

УДК 616-002.6-006.52-092

**ПАПИЛЛОМАВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА: НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТА ПАТОГЕНЕЗА
И СОВРЕМЕННАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ****В. Ф. Еремин¹, Г. И. Вергейчик², Ж. А. Стрибук²**¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск²Гомельский государственный медицинский университет

В статье рассматриваются основные этапы канцерогенеза, обусловленного вирусами папилломы человека, а также основы токсонимической классификации, которая основана на филогенетическом анализе ДНК вируса. Представлены результаты секвенс-анализа гена L1 ВПЧ 16 типа, выявленного у женщин, проживающих на территории Республики Беларусь.

Ключевые слова: вирусы папилломы человека, токсонимическая классификация, филогенетический анализ.

**HUMAN PAPILLOMAVIRUS: SOME ASPECTS OF PATHOGENESIS
AND PRESENT-DAY CLASSIFICATION****V. F. Yeryomin¹, G.I. Veregeyichik², Z.A. Stribuk²**¹Republican Scientific Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Minsk,²Gomel State Medical University

In the article the main stages of carcinogenesis, caused by human papillomavirus, and also the basics of taxonomic classification, which is based on the phylogenetic analysis of viral DNA, are considered. The results of sequence-analysis of the L1 gene of HPV 16, detected in women living on the territory of the Republic of Belarus, have been presented.

Key words: human papillomavirus, taxonomic classification, phylogenetic analysis.

По оценочным данным от рака шейки матки в мире ежегодно умирает более 270 тыс. женщин и регистрируется почти 500 тыс. новых случаев инвазивного рака шейки, причиной которых являются папилломавирусы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска. Первый папилломавирус был описан в 1977 и 1979 годах (Orth et al., 1977, Coggin and zur Hausen, 1979). В настоящее время описано более 100 генотипов ВПЧ, из них около 40 вовлекаются в процесс онкогенеза. Наиболее часто в этот процесс вовлекаются 16 (54 %), 18 (17 %), 45 (7 %), 31 (3 %), 33 (3 %), 52 (2 %) и 58 (2 %) генотипы.

Вирус папилломы (ВП) относится к семейству Papillomaviridae, геном представлен циркулярной двухцепочной молекулой ДНК размером около 7900 п.н.

Вирион лишен оболочки и имеет диаметр 40–55 нм. Несмотря на небольшие размеры, геном вируса имеет довольно сложную структуру. Он состоит из трех онкогенов: E5, E6, E7, которые вовлечены в процесс трансформации клеток, двух регуляторных белков: E1 и E2, которые участвуют в процессах транскрипции и репликации, и двух структурных белков: L1 и L2, формирующих вирусный капсид, при этом L1 — основной белок капсида, L2 — минорный. Участки генома E1, E2, L1 и L2 консервативные среди всего семейства папилломавирусов. В настоящее время четко доказано, что геном папилломавирусов стабилен и мутации или рекомбинации в нем очень редкие события.

Белки ВПЧ E1 и E2, кодируемые вирусом, непосредственно участвуют в инициации репликации вирусного генома.

Продукт гена E5 — маленький белок (44 аминокислоты) связан с мембранами и локализуется обычно в аппарате Гольджи и эндоплазматическом ретикулуме, как было показано на примере вируса папилломы быков 1 типа (ПВБ-1). У ВПЧ-16 белок E5 локализуется в аппарате Гольджи, а также определяется в эндосомах и на клеточной мембране. E5 относится к белкам со слабой трансформирующей активностью и его трансформирующий потенциал зависит от белка E7. Как было показано, функция белка E5 связана с нарушением процессов передачи клеточных сигналов на уровне лиганд-рецептор.

Продукт гена E6 — белок, состоящий примерно из 160 аминокислот. Трансформирующая активность белка E6 в комбинации с E7 была впервые показана на примере перерождения первичных культур клеток фибробластов человека и кератиноцитов. Белки гена E6 образуют комплекс с белком p53. Однако это взаимодействие не приводит к инактивации функции белка p53. Как известно, данный белок — супрессор развития и элиминирования опухолевых клеток. Уровень белка p53 в клетках, инфицированных ВПЧ высокого онкогенного риска, ниже, чем в неинфицированных клетках. (Hubbert et al., 1992, Scheffner et al., 1991). Уровень мРНК белка p53 не изменяется, но полупериод жизни p53 снижается в инфицированных ВПЧ высокого онкогенного риска клетках в сравнении с чистыми, не инфицированными. Таким образом, ВПЧ высокого онкогенного риска вырабатывают уникальную стратегию по инактивации белка p53 путем усиления его протеолитической деградации, что было доказано в экспериментах *in vitro* и *in vivo* (Huibregtse et al., 1991,

1993a, Hubbert et al., 1992, Scheffner et al., 1991). В инфицированных ВПЧ высокого риска клетках цервикальной карциномы уровень белка p53 в 2–3 раза ниже, чем в неинфицированных первичных клетках. В клетках, инфицированных ВПЧ-16 и экспрессирующих белок E6, средний полупериод жизни белка p53 снижается от нескольких часов до 20 минут (Hubbert et al., 1992). Еще одним механизмом действия E6 является влияние на стабильность и активацию p53 в ответ на действие генотоксинов и цитотоксического стресса (Kessies et al., 1993), что в нормальных клетках ведет либо к задержке периода роста G1, либо к апоптозу. Таким образом, в клетках, инфицированных ВПЧ высокого онкогенного риска, основная функция белка p53 блокируется белком E6 ВПЧ путем деградации p53.

Белок E7 ВПЧ высокого онкогенного риска — небольшой белок, состоящий из примерно 100 аминокислот. Они связывают ионы цинка (Zn) через терминальный углеводный домен, содержащий две копии Cys-X-X-Cys домена, который похож на домен имеющийся у белка E6 (Munger et al., 2001). Белок E7 фосфорилирован киназой II (casein kinase II — СК II) со стороны аминоконцевого терминального домена и не идентифицированной протеин киназой на углеводном конце. Белок E7 имеет очень короткий полупериод жизни и быстро деградирует. Подобно Ad E1A, белок E7 ВПЧ может трансактивировать промотор Ad E2, индуцировать синтез ДНК и вместе с онкогеном *ras* трансформировать первичные клетки почек новорожденных крыс. Кроме этого, аминоконцевой домен белка E7 ВПЧ-16 участвует в блокировке последовательностей гомологичных Ad E1A и SV40 TAg. Эти консервативные домены критичны для трансформирующей активности онкобелков вирусов и действуют как домены взаимодействия для многих критических регуляторных белков клеток, включающих продукт гена pRB — опухолевый супрессор ретинобластомы. Взаимодействие с pRB осуществляется консервативным районом 2 белка Ad E1 A и соответствующего региона в белках E7 и Tag SV40.

Белки E7, кодируемые ВПЧ высокого и низкого онкогенного риска, отличаются по некоторым биохимическим и биологическим свойствам. E7 белок ВПЧ низкого онкогенного риска, например, ВПЧ-6 и ВПЧ-11, связывают pRB с низкой эффективностью, по сравнению с E7 белком ВПЧ-16 и ВПЧ-18. Соответственно, E7 ВПЧ-6 и ВПЧ-11 не трансформируют клетки и фосфорилирование СК II происходит на низком уровне. Секвенирование участка связывания с pRB позволило выявить единственную разницу в аминокислоте в белке E7 у высоко и низко онкогенных ВПЧ — остаток аспарагиновой кислоты в белке E7 ВПЧ высокого онкогенного риска и глицин — в E7 ВПЧ низкого онкогенного риска. Эта единственная замена имеет принципиальное значение в разной степени связывания pRB и, соответственно, трансформирующей

активности белка E7 у ВПЧ высокого и низкого онкогенного риска. Это только некоторые аспекты патогенеза ВПЧ высокого онкогенного риска и роли белков E6 и E7. В настоящее время описано еще несколько возможных механизмов действия этих белков, которые в совокупности ведут к трансформации нормальных клеток.

Отсутствие стабильных культур клеток для накопления вируса не дает возможности изучить биологические свойства ВП.

Открытая рамка считывания L1 — наиболее консервативный ген в геноме ВП, и именно этот ген используется последние 20 лет для идентификации новых типов вирусов папилломы. Определение новых папилломавирусов происходит в том случае, если секвенирован полный геном вируса и открытая рамка считывания гена L1 отличается более чем на 10 % от известных типов папилломавирусов. Различия в пределах от 2 до 10 % позволяют определить субтип, а менее 2 % — вариант. Такой подход был согласован всеми учеными, занимающимися проблемой папилломавирусов, на конференции в Квебеке в 1995 году. После внедрения в работу метода полимеразной цепной реакции исследования по выделению и характеристике новых типов ВП резко активизировались.

Быстрое увеличение количества описанных новых изолятов ВП привело к необходимости провести таксономическую классификацию вируса в пределах семейства Papillomaviridae. Эта классификация учитывает следующие основные моменты: 1) устанавливает степень родства между типами ВП; 2) устанавливает различия между терминами «тип» ВП, «вид» и «род», которые используются для систематики всех микроорганизмов и в том числе вирусов; 3) определяет родство между таксономической классификацией и биологическими и патологическими свойствами вируса.

Степень родства между типами ВП основана на сравнении нуклеотидных последовательностей и проведении филогенетического анализа фрагментов ДНК (L1 ORF). Для получения высокоинформативного филогенетического анализа достаточно фрагмента ДНК гена L1 размером 291 п.н. (Bernard et al., 1994). Филогенетический анализ L1 ORF позволил разделить типы ВП на «роды» и «виды». Критериями для такого деления являются:

1. «Род» — идентичность более 40 % по нуклеотидным последовательностям в гене L1 ORF или более 23 % при сравнении полного генома;
2. «Вид» — 60–70 % идентичности нуклеотидных последовательностей генома вирусов;
3. Типы ВП внутри «вида» 71–89 % идентичности в пределах полного участка L1 ORF.

Результаты филогенетического анализа ВПЧ-16 типа, выявленного у женщин, проживающих на территории Республики Беларусь, представлены на рисунке 1.

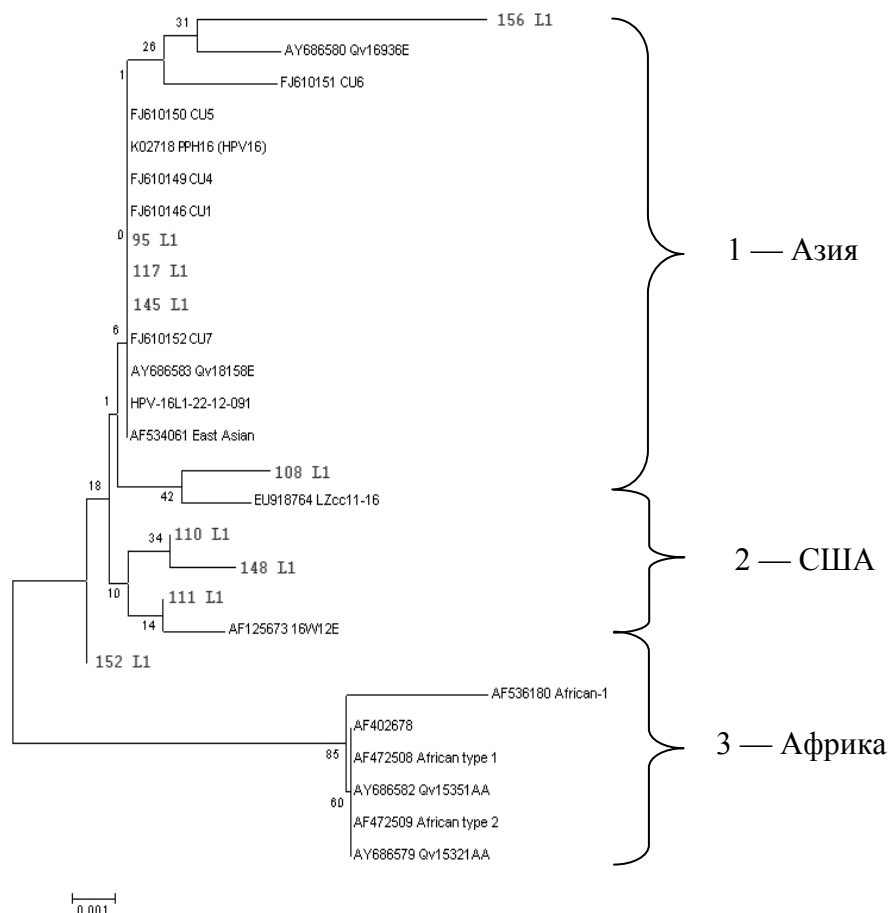


Рисунок 1 — Филогенетический анализ ВПЧ-16, выявленного в Беларуси, по гену L1 (образцы № № 156 L1, 95 L1, 117 L1, 145 L1, 108 L1, 110 L1, 148 L1, 111 L1, 152 L1)

Таким образом, термин «род» объединяет филогенетически близкие папилломавирусы, имеющие отличия по биологическим свойствам. Например, род альфа папилломавирусов объединяет вирусы с высоким и низким уровнем онкогенного риска. Вид определяет вирусы, близкие филогенетически, биологически и патологически. Так, папилломавирусы, вызывающие кожные бородавки: ВПЧ 27 и ВПЧ 57, относятся к одному виду с ВПЧ 2, а все ВПЧ высокого онкогенного риска образуют вид № 9 вместе с ВПЧ 16 или вид № 7 с ВПЧ 18.

Термин «субтип» для типов ВП остается и, как указывалось выше, определяется, если имеется 2–10 % разница в нуклеотидных последовательностях в гене L1.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hubbert, N.L., Sedman, S.A., Schiller, J.T. // J. Virology. — 1992. — Vol. 66. — P. 6237–6241.
2. Huibregtse, J.M., Scheffner, M., Howley, P.M. // Mol. Cell. Biol. — 1993. — Vol. 13. — P. 775–784.
3. Munger, K. [et al.] // Oncogene. — 2001. — Vol. 20. — P. 7888–7898.

УДК 616.146-006.6:616-006.52]:615.28

ВЛИЯНИЕ КУРСОВ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ НА ЭРАДИКАЦИЮ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНОМ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

И. А. Косенко, Р. М. Смолякова, О. П. Матылевич, Т. М. Литвинова

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, г Минск

В работе изучено содержание различных онкогенных штаммов вируса папилломы человека (ВПЧ) у 50 больных нерезектабельным раком шейки матки (РШМ) до начала специального лечения и у 26 пациенток до химиотерапии и после двух курсов химиотерапии: системного (цисплатин и гемцитабин) и локального с введением гемцитабина в маточные артерии.