

МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ НЕОПЛАЗИИ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ВЫСОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА

В.А. Ершов

СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Исследованы 1044 цервикальных биоптата цитологическим, гистологическим, иммуноморфологическим методами и методом ПЦР. Одним из механизмов цервикального канцерогенеза является повреждение митотического аппарата вследствие ассоциации E7 ВПЧ с NuMA 1, нарушающего распределение хромосом и вирусных ДНК между дочерними клетками, проявляющегося патологическими митозами и интеграцией вирусной ДНК. Нарушение дифференцировки клеток при дисплазиях свидетельствовало об их задержке в премитотических фазах клеточного цикла в отличие от плоскоклеточного рака, клетки которого, завершив митоз, способны к дифференцированию, сопровождаемому нарушением межклеточной адгезии и неоангиогенезом. Генез койлоцитов и клеток лейкоплакии обусловлены поражением ВПЧ базальных клеток.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, интеграция, шейка матки, дисплазия, рак, митоз.

Введение

Согласно современным представлениям цервикальный канцерогенез обусловлен генетическими изменениями пораженной клетки вследствие интеграции ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) в клеточную ДНК. Однако, приводимые в литературных источниках наблюдения неинтегрированных форм ДНК ВПЧ при раке шейки матки [6] свидетельствуют о вероятности иного механизма малигнизации.

С онкогенным действием папилломавируса связывают нарушение регуляции прохождения контрольных точек клеточного цикла G1/S и G2/M [15], обусловленное гиперэкспрессией E6 и E7 ВПЧ, которые, угнетая продукцию клеточных белков семейств p53 и pRb, а также повреждая ядерный белок митотического аппарата — NuMA 1 [11], приводят к нарушению запуска митохондриального пути апоптоза [12]. Возникающая геномная нестабильность вызывает нарушения процесса дифференцировки [3, 14] и адгезии [7] клеток, стимулирует ангиогенез и перестройку стромальных компонентов.

Целью нашего исследования являлось уточнение механизма развития неоплазии при поражении эпителия шейки матки вирусом папилломы человека.

Материалы и методы

Проведен анализ результатов цитологического, иммуноцитохимического, гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов исследования эпителия шейки матки 1044 женщин 18–74 лет, находившихся на обследовании и лечении по поводу цервикальной неоплазии в Городском клиническом онкологическом диспансере Санкт-Петербурга в период с января 2005 г. по декабрь 2013 г.

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

Материал электроэксцизии шейки матки для гистологического исследования готовили по стандартной методике и окрашивали гематоксилином и эозином.

Автор:

Ершов В.А., к.м.н., врач-патологоанатом патологоанатомического отделения СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия.

Адрес для переписки:

Ершов Владимир Анатольевич
198255, Россия, Санкт-Петербург, пр. Ветеранов, 56.
Тел.: (812) 752-93-52 (служебн.). Факс: (812) 376-06-25.
E-mail: goronkod@zdrav.spb.ru

поступила в редакцию 17.04.2014
отправлена на доработку 18.04.2014
принята к печати 05.05.2014

© Ершов В.А., 2014

В 174 случаях проводили иммуноцитохимические, в 337 — иммуногистохимические исследования с использованием системы детекции «Ultra Vision LP Detection System HRP Polymer & Dab Plus Chromogen», Thermo Scientific (США) и моноклональных антител к Ki-67, к p53, к E-кадгерину, к кератину 5, к кератину 10 (Thermo Scientific, США) и моноклональных антител к NuMA 1 (LifeSpanBioSciences Inc., США).

Полученные результаты оценивали в цитологических или гистологических препаратах полукольцевидным способом среди параабзальных, атипичных или опухолевых клеток.

С помощью видеокамеры «Progres C3» в режиме «Measure» $\times 100$ измеряли периметр ядра (ПЯ) и цитоплазмы (ПЦ) всех клеток препарата [5], подсчитывали митотический индекс (МИ), количество клеток с разными фазами митоза и его патологическими изменениями.

Заключения результатов цитологических исследований формулировали в соответствии с классификацией «The Bethesda System for reporting cervical cytologic diagnoses» [4], гистологических исследований — в соответствии с гистологической классификацией ВОЗ [13].

Молекулярно-генетические исследования проводили в лаборатории молекулярной микробиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Во всех случаях выявление, в 277 — генотипирование ДНК ВПЧ, в 87 — определение числа копий генов E2 и E7 ВПЧ 16 генотипа в соскобе цервикального канала проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени на приборе Rotor Gene («Corbett Research», Австралия) с использованием комплектов реагентов ФГУН ЦНИИЭ. Физический статус ДНК ВПЧ 16 генотипа оценивали по соотношению количества вирусных генов E2 и E7 с учетом стандартного отклонения и коэффициента вариации. Расчет степени интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа осуществляли по формуле: $(1 - E2/E7) \times 100\%$, где E2 — число копий гена E2, E7 — число копий гена E7. Степень интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа определяли как низкую (1–33%), умеренную (34–66%), выраженную (67–99%), полную (100%).

Достоверность различий полученных результатов оценивали на основании критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

В результате морфологического исследования у 374 женщин 32–50 лет верифицирована эктопия, у 73 — лейкоплакия шейки матки. У 393 женщин 22–46 лет диагностирована слабая (CIN I, LSIL), у 69 больных 25–54 лет — умеренная (CIN II, HSIL), у 86 пациенток 22–64 лет — тяжелая форма дисплазии (CIN III, HSIL). У 30 женщин 29–61 года верифицирован интраэпителиальный рак (CIN III, Carcinoma

in situ, HSIL), у 19 пациенток 27–74 лет — инвазивный плоскоклеточный рак шейки матки (SCC).

ВПЧ 16 генотипа обнаружен в 108 (38,99%) случаях, его сочетания с папилломавирусами филогенетических групп (ФГГ) $\alpha 9$, $\alpha 7$, $\alpha 6$, $\alpha 5$ — в 84 (30,33%) случаях. Другие генотипы ВПЧ ФГГ $\alpha 9$ выявлены у 36 (12,99%), ФГГ $\alpha 7$ — у 26 (9,39%), сочетания ВПЧ ФГГ $\alpha 9$, $\alpha 7$, $\alpha 6$, $\alpha 5$ — у 23 (8,3%) женщин.

Наиболее часто эписомную форму ДНК ВПЧ 16 генотипа наблюдали при эктопии шейки матки (рис.). При прогрессировании CIN отмечено снижение частоты ее выявления при нарастании встречаемости смешанной формы интеграции, характерной для всех форм неоплазии. При этом количество случаев цервикальных неоплазий с умеренной интеграцией ДНК ВПЧ были сопоставимы между собой, а снижение встречаемости низко интегрированной формы вирусной ДНК сопровождалось ростом числа случаев с полностью интегрированной формой с ее максимальными значениями при инвазивном раке (рис.).

В случаях, ассоциированных с ВПЧ 16 и другими генотипами ФГГ $\alpha 9$, при прогрессировании интраэпителиального поражения шейки матки отмечен рост числа клеток с экспрессией ядерного маркера клеточной пролиферации — белка Ki-67 [1, 8, 9], выявляемого в G1, S, G2 и M фазах клеточного цикла (табл.). В ВПЧ 16-положительных случаях при всех формах CIN наблюдали увеличение экспрессии Ki-67 при нарастании степени интеграции вирусной ДНК. При Ca *in situ* и SCC показатели этого белка при эписомной и полностью интегрированной формах ДНК ВПЧ уступали соответствующим показателям при тяжелой дисплазии, а при низко-, умеренно- и выраженной формах интеграции вирусной ДНК преобладали над соответствующими показателями при всех формах дисплазии (табл.), что, по-видимому, связано с размерами пораженного цервикального эпителия [9].

При HSIL в ВПЧ 16-положительных случаях наблюдали двукратное — с 1,62% при CIN II до 3,56% при CIN III — увеличение МИ, достигающего максимальных показателей при SCC в отличие от поражения эпителия ВПЧ ФГГ $\alpha 9$, $\alpha 7$ и их сочетания, при которых митозы или отсутствовали или обнаружены в единичных клетках (табл.).

Отмечаемые в M фазе клеточного цикла при цервикальных неоплазиях «митотическая задержка» [2], характеризующаяся наличием метафазы в 55,79% клеток при CIN II, в 68,14% — при CIN III, в 80,33% — при SCC; патологические изменения митоза в виде к-митозов, «полой метафазы» и многополюсных митозов в 1,43% клеток при тяжелой дисплазии,

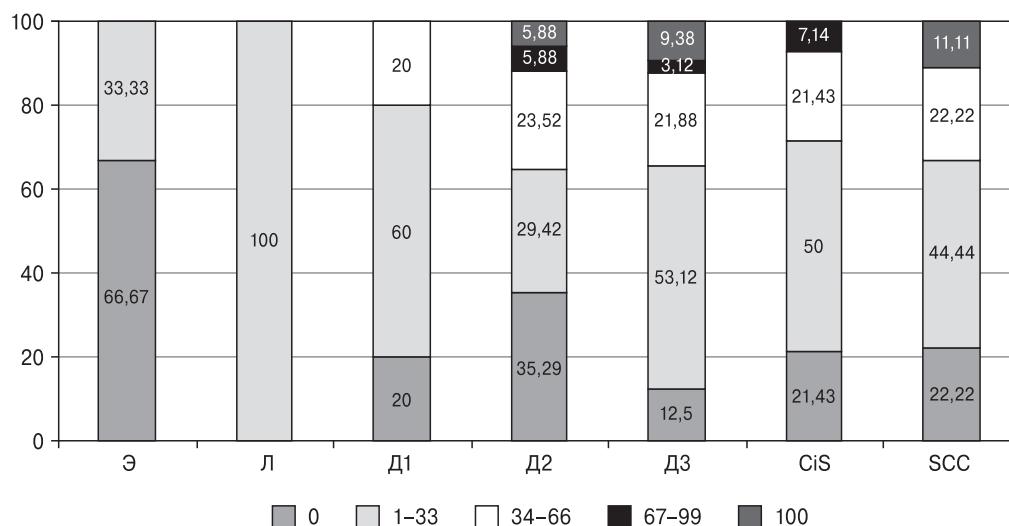


Рисунок. Относительные показатели физического статуса ДНК ВПЧ 16 генотипа в зависимости от тяжести повреждения эпителия шейки матки

в 1,01% — при *Ca in situ*, в 2,28% — при SCC [1]; отсутствие NuMA 1 при митозе вследствие его связи с С-терминалом белка E7 ВПЧ и отсоединения динеина от митотического веретена, приводящее к дефектам выравнивания хромосом в метафазной пластинке [11] и затрудняющее вступление в анафазу; нарушение цитотомии вследствие прерывания митоза в анафазе [2], обуславливающее формирование многоядерных клеток, составляющих от 1,56% от числа койлоцитов при CIN I до 10,55% от количества клеток SCC — все это свидетельствует о нарушениях митотического аппарата, которые, по-видимому, связаны с утратой контроля E2 ВПЧ за передачей эписомной вирусной ДНК дочерним клеткам в процессе деления клетки [14].

Выявленная пролиферативная активность цервикальных неоплазий отмечена на фоне угнетения продукции клеточных протеинов, запускающих митохондриальный путь апоптоза [1, 8, 9, 14, 15].

Из всех ВПЧ 16-позитивных случаев белок p53 обнаружен в единичных клетках в случае *Ca in situ* и SCC с эписомной формой вирусной ДНК и во всех исследованиях низко интегрированной цервикальной неоплазии (табл.), при прогрессировании которой отметили снижение экспрессии p53. При этом, частота выявления этого протеина, наоборот, нарастала с 33,33% случаев при слабой дисплазии до 100% исследований при *Ca in situ* [1]. В остальных ВПЧ 16 позитивных случаях дисплазии и при поражении ВПЧ ФГГ $\alpha 9$ и $\alpha 7$, за исключением ВПЧ 33-позитивных исследований тяжелой дисплазии, реакция на антитела к данному белку была отрицательной (табл.).

Угнетение белком E7 ВПЧ продукции ядерного белка митотического аппарата, необходимой для запуска p53-опосредованного пути

апоптоза [12], в наших наблюдениях подтверждено снижением количества атипичных клеток с экспрессией NuMA 1 при нарастании тяжести CIN, ассоциированной с ВПЧ 16 и другими папилломавирусами ФГГ $\alpha 9$, в отличие от случаев CIN, ассоциированных с ВПЧ ФГГ $\alpha 7$ (табл.).

При CIN I статистически значимых отличий в размерах ядра и цитоплазмы между койлоцитом (ПЯ = $27,88 \pm 2,11 \mu$, ПЦ = $219,12 \pm 5,36 \mu$) и клетками поверхностного слоя плоского эпителия (ПЯ = $24,88 \pm 2,56 \mu$, ПЦ = $224,57 \pm 4,98 \mu$) не обнаружено ($p < 0,01$). При CIN II и CIN III значения ПЯ атипичной клетки ($35,89 \pm 2,66 \mu$) сходны с ПЯ метаплазированной клетки ($33,7 \pm 2,15 \mu$), а размеры ПЦ ($46,89 \pm 1,88 \mu$) — с ПЦ парабазальной клетки ($47,56 \pm 4,33 \mu$) ($p < 0,01$). При SCC отмечено три типа опухолевых клеток. Раковые клетки первой группы по размерам ПЯ ($34,94 \pm 2,56 \mu$) и ПЦ ($45,11 \pm 3,12 \mu$) сопоставимы с параметрами ПЯ ($30,15 \pm 2,68 \mu$) и ПЦ ($43,37 \pm 3,45 \mu$) базальных клеток ($p < 0,01$). Значения ПЦ второго и третьего типа опухолевых клеток, составивших, соответственно, $80,11 \pm 4,05$ и $140,25 \pm 5,56 \mu$ близки размерам ПЦ непосредственно прилежащих к парабазальным ($91,03 \pm 4,18 \mu$) и расположенных над ними ($158,11 \pm 5,99 \mu$) клеток промежуточного слоя ($p < 0,01$). При этом размеры их ПЯ, составившие, соответственно, $46,72 \pm 2,98$ и $85,01 \pm 2,18 \mu$ в 1,5–2,5 раза превышали значения ПЯ ($32,14 \pm 2,55 \mu$) промежуточных клеток паратуморальной зоны ($p < 0,01$).

Маркер резервных клеток — цитokerатин 5 [10] отсутствовал в парабазальных клетках при эктопии и CIN I, ассоциированных с ВПЧ 16 и ВПЧ ФГГ $\alpha 7$, что можно расценить как признак завершения процесса метаплазии. Отрицательная реакция на антитела к этому белку в койлоцитах, независимо от степени повреждения цервикального эпителия, и в участках

ТАБЛИЦА. КРИТЕРИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА ВПЧ-ПОЗИТИВНЫХ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ

Морфология	Маркер	Количество клеток, %							
		ВПЧ 16 и физический статус ДНК, %					ВПЧ $\alpha 9$	ВПЧ $\alpha 7$	ВПЧ $\alpha 9 + \alpha 7$
		0	1–33	34–66	67–99	100			
Эктопия шейки матки	Ki-67	0					0		
	МИ	0,12							
	p53	0							
	NuMA 1								
Слабая дисплазия	Ki-67	0	0,98				2,15	1,01	
	МИ	0	0				0	0	
	p53	0	1,55				0	0	
	NuMA 1		0				25,15	0,12	
Умеренная дисплазия	Ki-67	0	1,72	2,05	3,55		2,62	2,83	
	МИ	0	0,12	0,12	1,62		0,12	0	
	p53	0	1,02	0	0		0	0	
	NuMA 1		0,12				0,12	1,55	
Тяжелая дисплазия	Ki-67	6,15	2,23	1,65	4,16	23,41	4,41	0	1,01
	МИ	3,56	0	0	0		0	0	0
	p53	0	0,55	0	0		0,82		0
	NuMA 1	0,12	0,72	0			0,67		
Carcinoma <i>in situ</i>	Ki-67	0,95	6,76	3,14		3,44	1,49		
	МИ	0	3,46			3,33	0		
	p53	0,3	0,55			0	0		
	NuMA 1	0,12	0			0,12			
Инвазивный рак	Ki-67	0,12	3,22		9,55	0,12		2,58	
	МИ	0	3,02		7,53	0		0,12	
	p53	0,11	0,89		2,69	0		0,18	
	NuMA 1	0,12	0,15		30,33			0	

Примечание. $p \leq 0,05$.

лейкоплакии свидетельствовала в пользу их базальноклеточного генеза. В остальных исследованиях цервикальных неоплазий независимо от степени интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа в отличие от поражений ВПЧ $\alpha 9$, $\alpha 7$ и их сочетания выявили снижение с 10,22% при CIN II до 2,78% при SCC количества клеток с этим цитоплазматическим маркером.

При прогрессировании цервикальной неоплазии независимо от степени интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа отметили уменьшение числа атипичных или опухолевых клеток с экспрессией маркера плоского эпителия — цитокератина 10 с 25,54% при CIN I до 3,11% при SCC [3]. При поражении цервикального эпителия другими генотипами ВПЧ ФГГ $\alpha 9$, а также ФГГ $\alpha 7$ и при их сочетанном поражении подобной корреляции не наблюдали [3].

При прогрессировании ВПЧ 16-позитивной цервикальной неоплазии отметили снижение численности клеток с мембранной экспрессией E-кадгерина [7] с 66,83% при CIN I до 39,26% при SCC при смешанной форме интеграции вирусной ДНК и вплоть до полного ее отсутствия при эпичесомной форме SCC. Уменьшение числа клеток с данным белком со 100% при CIN I до 15,88%

при SCC наблюдали при поражении эпителия ВПЧ ФГГ $\alpha 7$ в отличие от увеличения количества клеток с 50,22% при CIN I до 100% при Ca *in situ*, ассоциированных с ВПЧ ФГГ $\alpha 9$ (за исключением папилломавируса 16 генотипа).

Критерием интенсивности неоплазии при цервикальных неоплазиях служили показатели экспрессии белка Ki-67 в эндотелии сосудов прилежащей стромы, отмечаемой в 33,33% случаев эктопии, в 2,15% — CIN I, в 11,76% — CIN II, в 10,0% — CIN III и в 31,58% случаев SCC.

Таким образом, повреждение митотического аппарата вследствие ассоциации E7 ВПЧ с NuMA 1, приводящее к патологическим изменениям митоза, по-видимому, является одним из механизмов малигнизации цервикального эпителия. Нарушение дифференцировки клеток при дисплазиях свидетельствовало о задержке в премитотических фазах клеточного цикла в отличие от плоскоклеточного рака, клетки которого, завершив митоз, были способны к дифференцированию, сопровождаемому нарушениями межклеточной адгезии и неоплазией. Генез койлоцитов и клеток лейкоплакии обусловлен поражением ВПЧ базальных клеток.

Список литературы

1. Ершов В.А., Чирский В.С., Вязовая А.А., Нарвская О.В., Лисянская А.С. Активность процессов пролиферации и апоптоза при интеграции в цервикальный эпителий ДНК вируса папилломы человека 16 генотипа // Архив патологии. — 2013. — Т. 75, № 2. — С. 16–19.
2. Казанцева И.А. Патология митоза в опухолях человека. — Новосибирск: Наука, 1981. — 114 с.
3. Чирский В.С., Ершов В.А. Нарушение клеточной дифференцировки при высокой степени интраэпителиального повреждения и раке шейки матки, ассоциированных с вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска // Вестник Военно-медицинской академии. — 2013. — № 4 (44). — С. 192–194.

Ссылки 4–15 см. в References (с. 171–172). See References for numbers 4–15 at pp. 171–172.

Infekciã i imunitet (Infection and Immunity)
2014, vol. 4, no. 2, pp. 167–172

SHORT COMMUNICATIONS

MECHANISM OF GENESIS OF NEOPLASIA AT DEFEAT OF CERVICAL EPITHELIUM BY HIGH-RISK HUMAN PAPILLOMAVIRUS

Ershov V.A.

Municipal Clinical Oncology Dispensary, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The 1044 biopsies from HPV-positive cervical epithelia were tested by cytological, histological, immunomorphological methods and PCR. One of the mechanisms of genesis of cervical cancer is damage of mitotic apparatus owing to association E7 HPV with NuMA 1, leads to infringement of distribution of chromosomes and virus DNA between daughter cells, shown pathological mitosis and integration of virus DNA. Infringements of differentiation of cells at CIN testified to their delay in pre-mitotic phases of cellular cycle unlike SCC which cells, having finished mitosis, are capable to the differentiation, accompanied by infringement of intercellular adhesion and neoanginesis. Genesis koilocytes and the cells of leukoplakia it is caused by defeat HPV basal cells.

Key words: HPV, integration, cervix uteri, dysplasia, cancer, mitosis.

Author:

Ershov V.A. ✉, PhD (Medicine), Pathologist of Pathological Department of Municipal Clinical Oncology Dispensary, 198255, Russian Federation, St. Petersburg, Veteranov pr., 56.
Phone: (812) 752-93-52 (office). Fax: (812) 376-06-25.
E-mail: goronkod@zdrav.spb.ru

References

1. Ershov V.A., Chirskiy V.S., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V., Lisyanskaya A.S. Aktivnost' protsessov proliferatsii i apoptoza pri integratsii v tserikal'nyy epiteliy DNK virusa papillomy cheloveka 16 genotipa [Activity of processes of proliferation and apoptosis at integration of DNA of Human papilloma viruses 16 genotype in epithelium of cervix uteri]. *Arkhiv patologii — Archives of Pathology*, 2013, vol. 75, no. 2, pp. 16–19.
2. Kazantseva I.A. Patologiya mitoza v opukholyakh cheloveka [Pathology of mitosis in human tumours]. *Novosibirsk: Nauka*, 1981. 114 p.
3. Chirskiy V.S., Ershov V.A. Narushenie kletochnoy differentsirovki pri vysokoy stepeni intraepitelial'nogo povrezhdeniya i rake sheyki matki, assotsiirovannykh s virusami papillomy cheloveka vysokogo kantserogennogo riska [Infringement of cellular differentiation at high-grade squamous intraepithelial lesion and cervix uteri cancer, associated with high-risk human papilloma viruses]. *Vestnik Voенno-meditsinskoy akademii — Bull. Mil. Medic. Acad.*, 2013, no. 4 (44), pp. 192–194.
4. Apgar B.S., Zoschnick L., Wright Jr T.C. The 2001 Bethesda system terminology. *Am. Fam. Physician*, 2003, vol. 68, no. 15, pp. 1992–1998.
5. Artacho-Pérula E., Roldán-Villalobos R., Salas-Molina J., Vaamonde-Lemos R. Histomorphometry of normal and abnormal cervical samples. *Anal. Quant. Cytol. Histol.*, 1993, vol. 15, no. 4, pp. 290–297.
6. Badaracco G. HPV 16 and HPV 18 in genital tumors: significantly different levels in viral integration and correlation to tumor invasiveness. *J. Med. Virol.*, 2002, vol. 67, pp. 574–582.
7. Caberg J.H., Hubert P.M., Begon D.Y., Herfs M.F., Roncarati P.J., Boniver J.J., Delvenne P.O. Silencing of E7 oncogene restores functional E-cadherin expression in human papillomavirus 16-transformed keratinocytes. *Carcinogenesis*, 2008, vol. 29, no. 7, pp. 1441–1447.
8. Conesa-Zamora P., Doménech-Peris A., Orantes-Casado F.J., Ortiz-Reina S., Sahuquillo-Frías L., Acosta-Ortega J., García-Solano J., Pérez-Guillermo M. Effect of human papillomavirus on cell cycle-related proteins p16, Ki-67, Cyclin D1, p53, and ProEx C in precursor lesions of cervical carcinoma: a tissue microarray study. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2009, vol. 132, no. 3, pp. 378–390.

9. Hanprasertpong J., Tungsinmunkong K., Chichareon S., Wootipoom V., Geater A., Buhachat R., Boonyapipat S. Correlation of p53 and Ki-67 (MIB-1) expressions with clinicopathological features and prognosis of early stage cervical squamous cell carcinomas. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 2010, vol. 36, no. 3, pp. 572–580.
10. Martens J.E., Smedts F.M., Ploeger D., Helmerhorst T.J., Ramaekers F.C., Arends J.W., Hopman A.H. Distribution pattern and marker profile show two subpopulations of reserve cells in the endocervical canal. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2009, vol. 28, no. 4, pp. 381–388.
11. Nguyen C.L., Münger K. Human papillomavirus E7 protein deregulates mitosis via an association with nuclear mitotic apparatus protein 1. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, no. 4, pp. 1700–1707.
12. 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, vol. 33, no. 12, pp. 2447–2457.
13. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. WHO classification of tumours. Eds F.A. Tavassoli, P. Devilee. Lyon: IARC Press, 2003, 432 p.
14. Ramírez-Salazar E., Centeno F., Nieto K., Valencia-Hernández A., Salcedo M., Garrido E. HPV16 E2 could act as down-regulator in cellular genes implicated in apoptosis, proliferation and cell differentiation. *J. Virol.*, 2011, vol. 20, no. 8, p. 247.
15. Xu K., Liang X., Wang F., Xie L., Xu Y., Liu J., Qian X. Induction of G2/M phase arrest and apoptosis by potent antitumor APCA in human cervix carcinoma cells. *Anticancer Drugs*, 2011, vol. 22, no. 9, pp. 875–885.

Received 17.04.2014

Revision received 18.04.2014

Accepted 05.05.2014