

УДК 618.16-006

Особенности диагностики ВПЧ-статуса плоскоклеточной карциномы вульвы

Пахарукова М.И.^{1,2}, Южакова И.С.³, Горчаковская Е.С.⁴, Кузнецова Е.А.², Ефременко А.А.²,
Лагерева Ю.Г.^{1,2}, Казанцева Н.В.⁴, Юшков Б.Г.¹, Бейкин Я.Б.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»

620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106

² Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»

620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, д. 78-В

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области «Екатеринбургский клинический перинатальный центр»

620066, Екатеринбург, ул. Комсомольская, д. 9

⁴ Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Свердловский областной онкологический диспансер»

620036, Екатеринбург, ул. Соболева, д. 29

Согласно текущей классификации, опубликованной Всемирной Организацией Здравоохранения, плоскоклеточные карциномы вульвы подразделяются на вирус папилломы человека (ВПЧ)-ассоциированные и ВПЧ-независимые. Результаты исследований последних лет всё чаще сообщают о различиях в клиническом исходе у пациенток в зависимости от ВПЧ-статуса опухоли. Данные о распространенности типов карциномы варьируют в широких пределах, что вероятнее всего, обусловлено выбором метода определения ВПЧ-статуса опухоли.

Цель работы – изучение характеристик ВПЧ-независимой и ВПЧ-ассоциированной карцином вульвы и определение оптимальных методов диагностики ВПЧ-статуса.

Материалы и методы. Ретроспективно исследован материал 74 пациенток с впервые выявленной плоскоклеточной карциномой вульвы. Объектом исследования служил биопсийный или операционный материал из парафиновых блоков. Типирование ВПЧ проводили методом ПЦР-realtime. Экспрессия p16 и p53 определена иммуногистохимическим методом.

Результаты. Частота встречаемости ВПЧ-ассоциированной карциномы вульвы составляет 28,4%. Выявлено превалирование ВПЧ 16-го генотипа. Частота полиинфекции составила 19%. Наиболее распространенным молекулярным подтипом является p16-p53mut (55,4%); p16+p53wt и p16-p53wt составляют 28,4% и 13,5% соответственно. ВПЧ-независимые карциномы преимущественно ороговевающие (94,3%). ВПЧ-ассоциированные карциномы в 57,1% базалоидные, а в 42,9% ороговевающие.

Заключение. Плоскоклеточные карциномы вульвы являются преимущественно ВПЧ-независимыми. Для определения ВПЧ-статуса карциномы, а также молекулярного подтипа необходимо совместная оценка экспрессии p16 и p53 иммуногистохимическим методом.

Ключевые слова: плоскоклеточная карцинома вульвы; вирус папилломы человека; p16; p53; методы диагностики.

Для цитирования: Пахарукова М.И., Южакова И.С., Горчаковская Е.С., Кузнецова Е.А., Ефременко А.А., Лагерева Ю.Г., Казанцева Н.В., Юшков Б.Г., Бейкин Я.Б. Особенности диагностики ВПЧ-статуса плоскоклеточной карциномы вульвы. Патогенез. 2023; 21(1): 54-61.

DOI: 10.25557/2310-0435.2023.01.54-61

Для корреспонденции: Пахарукова Мария Игоревна, e-mail: Pakharukovami@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (Регистрационный номер НИОКТР № 122020900136-4)

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 29.11.2022

Diagnostic features of the HPV status in vulvar squamous cell carcinoma

Pakharukova M.I.^{1,2}, Yuzhakova I.S.³, Gorchakovskaia E.S.⁴, Kuznetsova E.A.², Efremenko A.A.²,
Lagereva Yu.G.^{1,2}, Kazantseva N.V.⁴, Yushkov B.G.¹, Beikin Ya.B.^{1,2}

¹ Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Pervomayskaya St. 106, Yekaterinburg 620049, Russian Federation

² Clinical and Diagnostic Center Yekaterinburg.

8th of March St., 78-B, Yekaterinburg 620144, Russian Federation

³ Yekaterinburg Clinical Perinatal Center.

Komsomolskaya St. 9, Yekaterinburg 620066, Russian Federation

⁴ Sverdlovsk Regional Oncological Clinic,

Soboleva St. 29, Yekaterinburg 620036, Russian Federation

According to the current classification published by the World Health Organization, vulvar squamous cell carcinomas are divided into human papillomavirus (HPV)-associated and HPV-independent. Recent studies have increasingly reported differences in clinical outcomes depending on the HPV status of the tumor. Data on the prevalence of carcinoma types vary widely, which is

most likely due to the choice of the method for determining the HPV status.

The aim of this work was to study characteristics of HPV-independent and HPV-associated vulvar carcinomas and to determine effective methods for diagnosing the HPV status.

Materials and methods. Materials of 74 patients diagnosed with squamous cell carcinoma of the vulva were retrospectively studied. Biopsy or intraoperative samples from paraffin blocks were examined. HPV typing was performed by real-time PCR. Expression of p16 and p53 was determined by an immunohistochemical method.

Results. Incidence rate of HPV-associated vulvar carcinoma was 28.4% with the HPV 16 genotype prevailing. Incidence rate of polyinfection was 19%. The most common molecular subtype was p16-p53mut (55.4%); p16+p53wt and p16-p53wt accounted for 28.4% and 13.5%, respectively. HPV-independent carcinomas were generally keratinizing (94.3%). 57.1% of HPV-associated carcinomas were basaloid, and 42.9% were keratinizing.

Conclusion. Vulvar squamous cell carcinomas are mostly HPV-independent. To determine the HPV status of carcinoma, as well as the molecular subtype, it is necessary to simultaneously evaluate the expression of p16 and p53 immunohistochemically.

Keywords: vulvar squamous cell carcinoma; human papillomavirus; p16; p53; diagnostic methods.

For citation: Pakharukova M.I., Yuzhakova I.S., Gorchakovskaia E.S., Kuznetsova E.A., Efremenko A.A., Lagereva Yu.G., Kazantseva N.V., Yushkov B.G., Beikin Ya.B. [Diagnostic features of the HPV status in vulvar squamous cell carcinoma]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2023; 21(1): 54-61. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2023.01.54-61

For correspondence: Pakharukova Maria Igorevna, e-mail: Pakharukovami@gmail.com

Funding. This study was a part of the State Assignment of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Reg. # 122020900136-4).

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

Received: 29.11.2022

Введение

Плоскоклеточная карцинома — самая распространённая опухоль наружных половых органов [1, 2]. В отличие от плоскоклеточной карциномы шейки матки и ануса, которые почти всегда вызваны вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР), рак вульвы может быть, как вызван ВПЧ, так и не связан с ним [3, 4]. Публикация новой классификации опухолей нижнего отдела генитального тракта, опубликованная Всемирной Организацией Здравоохранения в конце 2020 года привела к значительному концептуальному сдвигу в систематизации плоскоклеточных карцином вульвы (ПКВ), поскольку теперь внимание сконцентрировано на молекулярном статусе опухоли, а не на её гистологических характеристиках [5]. Схожий патогенез и подход отмечается при плоскоклеточных карциномах ротоглотки. При этом было показано, что ВПЧ-ассоциированные орофарингиальные карциномы характеризуются лучшим клиническим исходом и более чувствительны к лучевой терапии, по сравнению с ВПЧ-независимыми. Определение ВПЧ-статуса опухоли было включено в клиническую практику [6].

Прогностическое определение ВПЧ-статуса ПКВ до сих пор является спорным. Ряд авторов указывает на более высокие показатели общей выживаемости и меньший риск возникновения рецидивов при ВПЧ-ассоциированной карциноме [3, 7, 8]. В то время как другие не считают ВПЧ-статус опухоли независим прогностическим фактором [9, 10]. Различия в полученных результатах могут быть связаны с разными диагностическими методами в установлении ВПЧ-статуса. Часть исследователей использовала только лишь методы детекции ДНК ВПЧ (полимеразно-цепная реакция (ПЦР) или *in situ* гибридизация), другие применяли иммуно-

гистохимическое обнаружение экспрессии p16 и p53 самостоятельно или в комбинации с методами ПЦР. Однако учитывая высокую распространенность ВПЧ-инфекции, только лишь обнаружение ДНК вируса недостаточно для определения его связи с канцерогенезом. Стоит отметить, что интерпретация экспрессии p53 при ПКВ имеет свои особенности и отличается от интерпретации таковой при карциномах яичников и эндометрия. В данной локализации важен не столько процент окрашиваемых клеток, а их расположение относительно слоев многослойного плоского эпителия [11, 12]. Таким образом, необходима стандартизация методов диагностики ВПЧ-статуса ПРВ, а также понимание особенностей интерпретации результатов характерных для данной локализации.

Цель настоящего исследования состояла в изучении характеристик ВПЧ-независимой и ВПЧ-ассоциированной карцином вульвы и определении оптимальных методов диагностики ВПЧ-статуса.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на базе ГАУЗ СО «КДЦ». Ретроспективно был исследован материал 74 пациенток, обследованных в ГАУЗ СО СООД в период с 2016 по 2021 год. Возраст обследуемых составил 71 ± 12 год. Пациентки подписывали добровольное информированное согласие на обследование.

Критерии включения: впервые выявленный плоскоклеточный рак вульвы, наличие гистологических блоков, достаточное количество материала. Материалом для исследования служили парафиновые блоки с биопсийным или операционным материалом.

Извлечение ДНК ВПЧ осуществляли из парафиновых блоков. Депарафинизацию срезов производили с помощью ксилола и в последующем этанола (95%

и 70%). Типирование ВПЧ ВКР проводили методом ПЦР-realtime с использованием набора реагентов «АмплиСенс[®] ВПЧ ВКР генотип-FL», предназначенного для выявления и дифференциации 14 генотипов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59). Для выявления и дифференциации ДНК ВПЧ 6 и 11 генотипов использовался набор «АмплиСенс ВПЧ 6/11-FL». Для предобработки клинического материала использовался «АмплиСенс[®]ДНК-сорб-Д». Реакция амплификации и анализ результатов проводился на приборах «Rotor-Gene 6000».

Качественное определение антигена p16INK4a иммуногистохимическим методом на гистологических срезах выполнялось с помощью набора реагентов CINtec[®] Histology (клон Е6Н4). Процедура окрашивания выполнялась вручную. Окрашивание считалось положительным только в случаях с сильной диффузной и постоянной ядерной или цитоплазматической экспрессией (блочное окрашивание, p16+); очаговая и слабая диффузная экспрессия считалась отрицательной (гетерогенное окрашивание, p16-).

Качественное определение антигена p53 иммуногистохимическим методом на гистологических срезах выполнялось с помощью набора реагентов Cell Marque (клон DO-7). Процедура окрашивания выполнялась вручную. Экспрессия p53 считалась дикого типа (p53wt) при разбросанном или среднеэпителиальном паттернах. При базальном, базально-парабазальном, нулевом или цитоплазматическом паттернах экспрессия p53 считалась мутантного типа (p53mut) [11, 12].

Статистическую обработку материала проводили с помощью программы StatTech v.2.8.8. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Статистическими значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Распространённость ДНК ВПЧ среди всех обследованных нами пациенток составила 45,9% ($n = 34$). Обнаружение ДНК ВПЧ методом ПЦР в 17,6% ($n = 13$) случаев было ложно положительным, так как иммуногистохимическим методом определялась гетерогенная экспрессия p16 и мутантный паттерн p53. Выявлено превалирование ВПЧ 16-го типа.

Частота его обнаружения в ВПЧ-ассоциированных карциномах составила 90,5%, а в качестве моноинфекции в 81%. Определены единичные случаи выявления 11, 18, 35, 39, 51 и 52 генотипов. Частота полиинфекции составила 19%. В ВПЧ-независимых карциномах в 13 случаях было также обнаружено наличие ДНК ВПЧ с превалированием 16-го генотипа, что составляет 24,5% от всех ВПЧ-независимых карцином. Спектр генотипов ВПЧ и их сочетание в каждой из анализируемых групп представлен в **таблице 1**.

При анализе молекулярных подтипов ПРВ было выявлено, что наиболее распространенным молекулярным подтипом ПКВ является p16-p53mut (55,4%); p16+p53wt и p16-p53wt составляют 28,4 % и 13,5 % соответственно. В двух образцах (2,7%) обнаружен p16+ p53mut молекулярный подтип (**рис. 1**).

При оценке результатов окрашивания p53 иммуногистохимическим методом было выявлено превалирование экспрессии мутантного типа p53 в 43 образцах (58,1%). Наиболее частым определяемым паттерном был базально-парабазальный (31 образец). Нулевой и базальный паттерн составили 8 и 4 случая соответственно (**рис. 2**). Нами не был обнаружен цитоплазматический паттерн мутантного типа p53. Дикий тип экспрессии p53 выявлен у 31 пациентки (41,9%), и включал такие паттерны, как разбросанный (у 22 пациенток) и среднеэпителиальный, который был обнаружен в 9 случаях (**рис. 3**).

В одном случае оценка экспрессии p53 составляла сложности. Паттерн было сложно дифференцировать между среднеэпителиальным (p53wt) и базально-парабазальным (p53mut). Экспрессия p16 была положительной (блочной). В данном образце была обнаружена ДНК ВПЧ 16 генотипа. После результатов ПЦР препараты были пересмотрены и окончательным паттерном был установлен среднеэпителиальный. При детальном

Таблица 1

Частота выявления различных генотипов ВПЧ в зависимости от ВПЧ-статуса плоскоклеточной карциномы вульвы

Генотип ВПЧ	ВПЧ-статус карциномы	
	ВПЧ-независимая	ВПЧ-ассоциированная
16	8 (61,5%)	17 (81,0%)
16, 18	0 (0,0)	1 (4,8%)
16, 35	1 (7,7%)	0 (0,0)
16, 11	0 (0,0)	1(4,8%)
39	1 (7,7%)	1 (4,8%)
56	1 (7,7%)	0 (0,0)
52, 56	1 (7,7%)	0 (0,0)
56, 68	1 (7,7%)	0 (0,0)
35, 51,52	0 (0,0)	1 (4,8%)
Всего	13 (100%)	21 (100%)

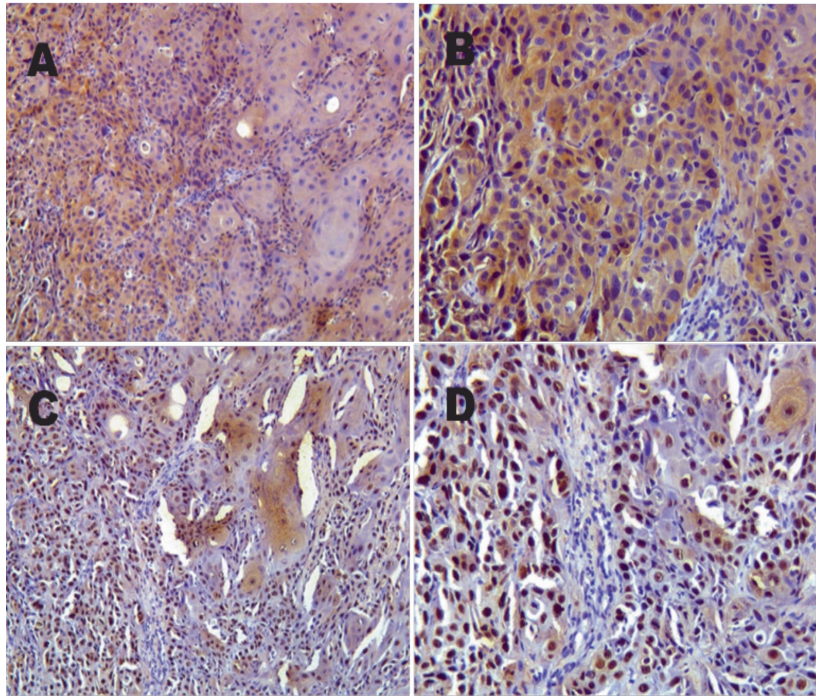


Рис. 1. p16+p53mut молекулярный подтип. А – блочная экспрессия p16, ×100. В – блочная экспрессия p16, ×200. С – базально-парабазальный паттерн экспрессии p53, ×100. D – базально-парабазальный паттерн экспрессии p53, ×20.

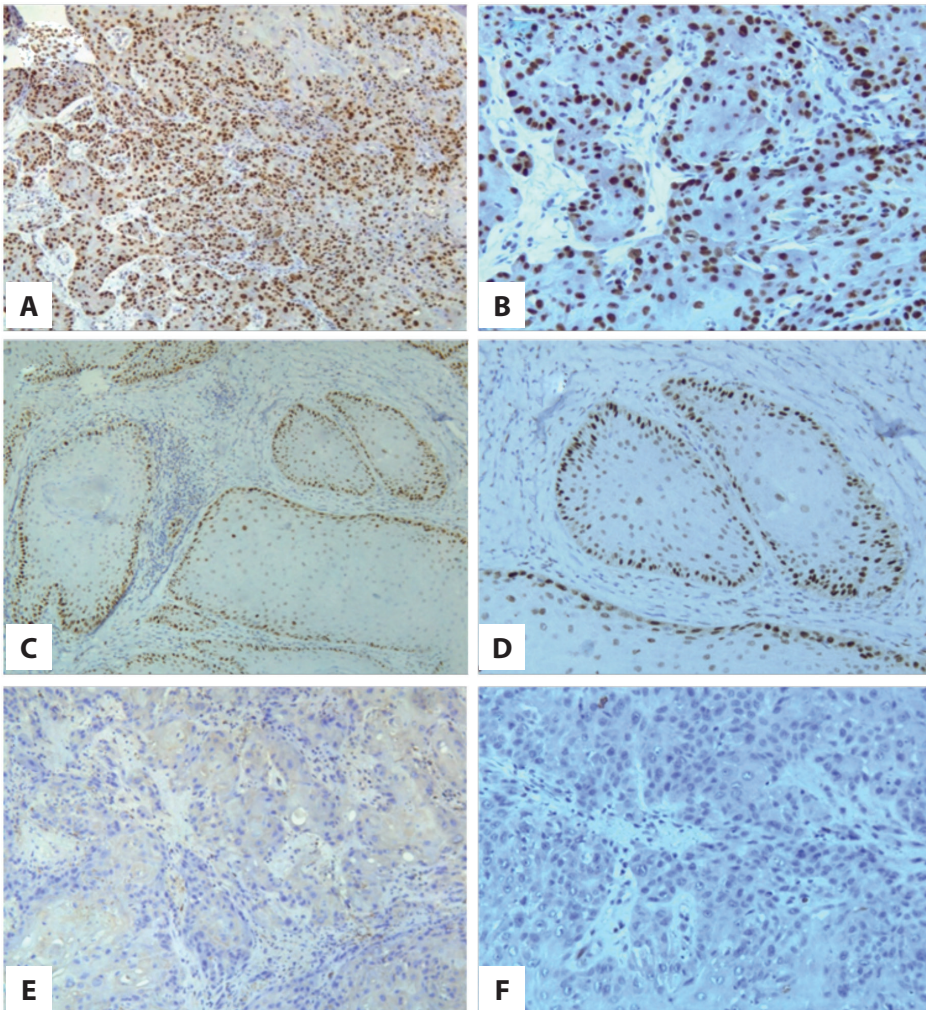


Рис. 2. Паттерны экспрессии p53 мутантного типа. А – базально-парабазальный паттерн экспрессии, ×100. В – базально-парабазальный паттерн экспрессии, ×200. С – базальный паттерн экспрессии, ×100. D – базальный паттерн экспрессии, ×200. E – нулевой паттерн экспрессии, ×100. F – нулевой паттерн экспрессии, ×200

рассмотрении было обнаружено отсутствие экспрессии p53 в базальном слое клеток (рис. 4).

Анализ полученных данных позволил установить, что частота встречаемости ВПЧ-ассоциированной карциномы составляет 28,4% ($n = 21$).

При анализе ВПЧ-статуса плоскоклеточной карциномы вульвы в зависимости от гистотипа было обнаружено, что ВПЧ-независимые карциномы были преимущественно ороговевающими ($n = 50, 94,3\%$) и в 5,7% случаев ($n = 3$) неороговевающими. ВПЧ-ассоциированные карциномы в 57,1% ($n = 12$) базалоидными, а в 42,9% ($n = 9$) – ороговевающими ($p < 0,001$).

Пациентки с опухолями, связанными с ВПЧ были моложе (64 ± 14 года против 74 ± 10 лет, $p = 0,011$). ВПЧ-ассоциированная карцинома чаще была диагностирована на I-II стадиях заболевания (71,4%), по сравнению с ВПЧ-независимой, которая в 52,8% диагностировалась на III-IV стадиях, однако различия не были статистически значимыми ($p = 0,059$).

Обсуждение

Согласно ранее проведенным исследованиям частота выявления ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного рака варьируется в широких пределах от 16 до 70% [2, 7, 8]. Проведенные мета-анализы

продemonстрировали, что общая распространенность карцином, связанных с ВПЧ, составляет 40% [4, 13]. Стоит отметить, что в большинстве исследований использовался только лишь метод ПЦР для определения этиопатогенеза процесса. Распространённость ДНК ВПЧ среди всех обследованных нами пациентов составила 45,9%, в то время как лишь 28,4% продемонстрировали блочную позитивную экспрессию p16 и отсутствие мутантного паттерна p53. Полученные нами данные согласуются с многоцентровым исследованием 1709 биоптатов из 39 стран, в котором доля ВПЧ-ассоциированных карцином составила 25,1% [14]. При этом использовался единый метод установления ВПЧ-статуса, основанный на детекции ДНК ВПЧ методом ПЦР совместно с иммуногистохимическим методом оценки экспрессии p16. Исследование Woelber L. с соавторами показало, что из 411 образцов тканей опухолей 204 были ДНК ВПЧ положительны (49,6%), в то время как экспрессия p16 была лишь в 166 образцах (30,2%) [15]. Таким образом, наши данные также подтверждают невозможность использования методов выявления ДНК ВПЧ как единственных для установления ВПЧ-статуса опухоли ввиду недостаточной специфичности.

При оценке распространенности генотипов мы обнаружили безусловное превалирование 16-го геноти-

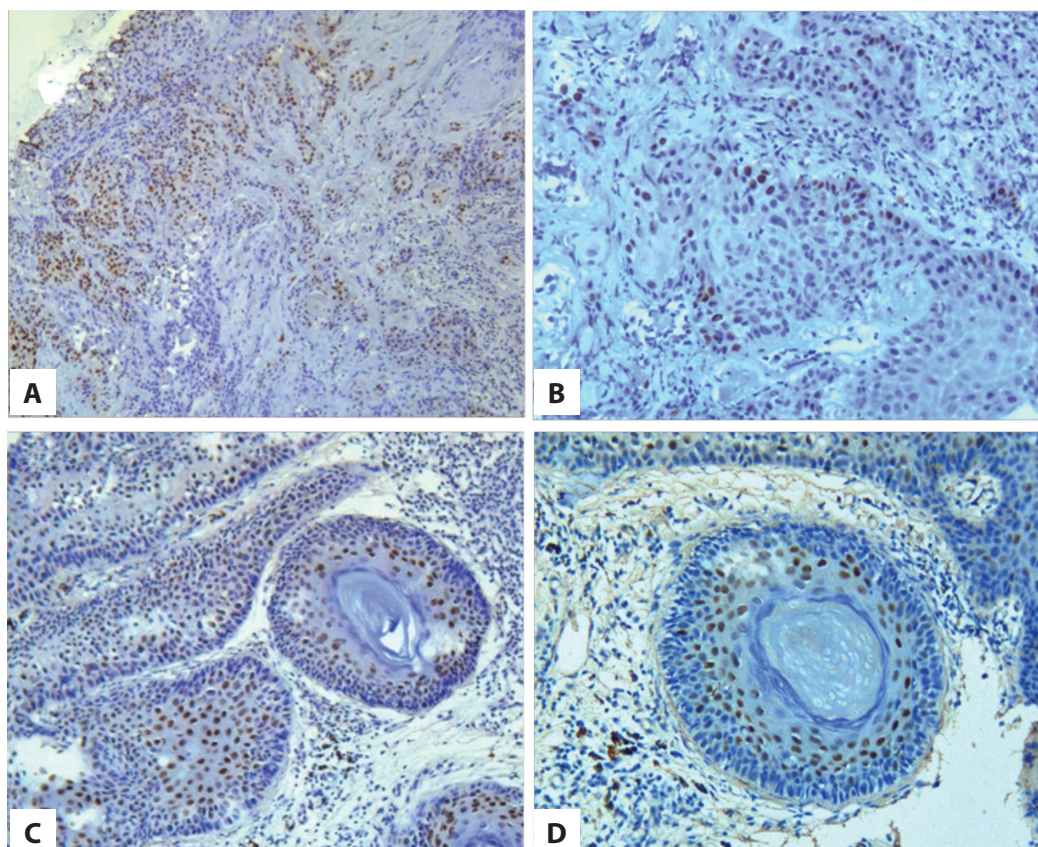


Рис. 3. Паттерны экспрессии p53 дикого типа. А – разбросанный паттерн экспрессии, $\times 100$. В – разбросанный паттерн экспрессии, $\times 200$. С – среднеэпителиальный паттерн экспрессии, $\times 100$. D – среднеэпителиальный паттерн экспрессии $\times 200$

па, что согласуется с данными других исследователей [4, 13, 16]. В 81% случаев ВПЧ-ассоциированных карцином мы выявили только лишь 16 тип ВПЧ ВКР. В двух случаях он был в сочетании с 18 и 11 генотипом. Нами также был определен случай полиинфекции ВПЧ высокого канцерогенного риска тремя генотипами. Таким образом, частота полиинфекции в ВПЧ-ассоциированном ПРВ составила 19%, что значительно превышает данные литературы, согласно которым микст-инфекция ВПЧ при ПКВ встречается редко и составляет около 6% [13, 16]. В то же время мы обнаружили, что определение ДНК ВПЧ в ВПЧ-независимых карциномах также было в 23,1% случаев полиинфекцией. Возможно, такое расхождение связано с региональными особенностями инфицирования популяции.

Сочетание определения экспрессии p16 и p53 позволило определить нам четыре молекулярных подтипа ПРВ: p16-p53mut (55,4%); p16+p53wt (28,4%); p16-p53wt (13,5%), p16+ p53mut (2,7%). Последний молекулярный подтип с коэкспрессией p16 и p53 считается одним из редких вариантов ВПЧ-независимой карциномы. Данные исследований сообщаются о частоте встречаемости данного подтипа в 2,6% и 2,9%, что соотносится с полученной нами частотой встречаемости [15, 17]. В обоих случаях коэкспрессии p16 и p53 ДНК ВПЧ не была обнаружена.

Распределение основных трех молекулярных подтипов также согласуется с данными исследования, учитывающего характерные паттерны экспрессии p53 при ПКР. В работе Kortekaas K.E. с соавторами подтип p16-p53mut преобладал и составил 66% от всех опухолей ($n = 275$); p16+p53wt диагностирован в 18% случаев ($n = 75$); p16-p53wt был наименее распространенным и составил 15% ($n = 63$) [7]. В исследовании Woelber L., подтип p16-p53wt встречался значительно чаще и составил 28,2 % от всех случаев. В то время как подтипы p16-p53mut и p16+p53wt встречались в 39,7% и 32,1% от всех карцином соответственно [15]. В своей работе Garganese G. с соавторами продемонстрировали встречаемость молекулярного подтипа p16-p53wt в 11,8% случаев, p16-p53mut в 74,3%, а p16+p53wt в 13,9% всех исследуемых образцов [18]. Такая вариативность молекулярных подтипов вероятнее всего связана с оценкой паттернов p53. В исследованиях Woelber L. и Garganese G. она основывалась лишь на проценте окрашенных клеток без учета различных паттернов, что может привести к ряду ошибок. Так, например, процент окрашиваемых клеток при рассеянном паттерне p53 дикого типа может быть больше, чем при паттерне базальной сверхэкспрессии (мутантный тип). Среднеэпителиальный паттерн, характерный для ВПЧ-ассоциированных карцином без тщательной оценки базального слоя может быть спу-

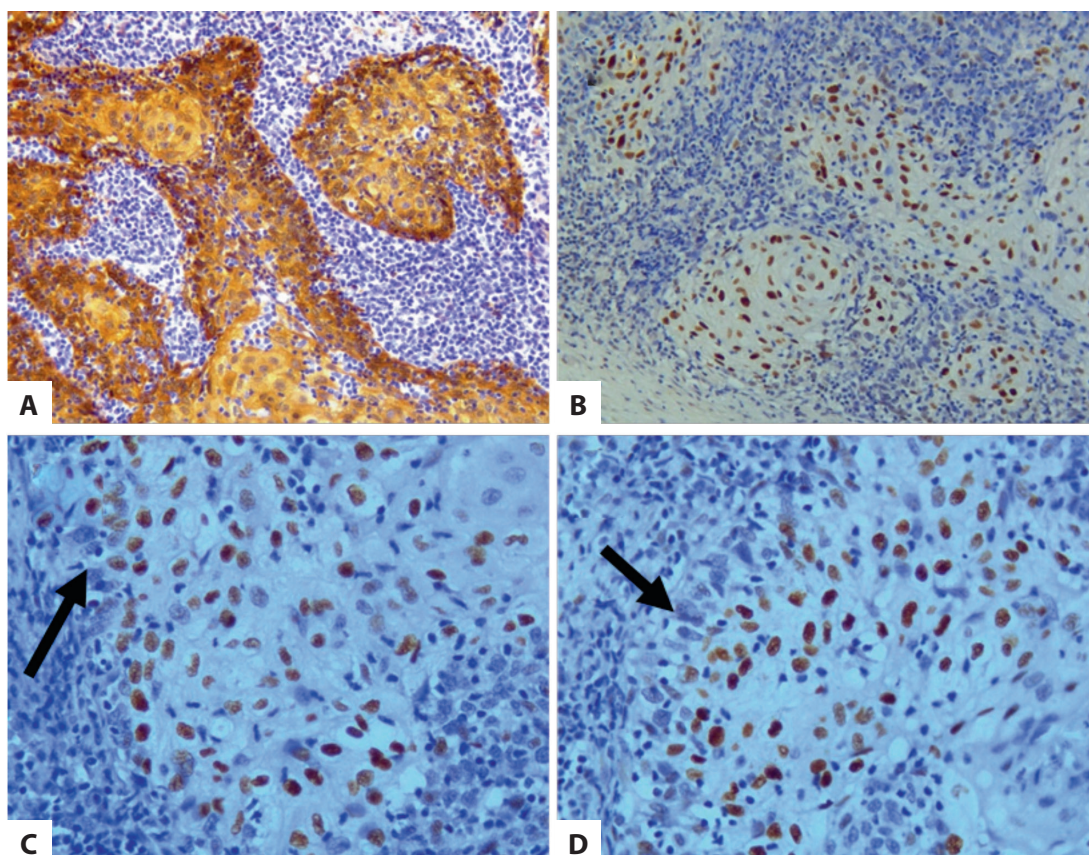


Рис. 4. p16+p53wt молекулярный подтип. А – блочная экспрессия p16, $\times 200$. В – среднеэпителиальный паттерн p53, $\times 200$. С – среднеэпителиальный паттерн экспрессии p53, стрелкой обозначено отсутствие экспрессии в базальном слое клеток, $\times 400$. D – среднеэпителиальный паттерн экспрессии p53, стрелкой обозначено отсутствие экспрессии в базальном слое клеток, $\times 400$.

тан и принят за парабазаальный паттерн мутантного типа. А нулевой паттерн экспрессии (мутантный тип) оценен как отрицательная экспрессия p53. Таким образом, при оценке экспрессии p53 необходимо использовать интерпретацию паттернов характерных для данной локализации, продемонстрировавшую высокую корреляцию с TP53 мутационным статусом опухоли [11, 12].

Выявление молекулярных подтипов с помощью иммуногистохимического анализа представляет особый интерес, поскольку появляются данные о возможности использования экспрессии p16 и p53 в качестве маркеров прогноза заболевания. Результаты исследований сообщают, что наихудший прогноз, как правило связан с p16-p53mut подтипом, в то время как в группе пациенток с p16+p53wt подтипом показаны лучшие показатели выживаемости и меньший риск возникновения рецидива [7, 8, 15].

Данные ряда авторов показали, что ВПЧ-положительные опухоли преимущественно базалоидного или бородавчатого типа, тогда как ВПЧ-независимые поражения практически всегда ороговевающие [11, 19]. Однако исследование, проведенное Rakislova N. с соавторами, которое включало большое количество образцов тканей ПКВ (1594 парафиновых блока), показало, что 36,5% карцином, ассоциированных с ВПЧ, относились к обычному ороговевающему типу, хотя этот гистологический тип считался характерным для ВПЧ-независимого пути [20]. В нашем исследовании при оценивании гистологического типа ПКВ в зависимости от ВПЧ-статуса опухоли было выявлено, что ВПЧ-независимые карциномы преимущественно были ороговевающими – 94,3% и небольшая часть неороговевающими (5,7%), в то время как ВПЧ-ассоциированные карциномы были базалоидными (57,1%) и ороговевающими (42,9%) Наши данные согласуются с данными литературы и еще раз подчеркивают невозможность достоверно различить ВПЧ-ассоциированные и ВПЧ-независимые карциномы только лишь на основании морфологического исследования.

Заключение

Наше исследование показало, что плоскоклеточные карциномы вульвы являются преимущественно ВПЧ-независимыми. Для определения ВПЧ-статуса карциномы, а также молекулярного подтипа необходимо совместная оценка экспрессии p16 и p53 иммуногистохимическим методом с правильной интерпретацией паттернов, характерных для данной локализации. В случаях несоответствия экспрессии биомаркеров или трудностях интерпретации паттернов экспрессии выявление ДНК ВПЧ может быть полезно.

Список литературы / References

1. Singh N., Gilks C.B. Vulval squamous cell carcinoma and its precursors. *Histopathology*. 2020; 76(1): 128–138. DOI:10.1111/his.13989
2. Prati B., Marangoni B., Boccardo E. Human papillomavirus and genome instability: From productive infection to cancer. *Clinics*. 2018; 73(1): e539s. DOI: 10.6061/clinics/2018/e539s

3. Zhang J., Zhang Y., Zhang Z. Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018; 13(9): e0204162. DOI: 10.1371/journal.pone.0204162
4. Peder L.D., Silva C.M., Boeira V.L., Plewka J., Turkiewicz M., Consolaro M.E.L., Sela V.R., Boer C.G., Gimenes F., Teixeira J.J.V. Association between Human Papillomavirus and Non-cervical Genital Cancers in Brazil: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2018; 19(9): 2359–2371. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.9.2359
5. *Female Genital Tumours: WHO Classification of Tumours*, 5th ed. International Agency for Research in Cancer: Lyon, France, 2020. 633 p.
6. Prigge E.S., Arbyn M., von Knebel Doeberitz M., Reuschenbach M. Diagnostic accuracy of p16INK4a immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cancer*. 2017; 140(5): 1186–1198. DOI: 10.1002/ijc.30516
7. Kortekaas, K.E., Bastiaannet, E., van Doorn, H.C., de Vos van Steenwijk, P.J., Ewing-Graham P.C., Creutzberg C.L., Akdeniz K., Nooij L.S., van der Burg S.H., Bosse T., van Poelgeest M.I.E. Vulvar cancer subclassification by HPV and p53 status results in three clinically distinct subtypes. *Gynecol. Oncol.* 2020; 159 (3): 649–656. DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.09.024
8. Nooij L. S., Ter Haar N. T., Ruano D., Rakislova N., van Wezel T., Smit T.H.B.M., Trimbo B.J.B.M.Z., Ordi J., van Poelgeest M.I.E., Bosse T. Genomic characterization of vulvar (pre)cancers identifies distinct molecular subtypes with prognostic significance. *Clin. Cancer Res.* 2017; 23(22): 6781–6789. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1302
9. Rodrigues I. S., Lavorato-Rocha A. M., Stiepcich M. M., de Carvalho F. M., Baiocchi G., Soares F.A., Rocha R.M. Epithelial-mesenchymal transition-like events in vulvar cancer and its relation with HPV. *Br. J. Cancer*. 2013; 109(1): 184–194. DOI: 10.1038/bjc.2013.273
10. Weberpals J.I., Lo B., Duciaume M.M., Spaans J. N., Clancy A. A., Dimitroulakos J., Goss G.D., Sekhon H.S. Vulvar squamous cell carcinoma (VSCC) as two diseases: HPV status identifies distinct mutational profiles including oncogenic fibroblast growth factor receptor 3. *Clin. Cancer Res.* 2017; 23(15): 4501–4510. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3230
11. Tessier-Cloutier B., Kortekaas K.E., Thompson E., Pors J., Chen J., Ho J., Prentice L.M., McConechy M.K., Chow C., Proctor L., McAlpine J.N., Huntsman D.G., Gilks C.B., Bosse T., Hoang L.N. Major p53 immunohistochemical patterns in in situ and invasive squamous cell carcinomas of the vulva and correlation with TP53 mutation status. *Mod. Pathol.* 2020; 33(8): 1595–1605. DOI: 10.1038/s41379-020-0524-1
12. Kortekaas K.E., Solleveld-Westerink N., Tessier-Cloutier B., Rutten T.A., Van Poelgeest M., Gilks C.B., Hoang L.N., Bosse T. Performance of the Pattern Based Interpretation of p53 Immunohistochemistry as a Surrogate for TP53 Mutations in Vulvar Squamous Cell Carcinoma. *Histopathology*. 2020; 77(1): 92–99. DOI: 10.1111/his.14109
13. Faber M.T., Sand F.L., Albieri V. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in squamous cell carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva. *Int. J. Cancer*. 2017; 141(6): 1161–1169. DOI: 10.1002/ijc.30821
14. de Sanjosé S., Alemany L., Ordi J., Tous S., Alejo M., Bigby S.M., Joura E.A., Maldonado P., Laco J., Bravo I.G., Vidal A., Guimerà N., Cross P., Wain G.V., Petry K.U., Mariani L., Bergeron C., Mandys V., Sica A.R., Félix A., Usulutun A., Seoud M., Hernández-Suárez G., Nowakowski A.M., Wilson G., Dalstein V., Hampl M., Kasamatsu E.S., Lombardi L.E., Tinoco L., Alvarado-Cabretero I., Perrotta M., Bhatla N., Agorastos T., Lynch C.F., Goodman M.T., Shin H.R., Viarheichyk H., Jach R., Cruz M.O., Velasco J., Molina C., Bornstein J., Ferrera A., Domingo E.J., Chou C.Y., Banjo A.F., Castellsagué X., Pawlita M., Lloveras B., Quint W.G., Muñoz N., Bosch F.X.; HPV VVAP study group. Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva. *Eur. J. Cancer*. 2013; 49(16): 3450–3461. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.06.033
15. Woelber L., Prieske K., Eulenburg C., Oliveira-Ferrer L., de Grigorio N., Klapdor R., Kalder M., Braicu I., Fuerst S., Klar M., Strauss H.G., Beckmann M., Meier W., Ignatov A., Mustea A., Jueckstock

- J., Schmidt G., Bauerschlag D., Hellriegel M., Canzler U., Petry K.U., Kommos S., Hantschmann P., Heubner M., Mahner S., Burandt E. p53 and p16 expression profiles in vulvar cancer: a translational analysis by the Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie Chemo and Radiotherapy in Epithelial Vulvar Cancer study group. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2021; 224(6): 595.e1–595.e11. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.12.1220
16. Preti M., Rotondo J.C., Holzinger D., Micheletti L., Gallio N., McKay-Chopin S., Carreira C., Privitera S.S., Watanabe R., Ridder R., Pawlita M., Benedetto C., Tommasino M., Gheit T. Role of human papillomavirus infection in the etiology of vulvar cancer in Italian women. *Infect. Agent Cancer.* 2020; 15: 20. DOI: 10.1186/s13027-020-00286-8
 17. Barlow E.L., Lambie N., Donoghoe M.W., Naing Z., Hacker N.F. The Clinical Relevance of p16 and p53 Status in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Vulva. *J. Oncol.* 2020: 3739075. DOI: 10.1155/2020/3739075
 18. Garganese, G., Inzani F., Fragomeni S.M., Mantovani G., Corte L., Piermattei A., Santoro A., Angelico G., Giacobbe L., Corrado G., Fagotti A., Zannoni G.F., Scambia G. The Vulvar Immunohistochemical Panel (VIP) Project: Molecular Profiles of Vulvar Squamous Cell Carcinoma. *Cancers.* 2021; 13(24): 6373. DOI: 10.3390/cancers13246373
 19. Heller D.S., Day T., Allbritton J.I., Scurry J., Radici G., Welch K., Preti M. Diagnostic criteria for differentiated vulvar intraepithelial neoplasia and vulvar aberrant maturation. *J. Low Genit. Tract Dis.* 2021; 25: 57–70. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000572
 20. Rakislova N., Clavero O., Alemany L., Saco A., Quirós B., Lloveras B., Alejo M., Pawlita M., Quint W., Del Pino M., de Sanjose S., Ordi J.; VVAP study group. Histological characteristics of HPV-associated and -independent squamous cell carcinomas of the vulva: A study of 1,594 cases. *Int. J. Cancer.* 2017; 141(12): 2517–2527. DOI: 10.1002/ijc.31006

Сведения об авторах:

Пахарукова Мария Игоревна — младший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»; биолог лаборатории цитологии Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»; <https://orcid.org/0000-0001-6019-3463>

Южакова Ирина Сергеевна — врач-биохимик клинико-диагностической лаборатории Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Екатеринбургский клинический перинатальный центр»; <https://orcid.org/0000-0002-6184-1028>

Горчаковская Евгения Сергеевна — лаборант патологоанатомического отделения Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловский областной онкологический диспансер»

Кузнецова Елена Александровна — врач клинико-диагностической лаборатории молекулярно-биологических методов исследования Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»

Ефременко Анна Александровна — фельдшер-лаборант клинико-диагностической лаборатории молекулярно-биологических методов исследования Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»

Лагерева Юлия Геннадьевна — доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»; заместитель главного врача по лабораторной диагностике Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»; <https://orcid.org/0000-0001-8211-0753>

Казанцева Наталья Владимировна — кандидат медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловский областной онкологический диспансер»

Юшков Борис Германович — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии, Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0001-6368-0099>

Бейкин Яков Борисович — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунопатофизиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»; главный врач Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»