

В. В. Дунаєвська¹, І. М. Шакало², М. С. Кротевич¹, С. С. Трохимович¹
НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ¹, КИЇВ
ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ, АКУШЕРСТВА І ГІНЕКОЛОГІЇ ІМЕНІ АКАДЕМІКА О. М. ЛУК'ЯНОВОЇ²
НАМН УКРАЇНИ², КИЇВ

ОЦІНКА БІЛКОВИХ МАРКЕРІВ ЗЛОЯКІСНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ПРИ СКЛЕРОЗУЮЧОМУ ЛІХЕНІ ВУЛЬВИ

Вступ. Склерозуючий ліхен – хронічне Т-клітинне запальне захворювання шкіри зі спектром клініко-патологічних проявів невідомих етіології та патогенезу. Точні причини і патогенез склерозуючого ліхену вульви до кінця не відомі, але у виникненні цього захворювання відіграють роль автоімунні, генетичні, гормональні та інфекційні фактори, а також різна патологія нервової системи.

Мета дослідження – провести імуногістохімічну оцінку та дослідження молекулярних біомаркерів p53, p16, Ki-67, які можуть вказувати на передракові зміни вульви.

Методи дослідження. У дослідження було залучено 34 жінки віком від 61 до 74 років, середній вік яких на момент встановлення діагнозів склерозуючого ліхену вульви, вульварної інтраепітеліальної неоплазії та лейкоплакії вульви становив (67,2±3,7) року за даними клінічних баз Національного інституту раку і МЦ “Верум”, з типовими клінічними ознаками ураження вульви. Усім пацієнткам було проведено біопсію вульви для встановлення правильного діагнозу, уточнення діагнозу склерозуючого ліхену вульви і при діагностичній невизначеності та підозрі на неоплазію.

Результати й обговорення. Проведена всім хворим біопсія показала ряд гістологічних ознак. У деяких пацієнток (79,4 %) спостерігали класичні ознаки склерозуючого ліхену вульви, іноді з ділянками виразок, які могли бути викликані подряпинами. В інших (11,8 %) діагностовано дисплазію легкого і помірного ступенів та склерозуючий ліхен вульви. Також діагностовано і плоскоклітинний рак (8,8 %). Імуногістохімічні дослідження всім хворим було проведено за аналізом імунозабарвлення молекулярних маркерів p53, Ki-67 і p16, які містяться в ядрі, їх добре вивчено при плоскоклітинному внутрішньоепітеліальному ураженні високого ступеня та диференційованій вульварній інтраепітеліальній неоплазії.

Висновок. Біомаркери p53, p16 та Ki-67 показали перспективність у ретроспективних дослідженнях тканин. Імуногістохімічні дослідження не тільки підтвердили гістологічні висновки, але й допомогли визначити ступінь дисплазії при діагностиці склерозуючого ліхену вульви.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: склерозуючий ліхен вульви; плоскоклітинний рак вульви; вульварна інтраепітеліальна неоплазія; білкові маркери; імуногістохімічні дослідження; p53; p16; Ki-67.

ВСТУП. Склерозуючий ліхен – хронічне Т-клітинне запальне захворювання шкіри зі спектром клініко-патологічних проявів невідомих етіології та патогенезу [1, 2]. Це рідкісне і потенційно серйозне захворювання, що уражає шкіру статевих органів, найчастіше – аногенітальну ділянку, не менше в 10 % випадків – вульву [3]. Склерозуючий ліхен вульви (СЛВ) набагато частіше трапляється в жінок, ніж у чоловіків. У жінок його виявляють у будь-якому віці, однак біомодальний пік захворюваності припадає на дівчат препубертатного віку та жінок у постменопаузальний період [4, 5].

© В. В. Дунаєвська, І. М. Шакало, М. С. Кротевич, С. С. Трохимович, 2022.

Точні причини і патогенез СЛВ до кінця не відомі, але у виникненні цього захворювання відіграють роль автоімунні, генетичні, гормональні та інфекційні фактори, а також різна патологія нервової системи [6, 7].

Модифікації тканин, які відбуваються при СЛВ, викликають ряд атрофічних змін у структурах вульви. Склерозуючий ліхен вульви є важливою умовою для правильної діагностики з двох причин. По-перше, якщо ефективно не лікувати, хвороба може спричинити значне рубцювання, зменшення і деформацію вульви, стеноз інтроїту, що впливає на якість життя. По-друге, це фактор ризику виникнення злоякісної плоскоклітинної неоплазії вульви, включаю-

чи інвазивний плоскоклітинний рак та вульварну інтраепітеліальну неоплазію (vulvar intraepithelial neoplasia – VIN) з ризиком протягом усього життя при відсутності або неправильно лікуванні, що становить 2–6 % [8, 9]. Найпоширенішим симптомом СЛВ є свербіж (93 %), часто тяжкого характеру, що порушує життя і сон. Іноді виникає біль у результаті екскоріації або розтріскування [10]. Може з'явитися тривожна гіперестезія клітора, а також значно поширена диспареунія. Іншими симптомами є дизурія, сексуальна дисфункція і кровотеча зі шкірних тріщин вульви та періанальної шкіри. Склерозуючий ліхен вульви має значний вплив на якість життя і сексуальне функціонування [11]. Однак у ряді випадків він може перебігати абсолютно безсимптомно, хворобу виявляє випадково пацієнт або лікар загальної практики під час проведення ПАП-тесту мазка. Це буває небезпечним, оскільки безсимптомне захворювання, не виявлене завчасно пацієнтом, може призвести до появи карциноми [12]. Про зв'язок СЛВ із підвищеним ризиком розвитку раку вульви і піхви йдеться в роботі P. Halonen та співавт. [13], які, проаналізувавши дані Фінського реєстру раку, ідентифікували всіх жінок з діагнозом склерозуючого ліхену і 812 онкологічних захворювань серед пацієнтів із склерозуючим ліхеном. Автори дійшли висновку, що СЛВ був асоційований з підвищеним ризиком розвитку раку вульви (182 випадки, SIR: 33,6, 95 % ДІ 28,9–38,6) та раку піхви (4 випадки, SIR: 3,69, 95 % ДІ 1,01–9,44). У роботі M. C. Bleeker та співавт., за даними про жінок з діагнозом патології вульви в Нідерландах, які було отримано з Голландського реєстру патології, повідомляється про зростання захворюваності на СЛВ, тому потрібна особлива увага, зокрема, жінкам із супутньою VIN через високий ризик розвитку раку [14].

На сьогодні недостатньо даних про роль біомаркерів у прогнозуванні прогресування СЛВ у плоскоклітинний рак. Відомо про обширний пошук білкових маркерів PubMed та MEDLINE, виявлених на ранніх стадіях плоскоклітинного раку вульви і статевого члена, та їх значення у виникненні асоційованих склерозних уражень ліхену [15]. Клінічно бракує розуміння того, як відокремити випадки склерозуючого ліхену в жінок, який залишається доброякісним, від тих, яким загрожує прогресування до плоскоклітинного раку. Кілька білкових маркерів є перспективними для подальшого окреслення патобіології СЛВ, диференційованої VIN (dVIN) і потенційної злоякісної трансформації в плоскоклітинний рак [15–17].

Деякі маркери, включаючи p53, Ki-67, у-H2AX, MCM3 і циклін D1, були задіяні як мар-

кери-попередники злоякісної трансформації склерозуючого ліхену в плоскоклітинний рак. Значення цих білків збільшується при СЛВ та плоскоклітинному раку. Біомаркер p16 надмірно експресується при плоскоклітинному раку вульви, пов'язаному з інфекцією вірусу папіломи людини (ВПЛ), але існують суперечливі повідомлення про його експресію при склерозуючому ліхені. Маркери ангиогенезу – фактор росту ендотелію судин і циклооксигеназа-2 експресуються на вищих рівнях, а щільність мікросудин збільшується при СЛВ та плоскоклітинному раку [15]. Незалежний від ВПЛ плоскоклітинний рак вульви та його попередники часто містять мутації TP53. Нещодавно було визначено 6 імуногістохімічних моделей p53, які продемонстрували кореляцію з мутаційним статусом TP53 [17]. Нова система імуногістохімічної інтерпретації p53 має високу кореляцію з мутаційним статусом TP53, з 95 % відповідністю плоскоклітинному раку і 93 % – внутрішньоепітеліальним ураженням [18]. Також є дані про імуногістохімічні маркери CK17 і SOX2, які разом із p53 можуть допомогти у встановленні гістологічного діагнозу dVIN [16].

У дослідженні I. A. van der Avoort та співавт. повідомляється, що, за даними вимірювання плоідності ДНК, dVIN має вищий злоякісний потенціал, ніж СЛВ, і, таким чином, є більш вірогідним попередником плоскоклітинного раку. Крім того, висока експресія p53 корелює зі зростанням вмісту ДНК та анеуплоїдією [19].

Мета дослідження – провести імуногістохімічну оцінку та дослідження молекулярних біомаркерів p53, p16, Ki-67, які можуть вказувати на передракові зміни вульви.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідження було залучено 34 жінки віком від 61 до 74 років, середній вік яких на момент встановлення діагнозів СЛВ, VIN та лейкоплакії вульви становив (67,2±3,7) року за даними клінічних баз Національного інституту раку та МЦ “Верум”, з типовими клінічними ознаками ураження вульви. Пацієнтки брали участь у дослідженні на підставі письмової згоди. Основним симптомом був дерматоз, тому більшість жінок (90 %) скаржилася на свербіж або біль, ураження шкіри в ділянці вульви та промежини, сухість і відчуття стягування в ділянці вульви, печіння при сечовипусканні, 40 % жінок – на сильний вогнищевий свербіж. Ускладненнями СЛВ є звуження входу в піхву, розвиток фімозу, уретрального стенозу, порушення сечовипускання і дефекації. Склерозуючий ліхен статевих органів пов'язаний з більшим ризиком розвитку плоскоклітинної карциноми (ПКК) зовнішніх статевих органів у жінок.

Усім пацієнткам було проведено біопсію вульви для встановлення правильного діагнозу, уточнення діагнозу СЛВ і при діагностичній невизначеності та підозрі на неоплазію. Диференційована діагностика білого нальоту в аномаліях шкіри включає ліхеніфікований склерозуючий ліхен, склерозуючий ліхен з мікотичною суперінфекцією, межу ерозивного плоского лишаю, аберантне дозрівання вульви та плоскоклітинне внутрішньоепітеліальне ураження високого ступеня (HSIL) [20]. Індикаторами мікозу є еритема, набряк губ, виділення з піхви, супутні ураження, ерозії, тріщини та кератинові уламки. Білі бляшки, асоційовані з ерозивним плоским лишаєм, тонкі, добре відмежовані, розташовані поруч із глаурованою червоною плямою, однорідні за кольором і текстурою [21]. Аберантне дозрівання вульви добре відмежоване, товсте або бородавчасте. Плоскоклітинне внутрішньоепітеліальне ураження високого ступеня відрізняється за розміром, формою, кількістю уражень і товщиною, але зазвичай проявляється у вигляді білого, сірого, червоного, рожевого, коричневого та/або чорного нальоту, іноді з пунктацією і мозаїчністю [22]. Незважаючи на ці ознаки, експертне медичне обстеження може недостовірно розрізнити діагнози, тому необхідна гістопатологічна оцінка.

Гістологічне типування новоутворень проведено з використанням рутинного забарвлення гематоксиліном і еозином та імуногістохімічних (ІГХ) досліджень. Матеріал біопсій вульви в касетах розміщували на 16 год у посудину для фіксації у забуференому 10 % формаліні, рН=7,4. Ущільнювали цей матеріал у парафіні із застосуванням гістіопроектора "Histo-5" ("Milestone", Італія) за програмою для операційного матеріалу – 4 мм. Після завершення програми просочення у парафіні касети виймали з парафінового блока гістіопроектора і на станції для заливки NESTION TEC-2800 Embedding Center шматочки тканин заливали розплавленим парафіном у формочки з подальшим застиганням на холодильному модулі станції NESTION TEC-2800 Cryo Console. З отриманих парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5 мкм за допомогою мікротома "Microm HM325" ("Thermo Scientific", Німеччина). Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином для патогістологічного дослідження пухлини, морфометрії і підрахунку об'єму життєздатної пухлинної тканини.

Імуногістохімічні дослідження виконували за допомогою маркера моноклонального мишачого антитіла p16 (Monoclonal Mouse Antibody p16 (Mob575-01)) з використанням системи Thermo scientific PA1-16662, моноклонального миша-

чого антитіла проти людини Ki-67 (Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 (Dako IR-626)) та моноклонального мишачого антитіла проти людини p53 (Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7 (Dako IS-616)) із застосуванням системи детекції "EnVision™ FLEX" ("Dako", Данія). Демаскування антигену проводили в цитратному буфері з рН=6,0 при 95 °С. Первинні антитіла інкубували при кімнатній температурі 30 хв, вторинні – 20 хв. Зрізи дофарбовували гематоксиліном Gill. Для позитивного контролю використовували тканинні зразки з визначеною позитивною реактивністю, для негативного – проводили процедуру без застосування первинних антитіл. Отримані препарати вивчали за допомогою програмного забезпечення CellSens за стандартизованих умов.

Одержані позитивні результати характеризували ядерне забарвлення для p53, Ki-67 та p16. Обрані імуногістохімічні біомаркери зазвичай застосовують для діагностики і розпізнавання HSIL та dVIN за характером атипії базального шару. При низькій потужності dVIN часто демонструє ліхеноїдну або акантотичну реакцію, що дає привід припустити СЛВ, плоский лишай або хронічний простий лишай. При високій потужності спектр атипичних ядерних ознак перебивається реактивними змінами, тому ідентифікація вимагає пильного ока та порівняння з нормальними. Водночас діагностика бородавчато-базалоїдного HSIL проста, оскільки архітектурні аномалії та аномалії дозрівання очевидні при низькій потужності, а при високій потужності атипія й аномальні мітози, мабуть, є неопластичними [22, 23].

Статистичну обробку та аналіз даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 7.0 for Windows та Microsoft Excel. У роботі використано стандартні методи описового, порівняльного, категоріального і кореляційного аналізу. Розраховували середнє значення (M) і стандартне квадратичне відхилення (SD). Достовірність параметричних величин оцінювали за вірогідністю критерію Стьюдента. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Діагностика СЛВ основана на клінічній картині й підтверджується результатами гістологічного дослідження. Морфологічна картина при СЛВ характеризується атрофією епідермісу з гіперкератозом і дистрофією базального шару, гомогенізацією колагену, набряком верхнього шару дерми, в нижньому шарі дерми визначається мононуклеарна запальна інфільтрація. Клінічно в жінок було діагностовано VIN (61,8 % випадків) та СЛВ (38,2 % випадків).

Проведена всіх хворим біопсія показала ряд гістологічних ознак. У деяких пацієнток (79,4 %) спостерігали класичні ознаки СЛВ, іноді з ділянками виразок, які могли бути викликані подряпинами. В інших (11,8 %) діагностовано дисплазію легкого і помірного ступенів та СЛВ. Також діагностовано і плоскоклітинний рак (8,8 %). Імуногістохімічні дослідження всім хворим проведено за аналізом імунозабарвлення молекулярних маркерів p53, Ki-67 і p16, які містяться в ядрі, їх добре вивчено при HSIL та dVIN.

Аналіз отриманих результатів ІГХ дослідження порівняно з результатами патологістологічного дослідження (ПГД) усіх пацієнток показано в таблиці.

Пацієнток було поділено на групи залежно від діагнозів за результатами ПГД.

У 29,4 % пацієнток 1-ї групи в матеріалі біопсії морфологічно визначено фрагменти тканини, вкриті багатошаровим плоским епітелієм, з явищами вираженої лейкоплакії (СЛВ), що підтверджено ІГХ дослідженнями.

У 20,6 % пацієнток 2-ї групи в матеріалі біопсії морфологічно визначено фрагменти тканини, вкриті багатошаровим плоским епітелієм, з явищами вираженого дискератозу, вогнищевими явищами атрофії епідермісу, ділянками колагенізації – не виключено СЛВ. У 29,4 % жінок цієї ж групи в матеріалі морфологічні зміни також відповідали СЛВ – гіперкератинізація, атрофія епідермісу, відсутність сосочкового шару, гомогенізація, набряк колагенових волокон. Як свідчать отримані результати ІГХ дослідження, на фоні описаних змін багатошаровий плоский епітелій переважно з явищами дисплазії легкого ступеня VINI.

Пацієнткам 3-ї групи (11,8 %) було проведено біопсію 3 ділянок біоптату вульви. Результати біопсії фрагмента 1-ї ділянки біоптату вульви засвідчили фрагменти слизової оболонки з яви-

щами вираженої лейкоплакії, в підлеглих тканинах – дифузну лімфо-лейкоцитарну інфільтрацію, 2-ї ділянки біоптату – фрагменти слизової оболонки, покривний багатошаровий плоский епітелій з вогнищами помірної дисплазії VINII. У 3-й ділянці визначено фрагменти слизової оболонки з вогнищево-вираженою лімфоїдно-клітинною інфільтрацією, покривний багатошаровий плоский епітелій з явищами вираженої лейкоплакії і вогнищами легкої та помірної дисплазії VINI–VINII. При проведенні ІГХ дослідження в подальших серійних зрізах суспектна зона у вигляді поодиноких клітин. З огляду на отримані результати ІГХ дослідження, в залишкових ділянках покривного багатошарового плоского епітелію має місце легка дисплазія VINI.

У 8,8 % пацієнток 4-ї групи в матеріалі біопсії слизова оболонка вкрита багатошаровим плоским епітелієм з явищами вираженої лейкоплакії, вогнищами акантозу, ділянками помірної дисплазії VINII. Як свідчать морфологічні та імуногістохімічні результати дослідження, в матеріалі біопсії отриманий фенотип характерний для високодиференційованої ПКК.

Аналізуючи одержані результати, можна зробити висновок, що в нашому випадку обрані молекулярні маркери особливого впливу на прояв злоякісного потенціалу СЛВ не мали. Імуногістохімічні дослідження допомогли уточнити діагноз, встановлений при ПГД (рис.). При діагнозі СЛВ у 50 % пацієнток, за результатами ІГХ дослідження, було виявлено дисплазію легкого ступеня. Однак слід зауважити, що, за результатами ІГХ дослідження, у 8,8 % пацієнток діагностували ПКК.

За даними, наведеними в таблиці, реакція маркера p16 для пацієнток 1–3 груп з ознаками СЛВ була негативною. Позитивність для цих груп демонстрували маркери p53 та Ki-67: від помірної інтенсивності маркера p53 в поодиноких

Таблиця – Аналіз отриманих результатів імуногістохімічного дослідження порівняно з результатами патологістологічного дослідження пацієнток

Група пацієнток	Кількість пацієнток, n (%)	Діагноз за результатами ПГД	Діагноз за результатами ІГХ дослідження	Оцінка реакції імуногістохімічних маркерів		
				p53	Ki-67	p16
1-ша	10 (29,4±1,2)	СЛВ	СЛВ	“+” в поодиноких клітинах базального шару	“+” в базальних шарах епітелію	“–”
2-га	17 (50,0±2,1)	СЛВ	СЛВ та VINI			
3-тя	4 (11,8±0,9)	СЛВ, VINI–VINII, VINI–VINII	СЛВ, VINI, VINI–VINII			
4-та	3 (8,8±0,6)	VIN	ПКК	–	У базальних шарах 90 %, у парабазальних шарах 5 %	“+”

Примітка. “+” забарвлення – згідно з рекомендаціями LAST, безперервне/дифузне/смугоподібне/блокоподібне сильне ядро або ядро із цитоплазматичною експресією біомаркера в базальному шарі, що поширюється щонайменше до однієї третини товщини епітелію, слід інтерпретувати як “позитивне” забарвлення, забарвлення цитоплазми окремо або плямисто-фокальне забарвлення без забарвлення в базальних шарах – як “негативне” (p<0,05).

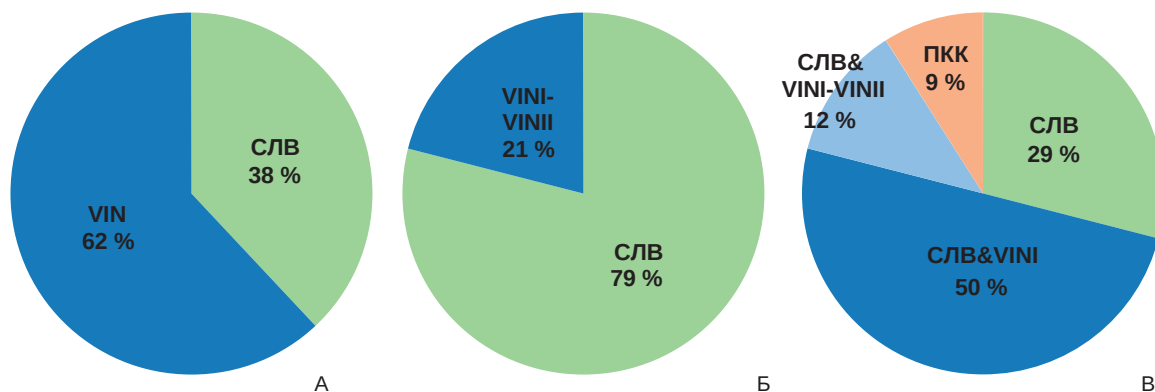


Рис. Результати діагностики захворювань вульви: А – клінічні діагнози; Б – патогістологічні; В – імуногістологічні.

клітинах базального шару до сильної інтенсивності маркера Ki-67 в базальних шарах епітелію. Деяку іншу картину спостерігали при аналізі отриманих результатів оцінки реакції на біомаркери пацієнток з діагностованою ПКК. Реакція біомаркера p16 для пацієнток 4-ї групи виявилася позитивною, а забарвлення маркера Ki-67 становило 90 % у базальних шарах та 5 % – у парабазальних. У тих випадках, коли морфологія залишається неоднозначною, імуногістохімія як для p53, Ki-67, так і для p16 може бути корисною.

З літературних даних відомо про позитивність p16-ІГХ для HSIL [24, 25]. Поєднання позитивної ВПЛ-полімеразної ланцюгової реакції і блок-позитивного p16-ІГХ вважають “золотим стандартом” для діагностики HSIL [26]. Маркер p16-ІГХ також може допомогти відрізнити HSIL від доброякісних імітаторів, таких, як слизова оболонка перехідної зони, плоскоклітинна гіперплазія або радіаційні зміни, що є p16-негативними [27]. Повідомляється про повну негативність до мінімального фокального забарвлення p16-ІГХ для dVIN. Для dVIN, що гістологічно імітує HSIL, негативний p16-ІГХ допомагає відрізнити його від HSIL [22].

Маркер p53-ІГХ HSIL зазвичай демонструє забарвлення дикого типу (wt), що характеризується спорадичним ядерним забарвленням, зі слабко позитивним або повністю негативним базальним епітеліальним шаром. При деяких HSIL спостерігають картину “підкреслений wt-p53”, що характеризується слабким плямистим забарвленням у базальному шарі та більшою часткою позитивних ядер у надбазальних шарах [25]. Частина dVIN демонструє картину забарвлення p53 дикого типу (wt). Проте p53-ІГХ має обмеження в розрізненні dVIN та ліхеноїдних станів. Підвищене забарвлення p53, назване “надмірною експресією p53-wt”, можна спостерігати в 5–61 % випадків склерозуючого ліхену і до 40 % випадків плоскої гіперплазії через окиснювальний стрес. Більше того, позитивність p53

також було відмічено в “нормальній” шкірі вульви, подібно до p53-сигнатур у матковій трубці та ендометрії, значення яких поки що не відоме [22, 28].

Ki-67 є ядерним антигеном, присутнім у проліферуючих клітинах людини на всіх стадіях клітинного циклу, крім фази G0. MIB-1 – це моноклональне антитіло проти Ki-67. У нормальному епітелії вульви MIB-1 забарвлює переважно парабазальні шари, рідко – базальні. У зразках HSIL можна побачити підвищене забарвлення MIB-1 як у базальних, так і в парабазальних шарах, що поширюється на верхні дві третини епітелію. Підвищену експресію MIB-1 спостерігають у базальному та парабазальному шарах dVIN. Це може допомогти відрізнити dVIN від склерозуючого ліхену, який зазвичай демонструє лише базальну експресію MIB-1 [22].

ВИСНОВКИ. Отже, на сьогодні чіткого діагностичного інструменту розмежування склероатрофічного ліхену в жінок, що залишається доброякісним, порівняно зі склероатрофічним ліхеном, який переростає у плоскоклітинний рак вульви, не існує. Біомаркери p53, p16 та Ki-67 показали перспективність у ретроспективних дослідженнях тканин. Імуногістохімічні дослідження не тільки підтвердили гістологічні висновки, але й допомогли визначити ступінь дисплазії при діагностиці склерозуючого ліхену вульви. Для виявлення злоякісного потенціалу при склерозуючому ліхені вульви необхідні подальші дослідження. Стандартом допомоги для скринінгу на плоскоклітинний рак вульви залишаються серійне обстеження з направленими біопсіями на наявність нових, що розвиваються, або підозрілих уражень, проведення імуногістохімічних досліджень та навички обстежень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Erosive lichen sclerosus – a clinicopathologic subtype / T. Day, G. Otton, G. G. Dennerstein [et al.] // *Journal of Lower Genital Tract Disease*. – 2021. – **25** (3). – P. 255–260.
2. Adult vulvar lichen sclerosus: Can experts agree on the assessment of disease severity? / M. Sheinis, N. Green, P. Vieira-Baptista [et al.] // *J. Low Genit. Tract. Dis.* – 2020. – **24** (3). – P. 295–298.
3. Diagnosis and treatment of vulvar lichen sclerosus: An update for dermatologists / A. Lee, G. Fischer // *Am. J. Clin. Dermatol.* – 2018. – **19** (5). – P. 695–706.
4. Evidence-based (S3) guideline on (anogenital) lichen sclerosus / G. Kirtschig, K. Becker, A. Günther [et al.] // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2015. – **29**. – P. 1–43.
5. Association of vulvar melanoma with lichen sclerosus / N. Hieta, S. Kurki, M. Rintala [et al.] // *Acta Derm. Venereol.* – 2019. – **99** (3). – P. 339–340.
6. Nonablative radiofrequency in the treatment of refractory vulvar lichen sclerosus: A case series / R. R. Balbinotti, F. S. Grossi, A. V. Perez [et al.] // *JAAD Case Reports*. – 2021. – **17**. – P. 122–125.
7. Lichen Sclerosus: An autoimmune pathogenic and genomic enigma with emerging genetic and immune targets / D. A. Tran, X. Tan, C. J. Macri [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2019. – **15** (7). – P. 1429–1439.
8. Risk of vulvar squamous cell carcinoma in lichen sclerosus and lichen planus: A systematic review / M. Leis, A. Singh, C. Li [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2021. – **19**. – P. 1701–2163.
9. Vulvar lichen sclerosus and neoplastic transformation: a retrospective study of 976 cases / L. Micheletti, M. Preti, G. Radici [et al.] // *J. Low Genit. Tract Dis.* – **20**. – 2016. – P. 180–183.
10. Lee A. Long-term management of adult vulvar lichen sclerosus: a prospective cohort study of 507 women / A. Lee, J. Bradford, G. Fischer // *JAMA Dermatol.* – 2015. – **151**. – P. 1061.
11. The vulval disease quality of life index in women with vulval lichen sclerosus correlates with clinician and symptom scores / C. Felmingham, L. Chan, L. W. Doyle [et al.] // *Australas J. Dermatol.* – 2020. – **61** (2). – P. 110–118.
12. The prevalence of lichen sclerosus in patients with vulvar squamous cell carcinoma / J. J. Davick, M. Samuelson, J. T. Krone [et al.] // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2017. – **36** (4). – P. 305–309.
13. Lichen sclerosus and risk of cancer / P. Halonen, M. Jakobsson, O. Heikinheimo [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2017. – **140** (9). – P. 1998–2002.
14. Lichen sclerosus: incidence and risk of vulvar squamous cell carcinoma / M. C. Bleeker, P. J. Visser, L. I. Overbeek [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2016. – **25**. – P. 1224–1230.
15. Protein markers of malignant potential in penile and vulvar lichen sclerosus / B. C. Carlson, M. D. Hofer, N. Ballek [et al.] // *J. Urol.* – 2013. – **190** (2). – P. 399–406.
16. Evaluation of Immunohistochemical Markers, CK17 and SOX2, as Adjuncts to p53 for the Diagnosis of Differentiated Vulvar Intraepithelial Neoplasia (dVIN). / S. Dasgupta, S. Koljenović, T. P. P. van den Bosch [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – **14** (4). – P. 324.
17. p53 Immunohistochemical patterns in HPV-independent squamous cell carcinomas of the vulva and the associated skin lesions: A study of 779 cases / N. Rakislova, L. Alemany, O. Clavero [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – **21**. – P. 80–91.
18. Major p53 immunohistochemical patterns in situ and invasive squamous cell carcinomas of the vulva and correlation with TP53 mutation status / B. Tessier-Cloutier, K. E. Kortekaas, E. Thompson [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2020. – **33** (8). – P. 1595–1605.
19. High levels of p53 expression correlate with DNA aneuploidy in (pre)malignancies of the vulva / I. A. Van der Avoort, H. P. van de Nieuwenhof, I. Otte-Höller [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2010. – **41** (10). – P. 1475–1485.
20. Anogenital high-grade squamous intraepithelial lesion comorbid with vulvar lichen sclerosus and lichen planus / A. Lin, T. Day, Y. Ius [et al.] // *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2020. – **24** (3). – P. 311–316.
21. Comorbid vulvar lichen planus and lichen sclerosus / T. Day, S. Moore, T. G. Bohl [et al.] // *J. Low Genit. Tract. Dis.* – 2017. – **21** (3). – P. 204–208.
22. Precursor lesions of vulvar squamous cell carcinoma – histology and biomarkers: A systematic review / S. Dasgupta, P. C. Ewing-Graham, S. M. A. Swagemakers [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2020. – **147**. – P. 102.
23. ISSVD Difficult Pathologic Diagnoses Committee. Diagnostic criteria for differentiated vulvar intraepithelial neoplasia and vulvar aberrant maturation / D. S. Heller, T. Day, J. I. Allbritton [et al.] // *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2021. – **25** (1). – 2021. – P. 57–70.
24. Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia-like and lichen sclerosus-like lesions in HPV-associated squamous cell carcinomas of the vulva // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2018. – **42**. – P. 828–835.
25. Accentuated p53 staining in usual type vulvar dysplasia – a potential diagnostic pitfall / N. Rakislova, L. Alemany, O. Clavero [et al.] // *Pathol. Res. Practice.* – 2018. – **214**. – P. 76–79.
26. Clinical and molecular classification of vulvar squamous pre-cancers / P. A. Cohen, L. Anderson, L. J. Eva [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2019. – P. 1–8.
27. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology / M. T. Darragh, T. J. Colgan, J. T. Cox [et al.] // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2012. – **10**. – P. 1266–1297.
28. Jin C. Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia a brief review of clinicopathologic features / C. Jin, S. Liang // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2019. – **143**. – P. 768–771.

REFERENCES

1. Day, T., Otton, G., Dennerstein, G. (2021). Erosive lichen sclerosus – a clinicopathologic subtype. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 25 (3), 255-260. <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000607>.
2. Sheinis, M., Green, N., Vieira-Baptista, P. (2020). Adult vulvar lichen sclerosus: Can experts agree on the assessment of disease severity? *J. Low Genit. Tract Dis.*, 24 (3), 295-298. DOI:10.1097/LGT.0000000000000534.
3. Lee, A., Fischer, G. (2018). Diagnosis and treatment of vulvar lichen sclerosus: An update for dermatologists". *Am. J. Clin. Dermatol.*, 19 (5), 695-706. DOI: 10.1007/s40257-018-0364-7.
4. Kirtschig, G., Becker, K., Günthert, A. (2015). Evidence-based (S3) guideline on (anogenital) lichen sclerosus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 29, 1-43.
5. Hietä, N., Kurki, S., Rintala, M. (2019). Association of Vulvar Melanoma with Lichen Sclerosus. *Acta Derm. Venereol.*, 99 (3), 339-340. DOI: 10.2340/00015555-3103.
6. Balbinotti, R.R., Grossi, F.S., Perez, A.V. (2021). Nonablative radiofrequency in the treatment of refractory vulvar lichen sclerosus: A case series. *JAAD Case Reports*, 17, 122-125. <https://doi.org/10.1016/j.jdc.2021.09.028>.
7. Tran, D.A., Tan, X., Macri, C.J. (2019). Lichen Sclerosus: An autoimmunopathogenic and genomic enigma with emerging genetic and immune targets". *Int. J. Biol. Sci.*, 15 (7), 1429-1439. DOI: 10.7150/ijbs.34613.
8. Leis, M., Singh, A., Li, C. (2021). Risk of vulvar squamous cell carcinoma in lichen sclerosus and lichen planus: A systematic review. *J Obstet. Gynaecol. Can.*, 19, 1701-2163. DOI: 10.1016/j.jogc.2021.09.023.
9. Micheletti, L., Preti, M., Radici, G. (2016). Vulvar lichen sclerosus and neoplastic transformation: a retrospective study of 976 cases. *J Low Genit Tract Dis.*, 20, 180-183.
10. Lee, A., Bradford, J., & Fischer, G. (2015). Long-term management of adult vulvar lichen sclerosus: a prospective cohort study of 507 women. *JAMA Dermatol.*, 151, 1061-1067.
11. Felmingham, C., Chan, L., Doyle, L.W. (2020). The vulval disease quality of life index in women with vulval lichen sclerosus correlates with clinician and symptom scores. *Australas J Dermatol.*, 61 (2), 110-118. DOI: 10.1111/ajd.13197.
12. Davick, J.J., Samuelson, M., Krone, J.T. (2017). The prevalence of lichen sclerosus in patients with vulvar squamous cell carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 36 (4), 305-309. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000341.
13. Halonen, P., Jakobsson, M., Heikinheimo, O. (2017). Lichen sclerosus and risk of cancer. *Int. J. Cancer*, 140 (9), 1998-2002. DOI: 10.1002/ijc.30621.
14. Bleeker, M.C., Visser, P.J., Overbeek, L.I. (2016). Lichen sclerosus: incidence and risk of vulvar squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 25, 1224-1230.
15. Carlson, B.C., Hofer, M.D., Ballek, N. (2013). Protein markers of malignant potential in penile and vulvar lichen sclerosus. *J. Urol.*, 190 (2), 399-406. DOI: 10.1016/j.juro.2013.01.102.
16. Dasgupta, S., Koljenović, S., van den Bosch, T.P.P. (2021). Evaluation of immunohistochemical markers, CK17 and SOX2, as adjuncts to p53 for the diagnosis of differentiated vulvar intraepithelial neoplasia (dVIN). *Pharmaceuticals (Basel)*, 14 (4), 324. DOI: 10.3390/ph14040324.
17. Rakislova, N., Alemany, L., Clavero, O. (2020). 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.*, 21 8091. DOI: 10.3390/ijms21218091.
18. Tessier-Cloutier, B., Kortekaas, K.E., Thompson, E. (2020). Major p53 immunohistochemical patterns in in situ and invasive squamous cell carcinomas of the vulva and correlation with TP53 mutation status". *Mod. Pathol.*, 33 (8), 1595-1605. DOI: 10.1038/s41379-020-0524-1.
19. van der Avoort, I.A., van de Nieuwenhof, H.P., Otte-Höller, I., Nirmala, E., Bulten, J., Massuger, L.F., van der Laak J.A., Slootweg, P.J., de Hullu, J.A., van Kempen, L.C. (2010). High levels of p53 expression correlate with DNA aneuploidy in (pre)malignancies of the vulva. *Hum. Pathol.*, 41 (10), 1475-1485. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.12.015.
20. Lin, A., Day, T., Lus, Y. (2020). Anogenital high-grade squamous intraepithelial lesion comorbid with vulvar lichen sclerosus and lichen planus. *J. Low Genit. Tract. Dis.*, 24 (3), 311-316. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000540.
21. Day, T., Moore, S., Bohl, T.G. (2017). Comorbid vulvar lichen planus and lichen sclerosus. *J. Low Genit. Tract Dis.*, 21 (3), 204-208. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000307.
22. Dasgupta, S., Ewing-Graham, P.C., Swagemakers, S.M.A. (2020). Precursor lesions of vulvar squamous cell carcinoma – histology and biomarkers: A systematic review. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 147, 102866. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.102866.
23. Heller, D.S., Day, T., Allbritton, J.I. (2021). ISSVD Difficult Pathologic Diagnoses Committee. Diagnostic criteria for differentiated vulvar intraepithelial neoplasia and vulvar aberrant maturation. *J. Low Genit. Tract Dis.*, 25 (1), 57-70. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000572.
24. Rakislova, N., Alemany, L., Clavero, O. (2018). Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia-like and lichen sclerosus-like lesions in HPV-associated squamous cell carcinomas of the vulva. *Am. J. Surg. Pathol.*, 42, 828-835. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001047.
25. Jeffrey, M., Jeffus, S.K., & Herfsb, M. (2018). Accentuated p53 staining in usual type vulvar dysplasia—a potential diagnostic pitfall. *Pathol. Res. Practice*, 214, 76-79. DOI: 10.1016/j.prp.2017.11.009.
26. Cohen, P.A., Anderson, L., Eva, L.J. (2019). Clinical and molecular classification of vulvar squamous pre-cancers. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 1-8. DOI: 10.1136/ijgc-2018-000135.
27. Darragh, M.T., Colgan, T.J., Cox, J.T. (2012). The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 10, 1266-1297. DOI: 10.5858/arpa.LGT200570.
28. Jin, C., & Liang, S. (2019). Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia a brief review of clinicopathologic features. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 143, 768-771. DOI: 10.5858/arpa.2018-0019-RS.

EVALUATION OF PROTEIN MARKERS OF MALIGNANT POTENTIAL IN VULVAR LICHEN SCLEROSUS

Summary

Introduction. Vulvar lichen sclerosus is a chronic T-cell inflammatory skin disease with a spectrum of clinical and pathological manifestations of unknown etiology and pathogenesis. The exact causes and pathogenesis of sclerosing lichen of the vulva are not fully known, but autoimmune, genetic, hormonal and infectious factors, as well as pathologies of the nervous system, play a role in the occurrence of this disease.

The aim of the study – immunohistochemical evaluation and study of molecular biomarkers p53, p16, Ki-67, which may indicate precancerous changes of the vulva.

Research Methods. The study involved 34 women aged 61 to 74 years, whose average age at the time of diagnosis of vulvar lichen sclerosus, vulvar intraepithelial neoplasia and leukoplakia of the vulva was (67.2±3.7) years according to the clinical databases of the National Cancer Institute and the Medical Center "Verum", with typical clinical signs of damage to the vulva. All patients underwent a biopsy of the vulva to establish the correct diagnosis, clarify the diagnosis of vulvar lichen sclerosus, and in case of diagnostic uncertainty and suspicion of neoplasia.

Results and Discussion. Biopsies performed in all patients showed a number of histological signs. In some patients (79.4 %), classic signs of vulvar lichen sclerosus were observed, sometimes with areas of ulcers that could be caused by scratches. Others (11.8 %) were diagnosed with mild and moderate dysplasia and vulvar lichen sclerosus. Squamous cell carcinoma was also diagnosed (8.8 %). Immunohistochemical studies were performed in all patients based on the analysis of immunostaining of molecular markers p53, Ki-67 and p16, which are contained in the nucleus, they are well studied in high-grade squamous intraepithelial lesions and differentiated vulvar intraepithelial neoplasia.

Conclusions. Biomarkers p53, p16 and Ki-67 showed promise in retrospective tissue studies. Immunohistochemical studies not only confirmed the histological findings, but also helped determine the degree of dysplasia in the diagnosis of vulvar lichen sclerosus.

KEY WORDS: vulvar lichen sclerosus; squamous cell carcinoma of the vulva; vulvar intraepithelial neoplasia; protein markers; immunohistochemical studies; p53; p16; Ki-67.

Отримано 28.04.22

Адреса для листування: В. В. Дунаєвська, Національний інститут раку, вул. Михайла Ломоносова, 33/43, Київ, 03022, Україна, e-mail: katriuha11@meta.ua.