

Генетические и эпигенетические особенности немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря у больных, инфицированных вирусом папилломы человека: обзор литературы

А.А. Пулатова, С.Н. Димитриади, Д.С. Кутилин, Т.А. Зыкова, А.Н. Шевченко, С.И. Гончаров, В.К. Хван

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Контакты: Алина Асланхановна Пулатова dr.pulatova05@gmail.com

Инфекционные заболевания и хроническое воспаление – важные факторы риска развития злокачественных опухолей. Одним из ключевых инфекционных агентов, участвующих в онкогенезе, является вирус папилломы человека (ВПЧ). Немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря определяется как поверхностная неоплазия, ограниченная слизистой оболочкой. Заболевание отягощено рецидивом в 80 % случаев и прогрессированием в 30 % случаев. Развитие заболевания связано с влиянием различных канцерогенных агентов, включая ВПЧ. В настоящее время выявлена непосредственная взаимосвязь между наличием вирусных ДНК в опухолевой ткани мочевого пузыря с маркерами пролиферативной активности, ангиогенеза и факторов апоптоза. Все больше исследователей склоняются к причастности вируса к развитию рецидивных форм рака мочевого пузыря и появлению инвазивных, низкодифференцированных форм. Улучшение диагностики и послеоперационного мониторинга немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря невозможно без совершенствования малоинвазивных молекулярных методов. Для этого необходимо понимание молекулярных механизмов влияния ВПЧ на развитие рака мочевого пузыря.

Данный обзор посвящен анализу молекулярных механизмов влияния ВПЧ на течение немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Подробно рассмотрены особенности экспрессии микроРНК у больных с ВПЧ высокого онкогенного риска и немышечно-инвазивным либо мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. Описана роль miR-34a, -218, -20a, -424, -200a, -205-5p, -944, -100, -99a, -202, -30a, -145-5p, -195 и -199a-5 в развитии и прогрессировании рака мочевого пузыря. Рассмотрены механизмы нарушения функционирования ключевых клеточных сигнальных путей при интеграции ВПЧ у больных раком мочевого пузыря, включая изменение копияности генов и уровня метилирования.

Тем не менее количество ВПЧ-положительных образцов опухолей, которые, по данным литературы, были всесторонне проанализированы с использованием полногеномных исследований, остается небольшим. Поэтому исследования более крупных когорт пациентов будут полезны для дальнейшей детализации событий интеграции ВПЧ и связанных с ними геномных изменений, а также для изучения клинических проявлений последствия этих изменений. Дальнейшие исследования клинических последствий наблюдаемых геномных изменений необходимы для точной стратификации пациентов для таргетной, лучевой и химиотерапии.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, вирус папилломы человека, микроРНК, копияность генов, уровень метилирования, клиническое проявление

Для цитирования: Пулатова А.А., Димитриади С.Н., Кутилин Д.С. и др. Генетические и эпигенетические особенности немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря у больных, инфицированных вирусом папилломы человека: обзор литературы. Онкоурология 2022;18(4):108–119. DOI: 10.17650/1726-9776-2022-18-4-108-119

Genetic and epigenetic characteristics of non-muscle invasive and muscle invasive bladder cancer in patients infected by human papillomavirus: literature review

A.A. Pulatova, S.N. Dimitriadi, D.S. Kutilin, T.A. Zyкова, A.N. Shevchenko, S.I. Goncharov, V.K. Khvan

National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63 14th Liniya, Rostov-on-Don 344037, Russia

Contacts: Alina Aslankhanovna Pulatova dr.pulatova05@gmail.com

Infectious diseases and chronic inflammation are important risk factors for the development of malignant tumors in humans. One of the key infectious agents involved in human oncogenesis is the human papillomavirus (HPV). Non-muscle invasive bladder cancer is defined as a superficial neoplasia limited to the mucosa, aggravated by recurrence in 80 % of cases and progression in 30 % of cases. The development of this disease is associated with the influence of various carcinogenic agents, including HPV. Currently, a direct relationship has been revealed between the presence of viral DNA in the tumor tissue of the bladder and markers of proliferative activity, angiogenesis, and apoptosis factors. More and more researchers believe in the involvement of the virus in the development of recurrent forms of bladder cancer and the emergence of its invasive/poorly differentiated forms. Improving the diagnosis and postoperative monitoring of non-muscle invasive and muscle invasive bladder cancer is not possible without the improvement of minimally invasive molecular methods, which requires an understanding of the molecular mechanisms of HPV-associated carcinogenesis.

Therefore, this review focuses on the analysis of the molecular mechanisms of HPV effect on progression of non-muscle invasive and muscle invasive bladder cancer. The features of miRNA expression in patients with papillomavirus infection of high oncogenic risk types and non-muscle invasive or muscle invasive bladder cancer are considered in detail. In particular, the role of miR-34a, -218, -20a, -424, -200a, -205-5p, -944, -100, -99a, -202, -30a, -145-5p, -195 and -199a-5 is described in the development and progression of bladder cancer. The mechanisms of disruption in the functioning of key cell signaling pathways during HPV integration in patients with bladder cancer, including changes in gene copy number and methylation level, are also considered.

However, the number of HPV-positive tumor specimens that have been comprehensively analyzed using genome-wide studies in the literature remains small. Larger patient cohorts would be useful to further refine HPV-associated integration events and genomic changes, as well as to study clinical manifestations of the consequences of these alterations. Further research on the clinical implications of the observed genomic changes is needed to accurately stratify patients for targeted therapy, radiation and chemotherapy.

Keywords: bladder cancer, human papillomavirus, microRNA, gene copy number, methylation level, clinical manifestation

For citation: Pulatova A.A., Dimitriadi S.N., Kutlin D.S. et al. Genetic and epigenetic characteristics of non-muscle invasive and muscle invasive bladder cancer in patients infected by human papillomavirus: literature review. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2022;18(4):108–19. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2022-18-4-108-119

Введение

Инфекционные заболевания и хроническое воспаление — важные факторы риска развития опухолей. По данным Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), примерно 18 % всех опухолей в мире ассоциированы с инфекционными заболеваниями, вызываемыми бактериями, вирусами и грибами. Более того, инфекционные агенты, такие как вирус папилломы человека (ВПЧ), участвуют в онкогенезе [1].

Распространенность ВПЧ-инфекции среди женщин в возрасте от 15 до 30 лет варьирует от 1,6 до 41,6 %, в то время как среди мужчин этот показатель значительно выше — до 84 % в возрастной категории от 25 до 40 лет. ВПЧ относится к папилломавирусам, которые, попав в организм, инфицируют базальный слой эпителия, причем наиболее пораженным участком является зона перехода многослойного эпителия в цилиндрический. На сегодняшний день известно, что онкогенные типы ВПЧ приводят к развитию рака шейки матки, влагалища, вульвы, орофарингеальной зоны, аногенитального рака. По данным НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, наличие ВПЧ при раке мочевого пузыря (РМП) характеризуется более высокой степенью анаплазии клеток, большей частотой рецидивирования и тенденцией к прогрессии.

В России распространенность РМП составляет 79,9 на 100 тыс. населения, летальность — 14,3 %. На учете состоят 117 318 больных, из них более 5 лет — 64 126. У мужчин РМП выявляется в 4 раза чаще, чем у женщин, что связано с более частым нарушением акта мочеиспускания за счет заболеваний, способствующих застою мочи, и преимущественной занятости на вредных производствах [2].

Улучшение диагностики и послеоперационного мониторинга немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного РМП (НМИРМП и МИРМП соответственно) невозможно без совершенствования малоинвазивных молекулярных методов.

Рак мочевого пузыря: классификация, этиология и эпидемиология

Рак мочевого пузыря — полиэтиологическое заболевание. Существенную роль в развитии РМП играют химические вещества, содержащиеся в моче, оказывающие неблагоприятное (канцерогенное) влияние на уротелий. Как известно, НМИРМП определяется как поверхностная неоплазия, ограниченная слизистой оболочкой (включая стадию T_a, которая представляет собой неинвазивный папиллярный рак, рак *in situ* (T_{is})) и собственной пластинкой слизистой оболочки (T₁) по классификации TNM. Стадия T_a составляет большую

часть НМИРМП (60 %), тогда как T1 и Tis — 30 и 10 % соответственно. Это заболевание отягощено рецидивом в 60–80 % случаев и прогрессированием в 10–30 % случаев в зависимости от стадии опухоли.

После выполнения трансуретральной резекции первичной опухоли при НМИРМП рецидив возникает в 30–60 % случаев, приблизительно у 10–15 % пациентов заболевание прогрессирует до мышечно-инвазивной формы в течение 5 лет после постановки диагноза. Помимо высокой частоты рецидивов отмечается риск возможного прогрессирования заболевания в виде снижения степени дифференцировки опухоли, что является неблагоприятным прогностическим признаком [3].

Самой распространенной гистологической формой РМП является уротелиальный рак, он составляет от 87 до 96 % выявленных случаев, на 2-м месте — плоскоклеточный рак (3–10 %), аденокарцинома выявляется лишь в 3 % случаев.

В зависимости от степени дифференцировки опухоли выделяют высокодифференцированные (G_1), которые характеризуются легкой структурной и клеточной атипией; умеренно дифференцированные (G_2), отличающиеся от G_1 преимущественно нарастанием структурной атипии, с сохранением некоторых элементов организации; низкодифференцированные (G_3), характеризующиеся выраженным клеточным полиморфизмом с отсутствием полярности, утратой поверхностных клеток, вариабельностью ядерных параметров, многочисленными патологическими митозами.

По некоторым данным, при сравнении групп ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных больных выявлено, что ВПЧ-положительный РМП характеризуется более высокой степенью анаплазии клеток. ДНК ВПЧ 16-го типа (ВПЧ16) в первичной опухоли обнаруживается чаще, чем в рецидивной. Возможно, что ВПЧ16 нередко оказывается вовлеченным в процесс инициации РМП, ВПЧ-положительные клетки опухоли до того, как в ходе лечения их удаляют, непосредственно влияют на микроокружение РМП, в результате чего микроокружение приобретает способность ускорять развитие рецидива из клеток условно нормального уротелия, прилегавшего к удаленной впоследствии опухоли [4].

Что касается факторов апоптоза, то наиболее сильные корреляционные связи были получены при наличии у пациентов ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска. По данным исследования кафедры патологии человека Медицинского университета Вакаяма (Япония), в 12 ВПЧ-положительных случаях, подтвержденных RISH (RNA *in situ* hybridization — метод гибридизации, при котором используется меченая комплементарная ДНК, РНК или модифицированная цепь нуклеиновых кислот для локализации определенной последовательности ДНК или РНК в части или участке ткани), были выявлены

опухоли высокой степени злокачественности. Среди них 75 % (9/12) были мышечно-инвазивными или метастатическими [5].

Любое онкологическое заболевание предполагает наличие каких-либо хромосомных или генетических изменений в структуре клетки. Под изменениями предполагаются хромосомные, при которых теряется или прибавляется хромосомный материал целых хромосом или их плеч, и точковые мутации в генах в виде замены одного нуклеотида на другой.

Известно, что при РМП имеет место высокая частота мутаций в генах *FGFR3* и *HRAS*, определяющаяся в неинвазивном поверхностном РМП. Мутации в этих генах, которые активируют канцерогенез, признаны основными молекулярно-генетическими маркерами неинвазивного РМП. Гиперэкспрессия белка *FGFR3* воздействует на клеточную трансформацию и усиливает экспрессию митоген-активированной протеинкиназы (MAPK), похожий эффект происходит и при активации *HRAS*. Помимо *FGFR3* в уротелиальных карциномах гиперэкспрессируются и другие рецепторные тирозинкиназы, например рецептор эпидермального фактора роста (*EGFR*) и *ERBB2* (также известный как HER2). В противоположность НМИРМП при МИРМП чаще выявляется повреждение генов-супрессоров опухолевого роста *TP53*, *RB1* и *PTEN* [6].

Существует утверждение, что свойства уротелиальной карциномы как злокачественной опухоли обусловлены клональной экспансией опухолевых стволовых клеток (ОСК), которые размножаются путем асимметричной дифференцировки, перерождаясь в гетерогенные линии раковых клеток. ОСК мочевого пузыря отличаются по свойствам образования колоний, самообновлению, скорости пролиферации и экспрессии генов, связанных с ОСК, обладают уникальным набором генетических и эпигенетических признаков. Так, в уротелиальных ОСК могут встречаться мутации генов *FGFR3* или *TP53*.

Описаны параллельные пути канцерогенеза уротелиальной карциномы: 1) мутации генов *FGFR3* и *TP53* характеризуют 2 различных пути канцерогенеза; 2) канцерогенез НМИРМП связан с мутацией *FGFR3*, обнаруживающейся в экзонах 7, 10 и 15; 3) мутация *FGFR3* может быть связана с низкой частотой рецидивов поверхностной папиллярной уротелиальной карциномы низкой степени злокачественности; 4) мутация *TP53* связана с уротелиальной карциномой высокой степени злокачественности (G_2 – G_3), инвазивным характером ее роста и повышенным риском рецидива.

Большинство случаев МИРМП возникает из карциномы *in situ*, плоского поверхностного поражения уротелия с мутациями *TP53*. В большинстве случаев при эндоскопическом лечении происходит удаление дифференцированных клеток, более чувствительных к терапии, чем ОСК, но пролиферация и клональная

экспансия в том числе «ускользнувших» ОСК приводят к повторным злокачественным новообразованиям. Таким образом, ОСК при уротелиальной карциноме: 1) являются источником рецидива опухоли после удаления первичного очага; 2) локализованы в участках уротелия, вне основного очага опухоли; 3) имеют общий генотип с различными фенотипическими проявлениями (общий генотип ОСК и уротелиальной карциномы) [7].

Молекулярные особенности немышечно-инвазивного и мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря на фоне инфицирования вирусом папилломы человека

Молекулярные изменения в эпителиальных клетках при инфицировании ВПЧ. В некоторых исследованиях была выявлена непосредственная связь наличия вирусных ДНК в опухолевой ткани мочевого пузыря с маркерами пролиферативной активности, ангиогенеза и факторов апоптоза. ВПЧ является предиктором таких онкологических заболеваний, как рак шейки матки, влагалища, вульвы, орофарингеальной зоны, аногенитальный рак [8]. К 1983 г. ДНК ВПЧ16 и ВПЧ18 была успешно выделена из биоптатов рака шейки матки [9], но многие молекулярные механизмы, с помощью которых эти вирусы вызывают рак, до сих пор не выяснены [10], как и значение ВПЧ-инфекции в качестве прогностического фактора выживаемости больных раком.

ВПЧ — распространенная и очень вариабельная группа вирусов, имеющая онкогенный потенциал. ВПЧ представляет собой двухцепочечный кольцевой ДНК-вирус с тропизмом к плоскоклеточному эпителию. ВПЧ передается при тесном контакте с инфицированным или пораженным эпителием. Вирусы оказывают на эпителий продуктивное или трансформирующее воздействие. При продуктивном воздействии возникают доброкачественные новообразования — папилломы и кондиломы кожи и слизистых оболочек. Трансформирующее воздействие вызывает дисплазии тяжелой степени, прогрессирующее развитие которых приводит к раку.

Папилломавирусы представляют собой небольшие икосаэдрические вирусы без оболочки, геном которых представляет собой кольцевую двухцепочечную ДНК длиной приблизительно 8 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.) [11]. При инфицировании геном ВПЧ транспортируется в ядро клетки, где происходит репликация большого количества копий ДНК вируса и экспрессируется от 8 до 10 белковых продуктов (L1, L2 — структурные белки вириона; E1—E7 — ранние вирусные белки, которые контролируют функции репродукции; E6 и E7 нацелены на многочисленные клеточные сигнальные пути, такие как p53 и pRB, что способствует имortalизации клеток, обеспечивая среду, подходящую для репликации вируса) (рис. 1). На рис. 1 представлен обзор сайтов интеграции в геном человека, выявленных в недавних исследованиях.

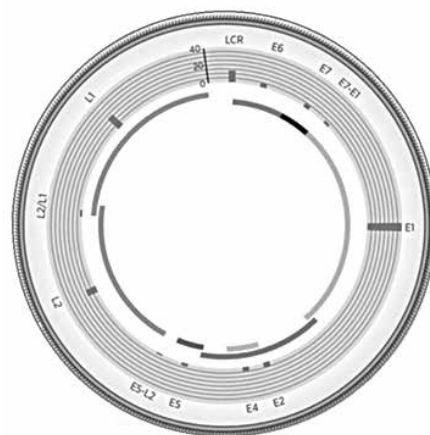


Рис. 1. Распределение точек разрыва в геноме ВПЧ (основано на данных о ВПЧ-положительном первичном плоскоклеточном раке головы и шеи [12]). ВПЧ — вирус папилломы человека

Fig. 1. Distribution of breakpoints in the HPV genome (based on HPV-positive head and neck squamous cell carcinoma primary [12]). HPV — human papillomavirus

Вирус также имеет механизмы уклонения от иммунного ответа хозяина. К ним относятся экспрессия вирусных белков на высоких уровнях только в верхних эпителиальных слоях, где иммунный надзор ограничен, и нелитическое высвобождение вирионов без значительной виремии в результате естественного эпителиального процесса отщепления. Персистирующая инфекция ВПЧ вызывает нестабильность генома и локальное подавление иммунитета, что может привести как к накоплению геномных изменений в клетке-хозяине, так и к интеграции вирусного генома в геном хозяина. Эти изменения, обеспечивающие неконтролируемую пролиферацию клеток, в итоге и могут привести к канцерогенезу.

Во время инфекции геномы ВПЧ обнаруживаются в ядре в виде эписом (кольцевая, внехромосомная ДНК). Согласно одной из теорий, интеграция нарушает открытую рамку считывания белка E2, который подавляет экспрессию E6 и E7, тем самым повышается синтез этих онкобелков. Интеграция вируса в геном клетки трансформирует ее и активирует пролиферацию. Многократное копирование при интеграции генов *NR4A2*, *RAD51B* и *TP63* способствует появлению атипичных форм этих белков; это наблюдаются как при ВПЧ-положительном плоскоклеточном раке головы и шеи, так и при раке шейки матки. Дополнительные геномные изменения включают мутации *PIK3CA* (и других членов пути PI3K), изменения в рецепторных тирозинкиназах (в первую очередь *FGFR2* и *FGFR3* при ВПЧ-положительном плоскоклеточном раке головы и шеи и *ERBB2* при плоскоклеточной карциноме шейки матки). Перечень генов, подверженных соматическим мутациям из-за интеграции ВПЧ, представлен в таблице. Интеграция ВПЧ или дополнительные генетические изменения могут приводить

к канцерогенезу независимо от усиленной экспрессии E6 и E7, и в некоторых случаях для развития рака достаточно конститутивной, а не усиленной экспрессии E6/E7 [13].

В настоящее время этиологическая роль ВПЧ высокого онкогенного риска при плоскоклеточном раке шейки матки и раке верхних дыхательных путей считается доказанной. В одном из исследований продемонстрирована

Гены с рекуррентными соматическими мутациями при раке мочевого пузыря и вирусе папилломы человека высокого онкогенного риска

Genes with recurrent somatic mutations in bladder cancer and high-risk human papillomavirus

Ген Gene	Описание Description	Приблизительная частота, % Approximate frequency, %
<i>PIK3CA</i>	Фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназа, каталитическая субъединица альфа Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha	22–56
<i>TRAF3</i>	Фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли 3 TNF receptor-associated factor 3	22
<i>TP63</i>	Опухолевый белок p63 Tumor protein p63	28
<i>FGFR3</i>	Рецептор фактора роста фибробластов 3 Fibroblast growth factor receptor 3	11–14
<i>MLL3</i>	Лизин (K)-специфическая метилтрансфераза 2C Lysine (K)-specific methyltransferase 2C	10
<i>MLL2</i>	Лизин (K)-специфическая метилтрансфераза 2B Lysine (K)-specific methyltransferase 2B	10
<i>FLG</i>	Филаггрин Filaggrin	12
<i>NOTCH1</i>	Notch 1	8–17
<i>DDX3X</i>	DEAD (аспартат-глутамат-аланин-аспартат)-бокс хеликаза 3, X-сцепленная DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box helicase 3, X-linked	8
<i>KRAS</i>	Гомолог вирусного онкогена саркомы крыс Кирстен Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog	6
<i>CYLD</i>	Цилиндроматоз (синдром тюрбанной опухоли) Cylindromatosis (turban tumor syndrome)	6
<i>EGFR</i>	Рецептор эпидермального фактора роста Epidermal growth factor receptor	6
<i>PTEN</i>	Гомолог фосфатазы и тензина Phosphatase and tensin homolog	6
<i>DDR2</i>	Рецептор домена дискоидина 2 Discoidin domain receptor 2	2–6
<i>EP300</i>	E1A-связывающий белок p300 E1A binding protein p300	16
<i>FBXW7</i>	Содержащий F-бокс и повторяющийся домен WD 7 F-box and WD repeat domain containing 7	15
<i>HLA-B</i>	Главный комплекс гистосовместимости, класс IB Major histocompatibility complex, class IB	9
<i>TP53</i>	Опухолевый белок p53 Tumor protein p53	9
<i>MAPK1</i>	Митоген-активируемая протеинкиназа 1 Mitogen-activated protein kinase 1	8
<i>STK11</i>	Серин-треониновая киназа 11 Serine/threonine kinase 11	4
<i>ELF3</i>	E74-подобный фактор 3 E74-like factor 3	13
<i>CBFB</i>	Корсвязывающий фактор, субъединица бета Core binding factor, beta subunit	8

связь экспрессии онкобелка E6 ВПЧ16 и гена *АРОВЕСЗВ* с плохим прогнозом уротелиального рака верхних мочевых путей [14]. Вместе с тем появились публикации, указывающие на влияние ВПЧ на течение РМП. Так, результаты опубликованного в 2022 г. мета-анализа демонстрируют ухудшение прогноза течения РМП у ВПЧ-инфицированных пациентов [15], в другой публикации указана определенная этиологическая роль ВПЧ-инфицирования в развитии РМП [16]. В определенной степени сходное мнение высказывает другая группа исследователей [17]. Вместе с тем следует упомянуть о результатах исследования, ставящих под сомнение тезис об этиологической роли ВПЧ в развитии РМП [18]. В то же время необходимо отметить, что использование различных методик исследования может оказать влияние на информативность результатов, характеризующих возможное влияние инфицирования ВПЧ на течение РМП.

Особенности экспрессии микроРНК у больных НМИРМП и МИРМП на фоне инфицирования ВПЧ. МикроРНК представляют собой небольшие (19–25 нуклеотидов) одноцепочечные некодирующие РНК, регулирующие экспрессию генов, главным образом путем связывания с мотивами последовательностей, расположенными в 3'-нетранслируемой области транскриптов микроРНК. Некоторые микроРНК обладают онкогенной активностью или являются супрессорами опухолей и играют фундаментальную роль в развитии, прогрессировании и распространении рака [19].

Было показано, что белок E6, кодируемый ВПЧ высокого онкогенного риска, подавляет экспрессию miR-34a и miR-218 (опухолевые супрессоры), таким образом вызывая сверхэкспрессию целевого гена *ламинаина 5β3 (LAMB3)* в клетках плоскоклеточного рака шейки матки [20]. Кроме этого, было продемонстрировано, что ВПЧ E6 активирует miR-20a, тем самым усиливая клеточную пролиферацию с помощью активации пути AKT/p38 и рост опухоли посредством подавления экспрессии гена-мишени *PDCD6* [21]. Было также показано, что белок E6 увеличивает уровень miR-20b, что, в свою очередь, ингибирует экспрессию супрессора метастазирования *TIMP-2* и способствует эпителиально-мезенхимальному переходу (epithelial-mesenchymal transition, EMT), миграции и инвазии клеток рака шейки матки [22]. Онкобелки E6 и E7 подавляют экспрессию miR-424 в ВПЧ16- и ВПЧ31-положительных клетках, вызывая повышенную экспрессию его гена-мишени *CHK1*, кодирующего фактор репарации ДНК.

Интеграция ДНК ВПЧ в геном хозяина с нарушением вирусного гена *E2* и хромосомных локусов хозяина является критическим событием в развитии и прогрессировании рака. Некоторые гены микроРНК локализованы в сайтах, где происходит интеграция ДНК ВПЧ. Белки, кодируемые ВПЧ, могут влиять

на экспрессию микроРНК хозяина. Белки E6 и E7, кодируемые ВПЧ, модулируют экспрессию ДНК-метилтрансфераз, ферментов, регулирующих экспрессию генов путем метилирования их промоторных областей [23]. Это событие влияет на уровни экспрессии нескольких микроРНК. Р. Mandal и соавт. сообщили, что биоптаты рака шейки матки, несущие интегрированные или эписомальные геномы ВПЧ16, имеют общую сигнатуру экспрессии miR-200a, связанную с генотипом ВПЧ16. Наоборот, подавление miR-181c и экспрессия ее гена-мишени *CKS1B* наблюдались только в случаях, несущих эписомы ВПЧ16, но не в опухолевых тканях с интегрированным вирусом [24]. Следовательно, miR-200a и miR-181c могут представлять собой полезные биомаркеры прогрессирования заболевания.

Геном ВПЧ кодирует ВПЧ16-miR-N1-1 и ВПЧ16-miR-N2-1, которые способны нацеливаться на критически важные клеточные гены, включая гены, регулирующие прогрессирование клеточного цикла, миграцию и иммунологический ответ [25]. С другой стороны, было показано, что miR-375 подавляет экспрессию ВПЧ E6 и E7 и вызывает повышенные уровни p53 и p21, более высокую активность каспазы 3 и каспазы 9, подавление E6AP, IGF-1R, циклина D1 и экспрессии сурвивина [26].

В Атласе генома рака (Cancer Genome Atlas, TCGA) представлен анализ мутаций, изменений числа копий генов, метилирования ДНК, РНК/микроРНК и экспрессии белков для SCC (squamous cell carcinoma antigen — онкомаркер плоскоклеточного рака) из 5 отдельных участков, включая рак легкого, головы и шеи, пищевода, шейки матки и плоскоклеточный РМП. Были выявлены отдельные геномные изменения в этих опухолях, представляющие потенциальный биологический или терапевтический интерес, связанные с употреблением табака и инфекцией ВПЧ [27].

ВПЧ-положительные и -отрицательные опухоли содержат отчетливые изменения в путях апоптоза и выживания клеток. Ранее было показано, что редкие герминальные геномные изменения в сигнальных путях FANC-*BRCA* ассоциированы с экстремальным риском развития плоскоклеточного рака головы и шеи и желудочно-кишечного тракта и восприимчивостью к инфекции ВПЧ, но связь с ВПЧ-положительным плоскоклеточным раком является спорной [28]. Дефекты FANC-*BRCA* связаны с повышенной чувствительностью к стандартным методам лечения, повреждающим ДНК, что потенциально помогает объяснить относительную чувствительность некоторых ВПЧ-положительных опухолей к химиолучевой терапии и возможность их деэскалации.

Кроме этого, идентифицированы микроРНК, которые по-разному экспрессируются в опухолях SCC ($n = 1381$) по сравнению с опухолями без SCC ($n = 9436$).

Из них были выделены 2 микроРНК с наибольшими изменениями при SCC — miR-205-5p и miR-944, а также набор микроРНК, включающий miR-200a-с-5/3p, -141-5/3p и -429, которые демонстрировали снижение экспрессии, ассоциированное с повышенным показателем ЕМТ. Для этих микроРНК идентифицировали значительное количество генов, используя miRTarBase. Примечательно, что уровни экспрессии miR-205-5p, а также miR-200/141 и miR-429 отрицательно коррелировали с факторами транскрипции *EMT*, *ZEB1* и *ZEB2*. Другие мишени miR-205-5p, потенциально связанные с *EMT*, включали фактор роста соединительной ткани (CTGF), богатый цистеином белок 61 (CYR61) и инозитолфосфатазу INPPL1 (SHIP2), которая участвует в деградации внеклеточного матрикса (ECM). Связанные с *EMT* микроРНК генов *ZEB2*, *CTGF* и *CYR61* группируются вместе в кластеры с микроРНК плоскоклеточного рака легкого, головы и шеи [29]. Известно, что микроРНК имеют aberrantную экспрессию при РМП и оказывают влияние на гены, участвующие в 2 молекулярных путях. В частности, это гены *FGFR3* и *TP53*. В многочисленных исследованиях идентифицированы микроРНК, экспрессия которых зависит от гистологической стадии дифференцировки [27].

В опухолях микроРНК с пониженной экспрессией считаются кандидатами в супрессоры опухоли, тогда как микроРНК с повышенной экспрессией могут играть стимулирующую роль в прогрессировании рака. К потенциальным супрессорам РМП относят miR-100, -99a, -202 и -30a. Было показано, что некоторые микроРНК, включая miR-145-5p, -195 и -199a-5p, ингибируют пролиферацию или индуцируют апоптоз клеток РМП. MiR-145-5p, по-видимому, играет ключевую роль в качестве супрессора опухолей, нацеливаясь на N-кадгерин и его нижележащую эффекторную матричную металлопротеиназу 9, и это наиболее часто регистрируемая микроРНК с пониженной экспрессией при РМП. MiR-205-5p, -182-5p, -130b-3p, -10a-5p, -21-5p и -20a-5p в основном сверхэкспрессируются в ткани РМП. Они способствуют пролиферации, миграции и инвазии, а также ингибируют апоптоз клеток РМП. Потенциальной мишенью для miR-130b-3p и miR-205-5p является ген *PTEN*, для miR-182-5p — *SMAD4*, для miR-10a-5p — *FGFR3*. Сверхэкспрессия miR-21-5p связана с инактивацией *TP53*, инвазией и прогрессией опухоли [27].

Один вид микроРНК способен осуществлять контроль над экспрессией множества генов-мишеней, при этом экспрессия одного гена может контролироваться множеством микроРНК. В одном из исследований сравнили экспрессию микроРНК в неопухолевой и опухолевой тканях мочевого пузыря и идентифицировали 3 микроРНК с пониженной экспрессией (miR-205-5p, -182-5p и -145-5p) и 2 — с повышенной (miR-20a-5p и miR-130b-3p). Сверхэкспрессия

miR-145-5p ингибирует пролиферацию и миграцию клеток при РМП. Более того, было обнаружено, что подавление экспрессии miR-145-5p, непосредственно таргетирующей на ген *TAGLN2*, приводит к его повышенной экспрессии, что способствует пролиферации и миграции клеток.

Во многих научных разработках микроРНК применяются как прогностические маркеры РМП. Так, T. Moisoiu и соавт. выявили несколько микроРНК, включая miR-205-5p и miR-20a-5p, атипичная экспрессия которых имела существенную связь с прогрессированием в НМИРМП [29]. Некоторые из известных мишеней miR-205-5p включают *ZEB1/2*, *PTEN* и *VEGFA*. Соответственно, экспрессия miR-205-5p связана регуляцией ЕМТ. Результаты, полученные другими авторами, не совпадали из-за ряда факторов, например, таких как различия в выбранных методах исследования. В некоторых исследованиях обнаружено, что miR-205-5p имеет высокую экспрессию при стадиях pT2–3 РМП и сверхэкспрессия miR-10a-5p связана с более короткой безрецидивной и общей выживаемостью. Также есть данные, которые не подтвердили статистическую значимость различий в экспрессии miR-205-5p между образцами нормальной и опухолевой тканей, но обнаружили статистически значимое снижение экспрессии miR-130b-3p [30].

Нарушение функционирования ключевых клеточных сигнальных путей при интеграции вируса папилломы человека у больных раком мочевого пузыря

Описано несколько механизмов, с помощью которых интеграция ВПЧ может давать избирательное преимущество опухолевым клеткам (рис. 2). Первый из них — потеря функции в результате интеграции в структуру генетического локуса. М. Parfenov и соавт. идентифицировали 3 события интеграции в одном и том же образце первичной опухоли в интроне 8 гена *RAD51B* на хромосоме 14 [12]. *RAD51B* является компонентом пути репарации двухцепочечных разрывов ДНК, а потеря этого гена может способствовать нестабильности генома. Интеграция привела к 28-кратной амплификации сегмента интрона 8 длиной 42 т.п.н. вместе с частями вирусного генома. Химерная конструкция была закольцована, и альтернативный *RAD51B* начал экспрессировать свои транскрипты, которые были нефункциональными. Интересно, что интеграция этого гена также была отмечена в нескольких образцах рака шейки матки А.І. Ojesina и соавт. в связи с интеграциями ВПЧ16, ВПЧ18 и ВПЧ52 [31]. Точно так же описана интеграция в ген-супрессор опухоли *ETS2* с делецией экзонов 7 и 8 в месте интеграции, что приводит к появлению укороченных форм белка ETS2 [12].

Второй механизм, с помощью которого интеграция может привести к нарушению регуляции ключевых

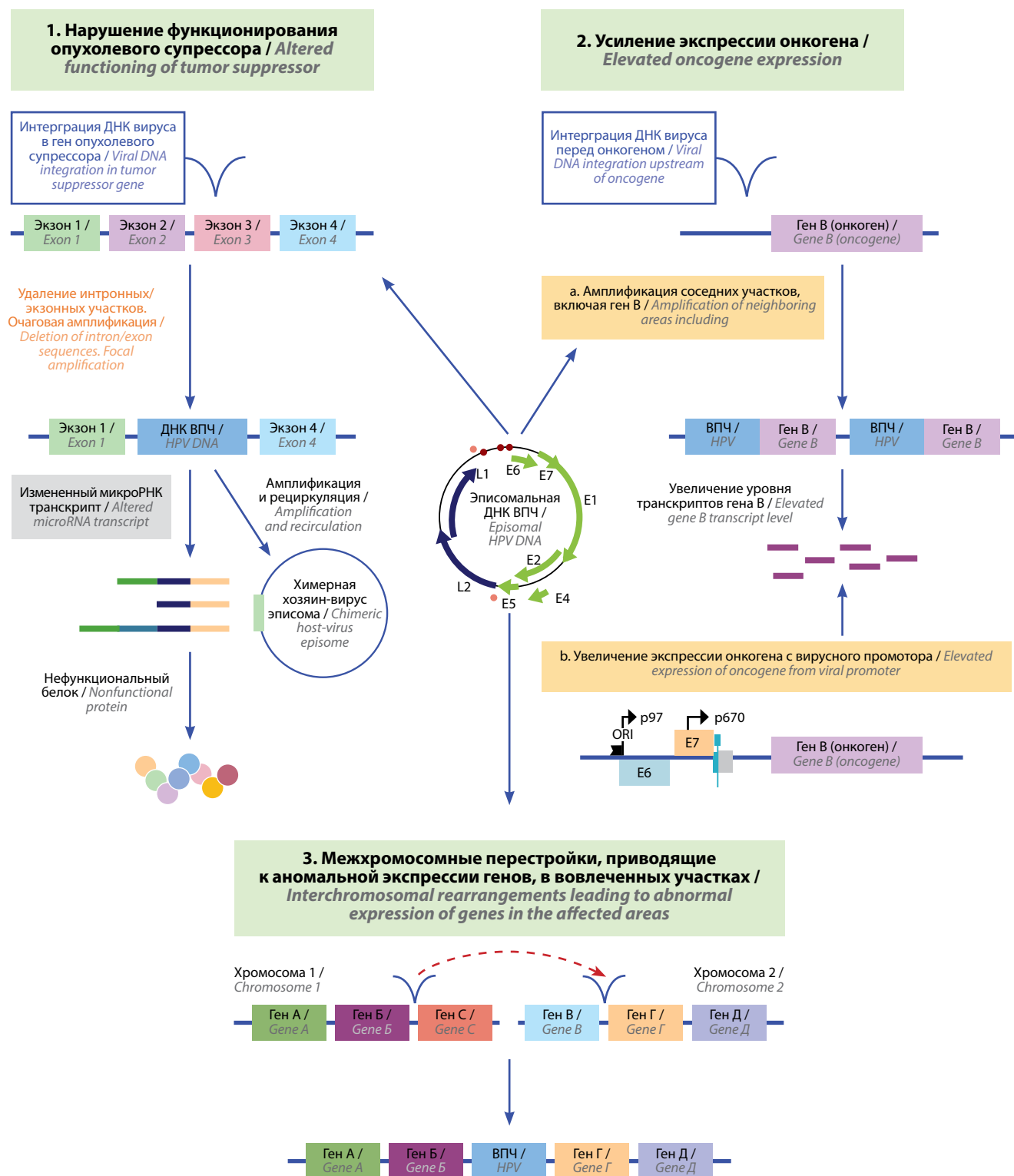


Рис. 2. Механизмы, с помощью которых интеграция ВПЧ может привести к нарушению регуляции экспрессии ключевых генов клеток: 1 – потеря функциональности гена-супрессора опухоли; 2а – амплификация онкогена, 2б – усиление экспрессии онкогена с вирусного промотора; 3 – обширные внутри- или межхромосомные перестройки, приводящие к измененной экспрессии множества генов в вовлеченных областях. ВПЧ – вирус папилломы человека

Fig. 2. Mechanisms by which HPV integration can lead to dysregulation of expression of key cell genes: 1 – loss of tumor suppressor gene functionality; 2a – oncogene amplification, 2b – upregulation of oncogene expression from the viral promoter; 3 – extensive intra- or interchromosomal rearrangements resulting in altered expression of multiple genes in the involved regions. HPV – human papillomavirus

клеточных генов, заключается в амплификации и последующей гиперэкспрессии этих генов. В одном из примеров ВПЧ интегрировался выше онкогена *NR4A2*, что привело к 284-кратной амплификации геномной области размером 75 т.п.н., охватывающей ген *NR4A2*, и сверхэкспрессии *NR4A2*. Эта опухоль демонстрировала низкие уровни E6 и E7, позволяя предположить, что в этом случае для онкогенеза были нужны иные факторы [31].

Наконец, интеграция ВПЧ связана с внутри- и межхромосомными перестройками (см. рис. 2). М. Parfenov и соавт. описали случай, при котором произошла перестройка между хромосомами 3 и 13 рядом с местом интеграции. Интеграция была в межгенной области, однако транслокация затрагивала область хромосомы 3, содержащую *TPRG1* и *TP63*, а на хромосоме 13 — ген Krüppel-подобного фактора 5 (*KLF5*). Области, вовлеченные в перестройку, были амплифицированы, что привело к увеличению экспрессии *KLF5*, *TP63* и *TPRG1* [12]. Следует отметить, что *KLF5* является фактором транскрипции, который, как известно, регулирует пролиферацию и участвует в развитии ряда типов рака [32]. *TP63* — транскрипционный фактор, который играет ключевую роль в развитии эпителия и считается важным онкогеном при плоскоклеточном раке [33].

Интересно, что М. Parfenov и соавт. также показали, что профили метилирования ДНК различаются для ВПЧ-положительных опухолей с интеграцией по сравнению с таковыми без интеграции [12]. Некоторыми из дифференциально метилированных генов были супрессоры опухолей *BARX2* и *IRX4*, а также онкогены *SIM2* и *CTSE*. Механизм, с помощью которого интеграция изменяет профиль метилирования, еще предстоит выяснить.

Солокализация интеграций ВПЧ с изменениями, которые могут привести к потере или усилению функции ключевых онкоассоциированных генов, в частности наличие рекуррентной интеграции в специфических генах, убедительно свидетельствует о том, что интеграция способствует онкогенезу. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы более полно охарактеризовать и подтвердить влияние интеграции ВПЧ на эти гены.

В нескольких исследованиях было отмечено, что интеграции ВПЧ ассоциированы с соматическим изменением (вариацией) числа копий (CNV), включая очаговые амплификации, делеции, внутри- и межхромосомные транслокации [34]. CNV — вид генетического полиморфизма, результатом которого является уменьшение или увеличение количества копий определенного гена, а следовательно, снижение или увеличение экспрессии продукта этого гена [35]. К. Akagi и соавт. обнаружили интегранты ВПЧ в областях амплификации (от 1,5-кратного увеличения в клетках HMS001 до 58-кратного увеличения в клетках UPCI:SCC090),

а также в областях с делециями (от 487 п.н. в HMS001 до 234 т.п.н. в хромосоме 3 UPCI:SCC090). Авторы также заметили, что инсерционные точки разрыва ВПЧ часто группируются вместе. К. Akagi и соавт. предложили петлевую модель для объяснения амплификации и перегруппировок, отмеченных в сайтах интеграции. В этой модели происходят разрыв генома хозяина, интеграция линейного генома ВПЧ, временное образование кольцевой ДНК, содержащей последовательности как хозяина, так и вируса, амплификация этой матрицы по типу «катящегося кольца» и образование интегрированных конкатемеров последовательностей вирус–хозяин [34]. М. Parfenov и соавт. также отметили случаи амплификации, которые свидетельствовали о рестрикции с последующей циркуляризацией интегрированного вируса и соседних геномных последовательностей генома хозяина и поддержание «слитого» генома вируса и хозяина в виде эписомы [12]. Упомянутые группы авторов обнаружили экспрессию локусов (транскрипты) с циркуляризованного фрагмента, полученного при слиянии геномов вируса и хозяина [12, 34].

Анализ связи интеграции ВПЧ с клиническим исходом или другими клиническими особенностями (анатомическая локализация, стадия опухоли, возраст, статус курения) не показал статистически значимых ассоциаций; однако размер выборки был весьма ограничен. Н. J. Shin и соавт. обнаружили тенденцию к снижению безрецидивной выживаемости у пациенток с раком шейки матки, получавших лучевую терапию, с интегрированными формами ВПЧ по сравнению с пациентками с эписомальным ВПЧ [36]. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения взаимосвязи между физическим статусом ВПЧ (интегрированный, эписомальный или смешанный) и клиническим исходом.

Исследования, обсуждаемые в данном обзоре, позволили лучше понять геномный ландшафт опухолей мочевого пузыря, связанных с ВПЧ. Тем не менее размер выборки, исследованной на сегодняшний день, остается небольшим. Важно подчеркнуть гетерогенность опухолей, связанных с ВПЧ, в отношении клинического поведения. Геномный ландшафт РМП на фоне инфицирования ВПЧ, описанный здесь, согласуется с данными предыдущих исследований хромосомных изменений [37], паттернов экспрессии генов и микроРНК [38], которые демонстрируют сходство и различия между ВПЧ-положительными опухолями разных нозологий. Некоторые из описанных в обзоре изменений были вовлечены не только в образование опухоли, но также в ответ на терапию и как таковые могут служить прогностическими биомаркерами. Другие идентифицированные геномные изменения являются терапевтически мишенями, например мутации *PI3K* и *FGFR*. Важно отметить, что это может снизить токсичность химиолучевой терапии и последствия, связанные с этим лечением [39].

Заключение

Заражение ВПЧ и последующая экспрессия вирусного белка создают условия для репликации вируса, в результате чего кератиноциты поддерживаются в пролиферативном состоянии, а иммунная система подавляется. Это также приводит к интеграции вирусов и накоплению генетических изменений с последующим образованием опухолей. Интеграция влияет как на вирусный геном, так и на геном хозяина, вероятно, оказывая дополнительное неопластическое избирательное давление посредством одного или нескольких из следующих механизмов:

- усиление экспрессии вирусных онкопротеинов;
- изменение критических клеточных генов (приводящее к усилению экспрессии онкогенных белков, снижению экспрессии белков-супрессоров опухолей, изменению механизмов репарации ДНК или модуляции иммунной системы);
- изменение глобального метилирования промоторов и транскрипции.

Всесторонняя характеристика геномных изменений при раке, связанном с ВПЧ, выявила множество

потенциальных биомаркеров и терапевтических мишеней. Тем не менее количество ВПЧ-положительных образцов опухолей, которые были всесторонне проанализированы с использованием полногеномных исследований, остается небольшим. Поэтому исследования более крупных когорт пациентов будут полезны для дальнейшей детализации событий интеграции ВПЧ и связанных с ними геномных изменений, а также для изучения их клинических проявлений. Более подробные исследования функционального влияния интеграции ВПЧ на различные клеточные белки будут полезны для характеристики клеточных путей, которые становятся нерегулируемыми, и определения их влияния на прогрессию опухоли. Также необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять, как возникают различные паттерны метилирования при раке, ассоциированном с ВПЧ, по сравнению с раком без ВПЧ, и влияние этих паттернов на биологию опухоли и клинические исходы. Дальнейшие исследования клинических последствий наблюдаемых геномных изменений будут необходимы для точной стратификации пациентов для таргетной, лучевой и химиотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Косова И.В., Лоран О.Б., Синякова Л.А. и др. Иммуногистохимические аспекты рака мочевого пузыря на фоне вирусной инфекции. *Онкоурология* 2018;14(2):142–54. DOI: 10.17650/1726-9776-2018-14-2-142-154
Kosova I.V., Loran O.B., Sinyakova L.A. et al. Immunohistochemical characteristics of bladder cancer in patients with viruspositive tumors. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2018;14(2):142–54. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2018-14-2-142-154
2. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с. Malignant tumors in Russia in 2020 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, A.O. Shachzadova. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2021. 252 p. (In Russ.).
3. Пшихачев А.М., Михалева Л.М., Гусниев М.А. и др. Клинико-морфологические особенности немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания (обзор литературы). *Онкоурология* 2021;17(1):134–41. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141
Pshikhachev A.M., Mikhaleva L.M., Gusniev M.A. et al. Clinical and morphological features of non-muscle invasive bladder cancer: implications for treatment, prognosis and relapse of the disease (literature review). *Onkourologiya = Cancer Urology* 2021;17(1):134–41. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141
4. Лоран О.Б., Синякова Л.А., Гундорова Л.В. и др. Вирус папилломы человека высокого онкогенного риска и рак мочевого пузыря. *Урология* 2017;(3):60–6.
Loran O.B., Sinyakova L.A., Gundorova L.V. et al. High oncogenic risk human papillomavirus and urinary bladder cancer. *Urologiya = Urology* 2017;(3):60–6. (In Russ.).
5. Musangile F.Y., Matsuzaki I., Okodo M. et al. Detection of HPV infection in urothelial carcinoma using RNAscope: Clinicopathological characterization. *Cancer Med* 2021;10(16):5534–44. DOI: 10.1002/cam4.4091
6. Немцова М.В., Кушлинский Н.Е. Молекулярный патогенез рака мочевого пузыря. *Альманах клинической медицины* 2015;(41):79–88. DOI: 10.18786/2072-0505-2015-41-79-88
Nemtsova M.V., Kushlinskiy N.E. The molecular pathogenesis of bladder cancer. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine* 2015;(41):79–88. (In Russ.). DOI: 10.18786/2072-0505-2015-41-79-88
7. Старцев В.Ю., Балашов А.Е., Мерзляков А.С. и др. Молекулярные детерминанты рецидива уротелиальной опухоли человека. *Онкоурология* 2021;17(3):130–9. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-3-130-139
Startsev V.Yu., Balashov A.E., Merzlyakov A.S. et al. Molecular determinants of recurrences of the human urothelial tumor. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2021;17(3):130–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-3-130-139
8. Della Torre G., Pilotti S., De Palo G., Rilke F. Viral particles in cervical condylomatous lesions. *Tumori* 1978;64(5):549–53. DOI: 10.1177/030089167806400513
9. Boshart M., Gissmann L., Ikenberg H. et al. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J* 1984;3(5):1151–7. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1984.tb01944.x

10. Smith N.J., Fenton T.R. The APOBEC3 genes and their role in cancer: insights from human papillomavirus. *J Mol Endocrinol* 2019;62(4):R269–87. DOI: 10.1530/JME-19-0011
11. Scarth J.A., Patterson M.R., Morgan E.L., Macdonald A. The human papillomavirus oncoproteins: a review of the host pathways targeted on the road to transformation. *J Gen Virol* 2021;102(3):001540. DOI: 10.1099/jgv.0.001540
12. Parfenov M., Pedamallu C.S., Gehlenborg N. et al. Characterization of HPV and host genome interactions in primary head and neck cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(43):15544–9. DOI: 10.1073/pnas.1416074111
13. Rusan M., Li Y.Y., Hammerman P.S. Genomic landscape of human papillomavirus-associated cancers. *Clin Cancer Res* 2015;21(9):2009–19. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1101
14. He L., Yang B., Jian D. et al. Prognostic value of HPV E6 and *APOBEC3B* in upper urinary tract urothelial carcinoma. *Dis Markers* 2022;2022:2147494. DOI: 10.1155/2022/2147494
15. Sun J.X., Xu J.Z., Liu C.Q. et al. The association between human papillomavirus and bladder cancer: evidence from meta-analysis and two-sample mendelian randomization. *J Med Virol* 2022. DOI: 10.1002/jmv.28208
16. Muresu N., Di Lorenzo B., Saderi L. et al. Prevalence of human papilloma virus infection in bladder cancer: a systematic review. *Diagnostics (Basel)* 2022;12(7):1759. DOI: 10.3390/diagnostics12071759
17. Khatami A., Salavatih Z., Razizadeh M.H. et al. Bladder cancer and human papillomavirus association: a systematic review and meta-analysis. *Infect Agent Cancer* 2022;17(1):3. DOI: 10.1186/s13027-022-00415-5
18. Collins K., Hwang M., Hamza A., Rao P. Prevalence of high-risk human papillomavirus in primary squamous cell carcinoma of urinary bladder. *Pathol Res Pract* 2020;216(9):153084. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153084
19. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Кутилин Д.С. Дифференциальная экспрессия микроРНК и их генов-мишеней при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях разной степени тяжести. *Успехи молекулярной онкологии* 2020;7(2):47–61. DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-47-61
20. Martinez I., Gardiner A.S., Board K.F. et al. Human papillomavirus type 16 reduces the expression of microRNA-218 in cervical carcinoma cells. *Oncogene* 2008;27(18):2575–82. DOI: 10.1038/sj.onc.1210919
21. Liu X. Up-regulation of miR-20a by HPV16 E6 exerts growth-promoting effects by targeting *PDCD6* in cervical carcinoma cells. *Biomed Pharmacother* 2018;102:996–1002. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.154
22. Cheng Y., Geng L., Zhao L. et al. Human papillomavirus E6-regulated microRNA-20b promotes invasion in cervical cancer by targeting tissue inhibitor of metalloproteinase 2. *Mol Med Rep* 2017;16:5464–70. DOI: 10.3892/mmr.2017.7231
23. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Кутилин Д.С. МикроРНК как маркеры прогрессирования предраковых заболеваний в рак шейки матки. *Современные проблемы науки и образования* 2020;(1):98–9. DOI: 10.17513/spno.29529
24. Dimetriadi T.A., Burtsev D.V., Dzhenskova E.A., Kutilin D.S. Micro-RNA as markers of pre-cancer diseases progression in cervical cancer. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education* 2020;(1):98–9. (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.29529
25. Mandal P., Saha S.S., Sen S. et al. Cervical cancer subtypes harbouring integrated and/or episomal HPV16 portray distinct molecular phenotypes based on transcriptome profiling of mRNAs and miRNAs. *Cell Death Discov* 2019;5:81. DOI: 10.1038/s41420-019-0154-x
26. Qian K., Pietila T., Ronty M. et al. Identification and validation of human papillomavirus encoded microRNAs. *PLoS One* 2013;8:e70202. DOI: 10.1371/journal.pone.0070202
27. Tomesello M.L., Faraonio R., Buonaguro L. et al. The role of microRNAs, long non-coding RNAs, and circular RNAs in cervical cancer. *Front Oncol* 2020;10:150. DOI: 10.3389/fonc.2020.00150
28. Borkowska E.M., Konecki T., Pietrusiński M. et al. MicroRNAs which can prognosticate aggressiveness of bladder cancer. *Cancers (Basel)* 2019;11(10):1551. DOI: 10.3390/cancers11101551
29. Alter B.P., Giri N., Savage S.A. et al. Squamous cell carcinomas in patients with Fanconi anemia and dyskeratosis congenita: a search for human papillomavirus. *Int J Cancer* 2013;133(6):1513–5. DOI: 10.1002/ijc.28157
30. Moisoiu T., Dragomir M.P., Iancu S.D. et al. Combined miRNA and SERS urine liquid biopsy for the point-of-care diagnosis and molecular stratification of bladder cancer. *Mol Med* 2022;28(1):39. DOI: 10.1186/s10020-022-00462-z
31. Campbell J.D., Yau C., Bowlby R. et al. Genomic, pathway network, and immunologic features distinguishing squamous carcinomas. *Cell Rep* 2018;23(1):194–212.e6. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.063
32. Ojesina A.I., Lichtenstein L., Freeman S.S. et al. Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas. *Nature* 2014;506(7488):371–5. DOI: 10.1038/nature12881
33. McConnell B.B., Ghaleb A.M., Nandan M.O., Yang V.W. The diverse functions of Kruppel-like factors 4 and 5 in epithelial biology and pathobiology. *Bioessays* 2007;29:549–57. DOI: 10.1002/bies.20581
34. Graziano V., De Laurenzi V. Role of p63 in cancer development. *Biochim Biophys Acta* 2011;1816(1):57–66. DOI: 10.1016/j.bbcan.2011.04.002
35. Akagi K., Li J., Broutian T.R. et al. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome Res* 2014;24(2):185–99. DOI: 10.1101/gr.164806.113
36. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кит О.И., Кутилин Д.С. Малоинвазивная молекулярная диагностика серозной аденокарциномы яичника высокой и низкой степени злокачественности. *Онкогинекология* 2021;(4(40)):35–49.
37. Tsandekova M.R., Porkhanova N.V., Kit O.I., Kutilin D.S. Minimally invasive molecular diagnostics of high-grade and low-grade serous adenocarcinoma of the ovarian. *Oncogynecologiya = Oncogynecology* 2021;(4(40)):35–49. (In Russ.).
38. Shin H.J., Joo J., Yoon J.H. et al. Physical status of human papillomavirus integration in cervical cancer is associated with treatment outcome of the patients treated with radiotherapy. *PLoS One* 2014;9(1):e78995. DOI: 10.1371/journal.pone.0078995
39. Wilting S.M., Smeets S.J., Snijders P.J. et al. Genomic profiling identifies common HPV-associated chromosomal alterations in squamous cell carcinomas of cervix and head and neck. *BMC Med Genomics* 2009;2:32. DOI: 10.1186/1755-8794-2-32
40. Lajer C.B., Garnaes E., Friis-Hansen L. et al. The role of miRNAs in human papilloma virus (HPV)-associated cancers: bridging between HPV-related head and neck cancer and cervical cancer. *Br J Cancer* 2012;106(9):1526–34. DOI: 10.1038/bjc.2012.109
41. Mirghani H., Amen F., Blanchard P. et al. Treatment de-escalation in HPV-positive oropharyngeal carcinoma: ongoing trials, critical issues and perspectives. *Int J Cancer* 2015;136(7):1494–503. DOI: 10.1002/ijc.28847

Вклад авторов

А.А. Пулатова: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;
С.Н. Димитриади, Т.А. Зыкова: анализ полученных данных, научное консультирование, редактирование текста статьи;
Д.С. Кутилин, А.Н. Шевченко: анализ клинических случаев, статистическая обработка данных, редактирование текста статьи;
С.И. Гончаров, В.К. Хван: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

A.A. Pulatova: developing the research design, article writing;
S.N. Dimitriadi, T.A. Zyкова: analysis of the obtained data, scientific advice, article editing;
D.S. Kutilin, A.N. Shevchenko: case analysis, statistical data processing, article editing;
S.I. Goncharov, V.K. Khvan: reviewing of publications of the article's theme.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Пулатова / A.A. Pulatova: <https://orcid.org/0000-0003-1220-3297>
С.Н. Димитриади / S.N. Dimitriadi: <https://orcid.org/0000-0002-2565-1518>
Т.А. Зыкова / T.A. Zyкова: <https://orcid.org/0000-0001-5345-4872>
А.Н. Шевченко / A.N. Shevchenko: <https://orcid.org/0000-0002-9468-134X>
Д.С. Кутилин / D.S. Kutilin: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>
С.И. Гончаров / S.I. Goncharov: <https://orcid.org/0000-0001-6802-4736>
В.К. Хван / V.K. Khvan: <https://orcid.org/0000-0002-0036-7190>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Funding. The work was performed without external funding.