

**ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ВИРУСНАЯ
НАГРУЗКА И ФАКТОРЫ РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С
ПРЕДРАКОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ
НОВООБРАЗОВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ**

Холопов Д.В.¹,
Вязовая А.А.¹,
Топузов Э.Э.²,
Алексеева Д.А.²,
Молчанов С.В.²,
Лялина Л.В.¹.

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

²СПБ ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия

**DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS, VIRAL LOAD AND RISK
FACTORS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS DISEASES AND
MALIGNANT NEOPLASMS IN ST. PETERSBURG**

Kholopov D.V.^a,

Vyazovaya A.A.^a,

Topuzov E.E.^b,

Alekseeva D.A.^b,

Molchanov S.V.^b,

Lyalina L.V.^a.

^aSt. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^bSt. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russian Federation

Резюме. Молекулярно-генетические исследования выявили роль различных генотипов вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе при раке шейки матки и злокачественных опухолях других локализаций. Показано, что больные ВПЧ-позитивным раком имеют лучший прогноз течения заболевания и выживаемости, чем пациенты без выявленной папилломавирусной инфекции или с низкой вирусной нагрузкой. Цель исследования — определить выявляемость, вирусную нагрузку, генотипы вируса папилломы человека при ВПЧ-ассоциированных предраковых и злокачественных новообразованиях различной локализации и факторы риска их возникновения в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга в современный период. Материалы и методы. Было изучено 80 образцов, полученных в Городском клиническом онкологическом диспансере Санкт-Петербурга от пациентов с диагнозом морфологически подтвержденного орофарингеального и анального рака, злокачественных опухолей вульвы, влагалища, шейки матки и цервикальной интраэпителиальной неоплазии. Выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом ПЦР в режиме реального времени в Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Результаты. ВПЧ обнаружен у 89,7% (61/68) пациентов со злокачественными опухолями и у 83,3% (10/12) — с тяжелой дисплазией шейки матки. Подавляющее большинство (85,9%) ВПЧ-позитивных пациентов были инфицированы ВПЧ 16-го генотипа; при анальном раке, тяжелой дисплазии и раке шейки матки выявлена папилломавирусная микст-инфекция (генотипы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45). Средние значения вирусной нагрузки при III–IV стадиях рака анального канала, шейки матки и при тяжелой дисплазии шейки матки превышали 5,7 lg ДНК ВПЧ/105 клеток. Среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%), в группе пациентов с диагнозом рака анального канала — женщины (90,0%). Выявляемость ВПЧ у мужчин составила 73,7%, у женщин — 95,9% ($p = 0,016$). При изучении факторов риска

(возраст, курение, употребление алкоголя) у пациентов с ВПЧ-положительными и ВПЧ-негативными злокачественными новообразованиями статистически значимых различий не выявлено. Заключение. Выявляемость ВПЧ, преимущественно 16 генотипа, варьировала в зависимости от локализации новообразования и составляла: при раке анального канала — 100%, женских половых органов — 94% (при раке влагалища и шейки матки — 100%), при орофарингеальном раке — 76,2%. Наибольшее содержание ДНК ВПЧ в опухолевой ткани выявлено при III–IV стадиях рака шейки матки и анального канала.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, злокачественные новообразования, рак шейки матки, орофарингеальный рак, анальный рак, факторы риска, вирусная нагрузка.

Abstract. Molecular genetic studies have revealed the involvement of different genotypes of human papillomavirus (HPV) in the carcinogenesis of cervical cancer and malignant lesions of other localizations. It is reported that patients with HPV-positive cancer have a better prognosis of the disease and survival than patients with unconfirmed HPV infection or with a low viral load. The objective was to identify the detectability, viral load, genotypes of human papillomavirus in HPV-associated precancerous and malignant neoplasia of various localization and to determine risk factors for their occurrence in the metropolis of St. Petersburg at the present time. Materials and methods. A total of 80 samples taken from morphologically confirmed tissues of oropharyngeal and anal cancer, malignant tumors of vulva, vagina, cervix and cervical intraepithelial neoplasia were studied in St. Petersburg Clinical Oncologic Center. Detection, quantification and genotyping of HPV DNA were carried out by real-time PCR at the St. Petersburg Pasteur Institute. Results. HPV was detected in 89.7% (61/68) of patients with malignant tumors and 83.3% (10/12) — with severe cervical dysplasia. The vast majority (85.9%) of HPV-positive patients were infected with HPV genotype 16;

papillomavirus mixed infection (genotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45) was detected in anal cancer, cancer and severe cervical dysplasia. The average viral load in stages III-IV of anal cancer, cervical cancer and severe cervical dysplasia exceeded 5.7 lg HPV DNA/105 cells. Among patients with oropharyngeal cancer, men predominated (85.7%); anal cancer was detected in women (90.0%). No statistically significant risk factors (smoking and alcohol consumption) for the occurrence of HPV-associated malignancies were identified. Conclusions. The detection of HPV, mainly of genotype 16, varied depending on the location of the neoplasia: anal cancer — 100%, cancer of the female genitalia — 94% (in case of cancer of the vagina and cervix — 100.0%), head and neck cancer — 76.2%. The highest HPV DNA load in the tumor tissue was found in III–IV stages of the cervical and anal cancer.

Key words: Human papillomavirus, malignancies, cervical cancer, oropharyngeal cancer, anal cancer, risk factors, viral load.

Введение.

Обширные эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования показали этиологическую роль вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в развитии рака шейки матки (РШМ), а также других опухолей аногенитальной и орофарингеальной областей [25]. Потенциальная роль ВПЧ в возникновении злокачественных новообразований (ЗНО) других анатомических локализаций является недостаточно изученной и требует продолжения исследований в этом направлении. Согласно опубликованным данным, в 2012 г. 4,5% всех видов рака в мире (630000 новых случаев) были связаны с ВПЧ: 8,6% у женщин и 0,8% у мужчин. Доля РШМ составила 83%, остальные локализации включали рак вульвы, влагалища, анального канала, полового члена, а также ВПЧ-ассоциированные ЗНО головы и шеи, большая часть которых была представлена раком ротоглотки. ВПЧ 16, 18 и 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 генотипов в структуре распространенности в указанных опухолях занимали 73 и 90% случаев соответственно [12].

По данным метаанализа, высокие показатели заболеваемости РШМ связаны с широкой распространенностью ВПЧ. Дополнительными факторами риска заражения папилломавирусной инфекцией (ПВИ) являются недостаточный уровень информированности молодых женщин об отдаленных последствиях инфицирования, курение и раннее начало половой жизни [7]. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (англ. cervical intraepithelial neoplasia, CIN), играющая основную роль в развитии РШМ, связана с инфицированием ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 генотипов [12]. По вопросу значения вирусной нагрузки в канцерогенезе в литературе имеются противоречивые сведения. По данным одних авторов, высокая нагрузка ВПЧ, сопровождающая персистенцию вируса в зараженной клетке, может рассматриваться как маркер риска CIN

и карциномы шейки матки [2]. В других исследованиях отмечается снижение вирусной нагрузки по мере прогрессирования атипических изменений в шейке матки [13], приводятся данные о том, что у пациентов с РШМ низкая вирусная нагрузка ВПЧ ассоциируется с более низкой выживаемостью и плохим прогнозом [27]. Отечественными учеными показано, что среди больных РШМ повышенная ($> 3 \lg$) вирусная нагрузка чаще определялась при местнораспространенных формах РШМ, а малозначимая вирусная нагрузка ($< 3 \lg$) более часто встречалась на ранних стадиях ЗНО [11]. Основными факторами риска развития рака головы и шеи являются употребление алкоголя и табака, инфицирование ВПЧ и ультрафиолетовое облучение [6]. Плоскоклеточный рак головы и шеи по патогенетическому принципу разделен на две большие группы с различными показателями выживаемости — ВПЧ-позитивный [ВПЧ(+)] и ВПЧ-негативный [ВПЧ(-)]. Предположительно, в 45–90% случаев орофарингеальный плоскоклеточный рак ассоциирован с ВПЧ [8], при этом миндалины были самой распространенной его локализацией с частотой обнаружения ДНК ВПЧ у больных от 12,6 до 90,9% [9]. ВПЧ 6/11/16/18 генотипов выявлены в клетках плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта в 41,4% случаев [4]. Приводятся сведения о том, что больные с ВПЧ(+) раком, особенно с локализацией в ротоглотке, имеют лучший прогноз течения заболевания, чем те, у кого этот тип рака развивается на других участках верхних отделов пищеварительного тракта [24]. Установлено, что у пациентов с ВПЧ(-) опухолями головы и шеи или с низкой вирусной нагрузкой показатели выживаемости были значительно хуже, чем у ВПЧ 16(+) пациентов с высокой вирусной нагрузкой [15].

Рак анального канала и кожи перианальной области составляет около 2,5% всех злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта [23], чаще встречается у женщин и у пациентов в возрасте 65 лет

и старше, отмечается увеличение заболеваемости, особенно у мужчин [16, 20]. С этиологической точки зрения рак анального канала имеет больше сходства с РШМ, чем с опухолями желудочно-кишечного тракта. В большинстве случаев возникновение данной формы неоплазии следует рассматривать как следствие ВПЧ-инфекции [3]. Другими факторами риска возникновения рака анального канала являются иммуносупрессия, гемобластозы, а также наличие в анамнезе других видов ВПЧ-ассоциированных ЗНО, низкий социально-экономический статус и курение [14]. Удельный вес рака анального канала, ассоциированного с ВПЧ, составляет около 90%, при этом более чем в 70% случаев обнаруживаются 16 и 18 генотипы вируса [21]. Уровень ВПЧ-позитивности выше среди женщин. При исследовании вирусной нагрузки ВПЧ 16 выявлено, что она была выше в группе больных, ранее не получавших лечения [19]. Установлено, что ВПЧ-позитивность была связана с лучшей выживаемостью и ответом на химиолучевую терапию (подобно плоскоклеточному раку головы и шеи), а низкая вирусная нагрузка была прогностическим фактором более низкой общей выживаемости [1, 17].

Плоскоклеточный рак вульвы по этиологическому фактору разделяют на две группы: кератозный (ВПЧ(-) вариант) и базалоидный и веррукозный (ВПЧ(+) вариант). ВПЧ обнаружен у молодых женщин в 54,2%, у пожилых — в 18% случаев, доминирующим в обеих группах был 16 генотип ВПЧ [5]. Некоторые исследования отмечают лучшую выживаемость женщин с ВПЧ(+) опухолями вульвы [11], другие не выявили такой закономерности [18]. Результаты крупного многоцентрового исследования в США в период 1994–2005 гг. показали, что до 75% случаев рака влагалища были ассоциированы с ВПЧ [22]. Установлено, что по сравнению с нормальными вагинальными образцами вирусная нагрузка была значительно выше при интраэпителиальной неоплазии влагалища и увеличивалась при наличии ВПЧ 16, 52, 58 генотипов [26].

Цель исследования: определить выявляемость, вирусную нагрузку, генотипы вируса папилломы человека при ВПЧ-ассоциированных предраковых заболеваниях и злокачественных новообразованиях различной локализации и факторы риска их возникновения в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга в современный период.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 80 пациентов, проходивших обследование и лечение в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» в период с октября 2020 г. по ноябрь 2021 г. Диагноз верифицирован гистологически, установлен в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра (МКБ-10) и классификацией TNM (8-е издание, 2017 г.). Количество пациентов с учетом локализации опухоли: 21 — орофарингеальный рак (код МКБ-10 C01–06, C09–10, C12–13), 10 — рак анального канала и кожи перианальной области (C21), 8 — рак вульвы (C51), 1 — рак влагалища (C52), 28 — рак шейки матки (C53) и 12 пациенток — тяжелая дисплазия шейки матки (англ. highgrade squamous intraepithelial lesions, HSIL).

Настоящее исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г., получено разрешение локального этического комитета Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Всеми пациентами было подписано информированное согласие. Для выявления возможных факторов риска возникновения ВПЧ-ассоциированных ЗНО для каждого пациента использовалось добровольное анкетирование.

Материалом для исследования служили соскобы с опухолевой ткани предраковых заболеваний и злокачественных новообразований вышеуказанных локализаций. Выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом ПЦР в режиме реального

времени на приборе RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия) с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» («АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», кат#R-V31-T4x (RG, iQ, Mx); «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип FL», кат#R-V25(RG, iQ, Mx) (ООО «Интерлабсервис», Россия). Определяли наличие ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59 генотипов. Значение вирусной нагрузки рассчитывали в геномных эквивалентах ДНК ВПЧ/10⁵ клеток, порог релевантного количества вируса принимался равным 3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток в соскобе.

Статистическую обработку результатов исследования проводили стандартными методами параметрической статистики с использованием пакетов программ Microsoft Office Excel 2019, онлайн-калькулятора «Медицинская статистика» (<https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html>), «WinPeri» (версия 11.65) и «EpiInfo» (версия 7.2.4.0). Для установления статистической значимости различий качественных признаков между группами использовали критерий Фишера (P) для четырехпольной и произвольных таблиц (критический уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты

Исследованы образцы тканей 12 пациенток с тяжелой дисплазией шейки матки (HSIL) и 68 пациентов, страдающих ЗНО: 37 (54,4%) образцов тканей опухолей женских половых органов, 21 (30,9%) — орофарингеальной области, 10 (14,7%) — рака анального канала и кожи перианальной области (далее по тексту — анальный рак). Вакцинированных против ВПЧ среди обследованных пациентов не было.

ВПЧ обнаружен в 61 (89,7%) из 68 образцов пациентов с ЗНО (табл. 1) и у 10 (83,3%) из 12 пациенток с HSIL. ВПЧ несколько чаще выявляли у больных РШМ (94,6%; 35/37), чем у пациенток с HSIL (83,3%; 10/12) ($p = 0,167$) (рис. 1).

Результаты исследования показали, что выявляемость ВПЧ у пациентов мужского и женского пола составила 73,7 и 95,9%

соответственно ($p = 0,016$). Статистически значимых различий выявляемости ВПЧ в возрастных группах до 60 и старше 60 лет не обнаружено ($p > 0,05$). Курение и употребление алкоголя также не оказали существенного влияния на выявляемость ВПЧ ($p > 0,05$). Указанные факторы риска встречались с одинаковой частотой у пациентов с ВПЧ(+) и ВПЧ(-) ЗНО.

При изучении морфологии ЗНО в 94,1% (64/68) случаев верифицирован плоскоклеточный рак (ВПЧ-позитивный — 89,1%), в остальных 4-х ВПЧ-позитивных случаях — аденокарцинома и светлоклеточный рак (причем только при РШМ).

Генотипирование ВПЧ-позитивных образцов показало, что у 85,9% (61/71) пациентов диагностирована моноинфекция ВПЧ 16; в 14,1% (10/71) случаев (при анальном раке, РШМ и HSIL) выявлена папилломавирусная микст-инфекция, одновременно с ВПЧ 16 обнаружены генотипы 18, 31, 33, 35, 39, 45. При этом ВПЧ 16 был обнаружен во всех ВПЧ-позитивных образцах при ЗНО ($n = 61$), а в образцах HSIL — в 90,0% (9/10) случаев, что согласуется с опубликованными данными [12].

Из 61 пациента с ВПЧ-ассоциированными ЗНО более половины (54,4%) были с неоплазиями, диагностированными на поздних (III–IV) стадиях заболевания, однако статистически значимых различий в распределении высокой вирусной нагрузки в зависимости от стадии процесса не отмечено ($p > 0,05$) (табл. 2).

Среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%); более 61,9% пациентов были старше 60 лет (табл. 3).

Большинство участников исследования сообщили о систематическом курении (более 10 сигарет в день в течение 10 лет и более) и приеме крепкого алкоголя реже 1 раза в месяц (табл. 3). Практически все пациенты отрицали частое употребление горячей пищи

и напитков, использование плохо подобранных зубных протезов, спиртосодержащей жидкости для полоскания полости рта и наличие хронических воспалительных заболеваний ротовой полости. I–II стадии рака орофарингеальной области наблюдали у 42,9% больных, при этом во всех случаях обнаружен ВПЧ, тогда как у более половины пациентов (58,3%) с III–IV стадиями заболевания — ВПЧ-негативный рак (табл. 3).

В зависимости от локализации ЗНО — полость рта, миндалины, ротоглотка — выявляемость ВПЧ составила 50, 80 и 100% соответственно. В ВПЧ-позитивных образцах с низкой вирусной нагрузкой среднее значение равнялось 2,07, с высокой — 4,38 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток. Вирусная нагрузка ВПЧ не зависела от стадии неопластического процесса ($p > 0,05$) (рис. 2, 3).

Все случаи анального рака были ассоциированы с ВПЧ (табл. 4). Среди больных преобладали женщины старше 60 лет; значительная часть анкетированных отрицали вредные привычки. Заболевание было диагностировано на поздних стадиях в подавляющем большинстве случаев (70%). При этом в образцах пациентов со ЗНО III–IV стадий среднее значение вирусной нагрузки составило 5,78 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток и было значимо больше ($p = 0,016$), чем в случае I–II стадий со средним значением 1,68 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток (рис. 2, 3).

Из 37 образцов ткани ЗНО женских половых органов большая часть (75,7%) принадлежала больным РШМ (табл. 5).

Значимых возрастных различий между группами не выявлено. Значительная часть анкетированных отрицали курение и частое употребление алкоголя. ВПЧ обнаружен во всех образцах больных РШМ и влагалища в отличие от рака вульвы ($p = 0,022$) (табл. 5). В образцах опухолевой ткани больных раком вульвы в 5 из 6 случаев ВПЧ выявлен в количестве менее 50 копий/клетку. В образцах больных РШМ при I–II стадиях среднее значение вирусной нагрузки составило 4,26 lg, при III–

IV стадиях — $5,65 \lg$ ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток, при этом статистически значимых различий ВПЧ-позитивности рака вульвы, влагалища и шейки матки в зависимости от стадии ЗНО не выявлено. Однако в большинстве (58,3%) образцов тканей опухолей III–IV стадии определялась высокая вирусная нагрузка ВПЧ (рис. 3). Следует отметить, что один из образцов взят из гистологически подтвержденного метастаза плоскоклеточного РШМ в молочную железу, где выявлен ВПЧ 16 генотипа с высокой вирусной нагрузкой ($> 6 \lg$ ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток).

Большинство пациенток с тяжелой дисплазией шейки матки были моложе 60 лет, половина курили, и все редко употребляли алкоголь. ВПЧ был выявлен в 83,3% образцов HSIL (табл. 6), при этом высокая вирусная нагрузка (среднее значение $5,72 \lg$ ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток) обнаружена в 80,0% (8/10) случаях.

Обсуждение

С использованием современных методов молекулярной эпидемиологии доказано, что ВПЧ является основным этиологическим фактором в развитии РШМ, а также других опухолей аногенитальной и орофарингеальной областей [25]. В нашем исследовании выявлено, что в структуре ВПЧ-ассоциированных ЗНО более половины случаев составили опухоли женских половых органов (75,7% — случаи РШМ), ассоциированные с ПВИ. Определены гендерные различия ВПЧ-ассоциированного рака: среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%), в то время как рак анального канала намного чаще встречался у женщин (90,0%). Статистически значимых факторов риска возникновения ВПЧ-ассоциированных ЗНО не выявлено. ЗНО, ассоциированные с ВПЧ, чаще обнаруживались на поздних стадиях заболевания. Установлено, что в 85,9% присутствие ВПЧ 16 в морфологически подтвержденных ЗНО может играть значимую роль в канцерогенезе не только РШМ, но и других ВПЧ-ассоциированных

опухолей, что соответствует ряду опубликованных работ [2, 10, 12, 27].

При ЗНО орофарингеальной локализации максимальное выявление ВПЧ было зафиксировано при раке ротоглотки и миндалин [9]. В результате проведенного исследования статистически значимого влияния вирусной нагрузки ВПЧ при ЗНО головы и шеи не выявлено, при этом в большей части образцов обнаружены следовые концентрации вируса.

В нашем исследовании при анальном раке и РШМ ВПЧ выявлен во всех образцах, что согласуется с данными, опубликованными ранее зарубежными авторами об этиологическом сходстве возникновения РШМ и анального рака [3, 12, 21]. Средняя величина вирусной нагрузки ($5,7-5,8 \lg$ ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток) при III–IV стадиях рака анального канала, РШМ и HSIL подтверждает гипотезу, что большое число копий генома ВПЧ увеличивает вероятность интеграции вирусной ДНК в геном хозяина, что может играть роль в канцерогенезе инвазивного рака и прогрессировании заболевания [19, 20].

Заключение

В настоящем исследовании установлено, что выявляемость вируса у пациентов Городского клинического онкологического диспансера в Санкт-Петербурге с ВПЧ-ассоциированными ЗНО составила в целом 89,7% и варьировала в зависимости от локализации новообразования, составляя при раке анального канала — 100%, женских половых органов — 94% (при раке влагалища и шейки матки — 100%), орофарингеальном раке — 76,2%. Также ВПЧ обнаружен у 83,3% пациенток с тяжелой степенью цервикальной дисплазии.

Подавляющее большинство (85,9%) ВПЧ-позитивных пациентов были инфицированы ВПЧ 16-го генотипа; при анальном раке, HSIL и РШМ выявлена папилломавирусная микст-инфекция (генотипы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45). При этом ВПЧ 16 был обнаружен во всех ВПЧ-позитивных образцах

ЗНО и в 90% образцов HSIL.

При оценке факторов риска (возраст, курение, употребление алкоголя) у пациентов с ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными злокачественными новообразованиями статистически значимых различий не выявлено.

У 52,4% пациентов ВПЧ-ассоциированные ЗНО были диагностированы на поздних стадиях, однако статистически значимых различий в распределении высокой вирусной нагрузки в зависимости от стадии процесса не отмечено. Наибольшее содержание ВПЧ в опухолевой ткани выявлено при III–IV стадии РШМ, анального канала, а также при HSIL. Высокая вирусная нагрузка на поздних стадиях заболевания раком анального канала и шейки матки может служить возможным биомаркером неблагоприятного клинического течения данных неоплазий.

Источник финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с ВПЧ(+) и ВПЧ(-) злокачественными новообразованиями

Table 1. Clinical and epidemiological characteristics of patients with HPV (+) and HPV (-) malignancies

Характеристика Characteristics	N, абс./abs. (%)	ВПЧ-статус HPV status N, абс./abs. (%)		P
		ВПЧ/ HPV (+)	ВПЧ/ HPV (-)	
Всего / Total	68 (100.0)	61 (89,7)	7 (10,3)	
Пол/ Sex				
мужчины/ males	19 (27,9)	14 (73,7)	5 (26,3)	0,016
женщины/ females	49 (72,1)	47 (95,9)	2 (4,1)	
Возраст, лет/ Age, years				
> 60	39 (57,4)	35 (89,7)	4 (10,3)	0,384
≤ 60	29 (42,6)	28 (96,6)	1 (3,4)	
Курение/ Smoking				
да/ yes	30 (44,1)	25 (83,3)	5 (16,7)	0,450
нет/ no	38 (55,9)	35 (92,1)	3 (7,9)	
Алкоголь/ Alcohol *				
часто / often	8 (11,8)	6 (75,0)	2 (25,0)	0,189
редко/ rarely	60 (88,2)	55 (91,7)	5 (8,3)	
Стадии заболевания/ Disease stages				
I-II	31 (45,6)	30 (96,8)	1 (3,2)	0,116
III-IV	37 (54,4)	31 (83,8)	6 (16,2)	

Примечание: здесь и далее - * часто - чаще 1 раза в неделю, редко - реже 1 раза в неделю.

Comments: hereinafter: * often - more than once a week, rarely - less than once a week.

Таблица 2. Зависимость вирусной нагрузки ВПЧ от стадии злокачественного новообразования

Table 2. Dependence of HPV viral load on the stage of malignant neoplasm

Стадия ЗНО / Stage of malignance	Число случаев (%) / N (%)	Вирусная нагрузка ВПЧ, абс. (%) / HPV viral load, abs./%		<i>P</i>
		Высокая / high,	Низкая / low	
I-II	29 (47,5)	14 (48,3)	15 (51,7)	0,072
III-IV	32 (52,5)	23 (71,8)	9 (28,2)	

Примечание: здесь и далее: вирусная нагрузка ВПЧ низкая (<3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток) и высокая (>3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток).

Comments: hereinafter: low (<3 lg HPV DNA/10⁵ cells) and high (>3 lg HPV DNA/10⁵ cells) HPV viral load.

Таблица 3. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с орофарингеальным раком
 Table 3. Clinical and epidemiological characteristics of patients with oropharyngeal cancer

Характеристика Characteristics	N, абс./abs. (%)	ВПЧ-статус HPV status N, абс./abs. (%)		P
		ВПЧ/ HPV (+)	ВПЧ/ HPV (-)	
Всего / Total	21 (100,0)	16 (76,2)	5 (23,8)	
Пол/ Sex				
мужчины/ males	18 (85,7)	13 (72,2)	5 (27,8)	0,549
женщины/ females	3 (14,3)	3 (100,0)	-	
Возраст, лет/ Age, years				
> 60	13 (61,9)	9 (69,2)	4 (30,8)	0,606
≤ 60	8 (38,1)	7 (87,5)	1 (12,5)	
Курение/ Smoking				
да/ yes	18 (85,7)	14 (77,8)	4 (22,2)	1,000
нет/ no	3 (14,3)	2 (66,7)	1 (33,3)	
Алкоголь/ Alcohol abuse				
часто/ often	4 (19,0)	3 (75,0)	1 (25,0)	0,695
редко/ rarely	17 (81,0)	11 (64,7)	6 (35,3)	
Стадии заболевания/ Disease stages				
I-II	8 (42,9)	8 (100,0)	-	0,111
III-IV	13 (57,1)	8 (58,3)	5 (41,7)	
Локализация/ Localization				
полость рта/ oral cavity	6 (28,6)	3 (50,0)	3 (50,0)	0,142
миндалины/ tonsils	10 (47,6)	8 (80,0)	2 (20,0)	
ротоглотка/ oropharynx	5 (23,8)	5 (100,0)	-	

Таблица 4. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с
 анальным раком

Table 4. Clinical and epidemiological characteristics of patients with anal cancer

Характеристика Characteristics	N, абс./abs. (%)
Всего/ Total	10 (100,0)
ВПЧ-статус/ HPV status	10 (100,0)
Пол/ Sex	
мужчины/ men	1 (10,0)
женщины/ women	9 (90,0)
Возраст, лет/ Age, years	
> 60	7 (70,0)
≤ 60	3 (30,0)
Курение/ Smoking	
да / yes	2 (20,0)
нет / no	8 (80,0)
Алкоголь/ Alcohol	
часто/ often	1 (10,0)
редко/ rarely	9 (90,0)
Стадии заболевания/ Stages of the disease	
I-II	3 (30,0)
III-IV	7 (70,0)

Таблица 5. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с раком женских половых органов

Table 5. Clinical and epidemiological characteristics of patients with cancer of the female genital organs

Характеристика Characteristics	N, абс./abs. (%)	ВПЧ-статус HPV status N, абс./abs. (%)		P
		ВПЧ/ HPV (+)	ВПЧ/ HPV (-)	
Всего/ Total	37 (100,0)	35 (94,6)	2 (5,4)	
Возраст, лет/ Age, years				
> 60	19 (51,4)	19 (100,0)	-	
≤ 60	18 (48,6)	18 (100,0)	-	
Курение/ Smoking				
да / yes	10 (27,0)	9 (90,0)	1 (10,0)	1,000
нет / no	27 (73,0)	25 (92,6)	2 (7,4)	
Алкоголь/ Alcohol				
часто / often	3 (8,1)	2 (66,7)	1 (33,3)	0,1576
редко/ rarely	34 (91,9)	33 (94,1)	1 (5,9)	
Локализация/ Localization				
вульва/ vulva	8 (21,6)	6 (75,0)	2 (25,0)	0,022
влагалище/vagina	1 (2,7)	1 (100,0)	-	
шейка матки/ cervix	28 (75,7)	28 (100,0)	-	
Стадии заболевания/ Stages of the disease				
I-II	19 (51,4)	18 (94,7)	1 (5,3)	1,000
III-IV	18 (48,6)	17 (94,4)	1 (5,6)	

Таблица 6. Клинико-эпидемиологическая характеристика тяжелой дисплазии шейки матки

Table 6. Clinical and epidemiological characteristics of severe cervical dysplasia

Характеристика Characteristics	N, абс./abs. (%)	ВПЧ-статус HPV status N, абс./abs. (%)		P
		ВПЧ/ HPV (+)	ВПЧ/ HPV (-)	
Всего/ Total	12 (100,0)	10 (83,3)	2 (16,7)	
Возраст, лет/ Age, years				
> 60	3 (25,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	0,455
≤ 60	9 (75,0)	8 (88,9)	1 (11,1)	
Курение/ Smoking				
да / yes	6 (50,0)	6 (100,0)	-	0,227
нет / no	6 (50,0)	4 (66,7)	2 (33,3)	
Алкоголь/ Alcohol				
часто / often	-	-	-	1,000
редко/ rarely	12 (100,0)	10 (83,3)	2 (16,7)	

РИСУНКИ

Рисунок 1. Выявляемость ВПЧ в образцах тканей ЗНО различных локализаций и HSIL среди пациентов в Санкт-Петербурге, 2020-2021 гг.
Figure 1. 2020-2021 HPV prevalence in cancer tissue samples of various localizations and HSIL among the patients in St. Petersburg.

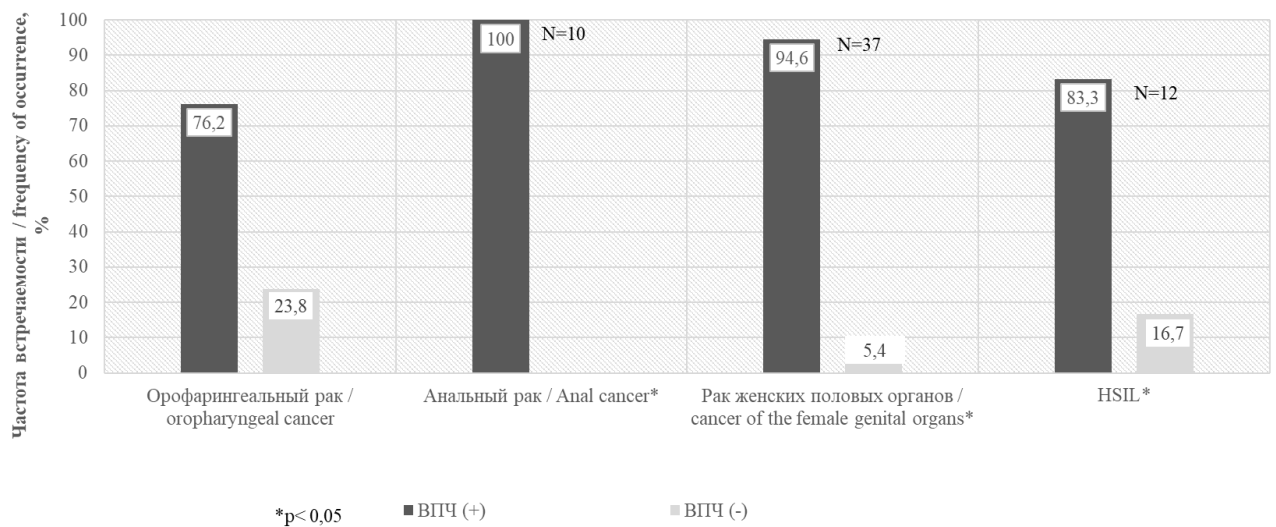


Рисунок 2. Зависимость низкой вирусной нагрузки ($\lg < 3$ ДНК ВПЧ / 10^5 клеток) ВПЧ от стадии злокачественного новообразования

Figure 2. A relation between low HPV viral load ($\lg < 3$ HPV DNA / 10^5 cells) and stage of malignant neoplasm

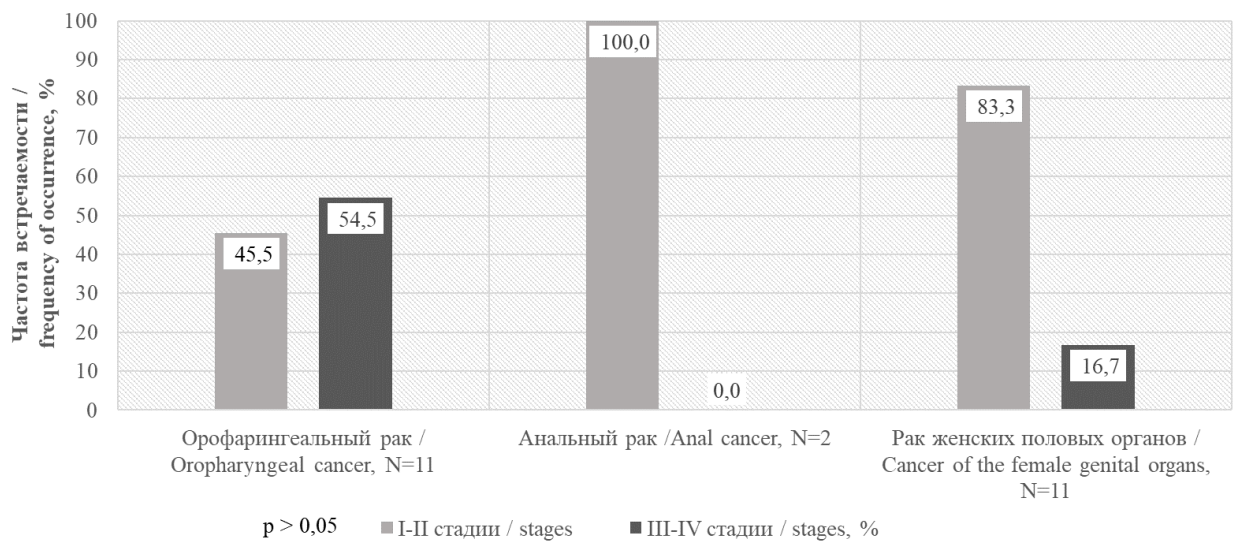
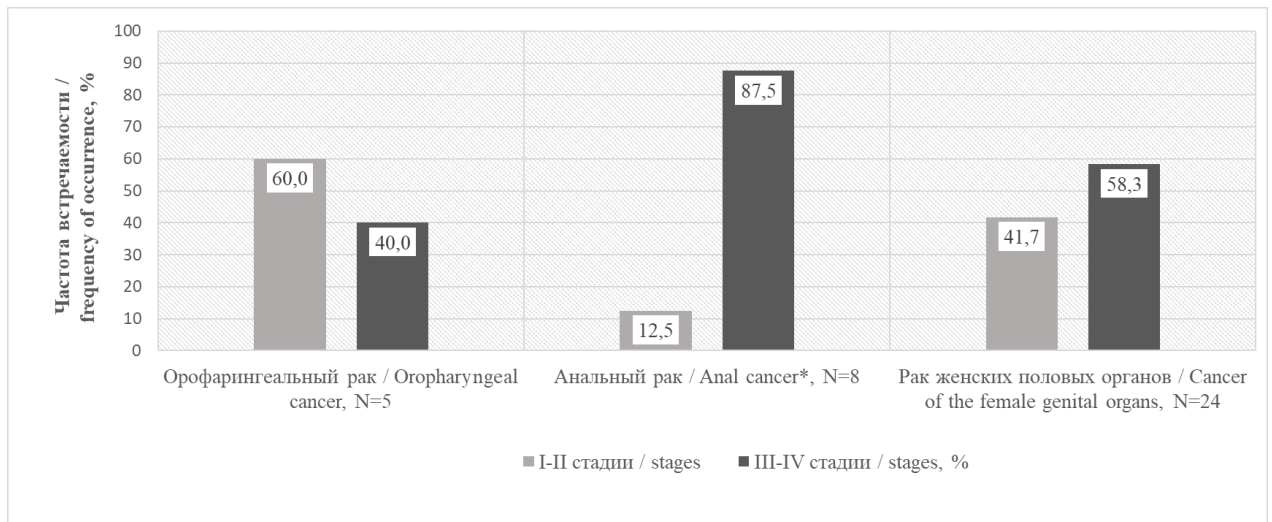


Рисунок 3. Зависимость высокой вирусной нагрузки ($\lg > 3$ ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток) ВПЧ от стадии злокачественного новообразования.

Figure 3. A relation between high HPV viral load ($\lg > 3$ HPV DNA / 10^5 cells) and stage of malignant neoplasm.



Примечание / Note: * $p=0,016$.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Холопов Дмитрий Вячеславович – аспирант ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Россия;

Kholopov Dmitry Vyacheslavovich – graduate student, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Блок 2. Информация об авторах

Вязовая Анна Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Vyazovaya Anna Aleksandrovna – PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Топузов Эльдар Эскендерович – д.м.н., профессор, главный врач, СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия;

Topuzov Eldar Eskenderovich – MD, PhD (Medicine), Professor, Head doctor, Saint-Petersburg state budgetary institution of health care “Saint-Petersburg City Oncology Clinic”, Saint Petersburg, Russia;

Алексеева Диана Анатольевна – к.м.н., заведующая онкологическим отделением хирургических методов лечения № 8 (опухолей головы и шеи), СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия;

Alekseeva Diana Anatolievna – PhD (Medicine), Head of the Oncological Department of Surgical methods of treatment No. 8 (head and neck tumors), Saint-Petersburg state budgetary institution of health care “Saint-Petersburg City Oncology Clinic”, Saint Petersburg, Russia;

Молчанов Сергей Валерьевич – к.м.н., заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения №3 (онкогинекологии), СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия

Molchanov Sergey Valerievich – PhD (Medicine), Head of the Oncological Department of Surgical Methods of Treatment No. 3 (Oncogynecology), Saint-Petersburg state budgetary institution of health care “Saint-Petersburg City Oncology Clinic”, Saint Petersburg, Russia

Лялина Людмила Владимировна – д.м.н., профессор, заведующая лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний, ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Россия;

Lyalina Lyudmila Vladimirovna – MD, PhD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of the Epidemiology of Infectious and Non-Infectious Diseases, Institut Pasteur in Saint-Petersburg for Research in Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Saint Petersburg, Russia;

Блок 3. Метаданные статьи

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ ВПЧ У ПАЦИЕНТОВ С ЗНО

DETECTION OF HPV IN PATIENTS WITH MALIGNANCIES

Ключевые слова: вирус папилломы человека; злокачественные новообразования; рак оротофарингеальной области; анальный рак; рак шейки матки; 16 генотип; вирусная нагрузка

Keywords: Human papillomavirus; malignant neoplasms; oropharyngeal cancer; anal cancer; cervical cancer; 16 type; viral load

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 7, количество таблиц – 6, количество рисунков – 3.

16.06.2022.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
1	Гордеев С.С., Бесова Н.С., Глебовская В.В., Горбунова В.А., Мамедли З.З., Ткачев С.И., Федянин М.Ю. Черных М.В. Практические рекомендации по лечению рака анального канала и кожи перианальной области // Злокачественные опухоли. 2020. Т. 10, №3s2. С. 440-449.	Gordeev S.S., Besova N.S., Glebovskaya V.V., Gorbunova V.A., Mammadli Z.Z., Tkachev S.I., Fedyanin M.Yu. Chernykh M.V. Practical recommendations for the treatment of anal canal and perianal skin cancer. Malignant tumors, 2020, vol. 10, no. 3s2, pp. 440-449 (In Russ.)	https://www.malignanttumors.org/jour/article/view/773/537 [doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-24]

2	Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Карабут И.В., Чуруксаева О.Н., Шпилева О.Н., Бычков В.А., Коломиец Л.А., Литвяков Н.В. Интегративная и эписомальная формы генотипа 16 вируса папилломы человека при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 270-274.	Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Karabut I.V., Churuksaeva O.N., Shpileva O.N., Bychkov V.A., Kolomiets L.A., Litviakov N.V. Integrative and episomal forms of genotype 16 of human papillomavirus in patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Problems of Virology, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 270-274. (In Russ.)	https://virusjour.elpub.ru/jour/article/view/106/37 [doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-270-274]
3	Комарова Л.Е., Барсуков Ю.А. Эпидемиология и статистика рака анального канала (обзор литературы) // Тазовая хирургия и онкология. 2018. Т. 8, № 4. С. 30-33.	Komarova L.E., Barsukov Yu.A. Epidemiology and statistics of anal cancer (literature review). Pelvic Surgery and Oncology, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 30-33. (In Russ.)	https://ok.abvpress.ru/jour/article/view/264/224 [doi.org/10.17650/2220-3478-2018-8-4-30-33]

4	Кутукова С.И., Чухловин А.Б., Яременко А.И., Иваськова Ю.В., Разумова А.Я., Ермакова Т.С. Встречаемость ДНК основных типов онкогенных вирусов в структуре плоскоклеточного рака и нормальной слизистой оболочки полости рта // Пародонтология. 2020. Т. 25, № 3. С. 206-210.	Kutukova S.I., Chukhlovin A.B., Yaremenko A.I., Ivaskova Y.V., Razumova A.Y., Ermakova T.S. Prevalence of DNA of the different types of oncogenic viruses in the squamous cell carcinoma and normal oral mucosa. Parodontologiya, 2020, vol. 25, no. 3, pp. 206-210. (In Russ.)	https://www.parodont.ru/jour/article/view/345 [doi.org/10.33925/1683-3759-2020-25-3-206-210]
5	Неродо Г.А., Зыкова Т.А., Иванова В.А., Неродо Е.А. Наличие вирусной ДНК в тканях больных раком вульвы. Акушерство и гинекология. 2017. № 12. С. 89-95.	Nerodo G.A., Zyкова T.A., Ivanova V.A., Nerodo E.A. The presence of viral DNA in the tissues of patients with vulvar cancer. Obstetrics and gynecology, 2017, no. 12. pp. 89-95. (In Russ.)	https://aig-journal.ru/articles/Nalichie-virusnoi-DNK-v-tkanyah-bolnyh-rakom-vulvy.html [doi.org/10.18565/aig.2017.12.89-95]
6	Попруженко Т.В., Терехова Т.Н. Управляемые факторы канцерогенеза в области головы и шеи // Современная стоматология. 2020. Т.79, №2. С. 8–17.	Papruzhenka T., Tamara T. Controlled factors of carcinogenesis in the head and neck, Sovremennaya stomatologiya, 2020, vol. 79, no. 2, pp. 8–17. (In Russ.)	https://cyberleninka.ru/article/n/upravlyaem-ye-factory-kantserogeneza-v-oblasti-golovy-i-shei

7	Роик Е. Е., Баранов А. Н., Трещева Н. Д. Эпидемиологические особенности папилломавирусной инфекции // Экология человека. 2015. № 5. С. 21–26.	Roik E. E., Baranov A. N., Treshcheva N. D. Epidemiological Features of Human Papilloma Viral Infection. <i>Ekologiya cheloveka</i> [Human Ecology], 2015, vol. 5, pp. 21-26. (In Russ.)	https://cyberleninka.ru/article/n/epidemiologicheski
8	Стукань А.И., Мурашко Р.А., Бодня В.Н., Чухрай О.Ю., Дулина Е.В. Возможности терапии плоскоклеточного рака головы и шеи в зависимости от молекулярных особенностей опухоли (обзор литературы) // Опухоли головы и шеи. 2017. Т. 7, № 3. С. 66-73.	Stukan A.I., Murashko R.A., Bodnya V.N., Chukhray O.Yu., Dulina E.V. Treatment of head and neck squamous cell carcinoma according on the specific molecular features of the tumor (a literature review). <i>Head and Neck Tumors (HNT)</i> , 2017, vol. 7, no. 3, pp. 66-73. (In Russ.)	https://ogsh.abvpress.ru/jour/article/view/291/0 [doi.org/10.17650/2222-1468-2017-7-3-66-73]

9	Стукань А.И., Чухрай О.Ю., Порханов В.А., Мурашко Р.А., Бодня В.Н., Макарова Ю.М. Орофарингеальная карцинома, ассоциированная с вирусом папилломы человека: тенденции эпидемиологии и методы выявления вируса в опухоли // Опухоли головы и шеи. 2018. Т. 8, № 3. С. 77-83.	Stukan' A.I., Chukhray O.Yu., Porkhanov V.A., Murashko R.A., Bodnya V.N., Makarova Yu.M. Human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma: trends in epidemiology and methods for detecting the virus in tumors. <i>Opukholi golovy i shei = Head and Neck Tumors</i> , 2018, vol. 8, no. 3, pp. 7–83. (In Russ.).	https://ogsh.abvpress.ru/jour/article/view/364 [doi:10.17650/2222-1468-2018-8-3-77-83]
10	Чуруксаева О.Н., Коломиец Л.А. Онкотропная папилломавирусная инфекция и прогноз течения рака шейки матки // Сибирский онкологический журнал. 2013. №. 1. С. 82-87.	Churuksaeva O.N., Kolomiets L.A. Oncotropic papillomavirus infection and prognosis for patients with cervical cancer. <i>Siberian journal of oncology</i> , 2013, no. 1, pp. 82-87. (In Russ.)	https://www.siboncoj.ru/jour/article/view/86/88/
11	Alonso I, Fusté V, del Pino M, Castillo P, Torné A, Fusté P, Rios J, Pahisa J, Balasch J, Ordi J. Does human papillomavirus infection imply a different prognosis in vulvar squamous cell carcinoma?	-	https://www.gynecologiconcology-online.net/article/S0090-8258(11)00406-9/fulltext [DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.05.016]

	Gynecol Oncol, 2011, vol. 122, no. 3, pp. 509-514.		
12	Del Río-Ospina, L., Soto-De León, S.C., Camargo, M. et al. The DNA load of six high-risk human papillomavirus types and its association with cervical lesions. BMC Cancer, 2015, vol. 15, no. 100.	-	https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-015-1126-z#citeas [doi.org/10.1186/s12885-015-1126-z].
13	de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. Int J Cancer, 2017, vol. 141, no 4, pp. 664-670.	-	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.30716 [doi: 10.1002/ijc.30716]
14	Glynn-Jones R, Nilsson PJ, Aschele C, Goh V, Peiffert D, Cervantes A, Arnold D. Anal cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Radiother Oncol. 2014, vol. 111, no. 3, pp. 330-339.	-	https://www.thegreenjournal.com/article/S0167-8140(14)00176-5/fulltext [doi: 10.1016/j.radonc.2014.04.013]

15	Hashida Y, Higuchi T, Matsumoto S, Iguchi M, Murakami I, Hyodo M, Daibata M. Prognostic significance of human papillomavirus 16 viral load level in patients with oropharyngeal cancer. <i>Cancer Sci</i> , 2021, vol. 112, no. 10, pp. 4404-4417.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8486212/ [doi: 10.1111/cas.15105].
16	Jemal A, Simard EP, Dorell C, Noone AM, Markowitz LE, Kohler B, Ehemann C, Saraiya M, Bandi P, Saslow D, Cronin KA, Watson M, Schiffman M, Henley SJ, Schymura MJ, Anderson RN, Yankey D, Edwards BK. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. <i>J Natl Cancer Inst</i> , 2013, vol. 105, no. 3, pp. 175–201.	-	https://academic.oup.com/jnci/article/105/3/175/1030988 [doi: 10.1093/jnci/djs491]

17	Koerber SA, Schoneweg C, Slynko A, Krug D, Haefner MF, Her-farth K, Debus J, Sterzing F, von Knebel Doeberitz M, Prigge ES, Reuschenbach M. Influence of hu-man papillomavirus and p16(INK4a) on treatment outcome of patients with anal cancer. Radi-other Oncol, 2014, vol. 113, no. 3, pp. 331-336.	-	https://www.thegreenjournal.com/article/S0167-8140(14)00492-7/fulltext [doi: 10.1016/j.radonc.2014.11.013]
18	Larsson GL, Helenius G, Andersson S, Elgh F, Sorbe B, Karlsson MG. Human papillomavirus (HPV) and HPV 16-variant distribution in vulvar squamous cell carcinoma in Sweden. Int J Gynecol Cancer, 2012, vol. 22, no. 8, pp. 1413-1419.	-	https://ijgc.bmj.com/content/22/8/1413 [doi: 10.1097/IGC.0b013e31826a0471]
19	Małusecka E, Chmielik E, Suwiński R, Giglok M, Lange D, Rutkowski T, Mazurek AM. Significance of HPV16 Viral Load Testing in Anal	-	https://link.springer.com/article/10.1007/s12253-020-00801-7 [doi: 10.1007/s12253-020-00801-7]

	Cancer. Pathol Oncol Res, 2020, vol.26, no. 4, pp. 2191-2199		
20	Nelson RA, Levine AM, Bernstein L, Smith DD, Lai LL. Changing patterns of anal canal carcinoma in the United States. J Clin Oncol, 2013, vol. 31, no. 12, pp. 1569-1575.	-	https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2012.45.2524 [doi: 10.1200/JCO.2012.45.2524]
21	Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. Lancet Glob Health, 2016, vol. 4, no. 9, pp. 609-616.	-	https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(16)30143-7/fulltext [doi: 10.1016/S2214-109X(16)30143-7]
22	Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin. 2019, vol. 69, no. 1, pp. 7-34.	-	https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21551 [doi: 10.3322/caac.21551]
23	Veitía, D., Liuzzi, J., Ávila, M., Rodríguez, I., Toro, F., & Correnti, M. Association of viral load and physical status of HPV-16 with survival of	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7434508/ [doi.org/10.3332/ecancer.2020.1082]

	patients with head and neck cancer. Ecancermedicalscience, 2020, vol. 14, p. 1082.		
24	Zhou FY, Zhou Q, Zhu ZY, Hua KQ, Chen LM, Ding JX. Types and viral load of human papillo-mavirus, and vaginal microbiota in vaginal intraepithelial neoplasia: a cross-sectional study. Ann Transl Med 2020, vol. 8, no. 21, pp. 1408.	-	https://atm.amegroups.com/article/view/54472/html [doi: 10.21037/atm-20-622]
25	Zuo J, Huang Y, An J, Yang X, Li N, Huang M, Wu L. Nomograms based on HPV load for predicting survival in cervical squamous cell carcinoma: An observational study with a long-term follow-up. Chin J Cancer Res, 2019, vol. 31, no. 2, pp. 389-399.	-	http://article.cjcr.cn.org/en/article/doi/10.21147/j.issn.1000-9604.2019.02.13?viewType=HTML [doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2019.02.13].
26	Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, editors (2020). World Cancer Report: Cancer Research for Cancer	-	https://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-CancerResearch-For-Cancer-Prevention-2020

	Prevention. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020, pp. 45-48.		
27	Saraiya M, Unger ER, Thompson TD, Lynch CF, Hernandez BY, Lyu CW, Steinau M, Watson M, Wilkinson EJ, Hopenhayn C, Copeland G, Cozen W, Peters ES, Huang Y, Saber MS, Altekruse S, Goodman MT; HPV Typing of Cancers Workgroup. US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent HPV vaccines. J Natl Cancer Inst. 2015, vol. 107, no. 6, djv086.	-	https://academic.oup.com/jnci/article/107/6/djv086/872092 [doi: 10.1093/jnci/djv086]