

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616–006.5:578.76

doi:10.18499/2225-7357-2023-12-2-49-56

3.3.2 – патологическая анатомия



Роль вируса папилломы человека в протоковой гиперплазии эпителия при фиброаденоматозе молочной железы

Н. Г. Плехова[✉], А. В. Лагурёва, В. И. Апанасевич, А. А. Цибулина

Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Аннотация. Доброкачественная папиллома молочной железы считается поражением с неопределенным злокачественным потенциалом, и, в большинстве случаев, рекомендуется ее удаление. Молекулярная патология протоковой гиперплазии эпителия при фиброаденоматозе находится в стадии интенсивного изучения, однако в настоящий момент нет достаточных доказательств диагностически значимых причин ее возникновения. **Цель исследования** – определить наличие протеинов E6 и L1 вируса папилломы человека (ВПЧ) в биоптатах ткани молочной железы при фиброаденоматозе. **Материал и методы.** Детекцию вирусных белков проводили с помощью иммуногистохимического метода с использованием первичных поликлональных антител к белку E6 ВПЧ 16-го и 18-го типов и капсидному белку L1 ВПЧ 1-, 6-, 11-, 16-, 18- и 31-го типов. **Результаты.** В биоптатах при фиброаденоматозе молочной железы наиболее часто определялась протоковая гиперплазия без атипичной пролиферации люминальных эпителиоцитов (NOS, 65%), тогда как атипичная (ADH) выявлена в 35%. Вирусные белки E6 и L1 обнаружены в более чем 90% биопсий, при отсутствии значимого различия между показателями синтеза этих белков в зависимости от типа пролиферации эпителия. Установлена умеренная корреляция между уровнем интенсивности синтеза капсидного белка L1 и маркера пролиферации Ki-67 в биопсиях при атипичной пролиферации эпителия. Одновременное наличие синтеза вирусных белков E6, L1 и показателя пролиферации клеток Ki-67 в тканях молочной железы при фиброаденоматозе увеличивалось при переходе эпителиоцитов из типичной пролиферации в атипичную протоковую гиперплазию. **Заключение.** Показана связь между наличием ВПЧ 16-го / 18-го типов и атипичными изменениями эпителия при фиброаденоматозе молочной железы. Анализ показателей интенсивности синтеза белков E6, L1 и Ki-67 и их одновременная экспрессия в тканях при доброкачественной опухоли позволяет оценить риск малигнизации эпителиоцитов.

Ключевые слова: вирус папилломы человека; фиброаденоматоз; папилломатоз; антитела; антигены; иммуногистохимия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Плехова Н.Г., Лагурёва А.В., Апанасевич В.И., Цибулина А.А. Роль вируса папилломы человека в протоковой гиперплазии эпителия при фиброаденоматозе молочной железы // Журнал анатомии и гистопатологии. 2023. Т. 12, №2. С. 49–56. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-49-56>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

The Role of Human Papillomavirus in Ductal Hyperplasia of the Epithelium in Breast Fibroadenomatosis

N. G. Plekhova[✉], A. V. Lagureva, V. I. Apanasevich, A. A. Tsibulina

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Abstract. Benign breast papilloma is considered a lesion with uncertain malignant potential and, in most cases, it is recommended to be removed. The molecular pathology of ductal hyperplasia of the epithelium in fibroadenomatosis is under intensive study, but at the moment there is no strong enough evidence of diagnostically significant causes of its occurrence. **The aim** of the study was to determine the presence of E6 and L1 proteins of the human papillomavirus (HPV) in biopsy specimens of breast tissue in fibroadenomatosis. **Material and methods.** Viral proteins were detected using an immunohistochemical method with primary polyclonal antibodies to the E6 protein of HPV types 16 and 18 and capsid protein L1 of HPV types 1, 6, 11, 16, 18, and 31. **Results.** In biopsy specimens with fibroadenomatosis of the mammary gland, ductal hyperplasia without atypical proliferation of luminal epithelial cells (NOS 65%) was most often detected, while atypical ductal hyperplasia (ADH) was detected in 35%. Viral proteins E6 and L1 were found in more than 90% of biopsies, with no significant difference between the synthesis of these proteins depending on the type of epithelial proliferation. There was a moderate correlation between the level of intensity of the capsid protein L1 and proliferation marker Ki-67 syntheses in biopsies with atypical epithelial proliferation. The simultaneous presence of the viral proteins E6, L1 synthesis and the index of Ki-67 cell proliferation in breast tissues with fibroadenomatosis increased under

transition of epitheliocytes from typical proliferation to atypical ductal hyperplasia. **Conclusion.** As demonstrated, there is a correlation between the presence of HPV types 16/18 and atypical changes in the epithelium in breast fibroadenomatosis. The analysed intensity of the E6, L1 and Ki-67 protein syntheses and their simultaneous expression in tissues in benign tumors allows evaluating the risk of epithelial cell malignancy.

Keywords: human papillomavirus; fibroadenomatosis; papillomatosis; antibodies; antigens; immunohistochemistry

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Plekhova N.G., Lagureva A.V., Apanasevich V.I., Tsibulina A.A. The role of human papillomavirus in ductal hyperplasia of the epithelium in breast fibroadenomatosis. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2023. V. 12, №2. P. 49–56. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-49-56>

Введение

Причины возникновения злокачественных новообразований изучаются продолжительное время, но теория рассмотрения онкогенных вирусов в качестве инициаторов пролиферации клеток остается актуальной проблемой. Идентифицировано более 200 генотипов вируса папилломы человека (ВПЧ) сопровождающих широкий спектр как доброкачественных поражений, так и карцином [9]. Показано, что ВПЧ высокого онкогенного риска 16-, 18- и 31-го типов принимают участие в развитии канцерогенеза шейки матки [13]. Охарактеризован молекулярный механизм влияния вирусных белков E6 и E7 ВПЧ на инактивационные изменения проапоптотического протеина p53 эпителиоцитов шейки матки [3]. При раке молочной железы (РМЖ) обнаружено наличие девяти типов ВПЧ (6-, 11-, 16-, 18-, 31-, 33-, 35-, 45- и 52-го), и наиболее распространенными названы 16-й (от 13% до 66,6%) и 18-й (от 20 до 55%) типы [5, 8]. Причем, согласно различным данным, полученным при использовании реал-тайм ПЦР и *in situ* гибридизации, вирусная ДНК обнаруживается в тканях при карциномах от 26% до 86%, при доброкачественных опухолях – от 30% до 74% и в здоровых – до 30% [11, 15, 16]. Такая вариабельность показателей распространенности ВПЧ в опухолевых тканях объясняется несколькими причинами, а именно, низким его присутствием в клетках, которое зависит от условий хранения и фиксации материала, различием применяемых методов обнаружения его следов жизнедеятельности, многообразием типов и другими [2, 12].

Синтез вирусных белков E6/E7 ВПЧ обнаружен в опухолевых тканях молочной железы (24–76%) и показано их участие во множественных клеточных путях трансформации эпителиальных клеток на модели «*in vitro*» [7]. Вирусные белки E6/E7 подавляли регуляторную активность генов TP53 и BRCA1 и оказывали влияние на уровень экспрессии рецептора к эпидермальному фактору роста 2 типа (HER2), что приводило к усилению клеточной пролиферации. Исследования на предмет наличия ВПЧ в тканях молочных желез в основном приводятся при злокачественных новообразованиях, тогда как при доброкачественных заболеваниях таких исследований не много. Показано, что один и тот же тип ВПЧ

выявляется у пациенток при доброкачественном опухолевом процессе и при последующем злокачественном с обнаружением белка E7 в ядрах клеток [4]. В патологических выделениях из молочной железы определено наличие ДНК ВПЧ как при раке (до 44,4%), так и при внутритротоковом папилломатозе (до 29,6%). Наиболее распространенным определен 16-й тип вируса, менее распространенными – 6-, 11-, 39- и 82-й [14]. Причем отмечается, что при папилломатозе наличие вирусной ДНК было значительно выше, чем при других доброкачественных новообразованиях молочных желез (60% против 21%) [5]. Таким образом, являясь одной из предполагаемых причин развития РМЖ, ВПЧ может вполне оправданно рассматриваться как возможный этиологический фактор инициации пролиферации эпителиальных клеток протоков с последующим формированием доброкачественной опухоли, в том числе фиброаденоматоза. Данное заболевание относится к предраковому состоянию с высоким риском рецидивирования или малигнизации. Исходя из вышеизложенного, целью исследования являлось определение наличия белка E6 и капсидного протеина L1 ВПЧ на фоне пролиферативной активности клеток тканей молочной железы при фиброаденоматозе.

Материал и методы исследования

Изучено 74 биопсии молочных желез пациенток в возраст от 28 до 59 лет с установленным диагнозом фиброаденоматоз молочной железы, находящихся на амбулаторном лечении в ООО «Инномед-Плюс» (г. Владивосток). Исследование проведено по стандартам надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципам Хельсинской Декларации, и одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (протокол №3 от 16.11.2020 г.). Все пациентки подписали информированное согласие на использование материала биопсий для проведения дополнительного иммуногистохимического изучения.

Материал из зон папиллярной гиперплазии при фиброаденоматозе фиксировали в забуференном 10% нейтральном формалине, обезжизивали согласно стандартной методике в спиртах и ксилоле, заливали в парафин, из блоков изготавливали серийные срезы

толщиной 5 мкм. Для морфологической идентификации папиллярной гиперплазии применялась окраска препаратов гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием специфичных для человека первичных поликлональных антител мыши против белка Е6 ВПЧ 16-го и 18-го типов (1:100, клон PA5-12038, Invitrogen, США), капсидного белка L1 ВПЧ 1-, 6-, 11-, 16-, 18- и 31-го типов (1:30, BPV-1/1H8 + CAMVIR, Abcam, США) и ядерного белка пролиферации Ki-67 (1:20; клон MIB-1, изотип IgG1, Dako, Дания). Для гистохимической детекции антител мыши использовали набор для выявления пероксидазы HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit (Abcam, США) согласно инструкции производителя. Препараты анализировали с помощью светового микроскопа Olympus CX41, оснащенного камерой U-TV0.35XC-2 (Olympus, Япония).

Для количественной оценки наличия антигенов использовалась морфометрическая программа NIS-Elements BR (Nikon, Япония). При 400-кратном увеличении с каждого препарата делали серию из 10 изображений, выбранных случайным образом. Общий алгоритм настройки программы заключался в следующем: устанавливали пороговые значения количественного распределения пикселей цвета, яркости, контрастности; выделяли объекты соответственной интенсивности плотности депозитов позитивной реакции; формировали бинары; формировали таблицу с показателями количества объектов, их площади, периметра и общей площади поля.

Для статистического анализа использовали программное обеспечение Statistica 12 (Stat Soft, Inc., США) и Microsoft Excel (Microsoft Office 2016). Нормальность распределения полученных результатов проверяли с помощью критериев Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные представлены как значение среднего и его стандартного отклонения ($M \pm \sigma$), в случае отличия распределения от нормального – в виде значений медианы (Me) и квартилей [Q25; Q75]. В первом варианте для оценки достоверности различий при сравнении двух групп переменных использовали t-критерий Стьюдента, во втором – U-критерий Манна–Уитни; при сравнении трех групп показателей – непараметрический H-критерий Краскела–Уоллиса. Оценка линейной зависимости между показателями проводилась с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Показатели считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Согласно классификации опухолей молочной железы ВОЗ 2019 г., папиллярная гиперплазия эпителия при фиброаденоматозе

представляет образование, состоящее из ветвящихся фиброваскулярных ядер, включающих миоэпителиальные и люминальные клетки [1, 10]. Отличительной чертой доброкачественных папиллярных поражений, отсутствующей в предраковых и злокачественных опухолях, является наличие двух типов клеток: миоэпителиальных и люминальных, с редко выявляемой пролиферацией базального эпителия. Окружающая протоки желез строма обычно тонкая, как при смешанных гиперпластических узлах, в их просветах отмечаются структуры в форме папиллярных сосочков (рис. 1а). Слои эпителия псевдотифицированы, клетки цилиндрической формы с гранулярной цитоплазмой, в ядрах обнаруживаются включения (рис. 1б).

Фибросклероз и стромальный фиброз могут имитировать псевдоинфильтративный паттерн, в этом случае применяются маркеры миоэпителиальных клеток. Папилломатоз в зависимости от состояния эпителиоцитов классифицируется как поражение без атипичной пролиферации клеток, которая обозначается как NOS, или с атипичной протоковой гиперплазией (ADH) [1]. Из 74 биопсий фиброаденоматоза папиллярная гиперплазия эпителия была классифицирована как NOS в 65% (48 из 74) и 35% составляли ADH. Последние представляли неопластические структуры размером меньше 3 мм, состоящие из пролиферирующих люминальных дифференцированных клеток с однородными гиперхромными ядрами, часто имеющими крибриформное/крибозное расположение (рис. 1 в, г). Крибозная гиперплазия характеризовалась наличием средних и крупных желез, которые при малом увеличении имели узловые очертания. Округлые крибозные структуры были окружены отчетливо визуализируемыми базальными клетками, наблюдались люминальные эпителиоциты с обильной светлой цитоплазмой («светлоклеточная» крибозная гиперплазия) с одинаковыми ядрами с тонким нежным хроматином без заметных ядрышек.

Онкопротеин Е6 16-го и 18-го типов обнаруживается на ранней стадии жизненного цикла ВПЧ и оказывает влияние на трансформацию клеток, нарушая функционирование белка p53, который индуцирует нестабильность транскрипционных комплексов, что стимулирует неконтролируемую клеточную пролиферацию [3]. Преимущественно локализация депозитов позитивной реакции на наличие протеина Е6 отмечалась в ядре клеток эпителия протоков, но мы также наблюдали их и в цитоплазме (рис. 2).

При доброкачественном поражении без атипичии (NOS) этот вирусный белок обнаруживался в 94% (45 из 48) биопсий, и при атипичной – в 96% (25 из 26). Капсидный белок L1 ВПЧ иммунологически активный и синтезируется на заключительной стадии развития

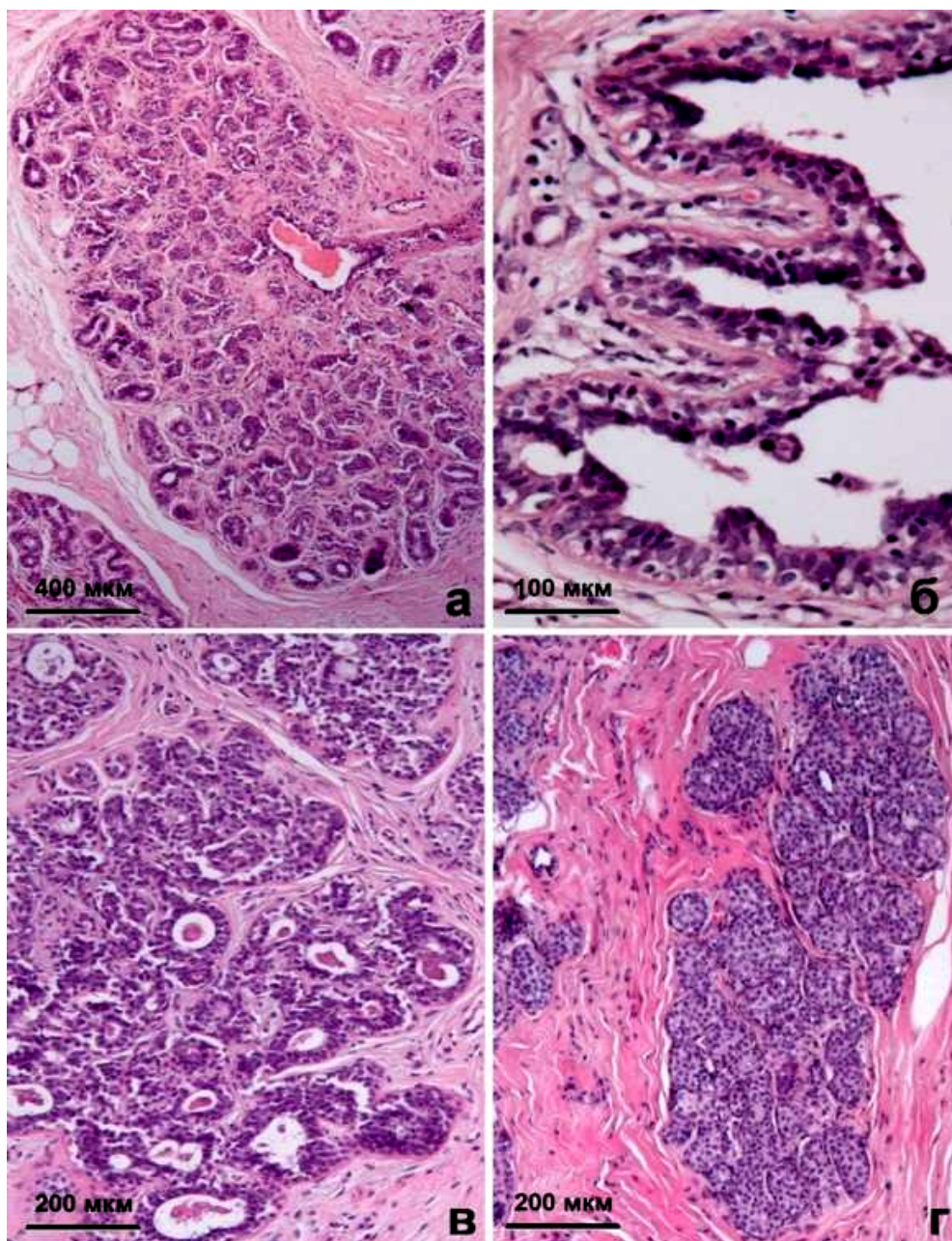


Рис. 1. Фиброаденоматоз молочной железы, элемент папилломатозной гиперплазии без атипичной пролиферации клеток NOS (а, б): структуры в форме папиллярных сосочков, окруженные тонкой стромой, слои эпителия псевдостратифицированы, в ядрах клеток цилиндрической формы с гранулярной цитоплазмой включения, и миоэпителиальные клетки (б); с атипичной эпителиальной пролиферацией ADH (в, г): лобулярная неоплазия с солидной пролиферацией мономорфных клеток и однородными гиперхромными ядрами (г). Окраска гематоксилином и эозином, а – об. 10; ок. 10; б – об. 40; ок. 10; в, г – об. 20; ок. 10.

Fig. 1. Fibroadenomatosis of the mammary gland, an element of papillomatous hyperplasia without atypical NOS cell proliferation (a, б): structures in the form of papillae surrounded by a thin stroma, epithelial layers are pseudostratified, in the nuclei of cylindrical cells with granular inclusion cytoplasm, and myoepithelial cells (б); with atypical epithelial proliferation of ADH (в, г): lobular neoplasia with solid proliferation of monomorphic cells and homogeneous hyperchromic nuclei (г). Hematoxylin and eosin staining, а – об. 10; oc. 10; б – об. 40; oc. 10; в, г – об. 20; oc. 10;

вириона. Его наличие в клетках свидетельствует о продуктивной фазе репликации вируса [6]. Депозиты реакции на белок L1 ВПЧ преимущественно отмечались в ядрах клеток при типичной пролиферации эпителия молочных желез в 81,6% (9 из 48) образцов, а при атипичной – в 80,7% (5 из 26) (рис. 3).

На сегодняшний день в медицинской практике не применяется количественное оп-

ределение депозитов позитивной реакции ИГХ-окрашивания тканей. Методика оценки интенсивности заключается или в визуальном определении (слабая (+), умеренная (++) и сильная (+++)), или в подсчете количества окрашенных клеток в % на 100, что вносит элемент субъективизма в оценку экспрессии маркеров. Для нашего исследования мы разработали шкалу условных референсных

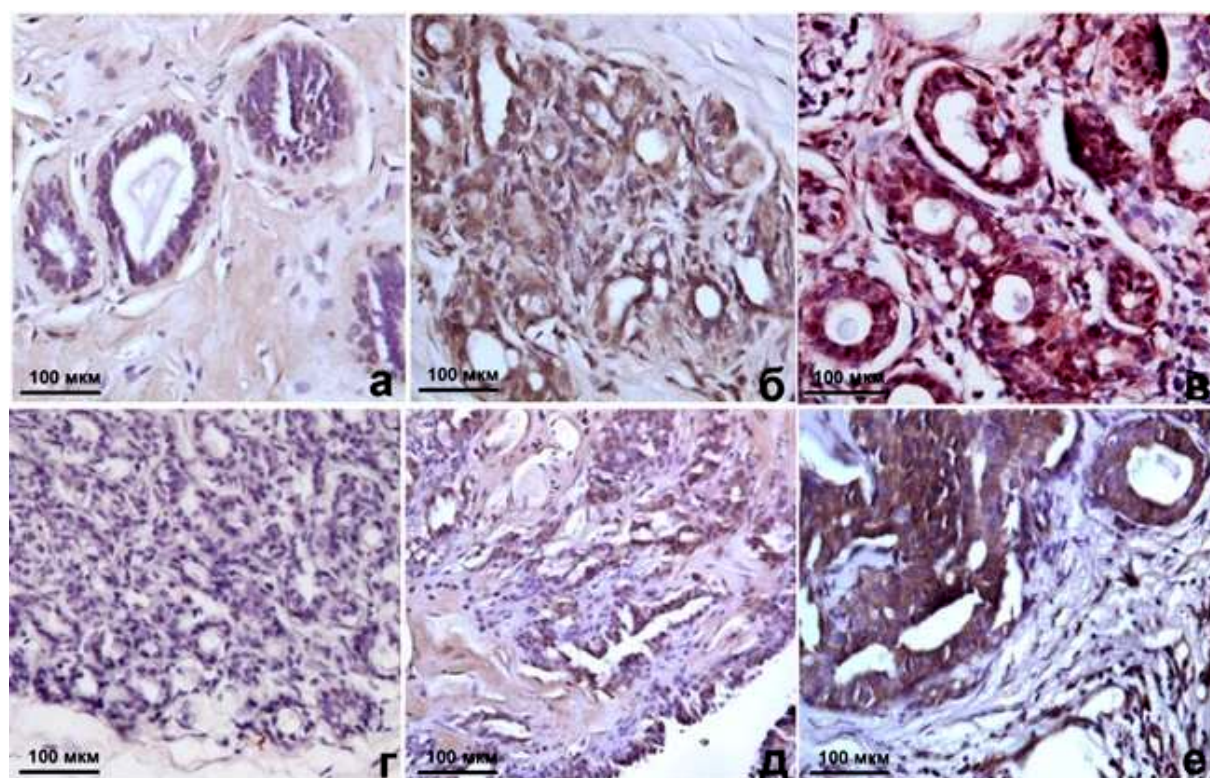


Рис. 2. Белок Е6 вируса папилломы человека 16 и 18 типа в тканях молочной железы при фиброаденоматозе: а, б, в – слабая, умеренная и сильная позитивная реакция при поражении без атипичной пролиферации эпителия NOS; г, д, е – слабая, умеренная и сильная позитивная реакция при поражении с атипичной пролиферацией эпителия АДН. Иммуногистохимическое окрашивание, поликлональные антитела мыши против белка Е6 ВПЧ 16 и 18 типов (1:100, клон PA5-12038), а–е – об. 40; ок. 10.

Fig. 2. Protein E6 of human papillomavirus types 16 and 18 in breast tissues in fibroadenomatosis: а, б, в – weak, moderate and strong positive reaction in lesions without atypical proliferation of the NOS epithelium; г, д, е – weak, moderate and strong positive reaction in lesions with atypical proliferation of ADH epithelium. Immunohistochemical staining, mouse polyclonal antibodies vs. the E6 protein of HPV types 16 and 18 (1:100, clone PA5-12038), а–е – об. 40; ок. 10.

Таблица 1 / Table 1

Референсные количественные значения интенсивности ИГХ-реакции на выявление белков в клетках при фиброаденоматозе

Reference quantitative values of the IHC reaction intensity to the protein detection in cells in fibroadenomatosis

Качественные показатели	Показатель интенсивности реакции, пиксель		
	Е6 ВПЧ 16/18	L1 ВПЧ 1, 6 11, 16, 18 и 31	Ki-67
Негативная (–)	0–46	0–49	0–28
Слабая (+)	47–60	50–65	29–59
Умеренная (++)	61–149	66–155	60–122
Сильная (+++)	150–291	156–245	123–187

значений, которые позволяют провести аналогию между качественным обозначением реакции, используемым в практике, и количественным, полученным с помощью морфометрии (табл. 1).

Учитывая принятые нами показатели, мы распределили исследуемые образцы согласно степени интенсивности ИГХ-реакции. Для белка Е6 ВПЧ проявление реакции в слабой степени было отмечено в 12,8% при NOS и в 7,7% при АДН; в умеренной – 59,6% и 65,4% соответственно и в сильной – 27,6% и 27,0%, соответственно. Показатели слабой интенсивности для капсидного протеина L1 составляли 10,0% и 15,4%, умеренной – 61,2% и 50,0% и сильной 10,2% и 15,4% при NOS и АДН соот-

ветственно. В среднем показатели оптической плотности депозитов белка Е6 составляли 127 [50,5; 273,7] пикселей при фиброаденоматозе без атипических изменений эпителия и 140,7 [50,2; 366,4] пикселей с атипией. Для белка L1 эти показатели были равны 105,5 [49,2; 245,2] и 120,8 [49,7; 229,3] пикселей соответственно. Различий между средними значениями показателей интенсивности синтеза белков Е6 и L1 не обнаружено ($p < 0,05$). При распределении показателей интенсивности ИГХ-реакции соответственно степеням различия были значимыми между NOS и АДН умеренной ($p \leq 0,05$) и сильной ($p \leq 0,01$) степени для белка Е6. Таким образом, полученные нами данные наличия

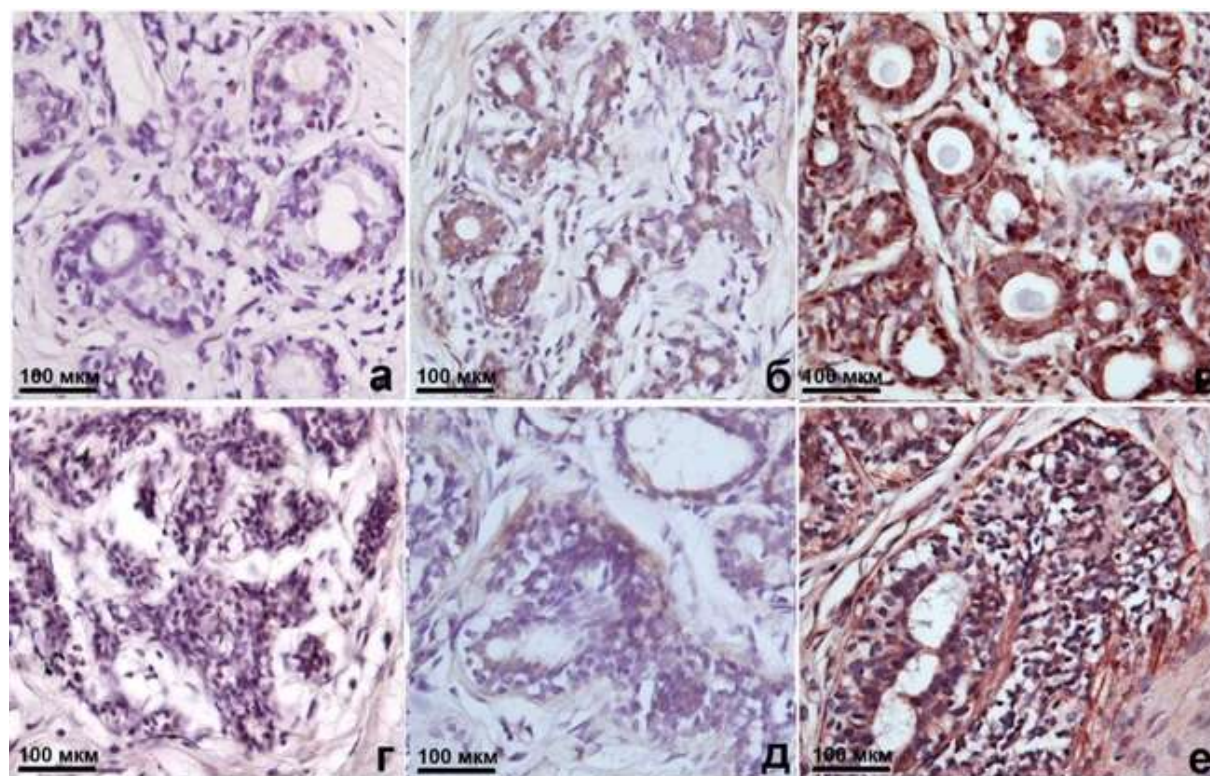


Рис. 3. Капсидный белок L1 вируса папилломы человека в тканях молочной железы при фиброаденоматозе: а, б, в – слабая, умеренная и сильная позитивная реакция при поражении без атипичной пролиферации эпителия NOS; г, д, е – слабая, умеренная и сильная позитивная реакция при поражении с атипичной пролиферацией эпителия АДН. Иммуногистохимическое окрашивание, поликлональные антитела мыши против белка L1 ВПЧ (клон BPV-1/1H8 + CAMVIR), а–е – об.40; ок.10.

Fig. 3. Capsid L1 protein of the human papillomavirus in breast tissues in fibroadenomatosis: а, б, в – weak, moderate and strong positive reaction in lesions without atypical proliferation of the NOS epithelium; г, д, е – weak, moderate and strong positive reaction in lesions with atypical proliferation of ADH epithelium. Immunohistochemical staining, mouse polyclonal antibodies vs. HPV L1 protein (clone BPV-1/1H8 + CAMVIR), а–е – об.40; ок.10.

вирусных белков Е6 и L1 свидетельствуют о высокой распространенности ВПЧ при фиброаденоматозе. Причем, экспрессия вирусных белков в тканях молочной железы преимущественно соответствовала умеренной степени как для образцов без атипичной пролиферации эпителиоцитов, так и с атипичной. Подобные результаты отмечены и другими исследователями, которые указывают на 30% обнаружение ДНК ВПЧ [11, 12, 15].

С целью принятия решений о применении методов адъювантной терапии раннего рака молочной железы в онкодиагностике достаточно широко применяется маркер пролиферативной активности клеток белок Ki-67. Показатель наличия Ki-67 является одним из наиболее важных критериев, позволяющих определить фенотип опухоли, скорость ее роста, риск метастазирования и потенциальный ответ на химиотерапию. В нормальных тканях молочной железы без патологических изменений уровень экспрессии Ki-67 не превышает 5%, показатель менее 15% указывает на неагрессивность опухоли и более 30% – на высокую агрессивность. Мы предположили, что фиброаденоматоз без атипичной пролиферации эпителия может развиваться, приобретая со временем атипичный характер. В связи с

этим, определение показателя пролиферативной активности клеток Ki-67 может свидетельствовать о степени их пролиферативной активности. Определена позитивная реакция на белок Ki-67 в 23% (14 из 48) случаев биопсий при фиброаденоматозе без атипии и в 65% (17 из 26) при атипичной пролиферации эпителия (рис. 4). Различия показателей позитивной реакции при типичных и атипичных изменениях эпителия составляли $20,23 \pm 8,06$ и $39,96 \pm 10,8$ пикселей соответственно и были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Определена тенденция к увеличению интенсивности синтеза белка Ki-67 в тканях молочной железы с признаками атипических изменений клеток. Одновременная экспрессия вирусных белков Е6, L1 и маркера пролиферации Ki-67 наблюдалась в 27% (13 из 48) образцах при типичных изменениях эпителиоцитов, но корреляции между этими показателями не установлено, что указывает на доброкачественный характер изменения клеток и небольшой риск их малигнизации. Коэффициент корреляции между показателями для белков Е6 и Ki-67 составлял $R = 0,33$ ($p = 0,0272$), для L1 и Ki-67 – $R = 0,20$ ($p = 0,1569$). При фиброаденоматозе с

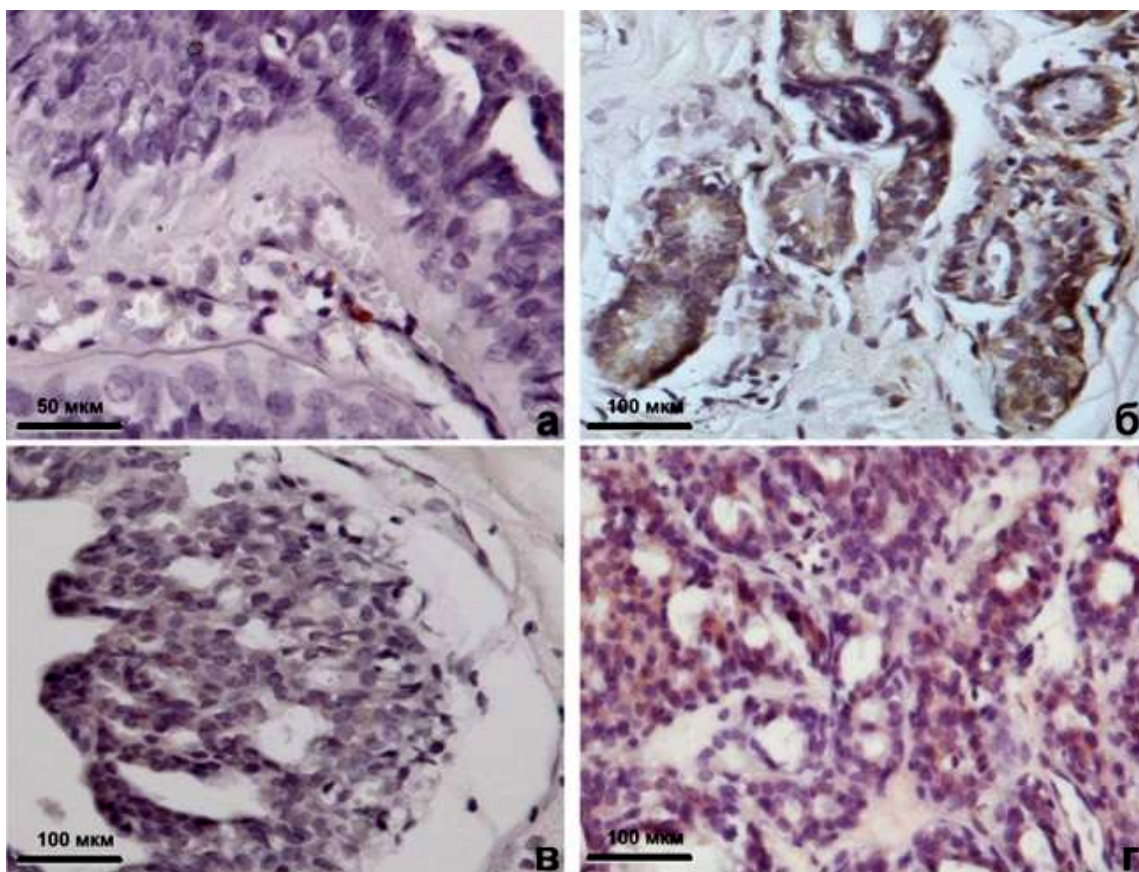


Рис. 4. Ядерный белок пролиферации Ki-67 в тканях молочной железы при внутритротоковом папилломатозе: а, б – слабая и умеренная позитивная реакция при поражении без атипичной пролиферации эпителия NOS; в, г – слабая и умеренная позитивная реакция при поражении с атипичной пролиферацией эпителия ADH. Иммуногистохимическое окрашивание, поликлональные антитела мыши против белка Ki-67 (клон MIB-1, изотип IgG1), а – об.100; ок. 10; б, в, г – об.40; ок. 10.

Fig. 4. Nuclear protein of Ki-67 proliferation in breast tissues in case of intraductal papillomatosis: а, б – weak and moderate positive reaction in lesions without atypical proliferation of NOS epithelium; в, г – weak and moderate positive reaction in lesions with atypical proliferation of ADH epithelium. Immunohistochemical staining, mouse polyclonal antibodies against the Ki-67 protein (MIB-1 clone, IgG1 isotype), а – ob. 100; oc. 10; б, в, г – ob. 40; oc. 10.

атипичной пролиферацией эпителия обнаружена прямая умеренная связь между наличием белков ВПЧ и ядерным маркером пролиферации клеток ($R=0,54$, $p=0,005$ и $R=0,26$, $p=0,1$). Это может указывать, во-первых, на продуктивное инфицирование с формированием вирионов ВПЧ 16/18 типов в клетках, и, во-вторых, возможное влияние ВПЧ на усиление пролиферативной активности клеток молочной железы с инициацией атипичных изменений.

На ранних стадиях инфицирования организма вирусный белок Е6 синтезируется в менее дифференцированных слоях эпителия, тогда как капсидный L1 определяется в его более зрелых клетках при формировании вирусных частиц, что обеспечивает дальнейшее развитие жизненного цикла ВПЧ [8, 14]. Установленное нами наличие вирусных белков Е6 и L1 в тканях доброкачественных папиллярных новообразований указывает на определенное участие ВПЧ в инициации патологических процессов в клетках эпителия протоков молочной железы. Причем комплекс-

ное изучение синтеза белка Е6 и капсидного протеина L1 в клетках опухоли позволяет определить стадию жизненного цикла вируса. Так что при фиброаденоматозе без атипичной пролиферации эпителия белок Ki-67 синтезируется в меньшей степени, что подтверждает доброкачественный характер процесса и низкий риск дальнейшей малигнизации новообразования. Тогда как при фиброаденоматозе с атипичной пролиферацией эпителия установлена повышенная степень экспрессии белка Ki-67, а также умеренная сила связи с показателем синтеза капсидного белка L1, что указывает на участие ВПЧ в активации синтетической активности клеток. На наш взгляд, подобное наличие вирусных белков, сопряженное с показателем Ki-67, требует информирования пациентки о возможном риске развития РМЖ в дальнейшем и необходимости регулярного прохождения скрининга молочных желез. Также внедрение морфометрического метода позволит исключить субъективность оценки интенсивности синтеза белка пролиферативной активности Ki-67.

Заключение

Обнаруженное нами наличие вирусных белков Е6 и L1 онкогенных типов ВПЧ в тканях доброкачественных папиллярных новообразований при фиброаденоматозе указывает на его возможное участие в канцерогенезе молочных желез. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении, а также дополнительное изучение роли вакцинации против широкого спектра подтипов ВПЧ с целью первичной профилактики рака молочной железы. Результаты таких исследований могут оказать влияние на развитие профилактических инициатив в направлении сохранения здоровья женского населения.

Список источников / References

1. Франк Г.А., Данилова Н.В., Андреева Ю.Ю., Нефедова Н.А. Классификация опухолей молочной железы ВОЗ 2012 года. Архив патологии. 2013; 75(2):53–63.
Frank GA, Danilova NV, Andreeva YuYu, Nefedova NA. WHO Classification of tumors of the breast, 2012. Arkhiv Patologii. 2013;75(2):53–63. (In Russ.)
2. Afzal S, Fiaz K, Noor A, Sindhu AS, Hanif A, Bibi A, et al. Interrelated Oncogenic Viruses and Breast Cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022 Mar 28;9. doi: 10.3389/fmolb.2022.781111
3. Altamura G, Power K, Martano M, degli Uberti B, Galiero G, De Luca G, et al. Felis catus papillomavirus type-2 E6 binds to E6AP, promotes E6AP/p53 binding and enhances p53 proteasomal degradation. *Scientific Reports*. 2018 Dec;8(1):17529. doi: 10.1038/s41598-018-35723-7
4. Blanco R, Carrillo-Beltrán D, Muñoz JP, Corvalán AH, Calaf GM, Aguayo F. Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent? *Biology*. 2021 Aug 20;10(8):804. doi: 10.3390/biology10080804
5. Boufelli G, Marcelo Abrantes Giannotti, Ruiz CE, Nestor de Barros, Luciano Fernandes Chala, Jonathan Yugo Maesaka, et al. Papillomas of the breast: factors associated with underestimation. *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 2017 Mar 1;27(4):310–4. doi: 10.1097/cej.0000000000000343
6. Buck CB, Day PM, Trus BL. The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology [Internet]*. 2013 Oct;445(1-2):169–74. doi: 10.1016/j.virol.2013.05.038
7. Elagali AM, Suliman AA, Altayeb M, Dannoun AI, Parine NR, Sakr HI, et al. Human papillomavirus, gene mutation and estrogen and progesterone receptors in breast cancer: a cross-sectional study. *Pan African Medical Journal*. 2021;38(43):1–13. doi: 10.11604/pamj.2021.38.43.22013
8. Figueroa JD, Gierach GL, Duggan MA, Fan S, Pfeiffer RM, Wang Y, et al. Risk factors for breast cancer development by tumor characteristics among women with benign breast disease. *Breast Cancer Research*. 2021 Mar 18;23(1):1–12. doi: 10.1186/s13058-021-01410-1
9. Krump NA, You J. Molecular mechanisms of viral oncogenesis in humans. *Nature Reviews Microbiology*. 2018 Aug 24;16(11):684–98. doi: 10.1038/s41579-018-0064-6
10. Kulka J, Madaras L, Floris G, Lax SF. Papillary lesions of the breast. *Virchows Archiv*. 2021 Nov 3;480(1):65–84. doi: 10.1007/s00428-021-03182-7
11. Lawson JS, Glenn WK, Whitaker NJ. Human Papilloma Viruses and Breast Cancer – Assessment of Causality. *Frontiers in Oncology*. 2016 Sep 29;6:207–18. doi: 10.3389/fonc.2016.00207
12. Maldonado-Rodríguez E, Hernández-Barrales M, Reyes-López A, Godina-González S, Gallegos-Flores PI, Esparza-Ibarra EL, et al. Presence of Human Papillomavirus DNA in Malignant Neoplasia and Non-Malignant Breast Disease. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022 Aug 13;44(8):3648–65. doi: 10.3390/cimb44080250
13. Onyango CG, Ogonda L, Guyah B, Shiluli C, Ganda G, Orang'o OE, et al. Novel biomarkers with promising benefits for diagnosis of cervical neoplasia: a systematic review. *Infectious Agents and Cancer*. 2020 Nov 16;15(1):1–12. doi: 10.1186/s13027-020-00335-2
14. Ren C, Zeng K, Wu C, Mu L, Huang J, Wang M. Human papillomavirus infection increases the risk of breast carcinoma: a large-scale systemic review and meta-analysis of case-control studies. *Gland surgery*. 2019 Oct 1;8(5):486–500. doi: 10.21037/gs.2019.09.04
15. Salman NA, Davies G, Majidy F, Shakir F, Akinrinade H, Perumal D, et al. Association of High Risk Human Papillomavirus and Breast cancer: A UK based Study. *Scientific Reports [Internet]*. 2017 Feb 27;7(1):1–8. doi: 10.1038/srep43591
16. Wang Y, Zhang K, Zhao S, Yanrong Lv, Zhu J, Liu H, et al. HPV Status and Its Correlation with BCL2, p21, p53, Rb, and Survivin Expression in Breast Cancer in a Chinese Population. *BioMed research international*. 2017 Jan 1;2017:1–7. doi: 10.1155/2017/6315392

Информация об авторах

Плехова Наталья Геннадьевна – д-р биол. наук, доцент, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией Тихоокеанского государственного медицинского университета; пр. Острякова, 2, Владивосток, 690002, Россия; pl_nat@hotmail.com
https://orcid.org/0009-0002-8701-7213
Лагурёва Александра Викторовна – аспирант Тихоокеанского государственного медицинского университета; sandy767@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-4195-9184
Анапасьевич Владимир Иосифович – д-р мед. наук, профессор института хирургии Тихоокеанского государственного медицинского университета; oncolog222@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-0808-5283
Цибулина Анастасия Александровна – младший научн. сотр. Центральной научно-исследовательской лабораторией Тихоокеанского государственного медицинского университета; nastya_14071998@mail.ru

Information about the authors

Natal'ya G. Plekhova – Doct. Sci. (Biol.), Associate Professor, head Central Research Laboratory of Pacific State Medical University; pr. Ostryakova, 2, Vladivostok, 690002, Russia; pl_nat@hotmail.com
https://orcid.org/0009-0002-8701-7213
Aleksandra V. Lagureva – postgraduate student of Pacific State Medical University; sandy767@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-4195-9184
Vladimir I. Apanasevich – Doct. Sci. (Med.), Professor Institute of Surgery of Pacific State Medical University; oncolog222@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-0808-5283
Anastasiya A. Tsiulina – junior researcher of Central Research Laboratory of Pacific State Medical University; nastya_14071998@mail.ru