



## Оригинальные работы / Original papers

© CC BY V. A. Ershov, A. S. Lisyanskaya, G. M. Manikhas, 2019

УДК [618.146-006.6+578.827.1]:611.018.825:612.398

DOI: 10.24884/1607-4181-2019-26-2-18-27

В. А. Ершов<sup>1\*</sup>, А. С. Лисянская<sup>1,2</sup>, Г. М. Манихас<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

## ПРОДУКЦИЯ БЕЛКОВ L1 И NuMA1 ВИРУСА ПАПИЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ

Поступила в редакцию 30.01.19 г.; принята к печати 26.06.19 г.

## Резюме

**Введение.** Рак шейки матки — одно из наиболее часто встречающихся среди женщин злокачественных новообразований. Ему предшествуют интраэпителиальные изменения, которые могут исчезать спонтанно или прогрессировать к раку. На настоящий момент нет маркеров, характеризующих исход цервикальных интраэпителиальных неоплазий.

**Цель исследования** — изучение информативности белков L1 и NuMA1 в качестве маркеров прогноза цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР).

**Материал и методы.** Биоптаты шейки матки 178 женщин с цервикальными неоплазиями, ассоциированными с ВПЧ ВКР, исследованы цитологическим, гистологическим, иммуноцитохимическим методами и методом полимеразной цепной реакции.

**Результаты.** Верифицированы ВПЧ ВКР-позитивные слабая (42,7 %), умеренная (34,27 %), тяжелая (21,91 %) формы дисплазии, *Ca in situ* (1,12 %). В 81,13 % исследований CIN с ядерной экспрессией L1 и NuMA1 отметили регресс дисплазии, в 13,21 % — сохранение степени тяжести поражения плоского эпителия, в 5,66 % — прогрессирование дисплазии. В 73,33 % наблюдений CIN с экспрессией только NuMA1 плоский эпителий восстановил типичное строение, в 26,67 % явления атипии были сохранены. В 45,45 % CIN с экспрессией только L1 отметили регресс клеточных поражений, в 48,48 % — персистенцию, в 6,06 % — прогрессирование неоплазии. Регресс или прогрессирование CIN с экспрессией L1 и NuMA1 или одного из этих белков впервые обнаружены спустя 6 месяцев после выявления клеточных изменений.

**Заключение.** Интраэпителиальные неоплазии шейки матки могут завершаться регрессом, персистенцией или прогрессированием. При экспрессии атипичными клетками L1 и NuMA1 отмечено наибольшее число — 81,13 % — случаев регресса CIN. При экспрессии атипичными клетками только белка NuMA1 CIN завершились регрессом или длительной персистенцией. Течение CIN с экспрессией белка L1 характеризовалось наибольшими показателями персистенции и прогрессирования, отмечаемых, соответственно, в 48,48 и 6,06 % случаев.

**Ключевые слова:** шейка матки, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, ВПЧ, NuMA1

**Для цитирования:** Ершов В. А., Лисянская А. С., Манихас Г. М. Продукция белков L1 и NuMA1 вируса папилломы человека при цервикальной интраэпителиальной неоплазии. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2019;26(2):18–27. DOI: 10.24884/1607-4181-2019-26-2-18-27.

**Автор для связи:** Ершов Владимир Анатольевич, СПбГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», 197022, Россия, Санкт-Петербург, 2-я Березовая аллея, д. 3/5. E-mail: ershov415@gmail.com.

© CC BY V. A. Ershov, A. S. Lisyanskaya, G. M. Manikhas, 2019

UDC [618.146-006.6+578.827.1]:611.018.825:612.398

DOI: 10.24884/1607-4181-2019-26-2-18-27

Vladimir A. Ershov<sup>1\*</sup>, Alla S. Lisyanskaya<sup>1,2</sup>, Georgiy M. Manikhas<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Municipal Clinical Oncology Dispensary, Russia, St. Petersburg<sup>2</sup> Pavlov University, Russia, St. Petersburg

## EXPRESSION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS L1 PROTEIN AND NuMA1 AT CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

Received 30.01.19; accepted 26.06.19

## Summary

**Relevance.** Cervical cancer — one of malignant new growths most often met among women. Intraepithelial changes precede to it; these changes can disappear spontaneously or progress to cancer. For the present moment, there are no markers describing the outcome of cervical intraepithelial neoplasia.

The **objective** was to research the expression L1 HPV and NuMA1 as factors of prognosis HPV-positive cervical intraepithelial neoplasias by high-risk human papillomavirus.

**Material and methods.** The biopsies of 178 women from HPV-positive cervical neoplasias were studied by cytological, histological, immunocytochemical methods and PCR.

**Results.** We verified HPV-HR-positive: mild (42.7 %), moderate (34.27 %), severe (21.91 %) dysplasias, Ca in situ (1.12 %). In 81.13 % of researches, CIN with expression of L1 and NuMA1 had regression of dysplasia, in 13.21 % — persistence of grade squamous intraepithelial lesion, in 5.66 % — progression of dysplasia. In 73.33 % of cases, CIN with expression of NuMA1 had regression, in 26.67 % — persistence of dysplasia. In 45.45 % of researches, CIN with expression of L1 had regression of dysplasia, in 48.48 % — persistence of grade squamous intraepithelial lesion, in 6.06 % — progression of dysplasia. Regression or progression of dysplasia with expression L1 and NuMA1 or one of these proteins for the first time was revealed later 6 months.

**Conclusion.** CIN could come to the end with regression, persistence or progression. At expression of atypical cells L1 and NuMA1, the greatest quantity — 81.13 %, of cases of CIN regression was noted. At expression of atypical cells only NuMA1, CIN came to the end with regression or long persistence. Course of CIN with expression L1 HPV was characterized by the greatest parameters of persistence and progression marked, accordingly, in 48.48 and 6.06 % of cases.

**Keywords:** cervix uteri, cervical intraepithelial neoplasia, HPV, NuMA1

**For citation:** Ershov V. A., Lisyanskaya A. S., Manikhas G. M. Expression of human papillomavirus L1 protein and NuMA1 at cervical intraepithelial neoplasia. *The Scientific Notes of IPP-SPSMU*. 2019;26(2):18–27. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2019-26-2-18-27.

\* **Corresponding author:** Vladimir A. Ershov, Municipal Clinical Oncology Dispensary, 3/5 2 Berezovaya Alleya, St. Petersburg, Russia, 197022. E-mail: ershov415@gmail.com.

## ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) остается одним из наиболее часто встречающихся среди женщин злокачественных новообразований. С начала 2-го десятилетия нынешнего века ежегодно в мире регистрируют более 500 000 новых случаев цервикального рака [1] и до 280 000 смертельных исходов данного заболевания [2]. Пик возрастных показателей смертности РШМ выявляется на 10–15 лет ранее, чем при других раковых образованиях, что делает существенным число потенциальных лет жизни, теряемых при данном заболевании [3]. Актуальным данный злокачественный процесс является и для Российской Федерации, в которой заболеваемость РШМ в 2016 г. достигла максимального за последние 30 лет значения — 15,45 на 100 000 женщин [4].

В настоящее время основным этиологическим фактором РШМ признан эпителиотропный ДНК-вирус — вирус папилломы человека (ВПЧ) [5]. Согласно существующей на настоящий момент концепции вирусного канцерогенеза, возникающая на фоне снижения регуляторной функции E2 ВПЧ гиперэкспрессия вирусных белков E6 и E7 может запускать механизм злокачественной трансформации клетки [6], развитие которой проходит несколько этапов интраэпителиальных изменений шейки матки — стадий так называемой цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) — cervical intraepithelial neoplasia (CIN), геномные изменения которой до сих пор остаются недостаточно исследованными [7].

Длительное время было принято считать, что эти интраэпителиальные изменения шейки матки в подавляющем числе случаев прогрессируют к раку. Поэтому в отношении CIN2/3, выявляемых ежегодно у 2–3 % женщин в мире [8], с целью пре-

дотвращения РШМ рекомендовано хирургическое вмешательство.

Опубликованные в начале XXI в. результаты многолетних исследований подтвердили способность CIN к регрессу, характеризующуюся тем, что CIN1 и CIN2 в 60 % наблюдений исчезают спонтанно в течение 1-го года и в 30 % случаев — по истечении 24 месяцев [9–12]. В 10 % наблюдений CIN1 и CIN2 прогрессируют к CIN3 и в 1–1,5 % случаев — к плоскоклеточному раку [12–14].

На настоящий момент остается актуальным поиск маркеров, характеризующих с высокой степенью вероятности способность атипичных клеток к регрессу или, наоборот, к нарастанию в них более тяжелых изменений. Наличие критерия прогрессия CIN в случае слабой дисплазии послужит основанием проведения резекции пораженного участка слизистой, не дожидаясь дальнейшего нарастания атипии. Маркер, характерный для регресса CIN, позволит в случаях CIN2+ вместо конизации, используемой в большинстве стран мира как метод профилактики РШМ [8], провести консервативное лечение, сохраняющее целостность шейки матки и устраняющее у молодых женщин одну из причин истмико-цервикальной недостаточности, способной негативно отразиться на их репродуктивной способности. Наличие маркеров прогноза определит и тактику ведения беременных женщин, у 1 % которых ежегодно диагностируют CIN различных степеней [15].

Открытие все новых аспектов взаимодействия ВПЧ и пораженной им клетки предлагает в качестве маркеров прогноза CIN продукцию или, наоборот, отсутствие экспрессии некоторых вирусных и(или) клеточных генов. Однако на настоящий момент нет ни общепринятого клинического, ни

морфологического, ни молекулярно-генетического критериев [7, 16], позволяющих определить исход CIN.

Такие характеристики ВПЧ, как генотип высокого канцерогенного риска [11, 17], наличие интеграции вирусной ДНК в ДНК клетки [18, 19], экспрессия белков Е2 и/или Е7 [20] и высокие — «клинически значимые» — показатели «вирусной нагрузки» [21–23], не нашли своего применения в качестве факторов прогноза развития интраэпителиальных изменений, так как они были обнаружены не только при неоплазиях, но и при латентной форме папилломавирусной инфекции.

Изменения экспрессии клеточных белков Ki-67 [21, 24, 25], PCNA [26, 27], p53 [21, 28], p16(INK4a) [21, 24, 25, 29], Bcl-2 [28], OCT-4 [30], COX-2 [24], SOX2, p63 [31] оказались более информативны в качестве дифференциальных признаков цервикальной неоплазии разной степени тяжести [21, 29]. Их корреляция с тяжестью цитологических и(или) гистологических поражений [32] может быть обусловлена механизмом, не связанным с вирусным поражением клетки [33].

В качестве наиболее информативного из всех известных на настоящий момент критериев рекомендовал себя капсидный белок L1 [14, 16, 34–36] — специфичный для ВПЧ-поражения фактор, связанный с вирусным производством, которое осуществляется только при сохранении неизменной продукции генов папилломавируса в неизменном эпителии [14, 16, 36]. Возникающие при репликации повреждения ДНК ВПЧ приводят к нарушению цикла пораженной им клетки, которая становится генетически нестабильной и не способна осуществлять свою программу дифференцирования [37]. При этом вирусный ген L1 функционально инактивируется и утрачивает способность к синтезу капсидного белка, что при CIN и РШМ не позволяет сформировать вирусные частицы [14]. Использование с начала нынешнего века этого маркера в Германии позволило применить стратегию выжидания [14, 35] и изучить клинические результаты CIN2+.

Еще одним специфичным фактором, отражающим клеточные изменения, ассоциированные с ВПЧ [38], можно считать белок ядерного митотического аппарата — nuclear mitotic apparatus protein (NuMA1). Его экспрессия в G1-, S-, G2-фазах клеточного цикла характеризует организацию хроматина [38] и продукцию ряда генов, в первую очередь, семейства p53 [39], свидетельствующих о контроле клеточного цикла.

Целью исследования являлось изучение информативности экспрессии белков L1 и NuMA1 в качестве маркеров прогноза цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с ВПЧ высокого канцерогенного риска.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ результатов цитологического, иммуноцитохимического, гистологического и молекулярно-генетического методов исследования биопсий шейки матки 178 женщин 18–62 лет, находившихся на обследовании и(или) лечении в Санкт-Петербургском городском клиническом онкологическом диспансере с октября 2014 г. по март 2018 г.

Всем пациенткам при первичном обращении осуществляли забор цервикальных биоптатов для цитологического и гистологического исследования.

Цитологические препараты эктоцервикса и эндоцервикса готовили методом жидкостной цитологии и окрашивали по методу Папаниколау.

Для гистологического исследования материал щипцовой биопсии и(или) электроэксцизии шейки матки фиксировали в 10 %-м растворе формалина, обезжизняли в изопропиловых спиртах, заливали в парафиновые блоки, с помощью микротомы готовили срезы толщиной 5–6 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином.

Во всех случаях проводили иммуноцитохимические исследования с использованием системы детекции «Novolink™» и моноклональных антител к NuMA1 (LS-B7380, 44529), LifeSpanBioSciences Inc. (США) и моноклональных антител к белку L1 вируса папилломы человека 16 (33) генотипа — HPV 16 (CAMVIR-1, Mob 394, P333), DBS (США). Положительной реакцию считали при наличии исследуемых белков в не менее чем 5 % атипичных клеток.

С учетом результатов иммуноцитохимических исследований 116 пациенток наблюдали от 3 до 45 месяцев с контрольными осмотрами и цитологическим скринингом, проводимыми через каждые 3 месяца; 62 больным провели электроэксцизию шейки матки.

Заключения результатов цитологических исследований формулировали в соответствии с классификацией «The Bethesda System for reporting cervical cytologic diagnoses» [40], гистологических исследований — в соответствии с последней редакцией гистологической классификации ВОЗ [41], выделяя формы диспластических изменений эпителия и интраэпителиального рака.

Во всех случаях выявление и генотипирование ДНК ВПЧ в соскобе цервикального канала проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Достоверность различий полученных результатов оценивали на основании критерия Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате морфологического исследования у 76 (42,7 %) пациенток 18–62 лет диагностирована слабая (CIN1, LSIL), у 61 (34,27 %) 23–53 лет — умеренная (CIN2, HSIL), у 39 (21,91 %) 26–56 лет —



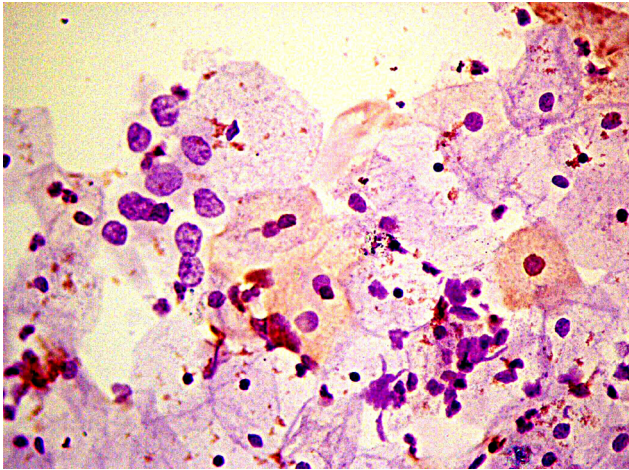


Рис. 1. Экспрессия L1 ВПЧ в поверхностных клетках плоского эпителия и отсутствие экспрессии в атипичных клетках CIN3 (слева). Иммунопероксидазное окрашивание. Ув.  $\times 100$   
Fig. 1. Expression L1 HPV in superficial cells of squamous epithelia and absence of expression in atypical cells CIN3 (on the left). Immunoperoxidase staining.  $\times 100$

тяжелая форма дисплазии (CIN3, HSIL), у 2 (1,12 %) 30 и 33 лет — *Carcinoma in situ* (CIN3, HSIL) шейки матки.

ВПЧ 16-го генотипа обнаружен в 102 (57,3 %) случаях, его сочетания с папилломавирусами филогенетической группы (ФГГ)  $\alpha 9$  — в 36 (20,23 %) и с ФГГ  $\alpha 7$  — в 10 (5,62 %) исследованиях. ВПЧ 33-го генотипа выявлен у 25 (14,04 %) пациенток, его сочетания с ВПЧ 31-го и 56-го генотипов — у 5 (2,81 %) женщин.

В результате иммуноморфологических исследований экспрессию L1 (рис. 1) и NuMA1 (рис. 2) в атипичных клетках выявили в 53 (29,78 %) случаях CIN. В 30 (16,85 %) наблюдениях в ядрах обнаружили только протеин NuMA1, в 33 (18,54 %) исследованиях — только капсидный белок L1. Антитела к обоим белкам отсутствовали в биоптатах 62 (34,83 %) женщин.

При слабой дисплазии продукция обоих белков выявлена в 30 (39,47 %), экспрессия только NuMA1 — в 11 (14,47 %), только L1 — 18 (23,68 %), отсутствие обоих белков обнаружено в 17 (22,38 %) случаях (рис. 3). Всего белок NuMA1 обнаружен в 41 (53,95 %), L1 — в 48 (63,16 %) случаях CIN1 (табл. 1).

При умеренной дисплазии продукция обоих белков выявлена в 15 (24,59 %), экспрессия только NuMA1 — в 14 (22,95 %), только L1 — в 9 (14,75 %), отсутствие обоих белков обнаружено в 23 (37,71 %) случаях (рис. 3). Всего белок NuMA1 обнаружен в 29 (47,54 %), L1 — в 24 (39,34 %) случаях CIN2 (табл. 1).

При тяжелой дисплазии продукция обоих белков выявлена в 8 (20,52 %), экспрессия только NuMA1 — в 5 (12,82 %), только L1 — 6 (15,38 %), отсутствие обоих белков обнаружено в 20 (51,28 %) случаях (рис. 3). Всего белок NuMA1 обнаружен в 13 (33,33 %), L1 — в 14 (35,9 %) случаях тяжелой дисплазии (табл. 1).

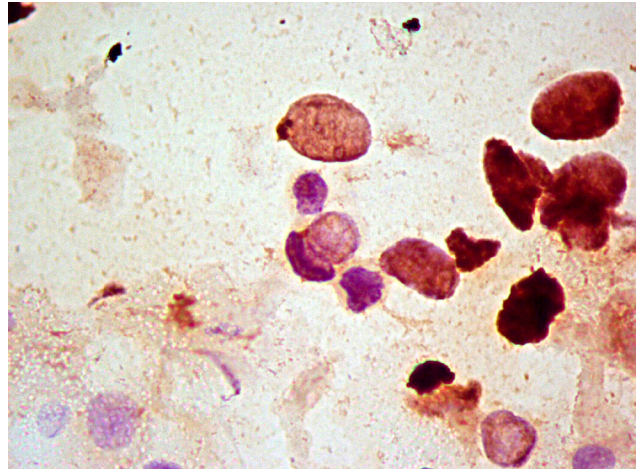


Рис. 2. Экспрессия NuMA1 в атипичных клетках CIN2. Иммунопероксидазное окрашивание. Ув.  $\times 400$   
Fig. 2. Expression NuMA1 in atypical cells CIN2. Immunoperoxidase staining.  $\times 400$

При интраэпителиальном раке в обоих случаях экспрессия NuMA1 и L1 в атипичных клетках отсутствовала.

60 больным дисплазиями и 2 пациенткам с *Ca in situ* провели электроэксизию шейки матки. 116 женщин с экспрессией атипичными клетками L1 и NuMA1 или 1 из 2 белков оставили для динамического наблюдения с контрольными осмотрами и забором материала для морфологического исследования. Из них 72 женщины наблюдали свыше 24 месяцев, 6 женщин — 24 месяца, 9 женщин — 21 месяц, 1 женщину — 18 месяцев, 7 женщин — 15 месяцев, 4 женщины — 12 месяцев, 9 женщин — 9 месяцев, 7 женщин — 6 месяцев, 1 женщину — до 3 месяцев.

В 43 (81,13 %) из 53 исследований CIN с ядерной экспрессией L1 и NuMA1 отметили регресс

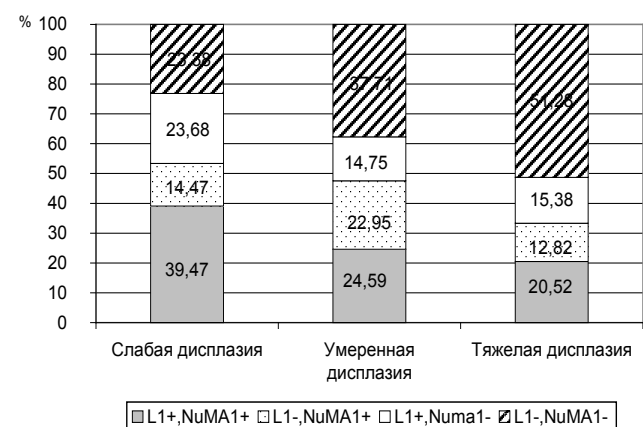


Рис. 3. Распределение случаев CIN с положительными и отрицательными реакциями атипичных клеток на антитела к L1 ВПЧ, NuMA1

Fig. 3. Distribution of CIN with positive and negative reactions of atypical cells to antibodies to L1 HPV, NuMA1

Таблица 1

Частота экспрессии L1 и NuMA1 атипичными клетками при CIN

Table 1

The frequency of expression L1 and NuMA1 by atypical cells at CIN

Форма CIN		Число случаев экспрессии белков	
		L1	NuMA1
Слабая дисплазия	абс.	48	41
	%	63,16	53,95
Умеренная дисплазия	абс.	24	29
	%	39,34	47,54
Тяжелая дисплазия	абс.	14	13
	%	35,9	33,33

дисплазии (табл. 2). Из них плоский эпителий шейки матки восстановил типичное строение у 26 женщин со слабой, у 9 — с умеренной и у 2 — с тяжелой дисплазией спустя 12 месяцев, у 4 больных с умеренной дисплазией и у 2 с тяжелой дисплазией — через 9 месяцев. В 7 (13,21 %) исследованиях CIN с экспрессией обоих белков отметили сохранение степени тяжести поражения плоского эпителия. Из них в 1 случае CIN1, в 2 CIN2 и в 4 CIN3 в течение 12 месяцев наблюдали изменения эпителия, выявленные первично. В 3 (5,66 %) случаях CIN с продукцией в атипичных клетках обоих протеинов обнаружили прогрессирование дисплазии. Из них в 2 случаях CIN1 через 6 месяцев выявили критерии умеренной дисплазии, в 1 случае CIN2 через 9 месяцев — тяжелую дисплазию.

В 22 (73,33 %) из 30 наблюдений CIN с экспрессией только NuMA1 в ядрах атипичных клеток плоский эпителий восстановил типичное строение (табл. 2). Из них отсутствие атипии обнаружили спустя 6 месяцев у 8 больных CIN1 и через 12 месяцев — у 11 CIN2 и у 3 CIN3. В остальных 8 (26,67 %) исследованиях в срок до 24 месяцев явления атипии были сохранены.

В 15 (45,45 %) из 33 случаев CIN с экспрессией только L1 в ядрах атипичных клеток отметили

регресс клеточных поражений (табл. 2). Из них у 10 пациенток CIN1, у 2 с умеренной и у 2 с тяжелой дисплазией спустя 12 месяцев обнаружены критерии эктопии, а у 2 больных умеренной дисплазией и у 1 с тяжелой дисплазией спустя 12 месяцев — критерии CIN1. В 16 (48,48 %) исследованиях ЦИН с положительной реакцией на антитела к L1 первично выявленные изменения плоского эпителия были сохранены в срок от 6 до 30 месяцев. В 2 (6,06 %) случаях у больных CIN2 через 9 месяцев обнаружены критерии тяжелой дисплазии.

Всего из 116 случаев CIN с ядерной экспрессией L1 и NuMA1 или одного из этих белков регресс дисплазии отметили в 80 (68,97 %), персистенцию — в 31 (26,72 %), прогрессирование — в 5 (4,31 %) случаях.

Выявленная нами продукция белка L1 в пораженном ВПЧ эпителии шейки матки свидетельствовала о жизненном цикле папилломавируса, целью которого является производство максимального количества вирионов. Для осуществления этого необходима продукция вирусной ДНК и капсидных белков. Репликация ДНК ВПЧ происходит одновременно с синтезом ДНК пораженной папилломавирусом клетки в S-фазе ее цикла [6], а запуск транскрипции капсидных генов ВПЧ [42] осуществляется в ранней профазе, которую

Таблица 2

Развитие CIN при разных вариантах экспрессии L1 и NuMA1 атипичными клетками

Table 2

Genesis CIN at different variants of expression L1 and NuMA1 by atypical cells

Исход CIN		Число случаев экспрессии белков			Всего
		L1 «+», NuMA1 «+»	L1 «-», NuMA1 «+»	L1 «+», NuMA1 «-»	
Регресс	абс.	43	22	15	80
	%	81,13	73,33	45,45	68,97
Персистенция	абс.	7	8	16	31
	%	13,21	26,67	48,48	26,72
Прогрессирование	абс.	3	0	2	5
	%	5,66	0	6,06	4,31
Всего		53	30	33	116

клетка может инициировать, только получив информацию о завершении репликации ДНК. Если в интерфазе возникают повреждения ДНК, то для их репарации клеточный цикл может приостанавливаться, а при невозможности их исправления наступает апоптоз. Закончив свой цикл, клетка дифференцируется, в процессе чего осуществляется синтез капсидных белков и формирование вирионов в многослойном плоском эпителии [6]. В наших исследованиях уменьшение встречаемости экспрессии L1 в атипичных клетках диспластического участка с морфологическими критериями нарушения созревания и дифференцировки на разных уровнях стратифицированного эпителия коррелировало ( $p = 0,025$ ) с нарастанием тяжести интраэпителиального поражения шейки матки, что согласуется с литературными данными [14, 34, 43]. При этом выявление продукции L1 ВПЧ в случаях CIN1 (табл. 1) было ниже, а в случаях тяжелой дисплазии — выше показателей, полученных другими исследователями [34]. При CIN2 частота выявления экспрессии L1 ВПЧ (табл. 1) была сопоставима с результатами других авторов [34, 44], которые этот белок обнаружили в 39–41,81 % случаев. Исходя из критериев жизненного цикла ВПЧ [6], обнаруженный нами синтез его капсидных белков, по-видимому, был обусловлен сохранением пораженными папилломавирусом атипичными клетками свойств дифференцировки, механизм которой до сих пор изучен недостаточно.

Полученная нами частота выявления регресса CIN в 58 (67,44 %) и персистенции в 23 (26,74 %) L1-положительных случаях (в сочетании с экспрессией NuMA1 или без нее) превысила литературные данные, а показатели прогрессии CIN, отмечаемой в 5 (5,81 %) L1-положительных случаях, наоборот, им уступали [14, 16].

Выявленное в наших исследованиях снижение частоты экспрессии NuMA1 в атипичных клетках (табл. 1) характеризовало ослабление контроля клеточного цикла через угнетение продукции семейства генов *p53* и *p21* [39]. Изменение продукции NuMA1, по-видимому, сыграло свою роль и в нарушении асимметричного митоза стволовых клеток эпителия шейки матки [38, 45–47], затронув сегрегацию клеточной и вирусной ДНК [48, 49], что, вероятно, послужило причиной формирования диспластических участков в многослойном плоском эпителии. Провести сравнительный анализ собственных наблюдений экспрессии NuMA1 при CIN с литературными данными не представляется возможным в связи с отсутствием последних. Оцениваемые с позиций сохранения контроля над клеточным циклом NuMA1-положительные CIN завершились в наших исследованиях или регрессом, или длительной персистенцией (табл. 2).

Наиболее благоприятный исход отмечен в случаях CIN с сохранением контроля над клеточным

циклом и способностью пораженных клеток к дальнейшей дифференцировке. Регресс случаев CIN с сочетанной экспрессией белков L1 и NuMA1 атипичными клетками превышал его численность в L1-положительных дисплазиях ( $p = 0,012$ ), а персистенция, наоборот, им уступала (табл. 2). Показатели прогрессирования CIN (табл. 2) были сопоставимы ( $p < 0,05$ ) с аналогичными случаями CIN с экспрессией только белка L1 и, по-видимому, могли быть обусловлены папилломавирусной инфекцией. Если регресс и персистенция CIN в наших исследованиях объяснимы сохранением атипичными клетками контроля клеточного цикла и их способности к последующей дифференцировке, то механизм прогрессии CIN требует дальнейшего изучения.

Наступление регресса CIN в сроки от 6 до 12 месяцев согласуется с литературными данными [9–11, 14]. Длительность персистенции CIN от 12 до 30 месяцев и выявление прогрессирования в сроки от 6 до 9 месяцев были сопоставимы [14] или наступили ранее временных параметров, изложенных в других исследованиях [9, 11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интраэпителиальные неоплазии шейки матки могут завершаться регрессом, персистенцией или прогрессированием. При экспрессии атипичными клетками L1 и NuMA1 отмечено наибольшее число — 81,13 % — случаев регресса CIN. При экспрессии атипичными клетками только белка NuMA1 CIN завершились регрессом или длительной персистенцией. Течение CIN с экспрессией белка L1 характеризовалось наибольшими показателями персистенции и прогрессирования, отмечаемыми, соответственно, в 48,48 и 6,06 % случаев. Регресс и прогрессирование CIN с экспрессией L1 и NuMA1 или одного из этих белков впервые обнаружены спустя 6 месяцев после выявления клеточных изменений.

## Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

## Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

## Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

## Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Nayir T., Okyay R. A., Nazlican E. et al. Cervical Cancer Screening in an Early Diagnosis and Screening Center in Mersin, Turkey // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2015. – Vol. 16, № 16. – P. 6909–6912.
2. Lorenzi A. T., Syrjänen K. J., Longatto-Filho A. Human papillomavirus (HPV) screening and cervical cancer burden. A Brazilian perspective // *Viol. J.* – 2015. – Vol. 12. – P. 112. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0342-0>.
3. Disparities in Cervical Cancer Incidence and Mortality: Can Epigenetics Contribute to Eliminating Disparities? / R. L. Maguire, A. C. Vidal, S. K. Murphy, C. Hoyo // *Adv. Cancer Res.* – 2017. – Vol. 133. – P. 129–156. Doi: <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2016.09.001>.
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена, 2017. – 236 с.
5. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – Vol. 2, № 5. – P. 342–350. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrc798>.
6. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer // *Clin. Sci. (Lond.)*. – 2006. – Vol. 110. – P. 525–541. Doi: <https://doi.org/10.1042/CS20050369>.
7. Jung S. H., Choi Y. J., Kim M. S. et al. Progression of naive intraepithelial neoplasia genome to aggressive squamous cell carcinoma genome of uterine cervix // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 4385–4393. Doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2981>.
8. Santesso N., Mustafa R. A., Schünemann H. J. et al. World Health Organization Guidelines for treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2–3 and screen-and-treat strategies to prevent cervical cancer // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 132, № 3. – P. 252–258. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.07.038>.
9. Moscicki A.-B., Ma Y., Wibbelsman C. et al. Rate of and Risks for Regression of CIN-2 in adolescents and young women // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 116, № 6. – P. 1373–1380. Doi: <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181fe777f>.
10. Munro A., Powell R. G., A. Cohen P. et al. Spontaneous regression of CIN2 in women aged 18–24 years: a retrospective study of a state-wide population in Western Australia // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2016. – Vol. 95, № 3. – P. 291–298. Doi: <https://doi.org/10.1111/aogs.12835>.
11. D'Ottaviano M. G. L., Discacciati M. G., Andreoli M. A. et al. HPV 16 Is Related to the Progression of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2: A Case Series // *Obstet. Gynecol. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 328909. Doi: <https://doi.org/10.1155/2013/328909>. Article ID: 328909.
12. Costa C., Espinet B., Molina M. A. et al. Analysis of gene status in cervical dysplastic lesions and squamous cell carcinoma using tissue microarrays // *Histol. Histopathology.* – 2009. – Vol. 24, № 7. – P. 821–829. Doi: <https://doi.org/10.14670/HH-24.821>.
13. Киселев В. И., Муйжнек Е. Л. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые знания – новые возможности. – М., 2012. – С. 19.
14. HPV vaccine protein L1 predicts disease outcome of high-risk HPV+ early squamous dysplastic lesions / H. Griesser, H. Sander, C. Walczak, R. A. Hilfrich // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol. 132, № 6. – P. 840–845. Doi: <https://doi.org/10.1309/AJPCU0HBFFFGDTV>.
15. Frega A., Verrone A., Manzara F. et al. Expression of E6/E7 HPV-DNA, HPV-mRNA and colposcopic features in management of CIN2/3 during pregnancy // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20, № 20. – P. 4236–4242.
16. Stemberger-Papic S., Vrdoljak-Mozetic D., Ostojic D. V. et al. Evaluation of the HPV L1 capsid protein in prognosis of mild and moderate dysplasia of the cervix uteri // *Coll. Antropol.* – 2010. – Vol. 34, № 2. – P. 419–423.
17. Jaisamrarn U., Castellsagué X., Garland S. M. et al. Natural History of Progression of HPV Infection to Cervical Lesion or Clearance: Analysis of the Control Arm of the Large, Randomised PATRICIA Study // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. e79260. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079260>.
18. Arias-Pulido H., Peyton C. L., Joste N. E. et al. Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, № 5. – P. 1755–1762. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.44.5.1755-1762.2006>.
19. Wang L., Shen H., Feng B. et al. Reduction in the copy number and expression level of the recurrent human papillomavirus integration gene fragile histidine triad (FHIT) predicts the transition of cervical lesions // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 4. – P. e0175520. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175520>.
20. Xue Y., Bellanger S., Zhang W. et al. HPV16 E2 is an immediate early marker of viral infection, preceding E7 expression in precursor structures of cervical carcinoma // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, № 13. – P. 5316–5325. Doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3789>.
21. Chang M. S., Oh S., Jung E. J. et al. High-risk human papillomavirus load and biomarkers in cervical intraepithelial neoplasia and cancer // *APMIS.* – 2014. – Vol. 122, № 5. – P. 427–436. Doi: <https://doi.org/10.1111/apm.12163>.
22. Luo H., Belinson J. L., Du H. et al. Evaluation of Viral Load as a Triage Strategy With Primary High-Risk Human Papillomavirus Cervical Cancer Screening // *J. Low. Genit. Tract Dis.* – 2017. – Vol. 21, № 1. – P. 12–16. Doi: <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000277>.
23. Depuydt C. E., Jonckheere J., Berth M. et al. Serial type-specific human papillomavirus (HPV) load measurement allows differentiation between regressing cervical lesions and serial virion productive transient infections // *Cancer Med.* – 2015. – Vol. 4, № 8. – P. 1294–1302. Doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.473>.
24. Zhou W. Q., Sheng Q. Y., Sheng Y. H. et al. Expressions of survivin, P16(INK4a), COX-2, and Ki-67 in cervical cancer progression reveal the potential clinical application // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2015. – Vol. 36, № 1. – P. 62–68.
25. Bergeron C., Ikenberg H., Sideri M. et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results // *Cancer Cytopathol.* – 2015. – Vol. 123, № 6. – P. 373–381. Doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.21542>.
26. Goel M. M., Mehrotra A. Immunohistochemical expression of MIB-1 and PCNA in precancerous and cancerous lesions of uterine cervix // *Indian J. Cancer.* – 2013. – Vol. 50, № 3. – P. 200–205. Doi: <https://doi.org/10.4103/0019-509X.118729>.
27. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-associated KIAA0101/PAF15 protein is a cell cycle-regulated anaphase-promoting complex/cyclosome substrate / M. J. Emanuele, A. Ciccia, A. E. Elia, S. J. Elledge // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2011. – Vol. 108, № 24. – P. 9845–9850. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1106136108>.
28. Shukla S., Dass J., Pujani M. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18 // *South Asian J. Cancer.* – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 48–53. Doi: <https://doi.org/10.4103/2278-330X.126524>.
29. Expression of P16 in high-risk human papillomavirus related lesions of the uterine cervix in a government hospital, Malaysia / P. Krishnappa, I. B. Mohamad, Y. J. Lin, A. Barua //

Diagn. Pathol. – 2014. – Vol. 9. – P. 202. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13000-014-0202-z>.

30. Stefanidis K., Pergialiotis V., Christakis D. et al. OCT-4 and DAZL expression in precancerous lesions of the human uterine cervix // J. Obstet. Gynaecol. Res. – 2015. – Vol. 41, № 5. – P. 763–767. Doi: <https://doi.org/10.1111/jog.12640>.

31. Canham M., Charsoy C., Stewart J. et al. Increased cycling cell numbers and stem cell associated proteins as potential biomarkers for high grade human papillomavirus+ve pre-neoplastic cervical disease // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, № 12. – P. e115379. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115379>.

32. Vasilescu F., Ceaușu M., Tănase C. et al. P53, p63 and Ki-67 assessment in HPV-induced cervical neoplasia // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2009. – Vol. 50, № 3. – P. 357–361.

33. Mulvany N. J., Allen D. G., Wilson S. M. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies // Pathology. – 2008. – Vol. 40, № 4. – P. 335–344. Doi: <https://doi.org/10.1080/00313020802035907>.

34. Xiao W., Bian M., Ma L. et al. Immunochemical analysis of human papillomavirus L1 capsid protein in liquid-based cytology samples from cervical lesions // Acta Cytol. – 2010. – Vol. 54, № 5. – P. 661–667. Doi: <https://doi.org/10.1159/000325229>.

35. Schmidt D. Precancerous lesions of the cervix. Biomarkers in cytological diagnosis // Pathologie. – 2011. – Vol. 32, № 6. – P. 484–490.

36. Ungureanu C., Socolov D., Anton G. et al. Immunocytochemical expression of p16<sup>INK4a</sup> and HPV L1 capsid proteins as predictive markers of the cervical lesions progression risk // Rom. J. of Morphol. and Embryol. – 2010. – Vol. 51, № 3. – P. 497–503.

37. Genomic instability and cancer: lessons learned from human papillomavirus / N. Korzeniewski, N. Spardy, A. Duensing, S. Duensing // Cancer Lett. – 2011. – Vol. 305, № 2. – P. 113–122. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.10.013>.

38. Nguyen C. L., Mürger K. Human papillomavirus E7 protein deregulates mitosis via an association with nuclear mitotic apparatus protein 1 // J. Virol. – 2009. – Vol. 83, № 4. – P. 1700–1707. Doi: <https://doi.org/10.1128/JVI.01971-08>.

39. Kivinen K., Taimen P., Kallajoki M. Silencing of Nuclear Mitotic Apparatus protein (NuMA) accelerates the apoptotic disintegration of the nucleus // Apoptosis. – 2010. – Vol. 15, № 8. – P. 936–945. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10495-010-0506-8>.

40. Apgar B. S., Zoschnick L., Wright T. C. The 2001 Bethesda system terminology // Am. fam. physic. – 2003. – Vol. 68, № 15. – P. 1992–1998.

41. Tumours of the uterine cervix // WHO Classification of tumours of female reproductive organs / R. J. Kurman, M. L. Carcangiu, C. S. Herrington, R. H. Young, eds. – Lyon: IARC, 2014. – P. 169–206.

42. Pyeon D., Pearce S. M., Lank S. M. et al. Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression // PLoS. Pathog. – 2009. – Vol. 5, № 2. – e1000318. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000318>.

43. Diagnostic value of p16INK4A, Ki-67, and human papillomavirus L1 capsid protein immunochemical staining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens / L. Yu, L. Wang, J. Zhong, S. Chen // Cancer Cytopathol. – 2010. – Vol. 118, № 1. – P. 47–55. Doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.20061>.

44. Correlation of HPV16 L1 capsid protein expression in cervical dysplasia with HPV16 DNA concentration, HPV16 E6\*1 mRNA and histologic outcome / S. Kösel, S. Burggraf, W. Engelhardt, B. Olgemöller // Acta Cytol. – 2009. – Vol. 53, № 4. – P. 396–401. Doi: <https://doi.org/10.1159/000325339>.

45. Poulson N. D., Lechler T. Robust control of mitotic spindle orientation in the developing epidermis // J. Cell Biol. – 2010. – Vol. 191, № 5. – P. 915–922. Doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.201008001>.

46. Vidi P. A., Chandramouly G., Gray M. et al. Interconnected contribution of tissue morphogenesis and the nuclear protein NuMA to the DNA damage response // J. Cell Sci. – 2012. – Vol. 125 (Pt 2). – P. 350–361. Doi: <https://doi.org/10.1242/jcs.089177>.

47. Vega S. L., Liu E., Arvind V. et al. High-content image informatics of the structural nuclear protein NuMA parses trajectories for stem/progenitor cell lineages and oncogenic transformation // Exp. Cell Res. – 2017. – Vol. 351, № 1. – P. 11–23. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.12.018>.

48. Visochek L., Castiel A., Mittelman L. et al. Exclusive destruction of mitotic spindles in human cancer cells // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 13. – P. 20813–20824. Doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15343>.

49. Ohata H., Miyazaki M., Otomo R. et al. NuMA is required for the selective induction of p53 target genes // Mol. Cell. Biol. – 2013. – Vol. 33, № 12. – P. 2447–2457. Doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.01221-12>.

## REFERENCES

1. Nayir T., Okyay R. A., Nazlican E., Yesilyurt H., Akbaba M., İlhan B., Kemik A. Cervical Cancer Screening in an Early Diagnosis and Screening Center in Mersin, Turkey. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(16):6909–6912.

2. Lorenzi A. T., Syrjänen K. J., Longatto-Filho A. Human papillomavirus (HPV) screening and cervical cancer burden. A Brazilian perspective. Virol. J. 2015;12:112. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0342-0>.

3. Maguire R. L., Vidal A. C., Murphy S. K., Hoyo C. Disparities in Cervical Cancer Incidence and Mortality: Can Epigenetics Contribute to Eliminating Disparities? Adv Cancer Res. 2017;133:129–156. Doi: <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2016.09.001>.

4. Kaprin A. D., Starinskiy V. V., Petrova G. V., eds. Condition of the oncological help to the population of Russia in 2016. Moscow, MNIOI im. P. A. Gertsena, 2017:236. (In Russ.).

5. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat. Rev. Cancer. 2002;2(5):342–350. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrc798>.

6. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clin. Sci. (Lond.). 2006;110:525–541. Doi: <https://doi.org/10.1042/CS20050369>.

7. Jung S. H., Choi Y. J., Kim M. S., Baek I. P., Lee S. H., Lee A. W., Hur S. Y., Kim T. M., Lee S. H., Chung Y. J. Progression of naive intraepithelial neoplasia genome to aggressive squamous cell carcinoma genome of uterine cervix. Oncotarget. 2015;6(6):4385–4393. Doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2981>.

8. Santesso N., Mustafa R. A., Schünemann H. J., Arbyn M., Blumenthal P. D., Cain J., Chirenje M., Denny L., De Vuyst H., Eckert L. O., Forhan S. E., Franco E. L., Gage J. C., Garcia F., Herrero R., Jeronimo J., Lu E. R., Luciani S., Quek S. C., Sankaranarayanan R., Tsu V., Broutet N.; Guideline Support Group. World Health Organization Guidelines for treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2-3 and screen-and-treat strategies to prevent cervical cancer. Int J Gynaecol Obstet. 2016 Mar;132(3):252–258. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.07.038>.

9. Moscicki A.-B., Ma Y., Wibbelsman C., Darragh T. M., Powers A., Farhat S., Shiboski S. Rate of and Risks for Regression of CIN-2 in adolescents and young women. Obstet Gynecol. 2010 Dec;116(6):1373–1380. Doi: <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181fe777f>.



10. Munro A., Powell R. G., A Cohen P., Bowen S., Spilsbury K., O'Leary P., Semmens J. B., Codde J., Williams V., Steel N., Leung Y. Spontaneous regression of CIN2 in women aged 18–24 years: a retrospective study of a state-wide population in Western Australia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 Mar;95(3):291–298. Doi: <https://doi.org/10.1111/aogs.12835>.
11. D'Ottaviano M. G. L., Discacciati M. G., Andreoli M. A., Costa M. C., Termini L., Rabelo-Santos S. H., Villa L. L., Zeferino L. C. HPV 16 Is Related to the Progression of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2: A Case Series. *Obstet Gynecol Int.* 2013;2013:328909. Doi: <https://doi.org/10.1155/2013/328909>.
12. Costa C., Espinet B., Molina M. A., Salgado R., Salido M., Baró T., Fusté P., Mancebo G., Carreras R., Solé F., Serrano S., Alameda F. Analysis of gene status in cervical dysplastic lesions and squamous cell carcinoma using tissue microarrays. *Histol. Histopathology.* 2009;24(7):821–829. Doi: <https://doi.org/10.14670/HH-24.821>.
13. Kiselev V. I., Mujzhnek E. L. Molecular mechanisms of development of dysplasia of cervix uteri – new opportunities. Moscow, 2012:19. (In Russ.).
14. Griesser H., Sander H., Walczak C., Hilfrich R. A. HPV vaccine protein L1 predicts disease outcome of high-risk HPV+ early squamous dysplastic lesions. *Am. J. Clin. Pathol.* 2009;132(6):840–845. Doi: <https://doi.org/10.1309/AJPCPU0HBFFFGDVT>.
15. Frega A., Verrone A., Manzara F., Schimberni M., Catalano A., Milazzo G. N., Marziani R., Cozza G., Bianchi P., French D., Sesti F., Caserta D. Expression of E6/E7 HPV-DNA, HPV-mRNA and colposcopic features in management of CIN2/3 during pregnancy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(20):4236–4242.
16. Stemberger-Papic S., Vrdolijak-Mozetic D., Ostojic D. V., Rubesa-Mihaliyevic R., Manestar M. Evaluation of the HPV L1 capsid protein in prognosis of mild and moderate dysplasia of the cervix uteri. *Coll. Antropol.* 2010;34(2):419–423.
17. Jaisamrarn U., Castellsagué X., Garland S. M., Naud P., Palmroth J., Del Rosario-Raymundo M. R., Wheeler C. M., Salmerón J., Chow S.-N., Apter D., Teixeira J. C., Skinner S. R., Hedrick J., Szarewski A., Romanowski B., Aoki F. Y., Schwarz T. F., Poppe W. A. J., Bosch F. X., de Carvalho N. S., Gernar M. J., Peters K., Paavonen J., Bozonnet M.-C., Descamps D., Struyf F., Dubin G. O., Rosillon D., Baril L., HPV PATRICIA Study Group, Cameron D. W. Natural History of Progression of HPV Infection to Cervical Lesion or Clearance: Analysis of the Control Arm of the Large, Randomised PATRICIA Study. *PLoS One.* 2013;8(11):e79260. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079260>.
18. Arias-Pulido H., Peyton C. L., Joste N. E., Vargas H., Wheeler C. M. Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer. *J Clin Microbiol.* 2006;44(5):1755–1762. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.44.5.1755-1762.2006>.
19. Wang L., Shen H., Feng B., Zhu D., Yu L., Tian X., Ren C., Gao C., Li X., Ma D., Hu Z., Wang H. Reduction in the copy number and expression level of the recurrent human papillomavirus integration gene fragile histidine triad (FHIT) predicts the transition of cervical lesions. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175520. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175520>.
20. Xue Y., Bellanger S., Zhang W., Lim D., Low J., Lunny D., Thierry F. HPV16 E2 is an immediate early marker of viral infection, preceding E7 expression in precursor structures of cervical carcinoma. *Cancer Res.* 2010;70(13):5316–5325. Doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3789>.
21. Chang M. S., Oh S., Jung E. J., Park J. H., Jeon H. W., Lee T. S., Kim J. H., Choi E., Byeon S. J., Park I. A. High-risk human papillomavirus load and biomarkers in cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *APMIS.* 2014;122(5):427–436. Doi: <https://doi.org/10.1111/apm.12163>.
22. Luo H., Belinson J. L., Du H., Liu Z., Zhang L., Wang C., Qu X., Pretorius R. G., Wu R. Evaluation of Viral Load as a Triage Strategy With Primary High-Risk Human Papillomavirus Cervical Cancer Screening. *J Low Genit Tract Dis.* 2017 Jan;21(1):12–16. Doi: <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000277>.
23. Depuydt C. E., Jonckheere J., Berth M., Salembier G. M., Vereecken A. J., Bogers J. J. Serial type-specific human papillomavirus (HPV) load measurement allows differentiation between regressing cervical lesions and serial virion productive transient infections. *Cancer Med.* 2015;4(8):1294–1302. Doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.473>.
24. Zhou W. Q., Sheng Q. Y., Sheng Y. H., Hou W. J., Xu G. X., Wu Y. M., Lu H. Expressions of survivin, P16(IN-K4a), COX-2, and Ki-67 in cervical cancer progression reveal the potential clinical application. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2015;36(1):62–68.
25. Bergeron C., Ikenberg H., Sideri M., Denton K., Bogers J., Schmidt D., Alameda F., Keller T., Rehm S., Ridder R., PALMS Study Group. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(6):373–381. Doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.21542>.
26. Goel M. M., Mehrotra A. Immunohistochemical expression of MIB-1 and PCNA in precancerous and cancerous lesions of uterine cervix. *Indian J Cancer.* 2013;50(3):200–205. Doi: <https://doi.org/10.4103/0019-509X.118729>.
27. Emanuele M. J., Ciccio A., Elia A. E., Elledge S. J. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-associated KIAA0101/PAF15 protein is a cell cycle-regulated anaphase-promoting complex/cyclosome substrate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(24):9845–9850. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1106136108>.
28. Shukla S., Dass J., Pujani M. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18. *South Asian J Cancer.* 2014;3(1):48–53. Doi: <https://doi.org/10.4103/2278-330X.126524>.
29. Krishnappa P., Mohamad I. B., Lin Y. J., Barua A. Expression of P16 in high-risk human papillomavirus related lesions of the uterine cervix in a government hospital, Malaysia. *Diagn. Pathol.* 2014;9:202. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13000-014-0202-z>.
30. Stefanidis K., Pergialiotis V., Christakis D., Patata J., Stefanidi D., Loutradis D. OCT-4 and DAZL expression in precancerous lesions of the human uterine cervix. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015;41(5):763–767. Doi: <https://doi.org/10.1111/jog.12640>.
31. Canham M., Charsou C., Stewart J., Moncur S., Hoodless L., Bhatia R., Cong D., Cubie H., Busby-Earle C., Williams A., McLoughlin V., Campbell J. D., Cuschieri K., Howie S. Increased cycling cell numbers and stem cell associated proteins as potential biomarkers for high grade human papillomavirus+ve pre-neoplastic cervical disease. *PLoS One.* 2014;9(12):e115379. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115379>.
32. Vasilescu F., Ceașu M., Tănase C., Stănculescu R., Vlădescu T., Ceașu Z. P53, p63 and Ki-67 assessment in HPV-induced cervical neoplasia. *Rom J Morphol Embryol.* 2009;50(3):357–361.
33. Mulvaney N. J., Allen D. G., Wilson S. M. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies. *Pathology.* 2008 Jun;40(4):335–344. Doi: <https://doi.org/10.1080/00313020802035907>.
34. Xiao W., Bian M., Ma L., Liu J., Chen Y., Yang B., Wu Q. Immunochemical analysis of human papillomavirus L1 capsid

protein in liquid-based cytology samples from cervical lesions. *Acta Cytol.* 2010;54(5):661–667. Doi: <https://doi.org/10.1159/000325229>.

35. Schmidt D. Precancerous lesions of the cervix. Biomarkers in cytological diagnosis. *Pathologe.* 2011;32(6):484–490.

36. Ungureanu C., Socolov D., Anton G., Mihailovici M. S., Teleman S. Immunocytochemical expression of p16<sup>INK4a</sup> and HPV L1 capsid proteins as predictive markers of the cervical lesions progression risk. *Rom. J. of Morphol. and Embryol.* 2010;51(3):497–503.

37. Korzeniewski N., Spardy N., Duensing A., Duensing S. Genomic instability and cancer: lessons learned from human papillomavirus. *Cancer Lett.* 2011;305(2):113–122. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.10.013>.

38. Nguyen C. L., Mürger K. Human papillomavirus E7 protein deregulates mitosis via an association with nuclear mitotic apparatus protein 1. *J. Virol.* 2009;83(4):1700–1707. Doi: <https://doi.org/10.1128/JVI.01971-08>.

39. Kivinen K., Taimen P., Kallajoki M. Silencing of Nuclear Mitotic Apparatus protein (NuMA) accelerates the apoptotic disintegration of the nucleus. *Apoptosis.* 2010;15(8):936–945. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10495-010-0506-8>.

40. Apgar B. S., Zoschnick L., Wright T. C., Jr. The 2001 Bethesda system terminology. *Am. fam. physic.* 2003;68(15):1992–1998.

41. Kurman R. J., Carcangiu M. L., Herrington C. S., Young R. H., eds. Tumours of the uterine cervix. WHO Classification of tumours of female reproductive organs. Lyon, IARC, 2014:169–206.

42. Pyeon D., Pearce S. M., Lank S. M., Ahlquist P., Lambert P. F. Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. *PloS. Pathog.* 2009;5(2):e1000318. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000318>.

43. Yu L., Wang L., Zhong J., Chen S. Diagnostic value of p16INK4A, Ki-67, and human papillomavirus L1 capsid

protein immunochemical staining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens. *Cancer Cytopathol.* 2010;118(1):47–55. Doi: <https://doi.org/10.1002/ency.20061>.

44. Kösel S., Burggraf S., Engelhardt W., Olgemöller B. Correlation of HPV16 L1 capsid protein expression in cervical dysplasia with HPV16 DNA concentration, HPV16 E6\*I mRNA and histologic outcome. *Acta Cytol.* 2009 Jul-Aug;53(4):396–401. Doi: <https://doi.org/10.1159/000325339>.

45. Poulson N. D., Lechler T. Robust control of mitotic spindle orientation in the developing epidermis. *J Cell Biol.* 2010;191(5):915–922. Doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.201008001>.

46. Vidi P. A., Chandramouly G., Gray M., Wang L., Liu E., Kim J. J., Roukos V., Bissell M. J., Moghe P. V., Lelièvre S. A. Interconnected contribution of tissue morphogenesis and the nuclear protein NuMA to the DNA damage response. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 2):350–361. Doi: <https://doi.org/10.1242/jcs.089177>.

47. Vega S. L., Liu E., Arvind V., Bushman J., Sung H. J., Becker M. L., Lelièvre S., Kohn J., Vidi P. A., Moghe P. V. High-content image informatics of the structural nuclear protein NuMA parses trajectories for stem/progenitor cell lineages and oncogenic transformation. *Exp Cell Res.* 2017;351(1):11–23. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.12.018>.

48. Visochek L., Castiel A., Mittelman L., Elkin M., Atias D., Golan T., Izraeli S., Peretz T., Cohen-Armon M. Exclusive destruction of mitotic spindles in human cancer cells. *Oncotarget.* 2017;8(13):20813–20824. Doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15343>.

49. Ohata H., Miyazaki M., Otomo R., Matsushima-Hibiya Y., Otsubo C., Nagase T., Arakawa H., Yokota J., Nakagama H., Taya Y., Enari M. NuMA is required for the selective induction of p53 target genes. *Mol Cell Biol.* 2013;33(12):2447–2457. Doi: [10.1128/MCB.01221-12](https://doi.org/10.1128/MCB.01221-12).