

ДЕРМАТООНКОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.5-006.03-022:578.827.1]:577.21.083.3

*Корнева Л.В.¹, Снарская Е.С.², Нодельман Е.К.³***МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ДНК ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА РОДА β В ДИАГНОСТИКЕ ИХ АССОЦИАЦИЙ С НЕКОТОРЫМИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ КОЖИ У ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ И ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ПАЦИЕНТОВ В РЕЖИМЕ REAL-TIME**

¹Кафедра дерматовенерологии и дерматоонкологии ФУВ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, г. Москва, Россия;

²Кафедра кожных и венерических болезней ИПО ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, г. Москва, Россия;

³Отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора России, 111123, г. Москва, Россия

Эпидемиологические и молекулярно-биологические данные позволяют предполагать, что вирусы папилломы человека (ВПЧ) рода β способны вызывать развитие ряда эпителиальных опухолей кожи, однако данная взаимосвязь в настоящее время до конца не изучена. Кроме самого факта обнаружения ВПЧ рода β , необходимо и количественно измерять вирусную нагрузку, определение которой является новым подходом в диагностике ВПЧ-инфекции. На базе отделений дерматовенерологии и дерматоонкологии, хронического гемодиализа и трансплантации почки МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского были обследованы 52 пациента с целью выявления ассоциации развития эпителиальных неоплазий с вирусом папилломы человека рода β у иммуносупрессивных и иммунокомпетентных пациентов. Определение ВПЧ осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real-Time). Амплификацию и детекцию проводили на приборе Rotor-Gene 3000 ("Corbett Research", Австралия). Для количественного определения ВПЧ рода β использовали рекомбинантные плазмидные положительные контроли, а также контрольные плазмиды фрагмента β -глобулинового гена человека (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). В фиброэпителиальных полипах и видимо здоровой коже иммуносупрессивных пациентов – реципиентов почечного трансплантата (РПТ) с высокой частотой выявляли ДНК ВПЧ рода β – 64 и 54% случаев соответственно по сравнению с кожей здоровых людей добровольцев (47% случаев). В фиброэпителиальных полипах у 57% иммуносупрессивных РПТ была выявлена микстинфекция. Вирусная нагрузка в фиброэпителиальных полипах превышала таковую как в видимо здоровой коже, так и в коже доноров. Показана высокая выявляемость ДНК ВПЧ у РПТ как в фиброэпителиальных полипах, так и в видимо здоровой коже. У иммунокомпетентных пациентов отмечена высокая выявляемость ДНК ВПЧ только в фиброэпителиальных полипах по сравнению с видимо здоровой кожей.

Ключевые слова: вирус папилломы человека рода β ; доброкачественные эпителиальные образования кожи; фиброэпителиальные полипы; себорейный кератоз; реципиенты почечного трансплантата; иммуносупрессивные и иммунокомпетентные пациенты; детекция ДНК ВПЧ рода β в режиме реального времени; режим Real-Time.

Для цитирования: Корнева Л.В., Снарская Е.С., Нодельман Е.К. Молекулярная генотипическая детекция ДНК вирусов папилломы человека рода β в диагностике их ассоциаций с некоторыми эпителиальными неоплазиями кожи у иммуносупрессивных и иммунокомпетентных пациентов в режиме Real-Time. *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2016; 19(5): 260-265. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2016-19-5-260-265>

*Korneva L.V.¹, Snarskaya E.S.², Nodelman E.K.³***MOLECULAR GENOTYPIC DETECTION OF BETA HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA IN THE DIAGNOSIS OF THEIR ASSOCIATION WITH CERTAIN SKIN EPITHELIAL NEOPLASIAS IN IMMUNOCOMPROMISED AND IMMUNOCOMPETENT PATIENTS IN THE MODE REAL-TIME**

¹Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, 129110, Russian Federation;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russian Federation;

³Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor of Russia, Moscow, 111123, Russian Federation

Epidemiological and molecular biological data suggest that the beta human papillomavirus (HPV) can cause the development of a number of epithelial skin tumors, but this interconnection is currently not fully understood. Besides detection of beta HPV, it is necessary to measure and quantify the viral load, it is a

new approach in the diagnosis of HPV infection. 52 patients were examined to identify the association of epithelial neoplasias beta human papilloma virus in immunocompromised and immunocompetent patients in the department of chronic hemodialysis and kidney transplantation of Moscow Regional Research and Clinical Institute. HPV detection was performed by polymerase chain reaction (PCR) with hybridization-fluorescence detection in real time (Real-Time). Amplification and detection were performed on the tool Rotor-Gene 3000 ("Corbett Research", Australia). For quantification of beta HPV recombinant plasmid positive controls, as well as control plasmid fragment of β -globin human gene (FSIS CRIE Rospotrebnadzor) were used. In fibroepithelial polyp and in apparently healthy skin of immunosuppressive patients – renal transplant recipients (RPT) with a high frequency was detected beta HPV DNA – 64 and 54%, respectively, compared to healthy skin (47% of cases). In fibroepithelial polyp in 57% of immunosuppressive RPT mixed infection was revealed. Viral load in the fibroepithelial polyp was higher than that as in apparently normal skin and in donors skin. The high detection of HPV DNA in RTP, as in the fibroepithelial polyp and in apparently healthy skin was found. Immunocompetent patients had high HPV DNA detection only in fibroepithelial polyp compared with apparently healthy skin.

Key words: beta human papilloma virus; benign epithelial skin formation; fibroepithelial polyp; seboreic keratosis; kidney transplant recipients; immunosuppressive and immunocompetent patients; Detection of beta HPV DNA in real time; Real-Time mode.

For citation: Korneva L.V., Snarskaya E.S., Nodelman E.K. Molecular genotypic detection of beta human papillomavirus DNA in the diagnosis of their association with certain skin epithelial neoplasias in immunocompromised and immunocompetent patients in the mode Real-Time. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Boleznei)*. 2016; 19(5): 260-265. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2016-19-5-260-265>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 06 September 2016

Accepted 20 September 2016

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одним из самых распространенных в мире. В настоящее время охарактеризовано около 200 генотипов вирусов папиллом, инфицирующих человека, млекопитающих и птиц; из них к родам, инфицирующим человека, относят α , β , γ , μ и π [1]. Эпидемиологические и молекулярно-биологические данные позволяют предполагать, что ВПЧ рода β способны вызывать развитие ряда эпителиальных опухолей кожи (ЭОК), однако данная взаимосвязь в настоящее время до конца не изучена. Среди здоровых людей чаще наблюдается латентное инфицирование ВПЧ рода β кожи, при которой ВПЧ может выступать компонентом нормальной микрофлоры, обитая в волосяных фолликулах [1, 2]. Геном ВПЧ обычно персистирует в эписомальной форме. Иммуносупрессия – важный ко-фактор развития ЭОК и может служить моделью для изучения роли вирусов в развитии как доброкачественных, так и злокачественных ЭОК [2]. Известно, что развитие ВПЧ-ассоциированных бородавок и кератотических кожных высыпаний неуклонно повышается после трансплантации [3]. Выявление ВПЧ рода β в ЭОК может быть результатом как активной вирусной инфекции, так и независимой бессимптомной персистенции, характерной для факторов естественной резистентности [3, 4]. Поэтому, кроме обнаружения ВПЧ рода β , необходимо количественно измерять вирусную нагрузку, определение которой является сравнительно новым подходом в диагностике ВПЧ-инфекции [4].

Фиброэпителиальные полипы (акрохордоны, мягкие фибромы) – распространенная доброкачественная опухоль кожи, клинически манифестирующая в виде кру-

глых мягких, эластичных выростов, сжатых у основания, диаметром от 0,5 до 5 мм. Обычно они пигментированы и локализуются на боковой поверхности шеи, в крупных складках, иногда – на лице, спине и груди [5]. Фиброэпителиальные полипы обычно наблюдаются у лиц среднего и пожилого возраста, чаще у женщин, особенно в постменопаузальный период, и у беременных, их число увеличивается с возрастом [5]. Факторами риска развития фиброэпителиальных полипов выступают трение, травмирование кожи (это подтверждает частое появление опухолей в области кожных складок, в местах трения одеждой), а также ожирение и сахарный диабет 2-го типа [5, 6].

Среди иммуносупрессивных пациентов, перенесших трансплантацию почек, фиброэпителиальные полипы выявляют достаточно часто – примерно в трети случаев (у 33 и 37% пациентов по данным зарубежных исследований), с тенденцией к более частому обнаружению при больших сроках иммуносупрессии [6].

Попытки обнаружить ВПЧ при данной патологии предпринимались давно. В 1998 г. С. Dianzani и соавт. [7] при исследовании ДНК ВПЧ 6-го и 11-го типов методом дот-блот гибридизации было обнаружено в 88% фиброэпителиальных полипов (из 49 образцов). В аналогичном исследовании [8] ДНК ВПЧ 6-го и 11-го типов выявили в фиброэпителиальных полипах в 77%, статистически значимо чаще, чем в коже вокруг очагов (53%) и у лиц контрольной группы (20%). В другой работе [9] с участием 50 человек ни в одном образце ткани фиброэпителиальных полипов слизистых типов ВПЧ обнаружить не удалось. Попыток выявить ассоциацию фиброэпителиальных полипов с ВПЧ рода β и изучить вирусную нагрузку в данных очагах ранее не предпринималось.

Ранее мы опубликовали [10] наши данные по результатам исследования ВПЧ рода β в тканях при себорейном кератозе, показав наличие значительной вирусной нагрузки как в видимо здоровой коже, так и в очагах себорейного кератоза.

Цель исследования – изучить ассоциацию фиброэпителиальных полипов с вирусом папилломы человека на основе количественного анализа ДНК ВПЧ рода β .

Задачи исследования:

– исследовать встречаемость ДНК ВПЧ рода β в фиброэпителиальных полипах и видимо здоровой коже

Для корреспонденции:

Корнева Любовь Вячеславовна, кандидат мед. наук, ассистент кафедры дерматовенерологии и дерматоонкологии ФУВ ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, г. Москва, Россия. E-mail: lvkorneva@mail.ru

For correspondence:

Korneva Lyubov V., MD, PhD, assistant of Department of Dermato-venerology and Dermato-oncology, Postgraduate Training Faculty, Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, 129110, Russian Federation. E-mail: lvkorneva@mail.ru

Information about author:

Snarskaya E. S., <http://orcid.org/0000-0002-7968-7663>.

Таблица 1
Распределение иммуносупрессивных и иммунокомпетентных пациентов по нозологиям

Иммунный статус	Группа новообразований	Количество больных	
		абс.	%
Иммуносупрессивные РПТ	Фиброэпителиальные полипы	22	
	Видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	22	
Иммунокомпетентные	Фиброэпителиальные полипы	30	
	Видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	30	
Контроль	Кожа здоровых людей	49	

реципиентов почечного трансплантата (РПТ) и иммунокомпетентных пациентов;

– изучить вирусную нагрузку ДНК ВПЧ рода β в фиброэпителиальных полипах и видимо здоровой коже иммуносупрессивных РПТ и иммунокомпетентных лиц.

Материал и методы

На базе отделений дерматовенерологии и дерматоонкологии, гемодиализа и трансплантации почки МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского обследовали 52 больных: 22 иммуносупрессивных (8 мужчин и 14 женщин, средний возраст 48 ± 6 лет) и 30 иммунокомпетентных (12 мужчин и 18 женщин, средний возраст 52 ± 11 лет). Длительность иммуносупрессии составила от полугода до 17 лет (медиана 3 года). У каждого из них был проанализирован акрохордон и образец видимо здоровой кожи из области плеча.

В качестве группы контроля обследовали 49 здоровых доноров, у которых кожные заболевания, в том числе ассоциированные с кожными типами ВПЧ, отсутствовали (табл. 1). В группе контроля были здоровые иммунокомпетентные лица (21 мужчина и 28 женщин, средний возраст $58 \pm 14,5$ года), у которых кожные заболевания, в том числе ассоциированные с ВПЧ, отсутствовали.

Большая часть иммуносупрессивных пациентов (18 человек) получала микофенолата мофетил, такролимус и преднизолон, 4 – циклоспорин А в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами.

Исследования методом молекулярной генодиагностики ВПЧ-инфекции проводили на базе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора [10]. Забор материала осуществляли в стерильных условиях борами (микробиоптаты). Исследуемый материал помещали в пробирки с транспортной средой и хранили при температуре -70°C .

Таблица 2
Выявляемость ДНК ВПЧ рода β в эпителиальных опухолях и образцах видимо здоровой кожи реципиентов почечного трансплантата и иммунокомпетентных пациентов с эпителиальными образованиями кожи

Пациенты	Исследуемые образцы	Количество образцов				
		Всего	ВПЧ ⁻		ВПЧ ⁺	
			абс.	%	абс.	%
РПТ	Фиброэпителиальные полипы	22	8	36	14	64
	Видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	22	10	45	12	54
Иммунокомпетентные	Фиброэпителиальные полипы	30	12	40	18	60
	Видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	30	18	60	12	40
Контроль	Кожа здоровых людей	49	26	53	23	47

Пробоподготовку проводили методом обработки ткани протеиназой К с последующим выделением методом аффинной сорбции на силикагеле с использованием набора для выделения ДНК-сорб-С производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

ВПЧ в соскобах определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real-Time), который позволил определить абсолютное количество геномов ВПЧ рода β и ДНК человека в пробе. Амплификацию и детекцию проводили на приборе Rotor-Gene 3000 ("Corbett Research", Австралия).

Для количественного определения ВПЧ рода β использовали рекомбинантные плазмидные положительные контроли, содержащие последовательность полных геномов ВПЧ кожных типов рода α , β , γ , μ и π – 1, 3, 4, 5, 7, 8, 15, 20, 24, 27, 37, 38, 49, 50, 65 (M. Favre Institut Pasteur, Unite Postulante Genetique, Papillomavirus et Cancer Humain, Франция; E.-M. de Villiers, Abteilung tumorvirus-Charakterisierung Referenzzentrum fur Humanpathogene Papillomviren, Германия), а также контрольные плазмиды фрагмента β -глобинового гена человека (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора).

Для выявления ДНК ВПЧ рода β использовали четыре системы олигонуклеотидов (группоспецифических праймеров и зондов):

1-я – для выявления генотипов вида $\beta 1$ (5, 8, 12, 14, 19, 21, 25, 36, 47-й типы);

2-я – для выявления генотипов вида $\beta 2$ (9, 15, 17, 22, 23, 38, 37, 80-й типы);

3-я – для выявления генотипов вида $\beta 3$ (49, 75, 76-й типы);

4-я – для выявления генотипов вида $\beta 4$ (92), $\beta 5$ (96), $\beta 1$ (20, 24 и 93-й типы).

Во все четыре системы введены олигонуклеотиды для выявления и количественного определения ДНК человека (по β -глобиновому гену человека), что позволяло проводить оценку адекватности забора, хранения и обработки образцов (принцип внутреннего контроля).

С учетом того, что при взятии клинического материала из фиброэпителиальных полипов и здоровой кожи количество эпителиальных клеток (а соответственно и копий вируса), попадающих в образец, существенно варьировало, использовали методику нормирования количества вируса на количество клеток человека, что позволило получить надежные и достоверные данные о вирусной нагрузке ВПЧ в клетках кожи. Расчет нормализованной вирусной нагрузки (ВН) производили по формуле: $VN = \lg[(\text{количество ДНК ВПЧ}/\text{количество ДНК человека}) \times 10^5]$.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Статистическую значимость различий частот определяли с помощью χ^2 -критерия. Для анализа характерных вирусных нагрузок рассчитывали десятичный логарифм количества вирусов; сравнение несвязанных выборок осуществляли с использованием критерия Манна-Уитни, связанных – с помощью критерия Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные данные представлены в виде таблиц.

Следует отметить, что у реципиентов почечного трансплантата фиброэпителиальные полипы обнаруживали как на открытых, так и на закрытых участках кожи. Как видно из табл. 2, ВПЧ рода β с высокой частотой выявлялся как в фиброэпителиальных полипах, так и в здоровой коже, что согласуется с ранее полученными данными [10]. ВПЧ чаще обнаруживали в фиброэпителиальных полипах иммуносупрессивных РПТ и иммунокомпетентных лиц (64 и 60% соответственно), чем в образцах видимо здоровой кожи.

В целом, РПТ частота обнаружения ВПЧ как в опухолях, так и в видимо здоровой коже была

Таблица 3
Сравнительная частота обнаружения разных видов ВПЧ рода β в эпителиальных опухолях и видимо здоровой коже РПТ и иммунокомпетентных пациентов

Исследуемые образцы	Вид ВПЧ								Количество образцов ВПЧ ⁺
	β1*		β2*		β3*		β4,5*		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
РПТ:									
фиброэпителиальные полипы	8	57	10	71	4	29	8	57	14
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	6	50	8	67	2	17	4	33	12
Иммунокомпетентные:									
фиброэпителиальные полипы	8	44	10	56	8	44	6	33	18
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	10	83	4	33	4	33	2	17	12
Кожа здоровых людей (контроль)	9	39	8	35	4	17	8	35	23

Примечание. * – в том числе в ассоциации с другими видами.

значимо выше, чем у иммунокомпетентных лиц. Аналогичная ситуация отмечена в отношении других эпителиальных образований кожи в ранее проведенных исследованиях [8].

Как в фиброэпителиальных полипах, так и в здоровой коже выявлен широкий спектр генотипов ВПЧ рода β, принадлежащих к различным видам (β1, β2, β3, β4, β5). В целом, представители различных видов ВПЧ (β1, β2, β3, β4, β5) встречались приблизительно с одинаковой частотой.

У иммуносупрессивных РПТ в фиброэпителиальных полипах преобладала ассоциация нескольких видов ВПЧ (в 57% случаев), тогда как у иммунокомпетентных пациентов преимущественно отмечалось инфицирование одним видом ВПЧ (в 67% случаев).

В себорейных кератомах иммуносупрессивных пациентов преимущественно зафиксирована ассоциация двух и более видов ВПЧ рода β. В образцах здоровой кожи иммунокомпетентных лиц без ЭОК отмечалось инфицирование одним видом ВПЧ рода β ($p < 0,05$). В остальных

Таблица 5
Медиана логарифма вирусной нагрузки в эпителиальных опухолях и нормальной коже (log ДНК ВПЧ/10⁵ клеток) иммуносупрессивных и иммунокомпетентных пациентов; Me (25%; 75%)

Исследуемые образцы	Количество элементов	Медиана логарифма вирусной нагрузки
Иммуносупрессивные:		
себорейный кератоз	15	2,8 (1,9; 5,4)
фиброэпителиальные полипы	6	3,0 (1,9; 4,8)
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	13	1,9 (1,3; 2,3)
здоровая кожа у лиц без ЭОК	2	2,45 (1,1; 3,8)
Иммунокомпетентные:		
себорейный кератоз	5	1,8 (1,2; 2,3)
фиброэпителиальные полипы	6	3,0 (2,7; 3,2)
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	5	2,3 (1,8; 2,9)
здоровая кожа у лиц без ЭОК	23	1,5 (0,9; 1,9)

Таблица 4
Встречаемость одного или нескольких видов ВПЧ рода β в образцах эпителиальных опухолей и видимо здоровой коже РПТ и иммунокомпетентных пациентов

Исследуемые образцы	Количество образцов ВПЧ ⁺	ВПЧ в образце			
		один вид		два вида и более	
		абс.	%	абс.	%
РПТ:					
фиброэпителиальные полипы	14	6	43	8	57
видимо здоровая кожа	12	8	67	4	33
Иммунокомпетентные:					
фиброэпителиальные полипы	18	12	67	6	33
видимо здоровая кожа	12	8	67	4	33
Кожа здоровых людей (контроль)	23	17	74	6	26

случаях частота встречаемости моно- и микстинфекции не различалась.

В себорейных кератомах у иммуносупрессивных пациентов вирусная нагрузка была значимо выше, чем в аналогичных опухолях у иммунокомпетентных лиц (медианы 2,8 и 1,8 логарифма на 10⁵ клеток соответственно). Между вирусной нагрузкой в фиброэпителиальных полипах иммуносупрессивных и иммунокомпетентных пациентов значимых различий не выявлено. В здоровой коже иммуносупрессивных лиц (как с ЭОК, так и без них) вирусная нагрузка оказалась значимо выше, чем в здоровой коже иммунокомпетентных лиц ($p < 0,03$). Также в видимо здоровой коже иммунокомпетентных с ЭОК вирусная нагрузка была значимо большей, чем в здоровой коже у лиц без ЭОК.

При попарном сравнении у иммуносупрессивных пациентов вирусная нагрузка в ЭОК (СК и фиброэпителиальных полипах) оказалась значимо большей, чем в здоровой коже. У иммунокомпетентных пациентов вирусная нагрузка в фиброэпителиальных полипах также была выше, чем в здоровой коже ($p < 0,05$), тогда как между

Таблица 6
Выявленная нагрузка различных видов ВПЧ рода β в образцах исследуемой кожи

Исследуемые образцы	n	Вид ВПЧ в образце			
		β1	β2	β3	β4
Иммуносупрессивные:					
себорейный кератоз	5	3	2		
фиброэпителиальные полипы	3	1	1		1
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	8	3	4		1
здоровая кожа у лиц без ЭОК	5	1			
Иммунокомпетентные:					
себорейный кератоз	3	2	1		
фиброэпителиальные полипы	4	1	2		1
видимо здоровая кожа у лиц с ЭОК	5	1			
здоровая кожа у лиц без ЭОК	17	4	5	1	7

Таблица 7

Образцы себорейного кератоза и здоровой кожи с выявленным сочетанием различных видов ВПЧ рода β

Вид ВПЧ в образце	Иммуносупрессивные		Иммунокомпетентные	
	себорейный кератоз	здоровая кожа	себорейный кератоз	здоровая кожа
$\beta 1$	3	3	2	1
$\beta 2$	4	4	1	0
$\beta 3$	0	0	0	0
$\beta 4$	1	1	0	0
$\beta 1+2$	1	1	0	1
$\beta 1+3$	0	0	0	0
$\beta 1+4$	2	2	1	1
$\beta 2+3$	0	0	0	0
$\beta 3+4$	0	0	0	0
$\beta 2+4$	0	0	0	0
$\beta 1+2+3$	1	1	0	1
$\beta 1+2+4$	0	0	1	1
$\beta 2+3+4$	0	0	0	0
$\beta 1+3+4$	1	1	0	0
$\beta 1+2+3+4$	0	0	0	0
Число образцов ВПЧ ⁺ себорейного кератоза с ВПЧ ⁻ здоровой кожей, иммуносупрессивных пациентов				3
Число образцов ВПЧ ⁺ себорейного кератоза с ВПЧ ⁻ здоровой кожей, иммунокомпетентных пациентов				1
Число образцов ВПЧ ⁻ себорейного кератоза с ВПЧ ⁺ здоровой кожей, иммуносупрессивных пациентов				1
Число образцов ВПЧ ⁻ себорейного кератоза с ВПЧ ⁺ здоровой кожей, иммунокомпетентных пациентов				0



Рис. 1. Множественные фиброэпителиальные полипы и себорейные кератомы кожи лица у иммуносупрессивного пациента.

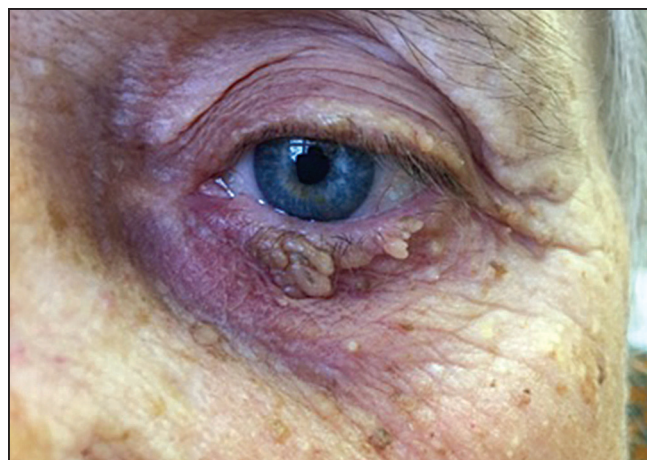


Рис. 2. Множественные фиброэпителиальные полипы периорбитальной области у иммуносупрессивного пациента.

вирусной нагрузкой в СК и в здоровой коже значимых различий не было.

Высокая частота обнаружения ВПЧ, в том числе и в здоровой коже, показанная в зарубежных исследованиях и подтвержденная нами [10], делает возможным более глубокое исследование и определение количественного анализа с определением вирусной нагрузки ДНК ВПЧ в ВПЧ-положительных (ВПЧ⁺) образцах фиброэпителиальных полипов и здоровой кожи с нормированием числа ДНК ВПЧ на число клеток (табл. 3, 4).

Вирусная нагрузка в фиброэпителиальных полипах и видимо здоровой коже иммуносупрессивных РПТ составила 3 (1,9; 4,8) и 2 (1,3; 2,5) соответственно – данные представлены в виде Ме (25%; 75%) (табл. 5). Похожие результаты были получены относительно вирусной нагрузки в фиброэпителиальных полипах и видимо здоровой коже иммунокомпетентных лиц: 3 (2,7; 3,2) и 2,2 (1,6; 2,8) соответственно. Вирусная нагрузка ДНК ВПЧ в здоровой коже доноров была значимо ниже и составила 1,5 (0,9; 1,9), данные представлены в табл. 6, 7.

Таким образом, анализ предварительных данных показал, что в фиброэпителиальных полипах и в видимо здоровой коже РПТ ВПЧ рода β обнаруживали с более высокой частотой (64 и 54% соответственно), чем в коже доноров (47%).

В фиброэпителиальных полипах у РПТ выявлялось несколько видов ВПЧ рода β : 1, 2, 3 и 4, 5 (57, 71, 29 и 57% соответственно).



Рис. 3. Множественные фиброэпителиальные полипы периорбитальной области у иммунокомпетентного пациента.



Рис. 4. Множественные себорейные кератомы и фиброэпителиальные полипы у иммунокомпетентного пациента.

У иммуносупрессивных РПТ с единичными фиброэпителиальными полипами (менее 5 элементов) ДНК ВПЧ рода β обнаруживали несколько реже (в 43% случаев), чем у РПТ с множественными (более 5 элементов) высыпаниями фиброэпителиальных полипов – в 87% случаев (рис. 1, 2).

В фиброэпителиальных полипах у иммуносупрессивных РПТ преобладала микстинфекция (в 57% случаев), тогда как в элементах иммунокомпетентных пациентов и в здоровой коже отмечалось инфицирование одним видом ВПЧ рода β (рис. 3, 4).

Существует пробел в нашем понимании как ассоциации между ВПЧ и ЭОК, так и механизмов, за счет которых ВПЧ может вызывать развитие ЭОК. Невозможность обнаружить ВПЧ во всех ЭОК может быть обусловлена ограничениями применяемых методов молекулярной диагностики.

Таким образом, необходимо больше исследований для подтверждения или опровержения роли ВПЧ рода β в развитии ЭОК в общей популяции и особенно среди иммуносупрессивных лиц.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

4. Кладова А.Ю., Куевда Д.А., Молочков В.А., Шипулина О.Ю., Киселев В.И., Хлебникова А.Н. Встречаемость кожных типов вирусов папилломы человека в опухолях кожи. *Альманах клинической медицины*. 2006; 9: 44–50.
 5. Молочков В.А., Галил-Оглы Г.А., Сергеев Ю.В. Дерматоонкология. М.: Медицина; 2005: 34–40.
 10. Корнева Л.В., Снарская Е.С., Молочков В.А., Полянская А.А. Генодиагностика ассоциации ДНК вирусов папилломы человека рода β с себорейным кератозом у иммуносупрессивных и иммунокомпетентных больных. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2015; 18(2): 4–7.
- Остальные источники литературы см. в References.*

REFERENCES

1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. Lyon; 2012. vol. 90.
2. Harwood C.A., Suretheran T., McGregor J.M., Spink P.J., Leigh I.M., Breuer J., et al. Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J. Med. Virol.* 2000; 61(3): 289–297.
3. De Jong-Tieben L.M., Berkhout R.J., ter Schegget J., Vermeer B.J., de Fijter J.W., Bruijn J.A., et al. The prevalence of human papillomavirus DNA in benign keratotic skin lesions of renal transplant recipients with and without a history of skin cancer is equally high: a clinical study to assess risk factors for keratotic skin lesions and skin cancer. *Transplantation*. 2000; 69(1): 44–9.
4. Kladova A.Yu., Kuevda D.A., Molochkov V.A., Shipulina O.Yu., Kiselev V.I., Khlebnikova A.N. The incidence of skin types of HPV in skin tumors. *Almanac of Clinical Medicine. Russian Journal (Almanakh klinicheskoy meditsiny)*. 2006; 9: 44–50.
5. Molochkov V.A., Galil-Ogly G.A., Sergeev Yu.V. *Dermatooncology*. Moscow: Medicina; 2005: 34–40.
6. Chen Q.P., Aw D.C. Epidemiology of skin diseases in renal transplant recipients in a tertiary hospital. *Ann. Acad. Med. Singapore*. 2010; 39(1): 904–5.
7. Dianzani C., Calvieri S., Pierangeli A., Imperi M., Bucci M., Degener A.M. The detection of human papillomavirus DNA in skin tags. *Br. J. Dermatol.* 1998; 138(4): 649–51.
8. Sallam M.A., Kamel M.M., Missiry A.G., Helal M.F. Detection of some types of human papillomaviruses in skin tags. *Sci. J. Az. Med. Fac. (Girls)*. 2003; 24(1): 311–17.
9. Pezeshkpoor F., Jafarian A.H., Ghazvini K., Yazdanpanah M.J., Sadeghian A., Esmaili H., et al. An association of human papillomaviruses low risk and high risk subtypes with skin tag. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2012; 15(3): 840–4.
10. Korneva L.V., Snarskaya E.S., Molochkov V.A., Poljanskaya A.A. Genodiagnosis of HPV β DNA association with seborrheic keratosis in immunosuppressed and immunocompetent patients. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Bolezney)*. 2015; 18(2): 4–7.

Поступила 06.09.16

Принята к печати 20.09.16