

## ОНКОЛОГИЯ ONCOLOGY

### ПРЕДШЕСТВЕННИКИ, ПУТИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ ВУЛЬВЫ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Пахарукова М.И.<sup>1,2</sup>,  
Юшков Б.Г.<sup>2</sup>,  
Бейкин Я.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» (620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 78-В, Россия)

<sup>2</sup> ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН (620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
**Пахарукова Мария Игоревна,**  
e-mail: Pakharukovami@gmail.com

#### РЕЗЮМЕ

*В обзоре проанализированы и обобщены результаты исследований, изучающих патогенез плоскоклеточного рака вульвы и особенности его диагностики, рассмотрены предшествующие состояния и молекулярные подтипы карцином. Несмотря на относительно низкую встречаемость опухоли, за последние несколько десятилетий отмечается тенденция к росту заболеваемости, в том числе среди молодых женщин. Согласно последней классификации Всемирной организации здравоохранения опухолей нижнего отдела генитального тракта от 2020 г., плоскоклеточный рак вульвы подразделяется на ассоциированный с вирусом папилломы человека (ВПЧ) и ВПЧ-независимый. В то время как морфологически эти карциномы часто являются сходными, механизмы канцерогенеза, предшественники, а также клинические исходы у них различны. Только лишь обнаружение ДНК вируса в опухоли недостаточно для установки ВПЧ-статуса. В то же время иммуногистохимическое обнаружение экспрессии белков p16 и p53 позволяет не только разделить два патогенетических пути канцерогенеза, но и выявить его молекулярные подтипы. Получены данные о том, что экспрессию p16 и p53 возможно также использовать в качестве молекулярных маркеров прогноза заболевания. В настоящее время тактика лечения и наблюдения пациенток не зависит от ВПЧ-статуса карциномы, однако результаты исследований последних лет говорят о том, что женщины с ВПЧ-положительным раком вульвы имеют значительно более высокие показатели выживаемости и меньший риск возникновения рецидивов. Понимание механизмов канцерогенеза и усовершенствование его диагностики позволит улучшить оценку индивидуального риска прогресса предопухолевых состояний, а также исход и возникновение рецидива опухоли.*

**Ключевые слова:** плоскоклеточная карцинома вульвы, интраэпителиальная неоплазия, вирус папилломы человека, p16, p53

Статья поступила: 23.05.2022

Статья принята: 10.01.2023

Статья опубликована: 02.03.2023

**Для цитирования:** Пахарукова М.И., Юшков Б.Г., Бейкин Я.Б. Предшественники, пути канцерогенеза и молекулярные маркеры плоскоклеточной карциномы вульвы. Литературный обзор. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 117-126. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.13

## PRECURSORS, PATHWAYS OF CARCINOGENESIS AND MOLECULAR MARKERS OF VULVAR SQUAMOUS CELL CARCINOMA. LITERATURE REVIEW

**Pakharukova M.I.** <sup>1,2</sup>,  
**Yushkov B.G.** <sup>2</sup>,  
**Beikin Ya.B.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Clinical Diagnostic Center  
of Yekaterinburg (8 Marta str. 78-B,  
Yekaterinburg 620144, Russian Federation)

<sup>2</sup> Institute of Immunology and Physiology,  
Ural Branch of the Russian Academy  
of Sciences (Pervomaiskaya str. 106,  
Yekaterinburg 620049, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Maria I. Pakharukova,**  
e-mail: Pakharukovami@gmail.com

### ABSTRACT

*The review analyzes and summarizes the results of the studies on the pathogenesis of vulvar squamous cell carcinoma and its diagnostic features, reviews precursors and molecular subtypes of carcinomas. Despite the relatively low incidence of this tumor, over the past few decades, there has been an upward trend in its incidence, including the incidence among young women. According to the latest World Health Organization classification of lower genital tumors from 2020, vulvar squamous cell carcinoma is divided into human papillomavirus (HPV) associated and HPV-independent. While these carcinomas are often morphologically similar, their mechanisms of carcinogenesis, precursors, and clinical outcomes are different. Just the detection of virus DNA in a tumor is not enough to establish HPV status. Meanwhile immunohistochemical detection of the expression of p16 and p53 proteins allows not only to separate two pathogenetic pathways of carcinogenesis, but also to identify its molecular subtypes. The data on the possible use of p16 and p53 expression as the disease prognosis molecular markers have been obtained. Currently, the tactics of treatment and monitoring patients does not depend on the HPV status of carcinoma; however, the results of recent studies suggest that women with HPV positive vulvar cancer have significantly higher survival rates and a lower risk of recurrence. Understanding the mechanisms of carcinogenesis and improving its diagnosis will advance the assessment of the individual risk of the progression of precancerous lesions, as well as the outcome and the occurrence of tumor recurrence.*

**Key words:** vulvar squamous cell carcinoma, intraepithelial neoplasia, human papillomavirus, p16, p53

Received: 23.05.2022  
Accepted: 10.01.2023  
Published: 02.03.2023

**For citation:** Pakharukova M.I., Yushkov B.G., Beikin Ya.B. Precursors, pathways of carcinogenesis and molecular markers of vulvar squamous cell carcinoma. Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 117-126. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.13

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что плоскоклеточный рак вульвы (ПРВ) является редкой злокачественной опухолью, в последнее десятилетие внимание всё большего числа исследователей сосредоточено на изучении его патогенетических механизмов, молекулярных событий канцерогенеза, а также поиске надёжных прогностических биомаркеров заболевания [1–8]. В 2020 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала новую классификацию опухолей нижнего отдела генитального тракта, согласно которой плоскоклеточные карциномы вульвы (ПКВ) подразделяются на ассоциированные с вирусом папилломы человека (ВПЧ) и ВПЧ-независимые [9]. В отличие от плоскоклеточной карциномы шейки матки, которая в большинстве случаев связана с ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) [10–12], плоскоклеточный рак вульвы чаще является ВПЧ-независимым; его молекулярные механизмы до сих пор остаются малоизученными [13, 14]. В настоящее время тактика лечения и наблюдения пациенток с установленным диагнозом ПРВ зависит только от стадии заболевания и соматического статуса [15, 16]. Однако результаты крупных исследований последних лет говорят о том, что женщины с ВПЧ-положительной плоскоклеточной карциномой вульвы имеют значительно более высокие показатели общей выживаемости и меньший риск возникновения рецидивов [2, 6]. В то же время ряд авторов в своих работах не приходят к выводу о различиях прогноза в зависимости от механизма патогенеза [17–19]. Различия в результатах исследований могут быть связаны с отсутствием стандартизированного набора методов диагностики ВПЧ-статуса. Несмотря на высокую чувствительность метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), его результаты нельзя интерпретировать как достаточные, так как только лишь обнаружение ДНК ВПЧ ВКР не является доказательством его роли в процессе малигнизации [20, 21]. Согласно последним исследованиям, иммуногистохимическое (ИГХ) обнаружение экспрессии белков p16 и p53 позволяет не только разделить два патогенетических пути канцерогенеза наружных половых органов [22–24], но и использовать их в качестве прогностических маркеров [5, 7, 25]. Таким образом, понимание патогенетических механизмов, совершенствование методов диагностики, а также определение прогноза заболевания обосновывают необходимость детального и дальнейшего изучения вопроса.

## ЦЕЛЬ ОБЗОРА

Охарактеризовать сходства и различия между ВПЧ-ассоциированной и ВПЧ-независимой плоскоклеточной карциномой вульвы; рассмотреть вероятные и известные на сегодняшний день пути канцерогенеза, предшественники, а также особенности их диагностики.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ДВУХ ТИПОВ КАРЦИНОМ

**ВПЧ-ассоциированные карциномы.** Вирус папилломы человека является самой распространённой инфекцией, передаваемой половым путём [12, 26]. Однако в большинстве случаев он является транзиторным, и в последующем вирус элиминируется из организма, не трансформируя клетки [27]. Вирусная интеграция в геном клетки – это важное событие канцерогенеза, приводящее к повышенной экспрессии основных вирусных протеинов E6 и E7, которые в свою очередь инактивируют два опухолевых супрессора, а именно p53 и белок ретинобластомы (pRb) [14, 27, 28]. E6 образует тройной комплекс с E6-ассоциированным белком (E6AP) и p53, изменяя функциональную способность p53 и вызывая деградацию этого клеточного белка посредством пути протеолиза, опосредованного убиквитином, что приводит к отсутствию остановки клеточного цикла [29, 30]. E7 связывается с pRb, что приводит к маркировке pRb для деградации, тем самым высвобождая из комплекса pRb-E2F транскрипционный фактор E2F, регулирующий клеточную пролиферацию, вследствие чего возникает неконтролируемое деление клетки [29, 31]. Комплекс Rb/E2F ингибирует транскрипцию нескольких генов, включая ген *CDKN2A*, кодирующий p16INK4a (p16). Следовательно, расщепление членов семейства Rb белком E7 приводит к гиперэкспрессии p16 за счёт высвобождения гена *CDKN2A* [14, 27]. Повышение экспрессии белка p16 возникает как попытка управления неконтролируемым клеточным делением, которое опосредовано нарушением пути pRb. Однако передаче сигналов для остановки клеточного цикла также противодействует E7-опосредованная активация циклинов A и E [32]. Ускоренная пролиферация клеток, вызванная онкобелками ВПЧ высокого риска, способствует накоплению генетических дефектов, таких как делеции, амплификации, транслокации и хромосомные перестройки, и приводит к мутированию клеток [29].

**ВПЧ-независимые карциномы.** В отличие от относительно большого количества данных о патогенезе ВПЧ-ассоциированных опухолей, ВПЧ-независимый путь ПКВ изучен гораздо хуже, а молекулярные механизмы, участвующие в развитии такой ПКВ, ещё не полностью выяснены [14, 28]. Согласно исследованиям, этиологически не связанные с ВПЧ карциномы чаще содержат мутации в гене-супрессоре опухоли *TP53*. Продуктом данного гена является белок p53 (p53wt), функцией которого являются предотвращение репликации ДНК и запуск апоптоза в клетках с аномальной ДНК. Тем самым сохраняется стабильность генома и не допускаются мутационные изменения [1, 7, 33]. Миссенс-мутации в *TP53* приводят к накоплению мутантного белка p53 (p53mut) в ядрах клеток, устойчивому к деградации и не способному выполнять свои функции [7, 34]. Согласно исследованиям, от 67 до 80 % всех ВПЧ-независимых опухолей имели мутации в этом гене [1, 25, 35, 36]. При этом они считаются ранним событием канцерогенеза, так как обнаружены и в предшествующих поражениях [28, 37]. Стоит отме-

туть, что мутации в гене *TP53* могут встречаться и в ВПЧ-ассоциированных карциномах, хоть и значительно реже (около 25 % случаев). Однако вероятнее, что эти изменения связаны с прогрессированием опухоли, а не с иницированием процесса [29, 33].

Исследования, проведённые с помощью методов секвенирования нового поколения, показали, что вторым по частоте мутированным геном является *CDKN2A*, составляя около 30–40 % всех генетических изменений. В результате его мутации p16, кодируемый им, инактивируется, что приводит к нарушению клеточного цикла [18, 29, 33]. Предполагается, что сочетание мутаций в генах *TP53* и *CDKN2A* коррелирует со значительно худшим прогнозом заболевания [1, 38]. Также при ВПЧ-независимом канцерогенезе выявлены мутации *HRAS*, *PIK3CA*, *PTEN* и *NOTCH1* [8, 29, 39]. В то время как некоторые исследования предполагают, что опухоли, не зависящие от ВПЧ, имеют большую мутационную нагрузку [25, 40], другие серии [13, 39] указали, что мутационная нагрузка существенно не зависит от статуса ВПЧ. Возможно, это связано с различиями в методах установления ВПЧ-статуса опухоли и использовании разных молекулярных маркеров.

В 2017 г. L.S. Nooij с коллегами в своей работе при помощи геномного секвенирования подтвердили третий молекулярный подтип ПКВ, независимый от ВПЧ и мутации *TP53* [25]. Группа включала в себя 43 образца из выборки в 236 обследуемых (18 %) и показала самую высокую частоту мутаций *NOTCH1* и *HRAS*. *NOTCH1* – это трансмембранный рецептор, участвующий в дифференцировке и пролиферации клеток. Ген *HRAS* участвует в пути PIK3CA/AKT/mTOR, осуществляющем регуляцию процессов деления клетки и её апоптоза. Их мутации, вероятно, могут приводить к передаче сигналов, активирующих клеточную пролиферацию и ингибирующих гибель клеток. Механизм канцерогенеза в этой группе малопонятен и требует дальнейшего изучения [22, 24]. Позже другими авторами также был выявлен данный подтип опухолей, однако с разной частотой встречаемости – от 4 % [41] и 10 % [22] до 25,7 % [23]. В исследовании К.Е. Kortekaas и соавт. 63 (15 %) случая из 413 изученных образцов не были связаны с ВПЧ и мутацией *TP53* [5], в то время как L. Woelber с коллегами получили данный подтип в 116 из 411 карцином (28 %) [24].

## ПРЕДШЕСТВУЮЩИЕ СОСТОЯНИЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

**Вульварная интраэпителиальная неоплазия.** Развитие инвазивной карциномы – это медленный, многоступенчатый процесс, происходящий в течение многих лет [14]. Интраэпителиальная неоплазия вульвы (VIN, vulvar intraepithelial neoplasia) является неинвазивным плоскоклеточным повреждением и одним из самых частых предшественников плоскоклеточного рака вульвы. ВПЧ-ассоциированные карциномы обычно развиваются из плоскоклеточного интраэпителиального поражения высокой степени (HSIL, high-

grade squamous intraepithelial lesion), ранее известного как интраэпителиальная неоплазия вульвы обычного типа (uVIN, usual vulvar intraepithelial neoplasia), тогда как ВПЧ-независимые возникают из предракового поражения, называемого дифференцированным VIN (dVIN, differentiated vulvar intraepithelial neoplasia) [42, 43].

Согласно исследованиям, частота выявления HSIL значительно выше, чем dVIN (90–95 % против 5–10 % соответственно), однако вероятность прогресса до инвазивной карциномы выше в группе у пациенток с диагностированной дифференцированной неоплазией. Показатели риска злокачественной трансформации вульвы составляют до 15 % у женщин с нелечеными HSIL, ниже 5 % – для HSIL после лечения и приблизительно 30 % – для пациентов с dVIN [44, 45]. Кроме того, dVIN ассоциируется с более коротким временем прогрессирования. В исследовании S.M. Bigby и соавт. средний интервал между биопсией dVIN и диагностикой плоскоклеточной карциномы составлял 43,5 месяца (диапазон 8–102 месяца) [46]. Схожие показатели показало другое исследование, включавшее 1826 женщин с HSIL и 67 женщин с dVIN; у последних был более высокий риск прогрессирования до злокачественного новообразования (32,8 % против 5,7 % соответственно), что происходило в среднем через 22,8 месяца по сравнению с 41,4 месяца для HSIL [47].

Морфологические изменения при HSIL сходны со всеми ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными поражениями, например, как при цервикальной дисплазии высокой степени. Диспластические изменения затрагивают, как правило, всю толщину эпителия, характеризуются выраженным клеточным полиморфизмом, а также нарушением ядерно-цитоплазматического соотношения с гиперхромией ядер. Характерно наличие койлоцитарных изменений в верхних слоях эпителия [45]. Морфологическая диагностика dVIN составляет определённые трудности ввиду невыраженной атипии, высокой степени дифференцировки диспластических клеток, а также из-за отсутствия точных и воспроизводимых диагностических критериев оценки. Характерны пара и дискератоз, базальная ядерная атипия клеток с увеличением их в размерах и наличием ядрышек. Койлоцитарные изменения не обнаруживаются [44, 48]. Однако есть данные о том, что некоторые связанные с ВПЧ предшественники имитируют ВПЧ-независимые поражения, и, напротив, некоторые ВПЧ-независимые интраэпителиальные предшественники могут иметь черты HSIL [25, 49].

**Склероатрофический лихен.** Хроническое воспалительное заболевание аутоиммунной этиологии, характеризующееся морфологически лимфоидной инфильтрацией дермы, гиалинизацией коллагена, а также гиперкератозом. Ранее склероатрофический лихен (LS, lichen sclerosus) обозначался терминами крауроз, лейкоплакия, склеротический лишай или атрофический лихен [45]. Предполагается, что механизм возникновения LS представляет собой воздействие активированных Т-клеток, высвобождающих интерлейкин 4 и трансформирующий фактор роста  $\beta$ , на клетки базального слоя.

Таким образом, эти цитокины активируют фибробласты, что приводит к фиброзу. Длительный хронический процесс приводит к накоплению генетических мутаций [50, 51]. Согласно данным M.D. Trietsch и соавт., частота мутаций *TP53* при LS составляет 6 % [1]. В исследовании L. Micheletti и соавт. среди 976 женщин с диагностированным LS у 34 (3,5 %) пациенток в дальнейшем возникла интраэпителиальная неоплазия, а у 26 (2,7 %) – инвазивная плоскоклеточная карцинома [52]. Ретроспективные когортные исследования показывают, что в прилегающей ткани от 5 до 88 % инвазивных карцином обнаруживается LS, чаще в сочетании с dVIN [4, 46, 53]. Согласно недавно опубликованному систематическому обзору, риск развития ПРВ у женщин с LS составляет от 3 до 21,8 %. Такая вариация, вероятно, обусловлена широким разбросом встречаемости LS в исследованиях, а также диагностическими трудностями в дифференцировании LS от dVIN [54].

**Вульварное аббертанное созревание.** Новый общий термин для обозначения ВПЧ-независимых поражений, сочетающих аббертанное созревание эпителия (VAM, vulvar aberrant maturation) с минимальной ядерной атипией. Он включает дифференцированное экзофитное интраэпителиальное поражение (DEVIL, differentiated exophytic vulvar intraepithelial lesion), акантоз вульвы с изменённой дифференцировкой (VAAD, vulvar acanthosis with altered differentiation), бородавчатый LS [50, 55, 56]. В 2017 г. J. Watkins с коллегами отметили связь между веррукозной (бородавчатой) и ороговевающей плоскоклеточной карциномой, отрицательными по ВПЧ и множеством атипичных бородавчатых поражений, многие из которых ранее не поддавались классификации и не соответствовали традиционным критериям интраэпителиальной неоплазии вульвы или другим известным предшествующим поражениям. Они предложили название DEVIL и определили эти поражения на основании следующих признаков: экзофитные, с выраженным акантозом или бородавчатой гиперплазией; отсутствие гистоморфологических характеристик HSIL; отсутствие базальной атипии, достаточной для постановки диагноза dVIN [36]. VAAD был описан A.F. Nascimento и соавт. ещё в 2004 г. [57], но учитывая схожие гистологические особенности, J. Watkins и соавт. предложили рассматривать его как форму DEVIL. Они показали, что данные поражения демонстрируют отсутствие экспрессии аномального p53, а также значительный рост PIK3CA-мутации. Эти данные позже, в 2020 г., были подтверждены в работе B. Tessier-Cloutier и соавт. [38]. Ввиду редкой встречаемости потенциал злокачественности неинвазивных бородавчатых поражений вульвы, не зависящих от ВПЧ и мутации *TP53* до сих пор неясен. Однако вероятно, что именно они являются предшественниками третьего молекулярного подтипа ПРВ [55].

## МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Исследования, изучающие корреляцию между морфологическим типом карцином и ВПЧ-статусом, пока-

зали, что ВПЧ-положительные опухоли были чаще базалоидного или бородавчатого типа, тогда как ВПЧ-независимые – как правило, ороговевающего типа [20, 44]. Согласно метаанализу, проведённому M.T. Faber и соавт., распространённость ДНК ВПЧ в трёх основных подтипах ПКВ составляет: 76,5 % – в бородавчатых карциномах; 84,0 % – в базалоидных карциномах; 13,2 % – при ороговевающем типе [58]. Однако крупное исследование N. Rakislova и соавт., которое включало большое количество образцов тканей (1594 парафиновых блока), показало, что 36,5 % карцином, ассоциированных с ВПЧ, относились к обычному ороговевающему типу [59]. В своей работе A.S. Cheng и соавт. попытались классифицировать ПРВ как связанный с ВПЧ и не зависящий от него, оценивая морфологию опухоли, прилегающие к ней эпителиальные предшественники и возраст пациенток. Даже используя этот многогранный подход, они неверно классифицировали 17 % случаев в отношении статуса ВПЧ [20]. Схожие данные были получены и в исследовании F. Dong и соавт., в котором результаты молекулярных исследований расходились с морфологической оценкой статуса ВПЧ в 21 % случаев [60]. Эти данные ещё раз подчёркивают невозможность достоверно различить ВПЧ-ассоциированные и ВПЧ-независимые карциномы только лишь на основе морфологического исследования.

Согласно исследованиям, иммуногистохимическое обнаружение экспрессии p16 продемонстрировало высокую корреляцию с обнаружением ДНК ВПЧ методом ПЦР при раке шейки матки, анального канала, а также области головы и шеи и считается надёжным маркером ВПЧ-индуцированного канцерогенеза [21, 61]. Однако работы по изучению связи между p16-позитивностью и ВПЧ-статусом при плоскоклеточном раке вульвы спорны. Так, в крупном когортном многоцентровом исследовании, включающем 1709 образцов, при тестировании на ДНК ВПЧ доля положительных образцов составила 25,1 % ( $n = 429$ ), в то время как p16-позитивность наблюдалась лишь в 22,4 % ( $n = 377$ ) [62]. J.J. Sznurkowsky и соавт. продемонстрировали, что среди 35 образцов ткани со сверхэкспрессией p16 в 10 случаях отсутствовала ДНК ВПЧ (28,6 %), в то время как среди 50 опухолей без сверхэкспрессии p16 ДНК ВПЧ была обнаружена в 12 (24,0 %) случаях [63]. Отсутствие ДНК вируса может быть ложноотрицательным, однако в данном исследовании был использован метод высокочувствительной ПЦР с широким спектром праймеров (более 68 типов). Полученные результаты, вероятно, могут быть объяснены и тем, что инактивация E7 белка Rb, приводящая к экспрессии p16, представляет собой лишь одну потенциальную форму из возможных. Получены данные, показывающие прямое увеличение экспрессии p16 с хронологическим возрастом. В течение средней продолжительности жизни человека увеличение данного белка происходит примерно в 16 раз [64, 65]. Таким образом, поскольку ПРВ диагностируется чаще в возрастной группе 65–70 лет [3, 66], экспрессия p16 может быть обусловлена не воздействием вируса, а влиянием старения. Авторы предлагают не рассматривать только

лишь p16-позитивность как суррогатный маркер ВПЧ-положительного статуса ПРВ [63].

Исследование L. Woelber и соавт., представляющее часть большого ретроспективного исследования в Германии, показало, что из 411 образцов тканей опухолей 204 (49,6 %) были ДНК ВПЧ-положительны, в то время как экспрессия p16 была выявлена в 166 (30,2 %) образцах. ПЦР была положительной в 85,6 % опухолей p16+ (113 из 132) и 32,3 % всех опухолей p16-. Ввиду неясного мутагенеза случаи несоответствия p16 и обнаружения ДНК ВПЧ были исключены из анализа [24].

Однако большинство авторов продемонстрировали убедительную связь между положительным результатом на ДНК ВПЧ в образцах и экспрессией p16 с чувствительностью метода 100 % и специфичностью 98 % [20, 28, 67, 68]. В исследовании G. Allo и соавт. 91 % ПЦР-положительных случаев были также p16-позитивны; таким образом, чувствительность и специфичность составили 91 % и 84 % соответственно [69].

В некоторых исследованиях авторы использовали результат экспрессии p16 как единственный маркер ВПЧ-статуса ПРВ [16, 41, 53]. Ввиду того что сверхэкспрессия p16 может происходить индивидуально и в разных биологических контекстах, возможно, необходимо оценивать присутствие обоих маркеров при определении функциональной значимости ВПЧ в канцерогенезе [21, 70].

Поскольку наиболее часто мутированным геном при ВПЧ-независимом канцерогенезе является *TP53*, в 2020 г. B. Tessier-Cloutier и соавт. и K.E. Kortekaas и соавт. опубликовали исследования, в которых показали высокую корреляцию интерпретации экспрессии p53 методом ИГХ с его мутационным статусом [71, 72]. Согласно их результатам, ИГХ-оценка экспрессии p53 в образцах карцином вульвы отличается от интерпретации таковой при карциномах яичников и эндометрия [73, 74]. До их исследования большинство авторов в своих работах определяли аномальное окрашивание p53, учитывая только лишь процент окрашиваемых клеток, и не принимали во внимание их распределение среди слоёв эпителия [7, 60, 75–77]. В новом исследовании удалось продемонстрировать шесть различных паттернов окрашивания: четыре отображали экспрессию p53mut, а два – нормальную (дикую) экспрессию p53wt. Авторы отмечают, что в случаях затруднения оценки паттернов, особенно дикого типа, необходима интерпретация окрашивания p53 в сочетании с p16.

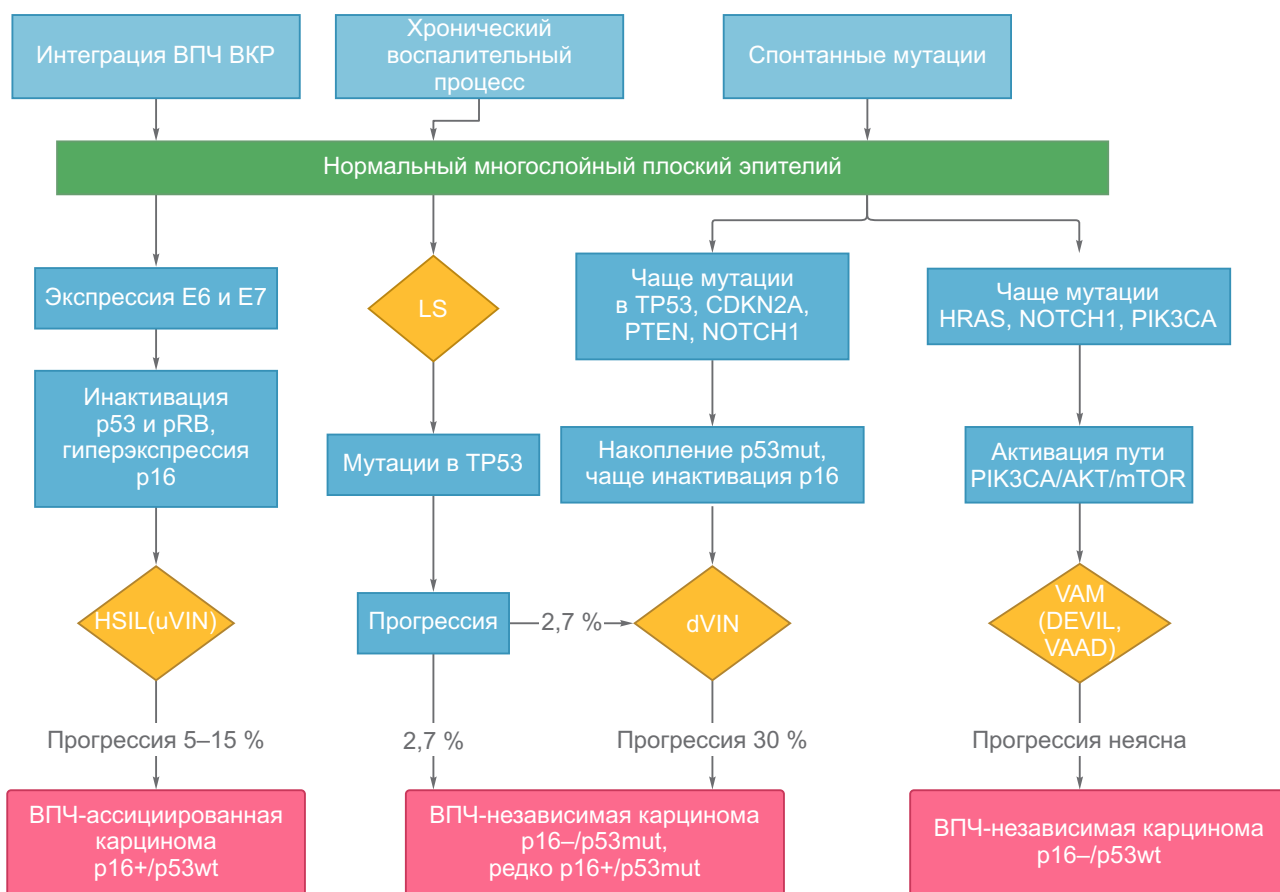
Таким образом, при помощи ИГХ-исследования можно выделить три молекулярных подтипа ПРВ: 1) p16+/p53wt связан с ВПЧ-инфекцией; 2) p16-/p53mut, реже p16+/p53mut, соответствует ВПЧ-независимой карциноме с мутацией *TP53*; 3) p16-/p53wt является ВПЧ-независимым и не связан с мутацией *TP53*. Стоит отметить, что ИГХ-исследование полезно также для дифференциальной диагностики VIN, поскольку HSIL, как правило, демонстрирует блочно-положительное окрашивание p16 и паттерн экспрессии p53wt, в то время как dVIN не показывает экспрессию для p16 и демонстрирует паттерн мутантного p53 [49, 50].

Онкопротеины p16 и p53 являются наиболее изученными биомаркерами для диагностики ПКВ. Менее изученным остаётся вопрос о целесообразности определения экспрессии PDL-1 в иммунных и опухолевых клетках при раке вульвы. Проведённые исследования показали, что экспрессия данного маркера не зависит от ВПЧ-статуса опухоли; кроме того, отмечается несоответствие определения экспрессии в первичном и метастатическом очаге карциномы. [23, 78]. Прогностическое значение PD-L1 исследовано недостаточно, однако полученные данные указывают на то, что его положительная экспрессия в значительной степени связана с метастазированием процесса в лимфоузлы, а также с худшим прогнозом общей выживаемости у пациенток [23, 79].

**Прогностическое значение p16 и p53.** Исследования последних лет показывают, что ИГХ-определение экспрессии p16 и p53 возможно также использовать в качестве молекулярных маркеров прогноза заболевания. В своей работе K.E. Kortekaas и соавт. показали, что показатели выживаемости среди трёх молекулярных подтипов плоскоклеточных карцином различны [5]. Общая 5-летняя выживаемость составила 83 % (69,9–90,3 %), 64 % (48,9–75,9 %) и 48 % (41,5–55,0 %) для p16+/p53wt, p16-/p53wt и p16-/p53mut ПРВ соответственно. Аналогичная картина наблюдалась для относительной выживаемости. Среди 275 p16-/p53mut случаев было 119 (43 %) рецидивов по сравнению с 16 из 63 (25 %) и 11 из 75 (15 %) для p16-/p53wt и p16+/p53wt соответственно ( $p < 0,0001$ ). Однако время до возникновения рецидива между подтипами не различалось. L.S. Nooji и соавт. также продемонстрировали лучшую общую и безрецидивную выживаемость для пациенток с ВПЧ-ассоциированным раком, однако разница не была статистически значимой [25]. Пятилетняя выживаемость составила 75 %, 62,7 % и 56,3 % для пациенток с опухолями p16+/p53wt, p16-/p53wt и p16-/p53mut соответственно ( $p = 0,296$ ). Вероятность развития рецидива была выше в группах p16-/p53mut (22,6 %) и p16-/p53wt (16,3 %) по сравнению с p16+/p53wt (5,3 %). В недавно опубликованном исследовании L. Woelber с коллегами также изучали клиническую значимость экспрессии p16 и p53 [24]. Показатели двухлетней общей выживаемости составили 70,4 % (p16-/p53mut), 75,4 % (p16-/p53wt) и 82,5 % (p16+/p53wt) ( $p = 0,005$ ). Для двухлетней безрецидивной выживаемости получены следующие показатели: 47,1 % (p16-/p53mut), 60,2 % (p16-/p53wt) и 63,9 % (p16+/p53wt) ( $p < 0,001$ ). Риск развития рецидива составлял 35,0 %, 32,0 % и 22,7 % для групп p16-/p53mut, p16-/p53wt и p16+/p53wt соответственно. Однако, учитывая небольшое количество статей, оценивающих исходы всех трёх молекулярных подтипов, требуются дальнейшие исследования в этом направлении.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Плоскоклеточный рак вульвы может возникать из предшествующих поражений несколькими патогенетическими путями, являясь ВПЧ-ассоциированным



**РИС. 1.** Предопухолевые состояния (HSIL, dVIN и VAM) и молекулярные подтипы плоскоклеточной карциномы вульвы (ВПЧ-ассоциированная и ВПЧ-независимая), диагностируемые при помощи ИГХ-исследования экспрессии p16 и p53

**FIG. 1.** Precancerous lesions (HSIL, dVIN and VAM) and molecular subtypes of vulvar squamous cell carcinoma (HPV-associated and HPV-independent) diagnosed by immunohistological analysis of p16 and p53 expression

либо ВПЧ-независимым. Обобщив литературные данные, мы составили схему вероятных путей патогенеза ПРВ (рис. 1). В то время как морфологически эти карциномы часто являются сходными, механизмы канцерогенеза и предшественники, а также клинические исходы у них различны. Иммуногистохимическое исследование является распространённым и доступным методом, позволяющим определить молекулярный подтип карциномы, а также улучшить диагностику предопухолевых состояний ПКВ. В то же время использование биомаркеров p16 и p53 в качестве дополнительных предикторов исхода заболевания представляет большой интерес. Открытым остаётся вопрос о поиске новых диагностических и прогностических биомаркеров заболевания, например, PD-L1. Изучение его роли в канцерогенезе наружных половых органов заслуживает внимания, поскольку открывает возможности применения в лечении новых терапевтических подходов, таких как ингибирование иммунных контрольных точек. Следует также рассмотреть возможность нацеливания ингибиторами на путь PI3K/Akt/mTOR, мутации которого распространены как в ВПЧ-ассоциированных карциномах, так и в ВПЧ-независимых. Однако учитывая ред-

кую частоту встречаемости данного заболевания, необходимы дальнейшие проспективные многоцентровые исследования.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES**

1. Trietsch MD, Nooij LS, Gaarenstroom KN, van Poelgeest MI. Genetic and epigenetic changes in vulvar squamous cell carcinoma and its precursor lesions: A review of the current literature. *Gynecol Oncol.* 2015; 136: 143-157. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.002
2. 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
3. Preti M, Rotondo JC, Holzinger D, Micheletti L, Gallio N, McKay-Chopin S, et al. 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

4. Eva LJ, Sadler L, Fong KL, Sahota S, Jones RW, Bigby SM. Trends in HPV-dependent and HPV-independent vulvar cancers: The changing face of vulvar squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2020; 157(2): 450-455. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.01.029
5. Kortekaas KE, Bastiaannet E, van Doorn HC, de Vos van Steenwijk PJ, Ewing-Graham PC, Creutzberg CL, et al. 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
6. Rasmussen CL, Sand FL, Frederiksen MF, Andersen KK, Kjaer SK. Does HPV status influence survival after vulvar cancer? *Int J Cancer.* 2018; 142(6): 1158-1165. doi: 10.1002/ijc.31139
7. Sand FL, Nielsen DMB, Frederiksen MH, Rasmussen CL, Kjaer SK. The prognostic value of p16 and p53 expression for survival after vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2019; 152(1): 208-217. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.10.015
8. Carreras-Dieguez N, Guerrero J, Rodrigo-Calvo MT, Ribera-Cortada I, Trias I, Jares P, et al. Molecular landscape of vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(13): 7069. doi: 10.3390/ijms22137069
9. *Female genital tumours: WHO classification of tumours*; 5<sup>th</sup> ed. Lyon, France: International Agency for Research in Cancer; 2020.
10. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2: 342-350. doi: 10.1038/nrc798
11. Berman TA, Schiller JT. Human papillomavirus in cervical cancer and oropharyngeal cancer: One cause, two diseases. *Cancer.* 2017; 123(12): 2219-2229. doi: 10.1002/cncr.30588
12. Mills AM, Dirks DC, Poulter MD, Mills SE, Stoler MH. HR-HPV E6/E7 mRNA in situ hybridization: Validation against PCR, DNA in situ hybridization, and p16 immunohistochemistry in 102 samples of cervical, vulvar, anal, and head and neck neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2017; 41(5): 607-615. doi: 10.1097/PAS.0000000000000800
13. Prieske K, Alawi M, Oliveira-Ferrer L, Jaeger A, Eylmann K, Burandt E, et al. Genomic characterization of vulvar squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2020; 158(3): 547-554. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.06.482
14. Singh N, Gilks CB. Vulvar squamous cell carcinoma and its precursors. *Histopathology.* 2020; 76(1): 128-138. doi: 10.1111/his.13989
15. Ward M, Amarnath S. *Vulvar cancer. Essentials of clinical radiation oncology.* NY: Springer Publishing Co; 2017: 430-437.
16. Dohopolski MJ, Horne ZD, Pradhan D, Bhargava R, Edwards RP, Kelley JL, et al. The prognostic significance of p16 status in patients with vulvar cancer treated with vulvectomy and adjuvant radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019; 103(1): 152-160. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.08.014
17. Rodrigues IS, Lavorato-Rocha AM, Stiepcich MM, de Carvalho FM, Baiocchi G, et al. 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
18. van de Nieuwenhof HP, van Kempen LC, de Hullu JA, Bekkers RLM, Bulten J, Melchers WJG, et al. The etiologic role of HPV in vulvar squamous cell carcinoma fine tuned. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(7): 2061-2067. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0209
19. Weberpals JI, Lo B, Duciaume MM, Spaans JN, Clancy AA, Dimitroulakos J, et al. 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
20. Cheng AS, Karnezis AN, Jordan S, Singh N, McAlpine JN, Gilks CB. p16 immunostaining allows for accurate subclassification of vulvar squamous cell carcinoma into HPV-associated and HPV-independent cases. *Int J Gynecol Pathol.* 2016; 35(4): 385-393. doi: 10.1097/PGP.0000000000000263
21. Prigge ES, von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M. Clinical relevance and implications of HPV-induced neoplasia in different anatomical locations. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017; 772: 51-66. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.06.005
22. Barlow EL, Lambie N, Donoghoe MW, Naing Z, Hacker NF. The clinical relevance of p16 and p53 status in patients with squamous cell carcinoma of the vulva. *J Oncol.* 2020; 2020: 3739075. doi: 10.1155/2020/3739075
23. Garganese G, Inzani F, Fragomeni SM, Mantovani G, Corte L, Piermattei A, et al. The Vulvar Immunohistochemical Panel (VIP) project: Molecular profiles of vulvar squamous cell carcinoma. *Cancers.* 2021; 13(24): 6373. doi: 10.3390/cancers13246373
24. Woelber L, Prieske K, Eulenburg C, Oliveira-Ferrer L, de Gregorio N, Klapdor R, et al. p53 and p16 expression profiles in vulvar cancer: A translational analysis by the Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie Chemo and Radiotherapy in Epithelial Vulvar Cancer study group. *Am J Obstet Gynecol.* 2021; 224(6): 1-11. doi: 10.1016/j.ajog.2020.12.1220
25. Nooij LS, Ter Haar NT, Ruano D, Rakislova N, van Wezel T, Smit THBM, et al. 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
26. Bonde JH, Sandri M-T, Gary DS, Andrews JC. Clinical utility of human papillomavirus genotyping in cervical cancer screening: A systematic review. *J Low Genit Tract Dis.* 2020; 24(1): 1-13. doi: 10.1097/LGT.0000000000000494
27. 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
28. Del Pino M, Rodriguez-Carunchio L, Ordi J. Pathways of vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Histopathology.* 2013; 62(1): 161-175. doi: 10.1111/his.12034
29. Zieba S, Chechlinska M, Kowalik A, Kowalewska M. Genes, pathways and vulvar carcinoma – New insights from next-generation sequencing studies. *Gynecol Oncol.* 2020; 158(20): 498-506. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.05.034
30. Li S, Hong X, Wei Z, Xie M, Li W, Liu G, et al., Ubiquitination of the HPV oncoprotein E6 is critical for E6/E6AP-mediated p53 degradation. *Front Microbiol.* 2019; 10: 2483. doi: 10.3389/fmicb.2019.02483
31. Hoppe-Seyler K, Bossler F, Braun JA, Herrmann AL, Hoppe-Seyler F. The HPV E6/E7 oncogenes: Key factors for viral carcinogenesis and therapeutic targets. *Trends Microbiol.* 2018; 26(2): 158-168. doi: 10.1016/j.tim.2017.07.007
32. Estevao D, Costa NR, Gil da Costa RM, Medeiros R. Hallmarks of HPV carcinogenesis: The role of E6, E7 and E5 oncoproteins in cellular malignancy. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2019; 1862(2): 153-162. doi: 10.1016/j.bbtagrm.2019.01.001
33. Xing D, Liu Y, Park HJ, Baek I, Tran H, Cheang G, et al. Recurrent genetic alterations and biomarker expression in primary



and metastatic squamous cell carcinomas of the vulva. *Hum Pathol*. 2019; 92: 67-80. doi: 10.1016/j.humpath.2019.08.003

34. Liu Y, Ji J, Almadani N, Crawford R, Gilks C, Kinloch M, et al. Comparison of p53 immunohistochemical staining in differentiated vulvar intraepithelial neoplasia (dVIN) to inflammatory dermatoses and benign squamous lesions in the vulva. *Histopathology*. 2021; 78(3): 424-433. doi: 10.1111/his.14238

35. Kashofer K, Regauer S. Analysis of full coding sequence of the TP53 gene in invasive vulvar cancers: Implications for therapy. *Gynecol Oncol*. 2017; 146(2): 314-318. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.05.018

36. Watkins JC, Howitt BE, Horowitz NS, Ritterhouse LL, Dong F, MacConaill LE, et al. Differentiated exophytic vulvar intraepithelial lesions are genetically distinct from keratinizing squamous cell carcinomas and contain mutations in PIK3CA. *Mod Pathol*. 2017; 30(3): 448-458. doi: 10.1038/modpathol.2016.187

37. Rakislova N, Alemany L, Clavero O, Saco A, Torné A, del Pino M, et al. p53 immunohistochemical patterns in HPV-independent squamous cell carcinomas of the vulva and the associated skin lesions: A study of 779 cases. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(21): 8091. doi: 10.3390/ijms21218091

38. Tessier-Cloutier B, Pors J, Thompson E, Ho J, Prentice L, McConechy M, et al. Molecular characterization of invasive and in situ squamous neoplasia of the vulva and implications for morphologic diagnosis and outcome. *Mod Pathol*. 2021; 34(2): 508-518. doi: 10.1038/s41379-020-00651-3

39. Williams EA, Werth AJ, Sharaf R, Montesin M, Sokol ES, Pavlick DC, et al. Vulvar squamous cell carcinoma: Comprehensive genomic profiling of HPV+ versus HPV- forms reveals distinct sets of potentially actionable molecular targets. *JCO Precis Oncol*. 2020; 4: 647-661. doi: 10.1200/PO.19.00406

40. Han MR, Shin S, Park HC, Kim MS, Lee SH, Jung SH, et al. Mutational signatures and chromosome alteration profiles of squamous cell carcinomas of the vulva. *Exp Mol Med*. 2018; 50(2): e442. doi: 10.1038/emm.2017.265

41. Proctor L, Hoang L, Moore J, Thompson E, Leung S, Natesan D, et al. Association of human papilloma virus status and response to radiotherapy in vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2020; 30(1): 100-106. doi: 10.1136/ijgc-2019-000793

42. Pils S, Gensthaler L, Alemany L, Horvat R, de Sanjose S, Joura EA. HPV prevalence in vulvar cancer in Austria. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2017; 129: 805-809. doi: 10.1007/s00508-017-1255-2

43. Wakeham K, Kavanagh K, Cuschieri K, Millan D, Pollock KG, Bell S, et al. HPV status and favourable outcome in vulvar squamous cancer. *Int J Cancer*. 2017; 140(5): 1134-1146. doi: 10.1002/ijc.30523

44. Hoang LN, Park KJ, Soslow RA, Murali R. Squamous precursor lesions of the vulva: Current classification and diagnostic challenges. *Pathology*. 2016; 48(4): 291-302. doi: 10.1016/j.pathol.2016.02.015

45. Cohen PA, Anderson L, Eva L, Scurry J. Clinical and molecular classification of vulvar squamous pre-cancers. *Int J Gynecol Cancer*. 2019; 29(4): 821-828. doi: 10.1136/ijgc-2018-000135

46. Bigby SM, Eva LJ, Fong KL, Jones RW. The natural history of vulvar intraepithelial neoplasia, differentiated type: Evidence for progression and diagnostic challenges. *Int J Gynecol Pathol*. 2016; 35(6): 574-584. doi: 10.1097/PGP.0000000000000280

47. van de Nieuwenhof HP, Massuger LF, van der Avoort IA, Bekkers RLM, Casparie M, Abma W, et al. Vulvar squamous cell

carcinoma development after diagnosis of VIN increases with age. *Eur J Cancer*. 2009; 45(5): 851-856. doi: 10.1016/j.ejca.2008.11.037

48. Jin C, Liang S. Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia: A brief review of clinicopathologic features. *Arch Pathol Lab Med*. 2019; 143(6): 768-771. doi: 10.5858/arpa.2018-0019-RS

49. Rakislova N, Alemany L, Clavero O, Del Pino M, Saco A, Marimon L, et al. HPV-independent precursors mimicking high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) of the vulva. *Am J Surg Pathol*. 2020; 44(11): 1506-1514. doi: 10.1097/PAS.0000000000001540

50. Heller DS, Day T, Allbritton JI, 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

51. Perez-Lopez FR, Vieira-Baptista P. Lichen sclerosis in women: A review. *Climacteric*. 2017; 20(4): 339-347. doi: 10.1080/13697137.2017.1343295

52. Micheletti L, Preti M, Radici G, Boveri S, Di Pumpo O, Privitera SS, et al. Vulvar lichen sclerosis and neoplastic transformation: A retrospective study of 976 cases. *J Low Genit Tract Dis*. 2016; 20(2): 180-183. doi: 10.1097/LGT.0000000000000186

53. McAlpine JN, Leung SCY, Cheng A, Miller D, Talhouk A, Gilks CBG, et al. Human papillomavirus (HPV)-independent vulvar squamous cell carcinoma has a worse prognosis than HPV-associated disease: A retrospective cohort study. *Histopathology*. 2017; 71(2): 238-246. doi: 10.1111/his.13205

54. Leis M, Singh A, Li C, Ahluwalia R, Fleming P, Lynde CW. Risk of vulvar squamous cell carcinoma in lichen sclerosis and lichen planus: A systematic review. *J Obstet Gynaecol Can*. 2022; 44(2): 182-192. doi: 10.1016/j.jogc.2021.09.023

55. Roy SF, Wong JW, Page CL, Tran-Thanh D, Barkati M, Pina A, et al. DEVIL, VAAD and vLSC constitute a spectrum of HPV-independent, p53-independent intra-epithelial neoplasia of the vulva. *Histopathology*. 2021; 79(6): 975-988. doi: 10.1111/his.14451

56. Day T, Marzol A, Pagano R, Jaaback K, Scurry J. Clinicopathologic diagnosis of vulvar intraepithelial neoplasia and vulvar aberrant maturation. *J Lower Genit Tract Dis*. 2020; 24(4): 317-329. doi: 10.1097/LGT.0000000000000569

57. Nascimento AF, Granter SR, Cviko A, Yuan L, Hecht JL, Crum CP. Vulvar acanthosis with altered differentiation: A precursor to verrucous carcinoma? *Am J Surg Pathol*. 2004; 28(5): 638-643. doi: 10.1097/00000478-200405000-00012

58. Faber MT, Sand FL, 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

59. Rakislova N, Clavero O, Alemany L, Saco A, Quirós B, Lloveras B, et al. Histological characteristics of HPV-associated and -independent squamous cell carcinomas of the vulva: A study of 1594 cases. *Int J Cancer* 2017; 141(12): 2517-2527. doi: 10.1002/ijc.31006

60. Dong F, Kojiro S, Borger DR, Growdon WB, Oliva E. Squamous cell carcinoma of the vulva: a subclassification of 97 cases by clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular features (p16, p53, and EGFR). *Am J Surg Pathol*. 2015; 39: 1045-1053. doi: 10.1097/PAS.0000000000000454

61. Koerber SA, Schoneweg C, Slynko A, Krug D, Haefner MF, Herfarth K, et al. Influence of human papillomavirus and p16(INK4a) on treatment outcome of patients with anal

cancer. *Radiother Oncol.* 2014; 113(3): 331-336. doi: 10.1016/j.radonc.2014.11.013

62. De Sanjosé S, Alemany L, Ordi J, Tous S, Alejo M, Bigby SM, et al. Worldwide human papillomavirus genotype at distribution 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

63. Sznurkowski JJ, Zawrocki A, Biernat W. The overexpression of p16 is not a surrogate marker for high-risk human papilloma virus genotypes and predicts clinical outcomes for vulvar cancer. *BMC Cancer.* 2016; 16: 465. doi: 10.1186/s12885-016-2503-y

64. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell.* 2006; 127(2): 265-275. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.003

65. LaPak KM, Burd CE. The molecular balancing act of p16(INK4a) in cancer and aging. *Mol Cancer Res.* 2014; 12(2): 167-183. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0350

66. Hacker NF, Eifel PJ, van der Velden J. Cancer of the vulva. *Int J Gynecol Obstet.* 2015; 131: 76-83. doi: 10.1016/j.ijgo.2015.06.002

67. Santos M, Landolfi S, Olivella A, Lloveras B, Klostermeier J, Suárez H, et al. p16 overexpression identifies HPV-positive vulva squamous cell carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2006; 30(11): 1347-1356. doi: 10.1097/01.pas.0000213251.82940.bf

68. Cao H, Wang S, Zhang Z, Lou J. Prognostic value of overexpressed p16INK4a in vulvar cancer: A meta-analysis. *PLoS One.* 2016; 11(3): e0152459. doi: 10.1371/journal.pone.0152459

69. Allo G, Yap ML, Cuartero J, Milosevic M, Ferguson S, Mackay H, et al. HPV-independent vulvar squamous cell carcinoma is associated with significantly worse prognosis compared with HPV-associated tumors. *Int J Gynecol Pathol.* 2020; 39(4): 391-399. doi: 10.1097/PGP.0000000000000620

70. von Knebel Doeberitz M. The causal role of human papillomavirus infections in non-anogenital cancers. It's time to ask for the functional evidence. *Int J Cancer.* 2016; 139: 9-11. doi: 10.1002/ijc.30059

71. Tessier-Cloutier B, Kortekaas KE, Thompson E, Pors J, Chen J, Ho J, et al. Major p53 immunohistochemical patterns

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

72. Kortekaas KE, Solleveld-Westerink N, Tessier-Cloutier B, Rutten TA, Van Poelgeest M, Gilks CB, et al. 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

73. Köbel M, Ronnett BM, Singh N, Soslow RA, Gilks CB, McCluggage WG. Interpretation of P53 immunohistochemistry in endometrial carcinomas: Toward increased reproducibility. *Int J Gynecol Pathol.* 2019; 38: 123-131. doi: 10.1097/PGP.0000000000000488

74. Na K, Sung JY, Kim HS. TP53 mutation status of tubo-ovarian and peritoneal high-grade serous carcinoma with a wild-type p53 immunostaining pattern. *Anticancer Res.* 2017; 37(12): 6697-6703. doi: 10.21873/anticancer.12128

75. Hay CM, Lachance JA, Lucas FL, Smith KA, Jones MA. Biomarkers p16, human papillomavirus and p53 predict recurrence and survival in early stage squamous cell carcinoma of the vulva. *J Low Genit Tract Dis.* 2016; 20(3): 252-256. doi: 10.1097/LGT.0000000000000182

76. Falcón MF, Paradedá MF, Kamermann FG, Maldonado V, Díaz L, Cardinal L. Immunohistochemistry of p16 and p53 in vulvar cancer. *Medicina (B Aires).* 2020; 80(2): 127-133.

77. Choschzick M, Hantaredja W, Tennstedt P, Gieseking F, Wölber L, Simon R. Role of TP53 mutations in vulvar carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2011; 30: 497-504. doi: 10.1097/PGP.0b013e3182184c7a

78. Czogalla B, Pham D, Trillsch F, Rottmann M, Gallwas J, Burges A, et al. PD-L1 expression and survival in p16-negative and positive squamous cell carcinomas of the vulva. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020; 146: 569-577. doi: 10.1007/s00432-020-03126-9

79. Sznurkowski JJ, Zawrocki A, Sznurkowska K, Peksa R, Biernat W. PD-L1 expression on immune cells is a favorable prognostic factor for vulvar squamous cell carcinoma patients. *Oncotarget.* 2017; 8: 89903-89912. doi: 10.18632/oncotarget.20911

#### Сведения об авторах

**Пахарукова Мария Игоревна** – биолог лаборатории цитологии ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»; младший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии, ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, e-mail: Pakharukovami@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6019-3463>

**Юшков Борис Германович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии, ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, e-mail: b.yushkov@iip.uran.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6368-0099>

**Бейкин Яков Борисович** – доктор биологических наук, профессор, главный врач, ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург»; заведующий лабораторией иммунопатофизиологии, ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, e-mail: inbox@kdc-lab.ru

#### Information about the authors

**Maria I. Pakharukova** – Biologist at the Laboratory of Cytology, Clinical Diagnostic Center of Yekaterinburg; Junior Research Officer at the Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Pakharukovami@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6019-3463>

**Boris G. Yushkov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: b.yushkov@iip.uran.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6368-0099>

**Yakov B. Beikin** – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Chief Physician, Clinical Diagnostic Center of Yekaterinburg; Head of the laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: inbox@kdc-lab.ru