

ДЕРМАТООНКОЛОГИЯ

© СНАРСКАЯ Е.С., АВАД ЖАБЕР МАХМУД ЖАБЕР, 2020

*Снарская Е.С., Авад Жабер Махмуд Жабер***Интегративная виrogenия папилломавирусов
рода beta кожного типа на фоне прогрессирующего
дерматогелиоза как потенциальный риск развития
злокачественного канцерогенеза**ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва, Россия

АКТУАЛЬНОСТЬ: Эпидемиологические и молекулярно-биологические данные позволяют предполагать, что вирусы папилломы рода beta способны вызывать развитие ряда эпителиальных немеланоцитарных новообразований кожи. Большой интерес представляет собой одна из наиболее вероятных гипотез влияния вирусов папилломы человека кожного типа, в которой они рассматриваются как кофактор промоции опухолевого роста клеток уже повреждённых опухольиницирующими эпигенетическими факторами -- результатом кумулятивного индуцированного ультрафиолетом повреждения, т.е. фотостарения. Папилломавирусы кожного типа рода beta инфицируют многослойный плоский эпителий кожи, что и определяет спектр клинических мишеней, которыми являются морфологические структуры эпидермиса кожи. Онкогенная стратегия канцерогенных папилломавирусов усиливается рядом механизмов повышения агрессивности опухолевого роста, важной особенностью которых является интегративная виrogenия -- процесс включения вирусного генома в состав клеточных хромосом эпителиоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ: В статье представлены результаты собственных исследований встречаемости и степени вирусной нагрузки ДНК ВПЧ рода beta у 80 пациентов (42 пациента с дерматогелиозом IV степени по Глоау и эпителиальными неоплазиями, 38 пациентов без дерматогелиоза) и 40 здоровых доноров.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Нами продемонстрировано, что выявленные у иммуносупрессивных больных группы с катастрофическими проявлениями дерматогелиоза и множественными эпителиальными неоплазиями (папилломами, фиброэпителиомами, кератомами, карциномами кожи) высокие показатели детекции папилломавирусов в пролиферирующей ткани значительно превышают показатели вирусной нагрузки ДНК вируса в нормальной коже ($1,42 \pm 0,6 \log$) и коррелируют с другими клинико-анамнестическими признаками, в частности выраженными признаками дерматогелиоза по Глоау (IV катастрофическая стадия) и конституционально высокой степенью фоточувствительности (II–III по Фицпатрику), что свидетельствует о формировании «патологического тандема», который составляют местная иммуносупрессия и множественные пролиферативные очаги эпидермиса.

Ключевые слова: вирус папилломы человека рода beta; интегративная виrogenия; опухольиницирующие эпигенетические факторы; фотостарение; эпителиальные немеланоцитарные новообразования кожи.

Для цитирования: Снарская Е.С., Авад Жабер Махмуд Жабер. Интегративная виrogenия папилломавирусов рода beta кожного типа на фоне прогрессирующего дерматогелиоза как потенциальный риск развития злокачественного канцерогенеза // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2020;23(3):132-45.

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv48929>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.08.2020

Принята к печати 09.09.2020

*Snarskaya E.S., Awad Zhaber Mukhamed Zhaber***Integrative virogeny of skin-type beta papillomaviruses with concurrent progressive
dermatoheliosis as a potential risk of malignant carcinogenesis**I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow,
Russian Federation

BACKGROUND: Epidemiological and molecular biological data suggest that papilloma viruses of the beta genus are capable of causing the development of a number of epithelial non-melanocytic skin neoplasms. One of the most probable hypotheses of the influence of cutaneous human papillomaviruses is of great interest, in which they are considered as a cofactor for the promotion of tumor growth of cells already damaged by tumor-initiating epigenetic factors -- the result of cumulative ultraviolet-induced damage (UVI),

that is, photoaging. Cutaneous papillomaviruses of the genus beta infect the stratified squamous epithelium of the skin, which determines the spectrum of clinical targets, which are the morphological structures of the skin epidermis. The oncogenic strategy of carcinogenic papillomaviruses is enhanced by a number of mechanisms for increasing the aggressiveness of tumor growth, an important feature of which is integrative virogeny, the process of incorporating the viral genome into the cellular chromosomes of epithelial cells.

MATERIALS AND METHODS: The article presents the results of our own studies of the incidence and degree of viral load of HPV genus beta DNA in 80 patients (42 patients with dermatogeliosis of III–IV degrees according to Glogau and epithelial neoplasias, 38 patients without dermatogeliosis) and 40 healthy donors.

RESULTS: We have demonstrated that high rates of detection of papillomaviruses in proliferating tissue identified in immunosuppressive patients with catastrophic manifestations of dermatogeliosis and multiple epithelial neoplasias (papillomas, fibroepitheliomas, keratomas, skin carcinomas) significantly exceed the viral load of virus DNA in normal skin (1.42 ± 0.6 log) and correlate with other clinical and anamnestic signs, in particular, pronounced signs of dermatogeliosis according to Glogau (IV catastrophic stage) and a constitutionally high degree of photosensitivity (II–III according to Fitzpatrick), which indicates the formation of a "pathological tandem", which is local immunosuppression and multiple proliferative foci of the epidermis.

Key words: human papillomavirus beta genus; integrative virogeny; tumor-initiating epigenetic factors; photoaging; epithelial non-melanocytic skin neoplasms.

For citation: Snarskaya ES, Avad Zhaber Mukhamed Zhaber. Integrative virogeny of skin-type beta papillomaviruses with concurrent progressive dermatogeliosis as a potential risk of malignant carcinogenesis. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*. 2020;23(3):132–45. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv48929>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 13 Aug 2020

Accepted 09 Sept 2020

По данным международной литературы известно, что около 20% всех неопластических процессов у человека развиваются в результате воздействия целого ряда так называемых онкогенных вирусов. Экспертами Международного агентства по изучению рака (МАИР) в качестве онкогенных рассматриваются в том числе папилломавирусы человека (вирус папилломы человека, ВПЧ; human papilloma virus, HPV) [1]. Потенциальные онкогенные свойства большинства папилломавирусов связаны с их способностью нарушать дифференцировку и индуцировать пролиферацию эпителиоцитов кожи и слизистых оболочек, что клинически реализуется в виде целого спектра эпителиальных неоплазий с высокими рисками злокачественной трансформации при наличии определённых эпигенетических факторов. Папилломавирусы кожного типа рода beta инфицируют клетки эпителия кожи, что и определяет спектр клинических мишеней, которыми являются морфологические структуры эпидермиса кожи [2]. Онкогенная стратегия канцерогенных папилломавирусов усиливается рядом механизмов, которые повышают агрессивность опухолевого роста. Важной особенностью этих механизмов является так называемая интегративная виrogenия, т.е. включение

вирусного генома в состав клеточных хромосом [3, 4]. Процессы интеграции, которые иногда встречаются и при доброкачественных опухолях, присущи большинству инвазивных карцином и предраковых неоплазий, существенно влияют и определяют взаимоотношения вируса с ДНК клетки. Интеграция способствует общей дестабилизации клеточного генома, predisposing к серии необратимых мутаций. Накопление массы мутировавших клеток ведёт к селекции инвазивных клонов клеток. Наиболее ярко это продемонстрировано на примере цитогенетической динамики HPV-индуцированной малигнизации – поликлональности их первичных поражений при генитальных опухолях [2].

Так, HPV-ДНК обнаружена в хромосомах нескольких клеточных линий, полученных из генитальных опухолей. В частности, линия клеток HLA цервикальной аденокарциномы содержит геном HPV-18 [2].

Согласно одной из гипотез, HPV кожного типа рассматривают как кофактор промоции опухолевого роста клеток уже повреждённых опухольиницирующими эпигенетическими факторами, и прежде всего длительным воздействием ультрафиолетового (UV) излучения [5, 6]. Процесс может длиться годами,

Для корреспонденции:

Снарская Елена Сергеевна, профессор кафедры кожных венерических болезней ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия. E-mail: snarskaya-dok@mail.ru

For correspondence:

Elena S. Snarskaya, MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Skin and Venereal Diseases of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: snarskaya-dok@mail.ru

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-7968-7663>

незаметно приводя к развитию злокачественных эпителиальных опухолей, преимущественно на открытых участках кожного покрова. Малигнизация возникает в результате многолетних поэтапных изменений структур эпидермиса, которые варьируют от незначительных доброкачественных до выраженных злокачественных дисплазий [5, 6].

По данным многочисленных исследований [6–10], главная роль в развитии немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи принадлежит UV-облучению. Повреждающее действие на ДНК кератиноцитов оказывает UV-облучение В-спектра с длиной волны 280–320 нм (UVB), что приводит к появлению клеточных мутаций [6]. В случае возникновения мутаций в генах, контролирующих клеточный цикл, репарацию ДНК и апоптоз, запускается процесс фотоканцерогенеза [6]. При избыточной инсоляции зафиксировано образование мутантных форм онкобелка p53, повышение образования антиапоптотического белка Bcl-2, подавление экспрессии Fas-рецепторов [7]. В дополнение к прямому влиянию на клеточный цикл кумулятивное UV-излучение вызывает как локальную, так и системную иммуносупрессию, блокируя противоопухолевый контроль, который в противном случае распознал бы высокоантигенную кожную опухоль [8]. На коканцерогенез указывает и злокачественное перерождение элементов на открытых участках кожи, например при веррукозной эпидермодисплазии [8, 9], что подтверждает роль UVB в экспрессии HPV-5 и HPV-8 с последующей индукцией и ускорением опухолевого роста [9]. Кроме того, малигнизации способствуют иммуносупрессивные состояния (нарушения клеточного иммунитета; ВИЧ-инфекция; фармакологическая иммуносупрессия, в частности глюкокортикостероидные, цитостатические препараты; герпетическая инфекция, коинфицирование несколькими HPV-типами, многократные беременности, курение) [10]. Имеет значение и генетическая предрасположенность, которая влияет на чувствительность клеток к инфицированию, способность к элиминации вирусов и длительность инкубационного периода [10]. Ряд популяционных исследований, молекулярные и патоморфологические данные подтверждают, что HPV рода beta могут играть этиологическую роль в развитии эпителиальных опухолей, иммуносупрессия является важным кофактором развития эпителиальных образований кожи [4–6]. Формирование HPV-ассоциированных бородавок, базально-клеточных папиллом, ороговевающих кожных опухолей (кератозы) и немеланомных видов рака кожи значимо повышается после трансплантации внутренних органов [3]. В последнее время стало очевидным, что простое обнаружение HPV в немеланоцитарных эпителиальных опухолях кожи не может являться прямым доказатель-

ством этиологической роли HPV в развитии данных состояний. Обнаружение HPV в патологически изменённом эпителии кожи может быть следствием как активной вирусной инфекции, так и независимой бессимптомной персистенции, характерной для условно-патогенных инфекционных агентов. Поэтому помимо выявления HPV необходимо проводить измерение вирусной нагрузки [11–13].

Определение вирусной нагрузки является новым подходом в диагностике HPV-инфекции, уже показавшим свою высокую значимость в мониторинге течения и прогрессирования генитальной папилломавирусной инфекции [11, 12]. Таким образом, в настоящее время не вызывает сомнений необходимость проведения количественного анализа вирусных геномов в немеланоцитарных эпителиальных опухолях кожи, что позволит более объективно судить о характере присутствия HPV в опухолях кожи, а следовательно, глубже понимать механизмы, связывающие немеланоцитарные эпителиальные опухоли кожи с HPV. Сегодня доступны антитела для иммуноцитохимического определения общего (родоспецифического) антигена папилломавирусов, но их чувствительность недостаточна для надёжного диагноза. Серологическая диагностика (определение анти-HPV антител) также малочувствительна и не получила широкого применения. С целью прогностического обнаружения канцерогенных свойств HPV при эпителиальных дисплазиях целесообразно использовать метод молекулярно-генетического анализа, т.е. выявление HPV-ДНК.

Цель исследования – изучение встречаемости и степень вирусной нагрузки ДНК HPV рода beta у 80 пациентов (из них 42 с дерматогелиозом IV степени по Глогау и 38 без дерматогелиоза) и 40 здоровых доноров.

Материал и методы

Работа выполнена на кафедре кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) в период 2018–2020 гг.

В исследование были включены 80 пациентов (37 мужчин и 43 женщины), находившихся на лечении или амбулаторно-консультативном приёме в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Университетской клинической больницы № 2 и отделении ЛДО УКБ № 2 «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», и 40 здоровых добровольцев (рис. 1).

Все пациенты обследованы согласно российским клиническим рекомендациям (2016): общий анализ крови, биохимическое исследование крови, иммуноферментный анализ крови на ВИЧ-инфекцию, сифилис, HBsAg, HCV, общий анализ мочи.

Таблица 1

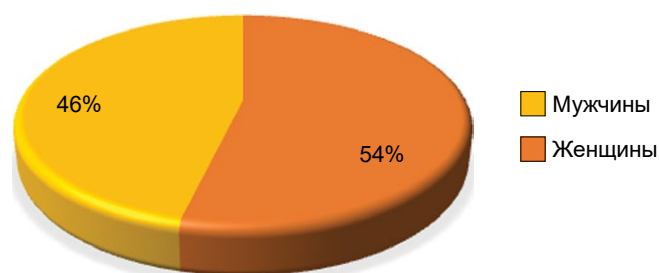


Рис. 1. Гендерный состав пациентов основных групп.

Лабораторное исследование клинических и биохимических параметров крови проводили в Межклинической биохимической лаборатории (руководитель В.Г. Тугаринова).

Всем пациентам выполнено клиничко-морфологическое обследование.

Клиничко-anamnestическое обследование включало сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, оценку клинических проявлений и определение их степени тяжести, при этом из данных анамнеза важными являлись возраст и пол пациентов, фототип кожи, длительность заболевания и количество высыпаний, ассоциированных с кожными типами HPV, наличие признаков фотостарения; наличие эпителиальных неоплазий на открытых участках кожного покрова (пациенты заполняли разработанный нами опросник) (табл. 1).

Осмотр дерматовенеролога включал:

- установление фототипа кожи пациента по шкале Фицпатрика [14];
- клиническую оценку стадий фотостарения (дерматогелиоз) по Р. Глогау [14];
- клиническую оценку степени выраженности дерматогелиоза с помощью адаптированной шкалы SCINEXA [15].

В результате анализа результатов опросников и клинических признаков степени фотостарения по Глогау мы провели распределение всех участников исследования на две основные группы.

В 1-ю группу (иммуносупрессивная) вошли 42 пациента с выраженными клиническими признаками фотостарения IV степени по Глогау (18 мужчин и 24 женщины) в возрасте $46,5 \pm 6,5$ года. Все пациенты этой группы имели скомпроментированный анамнез по данным опросника.

Во 2-ю группу (иммунокомпетентная) вошли все остальные пациенты без признаков фотостарения ($n = 38$), из них 16 мужчин и 22 женщины в возрасте $51,0 \pm 5,6$ года. Пациенты этой группы применяли фотопротекторы и не злоупотребляли солнечной инсоляцией.

Группу контроля составили 40 человек (17 мужчин и 23 женщины) – здоровых доноров в возрасте $50 \pm 5,1$ года, у которых отсутствуют кожные забо-

Опросник для пациентов на наличие факторов риска развития фотоиндуцированной патологии кожи

Вопрос	Данные анамнеза (да/нет)
UV-облучение	• Хроническая неконтролируемая инсоляция с детского возраста • Посещение солярия: – длительность процедур – частота сеансов • Смена климатических условий на более агрессивные по UV-излучению: – редко – регулярно • Эпизоды сильных солнечных ожогов кожи в течение жизни: – да (1 или более) – нет
Пол	Женщина / мужчина
Конституциональный тип фоточувствительности кожи по Фицпатрику	• I мелано-дефицитный тип • II мелано-дефицитный тип • III мелано-компетентный тип
Осведомлённость о необходимости регулярного применения фотопротекторов	• Низкая • Крайне низкая • Отсутствует
Адекватность профилактических мер защиты кожи	• Эпизодическое применение средств фотопротекции • Никогда не применяет средства фотопротекции • Применяет, но: – фотопротекция низкого качества – с низким фактором защиты (менее 15 SPF) – крем и пластиковые солнцезащитные очки без UV-фильтров
Наличие эпителиальных неоплазий на открытых участках кожного покрова (папилломы, фиброэпителиальные полипы, солнечное лентигио)	• Нет • Есть: – единичные – множественные

левание, в том числе ассоциированные с кожными типами HPV.

С целью клинической оценки дерматогелиоза была использована адаптированная шкала SCINEXA, содержащая 5 параметров для оценки степени хронологического старения кожи и 17 параметров, характеризующих изменения кожи вследствие кумулятивного эффекта UV-излучения у пациентов 1-й и 2-й групп.

Поскольку клинической оценке подвергался весь кожный покров (открытые и закрытые участки кожи), участникам исследования выполнены следующие диагностические процедуры:

- дерматоскопическое исследование для верификации доброкачественных и злокачественных неоплазий;

- цитологическое исследование кожи и слизистых оболочек при наличии эпителиальных неоплазий;
- генодиагностика HPV-инфекции.

Клинические признаки дерматогелиоза характеризовались по следующей схеме: 0 – отсутствие признака, 1 – слабая выраженность признака (I степень), 2 – умеренная выраженность признака (II степень), 3 – сильная выраженность признака (III степень) [15].

Исследования проводили на базе ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва (далее ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Микробиоптаты ткани получены с помощью малоинвазивной модификации взятия биопсии бритвенным способом, или методом соскоба (для получения суспензии клеток) с поверхности очагов дисплазии (базально-клеточных папиллом, аденом, фиброэпителиом, бородавок, кератоакантом, актинических кератом, карцином кожи) и из участков видимо здоровой кожи, закрытых от воздействия UV-излучения, у 80 пациентов и 40 здоровых доноров.

Методы. Исследуемый клеточный материал помещали в пробирки, содержащие по 1 мл транспортной среды (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Для максимального сохранения количества клеточной и вирусной ДНК пробирки замораживали сразу после взятия материала и хранили до проведения ПЦР-анализа при температуре -70 °С. Пробоподготовку исследуемого материала проводили методом обработки ткани протеиназой К с последующим выделением ДНК методом аффинной сорбции на силикагеле с использованием набора для выделения «ДНК-сорб С» в соответствии с инструкцией производителя (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Элюцию проводили в 100 мкл ТЕ-буфера. Образцы, содержащие очищенную ДНК, использовали в реакции амплификации нуклеиновых кислот. Для разработки методики количественного определения HPV рода beta, а также оценки её чувствительности и специфичности использовали рекомбинантные плазмидные положительные контроли, содержащие последовательность полных геномов HPV кожных типов рода alpha, gamma, mu, nu и beta – 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 HPV рода beta использовали четыре системы олигонуклеотидов (группоспецифических праймеров и зондов):

- 1-я – для выявления генотипов вида β1 (5, 8, 12, 14, 21, 19, 25, 47, 36);

- 2-я – для выявления генотипов вида β2 (9, 15, 17, 22, 23, 38, 37, 80);
- 3-я – для выявления генотипов вида β3 (49, 75, 76);
- 4-я – для выявления генотипов вида β4 (92), β5 (96), β1 (20, 24 и 93-й типы).

Последовательности всех олигонуклеотидов для 25 типов HPV рода beta были выбраны при анализе известных последовательностей HPV, взятых из интернет-ресурса NCBI GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), и обработаны с помощью программы AlignX пакета Vector NTI 6 (InforMax Inc., 2000). Во все четыре системы введены олигонуклеотиды к последовательности β-глобинового гена человека с целью соблюдения принципа внутреннего контроля (оценки адекватности забора, хранения и обработки образцов).

Выявление ДНК HPV в образцах ткани проводили в четырёх пробирках. Каждая пробирка содержала одну из групп олигонуклеотидов для выявления HPV, а также олигонуклеотиды для выявления β-глобинового гена человека.

В состав реакционных смесей для полимеразной цепной реакции (ПЦР) входили следующие компоненты:

- олигонуклеотидные праймеры и зонды;
- нуклеотиды в концентрации 0,2 мМ каждого;
- ПЦР-буфер (66 мМ Tris-HCl, Ph 8,8, 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 4 мМ MgCl₂, 0,01% Tween 20);
- TaqF-ДНК-полимераза (2U в реакцию) (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора);
- очищенная ДНК, выделенная из клинического материала – 10 мкл.

В отдельные пробирки (вместо образца ДНК) вносили положительные и отрицательные контрольные образцы (10 мкл).

Отрицательный контроль амплификации представлял обычную реакционную смесь, в которую вместо образца ДНК добавляли ТЕ-буфер.

Положительный контроль амплификации представлял собой фрагмент специфичной ДНК (контрольные плазмиды HPV в концентрации 10⁴ копий ДНК HPV/мл). Процедуру термоциклирования проводили на амплификаторе Mx3000P (Stratagene, США) с адаптированным компьютером по следующей программе: предварительный этап при температуре 95 °С – 15 мин, затем при 95 °С – 15 с, при 60 °С – 30 с, при 65 °С – 1 мин. Всего 50 циклов.

Продукты амплификации выявлялись путём измерения флуоресцентного сигнала, нарастающего по мере накопления специфического продукта реакции. При положительной реакции кривая флуоресценции имела характерный S-образный вид. В соответствии с этим мы проводили *качественную* оценку результатов реакции. Для *количественного* анализа использовали десятикратные разведения (6 log – 1 log) положительных плазмидных

контролей 5, 8, 15, 37, 38, 20, 24, 49-го типов HPV и ДНК человека (стандарты).

Для построения и математической обработки описанных кривых использовали программу построения, обработки, анализа кривых флюоресценции и ведения документации для метода ПЦР в режиме реального времени – Mx3000P (Stratagene, США).

Качество клинических образцов (качество забора, транспортировки, хранения, выделения) определяли по количеству геномной ДНК (β-глобинового гена человека). Для достижения чувствительности не менее чем 100 копий ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека введено ограничение на минимальное количество клеток человека в образце, которое составило 5,9 log (8,0 × 10⁵) копий ДНК человека/мл. В соответствии с полученными данными все образцы, содержащие менее 5,9 log ДНК человека/мл, считали невалидными [14].

Расчёт нормализованной вирусной нагрузки. Метод ПЦР в режиме реального времени, положенный нами в основу разработки методики количественного выявления HPV рода beta, позволяет определять абсолютное количество ДНК HPV и геномов человека в пробе. С учётом того, что при взятии клинического материала из очагов немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи или нормально-эпителия кожи количество клеток и копий вируса, попадающих в исследуемый образец, может варьировать, мы использовали методику нормирования количества вируса на количество клеток человека, что является оправданным в отношении внутриклеточных инфекционных агентов. Подобный стандартизованный подход позволял получать надежные и достоверные данные о вирусной нагрузке при различных патологиях кожи [14].

Расчёт нормализованной вирусной нагрузки производили по формуле:

$$ВН = \log [(кол-во ДНК HPV / кол-во ДНК чел)] \times 10^5,$$

где ВН – нормализованная вирусная нагрузка.

Проводили количественный и качественный анализ показателей вирусной нагрузки ДНК HPV во всех вирусологически положительных эпителиальных неоплазиях у пациентов основных групп.

Статистическая обработка данных. Статистическую значимость различия частоты определяли с помощью критерия χ^2 . Доверительные границы к частоте рассчитывали на основании биномиального распределения. Для анализа характерных вирусных нагрузок рассчитывали десятичный логарифм количества вирусов, анализ его связи с другими переменными проводили с использованием метода параметрической статистики: статистическую значимость различий средних по группам вычисляли с помощью дисперсионного анализа, а доверительные границы к среднему – на основе распределения Стьюдента.

Методику определения фототипов кожи проводили в соответствии со шкалой Фицпатрика [14]. По степени чувствительности человека к UV-лучам различают шесть конституциональных фототипов кожи. Клинически выделяют четыре стадии фотостарения кожи (по Р. Глоау) [14]:

I стадия развивается в возрасте 20–30 лет и характеризуется *минимальными признаками фотостарения*: умеренные нарушения пигментации, минимально выражены мимические морщины;

II стадия – в возрасте 30–40 лет, характеризуется *умеренными признаками фотостарения*: желтоватый оттенок кожи, наличие пальпируемых очагов гиперкератоза, заметны мимические морщины, умеренное количество элементов лентиго на открытых участках кожного покрова;

III стадия наблюдается после 40 лет и характеризуется *выраженными признаками фотостарения*: статические морщины, дисхромия, телеангиэктазии, выраженный кератоз, прогрессирующий солнечный эластоз на открытых участках кожного покрова;

IV стадия развивается обычно после 60 лет, характеризуется *«катастрофическими», или необратимыми, признаками фотостарения*: выраженный солнечный эластоз, множественное лентиго на всех участках кожного покрова, статические морщины на всей поверхности кожи, желтовато-пепельный оттенок кожи, множественные очаги кератоза, доброкачественные и злокачественные новообразования [14].

Результаты и обсуждение

При анализе структуры фототипов у 80 пациентов, вошедших в исследование, мы установили, что большая часть из них (59; 73,75 %) имела II фототип кожи по Фицпатрику, 12 (15%) – I фототип, 9 (11,25%) – III фототип (рис. 2). Процессу фотостарения кожи с высоким риском развития новообразований наиболее подвержены именно люди с I, II мелано-дефицитным и III мелано-компетентным типом конституциональной чувствительности [14].

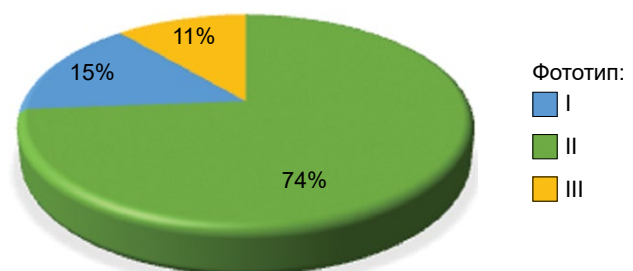


Рис. 2. Анализ структуры основных фототипов 80 пациентов.

Клинические признаки фотостарения (дерматогелиоза), оцениваемые по адаптированной шкале SCINEXA

Признак	Локализация	Количество баллов
<i>Признаки, характеризующие хронологическое старение кожи</i>		
Неравномерная пигментация	Закрытые участки кожного покрова	0/3
Тонкие морщины	Закрытые участки кожного покрова	0/1/2/3
Провисание кожи	Закрытые участки кожного покрова	0/1/2/3
Уменьшение объема жировой ткани	Закрытые участки кожного покрова	0/1/2/3
Доброкачественные новообразования (гемангиомы, себорейный кератоз)	Закрытые участки кожного покрова	0/1/2/3
<i>Признаки, характеризующие индуцированное UV-облучением старение кожи</i>		
Нарушение пигментации (веснушки после солнечных ожогов)	Плечи, область верхнего плечевого пояса	0/1/2/3
Солнечное лентиго	Задняя поверхность предплечий	0/1/2/3
Диспигментация	Открытые участки кожи, шея, лицо	0/1/2/3
Желтоватый цвет кожи	Открытые участки кожи, лицо	0/1/2/3
Псевдотуберкулы	Открытые участки кожи	0/1/2/3
Грубые морщины	Лицо	0/1/2/3
Лимонная кожа Миллиана	Лицо	0/1/2/3
Ромбовидная кожа шеи	Шея	0/3
Болезнь Фавра–Ракушо	Лицо	0/3
Ксероз кожи	Лицо, задняя поверхность предплечий	0/1/2/3
Комедоны	Периорбитальная область	0/1/2/3
Телеангиэктазии	Щеки, нос	0/1/2/3
Перманентная эритема	Щеки, нос	0/1/2/3
Актинический кератоз	Открытые участки кожи, лицо	0/3
Базально-клеточный рак кожи	Открытые участки кожи, лицо	0/3
Плоскоклеточный рак кожи	Открытые участки кожи, лицо	0/3
Меланома	Открытые участки кожи, лицо	0/3

Клиническая оценка выраженности стадий фотостарения (дерматогелиоза) (адаптированная шкала SCINEXA)

Для проведения клинической оценки степени выраженности дерматогелиоза была использована адаптированная шкала SCINEXA (табл. 2).

При анализе данных, представленных в табл. 3 и наглядно отраженных на рис. 3, становится очевидно, что максимальное количество баллов степени фотостарения кожи отмечено у пациентов, входящих в 1-ю группу, – $35,02 \pm 0,56$ (что соответствует IV степени фотоповреждений по Глогау – «катастрофической») (рис. 4) и значительно превышает таковой показатель степени фотостарения во 2-й группе пациентов – $18,8 \pm 1,33$ (что соответствует

I степени дерматогелиоза по Глогау – умеренной) (рис. 5, 6) и в 2 раза превышен по сравнению с группой контроля – $15,7 \pm 1,15$ баллов, несмотря на то, что средний возраст пациентов данных групп достоверно не отличался.

Анализ спектра клинических проявлений в анализируемых группах пациентов

У всех 80 анализируемых нами пациентов диагностированы эпителиальные неоплазии кожи разной степени агрессивности. Так, доброкачественные неоплазии кожи были представлены солнечным кератозом (Кс) у 18 пациентов, типичной кератоакан-

Таблица 3
Степень выраженности фотостарения (дерматогелиоза) с использованием модифицированной шкалы SCINEXA

Показатель	Группа		
	1-я	2-я	контрольная
Возраст, лет	$46,5 \pm 6,5$	$51,0 \pm 5,6$	$50,0 \pm 5,1$
Степень дерматогелиоза, балл	$35,02 \pm 0,56$	$18,8 \pm 1,33$	$15,7 \pm 1,15$

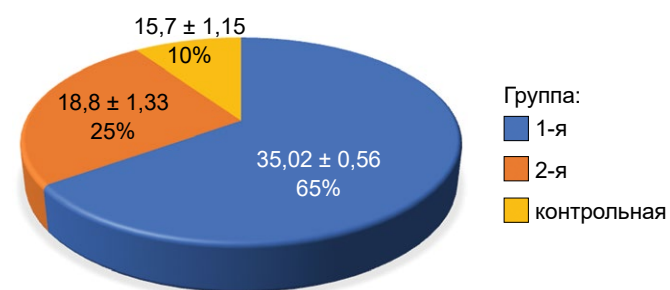


Рис. 3. Степень выраженности фотостарения (дерматогелиоза) с использованием модифицированной шкалы SCINEXA в 1-й, 2-й и контрольной группах, в баллах.



Рис. 4. Пациентка 1-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, I фототип, солнечный эластоз множественные базально-клеточные папилломы, лентиго, гипертрофический актинический кератоз, базально-клеточная карцинома кожи левого виска и левого ската носа.



Рис. 5. Пациент 2-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, II фототип, множественные гигантские базально-клеточные папилломы на коже верхних конечностей.

томой (Ка) у 5, аденомой сальных желёз (Ас) у 21, фиброэпителиальными полипами (Фп) у 22, базально-клеточными папилломами (Бп) у 27, вульгарными бородавками (Вб) у 15. *Предраковые неоплазии были представлены 15 очагами актинического кератоза (Ак) и 3 очагами болезни Боуэна (ББ).* Среди *злокачественных неоплазий* наблюдались базально-клеточные карциномы (Бк) у 30 пациентов и атипичные кератоакантомы (Ак) у 10 (**табл. 4**). Однако характер, степень агрессивности и количество немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи значительно варьировали в 1-й и 2-й группах пациентов.

При клинико-морфологическом мониторинге спектра эпителиальных неоплазий пациентов 1-й группы обращает на себя внимание преобладание множественного характера поражения кожи и наличие сочетаний доброкачественных и предраковых неоплазий со злокачественными немеланоцитарными эпителиальными опухолями кожи. Кроме того, преобладающее количество очагов эпителиальных неоплазий у этих пациентов располагается на открытых участках кожного покрова (лицо, шея, зона декольте, верхняя часть спины и верхние конечности). У 33 (78,5%) из 42 пациентов 1-й группы



Рис. 6. Пациентка 2-й группы. Диагноз: дерматогелиоз II степени, III фототип.
а – множественные базально-клеточные (себорейные) кератомы, фиброэпителиальные полипы кожи живота;
б – фиброэпителиальный полип кожи живота (фрагмент).

Распределение пациентов по нозологическим формам немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи и количеству исследованных опухолевых очагов

Группа новообразований	Нозологическая форма немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи	Число пациентов	Количество исследованных опухолевых очагов
Доброкачественные опухоли кожи	Базально-клеточные папилломы	8	27
	Фиброэпителиальные полипы	7	22
	Бородавки вульгарные	4	15
	Кератоакантома типичная	3	5
	Кератоз актинический	5	26
	Аденома сальных желёз	18	21
Предзлокачественные опухоли	Гипертрофический актинический кератоз	12	15
	Болезнь Боуэна	3	3
Злокачественные опухоли кожи	Базально-клеточная карцинома	15	30
	Атипичная кератоакантома	3	10
Нормальная кожа		40	40
Всего		120	196

выявлено наибольшее число случаев сочетания множественных очагов доброкачественных и злокачественных немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи на фоне выраженных клинических признаков фотостарения (соответствующих IV степени по Глогау). У 17 пациентов мы выявили сочетание множественных базально-клеточных папиллом, лентиго, фиброэпителиальных полипов, кератоза солнечного и актинического с базально-клеточной карциномой (рис. 7, 8), у 13 – сочетание множественных базально-клеточных папиллом, аденом сальных желёз, лентиго, солнечного эласто́за, фиброэпителиальных полипов с гипертрофической формой актинического кератоза (предраковый дерматоз) (рис. 9),

у 3 – сочетание множественных базально-клеточных папиллом, аденом сальных желёз с болезнью Боуэна. У остальных 9 пациентов 1-й группы отмечалось наличие множественных очагов базально-клеточных папиллом, базально-клеточных карцином на фоне выраженных признаков фотостарения, отличающихся большими размерами и выраженной тенденцией к преобладанию эрозивно-язвенных вариантов течения (рис. 10, а, б).

При клинико-морфологическом мониторинге спектра эпителиальных неоплазий у 38 пациентов 2-й группы без клинических признаков фотостарения нами выявлено, что в большинстве случаев очаги немеланоцитарных эпителиальных опухолей



Рис. 7. Пациент 1-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, II фототип, солнечный эластоз, множественные базально-клеточные папилломы, фиброэпителиальные полипы, гипертрофический актинический кератоз, множественные базально-клеточные карциномы кожи спины.



Рис. 8. Пациент 1-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, II фототип, солнечный эластоз, множественные базально-клеточные папилломы, фиброэпителиальные полипы, гипертрофический актинический кератоз, базально-клеточная карцинома периорбитальной зоны.

кожи носили солитарный характер и относились к спектру доброкачественных. Так, только у 18 пациентов обнаружилось сочетание солитарных очагов различных доброкачественных неоплазий у одного больного, из них у 15 выявлено сочетание базально-клеточных папиллом, кератом и фиброэпителиальных полипов, в 3 случаях – сочетание солитарных очагов аденомы слюнных желёз, актинического кератоза, вульгарных и плоских бородавок. В остальных 20 случаях очаги доброкачественных немеланоцитарных эпителиальных опухолей кожи были солитарными: у 15 пациентов – аденомы слюнных желёз, у 3 – базально-клеточные папилломы, у 2 – вульгарные и плоские бородавки.

Молекулярно-генетическая детекция вирусов папилломы человека в образцах кожи пациентов

Молекулярно-генетическая детекция ДНК HPV рода beta проводилась в 196 образцах. Последовательности ДНК HPV рода beta выявлены в 53,8% случаев базально-клеточных папиллом, в 20% типичных кератоакантом, в 94,4% гипертрофического актинического кератоза, в 66,6% болезни Боуэна, в 83,3% базально-клеточных карцином, в 80% атипичных кератоакантом с признаками атипии. Наряду с этим HPV рода beta обнаруживали и в микробиоптатах нормальной кожи здоровых доноров, но в незначительных количествах – 32,5% (табл. 5).

Таким образом, при анализе полученных данных выявлены признаки интегративной вирогенции папилломавирусной инфекцией кожного типа рода beta во всех исследуемых образцах в довольно высоком проценте случаев.

Кроме того, как в немеланоцитарных эпителиальных опухолях кожи, так и нормальной коже



Рис. 9. Пациент 1-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, II фототип, солнечный эластоз, плоские бородавки, аденомы слюнных желёз, множественные гигантские базально-клеточные папилломы, фиброэпителиальные полипы, актинический кератоз.

выявлялся весьма широкий спектр генотипов HPV рода beta, принадлежащих к различным видам ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$).

При анализе сравнительной частоты детекции генотипов HPV рода beta в исследуемых образцах 1-й группы иммуносупрессивных пациентов с IV степенью фотостарения папилломавирусы генотипов $\beta 1$ и $\beta 2$ встречались в 1,5–2 раза чаще, чем представители других ($\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$) видов (табл. 6). При этом отмечена приблизительно одинаковая частота детекции разных генотипов ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$) HPV рода beta в исследуемых образцах иммунокомпетентных пациентов 2-й группы с I степенью фотостарения (табл. 7).



Рис. 10. Пациент 1-й группы. Диагноз: дерматогелиоз IV степени, II фототип: а – солнечный эластоз, множественные гигантские базально-клеточные папилломы, фиброэпителиальные полипы, актинический кератоз, базально-клеточная карцинома правого ската носа; б – базально-клеточная карцинома правого ската носа (фрагмент).

Количество HPV-положительных и отрицательных образцов в эпителиальных опухолях и образцах нормальной кожи

Исследуемый образец	Количество образцов	Количество HPV-отрицательных образцов		Количество HPV-положительных образцов	
		абс.	%	абс.	%
Кератоз актинический	26	12	46	14	53,8
Базально-клеточные папилломы	27	—	—	27	100
Фиброэпителиальные полипы	7	3	42,8	4	57,2
Аденома слюнных желёз	18	13	72,2	15	83,3
Вульгарные бородавки	15	—	—	15	100
Кератоакантома	5	4	80	1	20
Гипертрофический актинический кератоз	18	1	5,6	17	94,4
Болезнь Боуэна	3	1	33,3	2	66,6
Базально-клеточная карцинома	30	5	16,6	25	83,3
Атипичная кератоакантома	10	2	20	8	80
Нормальная кожа (контроль)	40	27	67,5	13	32,5
Всего...	199	58	29,15	141	70,85

При изучении вирусологических (немеланоцитарные) эпителиальные опухоли) образцов кожи пациентов 1-й группы с фотостарением IV степени и клинической картиной доброкачественных, предраковых и злокачественных новообразований нами выявлена интегративная вирусная ассоциация в виде ассоциации двух и более видов вирусов рода beta (71,4–100% случаев). При изучении вирусологических образцов здоровой кожи лиц контрольной группы наблюдалось инфицирование только одним видом HPV рода beta в 85,7% образцов ($p < 0,01$) (табл. 8).

Количественный анализ показателей вирусной нагрузки ДНК HPV во всех вирусологических эпителиальных неоплазиях

В результате проведенного количественного анализа установлено, что средние показатели вирусной нагрузки ДНК HPV во всех вирусологических эпителиальных неоплазиях у пациентов 1-й группы значительно превышали средние показатели вирусной

нагрузки ДНК вируса в нормальной коже ($1,4 \pm 0,6 \log$ на 10^4 клеток), при этом в образцах себорейных кератом вирусная нагрузка составляла $2,3 \pm 0,6 \log$ на 10^4 клеток, в образцах аденом слюнных желез — $3,7 \pm 0,9 \log$ на 10^4 клеток, актинического кератоза — $4,05 \pm 0,2 \log$ на 10^4 клеток, карцином базально-клеточных — $2,08 \pm 1,4 \log$ на 10^4 клеток; различия имели статистически значимый характер ($p < 0,05$).

Таким образом, количественное измерение ДНК вируса позволяет более точно судить о характере присутствия вируса в опухолевой ткани и может рассматриваться наиболее предпочтительным методом для изучения связи вируса с развитием, течением или прогрессированием заболевания.

Увеличение вирусной нагрузки в образцах эпителиальных неоплазий кожи у пациентов с катастрофической стадией фотостарения по сравнению с нормальной кожей указывает на активацию папилломавирусной инфекции и может, на наш взгляд,

Таблица 6

Сравнительная частота детекции генотипов HPV рода beta в исследуемых образцах иммуносупрессивных пациентов 1-й группы с IV степенью фотостарения и нормальной кожи (контроль)

Исследуемый образец иммуносупрессивных пациентов 1-й группы с фотостарением IV степени	Количество HPV-положительных образцов	Спектр генотипов HPV рода beta							
		beta 1*		beta 2*		beta 3*		beta 4, 5*	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Кератоз актинический	7	7	100	6	85,7	5	71,4	6	85,6
Кератоакантома атипичная	8	8	100	8	100	4	50	3	37,5
Гипертрофический актинический кератоз	17	12	70,5	17	100	7	41,1	5	29,4
Базально-клеточная карцинома	25	24	96	23	92	11	44	6	24
Болезнь Боуэна	2	1	50	2	100	—	—	—	—
Нормальная кожа	13	3	23	4	30,7	9	69,2	5	38,4

Примечание. Здесь и в табл. 7: * — в том числе в ассоциации с другими видами.

Таблица 7

Сравнительная частота детекции генотипов HPV рода beta в исследуемых образцах иммунокомпетентных пациентов 2-й группы (без признаков дерматогелиоза) и нормальной кожи (контроль)

Исследуемый образец иммунокомпетентных пациентов 2-й группы без признаков фотостарения	Количество HPV-положительных образцов	Спектр генотипов HPV рода beta							
		beta 1*		beta 2*		beta 3*		beta 4, 5*	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Кератоз актинический	7	7	100	6	85,7	5	71,4	6	85,7
Базально-клеточные папилломы	27	27	100	25	92,5	21	77,7	23	85,1
Фиброэпителиальные полипы	4	3	75	4	100	2	50	1	25
Аденома сальных желёз	15	14	93,3	13	86,6	9	60	14	93,3
Вульгарные бородавки	15	7	46,6	15	100	—	—	9	60
Кератоакантома типичная	1	1	100	1	100	—	—	1	100
Нормальная кожа	13	3	23	4	30,7	9	69,2	5	38,4

являться подтверждением наиболее вероятной гипотезы влияния HPV кожного типа, в которой они рассматриваются кофактором промоции опухолевого роста клеток, уже повреждённых опухольиницирующим эпигенетическим фактором – результатом кумулятивного эффекта UV-излучения, т.е. фотостарением. Возможно, папилломавирусную инфекцию следует рассматривать с позиций коканцерогенеза с прогрессирующим дерматогелиозом, на что косвенно указывают как преимущественная локализация элементов на открытых участках кожи, так и высокие риски их злокачественного перерождения. Полученные нами данные связаны с различным уровнем кумулятивного воздействия UV-излучения на кожу в течение жизни пациентов, который определяет степень фотостарения и провоцирует развитие предраковых и злокачественных эпителиальных опухолей кожи, таких как актинический кератоз, базально-клеточная карцинома и атипичная кератоакантома.

Нами продемонстрировано, что выявленные у больных 1-й группы с дерматогелиозом (показатель степени по шкале SCINEXA $35,02 \pm 0,56$) и множественными эпителиальными неоплазиями (базально-клеточными папилломами, фиброэпителиомами,

кератомами, карциномами кожи) высокие показатели детекции папилломавирусов в пролиферирующей ткани ($2,3 \pm 0,6 \log$ на 10^4 клеток), аденомах сальных желёз ($3,7 \pm 0,9 \log$ на 10^4 клеток), актиническом кератозе ($4,05 \pm 0,2 \log$ на 10^4 клеток) значительно превышают показатели вирусной нагрузки ДНК вируса в нормальной коже ($1,42 \pm 0,6 \log$) и коррелируют с другими клинико-анамнестическими признаками, в частности выраженными признаками дерматогелиоза по Глогау (IV катастрофическая стадия) и конституционально высокой степенью фоточувствительности (II–III по Фицпатрику), что свидетельствует о формировании «патологического тандема», который составляет местная иммуносупрессия и множественные пролиферативные очаги эпидермиса.

На основании полученных данных мы проанализировали зависимость вирусной нагрузки ДНК HPV в образцах кожи с немеланоцитарными эпителиальными неоплазиями кожи различной степени агрессивности (фиброэпителиальные полипы, базально-клеточные папилломы, кератозы, солнечный эластоз, аденомы, карциномы) с целью определения степени вероятности развития злокачественных эпителиаль-

Таблица 8

Встречаемость одного или нескольких генотипов HPV рода beta в образцах эпителиальных опухолей и нормальной кожи

Исследуемый образец	Количество HPV-положительных образцов	Детекция HPV в образце			
		одного генотипа		двух и более генотипов	
		абс.	%	абс.	%
Актинический кератоз	14	4	28,6	10	71,4
Кератоакантома атипичная	8	2	25	6	75
Болезнь Боуэна	2	—	—	2	100
Гипертрофический актинический кератоз	17	—	—	17	100
Базально-клеточная карцинома	30	3	10	27	90
Нормальная кожа (контроль)	13	9	69,2	4	30,8

ных новообразований кожи, исходя из показателей нормальной вирусной нагрузки ДНК HPV в здоровой коже.

Таким образом, учитывая полученные статистически значимые данные, мы вывели индекс рисков развития злокачественных эпителиальных немеланоцитарных новообразований кожи **К** и ввели градации уровня риска – низкий, средний, высокий.

Индекс рисков развития злокачественных эпителиальных немеланоцитарных новообразований кожи **К** рассчитывается по формуле:

$$K = BH / BH_n,$$

где BH – показатель вирусной нагрузки, $BH_n = 1,42 \pm 0,6$ – показатель вирусной нагрузки в здоровой коже.

Учитывая введенные градации уровней рисков, можно рассчитать, что низкий уровень рисков развития злокачественных немеланоцитарных эпителиальных новообразований соответствует индексу **К1**, при котором показатель вирусной нагрузки составляет менее 1,68:

$$K1 = BH1 / BH_n \leq 1,68.$$

Средний уровень рисков развития злокачественных немеланоцитарных эпителиальных новообразований соответствует индексу **К2**, при котором показатель вирусной нагрузки составляет 1,7–1,9:

$$K2 = BH2 / BH_n \leq 1,7-1,9.$$

Высокий уровень рисков развития злокачественных немеланоцитарных эпителиальных новообразований соответствует индексу **К3**, при котором показатель вирусной нагрузки равен или превышает показатель 2,0:

$$K3 = BH3 / BH_n \geq 2,0.$$

Таким образом, при наличии индекса **К3** (2,0 и более) существует высокий риск развития злокачественного потенциала в эпителиоцитах, что приводит к развитию злокачественных опухолей кожи, в частности базально-клеточных карцином. При наличии индекса **К2** (1,9–2,0) следует рекомендовать регулярные контрольные осмотры кожного покрова пациентов, дерматоскопическое исследование в динамике и регулярное применение фотопротекторных средств с целью профилактики негативного воздействия солнечного излучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baseman J.G., Koutsky L.A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 2005;32(Suppl. 1):S16-24.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic to clinical application. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2(5):342-50.
3. Bosch F.X., Qiao Y.L., Castellsague X. Epidemiology of human papillomavirus infections and its associations with cervical cancer. *Int J Gynecol Obstet.* 2006;94(Suppl.1):S8-21.

4. Scheurer M.E., Tortolero-Luna G., Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer.* 2005;15(5):727-46.
5. Majewski S., Jablonska S. Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36(5, Pt. 1):659-85.
6. Weissenborn S.J., Nindl I., Purdie K., Harwood C., Proby C., Breuer J. et al. Human papillomavirus-DNA loads in actinic keratoses exceed those in non-melanoma skin cancers. *J Invest Dermatol.* 2005;125(1):93-7.
7. Choi W., Miyamura Y., Wolber R., Smuda C., Reinhold W., Liu H. et al. Regulation of human skin pigmentation in situ by repetitive UV exposure: molecular characterization of responses to UVA and/or UVB. *J Invest Dermatol.* 2010;130(6):1685-96.
8. Bilac C., Sahin M.T., Oztürkcan S. Chronic actinic damage of facial skin. *Clin Dermatol.* 2014;32(6):752-62.
9. Battie C., Jitsukawa S., Bernerd F., Del Bino S., Marionnet C., Verschoore M. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. *Exp Dermatol.* 2014;23(1):7-12.
10. Beissert S., Loser K. Molecular and cellular mechanisms of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol.* 2008;84(1):29-34.
11. Snijders P, Chris J. The value of viral load in HPV detection in screening. *HPV today.* 2006;8:8-9.
12. Корнева Л.В., Снарская Е.С., Молочков В.А., Полянская А.А. Генодиагностика ассоциации ДНК вирусов папилломы человека рода beta с себорейным кератозом у иммуносупрессивных и иммунокомпетентных больных // *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2015;18(2):4-7.
13. 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):260-5.
14. Вульф К., Джонсон Р., Сюрмонд Д. Фотодерматозы и лучевой дерматит // *Дерматология по Томасу Фицпатрику. Атлас-справочник.* Пер. с англ. М.: Практика; 2007:286-8; 318-27.
15. Vierkotter A., Ranft U., Kramer U., Sugiri D., Reimann V., Krutmann J. The SCINEXA: a novel, validated score to simultaneously assess and differentiate between intrinsic and extrinsic skin ageing. *J Dermatol Sci.* 2009;53(3):207-11.

REFERENCES

1. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* 2005;32(Suppl. 1):S16-24.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic to clinical application. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2(5):342-50.
3. Bosch FX, Qiao YL, Castellsague X. Epidemiology of human papillomavirus infections and its associations with cervical cancer. *Int J Gynecol Obstet.* 2006;94(Suppl.1):S8-21.
4. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer.* 2005;15(5):727-46.
5. Majewski S, Jablonska S. Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36(5, Pt. 1):659-85.
6. Weissenborn SJ, Nindl I, Purdie K, Harwood C, Proby C, Breuer J, et al. Human papillomavirus-DNA loads in actinic keratoses exceed those in non-melanoma skin cancers. *J Invest Dermatol.* 2005;125(1):93-7.
7. Choi W, Miyamura Y, Wolber R, Smuda C, Reinhold W, Liu H, et al. Regulation of human skin pigmentation in situ by repetitive UV exposure: molecular characterization of responses to UVA and/or UVB. *J Invest Dermatol.* 2010;130(6):1685-96.
8. Bilac C, Sahin MT, Oztürkcan S. Chronic actinic damage of facial skin. *Clin Dermatol.* 2014;32(6):752-62.

9. Battie C, Jitsukawa S, Bernerd F, Del Bino S, Marionnet C, Verschoore M. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. *Exp Dermatol*. 2014;23(1):7-12.
10. Beissert S, Loser K. Molecular and cellular mechanisms of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol*. 2008;84(1):29-34.
11. Snijders P, Chris J. The value of viral load in HPV detection in screening. *HPV today*. 2006;8:8-9.
12. Korneva LV, Snarskaya ES, Molochkov VA, Polyanskaya AA. Genodiagnostics of HPV beta DNA association with seborrheic keratosis in immunosuppressed and immunocompetent patients. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*. 2015;18(2):4-7. (in Russian)
13. Korneva LV, Snarskaya ES, Nodelman EK. Molecular genotypic detection of β 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*. 2016;19(5):260-5. (in Russian)
14. Wolff K, Johnson RA, Saaverda A. Photodermatosis and radiation dermatitis. *Fitzpatrick's Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology*. McGraw-Hill Companies; 2006.
15. Vierkotter A, Ranft U, Kramer U, Sugiri D, Reimann V, Krutmann J. The SCINEXA: a novel, validated score to simultaneously assess and differentiate between