

УДК 615.276, 571.27, 577.29

©Коллектив авторов

ИМИКВИМОД: БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

С.В. Бозрова^{1,2}, В.А. Левицкий^{1,3}, С.А. Недоспасов^{1,2}, М.С. Друцкая^{1,2}*

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32; тел.: +7 (499) 135-99-64; эл. почта: marinadru@gmail.com

²Кафедра иммунологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва

³Университет им. Джонса Хопкинса, Факультет онкологии; Рош Гликарт, Швейцария 8952, г. Шлиерен, Вагиштрассе, д. 18.

Имидазохинолины – новая группа лекарственных препаратов недавно вошедших в клиническую практику в качестве противоопухолевых и противовирусных иммуномодуляторов. По своей структуре этот класс низкомолекулярных синтетических молекул представляет собой производные гуанозина. Хотя имиквимод, наиболее широко используемый имидазохинолин, рекомендован для лечения различных форм рака кожи и папиллом, молекулярные механизмы его действия недостаточно полно охарактеризованы. В частности, имиквимод известен как специфический агонист Toll-like рецептора 7 (TLR7) и широко используется в этом качестве в большом числе экспериментальных исследований и клинических испытаний. Тем не менее, детальный анализ опубликованных результатов указывает на то, что его биологическую активность невозможно объяснить исключительно взаимодействием с TLR7. Имеются указания на прямое взаимодействие имиквимода как с аденозиновыми рецепторами, так и с другими молекулами, регулирующими синтез циклического аденозинмонофосфата. Детальное понимание биохимических основ иммуностимулирующего и противоопухолевого эффекта имиквимода позволит повысить его клиническую эффективность и ускорить разработку новых лекарственных препаратов со сходными, но улучшенными, фармацевтическими свойствами. В обзоре обобщены опубликованные данные, касающиеся эффектов имиквимода на различные внутриклеточные биохимические процессы и пути передачи сигнала.

Ключевые слова: имидазохинолины, имиквимод, фактор некроза опухолей, противовоспалительный препарат, cAMP.

* - адресат для переписки

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ: АПК – антиген представляющая клетка; АЦ – аденилатциклаза; ДК – дендритная клетка; ИЛ – интерлейкин; ИФН – интерферон; НК – натуральный киллер; ОФР – опиоидный фактор роста; ОФРр – рецептор опиоидного фактора роста; ПКА – протеинкиназа А; ТКР – Т-клеточный рецептор; ФДЭ – фосфодиэстераза; ФНО – фактор некроза опухолей; ЦНС – центральная нервная система; ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2; ХЦПА – хлоро-N6-циклопентиладенозин; ЯКХ – яичник китайского хомячка; АТР – аденозин трифосфат; сАМР – циклический аденозинмонофосфат; fMLP – формил-метионил-лейцил-фенилаланин; G-CSF – гранулацитарный колониестимулирующий фактор (granulocyte colony-stimulating factor); HPV – вирус папилломы человека (human papilloma virus); МПС – компартмент главного комплекса гистосовместимости II класса (MHC class II compartment); MCP – моноцитарный хемотаксический белок (monocyte chemoattractant protein); МНС – главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex); MIP 1 α , 1 β – индуцированный макрофагами белок 1 α , 1 β (macrophage induced protein 1 α , 1 β); NF κ B – ядерный фактор “каппа-би” (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells); IP-10 – интерферон индуцибельный белок 10 (interferon induced protein10); Th – Т-хелпер (T-helper); TLR – толл-подобный рецептор (Toll-like receptor).

ВВЕДЕНИЕ. Имидазохинолины – новая группа лекарственных препаратов, недавно вошедших в клиническую практику в качестве противоопухолевых и противовирусных иммуномодуляторов. По своей структуре этот класс низкомолекулярных синтетических молекул представляет собой производные гуанозина. Хотя имиқвимод, наиболее широко используемый имидазохинолин, рекомендован для лечения различных форм рака кожи и папиллом, молекулярные механизмы его действия охарактеризованы недостаточно полно. В частности, имиқвимод известен как специфический агонист толл-подобного рецептора 7 (TLR7) и широко используется в этом качестве во многих экспериментальных и клинических исследованиях. Тем не менее, детальный анализ опубликованных результатов указывает на то, что его биологическую активность невозможно объяснить исключительно взаимодействием с TLR7. Имеются указания на прямое взаимодействие имиқвимода как с аденозиновыми рецепторами, так и с другими молекулами, регулирующими синтез циклического 3',5'-аденозинмонофосфата. Понимание биохимических основ иммуностимулирующего и противоопухолевого эффекта имиқвимода позволит повысить его клиническую эффективность и ускорить разработку новых лекарственных препаратов со сходными, но улучшенными, фармацевтическими свойствами. В обзоре обобщены опубликованные данные, касающиеся эффектов имиқвимода на различные внутриклеточные биохимические процессы и пути передачи сигнала.

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ИМИДАЗОХИНОЛИНОВ

Первоначально имиқвимод был охарактеризован как противовирусный препарат по своей способности индуцировать синтез провоспалительных цитокинов, предположительно, действуя через толл-подобные рецепторы. Было показано, что имиқвимод и другие имидазохинолины взаимодействуют с TLR7, в то время как резиквимод (R848), структурный аналог имиқвимода, взаимодействует и с TLR7, и с TLR8 (рис. 1).

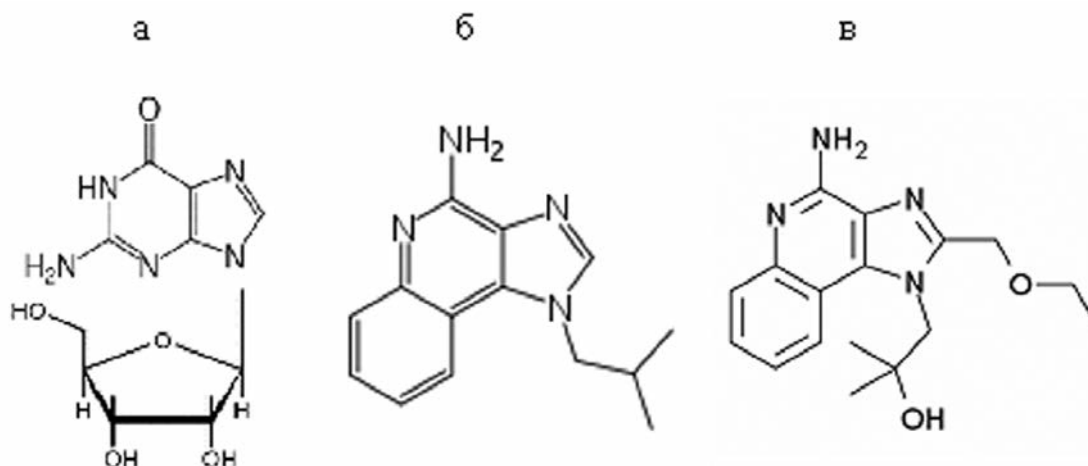


Рисунок 1.

Структурная формула гуанозина (а), имиквимода (б) и резиквимода (в).

Совсем недавно был поднят вопрос о способах проникновения имиквимода внутрь клетки [1]. Исследования на плазмацитойдных дендритных клетках (для которых TLR7 и TLR8 являются единственными экспрессируемыми молекулами из семейства TLR) показало, что имидазохинолины концентрируются в LAMP1+CD63+HLA-DR+ эндосомах. LAMP1 и CD63 представляют собой маркеры поздних эндосом и лизосом, для которых характерен кислый pH. У плазмацитойдных ДК эндолизосомальный компартмент специализирован на антигенной презентации через MHC II, поэтому можно сказать, что имиквимод локализуется в МПС компартменте. Но, так как имиквимод представляет собой слабое основание, способное к пассивной диффузии сквозь клеточную мембрану, в данной работе высказано предположение, что в начале имиквимод пассивно проникает в клетку, после чего аккумулируется в МПС компартменте, где протонируется и уже не может выйти наружу [1].

Следует отметить, что исключительность взаимодействия имиквимода с TLR7 в настоящий момент подвергается сомнению, т.к. результаты недавних исследований [2-5], свидетельствуют о возможности существования альтернативных молекулярных механизмов действия имиквимода. TLR7 – внутриклеточный рецептор, экспрессируемый в эндосомах и распознающий нуклеотиды и нуклеозиды, в том числе вирусного происхождения. В ранних работах было показано, что взаимодействие имиквимода и других имидазохинолинов с TLR7 является MyD88-зависимым [6], т.к. индукции имиквимодом или резиквимодом макрофагов из брюшной полости, дефицитных по этой адаптерной молекуле, не происходит, в то время как макрофаги дикого типа начинают экспрессировать высокий уровень провоспалительных цитокинов. Сигнальный каскад, опосредуемый MyD88, приводит к активации транскрипционного фактора NF-κB и последующей транскрипции целого ряда провоспалительных цитокинов, таких как ФНО, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН-альфа, ИФН-гамма [7]. В результате индукции провоспалительных цитокинов развивается выраженный локальный иммунный ответ, который может быть направлен в том числе против опухолевых клеток, например, при кожных меланоммах или немеланомных раковых опухолях кожи [8].

Помимо этого, эффект имиквимода, предположительно, связан с активацией антигенпрезентирующих клеток и повышенной продукцией различных лимфокинов, что приводит к более эффективной активации Т-клеток, специфически распознающих опухоль-ассоциированные или вирусные антигены [6, 9]. При этом эффект имиквимода преимущественно направлен на дендритные клетки [6, 7, 10].

В одной из работ был охарактеризован эффект имиквимода и резиквимода на плазмацитоидные дендритные клетки, основной источник интерферона при вирусной инфекции. Было показано, что ДК продуцируют интерферон-альфа и интерферон-омега в ответ на воздействие имиквимода или резиквимода. Кроме того, резиквимод, помимо индукции синтеза интерферонов, вызывает усиление синтеза и других цитокинов, в том числе ФНО и ИЛ-10, увеличение экспрессии костимуляторных молекул, CCR7, а так же повышение жизнеспособности плазмацитоидных ДК [11].

Другое исследование показало, что имиквимод способен действовать как активатор тучных клеток посредством взаимодействия с TLR7 [12]. Тучные клетки располагаются в слизистых оболочках и в коже и участвуют во врождённой линии иммунной защиты и воспалительных процессах. Тучные клетки, активированные через TLR7, стимулируют миграцию клеток Лангерганса в лимфатические узлы, усиливают цитотоксический иммунный ответ, участвуют в кожных воспалительных процессах [13]. Таким образом, была описана перспектива использования имиквимода в качестве адъюванта при подкожной вакцинации.

Параллельно, рассматривалось влияние имиквимода и некоторых других имидазохинолинов на ДК [14]. Активация имидазохинолинами TLR7 и TLR8 приводила к усилению экспрессии CD40, CD83, CD86, CCR7 и продукции ИЛ-6 и ИЛ-12p40. Однако стимуляция только TLR8 приводила к продукции ИЛ-12p70 и экспрессии ИЛ-12p35 мРНК. В данной работе было выяснено, что через активацию TLR7 и TLR8 осуществляется положительная регуляция транскрипционных факторов JNK и NF-κB с последующей экспрессией CCR7, CD86, CD83, CD40, ИЛ-6 и ИЛ-12p40. Несмотря на то, что p38MAPK участвует в положительной регуляции экспрессии указанных маркеров в ответ на TLR7-опосредуемый сигнал, эта киназа оказывает ингибиторный эффект на экспрессию CD40 и продукцию ИЛ-12 в TLR 8-опосредованном каскаде в ДК. Кроме того, было показано, что сигнальный каскад Jak/STAT участвует в положительной регуляции экспрессии CD40 через TLR7 и ингибирует экспрессию цитокинов и CD83. Таким образом, в данном исследовании было показано, что TLR7 и TLR8 активируют схожие сигнальные пути, которые оказывают различные эффекты на созревание ДК, в зависимости от того, через какой из этих рецепторов получен сигнал.

Имиквимод и резиквимод влияют на В-клетки, усиливая их пролиферацию, а так же экспрессию костимуляторных молекул и секрецию иммуноглобулинов. В работе Tomaí и соавт. было высказано предположение, что имидазохинолины служат адъювантом для усиления антиген-специфического иммунного ответа [15]. Кроме того, другое исследование показало, что воздействие имиквимодом на В-клетки периферической крови (CD19+) вызывает продукцию цитокинов ИЛ-1α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО, ИЛ-13, ИЛ-10 и хемокинов MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, IP-10, ИЛ-8 [16].

Также был описан эффект имиквимода на кератиноциты [17]. Кератиноциты располагаются в коже и играют важную роль во врождённом иммунитете, продуцируя различные хемокины, которые привлекают

лейкоциты в очаг инфицирования. Интересно, что на эндосомах кератиноцитов не экспрессируются TLR7 и TLR8 [18]. При этом, имиквимод, независимо от TLR7, стимулирует продукцию кератиноцитами цитокинов [2], возможно, через ингибирование аденилатциклазы и передачу сигнала через аденозиновые рецепторы [3].

Однако стоит отметить существующие значительные противоречия, связанные с пониманием молекулярных механизмов действия имидазохинолинов. По данным Fahey et al. имиквимод и другие лиганды к TLR7 оказывают разные эффекты на клетки Лангерганса [19]. Эти клетки представляют собой антигенпрезентирующие клетки, локализующиеся в эпителиальных тканях и инициирующие иммунный ответ, в том числе против вируса папилломы человека. Вирус HPV16 преимущественно поражает слизистую оболочку шейки матки и является основной причиной развития рака шейки матки [20]. Клетки Лангерганса экспрессируют TLR7 и TLR8 в своих эндосомах. Кроме того, эти имидазохинолины вызывают специфичный противовирусный иммунный ответ клеток Лангерганса, которые предварительно были обработаны вирусом HPV16. Имидазохинолины являются одновременно стимуляторами и адаптивного, и врождённого иммунитета. Врожденный иммунный ответ, индуцированный имидазохинолинами, вызывает активацию адаптивного иммунитета через секрецию активированными макрофагами и дендритными клетками провоспалительных цитокинов и хемокинов, в результате чего происходит запуск Th-1 опосредованного ответа. Кроме того, имидазохинолины влияют на CCR7, CCL21 направленную миграцию клеток Лангерганса в лимфоидные ткани. Интересно, что такой эффект был показан для резиквимода и 3М-002 имидазохинолина, но не для имиквимода. Некоторое время назад было показано, что имидазохинолины активируют клетки Лангерганса функционально, однако фенотипических различий между активированными и неактивированными клетками найдено не было [10]. Но позже в работе Fahey и соавт. было показано, что резиквимод все же активирует клетки Лангерганса фенотипически, что выражается в экспрессии поверхностных маркеров, экспрессии провоспалительных цитокинов и усилению направленной миграции по градиенту CCL21. Также было выяснено, что имиквимод, в отличие от резиквимода и других аналогов, оказывает совсем незначительный эффект на клетки Лангерганса. В другом исследовании было показано, что единственный значимый эффект воздействия имиквимода на клетки Лангерганса выражается в функциональной активации, заключающейся в увеличении аллостимуляторной способности клеток Лангерганса, в результате чего происходит индукция пролиферации Т-клеток [10]. Возможно, что различие в эффектах, опосредованных имиквимодом и резиквимодом, обусловлены активацией других сигнальных каскадов, предположительно, не только через толл-подобные рецепторы.

Кроме того, продемонстрирован ингибирующий эффект имиквимода через TLR8 [4]. В данном исследовании имиквимод представлен как агонист TLR8, подавляющий продукцию ФНО *in vitro* в культуре макрофагов человека и в клеточной культуре синовиальной сумки. Эти результаты могут оказаться потенциально важными при лечении ревматоидного артрита, патогенез которого зачастую обусловлен повышенной продукцией ФНО.

Имиквимод влияет и на центральную нервную систему. В астроцитах и клетках микроглии имиквимод передает ингибирующий сигнал через TLR9 [5]. Их активация ассоциирована со многими неврологическими заболеваниями, и они играют важную роль во врождённом противовирусном иммунитете ЦНС.

Астроциты происходят от предшественников нервных клеток, в то время как микроглия имеет костномозговое происхождение [21]. И те, и другие клетки экспрессируют рецепторы врожденного распознавания – TLR7 и TLR9. Исследования показали, что агонисты этих рецепторов индуцируют продукцию схожего набора цитокинов в каждом типе клеток. Но в то же время показаны существенные различия в цитокиновом профиле между астроцитами и микроглией. Так, микроглия продуцирует противовоспалительный цитокин ИЛ-10 и антиапоптотические цитокины ИЛ-9 и G-CSF, а астроциты – нет. Помимо этого, в работе было показано, что в обоих клеточных типах имиквимод ингибирует TLR9-зависимый иммунный ответ, причём данный эффект не зависит от TLR7.

Результаты исследований Schon и соавт. показали, что имиквимод взаимодействует с рецепторами аденозина и аденилатциклазой, ответственной за продукцию сАМР в клетках. Эти авторы также предположили, что имиквимод действует как антагонист этих рецепторов и ингибирует аденилатциклазу [3]. Главной целью большинства работ по исследованию имиквимода является разрешение противоречий, связанных с пониманием молекулярных механизмов действия имиквимода. В частности, результаты некоторых предварительных исследований свидетельствуют о том, что имиквимод существенно повышает уровень сАМР в различных типах клеток.

2. ПРОТИВОВИРУСНЫЙ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ИМИКВИМОДА

Впервые противовирусная активность имиквимода была показана на морских свинках [22], зараженных вирусом герпеса. По данным Hemmi и соавт. [6], высокая противовирусная активность имиквимода объясняется его способностью индуцировать продукцию интерферонов первого типа предшественниками плазмацитоидных дендритных клеток. Особенно сильно его воздействие на вирусы, чувствительные к ИФН-альфа и ИФН-бета.

Применение имиквимода наряду с его структурным аналогом резиквимодом с целью усиления локального или системного иммунного ответа было описано на нескольких экспериментальных моделях опухолей и вирусных инфекций [23]. В подавляющем большинстве работ имиквимод повышал способность иммунной системы контролировать рост опухоли или подавлять репликацию вируса. Известно, что важным компонентом противоопухолевого и противовирусного иммунитета являются НК-клетки. В связи с этим представляются интересными исследования, в которых при воздействии агонистов TLR7 на НК-клетки, происходила индукция ИЛ-18 и ИЛ-12 [24]. В данном исследовании также было показано, что при активации НК-клеток TLR7-лигандами происходит стимуляция экспрессии CD69, а при активации TLR8-лигандами – и экспрессия CD69, и секреция интерферона-гамма. Кроме того, оказалось, что при лечении базальноклеточной карциномы с помощью препарата Алдара (коммерческий препарат с 5% содержанием имиквимода, более подробно о его свойствах и использовании рассказано в разделе №8 “Клиническое применение”) усиливается инфильтрация карциномы НК-клетками [25], а при лечении актинического кератоза происходит усиление НК-клеточной активности в области кожного повреждения, обрабатываемого Алдарой. Предположительно, противовирусная функция имиквимода обусловлена его апоптотической активностью в отношении инфицированных клеток [26], которая была показана на кератиноцитах и других эпителиальных клетках человека.

Таблица. Различные эффекты действия имиквимода на клетки.

Клетки, на которые производится воздействие	Рецепторы и молекулы, посредством которых сигнал имиквимода передается в клетку	Предупредимые цитокины	Эффект действия имиквимода	Возможный медицинский эффект
макрофаги мышей	активирование TLR7, MyD88-опосредованный сигнал, активация транскрипционного фактора NF- κ B	ФНО, ИЛ-2, ИЛ-6, Ил-12, ИФН-гамма, ИФН-альфа	сильный воспалительный иммунный ответ	усиление ответа против опухолевых клеток
антигенпрезентирующие клетки (в основном дендритные клетки)			повышение продукции лимфокинов, более эффективная активация Т-клеток, усиление распознавания опухолевых-ассоциированных и вирусных антигенов	усиление противоопухолевого и противовирусного иммунитета
позематропические дендритные клетки		ИФН-альфа, ИФН-омега, ФНО-альфа, IP-10, костимуляторные молекулы, CCR7	повышение жизнеспособности пазематропических ДК, экспрессия различных молекул	усиление противовирусного иммунитета
тучные клетки	активирование TLR7		стимуляция миграции клеток Ланггеранса в лимфоузлы, усиление цитокинового ответа, участие в кожных воспалительных процессах	возможно использование имиквимода в качестве адъюванта при подкожной вакцинации
В-клетки			усиление пролиферации В-клеток, экспрессия костимуляторных молекул, секреция иммуноглобулинов	имиквимод как адъювант для усиления антиген-специфического иммунного ответа

Таблица. Различные эффекты действия имиквимода на клетки (продолжение).

Клетки, на которые происходит воздействие	Рецепторы и молекулы, посредством которых сигнал имиквимода передается в клетку	Продукцируемые цитокины	Эффект действия имиквимода	Возможный иммунологический эффект
В-клетки периферического кровяного течения (CD19+)		ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13, ФНО, ИЛ-8, МР-1-альфа, МР-1-бета, IP-10	усиление экспрессии цитокинов и хемокинов	
клетки дендритные	активация рецепторов, аденоциклоза		усиление продукции различных хемокинов, привлечение лейкоцитов в очаг инфицирования	усиление функций врожденного иммунитета
макрофаги, клетки дендритные, клетки Т-клетки, клетки Т-клетки	ингибирование TLR3		подавление продукции ФНО	лечение ревматоидного артрита
макрофаги, дендритные клетки	ингибирование TLR9	ИЛ-9, ИЛ-10, G-CSF (гранулоциты) и др. цитокины	усиление продукции цитокинов	регуляция врожденного противовирусного иммунитета ЦНС
Т-клетки	активирование TLR7	стимуляция экспрессии CD69	усиление миграции НК-клеток в опухоли	усиление противоопухолевого иммунитета

В другом исследовании показали, что имиквимод обладает способностью к положительной регуляции рецептора опиоидного фактора роста (ОФРр), в результате чего происходит активация сигнального каскада ОФР-ОФРр [27], который передает ингибирующий сигнал пролиферирующим клеткам через циклин-зависимые киназы, в результате чего происходит задержка клеток в G1-S стадии клеточного цикла. Таким образом, имиквимод угнетает репликацию раковых клеток, что может быть одним из возможных механизмов противоопухолевого эффекта.

Благодаря способности крема Алдары индуцировать локальное воспаление, в настоящее время он широко используется в мышинной модели псориаза [54-56] для исследования клеточных и молекулярных механизмов этого заболевания и определения мишеней для его лечения.

Все вышеописанные эффекты имиквимода на различные типы клеток представлены в таблице.

3. ДРУГИЕ ЭФФЕКТЫ АНАЛОГОВ ИМИКВИМОДА

Между метаболизмом липидных медиаторов и активацией TLR8 существует взаимосвязь. Имидазохинолин, резиквимод R-848, при последующем воздействии тромбоцитарного фактора роста (или других веществ, таких как fMLP, A23187) усиливал образование лейкотриена B₄, высвобождение арахидоновой кислоты и синтез простагландина E₂ в полиморфонуклеарных лейкоцитах [28]. Они обладают полным спектром рецепторов врождённого распознавания за исключением TLR3, первыми мигрируют в очаг воспаления и играют важную роль во врождённом иммунитете. При этом было показано, что TLR7 практически не экспрессируется в полиморфонуклеарных лейкоцитах [28]. Таким образом, было продемонстрировано, что активаторы TLR8 играют важную роль в метаболизме липидных медиаторов, участвующих во врождённом иммунном ответе на вирусные инфекции.

В другом исследовании было показано, что резиквимод R-848, а также два других имидазохинолина, 3М-003 и 3М-002 (как и одноцепочечная вирусная ДНК), являются сильными индукторами экспрессии ФНО и ИЛ-12 в антигенпрезентирующих клетках [29]. Агонисты TLR8 индуцируют экспрессию костимуляторной молекулы CD40 на миелоидных дендритных клетках, что, в свою очередь, вызывает фосфорилирование p38 MAP-киназы и деградацию IκB. В соответствии с полученными результатами, в данном исследовании сделан вывод об уникальных свойствах агонистов TLR8 в качестве активаторов костимуляторных ответов АПК и было высказано предположение об их возможном использовании в качестве усилителей иммунного ответа.

4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИМИКВИМОДА С АДЕНОЗИНОВЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Как уже было сказано выше, в значительной степени активность имиквимода обусловлена TLR-зависимым каскадом, в результате которого происходит экспрессия провоспалительных цитокинов [7], что в конечном итоге приводит к стимуляции противоопухолевого иммунного ответа. Эти наблюдения подтвердились на различных видах опухолей, например, на меланомах и немеланомных раках кожи [8]. Тем не менее, биологическая активность имиквимода зависит и обусловлена функционированием других механизмов, таких как индукция провоспалительных цитокинов под воздействием этого соединения наблюдалась и в клетках, лишённых TLR7 [3]. Исходя из сходства химической структуры имиквимода и нуклеозидов, была высказана гипотеза, что в реализации эффектов имиквимода участвуют аденозиновые рецепторы человека. Было показано, что аденозиновые

рецепторы человека A3 и особенно A1 и A2a проявляют сродство к имиквимоду [3]. Для того, чтобы определить, является имиквимод агонистом или антагонистом аденорецепторов, были проведены исследования влияния имиквимода на активность аденилатциклазы. Для этого использовали клетки из яичников китайского хомячка (ЯКХ) с интегрированными в них ДНК генами рецепторов A1, A2a или A3. Было выяснено, что имиквимод не ингибирует активированную форсколином аденилатциклазу в клетках ЯКХ, экспрессирующих рецептор аденозина A1, в то время как специфический ингибитор аденилатциклазы 2-хлоро-N6-циклопентиладенозин (ХЦПА) угнетает работу фермента на 40%. Хотя имиквимод имеет практически незначительное действие на форсколин-стимулированную аденилатциклазу, все же он слегка усиливает ингибирование, вызванное ХЦПА. [3]. Исходя из этого, можно предположить, что имиквимод осуществляет рецептор-независимое ингибирование аденилатциклазы.

В ЯКХ с A2a рецептором имиквимод не стимулировал активность аденилатциклазы, и, соответственно, он не является агонистом рецептора A2a [3].

Он ингибировал активность индуцированной агонистом CGS21680 аденилатциклазы примерно на 20%, вследствие чего можно предположить, что он является антагонистом A2a рецептора. Также имиквимод угнетал активность форсколин-индуцированной аденилатциклазы, что подтверждает гипотезу об рецептор-независимом ингибировании аденилатциклазы имиквимодом.

Для рецептора A3 было выяснено, что имиквимод ингибирует активность индуцированной форсколином аденилатциклазы на 20%, в то время как агонист рецептора A3 ингибировал активность на 43%. Судя по полученным результатам, логично предположить, что имиквимод является рецептор-независимым ингибитором аденилатциклазы.

Так как ни в одном из проделанных опытов не было зафиксировано агонистической активности имиквимода в ЯКХ, было предположено, что имиквимод работает как антагонист всех трёх видов рецепторов. [3]. Кроме того, как уже было сказано выше, была высказана гипотеза, что имиквимод может уменьшать продукцию сАМР путём ингибирования активности аденилатциклазы, независимо от аденозиновых рецепторов.

Новая потенциальная модель действия имиквимода предполагает индукцию провоспалительных медиаторов, опосредуемую аденозиновыми рецепторами. Было показано, что и активация NF-κB, и экспрессия провоспалительных цитокинов, были в одинаковой степени стимулированы и имиквимодом, и ФНО, и антагонистом A2a рецептора [3]. Судя по этим результатам, можно предположить, что индукция синтеза провоспалительных цитокинов в TLR7 и TLR8 негативных клетках (клетки кератиноцитозного происхождения) с помощью имиквимода происходит через аденозиновый рецептор A2a (в этих клетках рецепторы A1 и A3 отсутствуют) [3]. В последующих исследованиях было показано, что имиквимод обладает проапоптотической активностью, в то время как ни один из специфических лигандов аденозинового рецептора такой активностью не обладает [3]. Интересно, что при индукции транскрипционного фактора NF-κB и провоспалительных цитокинов использовались слишком низкие для индукции апоптоза концентрации имиквимода, кроме того, инкубация клеток с имиквимодом и другими лигандами аденозиновых рецепторов никак не повлияла на проапоптотическую активность имиквимода. Из этого можно сделать вывод, что проапоптотическая активность имиквимода не зависит от присутствия аденозиновых рецепторов. Схематично всё вышеописанное отражено на рисунке 2.

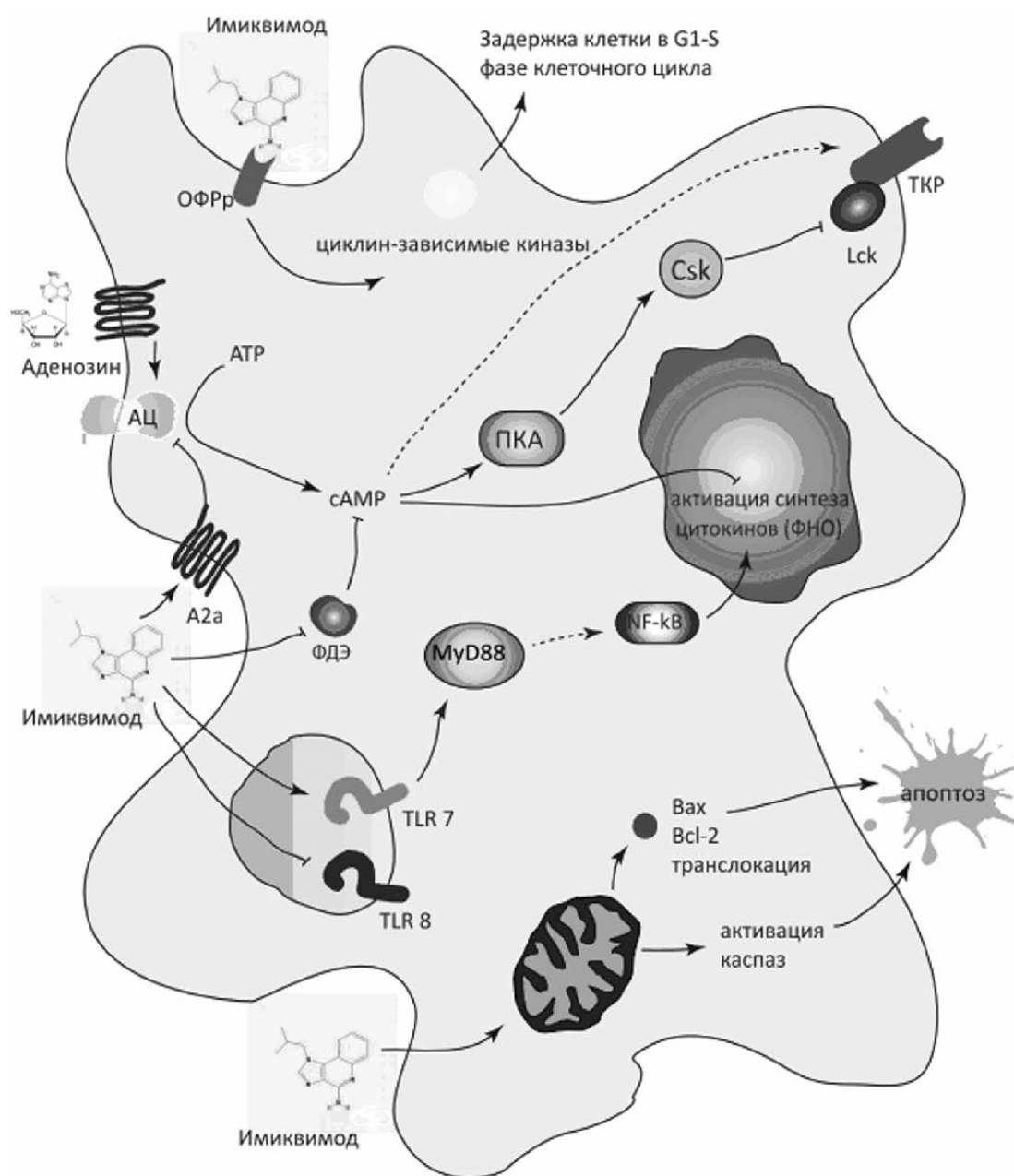


Рисунок 2.

Обобщение возможных механизмов действия имиквимода.

На рисунке представлены описанные на данный момент механизмы действия имиквимода.

С одной стороны, имиквимод является агонистом TLR7, при воздействии на который запускается MyD88/NF-κB каскад, что в конечном итоге приводит к активации транскрипции провоспалительных цитокинов. С другой стороны, описана антагонистическая активность имиквимода относительно TLR8, что приводит к понижению транскрипции провоспалительных цитокинов. Помимо способности связываться с различными TLR, имиквимод может взаимодействовать с аденозиновым рецептором A2a, блокируя при этом работу аденилатциклазы. В результате такого взаимодействия снижается уровень cAMP, вследствие чего повышается уровень экспрессии провоспалительных цитокинов. Кроме того, посредством снижения уровня cAMP в клетке имиквимод может модулировать активность Т-клеточного рецептора и ассоциированных с ним молекул. Так же имиквимод вызывает рецептор-независимый апоптоз и может воздействовать на клеточный цикл путём взаимодействия с рецептором опиоидного фактора роста.

Таким образом, в исследованиях Schon, M.P. и Schon, M. было показано, что имиквимод связывается с аденозинным рецептором с микромолярной аффинностью, при этом являясь антагонистом рецептора A2a, так как ни разу не было зафиксировано агонистической активности имиквимода [3]. Кроме того, он вызывает рецептор-независимое ингибирование аденилатциклазы.

5. РОЛЬ A2A-РЕЦЕПТОРА В ВОСПАЛЕНИИ

Известно, что воспаление поврежденных тканей сопровождается скоплением в воспаленных областях внеклеточного аденозина, секретируемого некоторыми типами клеток в межклеточное пространство [30]. Внеклеточный аденозин вызывает активацию аденозинового A2a рецептора и образование внутриклеточного сАМР. Так же в некоторых исследованиях было показано, что A2a-рецептор имеет ключевую роль в регуляции острого воспаления [31]. Связывание внеклеточного аденозина с A2a-рецептором ведет к активации аденилатциклазы и к образованию сАМР, что приводит к иммуносупрессии. Связывание антагониста аденозинрецептора имиквимода с A2a ведёт к снижению активности аденилатциклазы. Этот эффект может быть усилен рецептор-независимым ингибированием аденилатциклазы.

6. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ сАМР

Согласно современным представлениям, продукция сАМР представляет собой конвергирующую точку некоторых механизмов иммуносупрессии [32, 33]. Предположительно, регуляторные CD4+ Т-клетки осуществляют свою ингибиторную функцию, осуществляя перенос внутриклеточного сАМР нерегуляторным Т-клеткам путем контактных взаимодействий [34]. Более того, увеличение уровня аденозина при гипоксии и клеточная гибель в области роста опухоли могут угнетать пролиферацию и активацию лимфоцитов, инфильтрующих опухоль [35] с помощью сигналинга через аденозиновый рецептор A2a на поверхности Т-клеток, который индуцирует активацию аденилатциклазы [36]. Внутриклеточный сАМР является активатором протеинкиназы А (ПКА), которая, в свою очередь, активирует СООН-терминальную Src-киназу (Csk) [35]. Csk блокирует преобразование сигнала от ТКР через конститутивное фосфорилирование ингибиторного конца Y505 проксимальной ТКР-активирующейся Lck киназы [37]. Эта модель согласуется с противовоспалительными эффектами сАМР, которые показаны в некоторых других клеточных системах [38, 39] и предположением, что ингибирование продукции сАМР должно усиливать Т-клеточный иммунитет. Однако результаты некоторых недавних исследований показали, что продукция сАМР может так же стимулировать Т-клеточный ответ [40].

7. сАМР КАК РЕГУЛЯТОР ПРОДУКЦИИ ФНО

Известно, что сАМР является негативным регулятором продукции ФНО, и при этом обладает иммунорегуляторными свойствами [33, 41]. В связи с этим, имиквимод представляет интерес как препарат, блокирующий действие ФНО, например, при септическом шоке, в развитии которого ФНО играет ключевую патогенную роль. Известно, что гиперпродукция ФНО оказывает важный патологический эффект при многих воспалительных заболеваниях [42], включая болезнь Крона [43], ревматоидный артрит [44], рассеянный склероз [45]. При воспалительном повреждении повышение уровня ФНО в тканевом микроокружении одновременно вызывает два процесса, с противоположным физиологическим эффектом: один – внеклеточный умножающий, в результате которого образуется ещё большее количество ФНО, второй – ослабляющий, ведущий к уменьшению продукции ФНО. Оба эти цикла конвергируют вокруг сАМР.

В умножающем цикле действие ФНО приводит к подавлению синтеза сАМР [46]. ФНО вызывает усиление активности внутриклеточной фосфодиэстеразы [46], которая осуществляет катаболизм сАМР. В результате усиления активности фосфодиэстеразы происходит снижение уровня сАМР, которое ведёт к усилению продукции ФНО (рис. 3).

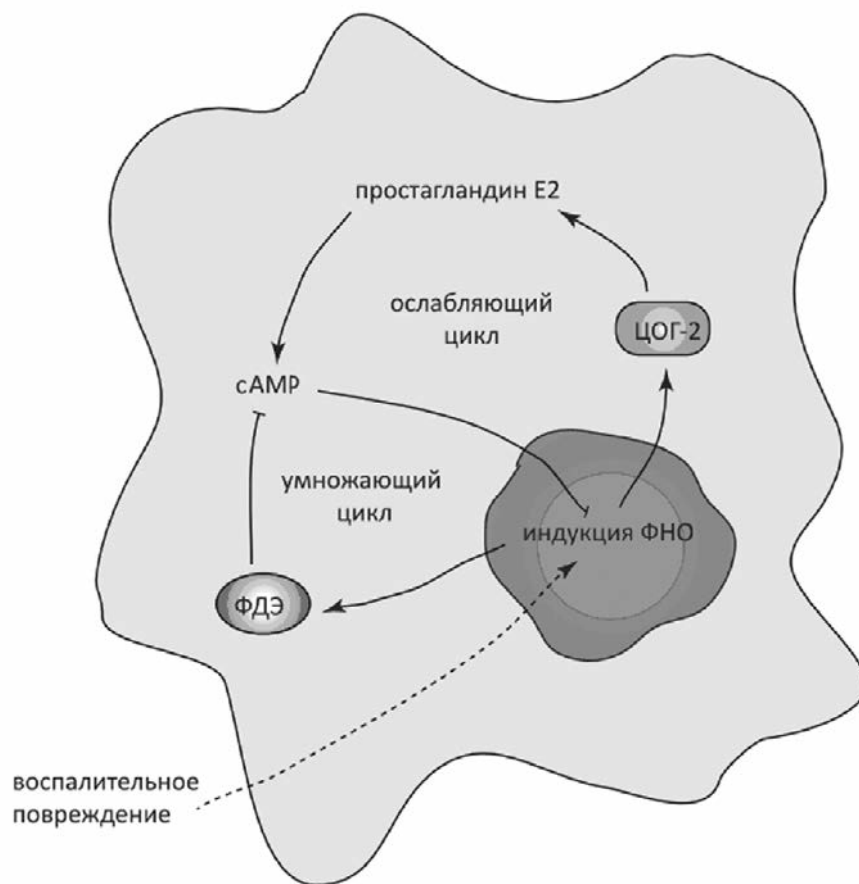


Рисунок 3.

Механизмы взаимодействия ФНО и сАМР при воспалительном повреждении.

На рисунке приведены два возможных механизма взаимодействия ФНО и сАМР.

В одном случае повышение уровня ФНО в результате воспалительного повреждения приводит к повышенной экспрессии циклооксигеназы-2, что в свою очередь ведёт к усилению продукции простагландина Е, и, как следствие, к усилению синтеза сАМР. В результате этого процесса образуется так называемый ослабляющий цикл, в ходе которого уровень экспрессии ФНО в клетке снижается благодаря повышению синтеза сАМР.

В другом случае ФНО вызывает усиление активности фосфодиэстеразы, что приводит к снижению количества сАМР в клетке, и образованию "умножающего" цикла, в результате которого экспрессия ФНО повышается.

В ослабляющем цикле повышение уровня ФНО приводит к индукции циклооксигеназы-2. Циклооксигеназа-2 катализирует лимитирующую стадию в образовании простагландина Н – интермедиата, из которого происходит синтез всех остальных простагландинов, в том числе усиление синтеза простагландина Е [47]. Повышение концентрации простагландина Е ведёт к снижению экспрессии ФНО через усиление синтеза сАМР (рис. 3) [48].

В связи с вышеописанными противоречиями необходимо исследовать вопрос о возможной роли имиквимода в подавлении продукции ФНО при патофизиологических состояниях и защитном эффекте при острой печёночной недостаточности и бактериальном септическом шоке в различных экспериментальных моделях.

8. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Известно, что имидазохинолины являются новой группой лекарственных препаратов недавно внедрённых в клиническую практику в качестве противоопухолевых и противовирусных иммуномодуляторов. Имиквимод, наиболее широко используемый имидазохинолин при лечении различных форм рака кожи и других кожных заболеваний, например, папиллом и наружных генитальных бородавок [49]. Кроме того, имиквимод обладает выраженной активностью против некоторых вирусов, например, против вируса папилломы человека (HPV) [50]. Препарат прошел клинические испытания и рекомендован Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (США, FDA №020723) для использования в форме мази для лечения рака кожи и папиллом под коммерческим названием – Алдара [51].

Алдара представляет собой крем для местного применения, содержащий 5% активного вещества – имиквимода. В клинике он успешно используется для лечения таких заболеваний, как актинический кератоз, наружные генитальные бородавки, наружная базальноклеточная карцинома, а также при некоторых других кожных заболеваниях. Пациенты в большинстве случаев хорошо переносят препарат, но иногда возникают местные кожные реакции, такие как кожный зуд, ожоги, папулы, местная эритема и кровотечение, сыпь, парестезия. Реже возникает гиперпигментация или гипопигментация, местное облысение (алопеция). В некоторых случаях описаны систематические побочные реакции. Кроме того, в некоторых случаях наблюдались сильные гриппоподобные симптомы [52], а так же обострение основных иммунологических симптомов, таких как псориаз, экзема, спондилоартропатия [53]. Однако все систематические эффекты имиквимода у людей встречаются довольно редко. В целом, лечение заболеваний кожи, вызванных УФ-повреждением или папилломавирусом, с помощью имиквимода является хорошей альтернативой хирургическому вмешательству [50] для многих пациентов.

В настоящее время начали появляться работы, описывающие потенциальное действие имиквимода не только на различные формы рака кожи, но и на онкологические заболевания других органов. Например, в статье Kauffman и соавт. показано, что при обработке почечно-клеточной карциномы имиквимодом увеличивалась локальная продукция провоспалительных цитокинов в опухоли и инфильтрация её Т-лимфоцитами, а также наблюдалась значительная супрессия роста опухоли [57].

В некоторых работах описывается эффективность применения имиквимода против респираторных заболеваний [58, 59]. Бронхиальная астма часто сопровождается хроническим воспалением, гиперчувствительностью и деформацией дыхательных путей. Имиквимод существенно уменьшает хроническое воспаление, гиперчувствительность и деформацию дыхательных путей в экспериментальной модели астмы у мышей [59]. Такой же подход может быть использован и при лечении вирусных респираторных инфекций, приводящих к повреждению лёгких [58]. Вирусные респираторные заболевания часто возникают у страдающих астмой. Как уже было сказано, в противовирусном иммунном ответе важную роль

играет TLR7 рецептор. Было показано, что самый высокий уровень экспрессии TLR7 наблюдается в лёгких [60]. Также известно, что астма ассоциирована с полиморфизмом TLR7, хотя функциональная роль этого полиморфизма не ясна. Имиквимод способен вызвать расширение бронхов через два механизма: TLR7-зависимый и TLR7-независимый. При этом известно, что в TLR7-зависимом механизме участвует окись азота, а в TLR7-независимом простагландины и кальциеактивируемые калиевые каналы. Это очень важно, так как TLR7 является терапевтической мишенью в лечении вирусных респираторных заболеваний.

Несмотря на неоспоримый успех этого препарата в клинике, молекулярный механизм действия имиквимода остается малопонятным. Этот вопрос представляется чрезвычайно важным в свете широкого применения этого препарата в клинике, а также во избежание или предотвращение возможных побочных эффектов, связанных с его применением. Понимание молекулярных механизмов действия и сигнальных каскадов опосредуемых имиквимодом должно позволить целенаправленно применять его для лечения различных патологий и в будущем разработать более эффективные препараты со сходным механизмом действия. Таким образом, имиквимод является перспективным препаратом с точки зрения терапии многих заболеваний, однако для его эффективного применения необходимо более глубокое понимание его механизмов действия и молекулярных мишеней, а так же биохимических процессов, вызываемых имиквимодом.

Работа коллектива авторов осуществляется при поддержке программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (Договор №14.740.11.0931 от 29.04.2011), Российского фонда фундаментальных исследований (11-04-91320), гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (Соглашение № 2701.2012.4) и программы МКБ РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Russo C., Cornella-Taracido I., Galli-Stampino L., Jain R., Harrington E., Isome Y., Tavarini S., Sammiceli C., Nuti S., Mbow M.L., Valiante N.M., Tallarico J., De Gregorio E., Soldaini E. (2011) *Blood*, **117**, 5683-5691.
2. Schon M.P., Schon M. (2007) *Br. J. Dermatol.*, **157 Suppl 2**, 8-13.
3. Schon M.P., Schon M., Klotz K.N. (2006) *J. Invest. Dermatol.*, **126**, 1338-1347.
4. Sacre S.M., Lo A., Gregory B., Simmonds R.E., Williams L., Feldmann M., Brennan F.M., Foxwell B.M. (2008) *J. Immunol.*, **181**, 8002-8009.
5. Butchi N.B., Du M., Peterson K.E. (2010) *Glia*, **58**, 650-664.
6. Hemmi H., Kaisho T., Takeuchi O., Sato S., Sanjo H., Hoshino K., Horiuchi T., Tomizawa H., Takeda K., Akira S. (2002) *Nat. Immunol.*, **3**, 196-200.
7. Reiter M.J., Testerman T.L., Miller R.L., Weeks C.E., Tomai M.A. (1994) *J. Leukoc. Biol.*, **55**, 234-240.
8. Beutner K.R., Geisse J.K., Helman D., Fox T.L., Ginkel A., Owens M.L. (1999) *J. Am. Acad. Dermatol.*, **41**, 1002-1007.
9. Gaspari A.A. (2007) *Cutis*, **79**, 36-45.
10. Burns R.P. Jr., Ferbel B., Tomai M., Miller R., Gaspari A.A. (2000) *Clin. Immunol.*, **94**, 13-23.

11. Gibson S.J., Lindh J.M., Riter T.R., Gleason R.M., Rogers L.M., Fuller A.E., Oesterich J.L., Gorden K.B., Qiu X., McKane S.W., Noelle R.J., Miller R.L., Kedl R.M., Fitzgerald-Bocarsly P., Tomai M.A., Vasilakos J.P. (2002) *Cell Immunol.*, **218**, 74-86.
12. Heib V., Becker M., Warger T., Rechtsteiner G., Tertilt C., Klein M., Bopp T., Taube C., Schild H., Schmitt E., Stassen M. (2007) *Blood*, **110**, 946-953.
13. Rechtsteiner G., Warger T., Osterloh P., Schild H., Radsak M.P. (2005) *J. Immunol.*, **174**, 2476-2480.
14. Larange A., Antonios D., Pallardy M., Kerdine-Romer S. (2009) *J. Leukoc. Biol.*, **85**, 673-683.
15. Tomai M.A., Imbertson L.M., Stanczak T.L., Tygrett L.T., Waldschmidt T.J. (2000) *Cell Immunol.*, **203**, 55-65.
16. Agrawal S., Gupta S. (2011) *J. Clin. Immunol.*, **31**, 89-98.
17. Olaru F., Jensen L.E. (2010) *Exp. Dermatol.*, **19**, e314-316.
18. Lebre M.C., van der Aar A.M., van Baarsen L., van Capel T.M., Schuitemaker J.H., Kapsenberg M.L. and de Jong E.C. (2007) *J. Invest. Dermatol.*, **127**, 331-341.
19. Fahey L.M., Raff A.B., Da Silva D.M., Kast W.M. (2009) *J. Immunol.*, **182**, 2919-2928.
20. Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M., Bosch F.X., Kummer J.A., Shah K.V., Snijders P.J., Peto J., Meijer C.J., Munoz N. (1999) *J. Pathol.*, **189**, 12-19.
21. Asensio V.C., Campbell I.L. (1997) *J. Virol.*, **71**, 7832-7840.
22. Miller R.L., Gerster J.F., Owens M.L., Slade H.B., Tomai M.A. (1999) *Int. J. Immunopharmacol.*, **21**, 1-14.
23. Ganjian S., Ourian A.J., Shamtoob G., Wu J.J., Murase J.E. (2009) *Dermatol. Online J.*, **15**, 4.
24. Gorski K.S., Waller E.L., Bjornton-Severson J., Hanten J.A., Riter C.L., Kieper W.C., Gorden K.B., Miller J.S., Vasilakos J.P., Tomai M.A., Alkan S.S. (2006) *Int. Immunol.*, **18**, 1115-1126.
25. Sullivan T.P., Dearaujo T., Vincek V., Berman B. (2003) *Dermatol. Surg.*, **29**, 1181-1186.
26. Meyer T., Nindl I., Schmook T., Ulrich C., Sterry W., Stockfleth E. (2003) *Br. J. Dermatol.*, **149 Suppl 66**, 9-14.
27. Zagon I.S., Donahue R.N., Rogosnitzky M., McLaughlin P.J. (2008) *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **233**, 968-979.
28. Hayashi F., Means T.K., Luster A.D. (2003) *Blood*, **102**, 2660-2669.
29. Levy O., Suter E.E., Miller R.L., Wessels M.R. (2006) *Blood*, **108**, 1284-1290.
30. Linden J. (2001) *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **41**, 775-787.
31. Ohta A., Sitkovsky M. (2001) *Nature*, **414**, 916-920.
32. Whiteside T.L., Mandapathil M., Schuler P. (2011) *Curr. Med. Chem.*, **18**, 5217-5223.
33. Klein M., Vaeth M., Scheel T., Grabbe S., Baumgrass R., Berberich-Siebelt F., Bopp T., Schmitt E., Becker C. (2012) *J. Immunol.*, **188**, 1091-1097.
34. Bopp T., Jonuleit H., Schmitt E. (2007) *Ann. Med.*, **39**, 322-334.
35. Huang S., Apasov S., Koshiba M., Sitkovsky M. (1997) *Blood*, **90**, 1600-1610.
36. Koshiba M., Kojima H., Huang S., Apasov S., Sitkovsky M.V. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 25881-25889.
37. Tasken K., Stokka A.J. (2006) *Biochem. Soc. Trans.*, **34**, 476-479.
38. Borland G., Smith B.O., Yarwood S.J. (2009) *Br. J. Pharmacol.*, **158**, 70-86.
39. Vang T., Torgersen K.M., Sundvold V., Saxena M., Levy F.O., Skallehegg B.S., Hansson V., Mustelin T., Tasken K. (2001) *J. Exp. Med.*, **193**, 497-507.

40. Conche C., Boulla G., Trautmann A., Randriamampita C. (2009) *Immunity*, **30**, 33-43.
41. Montilla Morales C., Gomez-Castro S., Sanchez M., Lopez R., Hidalgo C., Del Pino-Montes J. (2012) *Reumatol. Clin.*, **8 Suppl 1**, S15-19.
42. Kast R.E. (2000) *Int. J. Immunopharmacol.*, **22**, 1001-1006.
43. Fiers W. (1991) *FEBS Lett*, **285**, 199-212.
44. van den Berg W.B. (1998) *Springer Semin. Immunopathol.*, **20**, 149-164.
45. van Oosten B.W., Barkhof F., Scholten P.E., von Blomberg B.M., Ader H.J., Polman C.H. (1998) *Arch. Neurol.*, **55**, 793-798.
46. Koga S., Morris S., Ogawa S., Liao H., Bilezikian J.P., Chen G., Thompson W.J., Ashikaga T., Brett J., Stern D.M. et al. (1995) *Am. J. Physiol.*, **268**, C1104-1113.
47. Yucel-Lindberg T., Nilsson S., Modeer T. (1999) *J. Dent. Res.*, **78**, 61-68.
48. Seldon P.M., Barnes P.J., Giembycz M.A. (1998) *Cell Biochem. Biophys.*, **29**, 179-201.
49. Novak N., Yu C.F., Bieber T., Allam J.P. (2008) *Drug News Perspect.*, **21**, 158-165.
50. Wagstaff A.J., Perry C.M. (2007) *Drugs*, **67**, 2187-2210.
51. Mahto M., Nathan M., O'Mahony C. (2010) *Int. J. STD AIDS*, **21**, 8-16.
52. Hanger C., Dalrymple J., Hepburn D. (2005) *N.-Z. Med. J.*, **118**, U1682.
53. Benson E. (2004) *Australas. J. Dermatol.*, **45**, 123-124.
54. Pantelyushin S., Haak S., Ingold B., Kulig P., Heppner F.L., Navarini A.A., Becher B. (2012) *J. Clin. Invest.*, **122**, 2252-2256.
55. van der Fits L., Mourits S., Voerman J.S., Kant M., Boon L., Laman J.D., Cornelissen F., Mus A.M., Florencia E., Prens E.P., Lubberts E. (2009) *J. Immunol.*, **182**, 5836-5845.
56. Van Belle A.B., de Heusch M., Lemaire M.M., Hendrickx E., Warnier G., Dunussi-Joannopoulos K., Fouser L.A., Renauld J.C., Dumoutier L. (2012) *J. Immunol.*, **188**, 462-469.
57. Kauffman E.C., Liu H., Schwartz M.J., Scherr D.S. (2012) *J. Oncol.*, **2012**, 103-298.
58. Kaufman E.H., Fryer A.D., Jacoby D.B. (2011) *J. Allergy Clin. Immunol.*, **127**, 462-469.
59. Du Q., Zhou L.F., Chen Z., Gu X.Y., Huang M., Yin K.S. (2009) *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.*, **36**, 43-48.
60. Chuang T.H., Ulevitch R.J. (2000) *Eur. Cytokine Netw.*, **11**, 372-378.

Поступила: 28. 05. 2012.

**IMIQUIMOD: THE BIOCHEMICAL MECHANISMS OF IMMUNOMODULATORY
AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY**

S.V. Bozrova^{1,2}, V.A. Levitsky^{1,3}, S.A. Nedospasov^{1,2}, M.S. Drutskaya^{1,2}

¹Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, ul. Vavilova, 32, GSP-1, Moscow, 119991 Russia;
tel.: +7 (499) 135-99-64; e-mail: marinadru@gmail.com

²Department of Immunology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia

³Oncology Department Johns Hopkins University School of Medicine; Roche Glycart,
Switzerland 8952, Schlieren, Wagistrasse 18

Imidazoquinolins represent a new group of compounds that recently entered into clinical practice as anti-tumor and anti-viral immune modulators. They are low molecular weight synthetic guanosine-like molecules. Although imiquimod, the most widely used imidazoquinolin, is recommended for the treatment of several forms of skin cancer and papillomas, the molecular mechanisms of its action are not fully understood. In particular, imiquimod has been characterized as a specific agonist of Toll-like receptor 7 (TLR7) and is widely used in this capacity in a large number of experimental studies and clinical trials. However, detailed analysis of the published data with the use of imiquimod, suggests that its biological activity can not be explained only by interaction with TLR7. There are indications of a direct interaction of imiquimod with adenosine receptors and other molecules that regulate the synthesis of cyclic adenosine monophosphate. A detailed understanding of the biochemical basis of imiquimod immunomodulating and antitumor effect will increase its clinical effectiveness and accelerate the development of new drugs with similar but improved medical properties. This review summarizes the published data concerning the effects of imiquimod on a variety of intracellular biochemical processes and signaling pathways.

Key words: Imidazoquinolins, imiquimod, tumor necrosis factor, anti-inflammatory drug, cAMP.