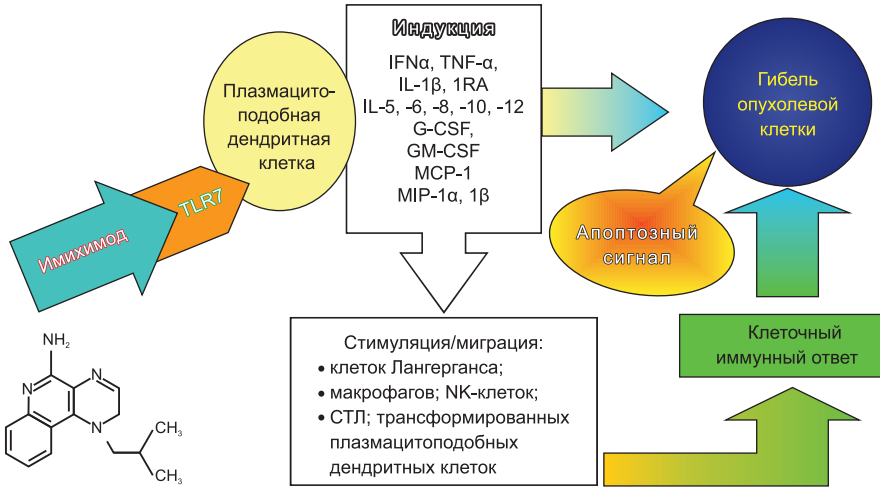


Рис. 21. **Механизм противоопухолевого действия имихимода** [263]. Этапы вовлечения опухолевой клетки в иммунный ответ, индуцированный имихимодом; в нижнем левом углу — структурная формула имихимода

гов, NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов (СТЛ), а также трансформированных противоопухолевых дендритных клеток [96, 240, 263, 280]. Среди возможных механизмов упоминается также индукция 2'5'-олигоаденилат синтазы, сопровождающаяся стимуляцией NK-клеток [220], и индукция перфорина в СТЛ [24], причем каждый из этих путей может внести свой вклад в противоопухолевую активность имихимода.

Среди многочисленных свойств имихимода как иммуномодификатора большой интерес представляет его способность подавлять пролиферацию клеток, в первую очередь опухолевых [84, 193, 266, 267]. Описаны разные механизмы, лежащие в основе этого феномена. В работе S. Majewski и соавт. [193] было показано, что подкожное введение мышам клеток саркомы легкого индуцирует интенсивное прорастание сосудов в очаг опухоли. Если одновременно с инокуляцией опухолевых клеток на кожу наносили имихимод в виде 5 % крема, образование сосудов в зоне инокулята существенно замедлялось.

Эти данные были подтверждены *in vitro* на культуре иммортализованных эндотелиоцитов EA.hy 926. Клетки вносили в микро-

планшет, добавляя ростовую среду. После формирования конфлюэнтного слоя на дне планшета пластиковым шпателем удаляли полоску монослоя клеток шириной 0,5 мм, создавая бесклеточную зону, проходящую через центр лунки. Затем в лунки вносили имихимод в исследуемых концентрациях и инкубировали при 37 ˚С в течение 24 ч, после чего оценивали миграцию клеток в бесклеточную зону (*рис. 22*). Как можно видеть, в контрольной лунке клетки активно мигрировали в бесклеточную зону, формируя равномерный пласт. Все клетки имели нормальную морфологическую структуру (см. рис. 22, *в, г*). При внесении в культуру клеток имихимода в концентрации 3,125 мкг/мл интенсивность миграции несколько снижалась. Пласт клеток не полностью заполнял зону миграции (см. рис. 22, *и, к*). Увеличение дозы имихимода до 6,25 мкг/мл уже больше подавляло миграцию. В просвете видны только единичные клетки (см. рис. 22, *ж, з*). При внесении в среду имихимода в максимальной дозе 25 мкг/мл миграция клеток была практически полностью подавлена (см. рис. 22, *д, е*). Следует подчеркнуть, что имихимод в испытанных концентрациях не оказывал какого-либо патологического влияния на клетки. При микроскопировании все клетки имели нормальную морфологическую структуру без каких-либо патологических повреждений.

Из представленных данных можно видеть, что имихимод оказывает, скорее всего, дозозависимое угнетение миграции клеток в бесклеточную зону. При количественной оценке индекса пролиферации установлено, что это угнетение было статистически достоверным при внесении в культуру клеток имихимода в дозе 12,5 мкг/мл, и особенно в дозе 25 мкг/мл (*табл. 6*).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что имихимод ингибирует функциональные реакции клетки, но не повреждает их. Этот вывод, сделанный на основе морфологического анализа, подтверждается результатами иммунохимических исследований. Так, при определении лигандсвязывающей активности клеток EA.hy 926 с помощью меченого биотином VEGF человека было показано, что обработка имихимодом не сопровождалась изменением способности связывать VEGF, а также не изменяла экспрессию CD44 рецептора, опосредующего контакты клеток с внеклеточным матриксом (*табл. 7*).

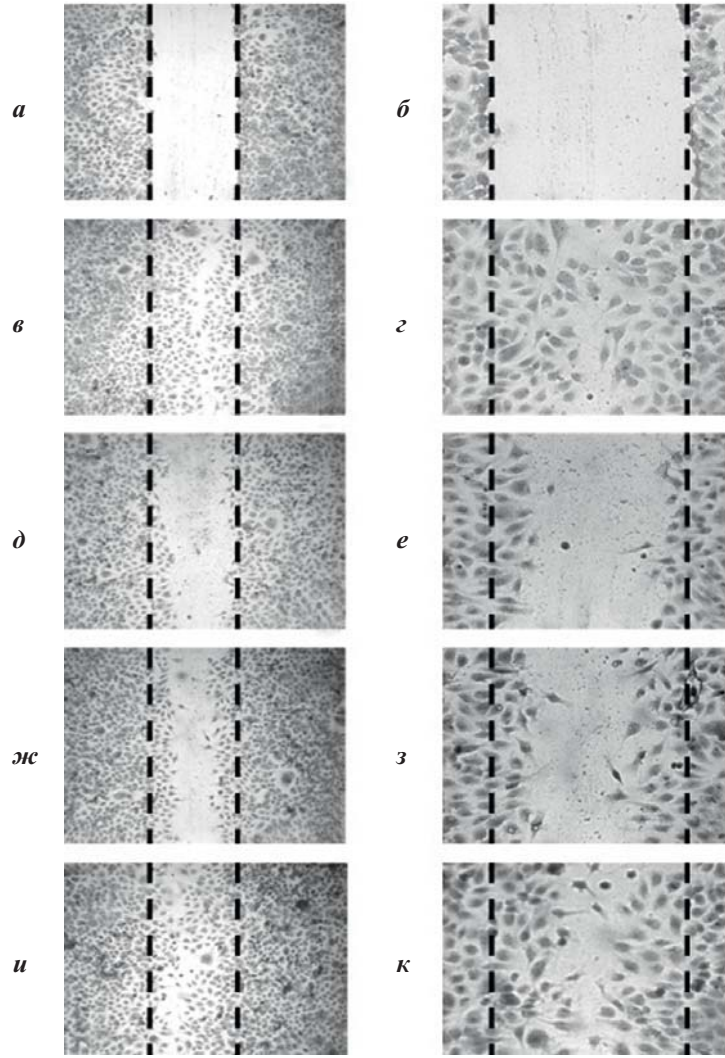


Рис. 22. **Влияние имихимода на миграционную активность эндотелиальных клеток. Миграция клеток линии EA.hy 926 в зону механически поврежденного монослоя;** *а, б* — исходное положение после удаления клеток; *в, г* — спонтанная миграция эндотелиальных клеток после 24-часовой инкубации (контроль культуры клеток); *д, е* — в присутствии 25 мкг/мл имихимода в культуре клеток; *ж, з* — 12,5 мкг/мл имихимода; *и, к* — 6,25 мкг/мл имихимода. Приведены воспроизводимые результаты трех независимых экспериментов

Таблица 6. **Зависимость пролиферации от дозы имихимода**

Иммортализованные эндотелиоциты линии EA.hy 926, инкубированы в течение 24 ч в присутствии:		**Индексы пролиферации, % (M ± m, n=8):**
Культуры клеток		100,01 ± 8.51
Имихимода, мкг/мл	25	66,53 ± 6,93*
	12,5	70,88 ± 9,34**
	6,25	78,84 ± 10,62
	3,125	81,76 ± 8,35

Примечание. Различия между средними величинами индекса пролиферации в контрольных лунках (спонтанная пролиферация) и в присутствии тестируемых образцов статистически достоверны при: *p<0,01; **p<0,05

Таблица 7. **Экспрессия фенотипических маркеров на поверхности эндотелиальных клеток под действием имихимода**

Культуры клеток линии EA.hy 926, инкубированных в присутствии:		**Экспрессия рецепторов в единицах оптической плотности, M ± m (n=8)**	
		VEGF Rc	**CD44**
Культуры клеток		0,495 ± 0,025	2,739 ± 0,072
Имихимода, мкг/мл	25	0,549 ± 0,027	2,782 ± 0,037
	12,5	0,548 ± 0,025	2,787 ± 0,029
	6,25	0,554 ± 0,036	2,796 ± 0,071
	3,125	0,544 ± 0,030	2,813 ± 0,056

Полученные результаты подтвердили имеющиеся в литературе данные о том, что имихимод способен ингибировать пролиферативные процессы, в том числе пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, образующих выстилку сосудов, прорастающих в солидные опухоли. В этой связи было предпринято очень интересное исследование, в котором определяли влияние 5% крема имихимода на рост сосудов в опухоль, индуцированную клетками кератиноцитарной линии Skv человека, трансплантированными в кожу боковых поверхностей облученных мышей

в дозе $0{,}25 \cdot 10^5$ клеток, которые содержат интегрированные копии вируса папилломы серотипа 16 [193].

До и после индукции ангиогенеза в результате интрадермального введения опухолевых клеток кожу зоны инъекции обрабатывали 5 % кремом имихимода. Животным контрольной группы имихимод не применяли. Через 3 дня животных умерщвляли, отсепаровывали те участки кожи, в которых индуцировали ангиогенез, и подсчитывали число новообразованных сосудов. При исследовании внутренней поверхности кожи у контрольных животных было выявлено бóльшее число ветвящихся сосудов, имевших радиальную ориентацию относительно новообразования, чем в опытной группе. По-видимому, в основе этого процесса лежит активация выработки эндогенных цитокинов, в первую очередь IL-18 и ИФНγ [193].

Известно, что эти цитокины являются мощными антиангиогенными факторами [148, 209]. В то же время, существуют, по-видимому, и иные факторы, индуцируемые или активируемые имихимодом непосредственно в эндотелиальных клетках, способные замедлить их миграцию в опухоль. Вместе с тем, известно, что имихимод может оказывать влияние на популяцию путем индукции апоптоза. В работе M. Schön и соавт. [263] показано, что имихимод проявляет прямую туморспецифическую проапоптозную активность *in vitro* и *in vivo* по отношению к ряду кожных опухолей, в том числе к кожным метастазам злокачественной меланомы — агрессивной опухоли кожи. Показано, что резистентность метастазов меланомы к имихимоду *in vivo* корреспондирует резистентностью к индуцированному имихимодом апоптозу *in vivo* и *in vitro*.

Существование такого процесса убедительно показано при культивировании клеток нескольких клеточных линий в присутствии разных концентраций имихимода [208]. Клетки линий HeLa S3, HaCaT, A431 и McCoy выращивали до образования сплошного монослоя, а затем в культуру клеток добавляли имихимод в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл, и клетки инкубировали в присутствии имихимода в течение 20 ч. После культивирования апоптозные клетки идентифицировали в TUNEL-тесте.

При микроскопическом анализе было показано, что в контрольном мононослое встречались только единичные клетки в фазе

апоптоза. Число апоптозных клеток увеличивалось при внесении в питательную среду имихимода, причем это увеличение носило дозозависимый (1, 10, 100 мкг/кг) и временно́й характер. Так, при инкубации клеток A341 в течение 4 ч признаки апоптоза выявлены в отдельных клетках, но по мере увеличения времени инкубации число апоптозных клеток непрерывно нарастало, достигая максимума к 20 ч инкубации (срок наблюдения).

Точные механизмы проапоптозного действия имихимода требуют дополнительных исследований, однако уже известно, что данный процесс может развиваться независимо от TLR7-рецептора [22]. Показано, в частности, что клетки рака эндометрия могут вступать в апоптоз и в отсутствии иммуноцитов. Эти сведения позволили авторам предположить, что проапоптозное действие имихимода непосредственно связано с рекрутингом Bcl-2 и увеличением экспрессии Bcl-2 и Bcl-xL (см. рис. 20). В то же время, признается, что инфильтрация опухоли иммунокомпетентными клетками усиливает противоопухолевую активность имихимода, подчеркивая тем самым комплексный характер противоопухолевой активности препарата, как это было сформулировано M. Schön и соавт. [263] еще в 2003 г. (см. рис. 22).

Эти данные были подтверждены нами в прямых опытах на культуре клеток EA.hy 926 (*табл. 8*). В микропланшет с монослоем клеток вносили имихимод в дозах 25 и 100 мкг/мл, через

Таблица 8. **Влияние имихимода на некроз и апоптоз клеток EA.hy 926**

Препарат, доза	**Доля клеток с исследуемыми проявлениями, % (M ± SD)**	
	некроза	**апоптоза**
Имихимод, мкг/мл		
100	1,70 ± 0,943	12,73 ± 3,015*
25	1,38 ± 1,064	5,38 ± 2,496
ДМСО (контроль), 0,2 %	2,56 ± 0,254	5,20 ± 1,882
Культура клеток	1,30 ± 0,546	4,35 ± 0,339

Примечание. ДМСО — диметилсульфоксид. Результаты представлены в виде средней ± стандартное отклонение; * различие с контролем (p <0,05)

24 ч культивирования окрашивали аннексином и с помощью проточного цитофлуориметра определяли число некротизированных и апоптозных клеток. Контролем служили клетки, культивировавшиеся в аналогичных условиях с добавлением 0,2 % диметилсульфоксида (ДМСО).

Как следует из представленных данных, имихимод не оказывал влияния на процессы некроза, но дозозависимо активировал апоптоз. Таким образом, полученные данные еще раз подтвердили проапоптозный потенциал имихимода.

Фармакокинетика имихимода. Пероральный или парентеральный пути введения имихимода сопряжены со значительными побочными эффектами [243], вследствие чего единственным приемлемым методом применения остался местный.

Так как имихимод очень плохо растворяется в воде, что косвенно свидетельствует о его относительно низкой биодоступности, для улучшения последней производители генерического препарата вынуждены были несколько модифицировать состав готовой лекарственной формы, с тем чтобы улучшить технологию ее производства и повысить однородность дозирования. Вместе с тем, будучи агонистом TLR7, имихимод даже в сравнительно низких концентрациях проявляет свое действие через активацию синтеза ИФН 1-го типа и провоспалительных цитокинов, а также индукцию апоптоза и подавление ангиогенеза [193, 211, 259]. С учетом этих обстоятельств, наибольший интерес в плане исследования фармакокинетических свойств имихимода представляют изучение параметров прохождения и метаболизации вещества, оценка его накопления в месте аппликации, в данном случае в коже, а также динамика его циркуляции в крови и элиминации из организма.

Определение пенетрации имихимода в кожу. Для определения проникновения препарата в разные слои кожи растворы имихимода в дозах 25; 50 и 250 мкг/мл наносили на поверхность эксплантата кожи, взятой с уха кролика, которое фиксировали в диффузионной камере Франца и инкубировали в течение 6 ч. Определение производили в трех слоях кожи: верхнем (*striatum corneum*), среднем (*striatum granulosum*) и глубоком (*striatum spinosum*). Как следует из представленных данных *табл. 9*,

наибольшее количество имихимода содержится в наружном слое кожи, непосредственно контактирующем с раствором. По мере проникновения препарата в глубокие слои его концентрация снижается, и в глубоких слоях дермы, в рецепторной зоне, содержание имихимода уже не превышает 1 мкг/см^2 поверхности эксплантата (см. табл. 9). Тем не менее, этих концентраций препарата оказывается достаточно для развития местного противовирусного и противоопухолевого ответа, отмеченного у экспериментальных животных и в клинических исследованиях.

Оценка системной абсорбции 5% крема имихимода при местном нанесении. На боковой поверхности тела морской свинки выбривали участок кожи размером 2×5 см (10 см^2), на который наносили 200 мг имихимода в виде 5% крема однократно на 6 ч или на тот же срок ежедневно в течение 5 дней. По окончании дозирования определяли содержание имихимода в пробах сыворотки и мочи. По результатам анализа методом ВЭЖХ ни в одной пробе крови или мочи следов имихимода выявлено не было. Учитывая, что нижний порог чувствительности использованного нами метода ВЭЖХ составляет 0,15 мкг/мл имихимода, можно сделать вывод, что его концентрация при системной абсорбции после местного применения в виде лекарственного препарата имихимода 5% крема ниже порога чувствительности метода. Эти результаты полностью согласуются с данными интрадермального накопления (см. табл. 9). Если глубоких слоев кожи достигает не более 1,0% от дозы препарата, нанесенной на кожу, можно легко рассчитать, что максимальное накопление имихимода в систем-

Таблица 9. **Содержание имихимода (мкг/см^2) в разных слоях эксплантата кожи свиньи**

Слой кожи	Доза имихимода, мкг/мл (M±SD)		
	25	50	250
Наружный	1,74±0,10	2,39±0,29	71,22±45,42
Средний	1,51±0,13	3,16±0,84	95,44±35,26
Глубокий	0,30±0,04	0,62±0,29	0,95±0,37

Примечание. Результаты трех независимых экспериментов выражали в виде средней арифметической (M)±стандартное отклонение (SD)

ном кровотоке не превысит одного или нескольких нг/мл. Это предположение нашло свое подтверждение в работе L. I. Harrison и сотр. [130], показавших, что в крови людей, получавших имихимод в виде крема 5%, максимальная концентрация в крови не превышала 0,091 ± 0,063 нг/мл при однократном нанесении крема на лицо в дозе 12,5 мг (по имихимоду) и 0,775 ± 0,698 при однократном нанесении на поверхность руки в дозе 75 мг по имихимоду (*табл. 10*).

При сопоставлении C_{max} после однократной и многократной аппликации препарата Имихимод крем 5% прослеживается тенденция зависимости концентрации имихимода от суммарной дозы, однако эта зависимость недостоверна, что свидетельствует об отсутствии кумуляции препарата в процессе курсового применения.

Нам не удалось определить наличие имихимода и его алкилированных метаболитов в моче морских свинок ввиду очень низкой их концентрации. В этом вопросе можно лишь опираться на данные литературы, свидетельствующие о том, что выделение метаболитов имихимода происходит через почки. Период полувыведения имихимода в организме человека составил 20–30 ч после применения препарата [130].

Таким образом, имихимод в виде крема 5% характеризуется минимальной системной абсорбцией, отсутствием кумуляции

Таблица 10. **Концентрация имихимода в сыворотке крови при однократном и многократном нанесении в виде 5% крема [130]**

Область аппликации	Доза имихимода, мг	C_{max} — максимальная концентрация имихимода, нг/мл	
		однократное дозирование	курсовое дозирование
Лицо	12,5	0,091 ± 0,063	0,120 ± 0,063
Голова	25	0,139 ± 0,096	0,214 ± 0,097
Рука	75	0,775 ± 0,698	1,35 ± 0,841

Примечание. Результаты трех независимых экспериментов выражали в виде средней арифметической (M) ± стандартное отклонение (SD)

и сравнительно быстрым выведением из организма. Подчеркнем еще раз, что в рецепторный слой дермы проникает не более 1% от дозы препарата при его аппликации на кожу. Полученные результаты согласуются с данными литературы, указывающими на относительно низкую частоту системных побочных реакций, которые в большинстве своем носят умеренный характер и не зависят от суммарной курсовой дозы [50, 86].

Токсичность воспроизведенного препарата имихимода. В имеющейся литературе развернутых исследований по токсикологии имихимода найти не удалось, что, впрочем, не было столь удивительным. Такие данные чаще всего являются конфиденциальными и содержатся только в служебной документации, представляемой регулирующему органу при регистрации нового лекарственного средства. В этой связи нами было проведено полное исследование параметров токсичности воспроизведенного препарата Вартоцид в процессе его подготовки к официальной регистрации в качестве лекарственного средства.

Первоначально были определены параметры острой токсичности субстанции имихимода. С этой целью препарат вводили белым мышам 1 раз в день подкожно в течение 5 сут. Вводимые дозы препарата составили 0,01–100 мг/кг массы тела с шагом 10. На каждую дозу было взято по 5 мышей. По окончании курса введения препарата за животным наблюдали в течение 10 сут. В период введения имихимода и последующего 10-дневного наблюдения никаких особенностей поведения не обнаружено. Ни одно животное не погибло. После окончания срока наблюдения животных выводили из опыта декапитацией под нембуталовым наркозом, а внутренние органы и кожу в месте введения подвергали гистологическому исследованию. При этом не обнаружено каких-либо макро- и микроскопических изменений в тканях сердца, печени, почек, головного мозга. В зоне введения препарата отмечена лимфоидно-макрофагальная инфильтрация подкожной клетчатки, без признаков отека и некроза. Таким образом, проведенные исследования показали, что краткосрочное подкожное введение имихимода белым мышам не приводило к каким-либо патологическим изменениям. Вместе с тем, учитывая, что препарат плохо растворим в воде и перед введением его пришлось предварительно растворять в диметилсульф-

оксиде, можно предположить, что такой эксперимент не в полной мере отражает параметры токсичности, тем более что лекарственной формой препарата является крем, содержащий имихимод в концентрации 5%.

С учетом этого обстоятельства было проведено исследование острой токсичности 5% крема Вартоцида на самцах и самках крыс с массой тела 100 г. С этой целью препарат наносили животным на выстриженный участок кожи спины площадью 10 $см^2$ таким образом, чтобы удельная доза препарата составила 10 г/кг массы тела. Поверхность обработанного участка закрывали марлевой повязкой и фиксировали лейкопластырем. Контрольным животным таким же образом наносили вазелин. За животными наблюдали 14 дней, определяя массу тела до опыта, а также на 7-й и 14-й дни наблюдения (*табл. 11*).

Аппликации Вартоцида не отразились на динамике массы тела подопытных животных, которая в обеих группах изменялась одинаково. При патоморфологическом исследовании животных после окончания срока наблюдения никаких патолого-анатомических или гистологических изменений выявлено не было. Аналогичные результаты получены при определении подострой токсичности (результаты не представлены).

Учитывая, что Вартоцид представляет собой воспроизведенный препарат, необходимо было сравнить его с оригинальным препаратом Aldara®. Исследование проведено на морских свинках, которым на выбритый участок неповрежденной кожи раз-

Таблица 11. **Динамика массы тела крыс на фоне местных аппликаций Вартоцида**

День измерения	Контрольная группа (вазелин), г		Вартоцид, 10 г/кг массы тела	
	самцы	самки	самцы	самки
Исходно (0 день)	183,0±2,3	182,9±2,4	182,5±2,5	181,5±2,1
7-й день	190,5±3,4	190,0±3,2	189,5±4,3	188,8±3,3
14-й день	199,6±5,1	198,0±4,6	200,0±5,3	198,5±4,7

Примечание. Результаты представлены в виде средней арифметической±стандартное отклонение для n=5

мером 2×2 см с одного бока наносили оригинальный препарат Aldara®, а с другой — воспроизведенный препарат Вартоцид. Процедуру повторяли 5 раз/нед, нанося препараты тонким слоем без последующего втирания. В течение всего срока наблюдения измеряли толщину кожной складки (*табл. 12*), а после завершения наблюдения участки кожи с места аппликации подвергали гистохимическому исследованию (*рис. 23*).

Как видно из представленных данных табл. 12, динамика толщины кожной складки участков кожи, на которые наносили исследуемые препараты и мазевую основу, не зависела от вида препарата. Результаты, полученные при изучении острой токсичности, хорошо согласуются с аналогичными данными литературы. Так, исследования на животных острой дермальной и вагинальной токсичности многоразовых кожных аппликаций показали, что имихимод 5% крем не повышал чувствительность, а всего лишь слегка раздражал ткани в месте аппликации. При повторном введении препарата у мышей отмечено только локальное раздражение кожи в области нанесения крема [273].

При нанесении исследуемых препаратов на выстриженную кожу спины морских свинок у всех животных в течение первой недели развивалась реакция избегания, проявлявшаяся вокализацией при контакте с обрабатываемыми участками кожи и втирании мазе-

Таблица 12. **Динамика изменений толщины кожной складки у морских свинок на фоне аппликаций**

Препарат	Толщина кожной складки, мм							±Δ между первым и последним измерением, %	
	срок наблюдения, нед								
	0	1-я	2 -я	3 -я	4 -я	5 -я	6 -я		
Основа	2,44	2,48	2,32	3,25	3,35	3,47	3,48	+29,9	+34,4
	2,09	3,40	3,42	3,50	3,00	3,13	3,42	+38,9	—
Aldara®	2,45	3,29	3,40	3,45	3,10	4,17	4,32	+43,3	+35,7
	3,07	3,31	3,22	3,50	3,35	3,27	4,27	+28,1	—
Вартоцид	2,39	3,15	3,25	3,45	3,05	3,28	4,92	+51,4	+37,8
	3,13	3,41	3,22	3,30	3,30	3,44	4,13	+24,2	—

Примечание. Каждый препарат исследовали на двух животных

вых образцов. Данную реакцию, свидетельствующую о повышенной чувствительности и/или гипералгезии, наблюдали только на участках кожи, подвергавшихся обработке исследуемыми препаратами, она сохранялась на протяжении всего эксперимента. Одновременно с гипералгезией наблюдали гиперемию кожи, наибольшую интенсивность которой отмечали у животных, получавших препараты Aldara® и Вартоцид (см. рис. 23).

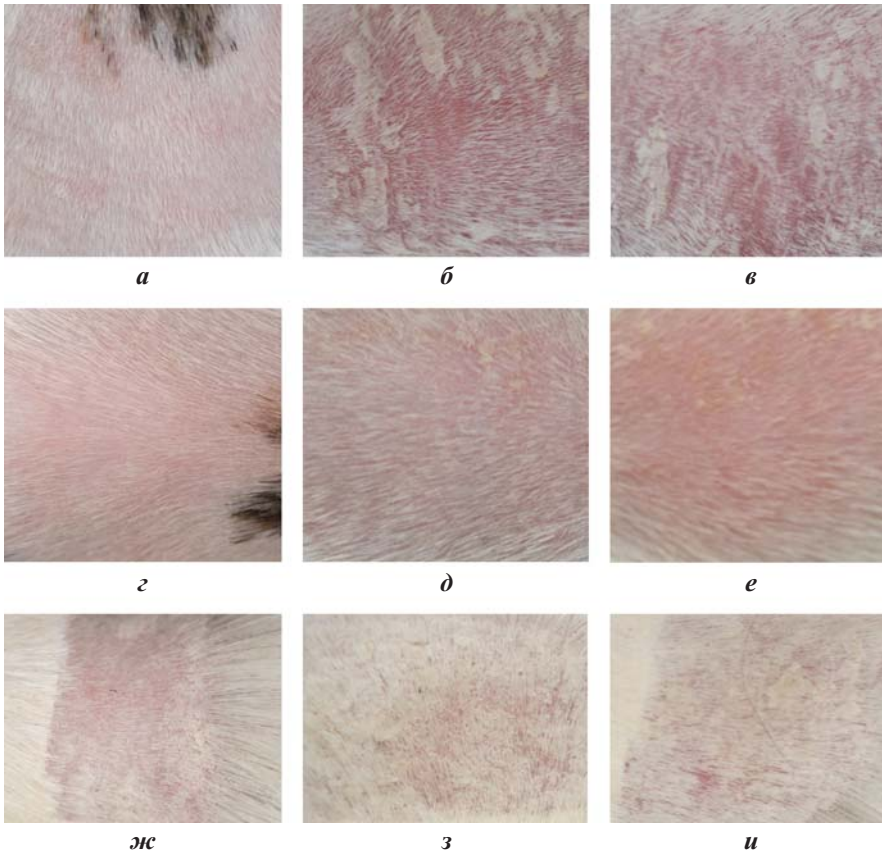


Рис. 23. **Вид кожного покрова морских свинок:** *а, б, в* — через 7 дней (5 аппликаций и 2 дня отдыха); *г, д, е* — через 14 дней (10 аппликаций); *ж, з, и* — через 42 дня (30 аппликаций, точка завершения эксперимента); *б, д, з* — наложение Aldara®, *в, е, и* — Вартоцида; *а, г, ж* — плацебо; *б, в, д, е, з, и* — видна интенсивная десквамация, гиперемия кожных покровов практически отсутствует

К концу 2-й недели на местах аппликации исследуемых препаратов развилась десквамация эпидермиса (см. рис. 23, *д, е*).

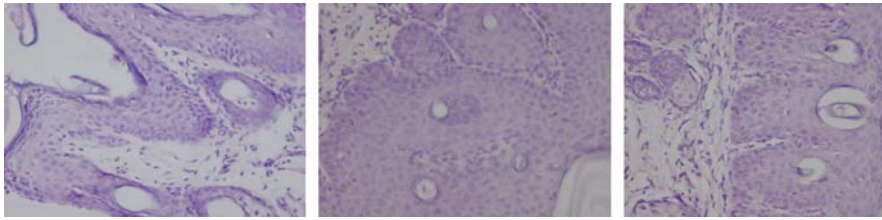
На 3-й неделе на участках аппликации препаратов Aldara® и Вартоцид появились глубокие геморрагические пятна, а спустя 1 нед на этих же участках определялись мелкие очаговые уплотнения, обусловленные, возможно, образованием подкожных инфильтратов, спаянных с кожей. К концу срока наблюдения эти инфильтраты подверглись инволюции. К окончанию срока наблюдения макроскопическая картина на участках аппликации препаратов стабилизировалась, но не нормализовалась. По-прежнему сохранялись явления гипералгезии и интенсивной десквамации (см. рис. 23, *з, и*), в то время как интенсивность гиперемии уменьшилась, а инфильтраты, как уже было сказано, рассосались.

При макроскопическом исследовании поверхностей кожи отмечено повышенное слущивание эпидермиса на участках аппликации лекарственных препаратов, но не мазевой основы. По окончании срока исследования проведено микроскопическое изучение участков обработанной кожи (*рис. 24*). При гистологическом исследовании образцов кожи, взятых из участков аппликации плацебо или исследуемых препаратов, установлено, что продолжительное применение препаратов не приводило к развитию патологических изменений в коже и подкожной клетчатке.

Гистологическое исследование показало наличие гидропической дистрофии с перераспределением ядерного хроматина, умеренно выраженного отека и слабой диффузной мононуклеарной воспалительной клеточной инфильтрации подлежащего стромального компонента. В бóльшей степени эти изменения развивались в коже, подвергавшейся воздействию препаратов Aldara® и Вартоцид, что вполне соответствует данным гистологических исследований, полученных в экспериментах и при терапевтическом применении препаратов имихимода в клинических условиях. В целом эти результаты свидетельствуют о том, что продолжительный курс имихимода в виде крема не приводит к развитию патологических изменений в коже, хотя и вызывает незначительный отек подкожной клетчатки. Учитывая, что имихимод обладает проапоптозным свойством и на этом феномене в определенной степени основано его противоопухолевое действие [164, 259], нами было

проведено гистохимическое исследование экспрессии проапоптозного рецептора p53 в многослойном плоском эпителии. Как видно из *рис. 25*, имихимод в исследованных лекарственных формах существенно усиливает экспрессию рецептора p53, причем это усиление прослеживается как по площади, так и по интенсивности экспрессии.

Учитывая, что имихимод способен проникать не только в многослойный плоский эпителий, но и в подкожную клетчатку, был проведен аналогичный анализ подкожной стромы (*рис. 26*). Как видно из представленных данных, общие закономерности экспрессии p53 в субэпителиальной строме аналогичны выявленным в многослойном плоском эпителии. Различия касаются только абсолютных цифр, что вполне понятно, поскольку многослойный

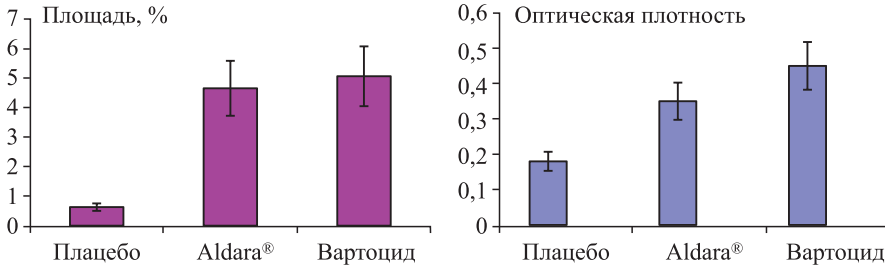


а ***б*** ***в***

Рис 24. **Микрофотографии участков кожи морских свинок после местного применения:** *а* — плацебо, многослойный плоский эпителий типового строения с умеренно выраженным кератозом, слабым очаговым акантозом, слабо выраженными дистрофическими изменениями преимущественно верхних отделов и наличием небольшого числа мелких кист, слабо выраженным отеком подлежащего стромального компонента со слабой диффузной мононуклеарной воспалительной клеточной инфильтрацией, с незначительной примесью нейтрофильных гранулоцитов; *б* — Aldara®, многослойный плоский эпителий типового строения с умеренно выраженным кератозом, очаговым акантозом и наличием небольшого числа мелких кист, умеренно выраженным отеком подлежащего стромального компонента с наличием единичных клеток мононуклеарного ряда; *в* — Вартоцид, многослойный плоский эпителий типового строения с умеренно выраженным кератозом, очаговым акантозом, слабо выраженными дистрофическими изменениями, умеренно выраженным отеком подлежащего стромального компонента с диффузной мононуклеарной воспалительной клеточной инфильтрацией

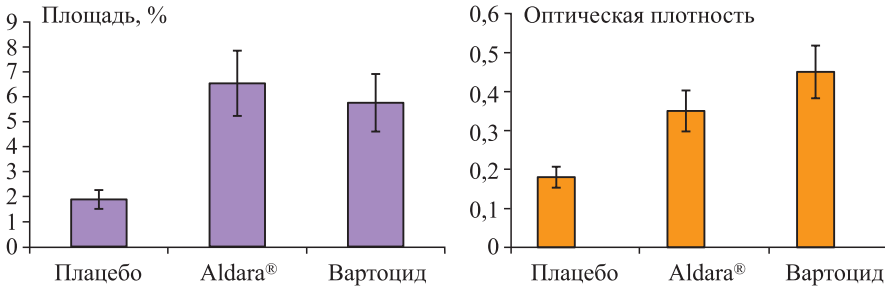
плоский эпителий и подлежащая строма образуют единое пространство кожи, имеющее морфологические различия, но объединенное единством функции защиты внутренней среды организма от воздействия внешних факторов.

Исходя из полученных данных, можно считать, что исследованные образцы крема имихимода близки между собой как по показателям безопасности, так и по индуцируемым эффектам, в том числе по индукции апоптоза в зоне аппликации, по крайней мере по показателю экспрессии проапоптозного рецептора p53.



а *б*

Рис. 25. **Результаты гистохимического определения экспрессии p53 в многослойном плоском эпителии кожи морских свинок после 6-недельной аппликации препаратов.**
а — площадь окрашенных участков (количественная характеристика экспрессии p53); *б* — оптическая плотность (интенсивность окраски, относительная интенсивность экспрессии на каждом участке)



а *б*

Рис. 26. **Результаты гистохимического определения экспрессии p53 в подкожной клетчатке морских свинок после 6-недельной аппликации препаратов** (обозначения те же, что и на рис. 25)

Совокупность результатов приведенного сравнительного исследования показала, что препарат Вартоцид удовлетворительно воспроизводит фармакологическую активность, присущую оригинальному препарату Aldara®. Наблюдающиеся различия недостоверны.

Канцерогенез, мутагенез, эмбриотоксичность. При исследовании имихимода было условлено, что максимальная рекомендованная доза для человека (МРДЧ) составляет 25 мг субстанции, или 500 мг крема 5%. Дозирование препарата животным проводили с учетом различий в площади поверхности тела (дозы приводили к показателю МРДЧ методом AUC-сравнения). Во всех исследованиях дозирование на животных проводили с учетом правил масштабирования.

При исследовании канцерогенности крысам линии Wistar препарат вводили перорально 2 раза в нед (до 6 мг/кг в день) или ежедневно (3 мг/кг в день) в течение 24 мес. У животных не выявлено никаких опухолей, обусловленных введением Вартоцида, при введении по разным схемам, вплоть до самых высоких доз:

– 6 мг/кг 2 раза/нед самкам крыс;
– 4 мг/кг 2 раза/нед самцам крыс;
– 3 мг/кг 7 раз/нед самкам и самцам крыс.

При исследовании канцерогенности в условиях накожной аппликации Вартоцид наносили на кожу задних конечностей мышей в виде крема 5% 3 раза/нед в течение 24 мес. Статистически достоверное увеличение случаев опухолей было отмечено только у мышей-самцов, получавших 251 МРДЧ.

В 52-недельном исследовании на модели фотоканцерогенеза было отмечено сокращение среднего времени формирования опухоли у мышей с эпилированной кожей в течение хронического облучения ультрафиолетовыми лучами (5 дней/нед, 40 нед) с одновременным местным применением плацебо (3 раза/нед, 40 нед, оценка результатов через 12 нед наблюдения после окончания курса плацебо). Не отмечено ускорения развития опухолевого процесса при применении имихимода 5% крема для наружного применения по сравнению с аналогичным процессом, наблюдавшимся при использовании плацебо. Имихимод не показал

никаких мутагенных или канцерогенных свойств. В пяти исследованиях генотоксичности (AMES-исследование на клетках мышиной лимфомы L5178Y, в тесте хросомных аберраций на клетках яичника китайского хомячка, в тесте хромосомных аберраций лимфоцитов человека) и реакции трансформации SHE-клеток не выявлено мутагенного или кластогенного действия Вартоцида. Не отмечено генотоксичности и в трех тестах *in vivo* (крысы, костный мозг хомяка и мыши, доминантный летальный тест). Ежедневное пероральное введение Вартоцида крысам в период спаривания, беременности, родов и выкармливания не выявило какого-либо действия на рост, эмбриогенез или репродуктивность в дозах до 87 МРДЧ.

Общее исследование репродукции у крыс на фоне применения Вартоцида у самок и самцов до и во время брачного периода, а также во время беременности и лактации у самок показало наличие клинических признаков токсичности у обоих родителей. Однако не было отмечено влияния на репродуктивные характеристики. Не наблюдали никаких побочных эффектов имихимода в отношении средней продолжительности беременности, среднего размера помета или числа мертвых щенков. Выживание детенышей и рост в период лактации были в норме. При скрещивании потомства не обнаружено никаких побочных эффектов, относящихся к их репродуктивной функции. У крыс и кроликов, получавших имихимод, не обнаружено тератогенных изменений. У крыс при введении высокой материнской токсической дозы (28 человеческих доз в расчете мг/м^2 поверхности тела) была редуцирована масса тела детенышей и замедлена оссификация. В исследованиях развития потомства от беременных крыс, обработанных имихимодом (8 человеческих доз), не установлено никаких негативных последствий. Имихимод тестировали на мутагенность в различных исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Никакой мутагенной активности ни в одном тесте обнаружено не было [273].

Исследования влияния Вартоцида на течение беременности и развитие эмбрионов проводили на крысах и кроликах. Препарат вводили беременным крысам перорально в дозах 1; 5 и 20 мг/кг в день в течение периода закладки органов (6–15-й день гестации). Неблагоприятные эмбриональные явления отмечены толь-

ко в случае применения имихимода в дозе 20 мг/кг в день. Они проявлялись увеличением резорбции, уменьшением массы тела эмбрионов, задержкой окостенения скелета, деформацией костей, и у 2 эмбрионов из 1 567 наблюдавшихся отмечено увеличение языка, низкое расположение ушей. Не выявлено никакой эмбриофетальной токсичности и тератогенности при введении Вартоцида в дозе 50 мг/кг в день.

Внутривенно Вартоцид вводили беременным крольчихам в дозах 0,5; 1 и 2 мг/кг в день в период эмбриогенеза (гестационный период 6–18-й день). Не выявлено никаких зависимых от препарата эмбриофетальных и тератогенных эффектов при введении максимальной в этом эксперименте дозы Вартоцида, составлявшей 2 мг/кг в день, или половинной дозы (1 мг/кг в день).

В исследованиях на крысах проводили сравнительную оценку влияния Вартоцида на эмбриотоксичность, а также на пери- и постнатальное развитие. Препарат вводили перорально крысам-самцам в дозах 1; 1,5; 3 и 6 мг/кг в день за 70 дней до спаривания и в период спаривания, крысам-самкам препарат вводили в тех же дозах с 14-го дня до спаривания и в период беременности, родов и лактации. Никакого влияния препарата на рост и развитие эмбриона, воспроизводство или послеродовое развитие не было отмечено при всех испытанных дозах, вплоть до максимальной, составлявшей 6 мг/кг в день. При отсутствии материнской токсичности были отмечены некоторые изменения в костном скелете эмбриона при введении препарата в дозе 6 мг/кг в день.

Не выявлено никаких тератогенных эффектов у животных, которым имихимод вводили в дозе 3 мг/кг в день.

Завершая описание токсичности имихимода как непосредственно исходной субстанции, так и фармакологических препаратов оригинального, производимого под брендом Aldara®, и воспроизведенного аналога Вартоцида, можно с достаточным основанием утверждать, что оба препарата 5% крема имихимода (Aldara® и Вартоцид) являются полностью безопасными и проникают в системный кровоток в следовых количествах. Оба препарата обладают низкой токсичностью при парентеральном и накожном применении, а также не обладают генотоксичностью, эмбриотоксичностью и не влияют на течение и исход беременности.

При длительной накожной аппликации отмечается слабая реакция эпидермиса, проявляющаяся повышением слущивания рогового эпителия и незначительным отеком подкожной клетчатки, причем наблюдаемые изменения не зависят от вида препарата (оригинального или воспроизведенного).

Сопоставление эффективности оригинального препарата Aldara® и воспроизведенного препарата Вартоцид по такому важному для онкологии показателю, как способность индуцировать апоптоз, показало, что по этому свойству они близки между собой. Отметим также сходство препаратов и по влиянию на выработку провоспалительных цитокинов. И хотя прямых сравнительных исследований провоспалительной активности по ряду причин нам провести не удалось, тем не менее, сопоставление полученных результатов с данными литературы позволяет уверенно утверждать, что оригинальный и воспроизведенный препараты если и неидентичны, то весьма близки между собой. Учитывая провоспалительную природу препаратов имихимода, следовало ожидать развития тех или иных неблагоприятных эффектов в зоне аппликации препарата. Такие побочные эффекты действительно наблюдаются, однако их, на наш взгляд, уместнее обсуждать при описании конкретных нозологических форм, при которых показаны данные препараты, что сделано в последующих главах.

Глава 4

ВИДЫ И ПРИНЦИПЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАПИЛЛОМ И БОРОДАВОК

В начале XX в. была впервые опубликована статья о бородавчатой эпидермодисплазии (так в тот период называли бородавки), в которой была показана ее вирусная этиология [178]. К середине 60-х гг. появились свидетельства того, что это вирусное заболевание в ряде случаев может малигнизироваться, давая начало раковым опухолям [13], однако еще довольно долго такое перерождение считалось, скорее, исключением. Лишь к началу 90-х гг. стало понятно, что вирус папилломы человека, являющийся этиологической причиной бородавок, имеет большое число типов, часть которых может вызывать различные злокачественные процессы в кожном и слизистом эпителии. ВПЧ широко распространен в человеческой популяции, а вызываемые им заболевания требуют разработки новых эффективных средств и методов лечения [325].

Краткая характеристика вируса папилломы человека (ВПЧ). По форме он представляет собой правильный икосаэдр, состоящий из 72 капсомеров и не имеющий наружной оболочки (*рис. 27*). Вирус ранее причисляли к семейству *Papovaviridae*. В соответствии с решениями VII Международного конгресса по таксономии вирусов, с 1 января 2002 г. он выделен в новое семейство — *Papillomaviridae*. ВПЧ обладает выраженной тропностью к определенным тканям человека, чаще всего к клеткам эпидермиса и/или эпителия генитального тракта. Геном вируса — коль-

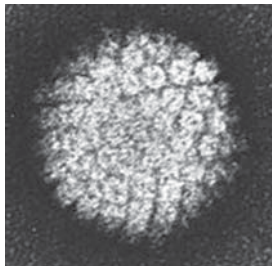


Рис. 27. **Электронная микрофотография вируса папилломы человека**

цевая ДНК длиной примерно 8 килобаз и с восемью открытыми рамками считывания, ассоциированная с гистоном и структурно-организованная подобно хроматину [29]. Четыре ранних гена (E1, E2, E6 и E7) обеспечивают процессы репликации и транскрипции вириона, гены E4 и E5 экспрессируются позднее, обеспечивая иммунную инвазию и последующее высвобождение. Ранние гены E6 и E7 определяют онкогенный потенциал вируса. Поздние гены L1 и L2 кодируют структурные протеины вируса и являются агонистами для паттерн-распознающих рецепторов восприимчивых клеток организма, таких как TLR, запускающих, в свою очередь, комплекс защитных реакций в виде продукции воспалительных цитокинов — IL-1β, -6, -8, -12, , ИФНα, β, λ и др. [324]. Таким образом, геном вируса содержит полный набор генов, обеспечивающих его проникновение в клетку человека, репликацию и последующее высвобождение.

К концу 2016 г. открыто около 190 серотипов ВПЧ, из которых 120 изолированно от человека, 64 — от других млекопитающих, 3 — от птиц и 2 — от рептилий [49, 54, 83]. Все они обладают разной степенью онкогенного риска (*табл. 13*). Вместе с тем, следует помнить, что представленная в данной таблице классификация в известной мере условна и что даже низкоонкогенные типы ВПЧ при некоторых условиях могут вызывать злокачественную трансформацию. Кроме того, в разных публикациях один и тот же тип вируса может быть отнесен к разным категориям [29]. ВПЧ разделен на пять основных родов — α, β, γ, δ, μ. Классификация основана на различиях в нуклеотидной последовательности. Известно, что у человека встречают вирус α, β и γ [54].

Среди обширного перечня вирусных инфекций, наблюдающихся у человека, папилломавирусная инфекция распространена

Таблица 13. **Распределение серотипов ВПЧ по степени онкогенного риска**

Степень онкогенного риска	Номера серотипов	Литературная ссылка
Низкая	1, 2, 3, 5, 6, 11, 13, 14, 15, 26, 27, 32, 34, 40, 41, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 67–72, 74	[18, 62, 137]
Умеренная	31, 33, 35, 39, 51, 53, 59, 73, 82	[18, 143]
Высокая	16, 18, 31, 33, 35 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 70	[251, 321]

наиболее широко, и по разным оценкам этим вирусом заражено свыше 50% населения планеты [89, 225]. Особенно часто ВПЧ персистирует у лиц, коинфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), в том числе у лиц с нетрадиционной сексуальной ориентацией [58, 76]. Предрасполагающим фактором обострения ВПЧ-инфекции могут служить беспорядочные половые связи, иммуносупрессивная терапия, трансплантация солидных органов. Инкубационный период ВПЧ составляет от 3 нед до 8 мес от первичного заражения. Средний период до развернутой клинической картины составляет 2–3 мес после первичного заражения [230].

Хотя вирус и не относится к высокорезистентным, он, тем не менее, способен достаточно долго выживать во внешней среде, что является предрасполагающим фактором для контактного заражения. Заразиться ВПЧ можно при половом акте, при физическом контакте с больным, в результате попадания вируса в организм здорового человека через микроповреждения кожного покрова. Хотя сексуальный контакт является самым распространенным путем передачи инфекции, вирусная ДНК была изолирована с нижнего белья и полотенец, являющихся потенциальным источником передачи вируса. Некачественно стерилизованные инструменты, в том числе лазерные, также могут быть источником распространения вируса [77]. Новорожденный ребенок может заразиться от инфицированной матери во время родов, причем кесарево сечение не является надежной преградой для внутриутробного заражения. В случае внутриутробной передачи

вируса может развиться рецидивирующий папилломатоз гортани, требующий адекватного лечения [12, 173, 179].

Серьезное внимание, уделяемое ВПЧ, связано с теми заболеваниями, которые он вызывает. Наиболее частой патологией, наблюдаемой у человека, являются папилломы и бородавки. При этом возникает резонный вопрос: а чем они отличаются? Считается, что кожные проявления папиллом называются бородавками, в то время как поражения, локализованные на слизистой оболочке, называют папилломами. Таким образом, папилломы и бородавки — это две формы одного заболевания, различающиеся по анатомической и тканевой локализации. При этом следует помнить, что все бородавки, кроме старческих кератом, являются результатом папилломавирусной инфекции. Иных причин развития бородавок не существует.

Следует сказать, что многочисленное семейство ВПЧ неоднородно, разные серотипы вируса могут вызывать разные формы заболевания (*табл. 14*). Представленные данные не являются исчерпывающими, а скорее, свидетельствуют о широком спектре заболеваний, вызываемых ВПЧ. Известно также, что один и тот же серотип может вызывать несколько разных заболеваний. Так, ВПЧ 1-го, 2-го, 4-го и 63-го типа чаще вызывает подошвенные бородавки; вирус 2-го и 7-го типа является, в основном, причиной простых бородавок; вирус 6-го, 11-го и реже 42-го и 44-го типа вызывает аногенитальные кондиломы, а вирус 6-го, 7-го, 11-го и 32-го типа провоцирует папилломатоз ротовой полости и гортани. Высокоонкогенные вирусы практически не образуют папиллом, но являются причиной рака шейки матки, меланомы, базально-клеточной карциномы, плоскоклеточного рака и ряда других онкологических заболеваний [112, 216]. Таким образом, ВПЧ является причиной различных заболеваний опухолевой и неопухолевой этиологии (см. табл. 14). При этом следует подчеркнуть, что абсолютно безопасных бородавок не существует. При определенных условиях даже низкоонкогенный ВПЧ может вызывать злокачественное перерождение. Например, типичная остроконечная кондилома может перерождаться в рак шейки матки, базально-клеточную карциному или плоскоклеточный рак у больных СПИДом или лиц,

Таблица 14. **Некоторые заболевания, ассоциируемые с разными серотипами ВПЧ**

Серотип вируса	Уровень риска	Локализация поражений	Литературная ссылка
32, 42	Низкий	Очаговая эпидермальная гиперплазия, оральные бородавки	[136]
3, 10, 28, 29, 78, 11, 74, 65, 95, 49, 75, 76, 115	Низкий	Кожные бородавки	[65, 85, 126]
61, 72, 81, 83, 84, 86, 87, 89, 106, 102, 114	Низкий	Папилломы слизистого эпителия	[54, 58]
2, 27, 57	Низкий	Подошвенные бородавки	[165]
7, 40, 43, 91(?)	Низкий	Поражения кожи и слизистого эпителия гениталий	[154]
6, 11, 13, 44, 54, 74	Низкий	Папилломы различной локализации, аногенитальные бородавки	[30, 40]
5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 36, 37, 38, 47, 80, 93, 98, 99, 100, 104, 105, 107, 110, 111, 113, 118, 120, 122, 124	Умеренный	Бородавчатая эпидермодисплазия, кожные поражения у ВИЧ-инфицированных лиц	[54, 82, 170, 212]
26, 51	Высокий	Ларингеальная карцинома, цервикальная внутриэпителиальная неоплазия шейки матки	[44, 55]
30, 53	Высокий	Рак шейки матки, вульварная карцинома	[246, 302]
16, 18, 31, 33, 3435, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66, 67,68, 70, 73, 97	Высокий	Цервикальная аденокарцинома и другие неоплазии; рак пищевода; рак молочной железы, инвазивный рак шейки матки, сквамозно-клеточная карцинома пищевода	[40, 71, 104, 106, 213, 292, 315]

получающих иммуносупрессивную терапию после трансплантации солидных органов [194, 321].

Первоначально бородавки часто развиваются на травмированных участках кожи и во влажных местах, к которым относится, в частности, область промежности. Появившиеся бородавки могут сильно различаться как по размеру, так и по окраске. На раннем этапе это маленькие плоские или куполообразные образования, не отличающиеся по цвету от окружающей ткани, размером 1–3 мм в диаметре. В дальнейшем бородавки могут увеличиваться и даже сливаться в крупные бляшки, которые плотно сидят на поверхности или располагаются на тонкой ножке. Нередко цвет их изменяется от телесного до белого, серого, красного, или коричневого. Наиболее частым местом локализации бородавок является тыльная сторона руки, лицо или гениталии. При этом у женщин они нередко располагаются также на половых губах, лобке, клиторе, мочеиспускательном канале, входе во влагалище, внутренней стенке влагалища и шейке матки [173]. У мужчин поражения могут локализоваться на теле полового члена, внутренней поверхности крайней плоти, входе в мочеиспускательный канал. Как у мужчин, так и у женщин бородавки могут находиться в параанальной области и в анальном канале [45].

Важно еще раз подчеркнуть широкое распространение ВПЧ у населения. Такая ситуация обусловливает большое внимание к проблеме и стремление разработать эффективные средства профилактики и терапии инфекции. Поскольку число и распространенность заболеваний, вызванных ВПЧ, велико и не может быть сведено к какому-то одному алгоритму или методу лечения, это вызывает необходимость разработки новых подходов к терапии и профилактике этих разнообразных и порой трудно поддающихся лечению заболеваний. В целом папилломавирусная инфекция до сих пор остается актуальной проблемой дерматовенерологии.

Классификация и клиническая характеристика бородавок. Наиболее известным и очевидным проявлением папилломавирусной инфекции являются кожные бородавки. В зависимости

от их анатомической локализации, они разделяются на несколько типов. Современная классификация различает плоские, или юношеские, бородавки; вульгарные бородавки и их разновидность — подошвенные бородавки; нитевидные бородавки (акрохорды), аногенитальные бородавки (остроконечные кондиломы); старческие бородавки (себорейный кератоз), причем только последний тип не является собственно бородавкой и не связан с вирусной этиологией.

Юношеские бородавки, как следует из их названия, встречаются у детей и подростков и их причиной является вирус 14-го, 15-го и 27-го типа. Распространенность юношеских бородавок у детей 4–14 лет, по разным оценкам, составляет 3–20 % [25, 269]. Располагаются юношеские бородавки на лице, шее, конечностях, в том числе на тыльной поверхности рук и ног, но никогда не встречаются на подошве или ладонной поверхности рук. В целом это доброкачественные образования, которые чаще всего с возрастом бесследно проходят, не оставляя никаких следов. В большинстве случаев лечения юношеских бородавок не требуется [25, 310]. При массивных поражениях могут использоваться механический кюретаж, электрокоагуляция или химические методы эксцизии, при этом всегда следует соизмерять соотношение риска и пользы проводимой терапии, учитывать возраст больного. Вместе с тем, имеется ряд признаков, служащих показанием для терапевтического вмешательства:

- внезапный быстрый рост юношеских бородавок на лице или тыльной поверхности руки;
- неожиданное появление других бородавок, сливающихся в группы;
- изъязвления или кровоточивость бородавок или изменение их цвета.

Во всех случаях одновременно с лечением следует провести вирусологическую диагностику для определения серотипа вируса.

Самые распространенные разновидности бородавок, вызываемые ВПЧ типа 2, — это простые и подошвенные бородавки. Внешне они выглядят плотными сухими ороговевшими образованиями с неровной поверхностью, иногда напоминающей цветную капусту. Они могут быть обычного цвета, характерного для

эпидермиса тыльной или ладонной поверхности. Простые (вульгарные) бородавки бывают единичными или множественными. В последнем случае они могут сливаться, образуя большие бляшки [304]. Заражение вирусом происходит в детстве. Вирус порой довольно долго персистирует в латентном состоянии, но чаще происходит обострение, сопровождающееся появлением одной или нескольких бородавок на тыльной или, реже, ладонной поверхности руки, причем бородавка может появиться и в любом другом месте (кожа спины, головы, лица и др.). Нередко после ее удаления она рецидивирует в виде единичного элемента или нескольких бородавок, последовательно или одновременно. Со временем простые бородавки самопроизвольно исчезают, но если они сохраняются длительное время или количество и площадь их распространения увеличивается, то для их удаления могут потребоваться физические или химические методы эксцизии.

Плантарные, или подошвенные, бородавки — это, по существу, те же самые обычные (вульгарные) бородавки, но локализованные на подошвенном эпидермисе. Плантарные бородавки могут располагаться и на пальцах ног, и в межпальцевом пространстве. Возбудителем бородавок этого рода считается ВПЧ 1-го типа [182, 312]. Вследствие своей локализации они часто являются причиной разного рода неудобств, в том числе боли при ходьбе, вынуждающих больного прибегать к их физическому (чаще) или медикаментозному удалению. Плантарные бородавки практически никогда не малигнизируются.

Нитевидные бородавки, или акрохорды, представляют собой особый тип бородавок, вызываемых β-разновидностью ВПЧ типа 3, 5, 8 и 9. Бородавки этого типа имеют характерную продолговатую форму и одним концом прикрепляются к эпидермису. Они достаточно эластичны, а вследствие их длины, которая может достигать 5–6 мм, часто подвергаются травматизации. Акрохорды возникают у людей после 30 лет, а к 80 годам практически у каждого человека имеется хотя бы одна акрохорда. Бóльшая часть нитевидных бородавок локализована на кожных покровах лица, поверхности шеи, в области молочных желез и подмышечных впадин. Нитевидные бородавки не проявляются какой-либо симптоматикой, но при травматизации или удале-

нии они могут рецидивировать. Вместе с тем, нитевидные бородавки нередко развиваются на слизистой оболочке, что может существенно осложнить эффективность лечения. Акрохорды, как правило, не малигнизируются, хотя в литературе описаны случаи злокачественного перерождения акрохорд, вызванных ВПЧ-5 и -8 [92]. Способы лечения нитевидных бородавок не отличаются от аналогичных методов лечения других разновидностей бородавок.

Среди обширного семейства бородавок особое место занимают аногенитальные бородавки [47]. Нередко их называют еще остроконечными кондиломами (*condiloma acuminata*). В целом это доброкачественные образования, локализующиеся преимущественно на половых органах, в анальной и перианальной области. Причиной аногенитальных бородавок является, в основном, ВПЧ низкого риска злокачественности 6-го и 11-го типа, хотя и другие типы вируса также могут вызывать эти образования. Среди них встречаются типы низкого (ВПЧ-42, -43, -44), умеренного (ВПЧ-31, -33, -35, -51, -52, -58) и высокого (ВПЧ-16, -18, -45, -56) онкогенного риска, хотя все же ВПЧ-6 и ВПЧ-11 являются доминирующими в развитии бородавок (до 90% всех случаев), в то время как ВПЧ-16 и ВПЧ-18 чаще вызывают злокачественные новообразования [26]. По внешнему виду и клиническому течению различают остроконечные кондиломы, бородавки в виде папул и пятен, гигантскую кондилому Бушке–Ловенштейна (Buschke–Löwenstein) и бовеноидный папулез [82].

Заражение аногенитальными бородавками происходит, как правило, половым путем в результате обычного или анального секса, особенно у мужчин, практикующих секс с мужчинами [91]. Не случайно аногенитальные бородавки отнесены к группе инфекций, передаваемых половым путем. Обычно бородавки локализуются в местах, подвергающихся травматизации при половых контактах. Клинически выраженные проявления возникают спустя продолжительный период времени, что, естественно, затрудняет или делает невозможным какие-либо эпидемиологические выводы. Тем не менее, установлена определенная связь между риском развития аногенитальных бородавок и числом сексуальных партнеров [47].

Бородавки могут быть единичными и множественными, захватывать несколько анатомических областей. У мужчин аногенитальные бородавки локализуются преимущественно на половом члене (головка, венечная борозда, крайняя плоть), реже поражается промежность, мошонка и перианальная область. Примерно у ¼ больных мужчин аногенитальные бородавки локализуются в области наружного отверстия уретры, что существенно затрудняет последующую терапию. У мужчин и женщин, практикующих анальный секс, бородавки часто локализуются в параанальной области [47].

У женщин на ранних сроках беременности размер и число вульварных остроконечных кондилом может увеличиваться, что представляет существенный риск заражения новорожденных во время прохождения по родовым путям с последующим развитием папилломатоза гортани [248]. Реже заражение может происходить контактным путем от лиц, осуществляющих уход за детьми. Вместе с тем, при обнаружении бородавок у детей в аногенитальной зоне всегда следует исключить возможность сексуального насилия, которое может иметь место у 40% детей с этими образованиями [307]. Течение аногенитальных бородавок может быть полностью бессимптомным или сопровождаться гиперемией в области поражения зудом и жжением. В ряде случаев бородавки изъязвляются, на них могут появляться трещины, а в случае локализации элементов на половых органах пациенты могут испытывать боли при половых контактах. При локализации бородавок на половых губах и особенно стенке влагалища и шейки матки они могут, в той или иной степени, осложнять продвижение новорожденного по родовым путям.

Особой формой проявлений кондиломатоза является гигантская кондилома Бушке–Ловенштейна [51]. В отличие от обычных остроконечных кондилом, гигантская кондилома представляет собой полузлокачественную опухоль, обусловленную инфицированием человека ВПЧ 6-го или 11-го типа. Её основное отличие — агрессивный экзофитный рост в основных дермальных структурах. Гигантская кондилома Бушке–Ловенштейна чаще наблюдается у мужчин, хотя в целом это довольно редкое заболевание. Клинически гигантская кондилома проявляется наличи-

ем быстро сливающихся папиллом, образующих обширный очаг поражения с широким основанием и обширными вегетациями, которые ороговевают, мацерируются и могут сопровождаться абсцессами и фистулами. Типичная локализация опухоли — тело полового члена, венечная борозда, внутренний листок крайней плоти. В некоторых случаях эта кондилома может локализоваться и в аногенитальной области [286]. Хотя, как уже сказано, кондилома Бушке–Ловенштейна встречается только в виде отдельных клинических случаев, тем не менее, это достаточно серьезное заболевание, принципы терапии которой разработаны недостаточно основательно. Чаще всего применяют обычные методы лечения, приведенные ниже, которые, однако, не гарантируют 100% результат [19]. В ряде случаев эксцизия гигантской кондиломы может потребовать обширного реконструктивного хирургического вмешательства [134].

Подводя итог краткому обзору незлокачественных поражений, вызванных ВПЧ, следует отметить высокую полиморфность наблюдаемых проявлений, продолжительность течения инфекции и далеко не всегда наступающее самоизлечение. Для папилломавирусной инфекции характерно широкое распространение вируса в человеческой популяции и ее связь с вторичными иммунодефицитными состояниями. Имеющиеся методы лечения далеко не всегда обеспечивают приемлемую терапевтическую эффективность. Последнее обстоятельство вынуждает специалистов предпринимать значительные усилия по поиску новых средств и методов лечения папилломатоза.

Краткий обзор методов лечения бородавок. Широкое разнообразие форм и локализаций бородавок диктует разную стратегию их лечения. Так, ювенильные бородавки, как правило, не проявляются какими-либо симптомами и со временем самопроизвольно разрешаются. В этом случае никаких терапевтических усилий не требуется. То же самое во многом относится и к вульгарным бородавкам, если они не причиняют неудобств и не проявляются теми или иными симптомами. Вместе с тем, при прогрессирующем увеличении их числа, появлении жжения, зуда, трещин и кровоточивости такие бородавки, независимо от их происхождения, требуют применения тех или иных методов терапии. Чаще всего

это относится к аногенитальным бородавкам, доставляющим различные проблемы пациентам [30, 47, 310].

Для лечения бородавок разработано много различных подходов, которые в общем виде можно свести в три основные группы:

- инвазивные методы физической эрадикации;
- инвазивные методы химической эрадикации;
- неинвазивные методы лекарственной терапии, основанные на взаимодействии с определенными процессами в вирионе или организме пациента.

Первая группа методов основана на физическом удалении бородавки без какого-либо воздействия на вирус. В первую очередь это хирургическое удаление одной или нескольких бородавок под местной анестезией. Методика достаточно быстрая и удобная, после микрохирургического вмешательства остается небольшая ранка, которая при соблюдении минимальной антисептики быстро эпителизируется. Недостатком этого метода является сравнительно высокий риск рецидивирования [257, 298]. В ряде случаев при локализации бородавки в области крайней плоти хороший результат дает циркумцизия [122, 338].

К числу инвазивных методов терапии также относятся электрокоагуляция, криотерапия и лазерная терапия, нашедшие широкое применение при бородавках любой локализации, но особенно при аногенитальных [38]. Несмотря на сходство методов (все они основаны на деструктивном термическом воздействии), имеются некоторые отличия в тактике. Так, крио- и лазерная терапия наиболее удобны при эрадикации небольших, отдельных папиллом, в то время как электрокоагуляция хороша при удалении больших экзофитных образований, таких, например, как гигантская кондилома Бушке–Ловенштейна [286, 334]. Все эти методы выполняют под местной анестезией или без таковой (криотерапия), процедура хорошо переносится больными, но при этом риск рецидива может достигать 70% [38]. При терапевтических процедурах, связанных с возможным аэрозолированием инфицированного материала (лазерная и электротерапия), медицинскому персоналу необходимо применять систему вентиляции и специальные защитные маски, чтобы исключить или минимизировать риск заражения вирусом папилломы.

Вторая группа методов предполагает применение химических коагулянтов ди- и трихлоруксусных кислот без непосредственного воздействия на вирус [294]. Кислоту в концентрации 90 % наносят непосредственно на бородавку с помощью палочки с хлопковым наконечником 1 раз/нед в течение 3–4 нед. Кислоты разрушают бородавки. Препараты могут применяться только для удаления маленьких бородавок. Аппликации хорошо переносятся, вызывая только кратковременное локальное жжение. Трихлоруксусная кислота может применяться при бородавках различной локализации, в том числе и вагинальных. Терапия ди- и трихлоруксусной кислотами безопасна и может применяться у беременных женщин. Риск рецидива после такой терапии сохраняется, хотя он и меньше, чем при механических методах лечения.

Еще одним препаратом, относящимся ко второй группе, является такой известный кератолитик, как салициловая кислота [247]. Препарат наносится непосредственно на бородавку в виде раствора, геля, путем аппликации дисков, пропитанных раствором. Раствор и гель применяют 2–3 раза в день и после нанесения дают раствору возможность высохнуть. Диски накладывают на 48 ч. Лечение может продолжаться до 12 нед. В результате нанесения кислоты бородавка шелушится и исчезает, при этом здоровые ткани остаются незатронутыми. Терапевтический эффект в виде исчезновения бородавки достигает 75 %. Процедура переносится больными, как правило, хорошо. Побочные реакции проявляются в виде раздражения. Безопасность применения растворов салициловой кислоты у беременных не исследована [247]. В некоторых случаях применению растворов салициловой кислоты предшествует криотерапия, что, по данным авторов, увеличивает эффективность лечения и снижает уровень рецидивирования [186].

Препараты третьей группы относятся к числу неинвазивных и могут действовать как на клетки бородавок, так и на вызвавший их вирус (хотя и не всегда). Одним из таких препаратов является 5-фторурацил (5-FU). Будучи аномальным нуклеозидом, он прекращает синтез ДНК ВПЧ в клетках, формировавших бородавки, с последующей их гибелью [298]. Препарат применяют в виде 5 % крема преимущественно на бородавках аногенитальной локализации. Продолжительность курса составляет 5–7 дней, продол-

жительность одного сеанса составляет 3–10 ч, после чего крем следует смыть. Эффективность терапии достигает 75,5%, при этом примерно у 50% больных наблюдают рецидивы в течение 3 мес наблюдения [150, 298].

Цидофовир — ациклический нуклеозид, применяемый при широком круге инфекций, в том числе и ВПЧ преимущественно 6-го и 8-го типа. Цидофовир получил наиболее широкое применение при индуцированных ВПЧ-опухолях [254, 331]. Препарат может применяться в виде раствора для внутривенного введения и местно в виде 1% или 3–5% геля и мази. В основе механизма его действия лежит программированная гибель клеток бородавки или опухоли [331]. Крем цидофовира применяют 2–3 раза в день курсом до 10 нед. При более длительном лечении существует риск развития почечной недостаточности [64]. Кроме местной аппликации, используют введение раствора цидофовира непосредственно в очаг поражения, что, по данным литературы, сопровождается полным очищением от бородавок [168]. Наиболее частыми побочными явлениями являются боль, жжение, повышенная чувствительность, зуд, эритема и гиперпигментация в очаге [57]. В качестве обстоятельства, ограничивающего применение препарата, является его сравнительно высокая стоимость. Вместе с тем, препарат довольно эффективен. Так, ежедневное топическое перианальное применение 1% цидофовира в течение 14 дней в форме мази у ВИЧ-позитивных пациентов привело к полному излечению и отсутствию бородавок в течение последующего наблюдения в течение 14 мес [198].

Интерфероны (ИФН) являются иммуноактивными белками, функционирующими в качестве первой линии защиты от вирусов. При лечении поражений, вызванных ВПЧ, применяют как ИФН 1-го (ИФНα, ИФНβ), так и ИФН 2-го (ИФНγ) типа [168]. Существует по меньшей мере два способа применения ИФН в виде местных аппликаций и внутриочагового введения [286, 298]. Топическое применение было многообещающим, но показало разные результаты. Причина этого во многом заключалась в недостаточной стандартизации метода или недостаточной концентрации ИФН в препаратах для местного применения. Проблему недостаточного дозирования можно было решить с помощью микроком-

прессов, когда сухой концентрированный препарат сывороточного ИФН наносят непосредственно на бородавку и герметично заклеивают лейкопластырем [7]. Процедуру проводят ежедневно на протяжении 3–4 нед. Всего автор лечил более 10 человек, у которых наблюдали полное разрешение бородавок. К сожалению, дальнейшую судьбу этих больных проследить не удалось.

Системное применение ИФН позволяет удалить значительное число бородавок и злокачественных новообразований папилломавирусной этиологии [247]. Частота позитивного ответа на ИФНγ составила не менее 15%, на ИФНα — 18–71% и на ИФНβ — 51–81%, но наибольший успех наблюдался при введении ИФН непосредственно в зону бородавки, при этом полное удаление достигалось в 63%, а частота рецидивов составляла 0–36% [291]. Важно отметить, что результат был достигнут при применении препарата ИФН, выделенного из сыворотки крови человека, то есть результаты были подобны тем, которые получены с сухим ИФН, наносимым в виде компресса [7].

Большинство больных переносили процедуру лечения хорошо, побочные реакции были немногочисленны и характеризовались лихорадкой, ознобом, миалгией, головной болью, усталостью — симптомами, самопроизвольно купировавшимися сразу после завершения курса лечения. Недостатком ИФН-терапии является быстрое развитие толерантности вследствие возникновения иммунной реакции на ИФН. Противопоказаниями для терапии ИФН являются беременность, аутоиммунные заболевания, использование цитостатических препаратов. Вместе с тем, эти противопоказания в большей степени актуальны для парентерального применения. Описан также метод комбинированного хирургического удаления бородавок с последующим применением ИФН, показавший достоверное повышение терапевтического эффекта [78].

Кроме терапии ИФН, проведены ограниченные исследования эффективности глицирризиновой кислоты [5]. Описано успешное применение препарата глицирризиновой кислоты, названного Glizigen, в сочетании с витаминным комплексом Viusid при лечении генитальных бородавок [90]. По данным авторов, комбинированное применение указанных средств приводило к пози-

тивному терапевтическому исходу в 87,5% случаев (42 пациента из 50), в то время как в группе сравнения, где применяли подофиллин, позитивный результат отмечен у 76% (38 из 50) больных с аногенитальными бородавками. Размер бородавок у всех больных был до 5 см^2. При сопоставлении числа нежелательных реакций было установлено, что в группе, получавшей Glizigen и Viusid, 38 пациентов из 48 (82%) не испытывали никаких побочных эффектов, тогда как в группе сравнения, в которой применяли подофиллин, местные реакции в виде жжения, боли и зуда отмечены у 23 (46%) больных, а у 27 (54%) больных никаких местных или системных побочных реакций не отмечено. Таким образом, препарат, содержащий глицирризиновую кислоту, являющуюся активным индуктором ИФН 1-го типа, показал не только хорошую терапевтическую эффективность, но высокую безопасность по сравнению с подофиллином. Описанные результаты представляют несомненный интерес, учитывая высокую безопасность глицирризиновой кислоты и наличие местных препаратов в виде Эпигена раствора для орошения [189] или кремов, в частности комбинированного препарата Тиладерм, представляющего композицию глутамил-триптофана и глицирризата натрия [10]. Весьма интересной с точки зрения повышения эффективности терапии бородавок является комбинация глицирризиновой кислоты и подофиллина, компоненты которой оказывают аддитивный терапевтический эффект [315].

Среди антимитотических препаратов цитостатического действия хорошо зарекомендовали себя уже упомянутый выше подофиллин и его очищенный дериват подофиллотоксин [247]. Показано, что подофиллотоксин в виде 0,5 или 0,15% раствора или мази обеспечивает хорошие результаты при местном лечении бородавок различной локализации. Антимитотическое действие гликозидов подофилла щитовидного (*Podophyllum peltatum*) основано на их свойстве связываться с клеточными микротрубочками, блокируя митоз на стадии метафазы, что приводит непосредственно к некрозу бородавки [233]. Терапевтический цикл предусматривает трехдневное применение подофиллина 2 раза в день с последующим 4–7-дневным перерывом. Как правило, после 1–2 циклов наблюдается полное некротическое разреше-

ние бородавки в 70–90% случаев. После проведенной терапии на месте аппликации препарата нередко остаются изъязвления, заживающие в течение 3–4 нед. Побочные эффекты в виде эритемы и эрозии отмечаются в течение первой аппликации у 50–65% мужчин. Ремиссия после лечения преимущественно аногенитальных бородавок наблюдается в 60–80% случаев, рецидивы бородавок — в 23–65% случаев. Папилломы, локализованные внутри уретрального канала, нередко резистентны к подофиллотоксину [233, 298]. Сравнительное исследование эффективности подофиллина и подофиллотоксина показало, что последний безопаснее и эффективнее, чем подофиллин. При этом подофиллотоксин в растворе целесообразнее применять при лечении пенильных бородавок, в то время как крем и гель лучше использовать при лечении аногенитальных и вагинальных поражений. Хотя данные подтверждают, что подофиллотоксин безопаснее, чем подофиллин, тем не менее, подофиллотоксин противопоказан при беременности [72].

В последнее время все чаще появляются сообщения о более высокой эффективности комбинированных методов лечения, при которых бородавку первоначально удаляют одним из инвазивных методов (хирургия, криотерапия, электрокоагуляция и т. д.), а затем в качестве дополнительного способа возможного удаления оставшихся инфицированных клеток проводят 1–2 цикла применения подофиллотоксина. Для усиления терапевтического эффекта дополнительно проводится иммуномодулирующая терапия синекатехинами зеленого чая. Считается, что при таком подходе, кроме всего прочего, уменьшается частота рецидивов примерно до 7% [158].

Описаны методы гормональной терапии, в частности комбинированным препаратом, содержащим этилэстрадиол и производное прогестерона — левоноргестрел [332]. По данным авторов, до лечения число бородавок в основной группе составило 6,0±5,1, в контрольной группе — 5,3±5,1, через 1 нед после применения эстрогенов число бородавок в основной группе уменьшилось до 1,9±1,2, а в контрольной группе, получавшей плацебо, не изменилось (5,4±5,0). Число бородавок через 1 мес после лечения в основной и контрольной группе составило 0,4±0,7

и 5,5±4,9, соответственно. Различия в последнем случае достоверны (p=0,009). Дальнейшая судьба этих больных неизвестна.

Таким образом, способы лечения негенитальных бородавок включают широкий спектр терапевтических методик. Вместе с тем, сравнительный анализ этих методов показал некоторое предпочтение криотерапии перед другими терапевтическими тактиками, в частности применением салициловой кислоты и ИФН, но одновременно продемонстрировал и увеличенную частоту нежелательных реакций [172]. К тому же следует учитывать, что нередки случаи, когда негенитальные бородавки самопроизвольно рассасываются. В этой связи эксцизионные методы остаются предпочтительными при негенитальных бородавках, в то время как при аногенитальных бородавках, в частности при остроконечных кондиломах, предпочтительными являются неинвазивные методы лекарственной терапии, в том числе местные аппликации имихимода.

Глава 5

ПРИМЕНЕНИЕ ИМИХИМОДА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАПИЛЛОМАВИРУСНЫХ ПОРАЖЕНИЙ

Одним из сравнительно новых средств лечения заболеваний, вызванных ВПЧ, в последнее время стал имихимод. По состоянию на сентябрь 2016 г., в базе данных PubMed реферировано более 2 500 публикаций, и их число постоянно растет. Чаще всего имихимод применяют для лечения аногенитальных бородавок и других заболеваний, вызванных ВПЧ. Реже этот препарат применяют для лечения бородавок, не относящихся к инфекциям, передающимся половым путем (ИППП). В первую очередь это обусловлено тем, что для удаления юношеских, простых, плантарных бородавок или акрохорд используют методы механического удаления (диатермокоагуляция, криохирургия, лазерная вапоризация), либо химического воздействия (ди- и трихлоруксусные кислоты, салициловая кислота), либо, наконец, химиотерапию подофиллином, подофиллотоксином и др. Имихимод уже с момента регистрации в US FDA считался препаратом первой линии неинвазивной терапии преимущественно при лечении ИППП, таких как аногенитальные поражения, в том числе и остроконечные кондиломы [50, 123]. С учетом этого и других сообщений, одно из основных показаний для препаратов имихимода — местное лечение аногенитальных бородавок (АГБ) и вызванных ВПЧ злокачественных новообразований типа базально-клеточной карциномы, плоскоклеточного рака и различных дисплазий.

К настоящему времени проведены десятки исследований, обобщенных в нескольких систематических и метаобзорах [121,

215, 319]. Отмечен один общий и довольно существенный недостаток всех применяемых методов лечения папиллопатозов — относительно высокий уровень катамнестического рецидивирования, который может достигать в некоторых случаях 90 % и более и служить причиной существенного ухудшения качества жизни, особенно при бородавках аногенитальной области [158]. В этой связи понятен высокий интерес к применению имихимода при лечении именно АГБ, в том числе анальной и перианальной локализации [128].

Плацебо-контролируемое исследование на 16 пациентах с генитальными бородавками показало, что имихимод активирует mRNA, кодирующую цитокины, в том числе ИФНα, ИФНγ и 2'5'-олигоаденилат синтазы. Кроме того, наблюдалась тенденция к увеличению TNF-α, и IL-12. Достоверно увеличивалась экспрессия CD4 и наблюдалась менее выраженная, но отчетливая тенденция к увеличению количества CD8-клеток. У всех пациентов отмечено более чем 75 % сокращение зоны роста бородавок, а в группе плацебо только у одного из трех больных отмечено сокращение зоны генитальных бородавок. Применение имихимода также проявлялось достоверным снижением вирусной нагрузки и значительным уменьшение синтеза L1 mRNA и ДНК ВПЧ [27]. Аналогичные данные получены и в другом исследовании, в котором применяли имихимод в виде 5 % крема Aldara®. Было показано, что применение препарата при лечении генитальных и перианальных бородавок сопровождалось индукцией ИФНα и других цитокинов непосредственно в зоне аппликации крема [305].

M. L. Diamantis и соавт. [36] обобщили результаты четырех клинических испытаний безопасности и эффективности 5 % крема имихимода при лечении АГБ у 1 641 больного. Из них 1 362 пациента получали препарат в виде аппликаций на бородавки 3 раза/нед в течение 8–16 нед. Группа из 279 больных получала препарат 1 раз/нед на протяжении 16 нед. В когортах пациентов, получавших препарат 3 раза/нед, полное излечение от бородавок отмечено у женщин в 75 % случаев, а у мужчин — только в 59 %. В соответствующих плацебо-группах полное излечение отмечено лишь 5–9 % случаев. Рецидивы бородавок при

3-месячном катамнезе наблюдали в 8–19 % случаев, через 6 мес рецидивы наблюдали у 23 % больных. Как отмечается в большинстве сравнительных исследований, уровень рецидивирования у больных, леченных 5 % кремом имихимода, в 2–5 раз ниже, чем при применении других методов лечения (электрокоагуляция, лазерная абразия, хирургическое удаление, криотерапия и др.). Кроме того, большинство методов, при которых используются механические методы терапии, сопровождаются болевым синдромом, механической или термической травмой, появлением струпа, риском его нагноения, особенно если очаг расположен в парааналь ной области.

При использовании имихимода подобных негативных реакций не наблюдали. Лечение больные переносили в целом удовлетворительно. В дальнейшем все пациенты находились под наблюдением в течение 6 мес. В этот период регистрировали все случаи рецидивов. При этом наименьший уровень рецидивирования отмечен в группе, которая получала лечение имихимодом. При комбинации методов получен сопоставимый результат, а чаще всего бородавки рецидивировали при инвазивной терапии. Можно полагать, что высокий результат комбинированного лечения обусловлен в значительной мере воздействием имихимода. Столь же высокий результат получен в исследовании, где также применяли комбинированную терапию, включавшую лазерное удаление бородавок с последующей терапией имихимодом в виде 5 % крема, 3 раза/нед на ночь, курсом 12 нед [140]. Ремиссию в последующие 6 мес наблюдали в 94,6 % случаев.

Кроме того, было проведено еще несколько рандомизированных исследований эффективности имихимода при лечении АГБ. Метаобзор по итогам этих работ был подготовлен R.A. Moore и соавт. в 2001 г. [215]. В процессе испытаний полное очищение от бородавок наблюдалось у 51 % пациентов, получавших лечение 2 % или 5 % кремом имихимода, и у 6 % пациентов, получавших плацебо. В четырех исследованиях сокращение площади бородавок на 50 % наблюдалось у 75 % больных, леченных 5 % кремом имихимода, и у 20 % больных, получавших плацебо. В трех исследованиях полное очищение от бородавок в конце исследова-

ния без последующего рецидивирования отмечено у 37% больных, получавших 5% крем имихимода, и только у 4% больных, получавших плацебо. По результатам анализа авторы пришли к заключению о высокой терапевтической эффективности имихимода при лечении АГБ. При этом была выявлена четкая зависимость «доза–эффект» для 5% крема имихимода. Отмечено, что в отношении полного очищения от бородавок результаты у женщин были всегда лучше, чем у мужчин.

В международном открытом многоцентровом исследовании фазы IIIB [108], включавшем 943 пациента из 114 клиник в 20 странах, 5% крем имихимода назначали 3 раза/нед в течение 16 нед. При этом полное очищение от бородавок наблюдали примерно у 48% больных. Количество рецидивов в течение последующих 6 мес составило 25%. Это исследование также показало лучшие клинические результаты у женщин (65% разрешения от бородавок) по сравнению с мужчинами (44%). Различия в результатах, вероятно, могут быть обусловлены меньшей кератинизацией вульварного эпителия у женщин, чем уретрального у мужчин. Эффект частичной окклюзии крайней плотью у необрезанных индивидуумов также способствует повышению эффективности лечения по сравнению с результатами у обрезанных мужчин.

Местное применение 5% крема имихимода оказалось менее эффективным у иммунокомпрометированных больных. В рандомизированном контролируемом исследовании у 97 ВИЧ-позитивных пациентов-мужчин с генитальными бородавками, получавших антиретровирусную терапию, лечившихся 5% кремом имихимода или плацебо, комплексное очищение от бородавок наблюдалось у 11 и 6% больных, соответственно [112].

Побочные реакции при аппликации имихимода носили преимущественно местный характер. По данным K.R. Beutner и соавт. [50], у больных, включенных в цитируемый обзор, отмечали только локальные реакции легкой и средней тяжести, в том числе зуд (54%), эритема (33%), жжение (31%), раздражение (17%), повышенная чувствительность (13%), изъязвления (10%), эрозии (10%), боль (8%).

В обобщающем обзоре, описывающем опыт применения имихимода при генитальных и параанальных бородавках, и в ряде

других работ авторы также отмечают, что имеющийся опыт применения указывает на его преимущество перед другими методами за счет меньших побочных реакций и более низкого уровня рецидивирования [108, 121].

В последнем, по дате публикации, Кокрановском обзоре результаты применения имихимода были сопоставлены с плацебо, другими методами, которые могут применяться непосредственно самим пациентом (самолечение) либо при участии медицинского специалиста (амбулаторное лечение). В последнем случае терапия чаще всего проводится в амбулаторных условиях (*табл. 15*).

Обобщенные в обзоре данные свидетельствуют о достоверно более высокой эффективности имихимода по сравнению с плацебо. В то же время, применение иных методов самолечения или инвазивного лечения в стационарных или амбулаторных условиях показали сопоставимые результаты, что в целом и следовало ожидать. Отсутствие в табл. 15 строки с частичным очищением на фоне инвазивного амбулаторного лечения обусловлено тем,

Таблица 15. **Сравнительная эффективность методов лечения аногенитальных бородавок**

Метод терапии	Цель терапии	Положительный результат	Всего больных	Положительные результаты, %
Имихимод самолечение	Полное очищение	325	923	35,21*
Плацебо самолечение		31	371	8,36
Имихимод самолечение	Частичное очищение	404	757	53,37*
Плацебо самолечение		66	325	20,31
Имихимод самолечение	Полное очищение	31	50	62
Иные методы самолечения		32	55	58,18
Имихимод самолечение	Частичное очищение	10	30	33,33
Иные методы самолечения		13	30	43,33
Имихимод самолечение	Полное очищение	124	190	65,26
Амбулаторное лечение		121	145	83,45

Примечание. Положительный результат — полное или частичное очищение от бородавок [121]; * данные, достоверно отличные от плацебо

что таковое лечение проводится до полного механического или термического удаления бородавок.

Вторым фактором при оценке результатов является частота рецидивирования аногенитальных бородавок. Обобщенные данные уже цитированной выше работы с дополнениями приведены в *табл. 16*.

Как следует из представленных данных, имихимод давал хотя и небольшое, но заметное сокращение уровня рецидивирования по сравнению с другими методами терапии. Достоверные позитивные результаты применения плацебо относительно имихимода в течение первых 6 мес можно, вероятно, объяснить двумя причинами: во-первых, тенденцией АГБ к самоизлечению, которая отмечалась примерно у 30% больных, во-вторых, очень низкой эффективностью плацебо (см. табл. 15) или даже полным отсутствием терапевтического действия в случае рекальцитрантных форм заболевания. Иначе говоря, вылечивались и в дальнейшем не рецидивировали бородавки только у тех больных, у которых они, вероятно, могли исчезнуть и без лечения. Что же касается

Таблица 16. **Уровень рецидива при лечении аногенитальных бородавок имихимодом и другими методами**

Метод лечения	Рецидивы			
	до 6 мес		6–12 мес	
	абс. число	%	абс. число	%
Лечение имихимодом, назначенное врачом против плацебо	63/248	25,4	нд	—
	1/22	4,54	нд	—
Назначенный врачом имихимод против самоприменения имихимода	5/16	31,25	нд	—
	9/14	64,28	нд	—
Назначенный врачом имихимод против иных методов лечения	6/100	6,00	10/24	41,67
	23/92	25,00	17/29	58,62

Примечание. нд — нет данных, иные методы лечения включали местное применение 5-фторурацила, салициловой кислоты и др. Сравнение попарное, графы методов объединены в пары [по 121, с дополнениями]

сравнительного анализа других методов терапии, можно предполагать, что снижение репликативной способности вируса, вызванное имихимодом, способствовало замедлению темпов рецидивирования.

Таким образом, анализ имеющихся данных по эффективности лечения АГБ 5% кремом имихимода свидетельствует о его эффективности, сопоставимой с таковой при других методах, но с относительно низким уровнем рецидивирования. Крем следует наносить непосредственно на бородавку, стараясь не затрагивать прилегающие участки здоровой кожи. Имихимод лучше всего применять 3 раза/нед на ночь (на 6–8 ч). Утром остатки крема необходимо смыть теплой водой с мылом. Общая продолжительность лечения — до исчезновения бородавок, но не более 16–24 нед. Побочные явления могут развиваться во второй половине курса лечения, но носят преимущественно локальный характер, проявляющийся эритемой, зудом, жжением, локальной болью, реже изъязвлениями. В последнем случае необходимо сделать перерыв в лечении до стихания побочных явлений. Как правило, для этого бывает достаточно 5–7 дней. Риск рецидивирования оценивается в 10–25%.

В процессе подготовки препарата к регистрации было проведено простое сравнительное рандомизированное плацебо-контролируемое клиническое исследование эффективности и безопасности препарата Вартоцид у пациентов с АГБ.

В исследовании участвовали 50 женщин 18–60 лет (средний возраст 20,8±5,3 года) с установленным диагнозом АГБ с локализацией патологического процесса в перианальной области и на наружных половых органах. Гендерная однородность при наборе пациентов обусловлена значительно более частой встречаемостью данной патологии у женщин.

Для исключения сопутствующих ИППП пациентки были обследованы на сифилис, ВИЧ, гонококковую инфекцию, урогенитальную хламидийную инфекцию, трихомониаз, *M. genitalium*, генитальную герпетическую инфекцию. Всем пациенткам проводили цитологическое исследование соскоба слизистой оболочки матки и цервикального канала по Папаниколау и идентификацию ВПЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Перед исследованием и после лечения 5% кремом Вартоцид было проведено общеклиническое и биохимическое исследования периферической крови с определением уровня трансаминаз, общего билирубина, креатинина, глюкозы стандартными методиками.

Критерии включения пациентов в исследование:

– возраст 18–70 лет;
– наличие АГБ в виде мелких сливающихся папилломатозных высыпаний с площадью не менее 1 см^2 или папул и/или не менее двух изолированных папиллом;
– отрицательный тест на беременность у женщин детородного возраста и согласие придерживаться барьерных методов контрацепции в ходе исследования и в течение 1 мес после его завершения;
– информированное согласие на участие в исследовании;
– готовность строго соблюдать рекомендации врача относительно назначенной терапии.

Критерии исключения из исследования:

– непереносимость компонентов, входящих в состав препарата Вартоцид;
– терапия препаратами, содержащими имихимод, в течение 3 мес до начала исследования;
– 3, 4, 5 классов цитологических мазков по Папаниколау;
– локализация аногенитальных (венерических) бородавок на слизистой оболочке прямой кишки, влагалища, шейки матки и внутриуретрально;
– выраженные нарушения функции печени и/или почек и/или других жизненно важных органов, сопровождающиеся декомпенсацией их функций, заболевания ЦНС;
– сопутствующие ИППП — сифилис, ВИЧ, гонококковая инфекция, урогенитальный трихомониаз, урогенитальная хламидийная инфекция, урогенитальные заболевания, вызванные *M. genitalium*, генитальный герпес с манифистацией инфекционного процесса;
– беременность, период грудного вскармливания;
– участие в каком-либо другом исследовании в течение 30 дней до первого визита;

– подозрение на злокачественные новообразования в области наружных половых органов;
– любые серьезные или неконтролируемые физические или психические заболевания, которые, по мнению исследователя, могут подвергнуть пациента более высокому риску, связанному с его участием в исследовании, повлиять на результаты или препятствовать пациенту в выполнении всех требований исследования;
– клинически значимые отклонения результатов лабораторных исследований или данных клинического исследования, кроме состояний, связанных с АГБ;
– прием каких-либо препаратов для сопутствующей терапии, не разрешенных протоколом данного исследования или у которых не завершился требуемый период после приема не разрешенного протоколом препарата для сопутствующей терапии;
– лекарственная зависимость или постоянное употребление алкоголя, могущие неблагоприятно повлиять на комплаентность пациента в отношении выполнения процедур исследования;
– принадлежность к сотрудникам исследовательского центра, компании спонсора, а также членам их семей (согласно правилам GCP);
– отсутствие готовности к сотрудничеству со стороны пациента.

Все 50 больных, участвующих в исследовании, случайным способом были разделены на две группы по 25 человек. Пациенты 1-й группы (контрольной) получали плацебо-крем для наружного применения, 2-й группы — терапию воспроизведенным препаратом Вартоцид. Максимальная продолжительность лечения составила 16 нед (при более раннем исчезновении АГБ пациенты раньше завершали исследование), после завершения курса терапии все больные наблюдались еще в течение 4 нед.

Препарат наносили на 6–10 ч (преимущественно на ночь) на предварительно вымытые с применением мыла с нейтральным значением pH и высушенные пораженные участки кожи и аккуратно втирали с использованием в качестве аппликатора носика

тюбика. Через 6–10 ч после нанесения препарата остатки аккуратно смывали проточной водой с применением мыла с нейтральным значением pH.

Разовая (суточная доза) препарата составляла 10 мг крема на 1 $см^2$ поверхности кожи (полоса крема диаметром 2 мм и длиной 0,5 см). Как уже сказано выше, препарат использовался через день до полного исчезновения АГБ, но не более 16 нед.

Оценку эффективности лечения проводили на 21±2-й день (визит 3), 35±2-й (визит 4), 63±7-й день (визит 5), 91±7-й день (визит 6), 119±7-й (визит 7) и 147±7-й день (визит 8) по следующим критериям:

- наличие/отсутствие субъективных симптомов заболевания (жалоб пациента);
- наличие/отсутствие объективных симптомов заболевания;
- частота рецидивирования АГБ;
- доля пациентов, преждевременно прекративших участие в исследовании по причине неэффективности;
- оценка эффективности терапии врачом (клинический исход);
- оценка эффективности терапии пациентом.

Определяли также:

- процент пациентов, у которых на фоне терапии произошло полное разрешение АГБ;
- процент пациентов, у которых на фоне терапии произошло уменьшение числа или площади АГБ;
- наличие и выраженность субъективных клинических признаков заболевания.

Интенсивность каждого признака оценивали по четырехуровневой шкале: 0 — отсутствие; 1 — слабая; 2 — умеренная; 3 — сильная.

При оценке общей эффективности терапии пациентом интенсивность оценивали по четырехуровневой шкале: 1 — выраженное улучшение; 2 — незначительное улучшение; 3 — состояние без перемен; 4 — ухудшение.

Анализ полученных данных проводили методом ANOVA, t-теста Стьюдента для количественных данных с нормальным распределением или критерия суммы рангов/знаков Вилкоксона,

Манна–Уитни для количественных данных с распределением, отличным от нормального. Качественные и порядковые переменные сравнивали с помощью теста χ^2 или критерия суммы рангов/знаков Вилкоксона, Манна–Уитни. Доверительный интервал для частот и долей был рассчитан методом Уилсона с учётом объёма выборки и поправки на непрерывность. Достоверность различий принята равной 95 % (p<0,05), если не указано иначе. Обозначения: M — среднее, SEM — стандартная ошибка среднего.

В процессе исследования у всех больных оценивали динамику субъективных и объективных показателей. При этом у больных 1-й группы достоверных изменений отмечено не было. Средний показатель составил 0,88–0,84 балла (*табл. 17*). В группе больных, получавших Вартоцид, наблюдали снижение числа АГБ, хотя и не достигавшее порога достоверности (p>0,05). Более существенный ответ отмечен при измерении площади высыпаний на наружных половых органах. Так, при 1-м визите она составляла в 1-и 2-й группах 2,3 и 2,28 мм^2, соответственно (см. табл. 17). При применении плацебо площадь распространения АГБ уменьшилась максимум на 0,06 мм^2, т. е. примерно на 2,6 %, в то время как на фоне терапии Вартоцидом площадь поражения к концу лечения (8-й визит) снизилась на 0,68 мм^2, или почти на 20 % (различия достоверны, p=0,0065).

Для оценки уровня элиминации ВПЧ всем пациентам после завершения лечения определяли вирусную ДНК методом ПЦР. При этом было установлено, что на фоне применения плацебо каких-либо изменений в содержании ВПЧ ДНК не произошло, и все пробы, взятые от пациентов 1-й группы, были положительны. Напротив, во 2-й группе отсутствие ДНК ВПЧ отмечено у 12 % больных, в остальных случаях пробы были положительными, при этом количественно вирусная нагрузка не определялась. При анализе динамики площади бородавок у 3 больных 1-й группы (12 %) наблюдали ее уменьшение и у 1 (4 %) — увеличение. Во 2-й группе уже к 3-му визиту уменьшение площади высыпаний отмечено у 6 пациентов (24 %), к концу курса лечения уменьшение достигло 52 % (13 пациентов), из которых у 4 (16 %) АГБ полностью разрешились и у оставшихся 9 (35 %) — существенно сократились. При суммарной оценке

Таблица 17. **Основные показатели эффективности терапии аногенитальных бородавок**

Показатель	Группа больных	Номер визита						
		1-й	3-й	4-й	5-й	6-й	7-й	8-й
Интенсивность высыпаний по оценке больного, баллы	1-я	0,88	0,88	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
	2-я	0,72	0,60	0,52	0,60	0,60	0,60	0,60
Интенсивность зуда и жжения наружных половых органов, баллы	1-я	0,36	0,44	0,28	0,20	0,20	0,20	0,20
	2-я	0,28	0,28	0,08	0,12	0,12	0,08	0,08
Снижение интенсивности болевого синдрома, баллы	1-я	0,20	0,16	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	2-я	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,16
Оценка эффективности терапии пациентом, баллы	1-я	—	2,84	2,64	2,74	2,64	2,40	2,40
	2-я	—	3,00	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84
Оценка эффективности терапии врачом, баллы	1-я	—	3,68	3,28	3,24	3,12	3,00	3,00
	2-я	—	4,00	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92
Площадь высыпаний на наружных половых органах, мм^2	1-я	2,30	2,30	2,24	2,24	2,24	2,24	2,25
	2-я	2,28	2,04	1,82	1,66	1.64	1,62	1,60

эффективности терапии пациентами и врачом, бóльший эффект отмечен у пациентов 2-й группы. Отличия в оценке пациентами между группами были достоверными (p=0,0065). При оценке врачом эффективности терапии различия между 1-й и 2-й группой также были достоверны (p=0,0001), причем достоверными были и различия внутри 2-й группы между 1-м и 8-м визитом (p=0,0058), в то время как у больных 1-й группы аналогичных изменений не выявлено.

Таким образом, интегральная оценка эффективности лечения 5% кремом Вартоцид оказалась достоверно высокой и в целом была близка к описанным в литературе результатам, полученным при применении оригинального препарата Aldara® [228].

Что касается других клинических проявлений, в частности интенсивности зуда и болевых проявлений в зоне АГБ, то у больных

1-й группы интенсивность зуда была выше, чем у пациентов 2-й группы, тогда как интенсивность болевого синдрома была выше у больных 2-й группы. Эти результаты вполне укладываются в представление о механизме действия имихимода. По мере прохождения курса терапии интенсивность зуда снижалась вследствие сокращения площади АГБ, в то время как интенсивность болевого синдрома несколько возрастала, что связано с активацией имихимодом провоспалительных реакций [16, 229, 322].

Одной из задач исследования было оценка безопасности применения препарата Вартоцид. С этой целью у всех пациентов 1-й и 2-групп определяли общеклинические и биохимические показатели периферической крови до и после лечения плацебо или Вартоцидом (*табл. 18*). При статистической оценке результатов лабораторного исследования периферической крови достоверных различий между группами выявлено не было. Отмечена некоторая динамика показателей между результатами до и после лечения. Вместе с тем, эти изменения хотя и достоверны, но в целом невелики и не выходят за пределы среднестатистической нормы. Таким образом, в процессе применения Вартоцида и плацебо не отмечено существенных реакций со стороны периферической крови.

В целом исследуемый препарат больные переносили удовлетворительно. Выявленные реакции были немногочисленны и невелики. У большинства пациентов явных побочных реакций не наблюдали, а в тех случаях, когда они все же развивались, то по большей части были легкими, реже умеренными; тяжелые реакции наблюдали в исключительных случаях, их частота не превышала 1%.

Таким образом, проведенное простое слепое плацебо-контролируемое исследование препарата Вартоцид при лечении АГБ доказало хорошую эффективность и безопасность.

Известно, что на фоне лечения различных поражений кожи вирусной этиологии отмечается уменьшение количества пациентов с положительной ПЦР на ДНК возбудителей заболевания и, в частности, на ВПЧ. По материалам различных исследователей, количество лиц с негативной реакцией на ДНК ВПЧ после применения 5% крема имихимода снижалось на 7–15% [121, 228]. По результатам клинического исследования, в группе лиц, получавших Вартоцид, количество лиц с отрицательным результатом

Таблица 18. **Общеклинические и биохимические показатели периферической крови**

Показатель	Группы			
	1-я (плацебо)		2-я (Вартоцид)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общеклинические показатели				
Гемоглобин, мг/л	13,07±0,11	13,42±0,11*	13,07±0,11	13,36±0,11*
Эритроциты, 10^{12}/л	4,30±0,09	4,58±0,06*	4,28±0,09	4,53±0,06*
Лейкоциты, 10^9/л	6,08±0,15	6,75±0,19*	6,39±0,15	6,17±0,19
Тромбоциты, 10^9/л	267,40±9,80	309,40±8,50*	260,80±9,80	297,80±8,50*
СОЭ, мм/ч	5,04±0,30	4,4±0,20	3,32±0,30	3,96±0,20
Биохимические показатели				
АЛТ, ЕД/л	14,07±0,92	13,12±0,93	13,34±0,92	12,50±0,93
АСТ, ЕД/л	12,52±0,73	11,11±0,77*	12,91±0,70	10,95±0,77*
Общий билирубин, мкмоль/л	9,04+0,52	9,44+0,52	9,49+0,52	8,74+0,52
Креатинин, мкмоль/л	70,56±2,04	69,68 ±2,54	71,32±2,04	68,20±2,54
Глюкоза, ммоль/л	4,95±0,10	5,15±0,08*	4,71±0,10	5,0±0,08*

Примечание. АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; * различия достоверны между результатами до и после лечения ($p<0,05$); результаты представлены в виде средней арифметической ± стандартное отклонение

ПЦР на ДНК ВПЧ после курса лечения снизилось на 12 %, в то время как у всех пациентов контрольной группы (плацебо) результат исследования на ВПЧ оставался положительным.

В доступной литературе, посвященной изучению безопасности оригинального препарата Aldara®, не отмечено его достоверного влияния на результаты лабораторных исследований. В ходе проведенного нами клинического исследования не выявлено изменений лабораторных показателей, выходящих за пределы интервала нормы референсных значений (см. табл. 18).

Таким образом, по результатам простого слепого сравнительного рандомизированного плацебо-контролируемого клинического исследования эффективности и безопасности препарата

Вартоцид клинический эффект от проводимой терапии достигнут у 52% больных с АГБ, из них у 16% отмечено полное разрешение высыпаний, у 36% — уменьшение площади АГБ. При этом снижение количества патологических высыпаний на половых органах в процессе терапии (по оценке пациентов) у больных, получивших терапию препаратом Вартоцид, наблюдали в 3,7 раза чаще по сравнению с группой лиц, получавших плацебо. Снижение интенсивности зуда и жжения в области высыпаний (по оценке пациентов) у 55,5% больных, получивших терапию препаратом Вартоцид, и у 71,4% больных, получавших плацебо, по-видимому, обусловлено активацией процесса иммунного воспаления в коже на фоне приема препарата.

При этом положительная оценка эффективности терапии пациентами («улучшение» по шкале оценки), применявшими препарат Вартоцид, отмечалась в 3 раза чаще, чем пациентами, применявшими плацебо (36 и 12%, соответственно). Положительная оценка эффективности терапии отмечена врачом-исследователем у 52% больных, получавших терапию препаратом Вартоцид, и только у 4% больных, получавших плацебо, при этом полный регресс высыпаний был зарегистрирован только у больных, применявших исследуемый препарат (16%). Клинический результат проводившейся терапии проявлялся, прежде всего, в снижении средних значений площади АГБ с 2,28 до 1,6 $см^2$ (в 1,4 раза) у больных, применявших препарат, при отсутствии динамики данного показателя у больных, получавших плацебо. Проведенный опыт, конечно, нельзя назвать полноценным сравнительным исследованием эффективности и безопасности оригинального и воспроизведенного препарата по причине отсутствия в исследовании образца оригинального препарата Aldara®.

Тем не менее, сопоставляя полученные результаты и имеющиеся в литературе данные по применению оригинального препарата, можно с достаточным основанием утверждать, что оба препарата (Вартоцид и Aldara®) продемонстрировали сходные фармакологические активности и могут в известном смысле считаться близкими аналогами. Вместе с тем, для того, чтобы это предположение было подтверждено с необходимой степенью надежности, требуются хорошо аранжированные прямые срав-

нительные клинические испытания. Однако уже на основании имеющихся данных можно рекомендовать применение препарата Вартоцид в клинической практике для лечения АГБ.

Весьма перспективным может оказаться комбинированный метод лечения рекальцитрантных форм АГБ, при котором на первом этапе проводят инвазивное вмешательство для удаления бородавок методами хирургической эксцизии, электрокоагуляции или лазерной вапоризации, а после заживления операционной раны дополнительно назначают курс Вартоцида путем накожных аппликаций 3 раза/нед в течение 8–12 нед. Подобный метод применительно к оригинальному препарату имихимода был успешно испытан и показал положительные результаты, особенно для снижения риска рецидивирования заболевания [61]. По данным авторов, после хирургического удаления АГБ уровень рецидивирования в течение 5 мес катамнеза составил 65%, в то время как после хирургической эксцизии с последующим 16-недельным курсом имихимода рецидивы отмечены только у 20% больных. Подобный комбинированный подход может оказаться полезным при лечении обширных поражений или гигантских остроконечных кондилом типа Бушке–Ловенштейна [99]. В любом случае, этот метод заслуживает более широкого, чем сейчас, применения в клинической практике и доказательной оценки в хорошо организованных сравнительных исследованиях.

Глава 6

ПРИМЕНЕНИЕ ИМИХИМОДА ПРИ НЕКОТОРЫХ ОПУХОЛЯХ КОЖИ

Эффективность имихимода при местном лечении папилломатозов кожи, вызванных преимущественно ВПЧ низкого уровня злокачественности, рассмотренных в гл. 4, привлекла пристальное внимание исследователей противоопухолевым потенциалом. Помимо широкого спектра экспериментальных исследований [259, 260, 263, 266, 267], в некоторых странах, в первую очередь в США, имихимод разрешен для клинического применения при ряде опухолей, в первую очередь вызываемых ВПЧ высокого риска [46, 97, 191, 250].

Среди злокачественных заболеваний кожи, ассоциированных с ВПЧ, наибольшее внимание исследователей обращено на немеланомный рак кожи (НМРК), включающий два основных заболевания — базально-клеточную карциному (БКК) и плоскоклеточный рак (ПКР) кожи, а также ряд других редких опухолей [46, 120], меланомный рак [185], в том числе злокачественное лентиго [197], метастазирующая меланома [157] и предраковое заболевание кожи — актинический, или старческий, кератоз [268]. С разной степенью успеха предпринимались попытки применения имихимода при лечении некоторых других опухолей, например таких как рак мочевого пузыря [28] или цервикальная интраэпителиальная неоплазия [166]. Общая черта всех этих заболеваний — их ассоциация с ВПЧ разных генотипов, преимущественно высокого онкогенного риска (см. табл. 14). К этой же

группе преимущественно ВПЧ-зависимых опухолей относят рак шейки матки, рак пищевода, рак молочной железы, ПКР пищевода. В редких случаях в злокачественные опухоли могут перерождаться и аногенитальные бородавки. Типичным примером подобной трансформации является перерождение гигантской остроконечной кондиломы Бушке–Ловенштейна в ПКР [67].

В группу риска по НМРК относят лиц, проживающих на территории Кавказа и Юго-Восточной Азии [120]. Считается, что предрасполагающими факторами также могут быть интенсивное ультрафиолетовое облучение, воздействие на кожу химических канцерогенов, курение, ВИЧ-инфекция, прием иммуносупрессоров и семейная предрасположенность [181, 277, 336]. Риск развития НМРК увеличивается с возрастом [191]. Отмечено, в частности, что интенсивное ультрафиолетовое облучение может приводить к злокачественной трансформации кератиноцитов и подавлению воспалительного ответа кожи [97]. Иммуносупрессия, вызванная приемом иммунодепрессантов, для предотвращения реакции отторжения трансплантата может индуцировать агрессивную ПКР. Наконец, персистенция ВПЧ, преимущественно высокого онкогенного риска, является необходимой предпосылкой злокачественной трансформации кератиноцитов в БКК или ПКР. Нам не удалось найти ни одной работы, в которой это положение подвергалось бы сомнению. Это обстоятельство позволяет утверждать, что ВПЧ является обязательной этиологической причиной не только папиллом, но и злокачественных заболеваний кожи. Все остальные факторы только способствуют этому процессу. Так, например, ВИЧ-инфекция повышает риск развития рака кожи примерно в 2 раза [270].

Развитие любого типа НМРК начинается с появления на поверхности кожи небольшого очага в виде серого или серо-желтого пятна или блестящего образования, напоминающего бляшку. Эти образования не сопровождаются какими-либо субъективными ощущениями и не причиняют никаких неудобств. При медленном развитии опухоли подобная клиническая картина может сохраняться достаточно долго. При дальнейшем прогрессировании появляются различные местные симптомы в виде зуда, покалывания, ощущения инородного тела или какого-то уплотнения.

В ряде случаев в центре новообразования может формироваться небольшая мокнущая или кровоточащая язва, которая порой покрывается корочкой. Иногда эта язва рубцуется, но при этом наблюдается периферический рост образования. При дальнейшем прогрессировании опухоли она может разрушать прилежащие структуры.

Как уже было сказано, БКК чаще всего развивается на участках кожи, подвергающихся инсоляции. По данным L. L. Griffin и соавт. [120], в 80 % случаев заболевание локализуется на голове и шее, в 15 % — на туловище. Поражения обычно растут медленно и, как правило, не метастазируют, но если их не лечить, то может произойти местное разрушение структур кожи. Существует несколько гистологических субтипов БКК. Классический узелковый субтип выглядит как розовые жемчужные папулы, окруженные телеангиэктазиями и лентовидным краем, в некоторых случаях наблюдается центральное изъязвление (язва грызуна).

Иначе выглядит поверхностная форма опухоли. Она медленно увеличивается и по внешнему виду может напоминать псориаз, болезнь Боуэна и дискоидную экзему. Наиболее агрессивной является инфильтративная БКК, которая представляет собой позднюю стадию заболевания и проявляется как неспецифические плохо очерченные бляшки. Как правило, БКК проявляется смешанной гистологической картиной нескольких морфологически детерминированных форм [39].

Другой распространенной злокачественной опухолью является ПКР, на долю которого приходится до 20 % всех злокачественных новообразований кожи и подкожной клетчатки, наиболее распространенных в кавказских популяциях [177]. Как и в случае с БКК, предрасполагающим фактором развития ПКР является интенсивное ультрафиолетовое облучение незащищенных участков кожи, а в качестве дополнительного онкогенного фактора в этом случае могут выступать ВПЧ высокого онкогенного риска [14]. Справедливости ради следует подчеркнуть, что, вопреки этому распространенному мнению о связи вируса и рака, подтвердить надежными статистическими данными этого не удалось, показана лишь статистически недостоверная тенденция подобной связи с ВПЧ-5 [101]. Авторы считают маловероятной малигнизацию бо-

родавок при отсутствии других онкогенных факторов. Наиболее прочная связь между предраковыми состояниями и ПКР прослежена в отношении актинического кератоза и болезни Боуэна [69]. По данным авторов, актинический кератоз предшествует ПКР у 78,85% больных, а болезнь Боуэна — у 24,15%. Разумеется, определенное значение имеют возраст пациентов (старше 50 лет), наличие в анамнезе каких-либо видов рака кожи, трансплантация тканей и органов с последующей иммуносупрессивной терапией и наличие ВИЧ-инфекции [69, 164].

ПКР является наиболее агрессивным раком кожи, при котором выделяют опухолевый и язвенный типы, единичные или множественные. При опухолевом росте ПКР наблюдается узел или бляшка красного или розового цвета, покрытая корочками или бородавчатыми разрастаниями. Язвенный тип ПКР может быть экзофитным и эндофитным. Экзофитный рак растет по периферии, характеризуется поверхностной язвой неправильной формы, покрытой обычно коричневой коркой. Эндофитный тип характеризуется распространением вглубь и отличается язвой с подрытыми краями, дно которой покрыто желтовато-белым налетом. ПКР часто метастазирует в регионарные лимфатические узлы. В зависимости от типа опухолевых клеток, ПКР может быть ороговевающим и неороговевающим. По степени дифференциации различают высокодифференцированный рак, низкодифференцированный рак и опухоль с промежуточным типом дифференциации, при этом чаще всего встречается высокодифференцированный тип рака [283].

Краткое описание молекулярных механизмов, лежащих в основе противоопухолевого действия имихимода, приведено в гл. 3 данной работы, а также в специализированных статьях [120 и др.], поэтому здесь мы ограничимся только анализом клинической эффективности препарата при лечении НМРК. Прежде чем обсудить методы нехирургического лечения, стоит отметить, что в России до сих пор единственным стандартным методом лечения НМРК остается хирургический [3]. Альтернативой ему признается лучевая терапия. Химиотерапия относится к числу вспомогательных методов, окончательное решение, как указывают авторы, принимается на мультидисциплинарном консилиуме. Что каса-

ется топических препаратов имихимода, они разрешены только для терапии аногенитальных бородавок, но не НРМК. Возможность его применения в целях противораковой терапии не рассматривается в российской медицине, и применение его по этим показаниям МЗ РФ не разрешено. Однако, принимая во внимание, что имихимод применяют при злокачественных поражениях кожи и прямо разрешен к применению регламентирующими организациями многих стран мира, мы сочли целесообразным представить краткую информацию по результатам применения имихимода для местного лечения основных злокачественных новообразований кожи.

Базально-клеточная карцинома. Как уже было отмечено выше, БКК — одна их наиболее частых опухолей кожи у человека. Обычно она представляет собой медленно растущую неметастазирующую опухоль, локализующуюся в месте возникновения, и только в некоторых случаях проявляющую эндофитный рост в прилегающие ткани [43, 231]. БКК отнюдь не безобидное заболевание. Неправильное лечение или отсутствие такового может приводить к обширным разрушениям ткани, что особенно опасно при локализации опухоли на лице [135]. Клиническое течение БКК непредсказуемо. Она может оставаться без каких-либо изменений длительное время, а затем быстро прогрессировать, прорастая в окружающие ткани или, наоборот, регрессировать до полного исчезновения. Высказываются различные предположения относительно такой непредсказуемости, но четкого понимания механизмов, лежащих в основе этих феноменов, до сих пор нет [161, 329].

С момента идентификации БКК как нозологической формы продолжаются споры о ее происхождении. Первоначально считалось, что она происходит из базального слоя межфолликулярного эпителия, другие считали, что источником являются так называемые «фолликулярные герминативные клетки» волосяных фолликулов и межфолликулярного эпителия. Ситуация прояснилась в 1990 г., когда G. Cotsarelis и соавт. [75] смогли выявить популяцию покоящихся стволовых клеток волосяных фолликулов у мышей и человека. K. K. Youssef и соавт. [330] показали возможность возникновения БКК из долгоживущих резидентов прогениторных клеток межфолликулярного эпидермиса и клеток верхней воронки

фолликула, в частности из так называемой верхней выпуклости, или булджа. В то же время установлено, что нодулярная форма БКК происходит из стволовых клеток, локализованных в нижнем булдже, тогда как для развития поверхностной БКК более важное значение имеют изменения сигнальных процессов в межфолликулярном эпидермисе [118].

Вне зависимости от морфологического источника, для развития БКК ключевым молекулярным механизмом является повышение активности «hedgehog» (hh) сигнального пути, в частности повышения транскрипционной активности соответствующих генов [31, 227]. Известно три лиганда hh — Sonic hedgehog (Shh), Indian hedgehog (Ihh) и Desert hedgehog (Dhh). Эти лиганды, запуская каскад сигнальных путей, обеспечивают накопление критического количества генетических мутаций, приводящих к развитию БКК. Подробное описание сигнальных путей, модулируемых этими лигандами, и результатов их функционирования дано в работе M. Athar и соавт. [31]. Здесь стоит отметить только, что Shh является основным сигнальным путем во время эмбрионального развития, но после рождения он обычно выключается. Однако в определенных ситуациях этого выключения не происходит или, напротив, под влиянием внешних факторов, например интенсивного солнечного облучения, происходит активация Shh-пути, приводящая к аберрантному изменению соматических клеток и их малигнизации [31]. Считается, что именно этот путь приводит к развитию БКК [227].

Особенности клинического течения БКК, заключающиеся в локальном эндофитном росте и редком метастазировании, предопределили тактику их лечения. «Золотым стандартом» лечения является хирургическое удаление. Как альтернативу хирургическому методу применяют кюретаж, криодеструкцию, лазерную вапоризацию, электродесикацию, микрографическую хирургию по Moh и радиотерапию [135]. Основная цель всех методов — физическое удаление опухоли, при этом ни один из них не гарантирует отсутствия рецидивов вследствие остающихся в очаге мутировавших клеток. По разным источникам, уровень рецидивирования составляет в зависимости от формы БКК 1–10 % [135, 231, 271].

Вторая группа методов включает местное введение препаратов непосредственно в очаг опухоли либо поверхностную аппликацию на БКК. Для последнего метода применяется агонист TLR7 — имихимод. Существует два Кокрановских метаобзора и несколько обзорных работ, посвященных этой проблеме [41, 42, 135, 227, 231].

Целесообразность применения имихимода при лечении НМРК, и в частности БКК, обусловлена особенностями действия этого соединения. Как уже было отмечено, имихимод, будучи лигандом TLR7, взаимодействует с плазмацитоподобными клетками (см. рис. 22), которые являются главными продуцентами ИФН 1-го типа, в частности ИФНα. В свою очередь, ИФН 1-го типа активируют выработку каскада провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α, IL-1β, IL-5, -6, -8, -12 и др. [259, 260, 262].

Показано, что, кроме индукции провоспалительного ответа, имихимод оказывает выраженное противоопухолевое действие, проявляющееся подавлением прорастания опухоли капиллярами [171, 180]. В основе этого феномена лежит ингибирование ангиотензинсигнальных путей, включая блокаду COX-2, m-TOR, Shh сигнальных путей и активатора Gli [180, 323]. Наконец, немаловажным свойством имихимода является его проапоптозное действие (см. рис. 19). Совокупность этих свойств в сочетании с хорошей переносимостью делают имихимод подходящим средством для лечения НМРК, включая БКК.

В соответствии с рекомендациями US FDA, при лечении БКК размером до 2 см препарат наносят непосредственно на опухоль 5 раз/нед на 8 ч, после чего имихимод смывают теплой водой с мылом. Продолжительность курса составляет 6–8 нед. При этом не найдено существенной разницы в результатах лечения при аппликации препарата с наложением и без наложения окклюзионной повязки [43]. В то же время, более редкие аппликации имихимода (3 раза/нед) были менее эффективными.

В рандомизированном контролируемом исследовании применения имихимода у 185 больных с поверхностной БКК полное излечение, сохранявшееся на протяжении 12 мес, наблюдали у 75% (139/185), в группе плацебо позитивный результат составил 2% (3/179) [110]. Первичное рандомизированное испытание показало

почти 90% клиренс поверхностной БКК, когда имихимод назначали ежедневно в виде 5% крема в течение 6 нед [196]. При пятидневной аппликации препарата на протяжении 6 нед отмечено 82% излеченных больных по данным гистологического анализа, причем ежедневная аппликация препарата не показала бóльшей эффективности, но при этом чаще отмечали местные побочные реакции [180].

Таким образом, по результатам имеющихся рандомизированных исследований можно сделать вывод, что оптимальная схема лечения БКК имихимодом показана при сравнительно маленьких очагах до 2 см, препарат следует наносить непосредственно на кожу без наложения окклюзионной повязки с частотой 5 раз/нед. Продолжительность курса должна составлять 6 нед. В этом случае лечение будет легко переносимым с минимальными побочными реакциями и последующей ремиссией не менее 12 мес.

При лечении обширных опухолей возможна комбинированная терапия, предполагающая последовательное использование физического удаления опухоли любым походящим методом с последующим курсом иммуномодулирующей терапии имихимодом для профилактики возможных рецидивов. Вместе с тем, такой подход нуждается в дополнительном исследовании.

Плоскоклеточный рак — другое распространенное заболевание кожи, удельный вес которого составляет около 20% всех НМРК. По данным Центра по контролю за болезнями, в США ежегодно регистрируют более 100 тыс. новых случаев ПКР [88]. Одной из ведущих предпосылок ее развития является интенсивное ультрафиолетовое облучение. Предраковым состоянием для ПКР является актинический кератоз, который также чаще всего развивается на открытых участках тела, подвергающихся воздействию ультрафиолетового солнечного облучения. Кроме того, риск развития ПКР у реципиентов, получающих иммуносупрессивную терапию для предотвращения отторжения трансплантированных органов, возрастает в 61–259 раз. Как правило, ПКР у этих больных характеризуется высокой агрессивностью, и примерно 10% опухолей довольно активно метастазируют, приводя пациентов к летальному исходу [48].

Самый частый вариант ПКР — поверхностная форма, начинающаяся с одного или нескольких сливающихся безболезненных узелков размером 2–3 мм. По мере развития опухоль увеличивается в размерах, превращаясь в подобие безболезненной бляшки с гладкой или шероховатой поверхностью. Края с неровным фестончатым контуром выступают над поверхностью. В дальнейшем центр бляшки эрозирует и покрывается коркой.

Менее редкой является эндофитная инфильтрирующая форма. Внешне это выглядит как плотный неподвижный инфильтрат, часто с глубокими изъязвлениями и неровным бугристым дном, покрытым корками из некротических масс, и с плотными валикообразными краями. Опухоль рано и интенсивно рецидивирует.

Наиболее редкой является папиллярная форма, выглядящая как плотный легко кровоточащий узел на широком основании. Поверхность узла бугристая, покрыта корками и часто напоминает цветную капусту. Независимо от формы опухоли, при гистологическом исследовании она проявляется как ПКР.

По механизму развития ПКР имеет много общего с БКК, но имеются и определенные различия. Так, например, ПКР обладает целым набором механизмов, позволяющим ей «ускользать» из-под иммунного надзора. Показано, в частности, что кровеносные сосуды в пределах ПКР не имеют Е-селектина, что объясняет угнетение миграции в опухоль эффекторных Т-клеток с одновременным хомингом регуляторных Т-клеток (Трег), которые могут подавлять иммунные ответы [73, 255].

S. Yamada и соавт. [327] определяли выработку ИФНγ, IL-6, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и трансформирущего ростового фактора-β (TGF-β) — четырех цитокинов, участвующих в пролиферации кератиноцитов и патогенезе ПКР [115, 174, 274]. При этом было установлено достоверное увеличение уровня ИФНγ в сыворотке у больных ПКР по сравнению со здоровыми лицами; содержание трех других цитокинов у больных и здоровых лиц достоверно не различалось. Авторы также показали, что у больных ПКР, имевших повышенные уровни ИФНγ, достоверно чаще наблюдали более тяжелую стадию течения ПКР (II и III), чем у лиц с нормальным уровнем цитокина (p<0,05). Кроме того, показано до-

стоверное увеличение продукции IL-10, также ассоциированное с прогрессией опухоли [142].

Таким образом, наряду с аномальной активацией Shh-сигналинга за счет гиперэкспрессии мРНК VEGF [287], важным фактором патогенеза являются процессы «ускользания» ПКР из-под иммунного надзора. Молекулярным субстратом этого процесса является привлечение в очаг Treg лимфоцитов, стимуляция производства E-селектина, IL-10, ИФНγ и, в меньшей степени, TGF-β.

Среди методов лечения ПКР «золотым стандартом», как и при БКК, считается хирургическое удаление и его альтернатива — лучевая терапия [3, 120]. Химиотерапия рекомендуется в тех случаях, когда хирургическая и радиотерапия противопоказаны. В практике российской медицины применение имихимода при ПКР не регламентировано.

В других странах проводили лечение ПКР местными аппликациями 5% кремом имихимода [276]. В некоторых исследованиях полное очищение достигалось у 71% больных [187], в то же время имеются данные о случаях неудачного применения препарата [300].

Как показали молекулярные исследования, аппликации имихимода приводят к угнетению выработки IL-10, но практически не влияют на уровни ИФНγ и TGF-β. Кроме того, в ответ на применение препарата достоверно увеличивается приток Treg при одновременном угнетении их миграции, наряду с этим наблюдается и активация процессов апоптоза [142]. Иначе говоря, имихимод демонстрирует отчетливое если не противоопухолевое, то, по крайней мере, опухолестатическое действие. Очевидно, что этот потенциал препарата в определенной мере ограничен размерами ПКР. Поэтому считается, что имихимод может использоваться только у больных с небольшими очагами ПКР в местах с низким риском прогрессирования, которые не требуют хирургического лечения [21, 142, 169].

Схема применения препарата аналогична той, которая используется при других НМРК, — аппликации непосредственно на опухоль 5 раз/нед курсом 6 нед. Как правило, такое лечение хорошо переносится, побочные реакции в виде головной боли, усталости, раздражения кожи в месте аппликации если и воз-

никают, то быстро купируются без дополнительного вмешательства в течение нескольких дней после окончания курса терапии. Возможно и комбинированное лечение, предполагающее хирургическое вмешательство с последующим курсом аппликаций имихимода для профилактики рецидивов, однако подобный подход нуждается в дополнительном обосновании.

Актинический кератоз (АК) считается предраковым состоянием, развивающимся у людей среднего и пожилого возраста преимущественно со 2–3-м типом кожи по Фицпатрику. Заболевание чаще всего развивается на открытых участках кожи, подвергающихся интенсивному солнечному облучению. Нередко АК рассматривают как ПКР *in situ* [102]. Распространенность АК у населения разных регионов составляет от 8% всех женщин 30–39 лет в Австралии до 40–60% взрослых жителей Квинсленда (Австралия) [105].

Общепризнано, что хроническое воздействие ультрафиолетовых лучей является ведущим этиологическим фактором развития АК. Некоторые авторы считают, что в этиологии заболевания некоторое значение имеет ВПЧ [74], тем не менее, ДНК ВПЧ при АК выявляется только у каждого третьего больного [333].

С молекулярной точки зрения, в результате воздействия УФ-облучения на незащищенную кожу на хромосоме 17p13.1, кодирующей белок p53, наблюдается мутация в антионкогене TP 53, это приводит к инактивации ключевого проапоптозного белка p53, с помощью которого запускается апоптоз мутантных клеток. В результате блокады p53 и последующей неконтролируемой пролиферации генетически неполноценных кератиноцитов развивается АК [285]. В свою очередь, в мутантных кератиноцитах активируются hh-сигнальные пути, приводящие к трансформации АК в полноценную ПКР [227].

Кроме того, УФ-излучение вызывает мутацию 12-го онкогена H-Ras, следствием чего также является неконтролируемая пролиферация кератиноцитов [239, 333]. В результате всех этих событий развивается АК, дальнейшая судьба которого в значительной степени зависит от своевременности и эффективности лечения. При этом нельзя забывать, что продолжающееся неконтролируемое УФ-облучение, иммуносупрессивная терапия или ВИЧ-

инфицирование могут послужить предпосылками для трансформации АК в БКК или даже в агрессивную форму ПКР.

Терапия АК разработана весьма подробно и включает широкий спектр методов от хирургического иссечения до химиотерапии цитостатиками и иммуномодуляторами. Подробное изложение показаний, противопоказаний и тактики применения того или иного метода лечения приведено в большом числе обзоров [285, 318, 326]. Здесь мы только лишь кратко остановимся на применении имихимода при лечении АК.

В настоящее время имихимод выпускается в виде крема для наружного применения в трех концентрациях — 5%, 3,75% и 2,5% [23, 290]. Имихимод 5% крем (Aldara®) наносится непосредственно на очаг АК 3 раза/нед, минимальная продолжительность лечения — 4 нед. Все кератозы были полностью излечены кремом Aldara® в течение 8 нед, в другом исследовании для шести более сложных случаев потребовалось 17 нед [282]. Полное клиническое излечение при применении 5% крема имихимода составляло 45–55%, в группе плацебо этот показатель составлял 2–3% [23]. В некоторых австралийских когортах показатель регрессии АК мог достигать 70% [105]. Эффектом плацебо можно, вероятно, объяснить наблюдающиеся случаи спонтанной регрессии АК.

В концентрации 3,75% (Zyclara®) имихимод применяли 1 раз в день в течение 2 нед, через 2 нед отдыха проводили еще один двухнедельный курс. Частота регрессии АК составила 35%. Показано, что предложенная схема лечения является оптимальной, и увеличение продолжительности лечения не повышает его эффективности [290].

Имихимод в виде 3,75% и 2,5% крема исследован в двух контролируемых испытаниях, в которых его применяли 1 раз в день в виде двух циклов продолжительностью 2 и 3 нед, соответственно [127, 289]. Положительный результат был получен в 35,5 и 30,6% случаев, соответственно, что почти на порядок превышает эффект плацебо.

Побочное действие препарата проявлялось покраснениями, эрозиями и образованием корки в месте аппликации, но они в бóльшей мере характерны для случаев применения 5% крема.

Наличие этих реакций обусловило ограничение размера площади обработки кремом Aldara® не более 25 см^2. Для кремов, содержащих 3,75% и 2,5% имихимода, такие ограничения отсутствуют. Следует помнить, что больные, применяющие имихимод, имеют повышенную фотосенсибилизацию, поэтому области аппликации крема необходимо предохранять от воздействия солнечных лучей.

В последнее время получила распространение комбинированная схема лечения АК, при которой имихимод может применяться совместно с 5-фторурацилом [102] или после любого физического метода лечения, например криодеструкции [232]. Так, показано, что 3–5 сеансов криодеструкции позволяют достичь полного регресса опухоли в среднем в 34% случаев, если же дополнительно провести лечение имихимодом 5% кремом 2 раза/нед в течение 8 нед, показатель регрессии опухоли составит 58% (p<0,06). Опубликованы также данные о высокой эффективности комбинированных методов, включающих фотодинамическую терапию и имихимод 5% крем [264] или уже упоминавшуюся выше комбинацию 5-фторурацила и имихимода 5% крема [226].

При описании схем лечения имихимодом других опухолей, в том числе меланом, отметим, что, во-первых, его применение в Российской Федерации не разрешено. В-вторых, имеющиеся результаты небольших по объему клинических наблюдений, не всегда отвечающих критериям доказательной медицины, нуждаются в дальнейшем накоплении клинических результатов и по этой причине не анализируются в рамках этой работы. При необходимости с имеющимися данными можно ознакомиться в литературе [100, 201, 261, 301].

Подводя итоги, стоит отметить, что дерматология накопила достаточный массив данных, свидетельствующих о высокой эффективности имихимода при лечении злокачественных новообразований кожи, встречающихся у населения достаточно часто. И хотя не все из них несут смертельную опасность, недооценивать их не стоит уже хотя бы потому, что запущенная опухоль может послужить причиной глубокой, порой уродующей, деструкции тканей, в которые она прорастает. Для лечения этих опухолей разработано много методов, среди которых ведущую роль отдают

физическим способам удаления. Однако следует отметить, что эти методы не всегда могут быть показаны конкретному больному. Нередки случаи, когда больной в силу тех или иных причин отказывается от хирургического удаления. В этом случае альтернативой может стать местное лечение препаратами имихимода. Они особенно показаны при одиночных неметастазирующих очагах размером до 2,5 см.

При больших поражениях их эффективность снижается. В этой ситуации может оказаться полезной комбинированная схема, включающая физическое удаление очага тем или иным методом (хирургическая эксцизия, лазерная вапоризация, криодеструкция, электрокоагуляция) и местное применение имихимода, которое начинают после заживления операционной раны. Описаны также и методы комбинированной химиотерапии, например имихимода и 5-фторурацила. Вместе с тем, отсутствие регистрации препарата в Российской Федерации по показанию «лечение опухоли кожи» препятствует его внедрению в российскую медицинскую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Открытие C. Janeway [152] системы Толл-подобных рецепторов (TLR) явилось одним из тех редких событий, которые радикально изменяют существующие представления о системе иммунитета. В этом смысле они в известной степени напоминают о двух величайших открытиях XX в. в области иммунологии — создание F. Burnet [59] клонально-селекционной теории иммунитета и открытие P. Medawar (1960) феномена толерантности. Авторы обоих были удостоены Нобелевской премии 1969 г.

Открытие TLR впервые показало, что существовавшее до этого времени представление о неспецифичности врожденного иммунитета ошибочно. На самом деле, первичная реакция на внедрившийся антиген оказалась вполне специфичной. Особый интерес представляют рецепторы TLR7 и TLR8, которые, кроме вирусной РНК, распознают синтетические молекулы, напоминающие молекулу гуанозина, — имихимод и резихимод. Агонист TLR7 (имихимод), а также TLR7 и 8 (резихимод) оказались подходящим инструментом не только при изучении внутриклеточного сигналинга, но и для лечения широкого круга заболеваний вирусной этиологии и злокачественных опухолей.

Папилломы и бородавки широко распространены у людей, а бородавки, локализованные в аногенитальной области, относятся к инфекциям, передаваемым половым путем. Существует много различных методов лечения бородавок, в основном механическое или химическое удаление, но они не воздействуют на ВПЧ. Это обусловливает довольно высокий уровень рецидивиро-

вания в ближайшие 12 мес после удаления бородавки. В отличие от перечисленных методов, имихимод, активирующий продукцию провоспалительных цитокинов, не только удаляет опухоль, но, будучи активным индуктором ИФН 1-го типа, подавляет репликацию вируса. Существенным механизмом терапевтического действия является активация апоптоза, также способного усилить очищение очага от поражения, вызванного ВПЧ. На этих же принципах основано многогранное противоопухолевое действие имихимода при лечении злокачественных заболеваний кожи.

Так, в ответ на местное применение наблюдается нормализация hedgehog сигналинга, а также подавление ангиогенеза, выработка проопухолевого цитокина IL-10 и противовирусного цитокина ИФН 1-го типа. Вместе с тем, этот потенциал реализуется только при небольших опухолях диаметром до 2,5 см.

Существенным недостатком имихимода при его местной аппликации для лечения злокачественных и незлокачественных ВПЧ-зависимых заболеваний является риск рецидивирования. В этой связи был сформулирован новый подход — комбинированная терапия, при которой имихимод применяется до или после другого метода, например имихимод может применяться до хирургической эксцизии или криотерапии. Цель такой комбинации — снижение размера папилломы или опухоли. Другой подход — хирургическое удаление, например опухоли или аногенитальной бородавки, а затем курс аппликации имихимода. Цель терапии — профилактика рецидива [226].

Среди возможных схем первая предполагает первичную аппликацию препарата на бородавку или опухоль с частотой 1–3 раза/нед ½–1 мес, после окончания курса иммунотерапии проводят физическое удаление опухоли любым путем. Вторая схема — физическое удаление бородавки или опухоли, а после заживления операционной раны — курс имихимода 2–4 раза/нед такой же продолжительности. Эффективность такого подхода подтверждена в работе K. Peris и M. C. Fargnoli [232], показавших, что применение имихимода при актиническом кератозе 2 раза/нед в течение 2 мес после 3–5 курсов криотерапии сопровождалось полным исчезновением очагов у 58% больных, в то время как такой же результат после применения только криотерапии наблюдали у 34%

($p = 0{,}06$). Авторы показали также эффективность комбинированного применения 5-фторурацила и имихимода. Вместе с тем, эта методика нуждается в дальнейшем исследовании и подтверждения в контролируемых рандомизированных исследованиях. К сожалению, как уже было отмечено, в Российской Федерации имихимод в препарате Вартоцид разрешен только при местной терапии аногенитальных бородавок у взрослых. Представляется, что это решение явно недостаточно, однако Вартоцид нуждается в дальнейшем изучении и расширении показаний для применения в клинике, например при злокачественных и условно-злокачественных поражениях кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аксенов О.А.* Особенности интерфероногенеза при вирусных и бактериальных инфекциях (экспериментальные и клинические данные). Автореф. дис. докт. мед. наук. Л., 1987.
2. *Бозрова С.В., Левицкий В.А., Недоспасов С.А., Друцкая М.С.* Имиквимод: биохимические механизмы иммуномодулирующей и противовоспалительной активности. Биомед. химия. 2013. 59 (3): 249–266.
3. *Бохян Б.Ю., Медведев С.В., Феденко А.А., Харатишвили Т.К.* Клинические рекомендации по лечению базально-клеточного и плоскоклеточного рака кожи. М., 2014.
4. *Ганковская О.А.* Исследование ассоциации полиморфных маркеров генов TLR2 и TLR9 с преждевременными родами и внутриутробным инфицированием. Мед. иммунол. 2010; 12 (1–2): 87–94.
5. *Колев Н., Бакарджиев И., Ковачев Е., Иванов С.* Глицирретинова киселина — алтернативен метод за лечение на Condylomata acuminate. Акуш. гинекол. (София). 2015; 54 (9): 16–18.
6. *Лебедев К.А., Понякина И.Д.* Иммунология образ-распознающих рецепторов. М.: Либроком, 2009.
7. *Смирнов В.С.* Комплексная иммуномодулирующая терапия папилломатозов. Тез. докл. XI Национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2004.
8. *Смирнов В.С.* Сравнительная оценка интерфероногенных свойств некоторых индукторов интерферона. Тез. докл. XVI Национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2009.
9. *Смирнов В.С., Петленко С.В.* Сравнительное влияние топических препаратов имихимода на неповрежденную кожу морских свинок. Рос. иммунол. журн. 2016; 10 (19); 3: 346–349.
10. *Смирнов В.С., Саватеева-Любимова Т.Н., Саватеев А.В.* Влияние комбинированного препарата глицирризиновой кислоты и глутамил-триптофана на течение контактного дерматита у крыс и их комбинации на экспрессию маркеров апоптоза при аллергическом контактном дерматите у крыс. Вестн. дерматол. и венерол. 2013; 5: 124–131.

11. *Уэллс Х.Г.* Химия иммунитета (пер. с англ.). М.: ГосМедИздат, 1929.
12. *Цветков Э.А., Савенко И.В., Смирнов В.С.* Способ лечения папилломатоза гортани у детей: Патент №2111755, 1998.
13. *Aaronson C.M., Lutzner M.A.* Epidermodysplasia verruciformis and epidermoid carcinoma: electron microscopic observations. J.A.M.A.1967; 201 (10): 149–151.
14. *Accardi R., Gheit T.* Cutaneous HPV and skin cancer. Presse méd. 2014; 43 (12 Pt 2): e435–443.
15. *Agrawal S., Gupta S.* TLR1/2, TLR7, and TLR9 signals directly activate human peripheral blood naive and memory B cell subsets to produce cytokines, chemokines, and hematopoietic growth factors. J. clin. Immunol. 2011; 31 (1): 89–98.
16. *Ahn C.S., Huang W.W.* Imiquimod in the treatment of cutaneous warts: an evidence-based review. Amer. J. clin. Dermatol. 2014; 15 (5): 387–399.
17. *Ajibade A.A., Wang H.Y., Wang R.F.* Celltype-specificfunction of TAK1in innate immune signaling. Trends Immunol. 2013; 34: 307–316.
18. *Akcali S., Goker A., Ecemis T. et al.* Human papilloma virus frequency and genotype distribution in a Turkish population. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2013; 14 (1): 503–506.
19. *Akhavizadegan H.* Electrocautery resection, shaving with a scalpel, and podophyllin: a combination therapy for giant condyloma acuminatum. Wld J. Mens Hlth. 2015; 33 (1): 39–41.
20. *Akira S., Uematsu S., Takeuchi O.* Pathogen recognition and innate immunity. Cell. 2006; 124: 783–801.
21. *Alessi S.S., Sanches J.A., Oliveira W.R. et al.* Treatment of cutaneous tumors with topical 5% imiquimod cream. Clinics (Sao Paulo). 2009; 64 (10): 961–966.
22. *Almomen A., Jarboe E.A., Dodson M.K. et al.* Imiquimod Induces Apoptosis in Human Endometrial Cancer Cells In vitro and Prevents Tumor Progression In vivo. Pharm. Res. 2016; 33 (9): 2209–2217.
23. *Alomar A., Bichel J., McRae S.* Vehicle-controlled, randomized, double-blind study to assess safety and efficacy of imiquimod 5% cream applied once daily 3 days per week in one or two courses of treatment of actinic keratoses on the head. Brit. J. Dermatol. 2007; 157: 133–141.
24. *Ambach A., Bonnekoh B., Nguyen M. et al.* Imiquimod, a tolllike receptor-7 agonist, induces perforin in cytotoxic T lymphocytes in vitro. Molec. Immunol. 2004; 40: 1307–1314.
25. *Anne M., Kuwabara B.A., Barbara M. et al.* Children with warts: a retrospective study in an outpatient setting. Pediatric Dermatology. 2015; 32 (5): 679–683, anogenital warts. J. Europ. Acad. Dermatol. Venereol. 2013; 27:e263–e270.
26. *Aranda-Flores C.E.* Infecciyn por el virus del papiloma humano en varones. Ginec. Obstet. Mex. 2015; 83 (11): 697–706.
27. *Arany I., Tyring S.K., Stanley M.A. et al.* Enhancement of the innate and cellular immune response in patients with genital warts treated with topical imiquimod cream 5%. Antiviral Res. 1999; 43 (1): 55–63.

28. *Arends T.J., Lammers R.J., Falke J. et al.* Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and activity evaluation of TMX-101 in a multicenter phase 1 study in patients with papillary non-muscle-invasive bladder cancer. Clin. Genitourin. Cancer. 2015; 13 (3): 204–209.e2.
29. *Asiaf A., Ahmad S.T., Mohammad S.O., Zargar M.A.* Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection. Europ. J. Cancer Prev. 2014; 23 (3): 206–224.
30. *Assi R., Reddy V., Einarsdottir H., Longo W.E.* Anorectal human papillomavirus: current concepts Yale. J. biol. Med. 2014; 87 (4): 537–547.
31. *Athar M., Li C., Kim A.L. et al.* Sonic hedgehog signaling in basal cell nevus syndrome. Cancer Res. 2014; 74 (18): 4967–4975.
32. *Aubouy A., Olagnier D., Bertin G. et al.* Nrf2-driven CD36 and HO-1 gene expression in circulating monocytes correlates with favourable clinical outcome in pregnancy-associated malaria. Malar J. 2015; 14:358.
33. *Averett D.R., Fletcher S.P., Li W. et al.* The pharmacology of endosomal TLR agonists in viral disease. Biochem. Soc. Transactions. 2007; 35 (6): 1468–1472.
34. *Azuma M., Takeda Y., Nakajima H. et al.* Biphasic function of TLR3 adjuvant on tumor and spleen dendritic cells promotes tumor T cell infiltration and regression in a vaccine therapy. Oncoimmunology. 2016; 5 (8): e1188244.
35. *Bachman G.B., Bennet G.E., Barker R.S.* Synthesis of substituted quinolynamines. Derivatives of 4-amino-7-cloroquinoline. J. Org. Chem. 1950; 15 (6): 1278–1284.
36. *Backeberg O.G., Friendmann C.A.* The reaction between hydrazine and 4-chloroquinoline derivatives. J. Chem. Soc. 1938; 972–977.
37. *Backeberg O.G.* The reaction between hydrazine and 4-chloroquinoline derivatives, and the preparation of the corresponding 4-benzeneazo- and 4-aminocompouns. J. Chem. Soc. 1938; 1083–1089.
38. *Baker G.E., Tyring S.K.* Therapeutic approaches to papillomavirus infections. Infect. Dis. Dermatol. 1997; 15: 331–340.
39. *Bartoš V., Kullová M.* Basal cell carcinoma of the skin with mixed histomorphology: a comparative study. Čsl. Patol. 2016; 52 (4): 222–226.
40. *Barzon L., Militello V., Pagni S. et al.* Distribution of human papillomavirus types in the anogenital tract of females and males. J. med. Virol. 2010; 82 (8): 1424–1230.
41. *Bath-Hextall F.J., Bong J., Perkins W., Williams H.C.* Interventions for basal cell carcinoma of the skin. Cochrane Database Syst Rev. 2003; (2): CD003412.
42. *Bath-Hextall F.J., Perkins W., Bong J., Williams H.C.* Interventions for basal cell carcinoma of the skin. Cochrane Database Syst. Rev. 2007; (1): CD003412.
43. *Bath-Hextall F., Bong J., Perkins W., Williams H.* Interventions for basal cell carcinoma of the skin: systematic review. Brit. med. J. 2004; 329: 705.
44. *Baumann J.L., Cohen S., Evjen A.N. et al.* Human papillomavirus in early laryngeal carcinoma. Laryngoscope. 2009; 119 (8): 1531–1537.
45. *Bechtel M.A., Trout W.* Sexually Transmitted Diseases. Clin. Obstet. Gynec. 2015; 58 (1): 172–184.

46. *Behan J. W., Sutton A., Wysong A.* Management of Skin Cancer in the High-Risk Patient. Curr. Treat. Options Oncol. 2016; 17 (12): 60.
47. *Benevolo M., Doná M. G., Ravenda P. S., Chiocca S.* Anal human papillomavirus infection: prevalence, diagnosis and treatment of related lesions. Expert. Rev. Anti. Infect. Ther. 2016; 14 (5): 465–477.
48. *Berg D., Otley C. C.* Skin cancer in organ transplant recipients: epidemiology, pathogenesis, and management. J. Amer. Acad. Dermatol. 2002; 47: 1–17.
49. *Bernard H.-U., Burk R. D., Chen Z. et al.* Classification of papillomaviruses (pvs) based on 189 pv types and proposal of taxonomic amendments. Virology. 2010; 401 (1): 70–79.
50. *Beutner K. R., Tyring S. K., Trofatter K. F. Jr. et al.* Imiquimod, a patient-applied immune-response modifier for treatment of external genital warts. Antimicrob. Agents Chemother. 1998; 42: 789–794.
51. *Bhatia S. K., Singh R., Bhatia R., Moudgil A.* Perianal giant condylomata acuminata: Buschke-Lowenstein tumour. West Indian Med. J. 2015. pii: wimj. 2015.147. doi: 10.7727/ wimj.2015.147.
52. *Boatright K. M., Salvesen G. S.* Mechanisms of caspase activation. Curr. Opin. Cell Biol. 2003; 15 (6): 725–731.
53. *Bouchama F., van Aken G. A., Autin A. J.* On the mechanism of catastrophic phase inversion in emulsions Colloids and Surfaces. Physicochem. Eng. Aspects. 2003; 231:11–17.
54. *Brendle S. A., Bywaters S. M., Christensen N. D.* Pathogenesis of infection by human papillomavirus. Curr. Probl. Dermatol. 2014; 45: 47–57.
55. *Brestovac B., Harnett G. B., Smith D. W. et al.* Human papillomavirus genotypes and their association with cervical neoplasia in a cohort of Western Australian women. J. med. Virol. 2005; 76 (1): 106–110.
56. *Brodsky I., Medzhitov R.* Two modes of ligand recognition by TLR. Cell. 2007; 130 (6): 979–981.
57. *Broganelli P., Chiaretta A., Fragnelli B., Bernengo M. G.* Intralesional cidofovir for the treatment of multiple and recalcitrant cutaneous viral warts. Dermatol. Ther. 2012; 25: 468–471.
58. *Brown B., Davtyan M., Galea J. et al.* The role of human papillomavirus in human immunodeficiency virus acquisition in men who have sex with men: a review of the literature. Viruses. 2012; 4 (12): 3851–3858.
59. *Burnet M.* The clonal selection theory of acquired Immunity. Cambridge, 1959.
60. *Cain K.* Chemical-induced apoptosis: formation of the Apaf-1 apoptosome. Drug Metab. Rev. 2003; 35 (4): 337–363.
61. *Carrasco D., Van der Straten M., Tyring S. K.* Treatment of anogenital warts with imiquimod 5% cream followed by surgical excision of residual lesions. J. Amer. Acad. Dermatol. 2002; 47(4 Suppl): S212–216.
62. *Catarino R., Vassilakos P., Jinoro J. et al.* Human papillomavirus prevalence and type-specific distribution of high- and low-risk genotypes among Malagasy women living in urban and rural areas. Cancer Epidem. 2016; 42: 159–166.

63. *Cenni V., Sirri A., De Pol A. et al.* Interleukin-1-receptor-associated kinase 2 (IRAK2)-mediated interleukin-1-dependent nuclear factor kappaB transactivation in Saos2 cells. Biochem. J. 2003; 376 (Pt 1): 303–311.
64. *Cha S., Johnston L., Natkunam Y., Brown J.* Treatment of verruca vulgaris with topical cidofovir in an immunocompromised patient: A case report and review of the literature. Transplant. Infect. Dis. 2005; 7: 158–161.
65. *Chan S.Y., Bernard H.U., Ong C.K. et al.* Phylogenetic analysis of 48 papillomavirus types and 28 subtypes and variants: a showcase for the molecular evolution of DNA viruses. J. Virol. 1992; 66 (10): 5714–5725.
66. *Chang Y.C., Madkan V., Cook-Norris R. et al.* Current and potential uses of imiquimod. South Med. J. 2005; 98 (9): 914–920.
67. *Chao M.W., Gibbs P.* Squamous cell carcinoma arising in a giant condyloma acuminatum (Buschke-Lowenstein tumour). Asian J. Surg. 2005; 8 (3): 238–240.
68. *Chen M., Griffith B.P., Lucia H.L., Hsiung G.D.* Efficacy of S26308 against guinea pig cytomegalovirus infection. Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32 (5): 678–683.
69. *Choi S.H., Kim K.H., Song K.H.* Clinical features of cutaneous premalignant lesions in busan city and the eastern gyeongnam province, korea: a retrospective review of 1,292 cases over 19 years (1995~2013). Ann. Dermatol. 2016; 28 (2): 172–178.
70. *Chosidow O., Dummer R.* Imiquimod: Mode of action and therapeutic potential. Acta Derm. Venereol. 2003; 214 (Suppl.): 8–11.
71. *Chrysagi A., Kaparos G., Vrekoussis T. et al.* Prevalence of HPV genotypes in cervical adenocarcinoma: a study in Greek women. J. BUON. 2016; 21 (3): 666–672.
72. *Claesson U., Lassus A., Happonen H. et al.* Topical treatment of venereal warts: a comparative open study of podophyllotoxin cream versus solution. Int. J. STD AIDS. 1996; 7: 429–434.
73. *Clark R.A., Huang S.J., Murphy G.F. et al.* Human squamous cell carcinomas evade the immune response by down-regulation of vascular E-selectin and recruitment of regulatory T cells. J. exp. Med. 2008; 205: 2221–2234.
74. *Correa R.M., Vladimirsky S., Heideman D.A.* Cutaneous human papillomavirus genotypes in different kinds of skin lesions in Argentina. J. med. Virol. 2017; 89 (2): 352–357.
75. *Cotsarelis G., Sun T.T., Lavker R.M.* Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceousunit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. Cell. 1990; 61 (7): 1329–1337.
76. *Cranston R.D.* Anal human papillomavirus infection in a street-based sample of drug using HIV-positive men. Intern. J. STD AIDS. 2012; 23: 195–200.
77. *Cubie H.A.* Diseases associated with human papillomavirus infection. Virology. 2013; 445: 21–34.
78. *Czelusta A., Evans T., Arany I., Tyring S.* A guide to immunotherapy of genital warts. Biodrugs. 1999; 11: 319–332.

79. *Dahl M. V.* Imiquimod: an immune response modifier. J. Amer. Acad. Dermatol. 2000; 43: S1–S5.
80. *Das G., Tan B., Nicholls K.* Safety and efficacy of a novel short occlusive regimen of imiquimod for selected non-melanotic skin lesions in renal transplant patients. Int. med. J. 2016; 46 (3): 352–355.
81. *David C. V., Nguyen H., Goldenberg G.* Imiquimod: a review of off-label clinical applications. J. Drugs Dermatol. 2011; 10 (11): 1300–1306.
82. *De Villiers E. M.* Cross-roads in the classification of papillomaviruses. Virology. 2013; 445 (1–2): 2–10.
83. *De Villiers E.-M., Fauquet C., Broker T. R. et al.* Classification of papillomaviruses. Virology. 2004; 324: 17–27.
84. *Deleuze-Masquefa C., Moarbess G., Khier S. et. al.* New imidazo[1,2-a]quinoxaline derivatives: synthesis and in vitro activity against human melanoma. Europ. J. med. Chem. 2009; 44 (9): 3406–3411.
85. *Delius H., Saegling B., Bergmann K. et al.* The genomes of three of four novel HPV types, defined by differences of their L1 genes, show high conservation of the E7 gene and the URR. Virology. 1998; 240 (2): 359–365.
86. *Diamantis M. L., Bartlett B. L., Tyring S. K.* Safety, efficacy & recurrence rates of imiquimod cream 5% for treatment of anogenital warts. Skin Ther. Lett. 2009; 14 (5): 1–3, 5.
87. *Diebold S. S., Massacrier C., Akira S. et al.* Nucleic acid agonists for Toll-like receptor 7 are defined by the presence of uridine ribonucleotides. Europ. J. Immunol. 2006; 36 (12): 3256–3267.
88. *Diepgen T. L., Mahler V.* The epidemiology of skin cancer. Brit. J. Dermatol. 2002; 146 (Suppl. 61): 1–6.
89. *Diez L. E., Iñarrea A., De la Orden A. et al.* Prevalence and concordance of high-risk papillomavirus infection in male sexual partners of women diagnosed with high grade cervical lesions. Enferm. Infec. Microbiol. Clin. 2016; pii: S0213-005X(16)00084-7.
90. *Domínguez Gómez J., Simón R. D., Abreu D. A., Zelenkova H.* Effectiveness of glycyrrhizinic Acid (glizigen) and an immunostimulant (viusid) to treat anogenital warts. ISRN Dermatol. 2012; 2012: 863692.
91. *Dona M. G., Latini A., Benevolo M. et al.* Anal human papillomavirus infection prevalence in men who have sex with men is age-independent: a role for recent sexual behavior? Future Microbiol. 2014; 9 (7): 837–844.
92. *Donalisio M., Poli A., Civra A. et al.* Effects of cytokines on long control region transcriptional activity in high-risk cutaneous human papillomavirus types 5 and 8. Arch. Virol. 2010; 155 (4): 583–587.
93. *Douagi I., Gujer C., Sundling C.* Human B cell responses to TLR ligands are differentially modulated by myeloid and plasmacytoid dendritic cells. J. Immunol. 2009 Feb 15; 182 (4): 1991–2001.
94. *Dowling J. K., Dellacasagrande J.* Toll-like receptors: ligands, cell-based models and readouts for receptor action. Methods Molec. Biol. 2016; 1390: 3–27.

95. *Dowling J.K., Mansell A.* Toll-like receptors: the swiss army knife of endeavor immunity and vaccine development Clinical & Translational Immunology (2016) 5, e85; doi: 10.1038/cti.2016.22. eCollection 2016.
96. *Drobits B., Holcmann M., Amberg N. et al.* Imiquimod clears tumors in mice independent of adaptive immunity by converting pDCs into tumor-killing effector cells. J. clin. Invest. 2012; 122 (2): 575–585.
97. *Erb P., Ji J., Wernli M. et al.* Role of apoptosis in basal cell and squamous cell carcinoma formation. Immunol. Lett. 2015; 100 (1): 68–72.
98. *Erb P., Ji J., Kump E. et al.* Apoptosis and pathogenesis of melanoma and nonmelanoma skin cancer. Adv. exp. med. Biol. 2008; 624: 283–295.
99. *Erkek E., Basar H., Bozdogan O., Emeksiz M.C.* Giant condyloma acuminata of Buschke-Löwenstein: successful treatment with a combination of surgical excision, oral acitretin and topical imiquimod. Clin. exp. Dermatol. 2009; 34 (3): 366–368.
100. *Fan Q., Cohen S., John B., Riker A.I.* Melanoma in situ treated with topical imiquimod for management of persistently positive margins: a review of treatment Methods. Ochsner J. 2015; 15 (4): 443–447.
101. *Faust H., Andersson K., Luostarinen T. et al.* Cutaneous human papillomaviruses and squamous cell carcinoma of the skin: nested case-control study. Cancer Epidem. Biomarkers Prev. 2016; 25 (4): 721–724.
102. *Ferrándiz C., Malvehy J., Guillénc C. et al.* Precáncer cutáneo. Actas Dermosifiliogr. 2016; pii: S0001-7310(16)30284-8. doi: 10.1016/j.ad.2016.07.016.
103. *Forsbach A., Samulowitz U., Völp K. et al.* Dual or triple activation of TLR7, TLR8, and/or TLR9 by single-stranded oligoribonucleotides. Nucleic Acid Ther. 2011; 21: 423–436.
104. *Forslund O., Hansson B.G.* Human papillomavirus type 70 genome cloned from overlapping PCR products:complete nucleotide sequence and genomic organization. J. clin. Microbiol. 1996; 34 (4): 802–809.
105. *Frost C., Williams G., Green A.* High incidence and regression rates of solar keratoses in a queensland community. J. Invest. Dermatol. 2000; 115: 273–277.
106. *Fuchs P.G., Girardi F., Pfister H.* Human papillomavirus DNA in normal, metaplastic, preneoplastic and neoplastic epithelia of the cervix uteri. Int. J. Cancer. 2006; 41: 41–45.
107. *Ganjian S., Ourian A.J., Shamtoub G. et al.* Off-label indications for imiquimod. Dermatol. Online J. 2009. May 15; 15 (5): 4.
108. *Garland S.M.* Imiquimod. Curr. Opin. Infect. Dis. 2003; 16 (2): 85–89.
109. *Gaspari A.A.* Mechanism of action and other potential roles of an immune response modifier. Cutis. 2007; 79 (4 Suppl.): 36–45.
110. *Geisse J., Caro I., Lindholm J. et al.* Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from two Phase III, randomized, vehicle-controlled studies. J. Amer. Acad. Dermatol. 2004; 50 (5): 722–733.
111. *Gentile F., Deriu M.A., Licandro G. el al.* Structure based modeling of small molecules binding to the TLR7 by atomistic level simulations. Molecules. 2015; 20: 8316–8340.

112. *Ghittoni R., Accardi R., Chiocca S., Tommasino M.* Role of human papillomaviruses in carcinogenesis. E. Cancer Med. Sci. 2015; 9: 526.
113. *Giardino G., Cirillo E., Gallo V. et al.* B cells from nuclear factor kB essential modulator deficient patients fail to differentiate to antibody secreting cells in response to TLR9 ligand. Clin. Immunol. 2015; 161 (2): 131–135.
114. *Gibson S.J., Imbertson L.M., Wagner T.L. et al.* Cellular requirements for cytokine production in response to the immunomodulators imiquimod and S-27609. J. Interferon Cytokine Res. 1995; 15 (6): 537–545.
115. *Glick A.B.* The role of TGFβ signaling in squamous cell cancer: Lessons from mouse models. J. Skin Cancer. 2012; 2012: 249063.
116. *Gormley R.H., Kovarik C.L.* Dermatologic manifestations of HPV in HIV-infected individuals. Curr HIV/AIDS Rep. 2009; 6 (3): 130–138.
117. *Götz A.W., Williamson M.J., Xu D. et al.* Microsecond molecular dynamics simulations with AMBER on GPUs. 1. Generalized born. J. Chem. Theory Comput. 2012; 8: 1542–1555.
118. *Grachtchouk M., Pero J., Yang S.H. et al.* Basal cell carcinomasin mice arise from hair follicle stem cells and multiple epithelial progenitor populations. J. clin. Invest. 2011; 121 (5): 1768–1781.
119. *Greensill A., Yong M., O'Mahony C.* Imiquimod use in adolescents: off-label but effective. Int. J. STD AIDS. 2012; 23 (4): 297–299.
120. *Griffin L.L., Rehman A.F., Ali B., Lear J.T.* Nonmelanoma skin cancer. Clin. Med. 2016; 16 (1): 62–65.
121. *Grillo-Ardila C.F., Angel-Müller E., Salazar-Díaz L.C. et al.* Imiquimod for anogenital warts in non-immunocompromised adults (Review). Cochrane Database Syst Rev. 2014; 11: CD010389.
122. *Gross G.* Klinik und Therapie anogenitaler Warzen und papillomvirusassozierter Krankheitsbilder. Hautarzt. 2001; 52: 6–17.
123. *Gross G.* Therapy of human papillomavirus infection and associated epithelial tumors. Intervirology. 1997; 40 (5–6): 368–377.
124. *Guerrero A.T., Pinto L.G., Cunha F.Q. et al.* Mechanisms underlying the hyperalgesic responses triggered by joint activation of TLR4. Pharmacol. Rep. 2016; 68 (6): 1293–1300.
125. *Gupta A.K., Browne M., Bluhm R.* Imiquimod: A Review. J. Cutan. Med. Surg. 2002; 6 (6): 554–560.
126. *Hagiwara K., Uezato H., Arakaki H. et al.* A genotype distribution of human papillomaviruses detected by polymerase chain reaction and direct sequencing analysis in a large sample of common warts in Japan. J. med. Virol. 2005; 77 (1): 107–112.
127. *Hanke C.W., Beer K.R., Stockfleth E. et al.* Imiquimod 2.5% and 3.75% for the treatment of actinic keratoses: results of two placebo-controlled studies of daily application to the face and balding scalp for two 3-week cycles. J. Amer. Acad. Dermatol. 2010; 62: 573–581.
128. *Hanna E., Abadi R., Abbas O.* Imiquimod in dermatology: an overview. Int. J. Dermatol. 2016; 55 (8): 831–844.

129. *Harrison C. J., Stanberry L. R., Bernstein D. I.* Effects of cytokines and R-837, a cytokine inducer, on UV-irradiation augmented recurrent genital herpes in guinea pigs. Antiviral Res. 1991; 15 (4): 315–322.
130. *Harrison L. I., Skinner S. L., Marbury T. C. et al.* Pharmacokinetics and safety of imiquimod 5 % cream in the treatment of actinic keratoses of the face, scalp, or hands and arms. Arch. Dermatol. Res. 2004; 296: 6–11.
131. *Harrison L. I., Stoesz J. D., Battiste J. L. et al.* A pharmaceutical comparison of different commercially available imiquimod 5 % cream products. J. Dermatolog. Treat. 2009; 20 (3): 1–5.
132. *Heil F., Hemmi H., Hochrein H. et al.* Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. Science 2004; 303: 1526–1529.
133. *Hemmi H., Kaisho T., Takeuchi O. et al.* Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. Nat. Immunol. 2002; 3: 196–200.
134. *Hemper E., Wittau M., Lemke J. et al.* Management of a giant perineal condylomata acuminata. GMS Interdiscip. Plast. Reconstr. Surg. DGPW. 2016; 5: Doc07.
135. *Heppt M., Von Braunmühl T., Berking C.* Was gibt es Neues zum Basalzellkarzinom? Hautarzt. 2016; 67 (11): 876–883.
136. *Herrel N. R., Johnson N. L., Cameron J. E. et al.* Development and validation of a HPV-32 specific PCR assay. Virol. J. 2009; 6: 90.
137. *Herrero R., Castle P. E., Schiffman M.* Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. J. Infect. Dis. 2005; 191 (11): 1796–1807.
138. *Higgs R., Lazzari E., Wynne C.* Self protection from anti-viral responses--Ro52 promotes degradation of the transcription factor IRF7 downstream of the viral Toll-Like receptors. PLoS One. 2010; 5 (7): e11776.
139. *Hipp M. M., Shepherd D., Gileadi U. et al.* Processing of Human Toll-likeReceptor 7 by Furin-like Proprotein Convertases Is Required for Its Accumulation and Activity in Endosomes. Immunity. 2013; 39: 711–721.
140. *Hoyme U. B., Hagedorn M., Schindler A.-E. et al.* Effect of adjuvant imiquimod 5 % cream on sustained clearance of anogenital warts following laser treatment. Infect. Dis. Obstet. Gynec. 2002; 10: 79–88.
141. *Huang H. F., Zeng Z., Wang K. H. et al.* Heme oxygenase-1 protects rat liver against warm ischemia/reperfusion injury via TLR2/TLR4-triggered signaling pathways. Wld J. Gastroenterol. 2015; 21 (10): 2937–2948.
142. *Huang S. J., Hijnen D., Murphy G. F. et al.* Imiquimod enhances ИФНγ production and effector function of Tcells infiltrating human squamous cell carcinomas of the skin. J. Invest. Dermatol. 2009; 129 (11): 2676–2685.
143. *Hussein N. R., Balatay A. A., Assafi M. S. et al.* High Risk Human Papilloma Virus Genotypes in Kurdistan Region in Patients with Vaginal Discharge. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2016; 17 (7): 3191–3193.
144. *Hussein W. M., Choi P., Zhang C. et al.* Evaluation of lipopeptides as toll-like receptor 2 ligands. Curr. Drug Deliv. 2016; 13 (8).

145. *Iavarone C., Ramsauer K., Kubarenko A. V., Debasitis J. C. et al.* A point mutation in the amino terminus of TLR7 abolishes signaling without affecting ligand binding. J. Immunol. 2011; 186: 4213–4222.
146. *Ichinohe T., Tamura S., Kawaguchi A. et al.* Cross-protection against H5N1 influenza virus infection is afforded by intranasal inoculation with seasonal trivalent inactivated influenza vaccine. J. Infect. Dis. 2007; 196: 1313–1320.
147. *Imbertson L. M., Beaurline J. M., Couture A. M. et al.* Cytokine induction in hairless mouse and rat skin after topical application of the immune response modifiers imiquimod and S-28463. J. Invest. Dermatol. 1998; 110: 734–739.
148. *Inglefield J. R., Dumitru C. D., Alkan S. S. et al.* TLR7 agonist 852A inhibition of tumor cell proliferation is dependent on plasmacytoid dendritic cells and type I ИФН. J. Interferon Cytokine Res. 2008; 28 (4): 253–263.
149. *Ishii N., Funami K., Tatematsu M. et al.* Endosomal localization of TLR8 confers distinctive proteolytic processing on human myeloid cells. J. Immunol. 2014; 193 (10): 5118–5128.
150. *Işik S., Koca R., Sarici G., Altinyazar H. C.* A comparison of a 5% potassium hydroxide solution with a 5-fluorouracil and salicylic acid combination in the treatment of patients with anogenital warts: a randomized, open-label clinical trial. Int. J. Dermatol. 2014; 53 (9): 1145–1150.
151. *Jähnisch H., Wehner R., Tunger A. et al.* TLR7/8 agonists trigger immunostimulatory properties of human 6-sulfo LacNAc dendritic cells. Cancer Lett. 2013; 335: 119–127.
152. *Janeway C. A.* Pillars article: approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold. spring harb. symp. quant. biol. 1989. 54: 1–13.
153. *Janeway C. A. Jr.* Medzhitov R. Innate immune recognition. Ann. Rev. Immunol. 2002; 20: 197–216.
154. *Jenkins A. L., Lang C. M., Budgeon L. R. et al.* Mucosally-derived HPV-40 can infect both human genital foreskin and cutaneous hand skin tissues grafted into athymic mice. Virus Res. 2003; 93 (1): 109–114.
155. *Jin S. X., Yin K. S., Bian T., Sun P. L.* Imiquimod attenuates airway inflammation and decreases the expression of thymus and activation regulated chemokine in allergic asthmatic mice. Chin. Med. J. (Engl). 2006; 119 (5): 412–416.
156. *Jobanputra K. S., Rajpal A. V., Nagpur N. G.* Imiquimod. Indian J. Dermatol. Veneriol. Leprol. 2006; 72 (6): 466–469.
157. *Joseph R. W., Cappel M., Tzou K. et al.* Treatment of in-transit and metastatic melanoma in two patients treated with ipilimumab and topical imiquimod. Melanoma Res. 2016; 26 (4): 409–412.
158. *Juhl M. E., Seferovic V., Antonijevic S., Krunic A.* Combined treatment of anogenital HPV infection with cryodestruction, podophyllin 25% and post-ablation immunomodulation with sinecatechins 15% ointment — a retrospective analysis. Int. J. STD AIDS. 2016; 27 (12): 1071–1078.

159. *Kadowaki N., Ho S., Antonenko S. et al.* Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. J. exp. Med. 2001; 194 (6): 863–869.
160. *Kan Y., Okabayashi T., Yokota S. et al.* Imiquimod suppresses propagation of herpes simplex virus 1 by upregulation of cystatin A via the adenosine receptor A1 pathway. J. Virol. 2012; 86 (19): 10338–10346.
161. *Kaur P., Mulvaney M., Carlson J.A.* Basal cell carcinoma progression correlates with host immune response and stromalalterations: a histologic analysis. Amer. J. Dermatopathol. 2006; 28 (4): 293–307.
162. *Kawai T., Akira S.* The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. Nat. Immunol. 2010; 11 (5): 373–384.
163. *Kawasaki T., Kawai T.* Toll-like receptor signaling pathways. Front Immunol. 2014; 5: 461.
164. *Kim C., Cheng J., Colegio O.R.* Cutaneous squamous cell carcinomas in solid organ transplant recipients: emerging strategies for surveillance, staging, and treatment. Semin. Oncol. 2016; 43 (3): 390–394.
165. *King C.M., Johnston J.S., Ofili K. et al.* Human papillomavirus types 2, 27, and 57 Identified in plantar verrucae from HIV-positive and HIV-negative individuals. J. Amer. Podiat. Med. Ass. 2014; 104 (2): 141–146.
166. *Koeneman M.M., Kruse A.J., Kooreman L.F. et al.* Topical Imiquimod treatment of high-grade Cervical intraepithelial neoplasia (TOPIC trial): study protocol for a randomized controlled trial. BMC Cancer. 2016; 16: 132.
167. *Koenigs E., Freund J.* Uber die Einwirkung von Hydrazinen auf 4-Chlor-chonaldin Chemische Berichte.1947; 80: 143–149.
168. *Kollipara R., Ekhlassi E., Downing C. et al.* Advancements in Pharmacotherapy for Noncancerous Manifestations of HPV. J. clin. Med. 2015; 4 (5): 832–846.
169. *Konstantopoulou M., Lord M.G., Macfarlane A.W.* Treatment of invasive squamous cell carcinoma with 5-percent imiquimod cream. Dermatol. Online J. 2006; 12 (3): 10.
170. *Kremsdorf D., Jablonska S., Favre M., Orth G.* Human papillomaviruses associated with epidermodysplasia verruciformis. II. Molecular cloning and biochemical characterization of human papillomavirus 3a, 8, 10, and 12 genomes. J. Virol. 1983; 48 (2): 340–351.
171. *Kuznetsova S.A., Starikova E.A., Freidlin I.S., Smirnov V.S.* In vitro studies of changes in human endothelial cell functions under the effect of imiquimod. Bull. exp. Biol. Med. 2012; 154 (2): 237–240.
172. *Kwok C.S., Gibbs S., Bennett C. et al.* Topical treatments for cutaneous warts. Cochrane Database of Syst. Rev. 2012; 9. Art. No. CD001781.
173. *Lacey C.J., Woodhall S.C., Wikstrom A., Ross J.* 2012 European guideline for the management of anogenital warts. J. Europ. Acad. Dermatol. Venereol. 2013; 27(3): e263–270.

174. *Lathers D. M., Young M. R.* Increased aberrance of cytokine expression in plasma of patients with more advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. Cytokine. 2004; 25: 220–228.
175. *Lee S. H., Toth Z., Wong L. Y. et al.* Novel phosphorylations of IKKγ/NEMO. MBio. 2012; 3 (6): e00411–412.
176. *Leigh I. M.* Progress in skin cancer: the U. K. experience. Br. J. Dermatol. 2014; 171: 443–445.
177. *Leiter U., Gutzmer R., Alter M. et al.* Kutanes Plattenepithelkarzinom. Hautarzt. 2016; 67 (11): 857–866.
178. *Lewandowsky F., Lutz W.* Ein Fall einer bisher nicht beschriebenen Hauterkrankung (Epidermodysplasia Verruciformis). Arch. Derm. Syph. 1922; 141: 193–203.
179. *Li J., Zhang T. Y., Tan L. T. et al.* Expression of human papillomavirus and prognosis of juvenile laryngeal papilloma. Int. J. clin. Exp. Med. 2015; 8(9): 15521–15527.
180. *Li V. W., Li W. W.* Antiangiogenesis in the treatment of skin cancer. J. Drugs Dermatol. 2008; 7 (Suppl. 1): s17–24.
181. *Li X., Liang L., Feng Y. A. et al.* Height, height-related SNPs, and risk of nonmelanoma skin cancer. Brit. J. Cancer. 2016; doi: 10.1038/bjc.2016.366.
182. *Lichon V., Khachemoune A.* Plantar warts: a focus on treatment modalities. Dermatol. Nurs. 2007; 19 (4): 372–375.
183. *Liu F., Xia Y., Parker A. S., Verma I. M.* IKK biology. Immunol. Rev. 2012; 246 (1): 239–253.
184. *Liu R., Luo F., Liu X. et al.* Biological response modifier in cancer immunotherapy. Adv. exp. Med. Biol. 2016; 909: 69–138.
185. *Longo C., Pellacani G.* Melanomas. Dermatol. Clin. 2016; 34 (4): 411–419.
186. *Loo S. K., Tang W. Y.* Warts (non-genital). Brit. med. J. Clin. Evid. 2009; pii: 1710.
187. *Love W. E., Bernhard J. D., Bordeaux J. S.* Topical imiquimod or fluorouracil therapy for basal and squamous cell carcinoma: a systematic review. Arch. Dermatol. 2009; 145 (12): 1431–1438.
188. *Lu H., Wagner W. M., Gad E. et al.* Treatment failure of a TLR-7 agonist occurs due to self-regulation of acute inflammation and can be overcome by IL-10 blockade. J. Immunol. 2010; 184 (9): 5360–5367.
189. *Luis B. A.* Estudio multićentrico, prospectivo, abierto, controlado, sobre la eficacia, la seguridad cĺinica y la tolerabilidad local de la administracion repetitiva (t.i.d.) por 5 días del ácidó glicirricínico activado (Epigen) en pulverizaciones locales a pacientes cursando con herpes genital, Hospital General de Mexíco, Servicio de Infectologia, Mexíco City, Mexíco, 1997.
190. *Lund J. M., Alexopoulou L., Sato A. et al.* Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. Proc. nat. Acad. Sci. USA 2004; 101: 5598–5603.
191. *Madan V., Lear J. T., Szeimies R. M.* Non-melanoma skin cancer . Lancet. 2010; 375: 673–685 .
192. *Magrane M., Consortium U.* UniProt Knowledgebase: A hub of integrated protein data. Database (Oxford). 2011: bar009.

193. *Majewski S., Marczak M., Mlynarczyk B. et al.* Imiquimod is a strong inhibitor of tumor cell-induced angiogenesis Int. J. Dermatol. 2005; 44 (1): 14–19.
194. *Maniar K.P., Ronnett B.M., Vang R., Yemelyanova A.* Coexisting high-grade vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) and condyloma acuminatum: independent lesions due to different HPV types occurring in immunocompromised patients. Amer. J. Surg. Pathol. 2013; 37 (1): 53–60.
195. *Mariotti E., Allegrini P., Castaldi G.* Process for the preparation of imiquimod and intermediates thereof. Diapharma S.p.A. Data of filing 28.10.1004.
196. *Marks R., Gebauer K., Shumack S. et al.* Australasian Multicentre Trial Group. Imiquimod 5% cream in the treatment of superficial basal cell carcinoma: results of a multicenter 6-week dose-response trial. J. Amer. Acad. Dermatol. 2001; 44: 807–813.
197. *Marsden J.R., Fox R., Boota N.M. et al.* Effect of topical imiquimod as primary treatment for lentigo maligna — the LIMIT-1 study. Brit. J. Dermatol. 2016: doi 10.1111/bjd.15112.
198. *Martinelli C., Farese A., Mistro A.D. et al.* Resolution of recurrent perianal condylomata acuminate by topical cidofovir in patients with HIV infection. J. Europ. Acad. Dermatol. Venereol. 2001; 15: 568–569.
199. *Maschalidi S., Hässler S., Blanc F. et al.* Asparagine endopeptidase controls anti-influenza virus immune responses through TLR7 activation. PLoS Pathog. 2012; 8: e1002841.
200. *Matsushima N., Tanaka T., Enkhbayar P. et al.* Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors. BMC Genomics. 2007; 8: 124.
201. *Maverakis E., Cornelius L.A., Bowen G.M.* Metastatic Melanoma — A Review of Current and Future Treatment Options. Acta Derm. Venereol. 2015; 95: 516–524.
202. *McGettrick A.F., O'Neill L.A.* Toll-like receptors: key activators of leucocytes and regulator of haematopoiesis. Brit. J. Haematol. 2007; 139 (2): 185–193.
203. *Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr.* A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature. 1997; 388: 394–397.
204. *Medzhitov R., Janeway C.A.Jr.* Innate immune recognition and control of adaptive immune responses. Sem. Immunol. 1998; 10 (5): 351–353.
205. *Medzhitov R., Janeway C.A.Jr.* Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. Cell. 1997; 91(3): 295–298.
206. *Medzhitov R., Shevach E.M., Trinchieri G. et al.* Highlights of 10 years of immunology in Nature Reviews Immunology. Nat. Rev. Immunol. 2011; 11 (10): 693–702.
207. *Memar O.M., Tyring S.K.* Antiviral agents in dermatology: current status and future prospects. Int. J. Dermatol. 1995; 34 (9): 597–606.
208. *Meyer T., Nindl I., Schmook T. et al.* Induction of apoptosis by Toll-like receptor-7 agonist in tissue cultures. Brit. J. Dermatol. 2003; 149 (Supl. 66): 9–13.
209. *Micallef M.J., Ohtsuki T., Kohno K. et al.* Interferon-gamma inducing factor enhances Th1 cytokine production by stimulated human T cells: synergism

with interleukin 12 for interferon gamma production. Europ. J. Immunol. 1996; 26: 1647–1651.
210. *Mihaly S. R., Ninomiya-Tsuji J., Morioka S.* TAK1 control of cell death. Cell Death Differ. 2014; 21 (11): 1667–1676.
211. *Miller R. L., Gerster J. F., Owens M. L. et al.* Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. Int. J. Immunopharmacol. 1999; 21: 1–14.
212. *Mlakar B., Kocjan B. J., Hošnjak L. et al.* Betapapillomaviruses in the anal canal of HIV positive and HIV negative men who have sex with men. J. clin. Virol. 2014; 61 (2): 237–241.
213. *Mohtasebi P., Rassi H., Maleki F. et al.* Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Major BRCA Mutations in Familial Breast Cancer. Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother. 2016; 35 (3): 135–140.
214. *Molteni M., Gemma S., Rossetti C.* The Role of Toll-Like Receptor 4 in Infectious and Noninfectious Inflammation. Mediators Inflamm. 2016; 2016: 6978936.
215. *Moore R. A., Edwards J. E., Hopwood J., Hicks D.* Imiquimod for the treatment of genital warts: a quantitative systematic review. BMC Infect. Dis. 2001; 1: 3.
216. *Morales-Sánchez A., Fuentes-Pananá E. M.* Human viruses and cancer. Viruses. 2014; 6 (10): 4047–4079.
217. *Motoi Y., Shibata T., Takahashi K. et al.* Lipopeptides are signaled by Toll-like receptor 1, 2 and 6 in endolysosomes. Int. Immunol. 2014; 26 (10): 563–573.
218. *Müller C., Tufa D. M., Chatterjee D.* The TLR-2/TLR-6 agonist macrophage-activating lipopeptide-2 augments human NK cell cytotoxicity when PGE2 production by monocytes is inhibited by a COX-2 blocker. Cancer Immunol. Immunother. 2015; 64 (9): 1175–1184.
219. *Natoli G., Saccani S., Bosisio D., Marazzi I.* Interactions of NF-kappaB with chromatin: the art of being at the right place at the right time. Nat. Immunol. 2005; 6 (5): 439–445.
220. *Navi D., Huntley A.* Imiquimod 5 % cream and the treatment of cutaneous malignancy. Dermatol. Online J. 2004; 10.
221. *Nishimura M., Naito S.* Tissue-specific mRNA expression profiles of human toll-like receptors and related genes. Biol. Pharm. Bull. 2005; 28 (5): 886–892.
222. *Ntoufa S., Vilia M. G., Stamatopoulos K. et al.* Toll-like receptors signaling: A complex network for NF-κB activation in B-cell lymphoid malignancies Semin Cancer Biol. 2016; 39: 15–25.
223. *Nürnberger T., Brunner F.* Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. Curr. Opin. Plant. Biol. 2002; 5 (4): 318–324.
224. *Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E.* Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila. Nature. 1980; 287: 795–801.
225. *Nyitray A. G. Iannacone M. R.* The Epidemiology of Human Papillomaviruses Curr. Probl. Dermatol. 2014; 45: 75–91.

226. *Ondo A.L., Padilla R.S., Miedler J.D., Cockerell C.J. et al.* Treatment-refractory actinic keratoses successfully treated using simultaneous combination topical 5-fluorouracil cream and imiquimod cream: a case-control study. Dermatol. Surg. 2012; 38: 1469–1476.
227. *Papakostas D., Stockfleth E.* Topical treatment of basal cell carcinoma with the immune response modifier imiquimod. Future Oncol. 2015; 11 (22): 2985–2990.
228. *Park I.U., Introcaso C., Dunne E.F.* Human Papillomavirus and Genital Warts: A Review of the Evidence for the 2015 Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. Clin. Infect. Dis. 2015. 61 (Suppl. 8): S849–855.
229. *Patel H., Wagne M., Singhal P., Kothari S.* Systematic review of the incidence and prevalence of genital warts. BMC Infect. Dis. 2013; (13): 39.
230. *Patel R.V., Yanofsky V.R., Goldenberg G.* Genital warts: a comprehensive review. J. clin. Aesthet. Dermatol. 2012; 5: 25–36.
231. *Pérez M.P.B., Ruiz-Villaverde R., Díaz M.J.N. et al.* Basal cell carcinoma: treatment with Imiquimod. Internat. J. Dermatol. 2007; 46: 539–542.
232. *Peris K., Fargnoli M.C.* Conventional Treatment of Actinic Keratosis: An Overview. Curr. Probl. Dermatol. (Basel, Karger). 2015; 46: 108–114.
233. *Peterson C.S., Agner T., Ottevanger A. et al.* A single blind study of podophyllotoxin cream 0.5% and podophyllotoxin solution 0,5% in male patients with genital warts. Genitourin. Med. 1995; 71: 391–392.
234. *Petzke M.M., Brooks A., Krupna M.A. et al.* Recognition of Borrelia burgdorferi, the Lyme disease spirochete, by TLR7 and TLR9 induces a type I ИФН response by human immune cells. J. Immunol. 2009; 183 (8): 5279–5292.
235. *Płóciennikowska A., Hromada-Judycka A., Dembińska J. et al.* Contribution of CD14 and TLR4 to changes of the PI (4,5)P2 level in LPS-stimulated cells. J. Leukoc. Biol. 2016; pii: jlb.2VMA1215–577R.
236. *Pope S.D., Medzhitov R.* Unwinding inducible gene expression. Science. 2016; 352 (6289): 1058–1059.
237. *Qi H., Sun L., Wu X. et al.* Toll-like receptor 1 (TLR1) Gene SNP rs5743618 is associated with increased risk for tuberculosis in Han Chinese children. Tuberculosis (Edinb). 2015; 95 (2): 197–203.
238. *Ramnath D., Powell E.E., Scholz G.M., Sweet M.J.* The toll-like receptor 3 pathway in homeostasis, responses to injury and wound repair. Seminars Cell Dev. Biol. 2016; pii: S1084-9521(16)30252-X.
239. *Ratushny V., Gober M.D., Hick R. et al.* From keratinocyte to cancer: the pathogenesis and modeling of cutaneous squamous cell carcinoma. J. clin. Invest. 2012; 122: 464–472.
240. *Rechtsteiner G., Warger T., Osterloh P. et al.* Cutting edge: priming of CTL by transcutaneous peptide immunization with imiquimod. J. Immunol. 2005; 174: 2476–2480.
241. *Reiter M.J., Testerman T.L., Miller R.L. et al.* Cytokine induction in mice by the immunomodulator Imiquimod. J. Leukoc. Biol. 1994. 55 (2): 234–240.

242. *Relieving* DNA torsional stress may follow chromatin remodeling to facilitate transcription requires the Akt/protein kinase B kinase. Biochem. J. 2003; 376 (Pt 1): 303–311.
243. *Rhodes J.* Discovery of immunopotentiatory drugs: current and future strategies. Clin. Exp. Immunol. 2002; 130 : 363–369.
244. *Rhyasen G. W., Starczynowski D. T.* IRAK signalling in cancer. Brit. J. Cancer. 2015; 112 (2): 232–237.
245. *Rialdi A., Campisi L., Zhao N. et al.* Topoisomerase 1 inhibition suppresses inflammatory genes and protects from death by inflammation. Science. 2016; 352(6289): aad7993.
246. *Ripabelli G., Grasso G. M., Del Riccio I. et al.* Prevalence and genotype identification of human papillomavirus in women undergoing voluntary cervical cancer screening in Molise, central Italy. Cancer Epidem. 2010; 34 (2): 162–167.
247. *Rivera A., Tyring S. K.* Therapy of cutaneous human Papillomavirus infections. Dermatol. Ther. 2004; 17: 441–448.
248. *Rodier C., Lapointe A., Coutlée F. et al.* Juvenile respiratory papillomatosis: risk factors for severity. J. med. Virol. 2013; 85 (8): 1447–1458.
249. *Roman M., Martin-Orozco E., Goodman J. S. et al.* Immunostimulatory DNA sequences function as T helper-1-promoting adjuvants. Nat Med 1997; 3: 849–54.
250. *Rubin A. I., Chen E. H., Ratner D.* Basal cell carcinoma. New Engl. J. Med. 2005; 353 : 2262–2269.
251. *Rudolph S. E., Lorincz A., Wheeler C. M. et al.* Population-based prevalence of cervical infection with human papillomavirus genotypes 16 and 18 and other high risk types in Tlaxcala, Mexico. BMC Infect. Dis. 2016; 16: 461.
252. *Russo C., Cornella-Taracido I., Galli-Stampino L. et al.* Small molecule Toll-like receptor 7 agonists localize to the MHC class II loading compartment of human plasmacytoid dendritic cells. Blood. 2011; 117 (21): 5683–5691.
253. *Safi F., Bekdache O., Al-Salam S. et al.* Management of peri-anal giant condyloma acuminatum a case report and literature review. Asian J Surg. 2013; 36 (1): 43–52.
254. *Safrin S., Cherington J., Jaffe H. S.* Clinical uses of cidofovir. Rev. Med. Virol. 1997; 7: 145–156.
255. *Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al.* Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J. Immunol. 1995; 155: 1151–1164.
256. *Sauder D. N.* Imiquimod: modes of action. Brit. J. Dermatol. 2003; 149 (Suppl. 66): 5–8.
257. *Scheinfeld N., Lehman D. S.* An evidence-based review of medical and surgical treatments of genital warts. Dermatol. Online J. 2006; 12: 5.
258. *Schiller M., Metze D., Luger T. A. et al.* Immune response modifiers–mode of action. Exp. Dermatol. 2006;15 (5): 331–341.
259. *Schön M. P., Schön M.* Imiquimod: mode of action. Brit. J. Dermatol. 2007; 157 (Suppl. 2): 8–13.

260. *Schön M.P., Schön M., Klotz K.N.* The small antitumoral immune response modifier imiquimod interacts with adenosine receptor signaling in a TLR7- and TLR8-independent fashion. J. Invest. Dermatol. 2006; 126 (6): 1338–1347.
261. *Schön M.P., Wienrich B.G., Drewniok C. et al.* Death receptor-independent apoptosis in malignant melanoma induced by the smallmolecule immune response modifier imiquimod. J. Invest. Dermatol. 2004; 122: 1266–1276.
262. *Schön M.P.* Inflammation and Tumor Biology. New Engl. J. Med. 2005; 352 (18): 1899–1912.
263. *Schön M.P., Bong A.B., Drewniok C.* Tumor-selective induction of apoptosis and the small-molecule immune response modifier imiquimod. J. nat. Cancer Inst. 2003; 95 (15): 1138–1149.
264. *Serra-Guillén C., Nagore E., Hueso L. et al.* A randomized pilot comparative study of topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy versus imiquimod 5% versus sequential application of both therapies in immunocompetent patients with actinic keratosis: clinical and histologic outcomes. J. Amer. Acad. Dermatol. 2012; 66: 131–137.
265. *Shinohara M.L., Lu L., Bu J.* Osteopontin expression is essential for interferon-alpha production by plasmacytoid dendritic cells. Nat. Immunol. 2006; 7 (5): 498–506.
266. *Sidky Y.A., Borden E.C., Weeks C.E. et al.* Inhibition of murine tumor growth by an interferon-inducing imidazoquinolinamine. Cancer Res. 1992; 52 (13): 3528–3533.
267. *Sidky Y.A., Borden E.G., Weeks G.E.* Inhibition of tumorinduced angiogenesis by the interferon inducer Imiquimod. Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 1992; 33: 458.
268. *Siegel J.A. Korgavkar K., Weinstock M.A.* Current perspective on actinic keratosis: a review. Brit. J. Dermatol. 2016: doi: 10.1111/bjd.14852.
269. *Silverberg J.I., Silverberg N.B.* The US prevalence of common warts in childhood: a population-based study. J. Invest. Dermatol. 2013; 133: 2788–2790.
270. *Silverberg M.J., Leyden W., Warton E.M. et al.* HIV infection status, immunodeficiency, and the incidence of non-melanoma skin cancer. J. nat. Cancer Inst. 2013; 105: 350–360.
271. *Sin C.W., Barua A., Cook A.* Recurrence rates of periocular basal cell carcinoma following Mohs micrographic surgery: a retrospective study. Int. J. Dermatol. 2016; 55 (9): 1044–1047.
272. *Singal A., Daulatabad D., Pandhi D., Arora V.K.* Facial Basal Cell Carcinoma Treated with Topical 5% Imiquimod Cream with Dermoscopic Evaluation. J. Cutan Aesthet. Surg. 2016; 9 (2): 122–125.
273. *Slade H.B., Owens M.L., Tomai M.A., Miller R.L.* Imiquimod 5% cream (Aldara™). Exp. Opin. Invest. Drugs. 1998; 7 (3): 437–449.
274. *Smith C.W., Chen Z., Dong G. et al.* The host environment promotes the development of primary and metastatic squamous cell carcinomas that constitutively express proinflammatory cytokines IL-1alpha, IL-6, GM-CSF, and KC. Clin. exp. Metastasis. 1998; 16: 655–664.

275. *Smits E. L., Ponsaerts P., Berneman Z. N. et al.* The Use of TLR7 and TLR8 Ligands for the Enhancement of Cancer Immunotherapy. Oncologist. 2008; 13: 859–875.
276. *Soltani-Arabshahi R., Tristani-Firouzi P.* Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer. Facial Plast. Surg. 2013; 29 (5): 373–383.
277. *Song F., Qureshi A. A., Giovannucci E. L. et al.* Risk of a second primary cancer after non-melanoma skin cancer in white men and women: a prospective cohort study. PLoS Med. 2013; 10 (4): e1001433.
278. *Song S. S., Goldenberg A., Ortiz A. et al.* Nonmelanoma Skin Cancer With Aggressive Subclinical Extension in Immunosuppressed Patients. J.A.M.A. Dermatol. 2016; 152 (6): 683–690.
279. *Spelmink L., Sender V., Hentrich K. et al.* Toll-Like Receptor 3/TRIF-Dependent IL-12p70 Secretion Mediated by Streptococcus pneumoniae RNA and Its Priming by Influenza A Virus Coinfection in Human Dendritic Cells. MBio. 2016; 7 (2): e00168-16.
280. *Stanley M. A.* Imiquimod and the imidazoquinolones: mechanism of action and therapeuticpotential. Clin. exp. Dermatol. 2002; 27 (7): 571–577.
281. *Stein P., Weber M., Prüfer S. et al.* Regulatory T cells and IL-10 independently counterregulate cytotoxic T lymphocyte responses induced by transcutaneous immunization. PLoS One. 2011; 6 (11): e27911.
282. *Stockfleth E., Meyer T., Benninghoff B., Christophers E.* Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. Brit. J. Dermatol. 2001; 144: 1050–1053.
283. *Stojanović S., Poljacki M., Vucković N., Tasić S.* Kliničko histološki karakteristike spinocellular karcinoma kože. Med. Pregl. 1998; 51(1–2): 61–67.
284. *Stokes J. R., Sorkness R. L., Kaplan M. R. et al.* Attenuation of virus-induced airway dysfunction in rats treated with imiquimod. Europ. Respir. J. 1998; 11: 324–329.
285. *Strunk T., Braathen L. R., Szeimies R.-M.* Актинический кератоз — обзор литературы. Вестн. дерматол. венерол. 2014; 5: 42–52.
286. *Suárez-Ibarrola R., Heinze A., Sánchez-Sagástegui F. et al.* Giant Condyloma Acuminatum in the Genital, Perineal and Perianal Region in a Pediatric Patient. Literature Review and Case Report. Urol. Case Rep. 2016; 7: 14–16.
287. *Sun Q., Bai J., Ly R.* Hedgehog/Gli1 signal pathway facilitates proliferation, invasion, and migration of cutaneous SCC through regulating VEGF. Tumour Biol. 2016: doi: 10.1007/s13277-016-5435-x.
288. *Surrey A. R., Culter R. A.* The synthesis of some 3-Nitro- and 4-dialkylaminoalkylamino-quinoline Deriatives. J. Amer. Chem. Soc. 1951; 73 (6): 2413–2416.
289. *Swanson N., Abramovits W., Berman B. et al.* Imiquimod 2.5 % and 3.75 % for the treatment of actinic keratoses: results of two placebocontrolled studies of daily application to the face and balding scalp for two 2-week cycles. J. Amer. Acad. Dermatol. 2010; 62: 582–590.
290. *Swanson N., Smith C. C., Kaur M. et al.* Imiquimod 2.5 % and 3.75 % for the treatment of actinic keratoses: two phase 3 multicenter, randomized,

double-blind, placebo-controlled studies. J. Drugs Dermatol. 2013; 12: 1278–1282.
291. *Syed T.A., Cheema K.M., Khayyami M. et al.* Human leukocyte interferon-alpha versus podophyllotoxin in cream for the treatment of genital warts in males. A placebo-controlled, double-blind, comparative study. Dermatology. 1995: 191: 129–132.
292. *Szentirmay Z., Szántó I., Bálint I. et al.* Oki összefüggés a humán papillomavírus-fertôzés és a fej-nyaki régió valamint a nyelôcsô laphámrákjának egyes típusai között. Magyar Onkológia. 2002; 46: 35–41.
293. *Takeda K., Akira S.* Toll-like receptors in innate immunity. Int. Immunol. 2005; 17: 1–14.
294. *Taner Z.M., Taskiran C., Onan A.M. et al.* Therapeutic value of trichloroacetic acid in the treatment of isolated genital warts on the external female genitalia. J. Reprod. Med. 2007; 52 (6): 521–525.
295. *Tanji H., Ohto U., Shibata T. et al.* Structural reorganization of the Toll-like receptor 8 dimer induced by agonistic ligands. Science. 2013; 339: 1426–1429.
296. *Tardos Th.F.* Emulsion science and Technology, 2009.
297. *Tardos Th.F.* Rheology of Dispersions, 2010.
298. *Tchernev G.* Sexually transmitted papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, clinic, morphology, important differential diagnostic aspects, current diagnostic and treatment options. Ann. Bras. Dermatol. 2009; 84 (4): 377–389.
299. *Telo I., Pescina S., Padula C. et al.* Mechanisms of imiquimod skin penetration. Int. J. Pharm. 2016; 511 (1): 516–523.
300. *Tillman D.K.Jr., Carroll M.T.* Topical imiquimod therapy for basal and squamous cell carcinomas: a clinical experience. Cutis. 2007; 79: 241–248.
301. *Tio D., Van der Woude J., Prinsen C.A. et al.* A systematic review on the role of imiquimod in lentigo maligna and lentigo maligna melanoma: need for standardization of treatment schedule and outcome measures. J. Europ. Acad. Dermatol. Venereol. 2016; doi: 10.1111/jdv.14085.
302. *Traiman P., Bacchi C.E., De Luca L.A. et al.* Vulvar carcinoma in young patients and its relationship with genital warts. Europ. J. Gynaecol. Oncol. 1999; 20 (3): 191–194.
303. *Triantafilou K., Orthopoulos G., Vakakis E. et al.* Human cardiac inflammatory responses triggered by Coxsackie B viruses are mainly Toll-like receptor (TLR) 8-dependent. Cell. Microbiol. 2005; 7: 1117–1126.
304. *Tschandl P., Rosendahlb C., Kittlera H.* Cutaneous Human Papillomavirus Infection: Manifestations and Diagnosis. Curr. Probl. Dermatol. 2014; 45: 92–97.
305. *Tyring S.* Imiquimod applied topically: A novel immune response modifier. Skin Ther. Lett. 2001; 6 (6): 1–4.
306. *Ueyama A., Yamamoto M., Tsujii K.* Mechanism of pathogenesis of imiquimod-induced skin inflammation in the mouse: a role for interferon-alpha in dendritic cell activation by imiquimod. J. Dermatol. 2014; 41 (2): 135–143.

307. *Unger E.R., Fajman N.N., Maloney E.M. et al.* Anogenital human papillomavirus in sexually abused and nonabused children: a multicenter study. Pediatrics. 2011; 128(3): e658–665.
308. *Utada A.S., Bennett R.R., Fong J.C.* Vibrio cholerae use pili and flagella synergistically to effect motility switching and conditional surface attachment. Nat. Commun. 2014; 5: 4913.
309. *Uthaisangsook S., Day N.K., Bahna S.L. et al.* Innate immunity and its role against infections. Ann. Allergy Asthma Immunol. 2002; 88(3): 253–264; quiz 265–266, 318.
310. *Van Haalen F.M., Bruggink S.C., Gussekloo J. et al.* Warts in primary schoolchildren: prevalence and relation with environmental factors. Brit. J. Dermatol. 2009; 161: 148–152.
311. *Vilahur G., Badimon L.* Ischemia/reperfusion activates myocardial innate immune response: the key role of the toll-like receptor. Front. Physiol. 2014; 5: 496.
312. *Vlahovic T.C., Khan M.T.* The human papillomavirus and its role in plantar warts: a comprehensive review of diagnosis and management. Clin. Podiat. Med. Surg. 2016; 33 (3): 337–353.
313. *Wagner T.L., Ahonen C.L., Couture A.M. et al.* Modulation of TH1 and TH2 citokine production with the immune response modifiers, R-848 and Imiquimod. Cell. Immunol. 1999; 191: 10–19.
314. *Wang Y., Wang S., Shen J. et al.* Genotype distribution of human papillomavirus among women with cervical cytological abnormalities or invasive squamous cell carcinoma in a high-incidence area of esophageal carcinoma in china. Biomed. Res. Int. 2016; 2016: 1256384.
315. *Wang Y., Zhao B., Wang S. et al.* Formulation and evaluation of novel glycyrrhizic acid micelles for transdermal delivery of podophyllotoxin. Drug Deliv. 2016; 23 (5): 1623–1635.
316. *Weeks C.E., Gibson S.J.* Induction of interferon and other cytokines by imiquimod and its hydroxylated metabolite R-842 in human blood cells in vitro. J. Interferon Res. 1994; 14 (2): 81–85.
317. *Wei T., Gong J., Jamitzky F. et al.* Homology modeling of human Toll-like receptors TLR7, 8, and 9 ligand-binding domains. Protein Sci. 2009; 18: 1684–1691.
318. *Werner R.N., Sammain A., Erdmann R. et al.* The natural history of actinic keratosis: a systematic review. Brit. J. Dermatol. 2013; 169 (3): 502–518.
319. *Werner R.N., Westfechtel L., Dressler C., Nast A.* Self-administered interventions for anogenital warts in immunocompetent patients: a systematic review and meta-analysis. Sex. Transm. Infect. 2016: 1. pii: sextrans-2016-052768.
320. *Wiedemann G.M., Jacobi S.J., Chaloupka M. et al.* A novel TLR7 agonist reverses NK cell anergy and cures RMA-S lymphoma-bearing mice. Oncoimmunology. 2016; 5(7): e1189051.
321. *Wieland U., Kreuter A.* HPV-induzierte anale Läsionen Hautarzt. 2015; 66: 439–445.

322. *Wincle G., Osborn D. W.* 1H-imidazo[4,5-c]quinolinamines and antiviral use. US Patent №4 689 338, 1987.
323. *Wolff F., Loipetzberger A., Gruber W.* Imiquimod directly inhibits Hedgehog signalling by stimulating adenosine receptor/protein kinase A-mediated GLI phosphorylation. Oncogene. 2013; 32 (50): 5574–5581.
324. *Woodworth C. D.* HPV innate immunity. Front. Biosci. 2002; 7: d2058-d2071.
325. *Wright T. C., Richart R. M.* Role of human papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer. Gynec. Oncol. 1990; 37 (2): 151–164.
326. *Wulf H. C.* Hvorfor og hvornår behandles aktiniske keratoser — en gennemgang af et Cochranereview. Ugeskr Læger 2014; 176: V07130448.
327. *Yamada S., Jinnin M., Kajihara I. et al.* Cytokine expression profiles in the sera of cutaneous squamous cell carcinoma patients. Drug Discov. Ther. 2016; 10 (3): 172–176.
328. *Yang J., Qin N., Zhang H. et al.* Cellular uptake of exogenous calcineurin B is dependent on TLR4/MD2/CD14 complexes, and CnB is an endogenous ligand of TLR4. Sci. Rep. 2016; 6: 24346.
329. *Young-Zvandasara T., Popiela M., Shuttleworth G.* 'The nodule that disappeared' spontaneous regression of an eyelid noduloulcerative lesion mimicking the features of a basal cell carcinoma. Brit. med. J. Case Rep. 2015; 2015. pii: bcr2014206566.
330. *Youssef K. K., Lapouge G., Bouvree K. et al.* Adult interfollicular tumour-initiating cells are reprogrammed into an embryonic hair follicle progenitor-like fate during basal cell carcinoma initiation. Nat. cell biol. 2012; 14 (12): 1282–1294.
331. *Zabawski E. J. Jr., Cockerell C. J.* Topical and intralesional cidofovir: a review of pharmacology and therapeutic effects. J. Amer. Acad. Dermatol. 1998; 39: 741–745.
332. *Zandi S., Ahmad Zadeh R., Yousefi S. R., Gharibi F.* Promising New Wart Treatment: A Randomized, Placebo-Controlled, Clinical Trial. Iran. Red. Crescent Med. J. 2016; (8): e19650.
333. *Zaravinos A., Kanellou P., Spandidos D. A.* Viral DNA detection and RAS mutations in actinic keratosis and nonmelanoma skin cancers. Brit. J. Dermatol. 2010; 162: 325–331.
334. *Zaza M., Grassi C., Mardjonovic A. et al.* L'uso di elettrochirurgia nel trattamento di genitale extra-cervicale condilomatosi. Minerva Ginec. 1998; 50 (9): 367–371.
335. *Zhang X., Munegowda M. A., Yuan J.* Optimal TLR9 signal converts tolerogenic CD4-8-DCs into immunogenic ones capable of stimulating antitumor immunity via activating CD4+ Th1/Th17 and NK cell responses. J. Leukoc. Biol. 2010; 88 (2): 393–403.
336. *Zhao H., Shu G., Wang S.* The risk of non-melanoma skin cancer in HIV-infected patients: new data and meta-analysis. Int. J. STD AIDS. 2016; 27 (7): 568–575.

337. *Zhu Y.P., Jia Z.W., Dai B. et al.* Relationship between circumcision and human papillomavirus infection: a systematic review and meta-analysis. Asian J. Androl. 2016. doi: 10.4103/1008-682X.175092.
338. *Zou H., Yang R., Hao J. et al.* Regulation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome by caspase-3 and XIAP. J. biol. Chem. 2003; 278 (10): 8091–8098.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение 3
Глава 1. Паттерн-распознающие рецепторы 7
Глава 2. Физико-химические свойства
и некоторые аспекты синтеза 23
Глава 3. Биологические и фармакологические свойства 41
Глава 4. Виды и принципы лечения
папиллом и бородавок 69
Глава 5. Применение имихимода для лечения
папилломавирусных поражений 87
Глава 6. Применение имихимода
при некоторых опухолях кожи 103
Заключение 117
Литература 120

Вячеслав Сергеевич Смирнов,
Татьяна Анатольевна Кудрявцева

Вартоцид

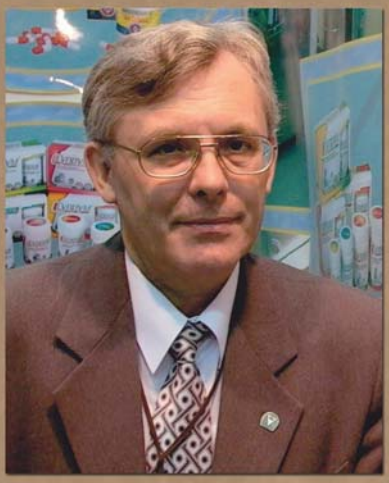
(имихимод)

Научное издание

Редактор *Н. А. Габузов*
Корректор *Н. Ю. Крамер*
Оформление, компьютерная верстка *М. Н. Клочков*

Подписано в печать 21.07.2017.
Формат 60×90 1/16. Бумага офсетная.
Гарнитура «Таймс». Печать офсетная.
Усл. печ. л. 9. Уч.-изд. л. 9,1. Тираж 500. Заказ № 0000.
Издательство «Гиппократ»
197110 Санкт-Петербург, Чкаловский пр., д. 15, лит. З,
тел. +7 (931) 286 32 00
Эл. адрес hpt.info@mail.ru.
www.hyppokrat.ru

Отпечатано в типографии «Лесник-принт»
Санкт-Петербург, ул. Сабировская, д. 37



ВЯЧЕСЛАВ СЕРГЕЕВИЧ СМИРНОВ

Доктор медицинских наук профессор, специалист в области иммунофармакологии и медицины катастроф.

Главный научный сотрудник «Медико-биологического научно-производственного комплекса „Цитомед"».

Опубликовал более 300 работ. Является автором или соавтором восьми монографий, четырех методических руководств, семи российских и одного европейского патента.

ТАТЬЯНА АНАТОЛЬЕВНА КУДРЯВЦЕВА

Кандидат биологических наук, степень MBA, специалист в области синтеза и исследования коротких пептидов и пептидомиметиков.

Ведущий научный сотрудник «Медико-биологического научно-производственного комплекса „Цитомед"».

Опубликовала более двадцати научных работ. Является автором или соавтором трех российских и одного европейского патента.

ISBN 978-5-8232-0638-9