



<sup>1</sup> Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Республики Узбекистан

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

<sup>3</sup> Иркутский государственный медицинский университет

# Онкогенный потенциал тканей у пациентов с остроконечными кондиломами гениталий

Т.А. Набиев<sup>1</sup>, Д.Ф. Порсохонова<sup>1</sup>, В.С. Новоселов<sup>2</sup>, А.И. Якубович<sup>3</sup>,  
М.А. Абдуллаев<sup>1</sup>

Адрес для переписки: Дэля Фозиловна Порсохонова, delya.porsokhonova@mail.ru

*В статье представлены результаты изучения онкопротеинов p53 у пациентов с остроконечными кондиломами гениталий. Пациенты основной группы были рандомизированы по принципу наличия/отсутствия онкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) (16/18, 31/33). Контрольную группу составили здоровые лица. В зависимости от онкогенных типов ВПЧ присутствие полиморфизма Arg72 гена p53 было различным. Однако при парном сравнении групп статистически значимых различий в уровне накопления мутантного гена p53 не выявлено. В группе ВПЧ 16/18 тенденция к повышению экспрессии p53 была более выраженной, чем в группе ВПЧ 31/33, группе с остроконечными кондиломами без ВПЧ 16/18 и 31/33, а также группе здоровых лиц. В этой же группе отмечались наибольшее количество рецидивов и более интенсивный рост кондилом. Следовательно, пациентам с остроконечными кондиломами, у которых идентифицирован ВПЧ 16/18, требуются более ранняя и адекватная диагностика и лечение.*

**Ключевые слова:** остроконечные кондиломы гениталий, вирус папилломы человека, онкогенные типы, мутантный ген p53

Последние годы внимание врачей разных специальностей все больше привлекают заболевания, ассоциированные с вирусом папилломы человека (ВПЧ) [1, 2]. Это связано с резким ростом инфицирования, значительной контагиозностью и способностью данного возбудителя трансформировать

эпителиальные клетки, что в конечном итоге приводит к злокачественным новообразованиям [3–6].

Установлено, что у 15–28% женщин с ДНК ВПЧ (даже при нормальной цитологии) в течение нескольких лет развивается интраэпителиальная карцинома. Развитие неоплазии в отсут-

ствии ДНК ВПЧ отмечается лишь в 1–3% случаев.

В настоящее время папилломавирусная инфекция (ПВИ) считается главным этиологическим фактором развития рака шейки матки. В структуре летальных исходов у женщин репродуктивного возраста рак шейки матки занимает первое место среди других типов рака [4, 7, 8].

Течение ПВИ может осложняться усилением онкогенного потенциала тканей, пораженных вирусом. Однако для развития онкологического процесса помимо персистенции генома ВПЧ необходимо нарушение структуры и функции клеточных генов [6]. Иницирующим фактором служит мутация в разных участках генов E1/E2, отвечающих за эписомальный статус ДНК ВПЧ.

При повреждении гена E1 происходит интеграция генома ВПЧ в хромосомы клетки хозяина. Поскольку гены E1/E2 регулируют и контролируют вирусную транскрипцию, их разрушение завершается неконтролируемой экспрессией генов E6/E7, запускающих процессы опухолевой трансформации.

Аномально повышенная экспрессия генов E6 и E7 приводит



к выработке онкобелков Е6 и Е7 в цитоплазме клетки-хозяина. Онкогенные свойства продуктов Е6/Е7 обусловлены способностью образовывать комплексы с белками р53 (для Е6) и рRb (для Е7). ВПЧ Е6 связывает и приводит к деградации белка р53 – супрессора опухолевого роста, воздействует на теломеразу, стимулирующую клеточную immortalization, и на другие белки, регулирующие апоптоз и дифференциацию клетки. Белок Е7 связывает и функционально инактивирует рRb. Указанный опухолевый супрессорный ретинобластомный белок является регулятором ДНК-синтеза (S) фазы клеточного деления и связанных с ним белков р107 и р130. Эта инактивация обуславливает аккумуляцию мутаций, дисрегуляцию цикла клеточной прогрессии и является критической ступенью цервикального канцерогенеза.

При изменении нормальных функций р53 клетка, которая должна была погибнуть, начинает бесконтрольно делиться, и происходит опухолевидный рост. Белок Е7 нейтрализует противовирусную и противоопухолевую активность интерферона альфа благодаря способности избирательно блокировать большинство генов, индуцируемых интерфероном, сводя на нет действие интерферонотерапии. Данный белок также ингибирует экспрессию генов основного комплекса гистосовместимости, затрудняя распознавание опухо-

левых клеток иммунной системы хозяина. Кроме того, белок Е6 совместно с белком Е7 влияет на экспрессию гена, кодирующего интерлейкин 18, что также обеспечивает ускользание от иммунного ответа [9, 10].

Наличие онкобелков Е6/Е7 в материале из цервикального канала или шейки матки может рассматриваться как начало процесса перестройки в эпителиальных клетках, что имеет важное клиническое значение [9]. Клиническая картина и исход ПВИ зависят не только от типа вируса, но и от формы инфекции. Большинство случаев (80–90%) инфицирования завершаются спонтанной элиминацией ВПЧ, в то время как длительное персистенция ВПЧ способно приводить к злокачественной трансформации клеток эпителия шейки матки, а согласно последним данным, и тканей гениталий [1–3].

Персистенция ВПЧ, включая его онкогенные штаммы, в шейке матки изучена больше, чем в других тканях генитального тракта. К тому же получены данные о повышенной частоте развития рака гениталий у пациентов с такими манифестными формами ВПЧ, как остроконечные кондиломы.

Сказанное означает, что для повышения эффективности прогнозирования и профилактики предопухолевых процессов урогенитального тракта значение имеют не только методы, направленные на выявление ВПЧ,



Анализ гена р53, полиморфизма rs1042522. Маркер-ДНК, молекулярный вес маркера VIII (Roche Applied Science, Mannheim, Germany)

но и методы, позволяющие определить форму течения ПВИ и объективно оценить клиническую ситуацию.

Поскольку пусковой механизм избыточной и атипичной манифестации кондилом остается неясным, изучение иммуногенетических механизмов онкогенеза во взаимосвязи с состоянием иммунной системы, кожи, идентификация высокоонкогенных типов ВПЧ у больных с остроконечными кондиломами и разработка на основе полученных данных методов ранней, адекватной диагностики пускового механизма онкогенеза и комплексных методов лечения являются актуальной проблемой современной дерматовенерологии.

Цель настоящего исследования – оценить влияние того или иного высокоонкогенного типа ВПЧ (16/18, 31/33) на характер экспрессии онкопротеина р53 и течение генитального кондиломатоза.

#### Материал и методы

В исследовании участвовали пациенты с остроконечными кондиломами гениталий, а также здоровые лица. Первые составили основную группу, вторые – контрольную.

Для повышения эффективности прогнозирования и профилактики предопухолевых процессов урогенитального тракта значение имеют не только методы, направленные на выявление вируса папилломы человека, но и методы, позволяющие определить форму течения папилломавирусной инфекции и объективно оценить клиническую ситуацию

дерматовенерология



Для микробиологической диагностики использованы прямая микроскопия окрашенных мазков по Граму, среды для обнаружения факультативных анаэробов – кровяной агар, среда Эндо, среда ЭД-1 для выращивания урогенитальных микоплазм. Сопутствующая микрофлора определялась с помощью антибиотикограммы. Лабораторная диагностика внутриклеточных и вирусных возбудителей (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Cytomegalovirus* (CMV), *Herpesvirus* II типа (HVII)) проводилась с использованием молекулярно-генетического метода – полимеразной цепной реакции (ПЦР). Серотипы *Human papillomavirus* (HPV) 16/18, 31/33 выделялись методом ПЦР при соскобе с эпителия вульвы и очагов скопления остроконечных кондилом. Материалом для ДНК-типирования служила венозная кровь из локтевой вены в объеме 1 мл. Для сбора, хранения и транспортировки крови использовали одноразовые пластиковые пробирки объемом 2,5 мл с антикоагулянтом (консерватором) объемом 0,5 мл. Кровь для дальнейшей обработки хранили при температуре не менее +4 °С.

Выделение ДНК проводилось по стандартному протоколу.

Так, ДНК из цельной крови выделяли с помощью набора реагентов Diatom™ DNAPrep200 (производство ООО «Лаборатория ИзоГен», Москва). Это лизирующие реагенты с гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток, солюбилизации клеточного дебриса, а также для денатурации клеточных нуклеаз. В присутствии лизирующего реагента ДНК активно сорбируется на NucleoS™-сорбенте. ДНК, элюированную из сорбента ЭкстраГеном Е™, в дальнейшем использовали для проведения анализа.

Полиморфизм длины рестриционных фрагментов (ПДРФ, Restriction fragment length polymorphism, RFLP) – это способ исследования геномной ДНК путем ее разрезания с помощью эндонуклеаз рестрикции и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) путем гель-электрофореза (ДНК-электрофореза).

Для исследования ПДРФ гена TP53 применяли рестриционный фермент Bsh1236I (FERMENT ASINTERNATIONALINC).

Проведены исследования роли аргининовой замены в гене TP53 в качестве риск-фактора развития

цервикального рака. Полученные результаты коррелировали с генотипами вирусного гена Е6.

Мутация Arg72 в гене p53 определялась методом ПЦР с последующим ПДРФ-анализом.

Наличие мутации Arg72 гена p53 анализировали по разнице длины рестриционных фрагментов, представленных на рисунке.

### Результаты и их обсуждение

Распределение генотипов p53 в контрольной и основной группах было идентичным, в то время как полиморфизм по аргинину гена p53 был достоверно выше в основной группе. Расчет, проведенный методом Харди – Вайнберга, свидетельствовал об увеличении количества аргининовой мутации у пациентов с остроконечными кондиломами по сравнению со здоровыми лицами. Разница оказалась статистически достоверной ( $p = 0,02$ ).

Распределение типов гена p53 в основной и контрольной группах не получило статистических различий и соответствовало распределению генов по закону Харди – Вайнберга ( $p = 0,49$ ) (табл. 1).

Полиморфизм Arg72 гена p53 в группах различался. Так, у пациентов с остроконечными

Таблица 1. Распределение генотипов p53 в контрольной и основной группах

Генотип	Контрольная группа (n = 35)		Основная группа (n = 35)		$\chi^2$ (p)	Относительный риск (95%-ный доверительный интервал)
	абс.	%	абс.	%		
RR	13	38	14	39	$\chi^2 = 1,43$ ( $p = 0,49$ )	0,96 (0,53–1,75)
PR	15	45	18	50		0,82 (0,46–1,46)
PP	7	17	3	9		1,66 (0,70–3,93)

Таблица 2. Распределение полиморфизма Arg72 гена p53 в группах, абс. (%)

Группа	Arg72 полиморфизм гена P53		
	RR	PR	PP
Пациенты с остроконечными кондиломами и ВПЧ 16/18	4 (33)	7 (46)	1 (11)
Пациенты с остроконечными кондиломами и ВПЧ 31/33	5 (41)	5 (41)	2 (22)
Пациенты с остроконечными кондиломами без ВПЧ 16/18, 31/33	7 (63)	4 (37)	0
Здоровые лица	13 (37)	15 (40)	7 (24)



ми кондиломами и ВПЧ 16/18 распределение генотипов RR, PR и PP выглядело следующим образом: четыре (33%), семь (46%) и один (11%) соответственно, у пациентов с остроконечными кондиломами и ВПЧ 31/33 – пять (41%), пять (41%) и два (22%). У пациентов с остроконечными кондиломами без ВПЧ 16/18, 31/33 RR обнаружен в семи (63%) случаях, PR – в четырех (37%). У здоровых лиц показатели были самыми высокими (табл. 2). Парное сравнение групп не выявило статистически значимых

различий в уровне накопления мутантного гена p53. Однако тенденция к повышению экспрессии p53 в группе пациентов с остроконечными кондиломами и ВПЧ 16/18 оказалась более выраженной, чем в группах пациентов с остроконечными кондиломами и ВПЧ 31/33, группе пациентов с остроконечными кондиломами без ВПЧ 16/18 и 31/33, а также группе здоровых лиц. В этой же группе пациентов отмечались наибольшее количество рецидивов и более интенсивный рост кондилом.

### Выводы

На основании результатов исследования были сделаны следующие выводы.

Во-первых, необходимо раннее и адекватное реагирование в группе пациентов с остроконечными кондиломами и ВПЧ 16/18. Это не только высоко онкопотенциальные агенты, но и иммуносупрессоры, которые на начальных этапах служат пусковым механизмом дисплазий. Во-вторых, возможно формирование группы пациентов с риском развития фоновых и предраковых заболеваний гениталий. ●

### Литература

1. Stanley M.A., Pett M.R., Coleman N. HPV: from infection // Biochem. Soc. Trans. 2007. Vol. 35. Pt. 6. P. 1456–1460.
2. Aleksioska-Papestiev I., Chibisheva V., Micevska M., Dimitrov G. Prevalence of specific types of Human Papilloma Virus in cervical intraepithelial lesions and cervical cancer in Macedonian women // Med. Arch. 2018. Vol. 72. № 1. P. 26–30.
3. Трушина О.И., Новикова Е.Г., Соколов В.В. и др. Результаты фотодинамической терапии вирусассоциированной онкологической патологии шейки матки // Гинекология. 2008. Т. 10. № 1. С. 7–10.
4. Хрянин А.А., Решетников О.В., Коломиец Л.А. Новые возможности профилактики папилломавирусной инфекции // Вестник дерматологии и венерологии. 2009. № 5. С. 49–55.
5. Mayeaux E.J., Dunton C. Modern management of external genital warts // J. Low. Genit. Tract. Dis. 2008. Vol. 12. № 3. P. 185–192.
6. Rapose A. Human papillomavirus and genital cancer // Indian J. Dermatol. Venerol. Leprol. 2009. Vol. 75. № 3. P. 236–243.
7. Прилепская В.Н., Бебнева Т.Н. Профилактика рака шейки матки // Фарматека. 2010. № 1. С. 27–31.
8. Soto D., Song C., McLaughlin-Drubin M.E. epigenetic alterations in human papillomavirus-associated cancers // Viruses. 2017. Vol. 9. № 9. ID 248.
9. Евстигнеева Н.П. Экспрессия онкобелка E7 у пациентов с урогенитальной папилломавирусной инфекцией // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2006. № 2. С. 4–6.
10. McBride A.A. Oncogenic human papillomaviruses // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 2017. Vol. 372. № 1732. ID 20160273.

### Tissues Oncogenic Potential in Patients with Genital Warts

T.A. Nabiyev<sup>1</sup>, D.F. Porsokhonova<sup>1</sup>, V.S. Novosyolov<sup>2</sup>, A.I. Yakubovitch<sup>3</sup>, M.A. Abdullayev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Dermatovenereology and Cosmetology Ministry of Healthcare of Uzbekistan

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University

Contact person: Delya Fozilovna Porsokhonova, delya.porsokhonova@mail.ru

*The article presents the results of the study of p53 oncoproteins in patients with genital warts. Patients of the main group were randomized according to the principle of presence / absence of oncogenic HPV types (16/18, 31/33). The control group consisted of healthy volunteers. Depending on the oncogenic HPV types, the presence of the polymorphism of p53 gene Arg72 was different. However, the p53 mutant gene accumulation level did not show any statistically significant differences in the paired comparison of the groups. In the group with HPV 16/18 type, the tendency to increase the expression of p53 was more pronounced than in the group with HPV 31/33 type, the group with acute warts without HPV 16/18 and 31/33 types, as well as in the group of healthy individuals in the same group, the largest number of relapses and more intense growth of condylomas. Therefore, patients with genital warts having identified HPV 16/18 type require earlier and adequate diagnostics and treatment.*

**Key words:** genital warts, human papilloma virus, oncogenic types, mutant p53 gene, genital warts