

Обзоры

УДК 618.1-006.52

Прогностическое значение соотношения нейтрофилов/лимфоцитов при поражении вирусом папилломы человека

А.Г. Арутюнян¹, Г. А. Бегларян²

¹ЕГМУ им.М.Гераци, кафедра акушерства и гинекологии N1
0025, Ереван, ул. Корюна, 2,

²Милан, Университет «Vita Salute San Raffaele»

Ключевые слова: вирус папилломы человека, нейтрофилы, лимфоциты,
рак шейки матки

Введение

Впервые взаимосвязь между инфекциями вируса папилломы человека (ВПЧ) и раком шейки матки была продемонстрирована еще в начале 1980-х годов. С тех пор в результате проведенных исследований это стало общеизвестным фактом. В настоящее время рак шейки матки является третьим по распространенности раком у женщин. Существует множество современных исследований, в которых ВПЧ отмечается как серьезная проблема в развивающихся странах. В нашем обзоре литературы был осуществлен анализ литературных данных, посвященных изучению ВПЧ, а также изменению при этом соотношения нейтрофилов / лимфоцитов (НЛС). По ключевым словам был произведен поиск в международных и отечественных базах данных. Отобрано 38 источников, подходящих по тематике. Были идентифицированы многие механизмы, развивающиеся в организме при поражении данной инфекцией. Также было выявлено, что НЛС можно использовать в качестве прогностического биомаркера для молодых пациентов и пациентов с возможным влиянием лечения шейки матки на их последующую фертильность и беременность, а также для выявления пациентов с более высокой вероятностью рецидива и для предотвращения возможных побочных эффектов.

Современное представление о вирусе папилломы человека

В развивающихся странах рак шейки матки является наиболее распространенным типом рака и может составлять до 25% всех онкологических заболеваний у женщин [21]. В начале 1980-х годов немецким вирусологом Хаузенем была впервые продемонстрирована взаимосвязь

между заражением ВПЧ и раком шейки матки. С тех пор проведенные многочисленные исследования доказали, что степень зависимости плоскоклеточного рака шейки матки от ВПЧ намного выше, чем зависимость рака легких от курения [15]. В 1996 году Всемирная ассоциация здравоохранения в сотрудничестве с Европейской исследовательской организацией по генитальным инфекциям и неоплазиям постановили принять ВПЧ как значимую причину развития рака шейки матки [21].

Проблема рака шейки матки остается важным показателем глобального социального неравенства в отношении здравоохранения. По оценкам, ежегодно регистрируется 569 000 новых случаев заболевания и 310 000 смертей, из которых примерно 85% произошли в странах с низким и средним уровнем дохода [2]. В 2018 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) призвала к внедрению глобальных мер по ликвидации рака шейки матки, при этом одна из основных стратегий состоит в том, чтобы к 2030 году обследовать 70% женщин мира в возрасте от 35 до 45 лет и 90% женщин, находящихся под надлежащим лечением, чтобы достичь менее четырех новых случаев на 100 000 женщин [3].

Вирус папилломы человека является представителем семейства *Papillomaviridae*, это ДНК-содержащие вирусы, которые обладают способностью эффективно прятаться от иммунных реакций. Было установлено более 200 типов ВПЧ, которые подразделяются на 29 видов, большинство из которых являются патогенными для людей. ВПЧ в основном поражают дифференцирующийся плоский эпителий, связаны с кожными инфекциями, поражая почти все участки кожи человека и вызывая инфекции слизистых оболочек [7].

Таким образом, ВПЧ – это относительно небольшие вирусы без оболочки, диаметром 55 нм., обладают икозаэдрическим капсидом, состоящим из 72 капсомеров, которые содержат по крайней мере два капсидных белка, L1 и L2. Каждый капсомер представляет собой пентамер основного капсидного белка L1 [1]. Каждый капсид вириона содержит несколько копий (около 12 на вирион) второстепенного капсидного белка L2 [1]. При электронной микроскопии вирус чем-то напоминает мячик для гольфа.

Геном ВПЧ состоит из одной молекулы двухцепочечной кольцевой ДНК, содержащей приблизительно 7900 п.н., связанных с гистонами [13]. Все последовательности, кодирующие белок в открытой рамке считывания, ограничены одной цепью. Сам ВПЧ состоит из двух отдельных поздних областей – L1 и L2, а также шести отдельных ранних областей – E1, E2 и E4 через E7. L1 и L2 являются сохраненными областями в геноме ВПЧ и участвуют в продукции капсидного белка. Гены E6 и E7 являются регуляторами роста клеток и способны напрямую трансформировать клетки в злокачественный фенотип. Белок E6 связывает белок-супрессор опухоли p53 хозяина и способствует его деградации, что приводит к

эффективному подавлению функции p53. Это предотвращает апоптоз пораженной клетки и приводит клетку к дальнейшему генетическому повреждению [14]. Точно так же белок E7 нарушает нормальную активность гена ретинобластомы, pRb, делая его недоступным для связывания с E2F, клеточным фактором транскрипции. Несвязанный E2F способен напрямую стимулировать клеточный цикл, который не контролируется pRb (и p53, если E6 активен) из-за связывания E7. Опять же, это может привести к невыявленным геномным аномалиям и злокачественной трансформации клетки. E1 обычно участвует в репликации ДНК, тогда как E2 участвует в регуляции транскрипции E6 и E7 ВПЧ. E2 является частым местом интеграции ДНК, что позволяет нарушить работу генов E6 – E7. Поражение этих генов вызывает нарушение контроля транскрипции, позволяя генетическим изменениям оставаться неконтролируемыми, а aberrантному росту продолжаться без изменений [14]. Считается, что инфекция ВПЧ начинается в базальных или парабазальных клетках метапластического эпителия, что также зависит от клеточных взаимодействий [10].

Обычно ВПЧ проникает в цитоплазму клеток базального эпителия хозяина [19] и изолируется в своей кольцевой форме в виде частиц, называемых эписомами. Здесь может происходить репликация ВПЧ, он заполняет клеточную цитоплазму вирусными частицами, которые при световой микроскопии проявляются как области перинуклеарного просвета. Как только вирусные частицы попадают в ядро, они могут связываться с клеточной ДНК и интегрироваться в геном хозяина, вызывая геномные и протеомные изменения. Интеграция ВПЧ представляет собой биологически необходимый процесс, который, однако, не всегда вызывает опухолевую трансформацию [10]. Большинство сексуально активных женщин в какой-то момент своей жизни заражаются ВПЧ, для многих из них эти инфекции остаются бессимптомными и устраняются иммунной системой. Однако у некоторых женщин могут развиться стойкие инфекции ВПЧ, которые в дальнейшем могут перерасти в интраэпителиальную неоплазию шейки матки низкой или высокой степени и карциному шейки матки, или же регрессировать на любой стадии [18]. При многих поражениях, связанных с ВПЧ, которые прогрессируют в рак, геном вирусной ДНК ВПЧ интегрируется в геном хозяина. Этот процесс часто приводит к удалению многих ранних (E1, E2, E4 и E5) и поздних (L1 и L2) генов. Удаление L1 и L2 в процессе интеграции делает профилактические вакцины бесполезными против рака, связанного с ВПЧ. Кроме того, E2 является негативным регулятором онкогенов ВПЧ E6 и E7. Делеция E2 во время интеграции приводит к повышенной экспрессии E6 и E7 и, как полагают, вносит вклад в канцерогенез ВПЧ-ассоциированных поражений [38]. Онкопротеины E6 и E7 необходимы для инициации и поддержания злокачественных новообразований, ассоциированных с ВПЧ, и в

результате экспрессируются и присутствуют в трансформированных клетках [36].

Было также выявлено, что типы ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68 более тесно связаны с развитием цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) и инвазивным раком, при этом типы 16 и 18 являются причиной почти 70% случаев [29].

Инфекция ВПЧ, передаваемая половым путем, приводит к одному из трех возможных исходов, в значительной степени зависящих от типа ВПЧ.

- Первый исход – это аногенитальные бородавки (остроконечные кондиломы) на или вокруг гениталий и ануса как у мужчин, так и у женщин. Аногенитальные бородавки обычно связаны с ВПЧ-6 и ВПЧ-11 и не приводят к раку. Большинство из них протекают бессимптомно и могут спонтанно исчезнуть через 3-4 месяца, оставаться такими же или увеличиваться в размерах и количестве [32].
- Второй исход – латентная или неактивная инфекция, при которой мало кто знает, что они инфицированы, поскольку заметные симптомы возникают редко, а инфицированная область остается цитологически нормальной. ДНК ВПЧ присутствует примерно у 10% женщин с цитологически нормальным эпителием шейки матки. Обнаруженная ДНК ВПЧ в основном относится к ВПЧ-6, -11 и другим с низким риском развития рака.
- Третий вероятный исход – активная инфекция, которая связана с типами ВПЧ высокого риска, при которых вирус вызывает изменения в инфицированных клетках, что может привести к интраэпителиальной неоплазии полового члена, уретры, мочевого пузыря, влагалища, вульвы или шейки матки [32]. Данная инфекция может привести к раку шейки матки. Последующие исследования показали, в частности, что риск прогрессирования для ВПЧ-16 и -18 был больше примерно на 40%, чем для других типов.

Молекулярное обнаружение ДНК или РНК ВПЧ в настоящее время является золотым стандартом для идентификации ВПЧ. Три категории молекулярных анализов доступны для обнаружения инфекции ВПЧ в ткани и слущенных образцах клеток, все из которых основаны на обнаружении ДНК ВПЧ.

Основным методом выявления ВПЧ высокого риска по-прежнему является мазок, окрашенный по Папаниколау (Пап). Данный метод был назван в честь патолога Джорджа Папаниколау, который представил этот метод в 1949 году, до того как стала известна причина рака шейки матки [30]. С момента своего появления мазок Папаниколау помог снизить заболеваемость и смертность от рака шейки матки примерно

от половины до двух третей [26]. Мазок Папаниколау – это инструмент скрининга, который выявляет изменения в клетках зоны трансформации шейки матки. Часто эти изменения вызваны ВПЧ. Согласно последним рекомендациям Американского онкологического общества, обследование следует начинать в возрасте 21 года [25].

Вакцины традиционно использовались в качестве профилактического средства против инфекционных заболеваний. Было разработано несколько успешных профилактических вакцин против ВПЧ, нацеленных на главный капсидный белок L1 вирусной частицы [20]. Профилактические вакцины успешно предотвращают заражение ВПЧ здоровых пациентов, а также повторное инфицирование ранее инфицированных пациентов; однако они не способны лечить или устранять уже установленные инфекции ВПЧ и поражения, связанные с ВПЧ [21]. Одним из потенциальных методов лечения являются терапевтические вакцины против ВПЧ. В отличие от профилактических вакцин против ВПЧ, которые используются для выработки нейтрализующих антител против вирусных частиц, терапевтические вакцины используются для стимуляции клеточно-опосредованных иммунных ответов, направленных на специфическую мишень и уничтожение инфицированных клеток. Кроме того, терапевтические вакцины против ВПЧ, нацеленные на Е6 и Е7, могут обойти проблему иммунной толерантности к аутоантигенам, поскольку эти вирусы, кодирующие онкогенные белки, являются чужеродными белками для человеческого организма. По этим причинам онкопротеины Е6 и Е7 ВПЧ служат идеальной мишенью для терапевтических вакцин против ВПЧ [24].

Роль системного воспаления и, в частности, соотношения нейтрофилов / лимфоцитов при ВПЧ

В настоящее время признано, что иммунная система может быть ключевым компонентом сдерживания и контроля во время неопластического процесса. Рак аногенитального тракта и ротоглотки, ассоциированный с ВПЧ, представляет собой серьезную клиническую проблему. При этом имеется очевидная возможность целевого иммунного ответа на экспрессию вирусного онкогена, который стимулирует развитие рака. Однако инфицирование ВПЧ высокого риска целевого эпителия и экспрессия онкогенов Е6 / Е7 могут привести к раннему нарушению работы врожденной иммунной системы (потере антигенпрезентирующих клеток), способствуя сохранению вируса и повышению риска рака. В этих обстоятельствах последовательность взаимодействующих и аутоактивирующихся событий, опосредованных модуляцией различных иммунных рецепторов, хемокинов и цитокинов (CCL20; CCL2; CCR2; IL-6; CCR7; IL-12), дополнительно способствует выработке иммуносупрессивного микроокружения. Повышенная экспрессия Е6 / Е7 также ставит под угрозу способность восстанавливать клеточную ДНК, что приводит к геномной

нестабильности с приобретением генетических изменений, обеспечивающих размножение раковых клеток [33]. Несмотря на эффективность всемирно продолжающейся профилактической вакцинации, еще очень далеко до полного снижения заболеваемости раком шейки матки, и другими видами рака, ассоциированного с ВПЧ. Ключевым ограничивающим фактором в этом процессе является степень охвата вакцинацией, которая должна составлять более 80% для обеспечения максимальной защиты населения [17]. Типичная выживаемость при раке шейки матки, выявленном на I стадии, по данным Международной федерации гинекологии и акушерства, после хирургического лечения может быть превосходной. При этом 5-летняя выживаемость составляет 96, 95 и 80–93% в Великобритании, Германии и США соответственно. Однако более запущенные формы рака стадий II, III и IV, которые лечат с помощью химиолучевой терапии на основе платины, имеют более низкие показатели 5-летней выживаемости, соответственно составляющих около 15–16% [17].

К сожалению, доступные в настоящее время методы лечения могут вызвать токсическое воздействие на почки / печень, образование свищей, а при хроническом или рецидивирующем заболевании могут возникать метастазы рака в кости. Не существует эффективных вариантов лечения метастатического или рецидивирующего заболевания. Очевидно, что необходимы новые и эффективные методы лечения. На основании растущего объема клинической литературы, демонстрирующей доказательство принципа иммунной терапии для спектра заболеваний, связанных с ВПЧ [10], и что иммунная система может быть ключевым компонентом сдерживания и контроля во время неопластического процесса, возникла новая тенденция, направленная на разработку иммунотерапевтических подходов к лечению рака [33]. При этом цитотоксические Т-клетки являются ключевыми компонентами борьбы с раком, но они должны находиться в нужном месте и быть функциональными [28]. Генетические изменения, которые накапливаются во время неопластического процесса, также создают потенциальные мишени для адаптивного иммунного ответа Т-клеток. Это обеспечивает возможность контролировать даже гетерогенные опухоли за счет активации отдельных Т-клеток, распознающих множество опухолезависимых антигенов [27]. Данные антигены возникают в результате неопластического процесса, который зачастую вызван aberrантной экспрессией клеточных или вирусных онкогенов, а также любыми дополнительными мутациями, возникающими в результате повышенной нестабильности генома.

Таким образом, имея вирусную этиологию, вирусные онкогены, такие как ВПЧ Е6 и Е7 потенциально могут быть использованы с целью активации иммунных агентов. Ранняя активация врожденного иммунитета имеет решающее значение для соответствующей активации антиген-

презентирующих клеток (АПК), таких как дендритные клетки, или макрофаги, которые могут первыми реагировать на сигналы, исходящие от поврежденных клеток. Такое врожденное иммунное распознавание патогенных сигналов, вызванное специальными рецепторами распознавания патогенов (РРП), обеспечивает оптимальную обработку и представление антигенной среды опухоли и может определять направление последующего адаптивного ответа Т-клеток или антител, обеспечивая также формирование иммунологической памяти [16]. Для индукции адаптивного иммунитета требуется миграция активированных АПК во вторичные лимфоидные органы по градиенту хемокинов. Миграция АПК зависит от экспрессии CCR7, рецептора хемокинов CCL19/CCL21 в лимфатических узлах. Он коэкспрессируется также на АПК с другими маркерами созревания CD83 и костимулирующими молекулами, включая CD80 / CD86 [22].

Необходимо также отметить участие других клеток в микроокружении опухоли, включая как специфические, так и неспецифические индуцированные Treg, макрофаги M2, миелоидные супрессорные клетки, кроме того, опухолевые клетки и ассоциированные фибробласты также могут ограничивать и блокировать функцию специфических Т-клеток, тем самым способствуя сохранению новообразования [23]. Теперь ясно, что эффективный естественный клеточный иммунный контроль объясняет тот факт, что, хотя многие люди подвергаются естественному воздействию ВПЧ-инфекции, у них не развиваются стойкие инфекции, связанные с риском опухолевого прогрессирования. Существует множество доказательств важности онкоген-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов при ВПЧ клиренсе цервикальной интраэпителиальной неоплазии и значения отсутствия таких иммунных эффекторов в прогрессировании поражений высокой степени и рака [35]. Это подтверждается повышенной восприимчивостью к поражениям, связанным с ВПЧ, у пациентов с подавленным иммунитетом [8]. За последние 25 лет выяснилось, что предраковые и раковые образования высокой степени сочетаются с множеством иммуносупрессивных механизмов, способствующих подавлению иммунного ответа [4].

Так, было обнаружено повышение уровня воспалительных цитокинов у женщин со стойкими цервикальными инфекциями ВПЧ и заметным снижением иммунной функции, что является новым и несколько неожиданным фактом. Также считается, что описанные инфекции ВПЧ остаются локализованными в шейке матки. Исследования показали, что стойкая инфекция ВПЧ может привести к местной иммунной толерантности [9], что предполагает минимальное местное воспаление шейки матки, а также подавление маркеров периферического воспаления. Кроме того, в нескольких исследованиях описаны противовоспалительные механизмы,

индуцированные ВПЧ, такие как белок Е6 ВПЧ-16, ингибирующий экспрессию и передачу сигналов интерферонов и ИЛ-18 [5].

Таким образом, состояние иммунной системы является основополагающим фактором при спонтанном излечении ВПЧ, развитием ЦИН или же рака шейки матки. При этом соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (НЛС) является полезным фактором при оценке иммунного статуса [12]. Так, было установлено, что НЛС $<1,9$ (низкий уровень) и НЛС $\geq 1,9$ (высокий уровень) наблюдались у 68,1% и 39,1% пациентов с ЦИН, соответственно, а также, что НЛС и общее количество лейкоцитов могут быть прогностическими факторами, участвующими в прогнозировании рецидива и развития рака у пациентов с ЦИН [12].

Chun et al. также определили прогностическое значение соотношения нейтрофилов и лимфоцитов при рецидиве цервикальной интраэпителиальной неоплазии. При этом было выявлено, согласно анализу Каплана-Мейера, что частота рецидивов в течение всего периода наблюдения была значительно ниже в группе с высоким уровнем НЛС, чем в группе с низким уровнем. Таким образом, можно сделать вывод, что НЛС является независимым прогностическим фактором, указывающим на рецидив интраэпителиальной неоплазии после хирургической резекции [6].

Аналогичное исследование было проведено также Tas et al. Они наблюдали пациентов с плоскими интраэпителиальными поражениями низкой степени злокачественности, плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени злокачественности и пациентов с раком шейки матки. Их исследование показало, что пациенты с инвазивным раком имеют более высокий НЛС по сравнению с пациентами с поражениями низкой и высокой степени злокачественности. Кроме того, было выявлено, что увеличение НЛС является прогностическим фактором развития рака [34]. В предыдущих исследованиях сообщалось о тесной взаимосвязи между НЛС и воспалением. Повышенная концентрация нейтрофилов считается подтверждением неопластического прогрессирования и может подавлять противоопухолевые свойства лимфоцитов. Соответственно, НЛС может быть признано маркером баланса между предраковым воспалительным состоянием и злокачественным иммунным состоянием, а более высокий НЛС может указывать на развитие опухоли [31].

Результаты предыдущих исследований показывают также, что НЛС тесно связано с общей выживаемостью пациентов с различными типами опухолей, например опухолями легких, печени и яичников [37].

Заключение. НЛС можно использовать в качестве фактора, прогнозирувавшего рецидив ЦИН после эксцизионного лечения. Соответственно, у пациентов с высоким уровнем НЛС в предоперационной фазе можно удалить более обширный участок пораженной ткани во время операции или же провести краткосрочное наблюдение за пациентами и пре-

дупредить их о высоком риске рецидива. Таким образом, оценка гематологических маркеров не только надежный, но также простой и недорогой метод прогнозирования рецидива. При этом можно определить порог НЛС, который в дальнейшем использовался бы для пациентов с ЦИН II типа, и метод последующего лечения должен быть точно определен с учетом данного показателя. НЛС можно также использовать в качестве биомаркера для молодых пациентов и пациентов с возможным влиянием лечения шейки матки на их последующую фертильность и беременность, а также для выявления пациентов с более высокой вероятностью рецидива и предотвращения возможных побочных эффектов.

Поступила 10.06.21

Նեյտրոֆիլ / լիմֆոցիտների հարաբերակցության կանխատեսող արժեքը մարդու պապիլոմա վիրուսի վարակի դեպքում

Ա.Գ. Հարությունյան, Գ.Ա. Բեգլարյան

Մարդու պապիլոմավիրուսային (ՄՊՎ) վարակների և արգանդի վզիկի քաղցկեղի միջև կապն առաջին անգամ ցուցադրվեց 1980-ականների սկզբին: Այդ ժամանակից ի վեր ՄՊՎ-ի և արգանդի վզիկի տափակ բջջային քաղցկեղի կապը դարձել է համատարածված գիտելիք: Ներկայումս արգանդի վզիկի քաղցկեղը կանանց շրջանում երրորդ ամենատարածված քաղցկեղն է: Բազմաթիվ ընթացիկ ուսումնասիրություններ կան, որոնք ՄՊՎ-ն դիտում են որպես լուրջ խնդիր զարգացող երկրներում:

Գրականության հետագա ուսումնասիրության ընթացքում իրականացվել է գրականության տվյալների վերլուծություն՝ նվիրված մարդու պապիլոմավիրուսի ուսումնասիրությանը և նեյտրոֆիլ / լիմֆոցիտների հարաբերակցության փոփոխությանը (ՆԼՀ): Բանալի բառերը որոնվել են միջազգային և տեղական տվյալների բազաներում: Ընտրվել է թեմային առնչվող 37 աղբյուր: Բացահայտվել են բազմաթիվ մեխանիզմներ, որոնք զարգանում են օրգանիզմում ՄՊՎ-ի ազդեցությամբ: Պարզվել է նաև, որ ՆԼՀ-ն կարող է օգտագործվել որպես կանխատեսող կենսամարկեր երիտասարդ հիվանդների և արգանդի վզիկի բուժման հնարավոր ազդեցություն ունենալու հետ կապված հիվանդների մոտ՝ դրանց հետագա պտղաբերության և հղիության վրա: Ինչպես նաև նույնականացնելու հիվանդության կրկնվելու ավելի մեծ հավանականությունը և կանխելու հնարավոր կողմնակի ազդեցությունները:

Prognostic Value of Neutrophil / Lymphocytes Ratio in Human Papilloma Virus Infection

A.G. Harutyunyan, G.A. Beglaryan

The link between genital human papilloma virus (HPV) infections and cervical cancer was first demonstrated in the early 1980s. Since then, the link between HPV and cervical squamous cell carcinoma has become well established. Nowadays cervical cancer is the third most common cancer in women. There are numerous up to date studies highlighting HPV as major problem in developing countries.

In the following review the analysis of the literature data on HPV study and the change in this case, of neutrophils / lymphocytes (NLR) ratio was carried out. The keywords were searched in international and domestic databases. There were selected 37 sources relevant to the topic.

Many mechanisms have been identified that develop in the body when affected by HPV infection. It was also found that NLR can be used as a prognostic biomarker for young patients and patients with the possible impact of cervical treatment on their subsequent fertility and pregnancy, as well as to identify patients with a higher likelihood of recurrence and to prevent possible side effects.

Литература

1. Baker T. S., Newcomb W. W., Olson N. H., Cowser L. M., Olson C. and Brown J. C. Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys. J.*, 1991, 60:1445–1456.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018, GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68(6):394–424.
3. Canfell K. Towards the global elimination of cervical cancer. *Papillomavirus Res.* 2019, 8:100170.
4. Chaudhary B. and Elkord E. Regulatory T cells in the tumor microenvironment and cancer progression: role and therapeutic targeting. *Vaccines (Basel)*, 2016, 4. pii: E28.
5. Cho YS, Kang JW, Cho M, et al. Down modulation of IL-18 expression by human papillomavirus type 16 E6 oncogene via binding to IL-18. *FEBS Lett*, 2001, 501:139–145. [PubMed: 11470273].
6. Chun S., Shin K., Kim K.H. et al. The Neutrophil-Lymphocyte Ratio Predicts Recurrence of Cervical Intraepithelial Neoplasia, *Journal of Cancer*, 2017, vol. 8, 2017, 8(12): 2205-2211. doi: 10.7150/jca.19173.
7. Cubie H. A., 2013, Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology* 445, 21–34. doi: 10.1016/j.virol.2013.06.007
8. Denny LA, Franceschi S, de Sanjose S. et al. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression. *Vaccine* 2012, 30(Suppl. 5): F168–F174.
9. Doan T, Herd K, Street M, et al. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein expressed in peripheral epithelium tolerizes E7-directed cytotoxic T-lymphocyte precursors restricted through human (and mouse) major histocompatibility complex class I alleles. *J. Virol*, 1999, 73:6166–6170. [PubMed: 10364377]

10. *Doorbar J.* Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*, 2006, 110:525–41.
11. *Draper LM, Kwong ML, Gros A. et al.* Targeting of HPV-16+ epithelial cancer cells by TCR gene engineered T cells directed against E6. *ClinCancer Res.*, 2015, 21: 4431–4439.
12. *Farzaneh F., Faghih N., Hosseini M., Arab M., Ashrafganjoei T., Bahman A.,* Evaluation of Neutrophil–Lymphocyte Ratio as a Prognostic Factor in Cervical Intraepithelial Neoplasia Recurrence, *Asian Pac J Cancer Prev.*,20(8), 2365-2372, 2019, DOI:10.31557/APJCP.2019.20.8.2365
13. *Favre, M.* 1975. Structural polypeptides of rabbit, bovine, and human papillomaviruses. *J. Virol.* 15:1239–1247.
14. *Ferenczy A., Franco E.* Persistent human papillomavirus infection in cervical neoplasia. *Lancet Oncol.*, 2002, 3:11–6.
15. *Franco, E. L.* Cancer causes revisited:human papillomavirus and cervical neoplasia. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1995, 87:779–780.
16. *Garcon N., Stern P., Cunningham T. et al.* Understanding modern vaccines. Elsevier, 2011, <http://www.sciencedirect.com/science/journal/22107622>
17. *Garland SM, Kjaer SK, Munoz N, et al.* Impact and effectiveness of the quadrivalent human papillomavirus vaccine: a systematic review of 10 years of real-world experience. *Clin Infect Dis.*, 2016, 63: 519–527.
18. *Ghittoni R., Accardi R., Chiocca S., Tommasino M.* Role of human papillomaviruses in carcinogenesis. *Ecancermedicalscience*, 2015, 9:526.
19. *Giroglu, T., Florin L., Schafer F., Streek R. E. and Sapp M.* Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. *J. Virol.*, 2001, 75:1565–1570.137–148.
20. *Harper DM, Williams KB.* Prophylactic HPV vaccines: current knowledge of impact on gynecologic premalignancies., *Discov Med.*, 2010, 10(50):7–17.
21. *Harro C. D., Pang Y. S., Roden R. B. S., Hildesheim A., Wang Z., Reynolds M. J., Mast T. C., Robinson R., Murphy B. R., Karron R. A., Dillner J., Schiller J. T. and Lowy D. R.* 2001, Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 93:284–292.
22. *Johnson LA and Jackson DG.* Control of dendritic cell trafficking in lymphatics by chemokines. *Angiogenesis*, 2014, 17: 335–345.
23. *Kalathil SG and Thanavala Y.* High immunosuppressive burden in cancer patients: a major hurdle for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65: 813–819.
24. *Kash N., Lee MA., Kollipara R., Downing C., Guidry J., Tyring SK.* Safety and efficacy data on vaccines and immunization to human papillomavirus. *J Clin Med.*, 2015, 4(4):614–33.
25. *Koss LG. Chapter Part I: Inflammatory processes; Part II: Other benign disorders of the cervix and vagina.* In: Winters R, Orem E, Gibbons T (Eds): *Diagnostic Cytology* (4th Edn). JB Lippincott Co, Philadelphia, 1992, pp 314-370.
26. *Kurman, R. J., Henson D. E., Herbst A. L., Noeller K. L. and Schiffman M. H.,* 1994, Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. The 1992 National Cancer Workshop. *JAMA* 271:1866–1869.
27. *Lu YC and Robbins PF.* Targeting neoantigens for cancer immunotherapy. *Int Immunol.*, 2016, 28:365–370.
28. *Mlecnik B., Bindea G., Kirilovsky A. et al.* The tumor microenvironment and Immunoscore are critical determinants of dissemination to distant metastasis. *Sci Transl Med.*, 2016, 8: 327ra26
29. *Muntean M, Simionescu C, Taslica R, et al.* Cytological and histopathological aspects concerning pre-invasive squamous cervical lesions. *Curr Health Sci J.*, 2010, 36(1):26–32.
30. *Papanicolaou G. N.* A survey of actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. *Ann. Intern. Med.*, 1949, 31:661–674.

31. *Proctor M. J., McMillan D. C., Morrison D. S., Fletcher C. D., Horgan P. G., Clarke S. J.* A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer, *British Journal of Cancer*, 2012, vol. 107, no. 4, pp. 695–699.
32. *Shimoda, K., Lorincz A. T., Temple F. and Lancaster W. D.* Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. *J. Gen. Virol.*, 1988, 69:2925–2928.
33. *Smola S., Trimble C., Stern P.* Human papillomavirus-driven immune deviation: challenge and novel opportunity for immunotherapy *Ther Adv Vaccines*, 2017, vol. 5(3) 69– 82 DOI: 10.1177/2051013617717914
34. *Tas M., Yavuz A., Ak M. et al.* Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Discriminating Precancerous Pathologies from Cervical Cancer, *Hindawi Journal of Oncology Volume 2019, Article ID 2476082, 6 pages* <https://doi.org/10.1155/2019/2476082>
35. *Van der Burg SH, Arens R, Ossendorp F, et al.* Vaccines for established cancer: overcoming the challenges posed by immune evasion. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 219–233.
36. *Yang A., Jeang J., Cheng K., Cheng T., Yang B., Wu T.C., Hung C.F.* Current state in the development of candidate therapeutic HPV vaccines. *Expert Rev Vaccines.*, 2016, 15(8):989–1007
37. *Zheng J., Cai J., Li H. et al.*, Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio as prognostic predictors for hepatocellular carcinoma patients with various treatments: a meta-analysis and systematic review, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, vol. 44, no. 3, pp. 967–981.
38. *zur Hausen H.* Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.*, 2002, 2(5):342–50.