

НИИ онкологии  
им. проф. Н.Н. Петрова  
Минздрава РФ,  
Санкт-Петербург

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

К.П. Хансон, чл.-кор. РАМН, проф.,  
Е.Н. Имянитов, д-р мед. наук

*Папилломавирусы человека (human papillomaviruses, HPV) составляют своеобразную группу ДНК-содержащих вирусов, характеризующихся тропизмом к эпителию и вызывающих субклинические формы инфекции, которая, однако, может приводить к такому серьезному последствию, как рак шейки матки (РШМ) [1, 12]. Поэтому неслучайно одним из важнейших достижений в изучении этиологии рака принято считать установление факта причинной связи между HPV-инфекцией и РШМ [12].*

Папилломавирусы человека (human papillomaviruses, HPV) составляют своеобразную группу ДНК-содержащих вирусов, характеризующихся тропизмом к эпителию и вызывающих субклинические формы инфекции, которая, однако, может приводить к такому серьезному последствию, как рак шейки матки (РШМ) [1, 12]. Поэтому неслучайно одним из важнейших достижений в изучении этиологии рака принято считать установление факта причинной связи между HPV-инфекцией и РШМ [12]. Это открытие по своей значимости находится в одном ряду с обнаружением роли табакокурения при раке легкого, а также роли хронической вирусной инфекции при гепатитах В (HBV) и С (HCV) в этиологии первичного рака печени. Как и в отношении заболеваний, обусловленных HBV и HCV, предпринимаются серьезные усилия, направленные на поиск новых методов диагностики HPV и создание эффективных профилактических и лечебных вакцин против данной группы вирусов [14].

В настоящее время в мире ежегодно регистрируется до 500 000 новых случаев РШМ. Большинство из них приходится на развивающиеся страны, тем не менее, РШМ остается серьезной проблемой и для индустриально развитых стран. Так, например, в Англии выявляется 13,7 случаев РШМ на 100 000 женщин, причем 5 из них заканчиваются смертельным исходом. В США заболеваемость РШМ составляет 8,3 на 100 000, что составляет 14 000 новых случаев и 5 000 смертей в год [28].

Хотя вариации встречаемости РШМ могут быть частично объяснены географическими различиями и некоторыми другими факторами риска, главную роль в снижении заболеваемости в развитых странах играет внедрение скрининговых программ. Данный факт еще раз подчеркивает тесную связь РШМ с HPV-инфекцией. Сегодня имеющаяся совокупность эпидемиологических и экспериментальных данных позволяет однозначно утверждать, что РШМ относится к заболеваниям, обусловленным вирусной инфекцией, которая передается половым путем [12]. Заметим, что при РШМ в 90–100% случаев в опухолевом материале обнаруживается ДНК HPV, в то время как инфицированность в популяции здоровых женщин не превышает 5–20% [12]. Исследования последних лет показали, что 95% неоплазм шейки матки содержат разновидности HPV, принадлежащие к так называемым типам «высокого риска» (HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 33 и HPV45) [26].

Не вызывает сомнений, что вывод об этиологической роли HPV при РШМ имеет не только важное теоретическое, но также и непосредственное практическое значение.

Во-первых, становится актуальным формирование групп риска, в которые, прежде всего, должны попадать постоянные носительницы HPV-инфекции, а разнообразные социально-экономические факторы, которым ранее придавали ведущую роль, должны рассматриваться как второстепенные.

Во-вторых, основные превентивные меры должны быть направлены на борьбу с HPV-инфекцией, и именно в этом контексте следует рассматривать внедрение в данную область современных технологий.

Следует подчеркнуть, что несмотря на высокую потенциальную опасность, HPV являются условными патогенами. Носительство HPV свидетельствует не о злокачественном процессе как таковом, а о многократно повышенном риске возникновения последнего. Факторы, модифицирующие патогенность HPV и, как следствие, провоцирующие опухолевый рост у инфицированных женщин, остаются неизвестными [15, 39]. Диагностика HPV-инфекции обладает высокой клинической значимостью, так как позволяет очертить группу онкологического риска, т.е. выявить среди здоровых женщин тех, кому в первую очередь необходимо проведение активных, комплексных мер, направленных на профилактику и раннюю диагностику РШМ.

### Классификация HPV

К настоящему времени изолировано свыше 80 различных типов HPV. Характерной особенностью папилломавирусов является высокая молекулярная гетерогенность, которая прослеживается между изолятами различных этнических групп, в пределах популяции и даже у одного и того же индивидуума [23]. Принято считать, что HPV-изолят распознается как новый или независимый тип, если нуклеотидная последовательность генов E6, E7 и L1 имеет менее 90% гомологии с соответствующими генами любого известного типа HPV. Различия в пределах 2–10% соответствуют подтипу, а < 2% – варианту HPV-типа [10].

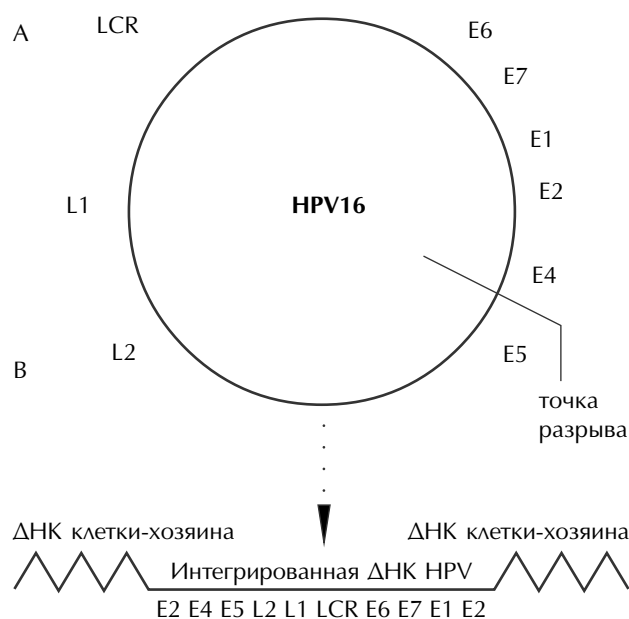
Все папилломавирусы человека разделяют на «кожные» и «слизистые» [16]. К первой относится большинство типов HPV (около 20), ассоциированных с *epidermodysplasia verruciformis* (например, HPV-5, -8), и еще около 15 типов, которые связаны с другими кожными патологиями, в частности бородавками (например, HPV-1, -2) [18]. Среди папилломавирусов, инфицирующих слизистые оболочки, широко известны типы, индуцирующие папилломатоз ротовой полости (например, HPV-7, -2), назофарингеальные неоплазии (например, HPV-13, -30). Однако наибольший научный и практический интерес представляет группа слизистых HPV, преимущественно инфицирующих аногенитальную область (свыше 30 типов). Аногенитальные HPV принято разделять на вирусы «низкого» и «высокого» онкогенного риска. HPV «низкого риска» (например, HPV-6, -11, -40, -42, -43, -44) обычно ассоциированы с доброкачественными экзофитными генитальными бородавками, тогда как HPV «высокого риска» (HPV-16, -18, -31, -33, -39, -

45, -52, -56, -58) обнаруживаются в 95–100% преинвазивных и инвазивных форм рака шейки матки (РШМ) [23, 26, 51, 55, 58].

### Структурные и функциональные особенности генома HPV

Папилломавирусы относятся к ДНК-содержащим вирусам и входят в семейство Papovaviridae. Геном HPV представлен кольцевой двухцепочечной ДНК протяженностью 7200–8000 пар оснований и разделен на три функционально-активных региона: LCR (long control region), early (E) и late (L). Область LCR участвует в регуляции транскрипции вирусных генов. Регион E включает гены E1, E2, E4, E5, E6, E7, которые кодируют белки, отвечающие за процессы вирусной репликации. Гены L1 и L2 региона L кодируют структурные белки вирусного капсида [23, 49] (рисунк А). Показано, что в нормальной клетке геном HPV находится в эписомальной форме, тогда как интеграция HPV-ДНК в хромосомы клетки-хозяина приводит к опухолевой прогрессии клеток цервикального эпителия (рисунк В) [2, 58].

Ведущая роль в канцерогенном процессе принадлежит белкам E1, E2, E6 и E7 [2, 46]. По-видимому, процесс реализации туморогенного потенциала HPV состоит из нескольких последовательных генетических событий. Вероятно, в качестве иницилирующего фактора выступают мутации в различных участках гена E1, который в норме отвечает за эписомальный статус HPV-ДНК. В результате повреждения E1 происходит интеграция генома HPV в хромосомы клетки-хозяина. Про-



Структура папилломавируса в свободной (А) и интегрированной форме.

цесс встраивания генома HPV может сопровождаться инактивацией ещё одного вирусного гена – E2. В результате потери функциональной активности гена E2 увеличивается экспрессия генов E6 и E7, которые непосредственно запускают процессы опухолевой трансформации. Онкогенные свойства продуктов E6 и E7 обусловлены их способностью образовывать комплексы с негативными регуляторами клеточного роста – белками p53 (для E6) и Rb (для E7). Существенно, что белки E6 и E7 разных типов HPV могут отличаться друг от друга по своим биохимическим свойствам и трансформирующему потенциалу.

Остановимся несколько более подробно на характеристике белков HPV и их роли в канцерогенном действии на клетки эпителия шейки матки [35].

Белок E6 HPV-16 состоит из 151 аминокислоты и инициирует ряд важных процессов, способствующих клеточной иммортализации. Поскольку E6 является одним из наиболее ранних генов, экспрессирующихся в ходе HPV-инфекции, он создает условия для более интенсивной продукции вирусных частиц в клетке. Эти изменения внутриклеточной среды включают подавление апоптоза вследствие деградации белка p53, ингибирование транскрипции ряда клеточных генов, а также удлинение продолжительности жизни клеток за счет активации теломеразы.

Белок E7 играет наиболее важную роль в трансформации клеток. E7 представляет собой ядерный белок, состоящий из 98 аминокислот и содержащий два казеинкиназных сайта фосфорилирования сериновых остатков (в 31 и 32 положениях). Молекула белка разделена на три домена, различающихся по степени родства к аденовирусному белку E1A. Описаны различные пути взаимодействия E7 с клеточными белками. Многие из этих белков относятся к факторам, регулирующим клеточное деление. E7 ускоряет переход G1–S и взаимодействует с белками семейства RB-супрессора (Rb, p107, p130), деацетилазами гистонов, транскрипционным фактором AP-1, циклин-зависимыми киназами и CDK-ингибиторами. Эти взаимодействия объясняют способность E7 стимулировать пролиферацию клеток, а также вызывать их иммортализацию.

Белок E5 HPV-16 невелик по размеру (84 аминокислоты) и представляет собой гидрофосфатную молекулу, локализованную в клеточной мембране. Белки E5, выделенные из клеток человека и животных, отличаются по своей трансформирующей активности. Вследствие гидрофобной природы E5 его очистка весьма затруднительна, и это его свойство ограничивает возможности создания эффективного антигена против данного белка.

Белки E1 и E2 играют существенную роль в репликации вирусных частиц. Именно эти белки определяют число копий вируса в клетке хозяина. Однако механизм транскрипционного контроля синтеза самих E1 и E2 остается невыясненным.

Итак, биологические свойства и молекулярная структура HPV-белков изучены достаточно полно, тем не менее конкретные пути реализации канцерогенного эффекта вируса требуют еще дальнейшего уточнения.

Известно, что как канцерогенные, так и неканцерогенные типы HPV стимулируют клеточную пролиферацию, причём этот эффект осуществляется по весьма сходным, но не идентичным механизмам. Кроме того, степень родства E7 к Rb и E6 в отношении p53 значительно выше у белков, выделенных из канцерогенных типов HPV. Углубленное изучение различий между двумя принципиально различными типами HPV может дать ключ к разгадке механизма канцерогенного действия вирусов данной группы, а также проблемы вирусного канцерогенеза в целом.

### Патогенез и клинические проявления генитальной HPV-инфекции

Основной путь передачи генитальной HPV-инфекции – половые контакты [47]. Попадая в организм, HPV локализуется в базальном клеточном слое эпителия, который представляет собой популяцию делящихся клеток. По мере эпителиальной дифференциации геном папилломавируса проходит все стадии продуктивной инфекции. Этот процесс завершается в зрелых кератиноцитах. Такая форма инфекции приводит к цитопатическим эффектам, проявляющимся в форме коилоцитоза, остроконечных кондилом и т.д. [7, 47, 54]. Как показывают многочисленные эпидемиологические исследования, в большинстве случаев наблюдается достаточно длительная персистенция HPV-ДНК в клетках базального слоя эпителия [23]. Дальнейшая динамика HPV-инфекции может заключаться либо в её регрессии, т.е. элиминации вирусного пула клеток, либо, наоборот, в прогрессии, сопровождающейся включением HPV-ДНК в клеточный геном и появлением характерных для злокачественной трансформации морфологических изменений эпителия.

В практической медицине принято различать клиническую, субклиническую и латентную формы генитальной HPV-инфекции [23, 48, 52, 54]. Клиническая форма HPV-инфекции характеризуется четко выраженной картиной поражения эпителия генитального тракта и легко диагностируется при простом визуальном осмотре. К типичным морфологическим проявлениям HPV-инфекции относят злокачественные новообразования, а

также остроконечные и гладкие кондиломы, расположенные в области шейки матки, вагины, вульвы или ануса [48, 55, 58]. Субклиническая HPV-инфекция, как правило, не выявляется при визуальном обследовании, однако соответствующие изменения эпителия обнаруживаются посредством цитологического и гистологического обследований [7, 21]. И, наконец, латентная форма HPV-инфекции выявляется только с помощью молекулярно-генетических методов [34, 57].

### Лабораторная диагностика HPV-инфекции

Длительное время единственным методом ранней диагностики папилломавирусов являлось цитологическое исследование, основанное на поиске характерных для HPV-инфекции цитологических изменений эпителия, таких как коилоцитоз, дискератоз и т.д. [7, 21]. Однако подобный подход зачастую даёт ошибочные результаты, отличается высоким субъективным компонентом и не выявляет латентные формы HPV-инфекции [21, 32, 48]. В целом, диагностика HPV стала достоверной лишь с появлением методик, основанных на детекции нуклеиновых кислот – гибридизации ДНК и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

### Методы детекции HPV на основе гибридизации ДНК

В зависимости от целей и возможностей лабораторий, широко применяются различные техники гибридизации, такие как Саузерн-блот, дот-блот, *in situ*, *filter in situ* и т.д. [17, 57]. Все они основаны на использовании HPV-ДНК в качестве молекулярного зонда, предварительно меченого радиоактивной или биохимической меткой.

Бесспорными преимуществами в детекции HPV обладает метод Саузерн-блот гибридизации. По сравнению с другими, этот метод характеризуется высокой чувствительностью, специфичностью и информативностью [57]. При осуществлении Саузерн-блота клеточная ДНК обрабатывается специфическими эндонуклеазами рестрикции, и полученные фрагменты с помощью электрофореза разделяются в агарозном геле. После денатурации ДНК переносится на мембрану, которая в дальнейшем гибридизуется с меченым HPV-зондом. При оптимальном подборе специфических зондов и условий гибридизации можно получить сведения о физическом статусе HPV-ДНК в клетке, типах HPV, филогенетической взаимосвязи папилломавирусов и т.д. [10, 30, 32, 57]. Недостатками данного метода являются трудоемкость и длительность выполнения процедуры, а также необходимость использования относительно больших количеств биологическо-

го материала для анализа. Эти факторы затрудняют использование Саузерн-блот гибридизации для рутинной диагностики и решения задач скрининга.

Гибридизация *in situ* позволяет установить топографическую взаимосвязь между вирусом и тканью, так как является единственным методом, который не разрушает морфологию образца. Однако в сравнении с другими техниками, гибридизация *in situ* обладает недостаточной чувствительностью. По данным разных авторов, при использовании такого подхода частота выявления вируса в тканях с субклиническими признаками HPV-инфекции составляет от 0% до 14% [48], в то время как по результатам Саузерн-блот гибридизации этот показатель достигает 36% [57]. При выполнении техники *filter in situ* клеточный материал (мазок, смыв) отпечатывается на мембране, денатурируется *in situ* и затем гибридизуется с меченым зондом. К сожалению, данная методика также проигрывает в чувствительности и специфичности по сравнению с остальными [17, 57].

Следует подчеркнуть, что методики, основанные на реакции гибридизации, менее чувствительны к контаминации, чем ПЦР-диагностика. Поэтому они являются методом выбора в тех условиях, когда правильная организация ПЦР-лаборатории невозможна, или когда положительные результаты ПЦР-теста вызывают сомнения.

### Методы детекции HPV на основе ПЦР

В течение последнего десятилетия лидирующее место в клинической диагностике HPV-инфекции заняли методы, основанные на проведении реакции ПЦР, что связано с её высокой разрешающей способностью, технической простотой и быстротой данной процедуры [8, 36].

Первоначально для ПЦР использовались типоспецифические (TS) праймеры, которые амплифицировали ДНК-последовательности строго определенного типа HPV. Более поздние разработки объединяли несколько пар праймеров в одной реакции амплификации [37]. Многочисленные результаты подтвердили высокую чувствительность данных тест-систем, особенно для «онкогенных» типов HPV [47]. Однако TS-ПЦР охватывает относительно узкий спектр разновидностей HPV, поэтому её применение имеет определённые ограничения.

Для скрининговых и эпидемиологических исследований более эффективны ПЦР-методы, в которых используются консенсусные (или «общие») пары праймеров [34]. С помощью таких праймеров можно выявлять широкий спектр HPV-генотипов, включая новые, неидентифицированные

типы. Наиболее часто используются консенсусные праймеры MY09/11, соответствующие высококонсервативному региону L1 генома HPV [34]. Они состоят из смеси 25 пар праймеров с несколькими вырожденными нуклеотидами в каждом, что позволяет обнаруживать десятки типов папилломавирусов. Праймеры GP5/6, напротив, имеют фиксированную нуклеотидную последовательность, но тем не менее выявляют не менее 27 типов HPV. Согласно данным сравнительного анализа, частоты выявления HPV-последовательностей в MY09/11-ПЦР и GP5/6-ПЦР почти эквивалентны, но смешанные инфекции в 1,5–2 раза чаще диагностируются с праймерами MY 09/11 [56].

### Клиническая значимость HPV-тестов

Молекулярно-генетический скрининг HPV имеет важную клиническую значимость, так как детекция HPV помогает выделить группы женщин с высоким риском развития РШМ [11, 17, 38]. Для решения этой задачи необходимо не только само по себе выявление папилломавирусов, но и осуществление HPV-генотипирования, позволяющего дифференцировать папилломавирусы «высокого» и «низкого» риска [9, 18]. Известно, что частота возникновения РШМ у женщин, инфицированных HPV «высокого риска», возрастает в среднем в 30 раз по сравнению с незараженной HPV популяцией, поэтому данный контингент обследуемых требует особенно пристального мониторинга [18, 45]. Выявление HPV «низкого риска» имеет преимущественно вспомогательное значение, так как данные типы папилломавирусов ассоциированы с кондиломатозом, папилломатозом и другими доброкачественными изменениями цервикального эпителия. При наличии у пациентки HPV «низкого риска», индуцирующих четко очерченную клиническую картину повреждения, требуется назначение соответствующего лечения. Напротив, асимптоматические микроскопические повреждения, обусловленные HPV данного типа, не нуждаются в лечении, так как в большинстве случаев они регрессируют самопроизвольно [20].

В настоящее время HPV-тестирование широко применяется в скрининговых программах по профилактике и ранней диагностике РШМ, предполагающих обязательное сочетание морфологических и генетических методов исследования. Следует заметить, что решающее значение обычно придаётся результатам молекулярно-биологических тестов [9, 45, 56]. Согласно проспективным исследованиям, признаки ранних предраковых изменений развиваются не менее чем у 15–50% женщин, продемонстрировавших положительный HPV-тест на фоне нормального цервикального эпителия, причём время морфологической транс-

формации измеряется всего несколькими годами или даже месяцами [18, 20, 52].

Одним из важнейших аспектов тестирования HPV у человека является вопрос об экономической эффективности подобного скрининга. Естественно, что ресурсы на организацию программ любого скрининга ограничены, поэтому исследование должно быть организовано таким образом, чтобы обеспечить максимальную пользу для популяции в целом. Для того, чтобы убедиться в целесообразности осуществления такой программы, необходимо произвести детальный подсчет средств, затраченных как силами здравоохранения, так и женщинами, вовлеченными в исследование. Данный подход может дать более целостное представление о пользе, полученной в отношении продолжительности и качества жизни.

### Встречаемость HPV-инфекции за рубежом и в России

Согласно накопленным эпидемиологическим сведениям, встречаемость HPV в здоровых популяциях значительно варьирует в различных этнико-географических регионах и во многом определяется поведенческими, социально-экономическими, медицинскими и гигиеническими стандартами. Как правило, локальные показатели инфицированности папилломавирусами тесно взаимосвязаны с таковыми для других генитальных инфекций (сифилиса, гонореи, хламидиоза, урогенитального микоплазмоза и т.д.) [3]. Согласно имеющимся эпидемиологическим сведениям, встречаемость HPV-инфекции среди женщин различных этнико-географических регионов варьирует от 5% до 40% [20, 31, 47]. Минимальная зарегистрированная частота инфицированности HPV (5%) наблюдается в Испании – стране с «низким риском» РШМ [39]. Этот показатель несколько выше на Филиппинах (9,2%). В Мексике, Бразилии, Марокко и Парагвае – странах с традиционно высокой заболеваемостью РШМ – 17%, 17%, 20,5%, 20% здоровых женщин соответственно являются носительницами HPV-инфекции [39, 40, 43]. В Аргентине и Гондурасе зараженность генитальными папилломавирусами достигает рекордных цифр и приближается к 40% [19, 53]. Несмотря на высокий социально-экономический и образовательный уровень, частота выявления HPV у здоровых женщин США составляет 26%, а у жительниц Канады – 21,8% [42]. Эти показатели в 1,5–2 раза превышают уровень HPV-инфицированности, отмечаемый в развитых европейских и азиатских странах, таких как Швеция (12,8%), Дания (15,4%) или Япония (10,7%) [22, 30, 33].

Большинство исследователей отмечают значительное разнообразие типов папилломавирусов,

выявляемых в каждой отдельно взятой популяции [42]. Среди здоровых женщин, так же как и у больных РШМ, наиболее часто обнаруживается HPV-16. В 1,5 – 2 раза реже выявляется HPV-18. Суммарно, на долю HPV-16 и -18 приходится 45% от общего числа всех генитальных папилломавирусов. Среди прочих типов HPV, в Европе и США чаще других отмечают HPV-31, -33, -35, в совокупности составляющих около 8% от общей HPV-инфицированности, а также и HPV-6 и -11 (9%) [15]. Распределение HPV по типам подвержено определённым этнико-географическим колебаниям. Например, для стран Азии характерна относительно высокая встречаемость HPV-52 и -58 [27], в то время как на Филиппинах и в странах Латинской Америки несколько увеличена представленность HPV-45 [39]. Выявление региональных особенностей HPV-инфицированности крайне важно для оптимизации программ по диагностике и профилактике папилломавирусного носительства.

Несмотря на очевидную социальную значимость сведений о распространённости папилломавирусов, HPV-носительство в России практически не подвергалось объективным оценкам. Более того, в случае нашей страны даже приближённое прогнозирование картины HPV-эпидемиологии представляется крайне затруднительным. Действительно, с одной стороны, многие медико-социальные особенности Российской Федерации (высокий образовательный уровень, общедоступность здравоохранения, активное планирование семьи, относительно поздний возраст первых родов и т.д.) сходны с таковыми в Европе и США. С другой стороны, хотя в отношении России абсолютно отсутствуют какие-либо научные сведения об особенностях репродуктивного поведения, косвенные факты указывают на высокий риск передачи генитальных инфекций [3]. Многочисленные газетные публикации и отдельные медицинские статьи справедливо упоминают тот факт, что обсуждение проблем сексуального воспитания долгое время считалось «неуместным» для образовательных, медицинских и научно-исследовательских сфер. Исследования, выполненные в соответствии с требованиями современной науки, стали появляться лишь совсем недавно. В частности, опросы небольших групп городских подростков показали низкий уровень знаний о репродуктивной гигиене, сочетающийся со значительным промискуитетом. Однако эти публикации не могут быть экстраполированы на всё общество в целом, так как они концентрировались лишь на определённых категориях населения. Значительно более достоверными представляются выводы об игнорировании современных способов контрацеп-

ции, основанные на исключительно высокой частоте аборт в Российской Федерации [41]. Подобные факты косвенно свидетельствуют о пренебрежении к репродуктивному здоровью. Сочетание перечисленных особенностей позволяет предположить высокую встречаемость бессимптомных генитальных инфекций, включая HPV-носительство. Однако адекватные лабораторные исследования, посвященные этому вопросу, до сих пор не проводились, поэтому мы предприняли попытку оценить встречаемость HPV у здоровых женщин России на примере популяции Санкт-Петербурга. Наши исследования выявили достаточно высокую встречаемость HPV (29%), что указывает на высокую актуальность данной проблемы в отечественных условиях. Интересно, что многолетняя изоляция России практически не отразилась на распределении HPV по типам; действительно, представленность генотипов HPV у здоровых женщин Санкт-Петербурга в целом соответствует таковой в Европе [1, 6].

### Факторы риска HPV-инфекции

Зависимость генитальной HPV-инфекции от возраста описывают как «эпидемическую кривую» [47]. Быстрый подъем инфицированности папилломавирусами отмечается среди женщин 15–25 лет, т.е. в период начала половой жизни. У женщин старше 30 лет, как правило, наблюдается снижение встречаемости HPV [47]. Вероятно, молодые женщины более восприимчивы к HPV-инфекции, так как у них отсутствует специфический иммунитет; длительная персистенция вируса сопровождается формированием иммунного ответа, который обеспечивает элиминация HPV-инфицированных клеток.

Среди факторов риска HPV-инфекции наиболее часто отмечают особенности репродуктивного поведения [31, 47, 48, 55]. Несмотря на отдельные противоречия, большинство эпидемиологических исследований подтверждают наличие корреляции между числом половых партнеров и HPV-инфекцией среди молодых женщин [42]. Так, отмечено, что для шведских женщин в возрасте 19–25 лет этот показатель является единственным независимым фактором риска цервикальной HPV-инфекции [29]. Подобная закономерность была также показана в выборке американских студентов. В то же время в работах, которые включали молодых женщин с низким промискуитетом, ассоциация между HPV-инфекцией и количеством половых партнеров не прослеживалась [42].

Среди других факторов, характеризующих сексуальное поведение, часто обращают внимание на возраст начала половой жизни. Ряд авторов отмечают, что женщины, которые вступали в поло-

вые контакты до 16 лет, имеют 2-кратно увеличенный риск HPV-инфекции по сравнению с теми, чей сексуальный опыт начался после 20 лет [47]. Подобная закономерность может быть отчасти связана с неполноценностью эпителия шейки матки у девочек-подростков. Однако, как и в случае с числом половых партнеров, взаимосвязь между возрастом начала половой жизни и HPV-инфекцией демонстрируется далеко не всеми авторами [29, 53].

Существует мнение, что значимым фактором риска является временной интервал между первым половым контактом и моментом обследования. Данная зависимость была показана на примере женщин Дании. Пациентки, чей сексуальный опыт не превышал четырех лет, обнаруживали 9-кратно увеличенную встречаемость HPV по сравнению с теми, кто вел половую жизнь более 10 лет. Эти данные подтверждают гипотезу о постепенном формировании специфического иммунитета у женщин-носительниц [20, 31, 47].

Наши собственные исследования показывают, что HPV-инфекция часто наблюдается у женщин, анамнез которых характеризуется высоким числом контрацептивных абортов. По-видимому, подобная корреляция обусловлена взаимосвязью между злоупотреблением абортами и безответственным отношением к репродуктивному здоровью в целом [1, 6].

### Лечение и профилактика HPV-инфекции и её последствий

В настоящее время не существует эффективных методов лечения папилломавирусной инфекции как таковой. Лечебные мероприятия направлены главным образом на ликвидацию доброкачественных и предраковых образований, вызванных HPV. Однако рассмотрение этих вопросов выходит за рамки настоящего обзора. Остановимся лишь на одной из наиболее активно разрабатываемых проблем – создании вакцины против HPV. Принято обсуждать как терапевтические вакцины, направленные на излечение от уже существующей HPV-инфекции, так и профилактические вакцины, предотвращающие заражение вирусом. В модельных экспериментах, выполненных на животных, установлено, что иммунные реакции, образующиеся при естественном инфицировании клеток или при имортализации клеток с помощью рекомбинантных капсидных белков, могут задерживать развитие вируса. При этом образуются антитела, способные специфически распознавать отдельные эпитопы белков HPV. Нейтрализующие антитела обнаружены также в сыворотке HPV-позитивных пациенток, хотя регрессия HPV-индуцированных повреждений эпителия не коррелирует с уровнем

антител в крови. Все эти данные легли в основу разработки нескольких типов вакцин, которые в настоящее время проходят клинические испытания [4, 5, 14, 24, 50].

Разработанные профилактические вакцины против HPV основываются на иммунизации женщин вирусоподобными частицами (virus-like particles, VLPs) в надежде стимулировать выработку вирус-нейтрализующих антител. VLPs получают путем суперэкспрессии капсидного белка L2 или его коэкспрессии с белком L1, в результате чего образуются частицы, имитирующие инфекционный вирион. VLPs не содержат вирусной ДНК и не обладают инфекционностью или онкогенностью. Предварительные результаты I и II фаз клинических испытаний VLPs показали, что здоровые волонтеры хорошо переносят внутримышечное введение данной вакцины и отвечают выраженным повышением гуморального иммунитета на нее. Остается, однако, неясным, обнаруживаются ли анти-VLP антитела в вагинальном секрете иммунизированных женщин, и предотвращает ли повышение титра антител вирусную инфекцию. Ответ на эти вопросы должны дать дальнейшие, более широкие испытания [14].

В случае создания терапевтических вакцин, основное внимание уделяют их способности активировать клеточный иммунитет, нарушения которого, очевидно, играет важную роль в патогенезе HPV-индуцированных поражений эпителия шейки матки. Существенно, что многие иммунодефицитные состояния характеризуются увеличением частоты HPV-инфекций. Так, например, индивидуумы с генетически дефектным иммунитетом, больные СПИДом, а также пациенты, перенесшие трансплантацию органов, отличаются резко повышенным онкологическим риском в отношении HPV-ассоциированных опухолей [14].

Терапевтические вакцины применяются у HPV-положительных пациенток, для которых характерен высокий риск развития РШМ, а также у больных с уже имеющимися HPV-индуцированными поражениями эпителия шейки матки. Эти вакцины должны стимулировать иммунокомпетентные клетки к распознаванию и прямому связыванию вирусных белков, экспрессирующихся в инфицированных клетках эпителия. Инактивация вирусных белков предотвращает развитие повреждений шейки матки и способствует их излечению. Известно, что HPV-онкобелки E6 и E7 экспрессируются фактически во всех клетках РШМ, следовательно, они представляют удобную мишень для клеточной иммунной системы. Исходя из этого, большинство попыток создания терапевтических вакцин для лечения РШМ направлено на специфическое связывание и инактивацию белков E6 и E7.

Не вдаваясь в детали разработки терапевтических вакцин против HPV и сравнительного анализа их эффективности, перечислим основные, наиболее перспективные пути поиска в данной области [14].

Пептидные вакцины основываются на свойстве определенных молекул (пептидов) связываться с детерминантами главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) и активировать Т-рецепторы CD8<sup>+</sup> Т-клеток, что повышает способность последних узнавать и инактивировать эпителиальные клетки, экспонирующие на своей поверхности белки Е6 и Е7 [44].

Белковые вакцины представляют собой очищенные вирусные белки, индуцирующие как выработку антител, так и иммунный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов. Вследствие быстрой деградации введенных иммуногенных белков, для обеспечения стабильного иммунного ответа обычно необходимо использование адьюванта.

ДНК-вакцины создаются на основе так называемый «голой» плазмидной ДНК. Они характеризуются стабильностью, дешевизной и достаточно высокой эффективностью. При ДНК-вакцинировании используют внутримышечный, внутрикожный и внутривенный пути введения, причем все они ведут к захвату ДНК антиген-презентирующими клетками и увеличению экспрессии антигенов на их поверхности. Поскольку плазмидная ДНК легко модифицируется, в ее состав можно встраивать различные комбинации генов, кодирующих необходимые эпитопы, что позволяет повышать эффективность вакцины.

Кроме перечисленных выше подходов, перспективными оказались также некоторые другие варианты поиска терапевтических вакцин, такие как использование рекомбинантных вирусов, бактериальных векторов, дендритных клеток и модифицирование опухолевых клеток [13, 14]. Остановимся несколько подробнее на характеристике вакцин, приготовленных с использованием модифицированных клеток опухолей. В этом случае опухолевые клетки, полученные от пациентов, подвергаются генетической модификации и возвращают тем же больным в качестве вакцины. Генетическая модификация чаще всего сводится к трансдукции опухолевых клеток генами иммуностимулирующих цитокинов (GM-CSF, интерлейкинов, В<sub>7</sub> и др.) [14, 25]. В условиях эксперимента, вакцинация мышей опухолевыми клетками, экспрессирующими гены интерлейкинов-2 и -12, приводила к увеличению числа специфических цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) и развитию противоопухолевого иммунитета. Недавно было показано, что использование в качестве вакцины Е7-экспрессирующих опухолевых

клеток, трансфецированных геном GM-CSF, стимулировало активность Е7-специфичных ЦТЛ и увеличивало противоопухолевую иммунную защиту [14]. Однако сведения о лечебных эффектах генетически модифицированных опухолевых клеток пока противоречивы, поэтому данная стратегия применяется лишь в далеко зашедших случаях РШМ.

Итак, несмотря на то, что клинические испытания HPV-вакцин находятся в начальной стадии, рассмотрение совокупности результатов, накопленных в данном направлении, внушает определенный оптимизм. Создается четкое представление о том, что с углублением наших знаний о природе HPV и механизмах иммунного ответа против данного вируса, усилия по созданию вакцин в недалеком будущем позволят контролировать и успешно излечивать HPV-индуцированные повреждения и опухоли шейки матки.

Не следует забывать, что распространение HPV-инфекции подчиняется тем же закономерностям, которые характерны для других передающихся половым путём заболеваний. Отсюда следует, что многие меры профилактики HPV-инфекции носят социально-поведенческий характер. С другой стороны, сам факт HPV-инфицирования не является фатальным; рак шейки матки, даже если он возникает, развивается через довольно длительные, относительно неопасные фазы предрака и неинвазивного рака. Таким образом, тщательный мониторинг HPV-носительниц, по-видимому, позволит полностью избавиться от жизненно опасных последствий HPV-инфекции.

## Заключение

Выявление ассоциации между носительством папилломавирусов и увеличенным риском рака шейки матки является одним из самых главных практических достижений молекулярной онкологии. В настоящее время диагностика HPV внедрена в рутинную клиническую практику всех индустриально развитых стран, включая Россию. Проведение соответствующих скрининговых программ позволяет рационализировать превентивные усилия онкогинекологов. Помимо широкомасштабных мероприятий по детекции папилломавирусов, в мире проводятся клинические испытания профилактических и терапевтических HPV-вакцин. Можно надеяться, что успехи в данной области молекулярной медицины вскоре приведут к существенному снижению смертности от рака шейки матки.

*Работа поддержана грантом Минпромнауки России (раздел «Медицина», тема № 29 «Разработка технологий диагностики и лечения злокачественных новообразований»).*



## Литература

1. Александрова Ю.Н., Лытцев А.А., Сафронникова Н.Р. и др. Папилломавирусная инфекция у здоровых женщин Санкт-Петербурга // *Вопр. онкол.* – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 175-179.
2. Киселев Ф.Л. Вирусы папиллом человека как этиологический фактор рака шейки матки: значение для практики здравоохранения // *Вопр. вирусол.* – 1997. – Т. 42, № 6. – С. 248-251.
3. Тихонова Л.И. Общий обзор ситуации с инфекциями, передаваемыми половым путем. Анализ заболеваемости врожденным сифилисом в Российской Федерации // *Вестн. дермат. венерол.* – 1999. – № 2. – С. 4-7.
4. Adams M., Borysiewicz L., Fiander A. et al. Clinical studies of human papilloma vaccines in pre-invasive and invasive cancer // *Vaccine.* – 2001. – Vol. 19. – P. 2549-2556.
5. Alexander K.A., Phelps W.C. Recent advances in diagnosis and therapy of human papillomaviruses // *Expert. Opin. Investig. Drugs.* – 2000. – Vol. 9. – P. 1753-1765.
6. Alexandrova Y.N., Lyshchov A.A., Safronnikova N.R. et al. Features of HPV infection among the healthy attendants of gynecological practice in St. Petersburg, Russia // *Cancer Lett.* – 1999. – Vol. 145. – P. 43-48.
7. Barasso R. Colposcopic diagnosis of HPV cervical lesions // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A (eds). – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 67-74.
8. Bauer H.M., Manos M.M. PCR detection of genital human papillomavirus // *Diagnostic Molecular Microbiology / D.H. Persing (Ed.)* – Washington DC, 1993. – P. 407-419.
9. Beral V., Day N. Screening for cervical cancer: is there a place for incorporating tests for the human papillomavirus? // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (Eds) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 263-269.
10. Bernard H.U., Chan S.Y., Manos M.M. et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms // *J. Infect. Dis.* – 1994. – Vol. 170. – P. 1077-1085.
11. Bosch F.X., Manos M.M., Munoz N. et al. Prevalence of Human papillomavirus in cervical cancer – a worldwide perspective // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1995. – Vol. 87. – P. 796-802.
12. Bosch F.X., Lorincz A., Munoz N. et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer // *J. Clin. Pathol.* – 2002 – Vol. 55. – P. 244-265.
13. Bournsnel M.E., Rutherford E., Hickling J.K. et al. Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer // *Vaccine.* – 1996. – Vol. 14. – P. 1485-1494.
14. Da Silva D.M., Eiben G.L., Fausch S.C. et al. Cervical cancer vaccines: emerging concepts and developments // *J. Cell. Physiol.* – 2001. – Vol. 186. – P. 169-182.
15. De Sanjose S., Santamaria M., Alonso de Ruiz P. et al. HPV types in women with normal cervical cytology // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 75-84.
16. De Villiers E.M. Minireview: heterogeneity of the human papillomavirus group // *J. Virol.* – 1989. – Vol. 63. – P. 4898-4903.
17. De Villiers E.M. Hybridization method other than PCR: an update // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 111-119.
18. De Villiers E.M. Human pathogenic papillomavirus types: an update // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 1994. – Vol. 186. – P. 1-12.
19. Ferrera A., Velema J.P., Figueroa M. et al. Human papillomavirus infection, cervical dysplasia and invasive cervical cancer in Honduras: a case-control study // *Int. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 82. – P. 799-803.
20. Franco E.L., Rohan T.E., Villa L.L. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1999. – Vol. 91. – P. 506-511.
21. Goodman A. Role of routine human papillomavirus subtyping in cervical screening // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 12. – P. 11-14.
22. Hagmar B., Kalantari M., Skyldberg B. et al. Human papillomavirus in cell samples from Stockholm gynecologic health screening // *Acta Cytologica.* – 1995. – Vol. 39. – P. 741-745.
23. Herrington C.S. Human papillomaviruses and cervical neoplasia. 1. Classification, virology, pathology, and epidemiology // *J. Clin. Pathol.* – 1994. – Vol. 47. – P. 1066-1072.
24. Hilleman M.R. Overview of vaccinology with special reference to papillomavirus vaccines // *J. Clin. Virol.* – 2000. – Vol. 19. – P. 79-90.
25. Hodi F.S., Dranoff G. Genetically modified tumor cell vaccines // *Surg. Oncol. Clin. N. Amer.* – 1998. – Vol. 7. – P. 471-485.
26. Holly E.A. Cervical intraepithelial neoplasia, cervical cancer and HPV // *Ann. Rev. Public. Health.* – 1996. – Vol. 17. – P. 69-84.
27. Huang S., Afonina I., Miller B.A., Beckmann A.M. Human papillomavirus types 52 and 58 are prevalent in cervical cancers from chinese women // *Int. J. Cancer.* – 1997. – Vol. 70. – P. 408-411.

28. Jenkins D. Diagnosing human papillomaviruses: recent advances // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2001. – Vol. 14. – P. 53-62.
29. Karlsson R., Jonsson M., Edlund K. et al. Lifetime number of partners as the only independent risk factor for human papillomavirus infection: a population-based study // *Sex. Transm. Dis.* – 1995. – Vol. 22. – P. 119-127.
30. Kjaer S.K., Jensen O.M. Comparison studies of HPV detection in areas at different risk for cervical cancer // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 243-249.
31. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection // *Amer. J. Med.* – 1997. – Vol. 102. – P. 3-8.
32. Lorincz A.T. Detection of human papillomavirus DNA without amplification: prospects for clinical utility // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 135-145.
33. Maehama T., Asato T., Kanazawa K. Prevalence of HPV infection in cervical cytology-normal women in Okinawa, Japan, as determined by a polymerase chain reaction // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2000. – Vol. 69. – P. 175-176.
34. Manos M.M., Ting Y., Wright D.K. et al. Use of polymerase chain reaction for detection of genital human papillomavirus // *Cancer Cells.* – 1989. – Vol. 7. – P. 209-214.
35. McMurray H.R., Nguyen D., Westbrook T.F., McAnce D.J. Biology of human papillomaviruses // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2001. – Vol. 82. – P. 15-33.
36. Meijer C.J.L.M., van den Brule A.J.C., Shijders P.J.F. et al. Detection of human papillomavirus in cervical scrapes by the polymerase chain reaction in relation to cytology: possible implications for cervical cancer screening // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 271-281.
37. Mitrani-Rosenbaum S., Tsvieli R., Lavie O. et al. Simultaneous detection of three common sexually transmitted agents by polymerase chain reaction // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 171. – P. 784-790.
38. Munoz N., Bosch F.X. HPV and cervical neoplasia: review of case-control and cohort studies // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 251-261.
39. Munoz N., Kato I., Bosch F.X. et al. Risk factor for HPV DNA detection in middle-aged women // *Sex. Transm. Dis.* – 1996. – P. 504-510.
40. Pao C.C., Kao S.M., Tang G.C. et al. Prevalence of human papillomavirus DNA sequences in an area with very high incidence of cervical carcinoma // *Brit. J. Cancer.* – 1994. – Vol. 70. – P. 694-696.
41. Popov A.A. Family planning and induced abortion in the USSR: basic health and demographic characteristics // *Stud. Fam. Plann.* – 1991. – Vol. 22. – P. 368-377.
42. Richardson H., Franco E., Pintos J. et al. Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal University students // *Sex. Transm. Dis.* – 2000. – Vol. 27. – P. 79-86.
43. Rolon P.A., Smith J.S., Munoz N. et al. Human papillomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay // *Int. J. Cancer.* – 2000. – Vol. 85. – P. 486-491.
44. Rudolf M.P., Man S., Melief C.J. et al. Human T-cell responses to HLA-A-restricted high binding affinity peptides of human papillomavirus type 18 proteins E6 and E7 // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7(3 Suppl). – P. 788s-795s.
45. Sasieni P.D. Human papillomavirus screening and cervical cancer prevention // *J. Amer. Med. Womens Assoc.* – 2000. – Vol. 55. – P. 216-219.
46. Scheffner M., Romanczuk H., Munger K. et al. Function of human papillomavirus proteins // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 1994. – Vol. 186. – P. 83-96.
47. Schiffman M.H. Epidemiology of cervical human papillomavirus infection // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 1994. – Vol. 186. – P. 55-81.
48. Schneider A., Koutsky L. Natural history and epidemiology features of genital HPV infection // *The epidemiology of cervical and human papillomavirus* / Munoz N., Bosch F.X., Shah K.V., Meheus A. (eds.) – Lyon, France: IARC, 1992. – P. 25-52.
49. Southern S.A., Herrington C.S. Molecular events in uterine cervical cancer // *Sex. Transm. Infect.* – 1998. – Vol. 74. – P. 101-109.
50. Stern P.L., Brown M., Stacey S.N. et al. Natural HPV immunity and vaccination strategies // *J. Clin. Virol.* – 2000. – Vol. 19. – P. 57-66.
51. Syrjanen K., Syrjanen S. Epidemiology of human papillomavirus infection and genital neoplasia // *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* – 1990. – Vol. 69. – P. 7-17.
52. Syrjanen K. Human papillomavirus in genital carcinogenesis // *Sex. Transm. Dis.* – 1994. – Vol. 21. – P. S86-S89.
53. Tonon S.A., Picconi M.A., Zinovich J.B. et al. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma // *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* – 1999. – Vol. 7. – P. 237-243.
54. Tyring S.K. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response // *J. Amer. Acad. Dermatol.* – 2000. – Vol. 43. – P. S18-S26.

55. Villa L.L. Human papillomaviruses and cervical cancer // *Adv. Cancer Res.* – 1997. – Vol. 71. – P. 321-341.
56. Walboomers J.M.M., Melkert P.W.J., Van den Brule A.J.C. et al. The polymerase chain reaction for human papillomavirus screening in diagnostic cytopathology of the cervix // *Diagnostic Molecular Pathology. A Practical Approach.* / Herrington C.S., McGee J.O.D. (eds.) – Oxford: IRL Press, 1992. – P. 153-172.
57. Wick M.J. Diagnosis of human papillomavirus gynecologic infections // *Clin. Lab. Med.* – 2000. – Vol. 20. – P. 271-287.
58. Zur Hausen H. Papillomavirus infection – a major cause of human cancer // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1996. – Vol. 1288. – P. 55-78.