

Ассоциированные с инфекцией вируса папилломы человека маркеры возникновения и прогрессии цервикальных интраэпителиальных неоплазий: от научных разработок к клинической практике

Л.И. Короленкова

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Любовь Ивановна Короленкова l.korolenkova@mail.ru

Цервикальные интраэпителиальные неоплазии (ЦИН) – этапы развития рака шейки матки (РШМ) на фоне персистирующей инфекции, вызываемой вирусами папилломы человека (ВПЧ-инфекции), – заболевание, часто встречающееся у молодых женщин. Процесс канцерогенеза длится от 3–5 до 10–30 лет, в течение которых возможно своевременное выявление и органосохраняющее лечение поражений. Разработка маркеров персистенции ВПЧ-инфекции и перехода продуктивной фазы инфекции в трансформирующую (от ЦИН легкой степени тяжести к тяжелой) является основой современного подхода к скринингу ЦИН и РШМ и динамическому наблюдению больных. В обзорной статье представлены основные направления исследований по разработке маркеров, напрямую ассоциированных с ВПЧ-инфекцией (вирусная нагрузка HC2), типирование вируса, физический статус вируса, мРНК E6 и E7, соотношение E2/E6), а также опосредованных действием ее на клетки хозяина (p16^{INK4a}, hTERT). Подробно рассмотрены патогенетическое действие ранних генов ВПЧ и связь их с экспрессией основных суррогатных маркеров. Большинство представленных маркеров активно внедряют в клиническую практику за рубежом.

Ключевые слова: вирусогенетические маркеры, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, рак шейки матки, вирус папилломы человека, вирусная нагрузка, полуколичественный метод гибридного захвата, p16^{INK4a}, теломеразная обратная транскриптаза, скрининг

Human papillomavirus infection-associated markers of the occurrence and progression of cervical intraepithelial neoplasias: from research developments to clinical practice

L.I. Korolenkova

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Cervical intraepithelial neoplasias (CIN), the stages of development in cancer of the cervix uteri (CCU) during persisting infections caused by human papillomavirus (HPV), are a disease frequently occurring in young women. The carcinogenic process lasts 3-5 to 10-30 years during which timely detection and organ-saving treatment for the lesion are possible. The development of markers for the persistence of HPV infection and the transition of a productive to transforming phase of infection (from mild to severe CIN) is a basis for the current approach to screening for CIN and BC and to a patient follow-up. The review paper presents the main areas of studies developing markers that are directly associated with HPV infection (HC2 viral load), virus typing, viral physical status, E6 and E7 mRNA, E2/E6 ratio) and its mediated action on host cells (p16^{INK4a}, hTERT). The pathogenetic effect of HPV early genes and their association with the expression of basic surrogate markers are considered in detail. The majority of the presented markers are being actively put into clinical practice in foreign countries.

Key words: virus genetic markers, cervical intraepithelial neoplasia, cancer of the cervix uteri, human papillomavirus, viral load, semi-quantitative hybrid capture method, p16^{INK4a}, telomerase reverse transcriptase, screening

Введение

Этиологическая роль инфекции вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в канцерогенезе рака шейки матки (РШМ) в настоящее время считается доказанной. Наличие ВПЧ-инфекции характерно для абсолютного большинства предраковых повреждений шейки матки – цервикальных интраэпителиальных неоплазий (ЦИН) [1,2], среди которых

условно выделяют 3 степени (ЦИН I–III), соответствующие легкой (ЦИН I), умеренной (ЦИН II), тяжелой дисплазии и преинвазивному раку (ЦИН III). Классическая концепция цервикального канцерогенеза предполагает последовательную смену: ЦИН I – ЦИН II – ЦИН III – на фоне персистирующей ВПЧ-инфекции. В принципе, на любом из этих этапов могут наблюдаться регрессия, персистенция и прогрессия, хотя вероятность регрессии

варьирует в зависимости от тяжести повреждения: чем больше тяжесть повреждения, тем меньше вероятность регрессии. Обратное утверждение верно для персистенции и прогрессии. Для обозначения относительного риска прогрессии до цервикального рака в классической концепции ЦИН I относят к легким, а ЦИН II и III – к тяжелым, истинно предраковым повреждениям [3].

Современные знания, полученные при проведении когортных исследований естественно-го течения ВПЧ-инфекции, несколько изменили традиционные представления о развитии РШМ. В большинстве (80%) случаев ВПЧ элиминируется без всяких клинических проявлений, однако в 20% наблюдений развитие ЦИН происходит на фоне персистирующей инфекции. ЦИН I и некоторые виды ЦИН II, возникшие на фоне продуктивной инфекции, имеют относительно благоприятный прогноз и могут быть отнесены к легким повреждениям. Только при развитии трансформирующей инфекции (при некоторых типах ЦИН II и всех ЦИН III) возникает значительный риск перехода ЦИН в РШМ. Эти повреждения относят к ЦИН тяжелой степени. В недавних исследованиях показано также, что развитие ЦИН II–III может происходить минуя ЦИН I [4]. До начала развития ЦИН III и инвазивного рака проходит около 10–30 лет [3, 5, 6]. Половые органы могут быть поражены примерно 40 из 100 известных типов ВПЧ, среди которых выделяют вирусы высокого и низкого онкогенного риска. При плоскоклеточном РШМ и ЦИН тяжелой степени выявляют до 99,7% случаев (т.е. абсолютное большинство) ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82), среди которых преобладают 16-й (60–70%) и 18-й (15–20%) типы [7, 8]. Определение ВПЧ, наряду с проведением традиционного цитологического исследования, входит в скрининговые программы по выявлению РШМ во многих странах мира и иногда является I этапом скрининга.

В последнее время происходит активное внедрение программ вакцинации против ВПЧ-инфекции и связанных с ней заболеваний (вакцины Gardasil, Cervarix), но, поскольку применение вакцин не обеспечивает полной защиты от всех типов ВПЧ ВКР и является неэффективным у женщин, уже имеющих ВПЧ-инфекцию, скрининг РШМ в обозримом будущем останется насущной необходимостью [9, 10] и ВПЧ-тестирование станет основным скрининговым инструментом. Однако до сих пор не решен вопрос о способе выделения групп риска среди женщин с положительным ВПЧ. Высокая чувствительность тестирования приводит к обнаружению большого числа случаев транзитной ВПЧ-инфекции без развития клинически значимых повреждений.

Наиболее доступным способом выделения групп риска сегодня является цитологический метод, однако он недостаточно чувствителен в отношении ЦИН II–III (чувствительность составляет от 55 до 74%) [11–13]. У ВПЧ-положительных пациенток даже отсутствие изменений в мазках не позволяет полностью исключить наличие скрытых эпителиальных повреждений, вплоть до ЦИН II–III и даже инвазивного рака.

Выявление же больных ЦИН II–III и их своевременное лечение до развития инвазивного рака и является основным предназначением скрининга. Главная цель многих современных исследований – разработка маркеров, позволяющих разделить женщин с ВПЧ-положительным тестом на группы с продуктивной и трансформирующей ВПЧ-инфекцией, сопряженной с низким и высоким риском развития РШМ соответственно.

Геном ВПЧ – главный генетический маркер ЦИН и РШМ

Процесс ВПЧ-инфицирования начинается в клетках базального слоя, куда вирус проникает через микротравмы и участки воспаления. Репликация и образование вирионов происходит по мере дифференцировки клеток и перемещения их в верхние слои, где вирус собирает капсид и в процессе отшелушивания высвобождаются вирионы [14]. Эта стадия инфекции является продуктивной и может сопровождаться формированием ЦИН легкой степени. Далее продуктивная инфекция переходит в трансформирующую, и на протяжении многих лет разные степени неоплазии, как правило, последовательно сменяют друг друга. В молекулярно-биологическом плане это сопровождается нарушениями механизмов клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, нарастанием генетической нестабильности и индукцией иммортализации клеток.

Появление инвазивного процесса сопровождается нарушением межклеточных связей, выделением факторов, разрушающих базальную мембрану, стимулирующих внутрисосудистую инвазию, неопластический ангиогенез, сосудистую мимикрию.

Все это должно иметь специфические генетические, эпигенетические, протеомные изменения, изучение которых позволит в дальнейшем использовать их в многокомпонентной тестовой системе диагностики и прогноза ЦИН и начальных стадий рака. Возможно также использование наиболее значимых изменений для развития таргетной терапии РШМ.

Роль основных вирусных белков – продуктов ранних генов ВПЧ – в опухолевой трансформации эпителия шейки матки кратко представлена в таблице [4, 15–18].

Влияние ранних генов ВПЧ ВКР на пролиферацию и апоптоз клеток

Ранний ген	Функция белков
E1	Управляет транскрипционной активностью белка E2
E2	Взаимодействует с промоторной областью регуляторного участка URR (upstream regulatory region) и активирует транскрипцию вирусных генов. Разные формы белка могут быть как активаторами, так и супрессорами транскрипции. Фиксирует эписомальный геном вируса к хромосомам в процессе митоза. Создает оптимальные условия для персистенции инфекции и адекватного завершения жизненного цикла вируса и разрушается при интеграции вируса в геном. Уменьшение соотношения E2/E6 коррелирует с увеличением тяжести эпителиальных повреждений
E4	Кодирует белок, взаимодействующий с цитокератином, и увеличивает тем самым число новых вирусных частиц. Останавливает клеточный цикл в фазе G2, являясь, таким образом, антагонистом E7-опосредованной клеточной пролиферации. Вырабатывается на поздних стадиях жизненного цикла вируса, когда вирионы полностью сформированы в верхних слоях эпителия
E5	Увеличивает клеточную пролиферацию. Провоцирует повышение активности митогениндуцированных протеинкиназ
E6	Связывается с p53 и способствует быстрой его деградации через клеточную убиквитинлигазу. Активирует теломеразу
E7	Связывается с белком pRb, освобождает E2F и выводит клетки в S-фазу. Взаимодействует с ингибиторами циклинзависимых киназ. Индуцирует аномальное удвоение centrosом и приводит к возникновению анеуплоидии

На этапе продуктивной ВПЧ-инфекции ВКР до развития ЦИН II–III существует баланс экспрессий ранних вирусных генов E2, E4, E6 и E7, обеспечивающий завершение жизненного цикла вируса с образованием и выходом вирионов. Белок E2 ВПЧ 16-го типа является регуляторным протеином, незаменимым для создания оптимальных условий персистенции инфекции и адекватного завершения жизненного цикла вируса. При переходе продуктивной инфекции в трансформирующую фазу наблюдают дисрегуляцию экспрессии ранних вирусных генов с деградацией белка E2 и преобладанием активности E6/E7. В большинстве случаев неоплазированные клетки эпителия шейки матки содержат интегрированную ДНК ВПЧ с разрушенным белком E2. При интеграции разрыв кольцевой молекулы вирусной ДНК происходит или в конце гена E1, или в гене E2. Нарушение целостности ДНК приводит к изменению транскрип-

ции РНК – в этом случае отсутствует полноценный продукт гена E2 [19]. Некоторые авторы высказывают предположение о том, что именно потеря белка E2 является важным шагом в канцерогенезе, индуцированном ВПЧ-инфекцией [20].

Особая роль в процессе канцерогенеза принадлежит генам E6 и E7. E6 кодирует небольшой цинксвязываемый белок, который инактивирует и приводит к деградации p53 по убиквитинзависимому пути. Это уменьшает содержание p53 в пораженной клетке, что приводит к утрате контроля за механизмами репарации ДНК и повреждениями в клетках. Белок E7 (малый цинксвязывающий белок) подавляет путь белка ретинобластомы (pRb) на нескольких уровнях, в основном за счет связывания самого pRb, что обуславливает его деградацию и освобождение транскрипционного фактора E2F. В результате возникает утрата транскрипционного контроля над клеточным циклом и происходит неконтролируемая клеточная пролиферация. Было предложено использовать соотношение E2/E6 в качестве потенциального маркера перехода продуктивной вирусной инфекции в трансформирующую, так как уменьшение данного индекса коррелирует с тяжестью эпителиальных повреждений: значение <0,90 соответствует ЦИН II–III, а <0,17 – злокачественному процессу [21]. Прямое обнаружение генов E6 и E7 на практике крайне затруднительно из-за низкого уровня их в клетке. Судить о них можно посредством определения MCM, PCNA, Ki-67 и p16^{INK4a}, которые экспрессируются в пораженных вирусом эпителиальных слоях и могут служить суррогатными маркерами экспрессии вирусных онкогенов [9–11]. Важной альтернативой определения генов E6 и E7 является обнаружение мРНК вируса.

Белки E4 и L1 могут быть определены непосредственно. Белок E4 относится ко второму классу маркеров, манифестирующих амплификацию вирусного генома, и экспрессируется в нижних слоях эпителия. Белок L1 экспрессируется в поверхностных зрелых слоях эпителия и является маркером завершения жизненного цикла ВПЧ, так как представляет белок вирусного капсида. Эти белки служат биомаркерами продуктивной вирусной инфекции. Наряду со степенью повреждения может изменяться и физический статус вируса: эписомальная форма чаще соответствует легкой, а смешанная и интегрированная – тяжелой степени повреждений. Отмечена разница в физическом статусе ДНК ВПЧ 16-го типа и соотношении генов E2/E6 при различной степени эпителиальных повреждений: при ЦИН I доминировали эписомальная (72,2%) и эписомально-интегрированная (27,8%) формы ВПЧ, при ЦИН II–III – эписомально-интегрированная форма (73,5%); при раке преобла-

дала интегрированная форма (81,8%), а эписомальная форма отсутствовала. По мнению некоторых исследователей, концентрация вируса в эписомальной и интегрированной формах, определенная методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), которую проводили в режиме реального времени, также может служить маркером тяжести повреждений [22].

В клинической практике для выделения групп риска развития ЦИН и/или РШМ у женщин, во влагалищных мазках которых обнаружены аномалии, наиболее часто используют определение ВПЧ ВКР в скарификате цервикального канала методом ПЦР или полуколичественным методом гибридного захвата (НС2) [23]. Исследование ВПЧ ВКР методом ПЦР, включающее 10–15 типов вируса, — самый распространенный и экономически выгодный клинический тест, позволяющий обнаружить или исключить факт инфицирования. Выявление ВПЧ часто служит пусковым механизмом подробного обследования инфицированных женщин, включающего, кроме традиционного цитологического метода, расширенную кольпоскопию и гистологическое исследование прицельно взятого биоптата. Определение конкретного типа ВПЧ ВКР методом ПЦР может иметь также значение для прогнозирования течения заболевания. Самыми агрессивными считают 16-й и 18-й типы вируса, которые встречаются наиболее часто при тяжелых ЦИН и РШМ. Возраст пациенток с РШМ, вызванным ВПЧ 16–18-го типов, отличающихся более быстрой прогрессией ЦИН, на 3,5–5 лет меньше, чем при других типах [24]. Высказано предположение о том, что отдельные типы ВПЧ провоцируют хромосомную нестабильность разной степени, следствием чего и являются разные частота интеграции и время, необходимое для прогрессии ЦИН III до цервикального рака. Интеграция вирусов 16, 18 и 45-го типов в геном клетки-хозяина происходит значительно чаще, чем, например, 31-го или 33-го типов [25]. ВПЧ 6-го и 11-го типов (низкого онкогенного риска) вызывают в основном легкие эпителиальные повреждения (ЦИН I–II) и присутствуют исключительно в эписомальной форме [26]. Тест НС2 полуколичественный и отражает для любого из 13 наиболее часто встречающихся типов ВПЧ только клинически значимые концентрации вируса >1,0 пг/мл (100 тыс. копий в 1 мл), причем может быть негативным при положительной ПЦР. Тест позволяет «отсеять» пациенток с транзитной ВПЧ-инфекцией в процессе или после элиминации вируса без развития ЦИН. НС2 является «золотым» стандартом скрининга ЦИН и РШМ во многих странах, также его применяют для относительной оценки эффективности вновь предложенных тестов на ВПЧ [27]. Рядом авторов отмечена прямая зави-

симость между концентрацией ВПЧ, выявленной с помощью НС2, и степенью эпителиальных повреждений [22, 28]. При отрицательном НС2 можно со 100% уверенностью говорить об отсутствии эпителиальных повреждений у пациенток с ASC-H (атипичные плоские клетки, нельзя исключить наличие тяжелых интраэпителиальных повреждений) в мазках [29]. Кроме исключительной значимости для проведения диагностики ЦИН у женщин с аномалиями в мазках, НС2 играет важную роль в динамическом наблюдении пациенток после выполнения им органосохраняющих операций по поводу тяжелых ЦИН и микроинвазивного рака. После конизации или петлевого иссечения зоны трансформации (large loop excision of the transformation zone — LLETZ) в случае полной эксцизии всех измененных тканей НС2 становится негативным независимо от начальной вирусной нагрузки. Женщины, получавшие лечение по поводу ЦИН II–III, продолжают оставаться в группе повышенного риска возникновения рецидива на протяжении >10 лет. Вирусная нагрузка определяет вероятность развития рецидива и дает возможность спрогнозировать течение заболевания на ближайшие сроки [30]. При изучении прогностических факторов рецидива у больных с положительным краем резекции при отрицательном НС2 возникновение рецидива зафиксировано в 9,3%, а при положительном — в 36,4% случаев. При отрицательном крае резекции и отрицательном НС2 развития рецидивов не наблюдалось [31]. Таким образом, результаты НС2 можно считать более важным прогностическим фактором, чем состояние края резекции. Отрицательная прогностическая ценность ВПЧ-теста для диагностики рецидива или неизлеченности после органосохраняющих операций приближается к 100% [31–33].

Клинически перспективные маркеры трансформирующей вирусной инфекции

Гиперэкспрессия белка p16^{INK4a} возникает в случае инактивации белка ретинобластомы онкопротеином E7 ВПЧ ВКР. E7 нарушает связывание pRb с транскрипционным фактором E2F и таким образом инициирует запуск клеточного цикла (обычно этот переход происходит под воздействием циклинзависимых киназ CDK4/6). Для противодействия «несанкционированной» активации клеточного цикла пораженные клетки в больших количествах вырабатывают p16, однако должного эффекта это не дает, поскольку активация E2F происходит не посредством действия циклинзависимых киназ, а с помощью белка E7 [34, 35]. Гиперэкспрессия p16^{INK4a} прогрессивно возрастает параллельно увеличению степени эпителиальных повреждений от ЦИН I до цервикального рака [36, 37]. Гиперэкспрессия

p16^{INK4a} встречалась у 32,4% больных с ЦИН I, 82,1% – с ЦИН II, 93,2% – с ЦИН III и у всех больных с инвазивным раком. Наблюдаемый скачок частоты встречаемости гиперэкспрессии при ЦИН II свидетельствует о том, что ВПЧ-опосредованные расстройства регуляции клеточного цикла часто происходят именно на уровне повреждения ЦИН II [32].

Таким образом, p16^{INK4a} можно считать маркером перехода продуктивной инфекции в трансформирующую, т.е., по сути, перехода легких потенциально обратимых повреждений (ЦИН I) в тяжелые (ЦИН II–III) [35, 38, 39]. В связи с тем что ЦИН II может иметь различное течение и высокую вероятность регрессии (до 42% случаев) [40], p16 можно считать оптимальным маркером для разделения пациенток с ЦИН II на группы с легкими и тяжелыми повреждениями. Определение p16 может осуществляться не только иммуногистохимически – в биоптатах шейки матки, но и иммуноцитохимически (ИЦХ) – в скарификатах из экто- и эндоцервикса. При применении жидкостной технологии изготовления мазков (Surepath, ThinPrep) клеточную жидкость можно использовать не только для проведения рутинного цитологического исследования, но и для осуществления дополнительных ИЦХ-исследований на выявление потенциальных маркеров прогрессии ЦИН, в том числе p16 [41, 42]. Это дает возможность применения полученного неинвазивным способом клеточного материала для одномоментной стратификации женщин с пограничными результатами мазков.

Другим перспективным маркером прогрессии ЦИН является теломераза – фермент, компенсирующий укорочение теломер в процессе повторяющихся репликаций и увеличивающий лимит делений эукариотической клетки. Теломераза состоит из 2 субъединиц: каталитической субъединицы TERT (теломеразная обратная транскриптаза – hTERT) и РНК-шаблона TERC (или hTR). Посредством использования TERC TERT добавляет повторяющуюся последовательность из 6 нуклеотидов 5'-ТТАГГГ к 3'-нити хромосом. Эти повторяющиеся последовательности ТТАГГГ вместе со своими парными белками и называются теломерами. В большинстве соматических клеток теломеразной активности не обнаружено, и их репликативный потенциал конечен. Экспрессия hTERT характерна преимущественно для герминальных и стволовых клеток, а также для клеток некоторых опухолей [43, 44]. Иммуортализация клеток за счет активации каталитической субъединицы теломеразы hTERT является одним из основных эффектов белка Е6 ВПЧ 16-го типа [45–47]. Онкобелок Е6 ВПЧ в комплексе с с-тус может напрямую активировать транскрип-

цию hTERT. Этому косвенно способствует Е6АР-зависимая деградация естественного супрессора промотора hTERT – NFX1-91 [39, 45, 48, 49].

Кроме того, при цервикальном канцерогенезе описан и ВПЧ-независимый механизм активации теломеразы, связанный с утратой супрессора теломеразы в хромосоме 6q [50]. Обнаружена также значительная корреляция между активацией hTERT и утратой гетерозиготности в 6q14–22 при ЦИН III и РШМ [51]. Существуют данные о взаимосвязи экспрессии p53 и hTERT. Подавление p53 роста опухолевых клеток приводит к апоптозу или остановке клеточного цикла в фазе G1, что сопровождается полным подавлением теломеразной активности в опухолевых клетках *in vitro*. В линиях клеток РШМ человека подавление теломеразной активности при экспрессии p53 происходит в основном за счет взаимодействия p53 с многочисленными активаторами транскрипции – Sp1-связывающими участками промотора hTERT [52]. При образовании комплекса p53 с Sp1 последний теряет способность активировать промотор hTERT. Через подавление hTERT p53 осуществляет свою роль опухолевого супрессора. При деградации p53 под действием гена Е6 ВПЧ ВКР в процессе естественного развития РШМ одновременно с нарушением процесса апоптоза происходит активация теломеразы с иммортализацией клеток.

Экспрессия hTERT повышается по мере увеличения степени тяжести ЦИН [53–56]. Это свидетельствует о том, что активация теломеразы происходит на ранних этапах канцерогенеза [44]. Прогностическая ценность экспрессии hTERT в качестве специфического маркера ЦИН составляет 98,7%, а специфичность – 90%. Отмечено резкое повышение экспрессии hTERT при ЦИН III. Экспрессия hTERT также прямо пропорциональна степени вирусной нагрузки ВПЧ ВКР [57]. Обнаружена разница в распределении hTERT-положительных клеток в слоях эпителия шейки матки: в нормальных тканях эти клетки локализованы в базальном слое, в то время как при ЦИН II–III они уже распространяются на всю толщу эпителия [58]. Активность теломеразы можно выявить не только в биоптатах, но и в мазках, взятых с шейки матки и из цервикального канала [59, 60].

Неинвазивный способ получения материала ценен для широкого клинического применения, однако обнаружение теломеразы в цитологическом материале или в биоптатах в качестве биомаркера для «сортировки» женщин с пограничными результатами мазков остается предметом споров и требует проведения дальнейших исследований [61, 62].

Заключение

Изучение роли ВПЧ ВКР в развитии РШМ открыло новые возможности для скрининга, профилактики и поиска маркеров возникновения и прогрессии ЦИН. В настоящее время проводят широкое исследование маркеров, напрямую ассоциированных с геномом ВПЧ и опосредованных трансформирующим действием его на клетку-хозяина, часть их уже активно применяют в клинической практике. Геном ВПЧ служит главным маркером ЦИН и РШМ. Обнаружение ВПЧ с помощью ПЦР и еще более информативного метода НС2 признано необходимым инструментом для проведения скрининга и диагностики предрака и ранних форм РШМ, эффективно дополняющим традиционный цитологический метод. ВПЧ-тест НС2 является незаменимым для осуществления контроля эффективности лечения ЦИН, так как отличается

100% негативной предсказательной ценностью в отношении неизлеченности. Изменение вирусной нагрузки — основа прогнозирования течения и мониторинга заболевания. Тест НС2 может быть рекомендован для включения в организованный и оппортунистический скрининг и внедрения в практику наблюдения за пациентками с ЦИН в России. Применение ИЦХ-теста на р16 позволяет выделить среди ВПЧ-инфицированных женщин больных с трансформирующей инфекцией и высоким риском развития ЦИН тяжелой степени и РШМ. Перспективным маркером перехода легких эпителиальных повреждений в тяжелые является теломераза. Использование уровня экспрессии hTERT, а также определение генов Е6/Е7 и их мРНК, физического статуса вируса, соотношения ранних и поздних генов ВПЧ в клинической практике требует дальнейшего изучения.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Zur Hausen H. Human genital cancer: Synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events? *Lancet* 1982;2:1370–2.
- Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:690–8.
- McCredie M.R., Sharples K.J., Paul C. et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008;9:425–34.
- Киселев Ф.Л., Мазуренко Н.Н., Волгарева Г.М., Киселев Н.П. Взаимодействие вирусных и клеточных генов при раке шейки матки. *Мол биол* 2004;38(2):224–32.
- Schiffman M., Castle P.E., Jeronimo J. et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007;370:890–907.
- Snijders P.J., Steenbergen R.D., Heideman D.A., Meijer C.J. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006;208:152–64.
- Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
- Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(1):12–9.
- Heideman D., Snijders P., Berkhof J. et al. Vaccination against HPV: indications for women and the impact on the cervical screening programme. *BJOG* 2008;115:938–46.
- Kiviat N.B., Hawes S.E., Feng Q. Screening for cervical cancer in the era of the HPV vaccine — the urgent need for both new screening guidelines and new biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:290–1.
- Naucleer P., Ryd W., Törnberg S. et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(2):88–99.
- Soutter W.P., Butler J.S., Tipples M. The role of colposcopy in the follow up of women treated for cervical intraepithelial neoplasia. *BJOG* 2006;113(5):511–4.
- Ullal A., Roberts M., Bulmer J.N. et al. The role of cervical cytology and colposcopy in detecting cervical glandular neoplasia. *Cytopathology* 2008;20(6):359–66.
- Von Knebel-Doerberitz M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *Eur J Cancer* 2002;38:2229–42.
- Киселев Ф.Л. Генетические и эпигенетические факторы прогрессии опухолей шейки матки. *Вестн РАН* 2007;(11):25–32.
- Мазуренко Н.Н. Роль вирусов папиллом в канцерогенезе шейки матки. *Актуал вопр клин онкол* 2003;5(1):7–10.
- Dao L.D., Duffy A., Van Tine B.A. et al. Dynamic localization of the human papillomavirus type 11 origin binding protein E2 through mitosis while in association with the spindle apparatus. *J Virol* 2006;80:4792–800.
- Jo H., Kim J.W. Implications of HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Ther* 2005;3:419–34.
- Лекции по онкогинекологии. Под ред. М.И. Давыдова, В.В. Кузнецова. М.: МЕДпресс-информ, 2009.
- Olejnik-Schmidt A.K., Schmidt M.T., Kędzia W., Goździcka-Józefiak A. Search for cellular partners of human papillomavirus type 16 E2 protein. *Arch Virol* 2008;153(5):983–90.
- Cricca M., Morselli-Labate A.M., Venturoli S. et al. Viral DNA load, physical status and E2/E6 ratio as markers to grade HPV16 positive women for high-grade cervical lesions. *Gynecol Oncol* 2007;106(3):549–57.
- Fontaine J., Gravitt P., Duh L.M. et al. High level of correlation of human papillomavirus-16 DNA viral load estimates generated by three real-time PCR assays applied on genital specimens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(9):2200–7.
- Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Современные представления о канцерогенезе рака шейки матки. *Практ онкол* 2002;3(3):145–55.
- Bosch F.X. Global Burden of HPV Associated Diseases. In: Workshop book, 25th International Conference Clinical and Educational Workshop 2009; p. 44–83.
- Vinokurova S., Wentzensen N., Kraus I. et al. Type dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res* 2008;68:307–13.
- Hudelist G., Manavi M., Pischinger K.I. et al. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic

- cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol* 2004;92(3):873–80.
27. Petry K.U. Textbook of gynecological oncology. Güneş Publishing, 2009; p. 63–6.
 28. Li H., Geng L., Guo Y.L. et al. Analysis of diagnosis and treatment of vaginal intraepithelial neoplasia and correlation to cervical intraepithelial neoplasia. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2009;44(3):171–4.
 29. Mei P., Liu Y.H., Li M., Luo X.L. Significance of high-risk human papillomavirus DNA in atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2009;38(5):337–9.
 30. Herbert A. Cervical cancer prevention: screening. 25th International Conference Clinical and Educational Workshop 2009. In: Workshop book; p. 125–39.
 31. Prato B., Ghelardi A., Gaducci A., Marchetti I. Correlation of recurrence rates and times with posttreatment human papillomavirus status in patients treated with loop electrosurgical excision procedure conization for cervical squamous intraepithelial lesions. *Intern J Gynecol Cancer* 2008;8(1):90–4.
 32. Park J., Bae J., Lim M.C. et al. Role of high risk-human papilloma virus test in the follow-up of patients who underwent conization of the cervix for cervical intraepithelial neoplasia. *J Gynecol Oncol* 2009;20(2):86–90.
 33. Park J.Y., Lee S.M., Yoo C.W. et al. Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy following conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2007;107:39–44.
 34. Gonzalez S.L., Stremmler M., He X. et al. Degradation of the retinoblastoma tumor suppressor by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is important for functional inactivation and is separable from proteasomal degradation of E7. *J Virol* 2001;75:7583–91.
 35. Wëntzensen N., von Knebel D.M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers* 2007;23:15–30.
 36. Benevolo M., Mottolise M., Marandino F. et al. Immunohistochemical expression of p16 (INK4a) is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol* 2006;19(3):384–91.
 37. Ishikawa M., Fujii T., Saito M. et al. Overexpression of p16^{INK4a} as an indicator for human papillomavirus oncogenic activity in cervical squamous neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(1):347–53.
 38. Lambert A.P., Anshau F., Schmitt V.M. p16^{INK4a} expression in cervical premalignant and malignant lesions. *Exp Mol Pathol* 2006;80:192–6.
 39. Queiroz C., Silva T.C., Alves V.A. et al. P16^{INK4a} expression as a potential prognostic marker in cervical pre-neoplastic and neoplastic lesions. *Pathol Res Pract* 2006;202:77–83.
 40. Guedes A.C., Brenna S.M.F., Coelho S.A.S. et al. p16^{INK4a} expression does not predict the outcome of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17:1099–103.
 41. Akpolat I., Smith D.A., Ramzy I. et al. The utility of p16^{INK4a} and Ki-67 staining on cell blocks prepared from residual thin-layer cervicovaginal material. *Cancer* 2004;102:142–9.
 42. Murphy N., Ring M., Killalea A.G. et al. P16^{INK4a} as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrepTM smears. *J Clin Pathol* 2003;56:56–63.
 43. Киселев Ф.Л., Петренко А.А., Донцова О.А. и др. Теломеразная активность и сплайсированные формы РНК hTERT в опухолях шейки матки. *Вопросы онкологии* 2010;(1):29–35.
 44. Telomeres and telomerase in cancer. Hiyama K. ed. NY: Humana Press (Springer Science), 2009.
 45. Gewin L., Galloway D.A. E box-dependent activation of telomerase by human papillomavirus type 16 E6 does not require induction of c-myc. *Virology* 2001;75:7198–201.
 46. Horikawa I., Barrett J.C. Transcriptional regulation of the telomerase hTERT gene as a target for cellular and viral oncogenic mechanisms. *Carcinogenesis* 2003;24:1167–76.
 47. McMurray H.R., McCance D.J. Human papillomavirus type 16 E6 activates TERT gene transcription through induction of c-myc and release of USF-mediated repression. *J Virol* 2003;77:9852–61.
 48. James M.A., Lee J.H., Klingelutz A.J. HPV16-E6 associated hTERT promoter acetylation is E6AP dependent, increased in later passage cells and enhanced by loss of p300. *Int J Cancer* 2006;119:1878–85.
 49. Xu M., Luo W., Elzi D.J. et al. NFX1 interacts with mSin3A/HDAC to repress hTERT transcription in keratinocytes. *Mol Cell Biol* 2008;28(15):4819–28.
 50. Steenbergen R.D., Kramer D., Meijer C.J. et al. Telomerase suppression by chromosome 6 in a human papillomavirus type 16-immortalized keratinocyte cell line and in a cervical cancer cell line. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:865–72.
 51. van Duin M., Steenbergen R.D., de Wilde J. et al. Telomerase activity in high-grade cervical lesions is associated with allelic imbalance at 6Q14-22. *Int J Cancer* 2003;105:577–82.
 52. Kanaya T., Kyo S., Hamada K. et al. Adenoviral expression of p53 represses telomerase activity through down-regulation of human telomerase reverse transcriptase transcription. *Clin Cancer Res* 2000;6:1239–47.
 53. Kailash U., Soundararajan C.C., Lakshmy R. et al. Telomerase activity as an adjunct to high-risk human papillomavirus types 16 and 18 and cytology screening in cervical cancer. *Br J Cancer* 2006;95:1250–7.
 54. Reddy V.G., Khanna N., Jain S.K. et al. Telomerase-A molecular marker for cervical cancer screening. *Int J Gynecol Cancer* 2001;11:100–6.
 55. Wang P.H., Ko J.L. Implication of human telomerase reverse transcriptase in cervical carcinogenesis and cancer recurrence. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:1873–9.
 56. Wisman G.B., Knol A.J., Helder M.N. et al. Telomerase in relation to clinicopathologic prognostic factors and survival in cervical cancer. *Int J Cancer* 2001;91:658–64.
 57. Branca M., Giorgi C., Ciotti M. et al. Upregulation of telomerase (hTERT) is related to the grade of cervical intraepithelial neoplasia, but is not an independent predictor of high-risk human papillomavirus, virus persistence, or disease outcome in cervical cancer. *Diagn Cytopathol* 2006;34(11):739–48.
 58. Frost M., Bobak J.B., Gianani R. et al. Localization of telomerase hTERT protein and hTR in benign mucosa, dysplasia, and squamous cell carcinoma of the cervix. *Am J Clin Pathol* 2000;114:726–34.
 59. Heselmeyer-Haddad K., Sommerfeld K., White N.M. et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol* 2005;166(4):1229–38.
 60. Zheng P.S., Iwasaka T., Zhang Z.M. et al. Telomerase activity in Papanicolaou smear-negative exfoliated cervical cells and its association with lesions and oncogenic human papillomaviruses. *Gynecol Oncol* 2000;77:394–8.
 61. Jarboe E.A., Thompson L.C., Heinz D. et al. Telomerase and human papillomavirus as diagnostic adjuncts for cervical dysplasia and carcinoma. *Human Pathology* 2004;35(4):396–402.
 62. Reesink-Peters N., Helder M.N., Wisman G.B. et al. Detection of telomerase, its components, and human papillomavirus in cervical scrapings as a tool for triage in women with cervical dysplasia. *J Clin Pathol* 2003;56:31–5.