

# Оценка эффективности и безопасности применения имихимода в лечении субклинических и клинических проявлений персистирующей папилломавирусной инфекции шейки матки у пациенток раннего репродуктивного возраста

Н.И.Татильская, И.Н.Воробицова, С.Н.Гайдуков, С.Н.Прошин

ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России

## Резюме

Проведено открытое контролируемое исследование ( $n=28$ ) эффективности и безопасности препарата имихимод в форме 5% крема (Алдара) в лечении субклинических (плоская кондилома) и клинических (CIN I) проявлений папилломавирусной инфекции. Клиническая эффективность лечения через 1 мес составила 96,4%, через 2 мес – 100%. Микробиологическая эффективность – полный ВПЧ-клиренс достигнут в 60,7% случаев, в остальных случаях произошло снижение вирусной нагрузки. Элиминация 16-го типа вируса была достигнута в 80% случаев. Иммуноцитохимическое исследование продемонстрировало увеличение уровней экспрессии толл-подобных рецепторов 4 и 9-го типа в эндо- и эктоцервиксе после лечения.

**Ключевые слова:** имихимод, ВПЧ, LSIL, шейка матки, TLR.

## Efficacy and safety of imiquimod in the treatment of subclinical and clinical forms of persistent cervical papillomavirus infection in patients of early reproductive age

N.I.Tatilskaia, I.N.Vorobitsova, S.N.Gaidukov, S.N.Proshin

## Summary

**Objectives.** HPV infection is a major risk factor for cervix cancer. This study evaluated cervical application of imiquimod for treatment of subclinical (flat condyloma) and clinical (CIN I, LSIL) manifestations of human papillomavirus infection.

**Methods.** An open controlled study ( $n=28$ ) efficacy and safety of imiquimod (5% cream Aldara) in 1–2 months.

**Results.** All patients treated had complete clinical responses. Clinical efficacy of treatment at 1 month was 96,4%, in 2 months – 100%. Microbiological efficacy (full HPV-clearance) achieved in 60,7% of cases, in other cases there was a decrease in viral load. Elimination of the 16 types of virus was achieved in 80% of cases. Immunocytochemical study showed higher levels of expression of Toll-like receptor 4 and 9 type in the endo- and ectocervix after treatment. Undesirable effects were not grounds for termination of treatment.

**Conclusions.** The trial does support the feasibility and acceptability of the use of imiquimod on the cervix in treatment of manifestations of human papillomavirus infection.

**Key words:** imiquimod, HPV, LSIL, cervix uteri, TLR.

## Сведения об авторах

Татильская Наталья Игоревна – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии, проф. каф. онкологии ГБОУ ВПО СПбГПМУ.

E-mail: tatnatalia@yandex.ru

Воробицова Ирина Николаевна – канд. мед. наук, доц. каф. акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО СПбГПМУ

Гайдуков Сергей Николаевич – д-р мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО СПбГПМУ

Прошин Сергей Николаевич – д-р мед. наук, зав. каф. фармакологии ГБОУ ВПО СПбГПМУ

На сегодняшний день в мировой практике существует точка зрения, что ввиду высокой вероятности самопроизвольной элиминации вируса при носительстве вируса папилломы человека (ВПЧ) в течение года и возможности спонтанной регрессии как клинических, так и субклинических форм папилломавирусной инфекции (ПВИ) допустима наблюдательная тактика. Вместе с тем высокая вероятность перехода доброкачественных ВПЧ-индуцированных поражений при инфицировании высокоонкогенными типами вируса в предрак и рак шейки матки заставляет искать пути лечения и профилактики, снижающие заболеваемость и распространение этой высококонтагиозной инфекции.

Международная группа экспертов рекомендует следующую тактику ведения женщин в случае поражения низкой степени: легкой дисплазии, плоской кондиломы, цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN I – cervical intraepithelial neoplasia), плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени (LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesions). При удовлетворительных результатах (зона трансформации видна полностью) кольпоскопии возможны 2 подхода: наблюдение и активное лечение. Решение об активном лечении следует принимать в отношении каждого пациента индивидуально. При CIN I тактика может различаться в зависимости от величины поражения шейки матки, наличия или отсутствия других сопут-

ствующих заболеваний и мотивации самой женщины. Для ВПЧ-индуцированных субклинических генитальных поражений тактика еще не уточнена. В качестве лечебных средств предлагают локальную и системную иммунотерапию, применение химиопрепаратов, облучение. Одни авторы демонстрируют высокую клиническую эффективность консервативной терапии, другие ее отрицают [1].

Высокая вероятность персистенции ВПЧ на сегодняшний день не исключает применение иммунопрепаратов, прошедших клиническую апробацию [2].

## Материалы и методы

С апреля 2013 по апрель 2014 г. проведено открытое контролируемое исследование эффективности и безопасности препарата имихимод в форме 5% крема (Алдара) в лечении субклинических и клинических проявлений ПВИ, целью которого была оценка клинической и лабораторной эффективности препарата для возможного расширения показаний к применению, переносимости, нежелательных явлений, их характеристики и частоты.

В исследование были включены 28 женщин раннего репродуктивного возраста (от 23 до 30 лет в момент включения в исследование, средний возраст –  $24,8 \pm 2,3$  года) с субклиническими и клиническими проявлениями ВПЧ, у которых по данным двух- или трехкратного (с интервалом 12 и 18 мес соответственно) обследования отделяемого из цер-

## ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Таблица 1. Типы вирусов у ВПЧ-инфицированных пациенток, включенных в исследование						
Число пациенток	Типы вирусов, выявленных у пациенток, включенных в исследование					
	16	18	31	33	45	Другие типы из группы высокого онкогенного риска
Всего (n=28)	67,9% (19)	46,4% (13)	53,6% (15)	32,1% (9)	21,4% (6)	46,4% (13)
CIN I (n=24)	62,5% (15)	50% (12)	54,2% (13)	37,5% (9)	25% (6)	45,8% (11)
Плоская кондилома (n=4)	100% (4)	25% (1)	50% (2)	0	0	50% (2)

Таблица 2. Сравнительный анализ вирусной нагрузки пациенток, включенных в исследование, до и после лечения								
Число пациенток	Средний логарифм вирусной нагрузки, lg (ДНК ВПЧ/10 <sup>5</sup> клеток)							
	до лечения			после лечения				
	значимая		повышенная	элиминация вируса	малозначимая	значимая		повышенная
	(3; 4)	[4; 5]	>5			<3	(3; 4)	
Всего (n=28)	14,3% (4)	32,1% (9)	53,6% (15)	60,7% (17)	21,5% (6)	7,1% (2)	7,1% (2)	3,6% (1)
CIN I (n=24)	16,7% (4)	19,1% (7)	54,2% (13)	58,4% (14)	20,8% (5)	8,3% (2)	8,3% (2)	4,2% (1)
Плоская кондилома (n=4)	0	50% (2)	50% (2)	75% (3)	25% (1)			

викального канала методом полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени определялись одни и те же типы вирусов и сохранялась значимая вирусная нагрузка (более 3 lg ДНК ВПЧ/10<sup>5</sup> клеток), что свидетельствовало о персистенции вирусной инфекции (табл. 1) [3]. Всем пациенткам перед включением в исследование выполнялись цитологическое исследование мазка с поверхности экто-, эндоцервикса, исследование содержимого цервикального канала на репродуктивно значимые инфекции и ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени [4], оценка биоценоза урогенитального тракта методом Фемофлор-16 (real-time), а также расширенная кольпоскопия, во время которой выполнялась прицельная биопсия шейки матки с помощью радиоволновой петли с последующим гистологическим исследованием материала. Дополнительно выполнялись ультразвуковое исследование органов малого таза, экспресс-тесты на наличие вирусных гепатитов, сифилиса и ВИЧ-инфекции, количественное определение β-ХГЧ в крови, клинические анализы крови и мочи.

С целью изучения экспрессии толл-подобных рецепторов (TLR) 4 и 9-го типа выполнено иммуноцитохимическое исследование мазков, взятых с поверхности экто-, эндоцервикса до и после лечения препаратом имихимод, по ранее отработанной методике с использованием мышинных моноклональных антител к антигенам человека (клон 76В357.1, клон 26С593.2). Постаналитическую часть иммуноцитохимического исследования проводили на микроскопе MD125 Leica (Германия), определяя частоту (%) клеток, позитивных по искомому антигену, оценивалось не менее 10 полей зрения [5].

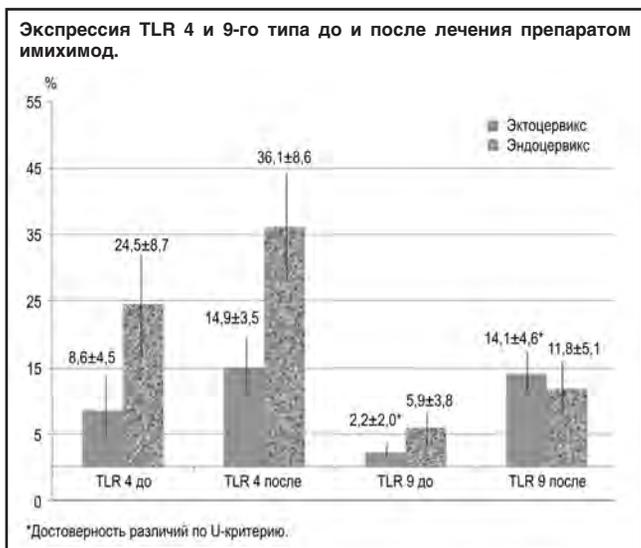
Всем пациенткам 3 раза в неделю в течение 4 нед препарат имихимод в виде 5% крема наносился на влажную порцию шейки матки. Во время каждого последующего визита оценивались общее самочувствие, температура тела, визуально оценивались слизистая влагалища и шейки матки, характер и объем выделений. Повторный забор материала из экто- и эндоцервикса для выполнения иммуноцитохимического исследования выполнялся в последний день аппликации препарата имихимод. Через 1 мес (28±7 дней) после окон-

чания лечения всем пациенткам были выполнены кольпоскопическое исследование с выполнением биопсии шейки

Таблица 3. Количество типов ВПЧ у пациенток, включенных в исследование, до и после лечения

Типы вирусов, выявленных у пациенток, включенных в исследование													
Число пациенток	до лечения						Число пациенток	после лечения					
	1 тип вируса		>1 типа вирусов			другие типы		1 тип вируса		>1 типа вирусов			другие типы
	16	18	+16	+18	+16 +18			16	18	+16	+18	+16 +18	
Всего (n=28)	7,1% (2)	3,6% (1)	32,1% (9)	14,3% (4)	28,6% (8)	14,3% (4)	Всего* (n=11)	9,1% (1)	9,1% (1)	9,1% (1)	27,3% (3)	9,1% (1)	36,4% (4)
CIN I (n=24)	8,3% (2)	4,2% (1)	25% (6)	16,7% (4)	29,1% (7)	16,7% (4)	CIN I (n=10)	10% (1)	10% (1)	10% (1)	20% (2)	10% (1)	40% (4)
Плоская кондилома (n=4)			75% (3)		25% (1)		Плоская кондилома (n=1)				100% (1)		

\*С учетом элиминации вируса у 17 пациенток.



После лечения у всех пациенток с диагнозом «дисплазия легкой степени» по результатам кольпоскопического и гистологического исследований наблюдалось полное клиническое излечение – регрессия CIN I. У 3 из 4 пациенток с субклиническими признаками ПВИ после лечения кольпоскопическая и гистологическая картина соответствовала норме. У 1 пациентки после лечения отмечено клиническое и лабораторное улучшение. В связи с этим курс имихимода продлен на 4 нед. После очередного курса лечения кольпоскопическая и гистологическая картина соответствовала норме.

В результате терапии препаратом имихимод произошло снижение вирусной нагрузки ВПЧ (табл. 2), полная элиминация вируса достигнута у 17 (60,7%) пациенток. Также по результатам лечения достигнута элиминация не менее одного типа вируса у пациенток, имеющих несколько типов вируса высокого онкогенного риска (табл. 3). Следует отметить, что элиминация 16-го типа вируса была достигнута в 80% случаев (у 12 из 15 пациенток).

В результате иммуноцитохимического исследования было показано увеличение уровней экспрессии TLR 4 и 9-го типа, причем достоверное увеличение уровней экспрессии TLR 9-го типа ( $0,005 < p < 0,01$ ) отмечено в клетках многослойного плоского эпителия шейки матки (см. рисунок).

Из нежелательных побочных эффектов (7 реакций у 5 пациенток), зарегистрированных во время лечения препаратом имихимод (табл. 4), наиболее часто отмечались гипертермия и неспецифические воспалительные заболевания (влагалища и шейки матки). Однако данные реакции не явились поводом для прекращения терапии. С целью лечения неспецифического вагинита и цервицита был назначен 7-дневный курс антибактериальной терапии защищенными пенициллинами (амоксциллин/клавулановая кислота).

### Обсуждение результатов

На сегодняшний день сведения о ПВИ находятся на этапе накопления научных знаний. Известно, что персистирующая ПВИ при наличии типов вирусов высокого онкогенного риска вызывает злокачественную трансформацию инфицированных эпителиальных клеток [1].

Высокая вероятность перехода ВПЧ-индуцированных поражений при инфицировании высокоонкогенными вирусами в предрак и рак шейки матки заставляет искать пути лечения, снижающие заболеваемость и распространение этой высококонтагиозной инфекции. ВПЧ в процессе эволюции приобрел феномен ускользания от иммунологической защиты [6]. Персистенция ВПЧ обусловлена снижением экспрессии и/или полиморфизмом генов TLR, принадлежащих к звену врожденного иммунитета, обеспечивающих распознавание вируса и презентацию антигена дендритными клетками, преобладанием Th2-иммунного ответа и блокированием продукции эндогенного интерферона [7].

Имихимод, являясь модулятором иммунного ответа, воздействует на иммунную систему посредством активации TLR на поверхности дендритных клеток и как следствие – инициирует цитокиновый каскад, в частности продукцию интерферона. В результате активации антигенпрезентирующих клеток развивается Th1-клеточный иммунный ответ, что способствует элиминации вируса [8]. В нашем ис-

Таблица 4. Нежелательные явления, зарегистрированные во время курса терапии имихимодом\*

Побочные эффекты	Количество зарегистрированных эффектов/удельный вес, n (%)
Всего эффектов	7
Всего пациенток	5 (17,6)
Гипертермия	3 (42,6)
Миалгия	1 (14,3)
Боли в нижних отделах живота	1 (14,3)
Местные реакции	2 (28,6)
Вагинит	1 (14,3)
Эндоцервицит	1 (14,3)

\*Регистрация нежелательных явлений выполнена согласно Письму Минздрава России «О неблагоприятных реакциях лекарственных средств» от 26.07.2001 №291-22/91.

матки, цитологическое исследование, определение вирусной нагрузки методом ПЦР в режиме реального времени, клинический анализ крови.

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека» и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 №266, было одобрено локальным этическим комитетом.

При проведении статистического анализа применяли пакет программ SPSS 13.0. Статистическая достоверность оценивалась по непараметрическому (U-тест Вилкоксона–Манна–Уитни) критерию.

### Результаты

В исследование включены 24 пациентки с LSIL (CIN I) и 4 – с плоской кондиломой.

следовании под воздействием препарата имихимод наблюдалось усиление экспрессии TLR 9-го типа в эпителиальных клетках как многослойного плоского эпителия, так и эпителия, полученного из канала шейки матки.

В исследовании D.Pachman и соавт. продемонстрирована элиминация онкогенных типов вируса при лечении препаратом имихимод в форме 5% крема CIN II, CIN III и клиническая регрессия дисплазии в 14,3% случаев, причем в 2 из них зарегистрирована регрессия CIN III [9]. В двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании (n=59) в результате лечения имихимодом достигнута регрессия CIN II, CIN III в 73% случаев, полный ВПЧ-клиренс произошел в 60% случаев [10].

Таким образом, имихимод как иммуномодулятор с изученными механизмами действия, относящимися к активации врожденного иммунитета и формированию адаптивного иммунного ответа, и доказанными клиническими эффектами является средством патогенетической терапии в лечении ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки.

#### Литература

1. Шейка матки, влагалище и вульва. Физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция. Руководство для практикующих врачей. Под ред. СИРозовской, ЕВЛитовой. М.: StatusPraesens, 2014.
2. Ключарева С.В., Ядыкин А.А., Киселев В.И. Проблемы лечения папилломавирусной инфекции, пути их решения. *Клин. дерматология и венерология*. 2010; 5: 38–46.

3. Куведда Д.А., Шитулина О.Ю., Минкина Г.Н. и др. Клиническая валидация количественного ВПЧ-теста «Амплиценс ВПЧ ВКР скрин-тип FL» в соответствии с международными требованиями. В сб.: *Молекулярная диагностика-2010*. Под ред. В.И.Покровского. 2010; с. 380–3.

4. Куведда Д.А., Шитулина О.Ю., Шитулин Г.А. Разработка и апробация метода количественного определения ДНК генотипов вируса папилломы человека на основе ПЦР в режиме реального времени. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2006; 4: 18–21.

5. Прошин С.Н., Глушаков Р.И., Шабанов П.Д. и др. Значение экспрессии TLR-рецепторов для выбора фармакологической коррекции патологии шейки матки и эндометрия. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011; 6 (1): 91–7.

6. Grabowska AK, Riemer AB. The invisible enemy – how human papillomaviruses avoid recognition and clearance by the host immune system. *Open Virol J* 2012; 6: 249–56.

7. Hibma MH. The immune response to papillomavirus during infection persistence and regression. *Open Virol J* 2012; 6: 241–8.

8. Hasan UA, Bates E, Takesbita F et al. TLR9 expression and function is abolished by the cervical cancer-associated human papillomavirus type 16. *J Immunol* 2007; 178 (5): 3186–97.

9. Pachman DR, Barton DL, Clayton AC et al. Randomized clinical trial of imiquimod: an adjunct to treating cervical dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206 (1): e1–7.

10. Grimm C, Polterauer S, Natter C et al. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia with topical imiquimod: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2012; 120 (1): 152–9.