

# Биомаркеры цервикальной жидкости для диагностики заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека (обзор литературы)

В.Н. Прилепская<sup>✉1</sup>, А.Н. Мгерян<sup>1</sup>, А.С. Акопян<sup>2</sup>, Н.М. Назарова<sup>1</sup>, Э.Р. Довлетханова<sup>1</sup>, П.Р. Абакарова<sup>1</sup>, Н.Л. Стародубцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>✉</sup>VPrilepskaya@mail.ru

## Аннотация

Вирус папилломы человека (ВПЧ) – один из основных возбудителей инфекций половых путей, способный приводить к злокачественной трансформации клеток шейки матки, влагалища, вульвы и ануса. Примерно в 90% случаев цервикальной интраэпителиальной неоплазии и 99% случаев рака шейки матки возникают у ВПЧ-позитивных пациенток. Однако наличие ВПЧ в организме больной не может рассматриваться как маркер прогрессирования или регресса патологического процесса. Необходимость определения дальнейшей тактики обследования и ведения женщин с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки заявляет о поиске молекулярно-генетических маркеров неопластической трансформации с целью прогноза риска развития цервикальных неоплазий и рака шейки матки. Удобными для применения в клинической практике могут стать диагностические системы, основанные на определении биомаркеров в цервикальной жидкости (ЦВЖ). Панель белков ЦВЖ позволяет составить точную характеристику состояния органов женской репродуктивной системы, в том числе при неопластических процессах шейки матки. Выявленные в ЦВЖ биомаркеры могут быть использованы в качестве информативных тестов для повышения точности диагностики патологических изменений шейки матки и определения критериев риска развития озлокачествления процесса.

**Ключевые слова:** вирус папилломы человека, цервикальная жидкость, биомаркеры цервикальной жидкости,  $\alpha$ -актинин-4.

**Для цитирования:** Прилепская В.Н., Мгерян А.Н., Акопян А.С. и др. Биомаркеры цервикальной жидкости для диагностики заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека (обзор литературы). Гинекология. 2019; 21 (6): 6–11. DOI: 10.26442/20795696.2019.6.190756

Review

## Biomarkers of cervicovaginal fluid for the diagnosis of cervical diseases associated with human papilloma virus (literature review)

Vera N. Prilepskaya<sup>✉1</sup>, Anna N. Mheryan<sup>1</sup>, Aida S. Akopian<sup>2</sup>, Niso M. Nazarova<sup>1</sup>, Elmira R. Dovletkhanova<sup>1</sup>,

Patimat R. Abakarova<sup>1</sup>, Natalia L. Starodubtseva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>✉</sup>VPrilepskaya@mail.ru

## Abstract

Human papillomavirus (HPV) is one of the main pathogens of genital tract infections, which can lead to malignant transformation of cells of the cervix, vagina, vulva and anus. Approximately 90% of cervical intraepithelial neoplasia cases and 99% of cervical cancer cases occur in HPV-positive patients. However, the presence of HPV in the patient's body can not be considered as a marker of progression or regression of the pathological process. The need to determine further tactics of examination and management of women with HPV-associated diseases of the cervix States the search for molecular genetic markers of neoplastic transformation in order to predict the risk of cervical neoplasia and cervical cancer. Diagnostic systems based on determination of biomarkers in cervicovaginal fluid (CVJ) can become convenient for application in clinical practice. The panel of CVJ proteins allows to make the exact characteristic of a condition of bodies of female reproductive system, including at neoplastic processes of a cervix of a uterus. The biomarkers identified in the CVJ can be used as informative tests to improve the accuracy of diagnosis of pathological changes in the cervix and to determine the risk criteria for the development of malignancy.

**Key words:** human papillomavirus, cervicovaginal fluid, biomarkers of cervicovaginal fluid,  $\alpha$ -actinin-4.

**For citation:** Prilepskaya V.N., Mheryan A.N., Akopian A.S. et al. Biomarkers of cervicovaginal fluid for the diagnosis of cervical diseases associated with human papilloma virus (literature review). Gynecology. 2019; 21 (6): 6–11. DOI: 10.26442/20795696.2019.6.190756

На сегодняшний день проблема рака шейки матки (РШМ) остается одной из наиболее актуальных проблем современной медицины и занимает 4-е место среди онкологических заболеваний у женщин [1].

В 2018 г. в мире диагностировано 569 847 новых случаев РШМ, из которых 311 тыс. заканчиваются смертельным исходом. По данным литературы, высокая смертность от РШМ регистрируется в менее развитых регионах мира и составляет 87%, при этом заболеваемость чаще регистрируется в возрасте от 20 до 50 лет. Также ожидается увеличение смертности от РШМ на 42% к 2030 г. с последующим летальным исходом 442 926 случаев [2].

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одним из самых распространенных ДНК-вирусов, передающихся половым путем, и основной причиной развития доброкачественных и злокачественных поражений кожи и слизистых оболочек [3, 4]. В 1983 г. ВПЧ 16-го типа впервые идентифицирован в биопсийном материале инвазивного РШМ, и в последующие годы ВПЧ стал рассматриваться в качестве главного этиологического фактора развития РШМ [5, 6].

В настоящее время установлен 221 тип ВПЧ [7], среди которых наиболее известны 12 типов ВПЧ высокого онкогенного риска (hr) [HPV 16/18/31/35/39/45/51/52/56/58/66/68], которые вызывают более 97% случаев РШМ, в то время как типы низкого риска (lr) [HPV 6/11/40/42/43/44/54/61/72] ассоциированы с развитием аногенитальных бородавок и папиллом гортани [8–10].

Согласно результатам исследований ВПЧ 16 и 18-го типов являются наиболее часто встречающимися типами ВПЧ и вызывают приблизительно 70% РШМ (~50% ВПЧ-16, ~20%

ВПЧ-18). Известно, что 80% сексуально активных женщин инфицируются ВПЧ в течение жизни, и в большинстве случаев (90%) вирус элиминируется из организма через 6–24 мес от момента инфицирования [11], и только в случае персистенции в течение ряда лет ВПЧ может привести к развитию цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) и РШМ [12]. Ряд эпидемиологических исследований показали взаимосвязь длительной персистенции ВПЧ канцерогенного риска с плоскоклеточным раком и аденокарциномой шейки матки [13].

Инфицирование ВПЧ происходит через микротравмы эпителия, участков воспаления, откуда вирус поступает в базальный слой эпителия. 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. Данная стадия инфекции называется продуктивной. В последующем наступает стадия трансформации, характеризующаяся изменениями процессов пролиферации, дифференцировки, апоптоза, атипией клеток [14].

Канцерогенез при ВПЧ-инфекции обусловлен вирусной интеграцией в геном хозяина и делецией регуляторного гена E2, что приводит к чрезмерной экспрессии генов E6 и E7. Белки, кодируемые этими генами, способны связываться с белками-супрессорами опухолей, нарушая клеточный цикл и апоптоз [15].

Скрининг РШМ впервые введен в начале 1980-х годов с установлением роли ВПЧ в качестве причины заболевания. Программы скрининга РШМ, как правило, основаны на обнаружении ВПЧ с помощью метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени или выявлении цитологических и/или молекулярно-генетических изменений в клетках шейки матки [16].

В настоящее время совместное цитологическое исследование и ВПЧ-тестирование (co-test) считают наиболее эффективными методами выявления поражений шейки матки [17]. Кольпоскопия и при необходимости проведение биопсии шейки матки считаются стандартом диагностики характера патологически измененного эпителия шейки матки. Однако данные гистологического исследования не являются маркером риска дальнейшего прогрессирования процесса или его регресса и отображают исключительно анализ структуры тканей. Возможные ошибки при гистологическом анализе CIN различной степени тяжести могут привести к неправильной тактике ведения и лечения пациенток, что особенно опасно при дисплазии тяжелой степени.

В то же время данные методы не являются 100%, так как отмечается высокая частота ложноположительных результатов, что влечет за собой немотивированное деструктивное лечение данных пациенток.

В 2014 г. M. Arbyn и соавт. показали, что профилактическое ВПЧ-тестирование – способ выявления женщин групп риска, которые обычно не участвуют в регулярных программах цитологического скрининга [18]. Многие исследования, проведенные в различных этнических группах, показали, что получение клеток эпителия шейки матки с помощью щеток, тампонов или смывов цервикальной жидкости (ЦВЖ) является эффективным методом сбора образцов для последующего ВПЧ-тестирования, цитологии или иммуногистохимии [19, 20]. Учитывая непосредственный контакт предраковых и раковых участков шейки матки с ЦВЖ, предполагается, что концентрация важных биомаркеров РШМ будет высокой в ЦВЖ.

Ряд исследователей рассматривают ЦВЖ как ценный источник информации о состоянии репродуктивной системы женщин. Используя новые технологии протеомики, ученые провели несколько исследований по идентификации цервикального протеома [21, 22]. Показано, что функциональная классификация протеома ЦВЖ демонстрирует значительное многообразие их биологических ролей [23]. В отличие от плазмы ЦВЖ не контактирует со многими другими тканями, а ее объем ограничен (миллилитры против литров).

Для сбора ЦВЖ наиболее часто применяются: цервиковагинальный смыв (влагалище и влагалищную часть шейки матки промывают буферным раствором, т.е. 5% уксусной кислотой или физиологическим раствором, после чего собирается полученная жидкость); цервиковагинальные щетки (специальные щетки, которые прикладываются к слизистой оболочке влагалища и шейки матки, чтобы собрать ЦВЖ); цервиковагинальные тампоны (тампоны или губки, поглощающие ЦВЖ); устройства мембранного типа (специальная чашечка для сбора ЦВЖ) [24].

**Биомаркеры ЦВЖ в диагностике предрака и РШМ.** Анализ ДНК ВПЧ влагалищной жидкости и при ВПЧ-тестировании соскоба из шейки матки обладает высокой чувствительностью и составляет 89 и 93% соответственно [25].

## Метилирование вирусной ДНК

Метилирование ДНК – это модификация молекулы ДНК без изменения самой нуклеотидной последовательности ДНК, что можно рассматривать как часть эпигенетической составляющей генома.

Показано, что метилирование вирусной ДНК – один из основных маркеров в раннем выявлении предраковых заболеваний и РШМ.

C. Kottaridi и соавт. показали, что наиболее значимые участки метилирования находились на участках UTR 7535 и 7553 (чувствительность и специфичность метода при CIN3 составила 68,1, 66,2% соответственно) [26].

A. Widschwendter и соавт. исследовали метилирование ДНК в ЦВЖ. Установлено метилирование 11 генов (SOCS1, CDH1, TIMP3, GSTP1, DAPK, hTERT, CDH13, HSPA2, MLH1, RASSF1A и SOCS2) при РШМ. Авторы полагают, что тяжесть поражения шейки матки, в том числе и РШМ, может быть диагностирована и прогнозирована на основании оценки метилирования [27].

В то же время C. Sun и соавт. проанализировали в ЦВЖ метилирование 14 участков CpG с ВПЧ-16 и отметили значительное увеличение метилирования при CIN3+ по сравнению с женщинами с наличием ВПЧ 16-го типа без CIN3. Авторы отметили, что гипер/гипометилирование участков CpG может рассматриваться как потенциальный биомаркер в диагностике предраковых заболеваний и РШМ [28].

В эксперименте K. Doufakas и соавт. исследовали метилирование ДНК в образцах вагинальной жидкости более чем на 480 тыс. участках CpG и обнаружили участок метилирования ДНК при РШМ и раке эндометрия с высокой достоверностью [29].

Следовательно, метилирование ДНК является одним из возможных маркеров для ранней диагностики тяжелой дисплазии и РШМ в ЦВЖ и биоптатах шейки матки.

## ДНК-метилирование микроРНК

МикроРНК представляют собой малые некодирующие молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов (в среднем 22), принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путем РНК-интерференции [30].

При РШМ гиперметилирование промоторов микроРНК способствует снижению экспрессии микроРНК с противоонкогенными функциями и сверхэкспрессии микроРНК с онкогенными функциями.

Показано, что персистирующая ВПЧ-инфекция индуцирует изменения в геноме и эпигеноме хозяина. Эпигенетические изменения, такие как aberrантная экспрессия микроРНК и изменения метилирования ДНК, способствуют экспрессии онкогенов и подавлению генов-супрессоров опухоли. С учетом того, что некоторые гены микроРНК могут регулироваться с помощью эпигенетических механизмов, высказано предположение, что изменения метилирования промоторов микроРНК могут быть движущим механизмом их aberrантной экспрессии при РШМ [31].

Имеются данные литературы, указывающие, что микроРНК может выявляться как в плазме крови, также и в ЦВЖ пациентов с РШМ (плоскоклеточный рак и аденокарци-

нома) [32]. В большом рандомизированном исследовании V. Verhoef и соавт. [33] изучено прямое метилирование ДНК генов miR-124-2 и MAL в образцах ЦВЖ. В исследовании продемонстрировано, что полученные результаты метилирования ДНК сопоставимы с цитологической картиной, соответствующей HSIL (CIN2/CIN3). Аналогичные данные получены в работе L. De Strooper и соавт. в большой когорте ВПЧ-положительных женщин [34].

Экзосомы представляют собой эндосомальные везикулы, диаметром 30–100 нм, выделяемые в межклеточное пространство клетками различных тканей и органов, которые играют важную роль в межклеточной коммуникации и секретируются в биологических жидкостях, включая слюну, мочу, спинномозговую жидкость, ЦВЖ.

Протеомные исследования показали, что экзосомы содержат функциональный белок, мРНК и микроРНК, а также белки, первоначально расположенные в эндосомах, плазматической мембране и цитозоле [35]. Содержание белков экзосом можно разделить на 2 группы: 1-я зависит от типа клетки, которая секретирует экзосомы, 2-я – обнаруживаются в большинстве экзосом и впоследствии используются в качестве экзосомальных маркеров. В настоящее время имеется мало данных о липидном составе этих везикул [36].

Известно, что экзосомы считаются лучшими биомаркерами для диагностики некоторых онкологических заболеваний и могут быть использованы в качестве неинвазивного биомаркера онкологических, сердечно-сосудистых, неврологических заболеваний, при сахарном диабете [37].

J. Liu и соавт [38] показали изменение экспрессии микроРНК-21 и микроРНК-146A у больных РШМ, связанное с высоким уровнем экзосом в ЦВЖ. J. Zhang и соавт. [39] также продемонстрировали, что экспрессия длинных некодирующих РНК (lncRNAs) HOTAIR, MALAT1 и MEG3 в ЦВЖ преимущественно наблюдалась в экзосомах при РШМ.

Таким образом, предложено использовать наличие экзосом в ЦВЖ в качестве маркера диагностики РШМ.

### Впервые обнаруженные белковые маркеры в ЦВЖ

В 1980-е годы предположено, что выявление канцероэмбрионального антигена (CEA), CA19-9 и CA125 в ЦВЖ у больных с предраковым поражением и РШМ целесообразно рассматривать в качестве биомаркеров ранней диагностики этих заболеваний [40]. Имеются также данные о том, что высокие показатели CA125 в ЦВЖ коррелируют с раком эндометрия [41].

### Иммунологические белки

В своей работе M. Tjiong и соавт. показали, что у 60% пациентов с ВПЧ 16-го типа и подтвержденным РШМ в отличие от здоровых женщин в ЦВЖ выявлены специфические антитела иммуноглобулина G к онкобелкам E7 ВПЧ. Однако, учитывая малую выборку (60 пациенток), чувствительность и специфичность данного метода не представляла возможность позиционировать его как маркер РШМ [42].

Эта же группа ученых проанализировала наличие различных цитокинов в ЦВЖ здоровых женщин, пациенток с CIN и РШМ. Результаты исследования показали наличие специфических изменений локального иммунитета при РШМ. Установлено, что уровни интерлейкинов (ИЛ)-12p40, ИЛ-10, трансформирующего ростового фактора  $\beta$ 1, фактора некроза опухоли  $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  были достоверно выше у больных РШМ по сравнению с группой контроля и группой с CIN [43]. Полученные результаты представляют интерес для разработки иммуномодулирующих методов лечения и стратегий вакцинации, однако не могут быть использованы для диагностических целей, поскольку между пациентами с CIN не выявлено различий, а уровни цитокинов могут изменяться при наличии инфекций.

### Эффективность $\alpha$ -актинина-4 как биомаркера ЦВЖ при РШМ

$\alpha$ -Актинин-4 (ACTN4) – белок, который может быть выявлен в ЦВЖ у женщин с предраковыми поражениями

шейки матки. ACTN4 действует как промоутер при различных опухолях и может рассматриваться как значимый белок, в качестве мишени для синтеза лекарственных средств. Известно, что ACTN4 преимущественно экспрессируется в клеточных (мембранах) филоподиях и ламеллоподиях и как таковой важен для формирования клеточных выпячиваний и миграции [44].

В дополнение к своей роли в ремоделировании цитоскелета ACTN4 взаимодействует с сигнальными посредниками, ремоделированным хроматином и транскрипционными факторами. Показано, что ACTN4 может присутствовать в экзосомах опухолей (мезотелиомы) клеток [45].

Эксперименты на раковых клетках толстой кишки и поджелудочной железы показали, что сверхэкспрессия ACTN4 свидетельствует о высокой метастатической активности [46]. Помимо колоректального рака и рака поджелудочной железы белок также чрезмерно экспрессируется при раке яичников, остеосаркоме, раке легких, плоскоклеточном раке полости рта, раке слюнных желез, раке мочевого пузыря, раке молочной железы и раке пищевода [47].

Для определения чувствительности и специфичности ACTN4 в качестве онкомаркера для РШМ изучены образцы ЦВЖ у пациенток с малыми и тяжелыми поражениями шейки матки и РШМ.

Сверхэкспрессия ACTN4 выявлена во всех исследуемых образцах с РШМ. Полученные результаты показали высокую чувствительность и специфичность метода (84 и 86% соответственно) относительно диагностики поражения шейки матки.

При дифференциации степени тяжести поражения шейки матки CIN (CIN1, 2 и 3) методами протеомного анализа в ЦВЖ у 6 здоровых женщин выявлено 16 возможных биомаркеров [48], из которых ACTN4 присутствовал во всех образцах у здоровых женщин и пациенток с заболеваниями шейки матки ( $p=0,001$ ). Сравнительный анализ концентрации ACTN4 в 26 образцах в ЦВЖ, полученных у 9 женщин с ВПЧ-инфекцией, показали, что уровень ACTN4 коррелирует в зависимости от персистенции ВПЧ, повышения или понижения уровня белка E6 ВПЧ 16-го типа, что позволяет рассматривать его как маркер РШМ.

Многие исследователи считают, что ACTN4 может быть выделен в ЦВЖ из лизированных эпителиальных клеток со многими другими внутриклеточными факторами, в том числе участвующими в развитии предраковых поражений и/или РШМ. Рядом исследователей выделены 4 группы белков, которые совместно с ангиотензином II рассматриваются в качестве основной «визитной карточки» РШМ [49]:

- 1) глюконеогенез/гликолиз;
- 2) аденин/гуанин обмен веществ;
- 3) адгезия/образование плотного соединения;
- 4) большой набор взаимосвязанных путей группируется вокруг p70S6K-пути.

Первые 2 группы являются показателем повышенного метаболизма, характерного для опухолевых клеток, 2 последние группы влияют на миграцию клеток и метастатическую активность. Изменение экспрессии плотных соединений и адгезивных соединительных белков часто выявлялось при неоплазии шейки матки [50]. Клаудин-1 – компонент плотных соединительных нитей – рассматривается как равноценный диагностический маркер по аналогии с p16INK4a в гистологических и цитологических материалах для выявления РШМ [51]. Дополнительно описана ассоциация ACTN4 с адгезионным образованием (3-я группа) [52] для повышения точности и прогностической ценности ранней диагностики РШМ.

### Микробиом

Исследования последних лет показывают взаимосвязь микробиоты влагалища с персистенцией ВПЧ высокого канцерогенного риска, развитием предраковых заболеваний и РШМ.

W. Gao и соавт. показали отличие состояния микробиоценоза влагалища у ВПЧ-отрицательных и ВПЧ-положительных женщин [53]. A. Mitra и соавт. продемонстрировали

взаимосвязь между прогрессированием неоплазии и особенностью микробиоты влагалища, тем самым предполагая ее роль в течении папилломавирусной инфекции и прогрессировании заболевания [54]. Аналогичные изменения могут наблюдаться при изменении показателей экспрессии микробных ферментов. Так, S. Dasari и соавт. показали, что микробные ферменты муциназа, сиалидаза и протеаза значительно повышены у пациенток с дисплазией шейки матки и, следовательно, могут рассматриваться в качестве маркеров развития CIN и РШМ [55].

Секвенирование микробиоты продемонстрировало, что наличие низкоонкогенных типов ВПЧ у здоровой женщины могут стимулировать или ингибировать типы ВПЧ высокого канцерогенного риска посредством иммунного взаимодействия или перекрестной реакции [56].

## Моча

Авторы предполагают, что образование и выделение ЦВЖ совпадает с первой порцией мочи, в связи с чем предполагается, что именно в ней содержится большинство компонентов ЦВЖ, включая слизь из влагалища и шейки матки, слущенные клетки. Это может объяснить, почему первая собранная часть мочи специальным устройством (Colli-Pee, Novosanis, Бельгия) содержит больше ДНК человека и ВПЧ, чем последующие порции [57].

Кроме того, продемонстрировано, что чувствительность ВПЧ-тестирования в моче, в том числе и диагностики CIN2+, равноценны цитологическим и молекулярным методам исследования [58]. В ряде работ показаны изменения некоторых компонентов мочи (соотношение гормонов, коллагена, метилирование генов хозяина и/или вируса), а также наличие ДНК ВПЧ в моче при предраковых заболеваниях шейки матки [59]. Однако, несмотря на многочисленные достоверные исследования, работы в области поиска биомаркеров в моче продолжаются.

## Альтернативный метод

В настоящее время проводится изучение возможности клинического применения некоторых компонентов ЦВЖ методом инфракрасной спектроскопии (ИК) с Фурье-преобразованием. ИК выполнена на 25 образцах ЦВЖ у женщин, направленных на кольпоскопию [60]. Авторы показали высокую корреляцию между ИК-спектрами и гистологическими изменениями, характерными при CIN3, при этом установлена низкая корреляция для дисплазии легкой степени (CIN1).

Предположительно различия, наблюдаемые в ИК-спектроскопии, отражают молекулярные изменения в клетках шейки матки при канцерогенезе, однако требуется большее количество исследований в данной области, чтобы позиционировать метод как метод скрининга РШМ.

Кроме того, масс-спектрометрия вполне может использоваться в специализированных лабораториях в качестве дополнения к морфологическим методам исследования.

В ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» проведена работа, посвященная изучению протеомного состава ЦВЖ с помощью прямой масс-спектрометрии при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях шейки матки у женщин репродуктивного возраста. Авторами выявлены белки-маркеры, позволяющие дифференцировать легкую, тяжелую степень поражения эпителия и РШМ. В ЦВЖ при малых поражениях эпителия шейки матки определялись белки (ANXA2/ANXA2P2, S100A9, CSTA, SBSN, ACTG1, SERPINB1, CRISP3), позволяющие прогнозировать течение процесса и выявлять пациенток с высоким риском развития CIN и РШМ. Установлено также, что наличие в ЦВЖ белков CAST, GM2A, SPINK5, SBSN, ACTG1, SERPINB1, SEACAM5, CRISP3, SPRR3 характерно для тяжелых поражений (HSIL) шейки матки и может быть использовано для выявления группы риска по развитию РШМ [24].

M. Crisca и соавт. сравнили набор для генотипирования ВПЧ с матричным методом MALDI-TOF в образцах жидкостной цитологии. Исследователи показали, что метод на основе MALDI-TOF хорошо подходит для ВПЧ-генотипи-

рования в крупномасштабных эпидемиологических исследованиях [61].

## Выводы

В заключение следует отметить, что некоторые компоненты, находящиеся в ЦВЖ, являются ценными биомаркерами-кандидатами для исследований, разработки тест-систем, направленных на раннюю диагностику предрака и РШМ. Изменения некоторых факторов (белки, вирусы и их белки, клетки опухоли и др.) в ЦВЖ могут свидетельствовать о прогрессировании неопластических процессов и, следовательно, повышенном риске развития РШМ.

В связи с этим АСТN4 может быть предложен в качестве стартового теста. Однако работы, направленные на выявление других биомаркеров, продолжаются.

Статья выполнена в рамках научно-исследовательской работы по госзаданию АААА-А18118053190015-0

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** The authors declare that there is not conflict of interests.

## Литература/References

1. Xaveer Van Ostade. Candidate biomarkers in the cervical vaginal fluid for the (self-) diagnosis of cervical precancer. *Arch Gynecol Obstet* 2018; 297 (2): 295–311.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018.
3. Lyu Z, Feng X, Li N, Zhao W et al. Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 714.
4. Chabeda A, Yanez RJR, Lamprecht R et al. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res* 2018; 5: 46–58.
5. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H et al. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983.
6. Clifford GM, Smith JS, Plummer M et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88: 63–73.
7. Mühl LSA, Eklund C, Dillner J. Towards quality and order in human papillomavirus research. *Virology* 2018; 519: 74–6.
8. Xi LF, Schiffman M, Koutsky LA et al. Variant-specific persistence of infections with human papillomavirus Types 31, 33, 45, 56 and 58 and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2016; 139: 1098–105.
9. Halec G, Alemany L, Lloveras B et al. Pathogenic role of the eight probably/possibly carcinogenic HPV types 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 and 82 in cervical cancer. *J Pathol* 2014; 234: 441–51.
10. Chabeda A, Yanez RJR, Lamprecht R et al. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res* 2018; 5: 46–58.
11. Berman TA, Schiller JT. Human papillomavirus in cervical cancer and oropharyngeal cancer: One cause, two diseases. *Cancer* 2017; 123: 2219–29.
12. Ermel A, Shew ML, Imburgia TM et al. Redetection of human papillomavirus type 16 infections of the cervix in mid-adult life. *Papillomavirus Res* 2018; 5: 75–9.
13. Прилепская В.Н. Заболевания шейки матки, влагалища, вульвы. М.: МЕДпресс-информ, 2005.  
[Prilepskaya V.N. Diseases of the cervix, vagina, vulva. Moscow: MEDpress-inform, 2005 (in Russian).]
14. Фоляк Е.М., Соколова Т.М., Макаров К.Ю. Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта женщин. Эпидемиология, клинико-патогенетические особенности, методы диагностики, лечение, профилактика. Информационно-методическое пособие. 2010 г., с. 6–11.  
[Folyak E.M., Sokolova T.M., Makarov K.Yu. Papillomavirus infection of the urogenital tract of women. Epidemiology, clinical and pathogenetic features, diagnostic methods, treatment, prevention. Informational manual. 2010, p. 6–11 (in Russian).]

15. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: в помощь практикующему врачу. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. [Rogovskaya S.I. Papillomavirus infection in women and cervical pathology: to help a practitioner. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media, 2014 (in Russian).]
16. Cummings MC, Marquart L, Pelecanos AM et al. Which are more correctly diagnosed: conventional Papanicolaou smears or Thinprep samples? A comparative study of 9 years of external quality-assurance testing. *Cancer Cytopathol* 2015; 123 (2): 108–16.
17. Zhou H, Mody RR, Luna E et al. Clinical performance of the Food and Drug Administration-Approved high-risk HPV test for the detection of high-grade cervicovaginal lesions. *Cancer Cytopathol* 2016; 124 (5): 317–23.
18. Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJ et al. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. *Lancet Oncol* 2014; 15 (2): 172–83.
19. Karjalainen L, Anttila A, Nieminen P et al. Self-sampling in cervical cancer screening: comparison of a brush-based and a lavage-based cervicovaginal self-sampling device. *BMC Cancer* 2016; 16: 221.
20. Cheng JY, Feng MJ, Wu CC et al. Development of a sampling collection device with diagnostic procedures. *Anal Chem* 2016; 88 (15): 7591–6.
21. Lo JO, Reddy AP, Wilmarth PA et al. Proteomic analysis of cervical vaginal fluid proteins among women in recurrent preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27 (12): 1183–8.
22. Van Raemdonck G, Zegels G, Coen E et al. Increased Serpin A5 levels in the cervicovaginal fluid of HIV-1 exposed seronegatives suggest that a subtle balance between serine proteases and their inhibitors may determine susceptibility to HIV-1 infection. *Virology* 2014; 458–9.
23. Zegels G, Van Raemdonck GA, Tjalma WA et al. Use of cervicovaginal fluid for the identification of biomarkers for pathologies of the female genital tract. *Proteome Sci* 2010; 8: 63.
24. Зардиашвили М.Д., Назарова Н.М., Стародубцева Н.Л. и др. Молекулярные маркеры цервиковагинальной жидкости: новое в диагностике и прогнозировании заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека. *Акушерство и гинекология*. 2016; 1: 16–21. [Zardiashvili M.D., Nazarova N.M., Starodubtseva N.L. et al. Molekularnye markery tservikovaginal'noi zhidkosti: novoe v diagnostike i prognozirovanii zabolevanii, assotsiirovannykh s virusom papillomy cheloveka. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2016; 1: 16–21 (in Russian).]
25. Jentschke M, Soergel P, Hillemanns P. Evaluation of a multiplex real time PCR assay for the detection of human papillomavirus infections on self-collected cervicovaginal lavage samples. *J Virol Methods* 2013; 193 (1): 131–4.
26. Kottaridi C, Leventakou D, Pouliakis A et al. Searching HPV genome for methylation sites involved in molecular progression to cervical precancer. *J Cancer* 2019; 10 (19): 4588–95.
27. Widschwendter A, Gatringer C, Ivarsson L et al. Analysis of aberrant DNA methylation and human papillomavirus DNA in cervicovaginal specimens to detect invasive cervical cancer and its precursors. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (10): 3396–400.
28. Sun C, Reimers LL, Burk RD. Methylation of HPV16 genome CpG sites is associated with cervix precancer and cancer. *Gynecol Oncol* 2011; 121 (1): 59–63.
29. Doufekas K, Zheng SC, Ghazali S et al. DNA methylation signatures in vaginal fluid samples for detection of cervical and endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2016.
30. Finch ML, Marquardt JU, Yeoh GC et al. Regulation of microRNAs and their role in liver development, regeneration and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 54: 288–303.
31. Hilda J-W, Oscar P-Z, Gloria F-T. Human papilloma virus, DNA methylation and microRNA expression in cervical cancer (Review). *Oncol Rep* 2014; 31 (6): 2467–76.
32. Zavesky L, Jandakova E, Turyna R et al. New perspectives in diagnosis of gynaecological cancers: emerging role of circulating microRNAs as novel biomarkers. *Neoplasma* 2015; 62 (4): 509–20.
33. Verhoef VM, Bosgraaf RP, van Kemenade FJ et al. Triage by methylation-marker testing versus cytology in women who test HPV-positive on self-collected cervicovaginal specimens (PROHTECT-3): a randomised controlled non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (3): 315–22.
34. De Strooper LM, Verhoef VM, Berkhof J et al. Validation of the FAM19A4/mir124-2 DNA methylation test for both lavage- and brush-based self-samples to detect cervical (pre)cancer in HPV-positive women. *Gynecol Oncol* 2016; 141 (2): 341–7.
35. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 2013; 200 (4): 373–83.
36. Console L, Scalise M, Indiveri C. Exosomes in inflammation and roles as biomarkers. *Clinica Chimica Acta* 2019; 488: 165–71.
37. Chung IM, Rajakumar G, Venkidasamy B et al. Exosomes: Current Use and Future Applications. *Clin Chim Acta* 2019; p. 1–7.
38. Liu J, Sun H, Wang X et al. Increased exosomal microRNA-21 and microRNA-146a levels in the cervicovaginal lavage specimens of patients with cervical cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 15 (1): 758–73.
39. Zhang J, Liu SC, Luo XH et al. Exosomal long noncoding RNAs are differentially expressed in the cervicovaginal lavage samples of cervical cancer patients. *J Clin Lab Anal* 2016; 30 (6): 1116–21.
40. Nanbu Y, Fujii S, Konishi I et al. Immunohistochemical localization of CA130 in fetal tissues, and in normal and neoplastic tissues of the female genital tract. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1990; 16 (4): 379–87.
41. Calis P, Yuce K, Basaran D. Assessment of cervicovaginal cancer antigen 125 levels: a preliminary study for endometrial cancer screening. *Gynecol Obstet Invest* 2016; 81 (6): 518–22.
42. Tjong MY, Zumbach K, Schegget JT et al. Antibodies against human papillomavirus type 16 and 18 E6 and E7 proteins in cervicovaginal washings and serum of patients with cervical neoplasia. *Viral Immunol* 2001; 14 (4): 415–24.
43. Tjong MY, van der Vange N, ter Schegget JS et al. Cytokines in cervicovaginal washing fluid from patients with cervical neoplasia. *Cytokine* 2001; 14 (6): 357–60.
44. Honda K, Yamada T, Endo R et al. Actinin-4, a novel actin-bundling protein associated with cell motility and cancer invasion. *J Cell Biol* 1998; 140 (6): 1383–93.
45. Hegmans JP, Bard MP, Hemmes A et al. Proteomic analysis of exosomes secreted by human mesothelioma cells. *Am J Pathol* 2004; 164 (5): 1807–15.
46. Welsch T, Keleg S, Bergmann F. Actinin-4 expression in primary and metastasized pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 2009; 38 (8): 968–76.
47. Honda K. The biological role of actinin-4 (ACTN4) in malignant phenotypes of cancer. *Cell Biosci* 2015; 5: 41.
48. Van Raemdonck GA, Tjalma WA, Coen EP et al. Identification of protein biomarkers for cervical cancer using human cervicovaginal fluid. *PLoS One* 2014; 9 (9).
49. Van Ostade X, Dom M, Van Raemdonck G. IPA analysis of cervicovaginal fluid from precancerous women points to the presence of biomarkers for the precancerous state of cervical carcinoma. *Proteomes* 2014; 2: 426–50.
50. Berven LA, Crouch MF. Cellular function of p70S6K: a role in regulating cell motility. *Immunol Cell Biol* 2000; 78 (4): 447–51.
51. Benczik M, Galamb A, Koiss R et al. Claudin-1 as a biomarker of cervical cytology and histology. *Pathol Oncol Res* 2015.
52. Gonzalez AM, Otey C, Eklund M et al. Interactions of a hemidesmosome component and actinin family members. *J Cell Sci* 2001; 114 (Pt 23): 4197–206.
53. Gao W, Weng J, Gao Y et al. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 271.
54. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep* 2015; 5.
55. Dasari S, Rajendra W, Valluru L. Evaluation of microbial enzymes in normal and abnormal cervicovaginal fluids of cervical dysplasia: a case control study. *Biomed Res* 2014.
56. Ma Y, Madupu R, Karaoz U et al. Human papillomavirus community in healthy persons, defined by metagenomics analysis of human microbiome project shotgun sequencing data sets. *J Virol* 2014; 88 (9): 4786–97.
57. Vorsters A, Van Damme P, Clifford G. Urine testing for HPV: rationale for using first void. *BMJ* 2014; 349: g6252.
58. Leeman A, Del Pino M, Molijn A et al. HPV testing in first-void urine provides sensitivity for CIN2+ detection comparable to a physician-taken smear or brush-based self-sample: cross-sectional data from a triage population. *BJOG* 2017; 124: 1356–63.
59. Guerrero-Preston R, Valle BL, Jedlicka A et al. Molecular triage of premalignant lesions in liquid-based cervical cytology and circulating cell-free DNA from urine, using a panel of methylated human papilloma virus and host genes. *Cancer Prev Res (Phila)* 2016; 9 (12): 915–24.

60. Morris BJ, Lee C, Nightingale BN et al. Fourier transform infrared spectroscopy of dysplastic, papillomavirus-positive cervicovaginal lavage specimens. *Gynecol Oncol* 1995; 56 (2): 245–9.

61. Cricca M, Marasco E, Alessandrini F et al. High-throughput genotyping of high-risk human Papillomavirus by MALDI-TOF mass spectrometry-based method. *New Microbiol* 2015; 38 (2): 211–23.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Прилепская Вера Николаевна** – д-р мед. наук, проф., рук. научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова», засл. деятель науки. E-mail: VPrilepskaya@mail.ru

**Мгерян Анна Нерсесовна** – канд. мед. наук, науч. сотр., врач акушер-гинеколог научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова»

**Акопян Анда Саркисовна** – студентка ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет)

**Назарова Нисо Мирзоевна** – д-р мед. наук, вед. науч. сотр., врач акушер-гинеколог научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова»

**Довлетханова Эльмира Робертовна** – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., врач акушер-гинеколог научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова»

**Абакарова Патимат Рапиевна** – канд. мед. наук, науч. сотр., врач акушер-гинеколог научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова»

**Стародубцева Наталья Леонидовна** – канд. биол. наук, зав. лаб. протеомики репродукции человека ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова»

**Vera N. Prilepskaya** – D. Sci. (Med.), Prof., Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: VPrilepskaya@mail.ru

**Anna N. Mheryan** – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology

**Aida S. Akopian** – Student, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

**Niso M. Nazarova** – D. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology

**Elmira R. Dovletkhanova** – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology

**Patimat R. Abakarova** – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology

**Natalia L. Starodubtseva** – Cand. Sci. (Biol.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology

Статья поступила в редакцию / The article received: 03.12.2019

Статья принята к печати / The article approved for publication: 23.12.2019



Регистрация на сайте **rosors.com**  
Участие в Конгрессе — бесплатно

IV НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ КОНГРЕСС

## «ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ОТ МЕНАРХЕ ДО ПОСТМЕНОПАУЗЫ»

Конгресс посвящается Герою Труда РФ,  
академику РАН, профессору Г.М. Савельевой

МОСКВА «RADISSON SLAVYANSKAYA HOTEL & BUSINESS CENTER»

12-14 февраля 2020

#### Целевая аудитория



Гинекологи



Маммологи



УЗИ-диагностики  
Радиологи



Онкологи



Репродуктологи



Цитологи  
Специалисты  
лабораторной  
диагностики

#### Организаторы:



#### При поддержке:



МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



МИНПРОТОРГ  
РОССИИ

#### Технический организатор:



По вопросам участия:  
+7 (495) 799 82 19  
info@rosors.com