Աղբարկներ • *Обзоры* • *Reviews*

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 617:616-073.1

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИИ**

Л.Г. ХАЧАТРЯН

Центр медицинской генетики НАН РА, 375010, Ереван

Из заболеваний, передаваемых половым путем, заслуживает особого внимания папилломавирусная инфекция (ПВИ), возбудителем которой является вирус папилломы человека (ВПЧ). Это обстоятельство обусловлено высокой частотой встречаемости данной инфекции, сложностью для диагностики, особенно латентных форм, которые определяются только молекулярно-генетическими методами, и, что самое главное, вирус папилломы является этиологическим фактором в развитии рака шейки матки, который занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин. Следовательно, чрезвычайно важными являются ранняя диагностика онкогенных типов ВПЧ, а также лечение и профилактика ПВИ.

Սեռական ճանապարհով փոխանցվող հիվանդությունների շարքում առավել ուշադրության արժանի է պապիլոմավիրուսային վարակը (ՊՎՎ), որի հարուցիչն է մարդու պապիլոմավիրուսը (ՄՊՎ): Տվյալ հանգամանքը պայմանավորված է այս վիրուսի հանդիպման բարձր հաճախականությամբ, ախտորոշման բարդությամբ՝ առավելապես ծածկընթաց ձևերի, որոնք որոշվում են միայն մոլեկուլային գենետիկական մեթոդներով, և որ ամենից կարևորն է, ՄՊՎ-ն հանդիսանում է արգանդի վզիկի քաղցկեղի առաջացման պատճառարանական գործոն. որը կանանց մոտ շարորակ նորագոյացությունների շարքում զբաղեցնում է երկրորդ տեղը: Հետևապես, խիստ կարևորվում է ՄՊՎ-ի քաղցկեղածին տեսակների վաղ ախտորոշումը, ինչպես նաև ՊՎՎ-ի բուժումը և կանխարգելումը:

Papillomaviral infection (PVI) is the object of attention among sexually transmitted diseases stimulated by human papillomavirus (HPV). This circumstance is stipulated by the high frequency of infected individuals, difficulties in diagnosis of latent forms, particularly that could be detected only by molecular-genetic technologies. It's of great importance that HPV is etiologic factor firmly associated with cervical cancer. Carcinoma of the cervix is the second as the most common malignancy in both incidence and mortality in women. The most actual problem is the early molecular detection of oncogenic types of HPV with treatment and prevention of PVI.

Папилломавирусная инфекция - дисплазия - ПАП-мазок - полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Из заболеваний, передаваемых половым путем, заслуживает особого внимания папилломавирусная инфекция (ПВИ), возбудителем которой является вирус папилломы человека (ВПЧ). Данное обстоятельство обусловлено следующими основными аспектами:

- высокая частота встречаемости этой инфекции: число инфицированных в мире за последнее десятилетие увеличилось более чем в 10 раз;
- ПВИ сложна для диагностики, в особенности ее латентные формы, при которых наличие вируса не проявляется клинически и не сопровождается

морфологическими изменениями тканей;

- роль ВПЧ в качестве этиологического фактора в развитии рака шейки матки (РШМ), который занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин [2].

Вирусы папилломы относятся к семейству паповавирусов (*Papovaviridae*), поражающих человека, крупный рогатый скот, птиц и способных инфицировать базальные клетки кожи и плоского эпителия. Папилломавирусы - одна из наиболее гетерогенных групп вирусов, критерием дифференцировки которой является степень генетического родства вирусов; по данным молекулярной гибридизации, она может колебаться от 10 до 85%. Вирус не имеет внешней оболочки, диаметр его частиц составляет 55 нм, а его капсид представляет собой 72 капсомера [14].

В настоящее время идентифицировано более 100 типов ВПЧ, из которых исследованы более 70. Как показано многими исследователями, различия между типами состоят в их способности инфицировать эпителий строго определенного вида, что приводит к характерным изменениям [6].

Из всех идентифицированных типов вирусов папилломы с поражением аногенитальной области ассоциированы 34. Онкогенный потенциал ВПЧ существенно варьирует. По способности инициировать диспластические изменения и рак папилломавирусы условно разделены на группы "высокого" и "низкого" риска возникновения опухолевой трансформации инфицированного эпителия. Типы ВПЧ 6, 11, 42, 43, 44 классифицируются как типы низкого риска развития рака, типы 16, 18, 31, 33, 35, 45, 48, 56 – как высокого [3].

Методика молекулярного клонирования с помощью эндонуклеаз позволила создать физическую карту вирусов, определить местоположение и последовательность кодированных вирусом белков.

Известные типы папилломавирусов сходны по своей генетической структуре. Генетический материал вируса представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК длиной около 8000 пар оснований, что соответствует массе около 5 млн. дальтон. Одна из нитей ДНК содержит 9 открытых рамок считывания (open reading frames, ORF), которые потенциально кодируют до 10 белков, а также регуляторный участок генома (upstream regulatory region, URR), который состоит из области вирусного промотора, локуса репликации, энхансерных элементов, активирующих последовательностей, необходимых для репликации вирусной ДНК, сайтов связывания для белка E2, клеточных факторов транскрипции, рецепторов прогестерона и глюкокортикоидных гормонов. URR некодирующей последовательности ДНК располагается между концом области поздних генов и началом области ранних генов. ORF генома вируса разделены на ранний (early, E) и поздний (late, L) участки. Ранний фрагмент включает гены E1-E7, кодирующие белки, ответственные за различные функции в процессе репликации вируса и трансформации клеток. Гены E1 и E2 ответственны за репликацию вируса, а также участвуют в регуляции транскрипции вирусного генома. Продукт гена E1 отвечает за поддержание персистенции вирусного генома в эписомальной форме. Ген E2 кодирует продукты, которые могут как трансактивировать, так и подавлять экспрессию ранних генов и энхансерных участков URR. Трансактивирующий фактор обнаружен при предраковых изменениях шейки матки, репрессирующий фактор *in vivo* не идентифицирован [7].

Ген E4 участвует в процессе созревания вирусных частиц, гены E5-E7

обладают трансформирующим потенциалом. Гены E6 и E7 всегда определяются и экспрессируются в опухолях шейки матки, что подтверждено при исследовании клеточных линий, полученных из опухолей шейки матки. Участки генома L1 и L2, кодирующие структурные белки вириона, экспрессируются на поздних стадиях вирусных частиц [8].

Вирусный белок E7 способен нарушать регуляцию контроля клеточного цикла, оказывая митогенное влияние и стимулируя неконтролируемый синтез ДНК [7].

Показано, что в клетках больных РШМ происходит активная транскрипция вирусного генома, а решающее значение для развития РШМ имеет его персистенция. В тканях эпителиальных дисплазий и карцином шейки матки в процессе опухолевой трансформации нарушается регуляция транскрипции вирусных онкогенов, что проявляется в количественных различиях экспрессии генов E6 и E7, играющих основную роль в индукции злокачественного роста клеток [10].

Имеются сообщения об обнаружении вирусной ДНК в клетках больных РШМ как в интегрированной, так и в эписомальной формах.

В тканях эпителиальных дисплазий шейки матки обнаруживаются эписомальные формы ДНК ВПЧ. В большинстве случаев РШМ вирусные последовательности определяются в интегрированной форме [4].

Долгое время папилломатозные кондиломы считались единственным морфологическим проявлением папилломавирусной инфекции половых путей. Взгляды на патологию кондилом шейки матки были радикально пересмотрены после того, как были описаны генитальные плоские и инвертированные (эндофитные) кондиломы и определено их принципиальное отличие от кондилом других локализаций. Позже с помощью электронно-микроскопических, иммуногистохимических и ДНК-гибридизационных исследований была подтверждена их папилломавирусная этиология [15].

Субклиническая форма не сопровождается симптомами, но может быть диагностирована при кольпоскопии или микроскопическом исследовании ткани. Латентная форма не может быть диагностирована кольпоскопически, цитологически и гистологически [2].

Методы диагностики ПВИ условно можно разделить. 1. Классические: цитологический метод; гистологическое исследование биоптатов; кольпоскопия; определение антител к ВПЧ. 2. Современные: неамплификационные (Southern blot, Dot blot, гибридизация in situ), амплификационные (ПЦР, Hybrid Capture).

Широкое распространение во всем мире нашел цитологический метод исследования с окрашиванием мазков по Папаниколау (РАР-мазки) или по методу Романовского-Гимза [2].

Кольпоскопия является наиболее чувствительным клиническим методом определения субклинической формы ПВИ. Последняя сопровождается такими морфологическими особенностями, как акантоз, гиперплазия клеток базального и парабазального слоя многослойного плоского эпителия, пара - или гиперкератоз, койлоцитотическая атипия. Перечисленные критерии характеризуются разнообразием в отношении диагностики субклинической формы ПВИ. При возникновении морфологических признаков малигнизации изменения, характерные для ПВИ, уменьшаются, а патология митозов и ДНК нарастает [2].

В настоящее время определены антитела к серотипам ВПЧ и серореактивные области внутри соответствующих белков. Продукция цитокинов

также обеспечивает определенный вклад в иммунный ответ. Специфический Т-клеточный ответ имеет место в виде Т-хелперного ответа (Th1 или Th2), в зависимости от характера продуцируемых цитокинов или от типа активации иммунной системы. При ВПЧ стимулируется продукция ИЛ-12 и индуцируется Th1-ответ. Ответ локальных показателей иммунной системы зависит от индивидуальных особенностей женщины: фенотип HLA-DR2 имеет более выраженный характер выработки антител (Th2), чем другие [1].

Для определения разных типов ВПЧ в основном используют два основных теста: ПЦР и метод Hybrid Capture. Технология метода Hybrid Capture была разработана фирмой "Digene" (США), поэтому его иногда называют "Digene-тест". Метод заключается в ДНК-гибридизации в растворе с последующей сорбцией на полистироловой планшете [11]. С применением указанных тестов стало возможным определение более 70 различных типов ВПЧ, однако для клиники перспективным является выявление только канцерогенных типов.

ДНК ВПЧ может быть идентифицирована амплификацией генов вирусной последовательности методом ПЦР, который является наиболее широко применяемым и обнаруживает от 10 до 100 копий генома ВПЧ. Одним из условий, определяющих его эффективность, является оптимальный подбор олигонуклеотидных праймеров. Продукты ПЦР определяются типоспецифическими зондами, с использованием дот-гибридизации, блот-гибридизации по Саузерну или твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) на полистироловых планшетах. Чувствительность методов, основанных на ПЦР, достаточно велика и позволяет определить онкогенные транскрипты E6 и E7 ВПЧ типа 16 даже в тех соскобах шейки матки, в которых не определялись диспластические изменения эпителия [11].

На сегодняшний день наиболее адекватными для скрининга являются три теста: цитологический, кольпоскопический и ВПЧ-тестирование. Некоторые авторы считают, что ВПЧ-тестирование актуально в клинической практике и может помочь в определении риска прогрессирования заболевания и выявлении рецидивов. Существующая практика наблюдения недостаточно эффективна, а одно лишь цитологическое исследование является нечувствительным для предотвращения рецидивов; в подобных случаях целесообразнее использование ВПЧ-тестирования. В 96-100% случаев рецидивов дисплазии после лечения обнаруживаются типы ВПЧ высокого риска, которые соответствуют типам, выявленным до начала лечения [5].

Отмеченные выше особенности позволяют предположить, что ВПЧ-тестирование при динамическом наблюдении имеет более высокую чувствительность и специфичность по сравнению с цитологическим методом и более высокую вероятность в предсказании рецидива.

Таким образом, можно сделать вывод, что современные подходы к диагностике и динамическому наблюдению папилломавирусной инфекции основаны на комбинации классических методов - цитологического и кольпоскопического исследований и современного ВПЧ-тестирования, что позволяет существенно увеличить эффективность первичного скрининга РШМ.

У женщин с РШМ чаще встречаются определенные варианты генов HLA I и II класса. Однако частота их распространения варьирует в различных популяциях. Наиболее часто наблюдается ассоциация между В1* аллелями HLA

II класса DR V1* 1501 и DQ V1* 0602 и инфекцией ВПЧ 16 типа [3].

Выявлены также вариации в географическом распространении ПВИ: у женщин Европы и Америки превалирует ВПЧ типа 16, тогда как в Индонезии более чем в 50% случаев РШМ обнаружен тип 18. На основании вариаций в последовательности ДНК онкогена E6 выделено 6 вариантов ВПЧ 16: европейский (имеет 2 подтипа), азиатский, африканский (подтипы 1 и 2), североамериканский и азиатско-американский, у российских женщин анализ выявил тип 16 в 77%, а тип 18 в 14% случаев плоскоклеточного рака шейки матки [13].

Частота инфицированности ВПЧ, характер течения и исход ПВИ зависят и от возраста больных. Пик инфекции приходится на возраст 18-25 лет и снижается после 30 лет, когда существенно возрастает частота дисплазий и РШМ, пик которого приходится на 45 лет. ВПЧ обнаружен у 20-46% женщин в возрасте 20-25 лет и у 6% - старше 30 лет [12].

Таким образом, присутствуя в организме, вирусы не всегда вызывают заболевание. На трансформацию латентного носительства ВПЧ в дисплазию могут влиять следующие факторы: иммунные нарушения, сопутствующие инфекции, передаваемые половым путем, беременность, смена половых партнеров, низкий социально-экономический статус, применение оральных контрацептивов, ранняя первая беременность, недостаток витамина С, каротиноидов, фолатов, гормональные сдвиги, генетические детерминанты, курение [9].

Особое значение приобретает возможность создания вакцин против ВПЧ, над чем работают специалисты разных стран. Вакцинация структурными белками вириона обычно ведет к индукции эффективного иммунного ответа, поэтому в качестве иммуногенов выбраны вирусоподобные частицы (virus-like particles, VLP), полученные для различных типов ВПЧ. В ближайшие несколько лет станет ясно, какой профилактический и терапевтический эффекты могут иметь те или другие вакцинные разработки [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. С-Пб., Нева-люкс, 2001.
2. Прилепская В.Н. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. М., Медпресс, 2000.
3. Aguilar-Lemarroy A., Gariglio P., Whitaker N.J. et al. *Oncogene*. 21 (2), 165-75, 2002.
4. Brenna S.M., Syrjanen K.J. *Sao Paulo Med. J.* 2003. 121 (3), 128-32. Epub 2003 Aug 08.
5. Chua K.L., Hjerpe A. *Gynecol Oncol.* 66 (1), 108-13, 1997.
6. Fehrmann F., Laimins L.A. *Oncogene*. 22 (33), 5201-7, 2003.
7. Finzer P., Aguilar-Lemarroy A., Rosl F. *Cancer Lett.* 2002 Dec 15; 188 (1-2), 15-24.
8. Jeong H.S., Shin J.H., Park Y.N. et al. *Biologicals*. 31 (3), 223-9, 2003.
9. Manos M.M., Kinney W.K., Hurley L.B. et al. *JAMA*. 281 (17), 1605-10, 1999.
10. Mohan R.R., Possin D.E., Mohan R.R. et al. *Exp. Eye Res.* 77 (4), 395-407, 2003.
11. Nindl I., Greinke C., Zahm D.M. et al. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 16 (3), 197-204, 1997.
12. Richart R.M. *Pathol. Annu.* 8, 301-28, 1973.
13. Solomon D., Schiffman M., Tarone R. J. *Natl. Cancer Inst.* 93 (4), 293-9, 2001.
14. Zur Hausen H. *Adv. Cancer Res.* 33, 77-107, 1980.
15. Zur Hausen H. *J. Natl. Cancer Inst.* 93 (4), 252-3, 2001.

Поступила 11.11.2004