

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Российский университет дружбы народов  
имени Патриса Лумумбы»

*На правах рукописи*

**Тигай Юлия Олеговна**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МАЛИГНИЗАЦИИ  
ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА**

3.3.2 Патологическая анатомия

Диссертация  
на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
**Ивина Анастасия Анатольевна**  
доктор медицинских наук, доцент

Москва – 2026

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	11
1.1. Потенциально злокачественные заболевания слизистой оболочки полости рта.....	11
1.1.1. Лейкоплакия .....	15
1.1.2. Эритроплакия и эритролейкоплакия .....	17
1.1.3. Подслизистый фиброз полости рта .....	18
1.1.4. Изменения нёба, связанные с обратным курением .....	19
1.1.5. Красный плоский лишай рта .....	20
1.1.6. Плоскоклеточный рак.....	22
1.2. Основные морфологические проявления потенциально злокачественных заболеваний СОПР .....	24
1.2.1. Эпителиальная гиперплазия .....	24
1.2.2. Эпителиальная дисплазия .....	24
1.2.3. Плоскоклеточный рак.....	26
1.2.4. Веррукозная гиперплазия .....	27
1.2.5. Веррукозная карцинома .....	27
1.3. Молекулярно-генетические и иммуногистохимические маркеры .....	28
1.3.1. Маркер пролиферации Ki-67.....	29
1.3.2. Опухолевый супрессор P53 .....	30
1.3.3. Теломераза .....	32
1.3.4. Амплификация гена TERC методом FISH.....	34
<b>Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	37
2.1. Гистологическое исследование.....	38
2.2. Иммуногистохимические исследования.....	38
2.3. Метод тканевых матриц .....	39

2.4	Метод флюоресцентной гибридизации <i>in situ</i> (FISH) .....	41
2.5	Система оценки экспрессии белков и амплификации гена <i>TERC</i> .....	42
2.6.	Статистический метод исследования .....	43
<b>Глава 3.</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	<b>45</b>
3.1.	Гистологическое исследование.....	45
3.2	Иммуногистохимическое исследование .....	53
3.2.1.	<i>Белок Ki-67</i> .....	53
3.2.2	<i>Белок P53 (клон DO-7)</i> .....	59
3.2.3	<i>Белок P53 (клон Y-5)</i> .....	65
3.2.4	<i>Теломеразная обратная транскриптаза (TERT)</i> .....	71
3.3	Амплификация гена <i>TERC</i> методом FISH .....	77
3.4	Статистический анализ полученных результатов .....	83
3.4.1	<i>Статистический анализ полученных результатов для ИГХ</i> .....	83
3.4.2	<i>Анализ амплификации по зондам TERC и ССР3</i> .....	89
<b>Глава 4.</b>	<b>ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	<b>94</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	.....	<b>99</b>
<b>ВЫВОДЫ</b>	.....	<b>100</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	.....	<b>101</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	.....	<b>102</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	.....	<b>103</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Заболевания слизистой оболочки полости рта (СОПР), а особенно плоскоклеточный рак (ПР) являются предметом исследований по всему миру. Их распространённость варьирует в зависимости от географического региона и в основном затрагивает работоспособное население [Чистенко Г.Н. и др., 2020; Cristaldi M. et al., 2019].

Актуальность проблемы заболеваемости ПР СОПР обусловлена увеличением частоты выявления в последние годы. По данным отечественных авторов данная патология чаще встречается у мужчин, чем у женщин в соотношении 2,2:1 и выявляется уже на поздних стадиях, что объясняет высокий уровень смертности [Рыхлевич А.А. и др., 2021]. В основном ПР обнаруживается у лиц 60–70 лет и старше, однако в последнее время его диагностируют у молодого населения, при этом заболевание протекает агрессивнее и чаще рецидивирует, чем у возрастных пациентов [Жуйкова Л.Д. и др., 2024]. Зарубежные авторы отмечают, что ПР имеет тенденцию не только к омоложению, но и к увеличению количества женщин [Zygogianni A.G. et al., 2011].

Несмотря на доступность СОПР для визуального осмотра, диагноз ПР часто ставится на поздних стадиях из-за разнообразия клинических проявлений и неспецифичности симптомов, а также из-за поздней обращаемости пациентов [Sung H. et al., 2021; Керимханов К.А. и др., 2025]. Считается, что ПР редко возникает в изначально здоровом органе, и у каждого онкологического заболевания есть предшествующие ему предраковые изменения [Vogelstein B. et al., 2004].

Ранние диагностические и профилактические мероприятия основаны на своевременном обнаружении повреждающих факторов, тщательном анамнезе, в исключении вредных привычек, лечении соматической патологии, а также тактике ведения пациентов с предраковыми заболеваниями. Особое внимание уделяется исследованию процессов малигнизации и морфологических изменений, сопровождающих переход тканей из предракового состояния СОПР в ПР [Рабинович О.Ф. и др., 2021; Межевикина Г.С. и др., 2018]. Практически каждая

опухоль имеет один из видов повреждений в гене, и инактивация супрессорных генов встречаются гораздо чаще, чем активирующие мутации в онкогенах [Hafner A., 2019]. Чаще всего в этой области исследуют гены, отвечающие за стабильность генома, пролиферацию, апоптоз, ангиогенез, клеточную адгезию и репарацию ДНК. Именно они выполняют ключевую роль в прогрессировании заболевания [Hanahan D. et al., 2011; Stratton M.R. et al., 2009; Ravindran S. et al., 2025]. Во многих случаях генетические изменения происходят в одной и той же клетке одновременно на уровне различных хромосомных участках. Это делает опухолевую ткань неоднородной, а раковые клетки приобретают абберантный хромосомный набор [Gerlinger M. et al., 2012; El-Naggar A.K. et al., 2001].

Своевременная диагностика ПР СОПР влияет на прогноз, что напрямую коррелирует со стадией заболевания на момент постановки диагноза. Известно, что общая 5-летняя выживаемость составляет около 60–68%. Однако при диагностике ПР на начальной стадии этот показатель может достигать 85–90%, в то время как при наличии регионарных метастазов на более поздних стадиях он снижается до 40–60%, а при отдалённых метастазах не превышает 35% [Sung H. et al., 2021; Siegel R.L. et al., 2023].

Несмотря на достижения в комбинированном лечении, включающие в себя хирургическое лечение, лучевую терапию и современные методы системной терапии основным критерием, который определяет исход, является ранняя диагностика. Выявление и адекватное лечение потенциально злокачественных заболеваний (ПЗЗ) и ПР на начальных стадиях является основной стратегией для улучшения прогноза [Warnakulasuriya S., 2021; Carreras-Torras C. et al., 2015]. Современная диагностика предраковых заболеваний основана на исследовании экспрессии различных белков при помощи иммуногистохимического (ИГХ) исследования [Bugshan A. et al., 2020].

Молекулярно-генетические методы диагностики широко применяются для исследования перестроек генома и применяются для диагностики наследственных нарушений (синдром Дауна, гемофилия, муковисцидоз), а также для диагностики онкологических заболеваний (рак матки, желудка, простаты, лёгких). Хорошие

результаты в диагностике опухолевых процессов показали такие методы как CISH (chromogenic *in situ* hybridization – хромогенная гибридизация *in situ*) и FISH (fluorescence *in situ* hybridization– флуоресцентная гибридизация *in situ*) [Seethalakshmi C. et al., 2013; Bavle R.M. et al., 2016].

Одной из ключевых задач современной онкоморфологии является определение и оценка критериев в ранней диагностике малигнизации эпителия СОПР путём комплексного анализа панели молекулярно-генетических маркеров. Необходимость такого подхода продиктована ограничениями стандартной гистологической оценки [Lingen M.W. et al., 2008; Iossa O. et al., 2020]. Традиционно критерием гистологической оценки ранней малигнизации эпителия является определение степени эпителиальной дисплазии (ЭД). Этот критерий является «золотым стандартом», но имеет ряд ограничений, а именно: субъективность интерпретации и недостаточную прогностическую ценность, особенно при начальных этапах малигнизации [Odell E.W. et al., 2017; Iossa O. et al., 2020; Tilakaratne W.M. et al., 2009]. Это диктует острую необходимость в разработке комплексного подхода, который объединяет морфологическую картину с объективными данными о молекулярном статусе клеток.

Таким образом, актуальность исследования обусловлена необходимостью анализа молекулярных и геномных изменений, которые могут проявляться при малигнизации предраковых поражений СОПР в ПР. Это позволит осуществлять дифференциальную диагностику различных морфологических проявлений, встречающихся при исследовании предраковых поражений на ранних стадиях, что способствует постановке более точного и своевременного диагноза.

### **Цели и задачи исследования**

Целью настоящего исследования является выявление молекулярных и генетических маркеров для ранней диагностики малигнизации эпителия слизистой оболочки полости рта.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Оценить пролиферативную активность эпителиальных клеток по экспрессии белка Ki-67 и активности теломеразной обратной транскриптазы

(TERT) на различных стадиях малигнизации эпителия СОПР от эпителиальной гиперплазии (ЭГ) до ПР.

2. Провести сравнение различных клонов белка P53 (DO-7 и Y-5) при оценке ЭГ, ЭД и ПР.

3. Выявить особенности амплификации гена *TERC* при ЭГ, ЭД, ПР СОПР.

4. Разработать молекулярно-генетические критерии при дифференциальной диагностике веррукозной гиперплазии (ВГ) и веррукозной карциномы (ВК) на основе экспрессии белков Ki-67, P53, TERT и амплификации гена *TERC*.

5. Разработать алгоритм ранней молекулярно-генетической диагностики малигнизации СОПР.

### **Научная новизна исследования**

Впервые проведён комплексный сравнительный анализ экспрессии молекулярных маркеров Ki-67, P53 (клоны DO-7 и Y-5) и активность TERT при малигнизации эпителия СОПР от ЭГ до ПР. Впервые показана высокая информативность амплификации гена *TERC* для диагностики ранних стадий малигнизации эпителия СОПР. Впервые на основе сравнения экспрессии различных клонов белка P53 (DO-7 и Y-5) показана диагностическая ценность клона Y-5, при выявлении ВК и ПР. Впервые на основании сравнения амплификации гена *TERC* в ВК и ПР, показано, что ВК следует рассматривать как эпителиальную дисплазию высокой степени (ЭДВС).

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

**Теоретическая значимость** исследования заключается в углублении представлений о молекулярных механизмах многоступенчатого канцерогенеза СОПР. Полученные результаты детализируют роль нарушения контроля клеточного цикла (Ki-67, P53, TERT) и нарастания геномной нестабильности (амплификация гена *TERC*) в инициации и прогрессии опухолевого процесса. Работа вносит вклад в фундаментальное понимание патогенеза ПР и его веррукозного варианта на молекулярном уровне, устанавливая связь между конкретными генетическими событиями и морфологическими проявлениями. Полученные данные способствуют развитию более точных методов диагностики и

целенаправленных терапевтических стратегий, а также углубляют фундаментальные знания патогенеза данного онкологического заболевания на молекулярно-генетическом уровне.

**Практическая значимость** работы состоит в том, что разработанный на основе исследования диагностический алгоритм может быть внедрен в ежедневную клиническую практику врача-патологоанатома. Применение предложенной панели маркеров повышает точность и объективность диагностики, особенно в сложных случаях и при малом объеме биопсийного материала. Результаты исследования создают основу для улучшения диагностики и прогнозирования течения веррукозных поражений СОПР, позволяя своевременно отличить ВГ от ВК. Внедрение результатов исследования молекулярно-генетических методов в практику способствует раннему выявлению злокачественной трансформации, что напрямую влияет на выбор адекватного лечения и улучшение прогноза для пациентов. Разработанный диагностический алгоритм и полученные результаты могут стать основой для создания стандартизированных протоколов обследования и мониторинга пациентов с предраковыми поражениями СОПР, что повысит эффективность профилактических мероприятий и снизит риск развития ПР.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Процесс малигнизации эпителия СОПР от ЭГ к ПР сопровождается нарастанием экспрессии маркеров пролиферации Ki-67, апоптоза P53 (клоны DO-7 и Y-5) и TERT, что отражает ключевые этапы опухолевой прогрессии.
2. Экспрессия клона DO-7 белка P53 проявляется на всех исследованных стадиях малигнизации эпителия от ЭГ к ПР, а экспрессия клона Y-5 начинает выявляться при ЭДВС и увеличивается при ПР.
3. Амплификация гена *TERC* свидетельствует о геномной нестабильности и повышенном риске распространения опухолевого процесса и начинает определяться при ЭДВС.

4. Молекулярно-генетический профиль экспрессии белков Ki-67, P53 (клон Y-5) и TERT позволяют проводить дифференциальную диагностику ВГ и ВК и на ранних стадиях выявлять малигнизацию эпителия СОПР.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Выводы соответствуют задачам и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования. Достоверность результатов обоснована изучением достаточного объема материала и использованием методов, отвечающих поставленным задачам.

Результаты диссертационного исследования доложены и опубликованы в виде тезисов на X Ежегодной Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины» и «IV спутниковый форум по общественному здоровью и политике здравоохранения» 27-28 апреля 2023 г. Баку, Азербайджан, на XI Ежегодной Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины» и «V спутниковый форум по общественному здоровью и политике здравоохранения» 27-28 марта 2024 г. Баку, Азербайджан, на 78-й Международной научно-практической конференции «Достижения фундаментальной, прикладной медицины и фармации» 17 мая 2024 г. Самарканд, Узбекистан, на XX Международной (XXIX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных 20 марта 2025 г. Москва, Россия.

**Личный вклад автора.** Автор принимала участие в выполнении всех этапов диссертационного исследования: самостоятельно запланировала исследование, определила его цель и задачи, провела анализ литературы, охватывающий как отечественные, так и зарубежные источники, посвященные теме диссертационного исследования, активно участвовала в исследовании полученных в ходе эксперимента гистологических препаратов. Также провела статистический анализ данных, разработала практические рекомендации и самостоятельно подготовила публикации по результатам диссертационного исследования, включая статьи и тезисы.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых SCOPUS научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, и 4 публикаций в материалах российских и международных научных конференций.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Потенциально злокачественные заболевания слизистой оболочки полости рта

В 2017 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определила ПЗЗ СОПР как клинические проявления, которые имеют риск развития рака слизистой рта, включая как предраковые поражения, так и клинически нормальную слизистую оболочку. К ним относятся: лейкоплакия, эритроплакия, эритролейкоплакия, фиброз подслизистой оболочки полости рта, изменения нёба, связанные с обратным курением и реже красный плоский лишай (КПЛ) полости рта [Warnakulasuriya S. et al., 2021]. Морфологическая оценка этих состояний является краеугольным камнем в определении их потенциала к злокачественной трансформации, которая гистологически проявляется чаще всего как ЭД различной степени тяжести [Müller S., 2018].

Ранее неоднократно были описаны различные этиологические факторы развития предраковых заболеваний и ПР, разработаны профилактические мероприятия, протоколы приёма и ведения пациентов, а также внедрены различные способы диагностики данных заболеваний [Arduino P.G. et al., 2009].

Ключевую роль в этиологии развития предраковых состояний и ПР СОПР играют различные экзогенные факторы: постоянные механические травмы (острые края протезов или пломб), химические воздействия (употребление алкоголя, пряностей, жевание табака), термические повреждения (курение, частое употребление горячей пищи или напитков) [Petti S. et al., 2013]. К эндогенным факторам относят: генетическую предрасположенность, заболевания, сопровождающиеся нарушением заживления или ороговения (аутоиммунные заболевания), гормональные нарушения (сахарный диабет), стресс, очаги хронической одонтогенной инфекции, что может запустить внутриклеточные изменения [Regezi J.A. et al., 2016].

В настоящее время существует много теорий и концепций, которые рассматривали этиологию и патогенез трансформации здоровой клетки в опухолевую. Большая часть из этих предположений имеют исторический интерес,

но некоторые выступают в качестве составляющих современной универсальной теории канцерогенеза — теории онкогенов. Она раскрыла причину образования одного заболевания под действием различных этиологических факторов и объединила открытия и достижения, связанные с другими направлениями [Weinberg R.A., 2014].

Первые положения теории онкогенов были выдвинуты в начале 70-х годов, где при нарушении активации генов, появлении повреждений таких как: мутации, амплификации, делеции, дупликации, хромосомные перестройки) здоровая клетка может превратиться в раковую, так как нарушена ее основная функция [Huebner R.J. et al., 1969]. Исходя из этой теории канцерогенез имеет молекулярно-генетические изменения, которые состоят из активации онкогенов, инактивации антионкогенов, что может привести к мутациям и генетической нестабильности.

Распространённость ПЗЗ СОПР значительно варьирует в зависимости от географического региона, этнических особенностей и наличия факторов риска в популяции, таких как курение, употребление алкоголя и жевание ореха ареки (бетеля) [Warnakulasuriya S. et al., 2005]. Предраковые состояния СОПР — это комплекс различных признаков, в которые входят клинические, биологические и морфологические признаки, как правило, при этом отсутствуют инвазия и деструкция подлежащих тканей. Гистологически практически любое предраковое заболевание характеризуется ЭГ и ЭД, увеличением количества митозов клеток в фазе деления, нарушением ороговения (гипер- и паракератозом) [Müller S., 2018; Speight P.M. et al., 2018].

Считается, что малигнизация эпителия через ЭД – классический путь, при котором происходит постепенное накопление морфологических и генетических изменений в эпителиальных клетках, начиная с эпителиальной дисплазии низкой степени (ЭДНС) или эпителиальной дисплазии средней степени (ЭДСС), которая характеризуется умеренными атипичными изменениями, увеличением числа митозов, нарушением ороговения и структурной дезорганизацией. При отсутствии своевременного вмешательства ЭДСС может прогрессировать в ЭДВС, а риск перехода в рак *in situ* значительно возрастает. При дальнейшем нарастании

морфологических и молекулярных изменений происходит инвазия — проникновение опухолевых клеток за пределы базальной мембраны и развитие ПР [Байрамова Г.Р. и др., 2019; Johnson D.E. et al., 2020]. Этот путь считается основным, так как большинство случаев ПР СОПР и других органов развивается именно через последовательное прогрессирование от ЭГ к ПР [Neville B. W. et al., 2022].

Помимо вышеописанного пути существует и второй вариант развития ПР, который является менее изученным, но не менее важным. При предраковых поражениях можно обнаружить ВГ, которая характеризуется образованием бородавчатых и гиперпластических выростов. Несмотря на то, что морфологические признаки атипии могут отсутствовать или проявляться слабо, а ЭД может и вовсе отсутствовать, в клетках могут накапливаться генетические повреждения, особенно при хроническом воспалении и длительном воздействии онкогенных факторов. В результате такие изменения могут привести к переходу в ПР через ВК даже при отсутствии ярко выраженной ЭД, что затрудняет диагностику [Warnakulasuriya S. et al., 2020; Müller S., 2018].

Этот путь малигнизации считается менее очевидным, поскольку выраженные морфологические признаки ЭД могут отсутствовать, однако он важен для понимания механизмов развития ПР в условиях хронического воспаления и гиперпластических процессов [Warnakulasuriya, S., 2020].

Именно поэтому предраковые заболевания СОПР требуют более тщательной диагностики по сравнению с доброкачественными поражениями СОПР, так как они сопровождаются хроническим воспалительным процессом, что усложняет выявление первичных признаков неоплазии, таких как целостность базальной мембраны, инфильтрирующий рост, наличие патологических митозов и отдельных атипичных клеток [Odell E.W. et al., 2017]. По данным отечественных и зарубежных авторов, хронический воспалительный инфильтрат может влиять на приобретение клеткой геномных мутаций [Balkwill F. et al., 2001; Coussens L.M. et al., 2002]. Так как предраковые поражения СОПР могут прогрессировать до злокачественного образования, для них требуется более тщательная ранняя диагностика [Warnakulasuriya S. et al., 2021].

Лейкоплакия является самым распространённым ПЗЗ, её глобальная распространённость колеблется в диапазоне от 1,3% до 4,1% [Jossa O. et al., 2020; Warnakulasuriya S. et al., 2021; Cívico-Ortega J.L. et al., 2025]. Эритроплакия и эритролейкоплакия – наиболее редкие заболевания (распространённость <0,8%), однако они обладают самым высоким потенциалом злокачественной трансформации [González-Moles M.Á. et al., 2025; Mehrotra R. et al., 2025].

Фиброз подслизистой оболочки полости рта, тесно связанный с жеванием бетеля, эндемичен для стран Южной и Юго-Восточной Азии, где его распространённость может превышать 5%, в то время как в других регионах он встречается крайне редко [Yakin M. et al., 2025; Gupta B. et al., 2016].

КПЛ является хроническим воспалительным заболеванием слизистых оболочек, характеризующимся развитием гиперкератозных, атрофических и эрозивных изменений и встречается примерно у 0,9–2,0% населения мира [González-Moles M.Á. et al., 2021].

Частота встречаемости изменений нёба, связанных с обратным курением, варьирует в зависимости от региона и популяции. Особенно часто эти изменения регистрируются у жителей Южной и Юго-Восточной Азии, где распространено также использование бетеля и жевательного табака [Gupta B. et al., 2016; Ивина А.А. и др., 2020].

Систематический обзор и мета-анализ показали, что совокупная распространённость ПЗЗ ПР в мировой популяции составляет около 4,47%, что подчёркивает глобальную значимость проблемы ранней диагностики и профилактики ПР СОПР [Mello F.W. et al., 2018]. Эти данные сохраняют актуальность и подтверждаются современными обзорами (Таблица 1) [Kujan O., 2025; Warnakulasuriya S. et al., 2021; Lorini L. et al., 2021]. При этом распространённость отдельных форм ПЗЗ ПР варьирует в зависимости от региона, диагностических критериев и исследуемой популяции [Warnakulasuriya S. et al., 2021; Zhang C. et al., 2023; Yuwanati M. et al., 2023; González-Moles M.A. et al., 2021].

**Таблица 1** – Распространённость основных потенциально злокачественных заболеваний слизистой оболочки полости рта по данным литературы.

<i>Потенциально злокачественное заболевание</i>	<i>Распространенность, %</i>	<i>Источник</i>
Лейкоплакия	1,36–2,23%	Zhang C. et al., 2023
Эритроплакия и эритролейкоплакия	0,02–0,20%	Kujan O., 2025
Фиброз подслизистой оболочки	около 5% среди лиц, употребляющих орех ареки	Yuwanati M. et al., 2023
Красный плоский лишай	около 1,01%	González-Moles M.A. et al., 2021
Изменения неба при обратном курении	точные глобальные оценки отсутствуют; в эндемичных популяциях показатели могут быть высокими	Warnakulasuriya S. et al., 2021

### *1.1.1. Лейкоплакия*

Лейкоплакия – распространённое, как правило бессимптомное ПЗЗ СОПР, по данным ВОЗ с 2020 года описывается как: “Белые бляшки сомнительного риска, исключаящие (другие) известные заболевания, которые не несут повышенного риска развития рака”. Общая доля злокачественной трансформации лейкоплакии составляет от 3,5–9,8%. Ежегодно в 1–3% случаев лейкоплакии трансформируются в ПР [Warnakulasuriya S. et al., 2020], а по данным других авторов злокачественная трансформация лейкоплакии варьирует от 0,13–17,5% [Cívico-Ortega J.L. et al., 2025; Kowalski M. et al., 2025]. Также известно, что развитию ПР в 67% предшествует лейкоплакия [Weber M. et al., 2020].

Существуют различные классификации лейкоплакии: отечественные и зарубежные. Согласно отечественной классификации А.Л. Машкиллейсона, лейкоплакия делится на четыре клинические формы: плоскую, веррукозную, эрозивную и лейкоплакию курильщиков Таппейнера (никотиновый стоматит) [Боровский Е.В. и др., 2001]. Каждая из этих форм характеризуется определёнными морфологическими и клиническими особенностями, а также различным уровнем риска малигнизации. Например, веррукозная и эрозивная формы считаются более опасными с точки зрения потенциала перехода в злокачественную опухоль, что требует более тщательного наблюдения и своевременного лечения. Важным

аспектом является также выявление факторов, способствующих прогрессированию, таких как курение, употребление алкоголя и наличие хронических воспалительных процессов. Лейкоплакия с наибольшим злокачественным потенциалом выявляется в 3,5% случаев среди всех предраковых поражений СОПР. Из них веррукозная форма составляет до 20% случаев, а эрозивная — до 25,5% [Ferraz D.L.F. et al., 2025].

Известно, что распространённость веррукозной формы среди предраковых поражений СОПР составляет 15–20%, а эрозивной формы 10–15% [Alajaji S. et al., 2025; Yakin M. et al., 2025].

В зарубежной литературе лейкоплакия классифицируется по клиническим признакам как гомогенная (homogenous) и негомогенная (non-homogenous). Гомогенная проявляется как белое образование с плоской поверхностью и чёткими, ровными краями, без вкраплений, трещин, эритемы, узелков или бородавчатых разрастаний, а негомогенная характеризуется наличием белых бляшек с неровными, нечёткими краями, которые неравномерно возвышаются над уровнем здоровой СОПР, также могут иметь вкрапления, трещины или эритему [Ивина А.А. и др., 2020].

Из зарубежных данных известно, что негомогенная форма лейкоплакии обладает более высоким риском злокачественной трансформации по сравнению с гомогенной [Van der Waal I., 2009; Ramos-García P. et al, 2025].

Термин лейкоплакия является сугубо клиническим и не несёт в себе гистологической информации, однако именно биопсия и последующее патоморфологическое исследование определяют прогноз поражения. Гистологически лейкоплакия представляет собой широкий спектр изменений эпителия, от простого гиперкератоза без ЭД до ЭДВС и рака *in situ* [Van der Waal I., 2009].

Гистологическая картина лейкоплакии характеризуется утолщением эпителиального пласта, в первую очередь за счёт избыточного ороговения. Это может быть ортокератоз или паракератоз, либо их сочетание. Нередко наблюдается акантоз [Sciubba J.J., 1995. В подлежащей соединительной ткани обычно

присутствует хронический воспалительный инфильтрат различной степени выраженности, состоящий преимущественно из лимфоцитов и плазматических клеток [Regezi J.A. et al., 2016]. На сегодняшний день ключевым прогностическим признаком озлокачествления лейкоплакии является наличие или отсутствие ЭД, а степень ЭД является наиболее важным гистологическим критерием начальных признаков озлокачествления СОПР [Юсса О. et al., 2020].

По данным отечественных и зарубежных исследователей при морфологическом исследовании малигнизации лейкоплакии могут наблюдаться и веррукозные изменения, такие как ВГ — термин, используемый для описания гиперпластических процессов с широкими эпителиальными выростами в строму без признаков атипии, и ВК, которая характеризуется гиперкератозом, вдавливающими, иногда кратерообразными выростами эпителия в подлежащую соединительную ткань и атипичными клетками в ростковом слое, на фоне хронического воспалительного инфильтрата в подслизистом слое [Ивина А.А. и др., 2020; Krishna R. et al., 2025]. Именно из-за наличия такой гистологической картины имеются трудности в дифференциальной диагностике этих состояний, что может привести к постановке ложного диагноза [Rebaudi F. et al., 2024]. Известно, что трансформация ВК в ПР происходит в 7–12% случаев [Ferraz D.L.F. et al., 2025].

Таким образом, гистологическая картина лейкоплакии очень разнообразна и может включать такие проявления как ЭГ, ЭД разной степени выраженности, ВГ, ВК и собственно ПР.

### ***1.1.2. Эритроплакия и эритролейкоплакия***

Эритроплакия — это клинический термин для обозначения «огненно-красного пятна или бляшки на слизистой оболочке рта, которое нельзя охарактеризовать клинически или патологически как любое другое известное состояние» [Speight P.M. et al., 2017; Межевикина Г.С. и др., 2018]. В отличие от лейкоплакии, эритроплакия встречается значительно реже, однако обладает гораздо более высоким потенциалом злокачественности. При гистологическом исследовании эритроплакии около 90% случаев выявляется ЭД разной степени

выраженности, рак *in situ* или ПР [Warnakulasuriya S. et al., 2020; van Leeuwen L. et al., 2025].

Гистологически эритроплакия представляет собой атрофию или полное отсутствие ороговевшего слоя эпителия. Эпителиальный пласт истончен, что делает видимой хорошо васкуляризованную подлежащую соединительную ткань. В строме, как правило, наблюдается выраженная хроническая воспалительная реакция. Сами эпителиальные клетки демонстрируют выраженные признаки ЭД: значительный ядерный полиморфизм, гиперхромазию, патологические митозы, занимающие более 2/3 или почти всю толщу эпителия [Müller S., 2018; Thompson L.D.R., 2019].

Эритролейкоплакия, также известная как крапчатая лейкоплакия, представляет собой смешанное поражение, имеющее как белые, так и красные участки. С морфологической точки зрения, белые участки обычно соответствуют гиперкератозу с различной степенью ЭД или без неё, тогда как красные, эрозированные или атрофичные участки чаще всего содержат очаги ЭД или рак *in situ* [Warnakulasuriya S., 2020; Семченко И.М. и др., 2021]. Биопсия должна в обязательном порядке захватывать именно красные участки или переходные зоны, так как они с наибольшей вероятностью имеют серьёзные гистологические изменения [Pai S.I. et al., 2009].

Таким образом, при исследовании эритроплакии и эритролейкоплакии могут определяться следующие морфологические изменения: атрофия эпителия, уменьшение ороговевшего слоя, признаки ЭД, наличие рака *in situ* или ПР.

### ***1.1.3. Подслизистый фиброз полости рта***

Подслизистый фиброз полости рта – это хроническое, прогрессирующее, рубцовое заболевание СОПР, которое характеризуется выраженным фиброзом подслизистого слоя [Tang J. et al., 2025]. Этиологически оно тесно связано с жеванием ореха ареки (бетеля), особенно в странах Южной и Юго-Восточной Азии [Tilakaratne W.M. et al., 2006; Warnakulasuriya S. et al., 2020]. По данным отечественного автора причиной позднего обнаружения данного заболевания

являются: затрудненная дифференциальная диагностика на начальной стадии с афтозным стоматитом и кандидозом СОПР, а также низкой частотой встречаемости на территории РФ [Алекперов Т.Р. и др., 2011]. Данное заболевание является ПЗЗ СОПР с высоким риском трансформации в ПР. Частота его малигнизации оценивается в 7–13% в течение 10–15 лет наблюдения [Sharma D. et al., 2025].

Гистопатологические изменения при подслизистом фиброзе полости рта варьируют в зависимости от стадии заболевания. На ранних стадиях наблюдается отёк и выраженный хронический воспалительный инфильтрат, который состоит из лимфоцитов, плазмоцитов и эозинофилов, непосредственно под эпителием. По мере прогрессирования заболевания воспаление сменяется фиброзом: за счёт пролиферации фибробластов и отложения плотных, гиалинизированных коллагеновых волокон в собственной пластинке и подслизистом слое эпителия. Кровеносные сосуды сдавливаются и их количество уменьшается, что приводит к ишемии тканей. На поздних стадиях строма становится плотной, аваскулярной и гомогенной [Rajendran R., 1994; Pandiar D. et al., 2023].

На фоне прогрессирующего фиброза и ишемии покровный эпителий претерпевает значительные изменения, в первую очередь атрофию. Он становится тонким, с уплощенными эпителиальными выростами. Именно этот атрофичный, метаболически поврежденный эпителий является пусковым механизмом для развития ЭД. Именно поэтому наличие признаков ЭД при данной патологии является основным критерием для определения его в группу ПЗЗ СОПР [Gurizzan C. et al., 2025; Yakin M. et al., 2025].

Морфологически при подслизистом фиброзе полости рта определяются атрофия верхних слоёв эпителия и ЭД разной степени выраженности.

#### ***1.1.4. Изменения нёба, связанные с обратным курением***

Обратное курение – вид курения, при котором зажженный конец сигареты или сигары помещается в рот. Данный вид курения характерен в некоторых регионах мира, таких как Индия, Сардиния и страны Латинской Америки. Эта привычка вызывает уникальный комплекс патоморфологических изменений на

твердом нёбе, известный как «никотиновый стоматит курильщиков наоборот» (reverse smoker's palate), который ассоциирован с чрезвычайно высоким риском развития ПР [Dharmavaram A.T. et al., 2016; Юй Р.И. и др., 2016; Mehta F.S. et al., 1977]. По данным авторов в РФ наблюдается снижение употребления табака в различных возрастных группах, а также среди мужчин и женщин, при этом увеличилась тенденция потребления кальянов, электронных сигарет, вейпов и электронных средств нагревания табака [Салагай О.О. и др. 2023].

Гистологически изменения включают выраженный гиперкератоз и акантоз эпителия твердого нёба. Характерным признаком является плоскоклеточная метаплазия выводных протоков малых слюнных желез, которые широко представлены в этой области. Протоковый эпителий трансформируется в многослойный плоский чаще всего с признаками ЭД. Интенсивное термическое и химическое воздействие приводит к тяжелым повреждениям как покровного эпителия, так и подлежащих тканей, вызывая хроническое воспаление и фиброз стромы [Pindborg J.J. et al., 1977; Irani S., 2016; Soares A.B. et al., 2018].

Наиболее важной особенностью поражений, связанных с обратным курением, является высокая частота развития ЭД или рака *in situ*. В отличие от других ПЗЗ, злокачественная трансформация здесь происходит очень часто и агрессивно. Гистологическая картина может варьировать от очагов лейкоплакии и эритроплакии до узловых и язвенных поражений, которые при биопсии практически всегда оказываются инвазивным ПР [Pindborg J.J. et al., 1977; Warnakulasuriya S. et al., 2005; Müller S., 2018].

Таким образом морфологически при исследовании эпителия нёба, которое изменено вследствие обратного курения определяется: фиброз и атрофия, ЭД разной степени выраженности, рак *in situ* и ПР.

### ***1.1.5. Красный плоский лишай рта***

КПЛ — это хроническое, иммуноопосредованное заболевание, которое может поражать СОПР. Его статус как ПЗЗ долгое время был предметом дискуссий, однако в настоящее время большинство исследователей признают наличие, хоть и

невысокого, но реального риска злокачественной трансформации, особенно для эрозивных и атрофических форм [Pereira P.P.I et al., 2025].

Классическая гистологическая картина КПЛ СОПР характеризуется плотным, полосовидным (лентовидный, «лихеноидный») лимфоцитарным инфильтратом в верхней части собственной пластинки, который тесно прилежит к базальной мембране эпителия. Этот инфильтрат состоит преимущественно из Т-лимфоцитов. Наблюдаются вакуольные изменения клеток базального слоя эпителия. Граница между эпителием и соединительной тканью становится нечёткой из-за инфильтрации лимфоцитами и разрушения базальных кератиноцитов [Regezi J.A. et al., 2016; Cheng Y.S. et al., 2016].

Другими гистологическими признаками являются гиперкератоз (чаще паракератоз), акантоз с формированием характерных пилообразных эпителиальных выростов и наличие апоптотических кератиноцитов в нижних слоях эпителия, известных как тельца Сиватта или как коллоидные тельца. Описанные морфологические признаки являются результатом иммунной атаки лимфоцитов на кератиноциты базального слоя [Ismail S.B. et al., 2007; Farhi D. et al., 2010; Рутковская А.С., 2013].

Диагностика ЭД на фоне КПЛ может быть затруднительной, поскольку воспалительные и регенераторные изменения в эпителии могут имитировать признаки ЭД. Хроническое воспаление, как полагают, создает микроокружение, способствующее накоплению генетических повреждений в кератиноцитах и последующей злокачественной трансформации. Наличие несомненных признаков ЭД в биоптате из очага КПЛ является достоверным свидетельством его малигнизации [Querzoli G. et al., 2025; Pereira P.P.I., 2025; Рутковская А.С. и др., 2013].

Таким образом при КПЛ возможны различные морфологические проявления на фоне хронического воспаления, а именно: гиперкератоз или паракератоз, акантоз и наличие признаков ЭД разной степени выраженности.

### ***1.1.6. Плоскоклеточный рак***

ПР СОПР составляет подавляющее большинство (более 90%) всех злокачественных новообразований этой локализации [Rahman Q.V. et al., 2020]. Согласно последней классификации опухолей головы и шеи ВОЗ (5-е издание, 2022 г.) патогенез ПР СОПР рассматривается как многоступенчатый процесс накопления генетических и эпигенетических изменений, который часто инициируется на фоне ПЗЗ СОПР [Nagao T. et al., 2022].

Рак СОПР остается серьезной проблемой здравоохранения. По последним оценкам GLOBOCAN (Global Cancer Observatory), ежегодно в мире регистрируется более 377 000 новых случаев рака губы и СОПР. По этим же данным в среднем без своевременного лечения около 177 000 случаев заканчивается летальным исходом в период от 1 до 3 лет после постановки диагноза. Однако продолжительность жизни до летального исхода зависит от стадии выявления, эффективности терапии и общего состояния пациента [Sung H. et al., 2021]. Распространённость заболевания демонстрирует значительные географические различия, что напрямую связано с ключевыми факторами риска. Наиболее высокие показатели заболеваемости традиционно регистрируются в странах Южной и Юго-Восточной Азии (Индия, Пакистан, Шри-Ланка) и в некоторых регионах Тихого океана (Папуа – Новая Гвинея), где широко распространено жевание ореха ареки (бетеля), часто в сочетании с табаком [Warnakulasuriya S., 2002]. В странах Европы и Северной Америки основными этиологическими факторами остаются курение и злоупотребление алкоголем, синергический эффект которых многократно повышает риск развития ПР СОПР [Conway D.I. et al., 2018].

Клиническое течение ПР СОПР характеризуется стадийностью. Зачастую развитию ПР предшествуют ПЗЗ. Начальные стадии могут проявляться в виде безболезненной язвы с плотными, приподнятыми краями, уплотнения в подлежащих тканях, либо в виде белого (лейкоплакического) или красного (эритроплакического) пятна [Moreira M.D. et al., 2024]. Отсутствие выраженной симптоматики на ранних этапах является одной из главных причин

несвоевременного обращения пациентов за медицинской помощью и, как следствие приводит к поздней диагностике заболевания.

По мере прогрессирования опухоль инфильтрирует подлежащие анатомические структуры — мышцы языка и дна полости рта, в костные структуры верхней и нижней челюстей, что сопровождается болевым синдромом, нарушением функции жевания, глотания и речи. Важнейшей характеристикой течения ПР СОПР является его склонность к раннему лимфогенному метастазированию. Поражение регионарных лимфатических узлов шеи является ключевым неблагоприятным прогностическим фактором и значительно снижает показатели выживаемости [Patel S.C. et al., 2011]. Отдалённое метастазирование чаще всего происходит в лёгкие, печень и кости скелета [Шоркина К.Ю. и др., 2025].

Дифференциальная диагностика ПР СОПР, особенно на ранних стадиях, требует исключения целого ряда заболеваний воспалительной, травматической и неопластической природы. Наибольшие трудности представляет дифференциация с лейкоплакией, эритроплакией и эрозивно-язвенной формой КПЛ, однако окончательный диагноз возможен только после гистологического исследования [Lavoie V. et al., 2025; Nader M. et al., 2025].

Дифференциальная диагностика с травматической язвой обычно заключается в устранении раздражающего фактора, например, после коррекции протеза или шлифовки острого края происходит заживление язвы. Отличием ПР от специфических язв (туберкулёз, сифилис) является наличие характерных морфологических признаков и подтверждаются лабораторными тестами [Marques M.V. et al., 2025].

При доброкачественных образованиях (папиллома, фиброма) важным фактором является медленный рост, а именно отсутствие инфильтрации и инвазии в подлежащие ткани. В любом случае решающим методом для постановки окончательного диагноза является инцизионная биопсия подозрительного участка с последующим патоморфологическим исследованием, которое позволяет не только подтвердить диагноз ПР, но и определить глубину инвазии [Müller S., 2018].

## **1.2. Основные морфологические проявления потенциально злокачественных заболеваний СОПР**

Гистологический анализ биопсийного материала является важным этапом в диагностике ПЗЗ и ПР СОПР. Он позволяет не только верифицировать диагноз, но и оценить степень риска злокачественной трансформации. Ниже описаны ключевые гистологические понятия и проявления, используемые для характеристики этих процессов.

### ***1.2.1. Эпителиальная гиперплазия***

ЭГ представляет собой увеличение толщины эпителиального пласта за счёт увеличения числа кератиноцитов. Сама по себе ЭГ является неспецифической реакцией на различные раздражители, такие как хроническая механическая травма, воспаление или химическое воздействие, часто сопровождает ПЗЗ СОПР [Chi A.C. et al., 2015]. Морфологически ЭГ проявляется в виде акантоза и/или гиперкератоза. При этом сохраняется нормальная архитектура эпителия: упорядоченная стратификация, правильное созревание клеток от базального слоя к поверхностному, сохранение полярности базальных клеток. Такие цитологические изменения как: ядерный полиморфизм, гиперхромазия и митотическая активность в мальпигиевом слое отсутствуют [Regezi J.A. et al., 2016].

### ***1.2.2 Эпителиальная дисплазия***

ЭД является ключевым морфологическим проявлением, свидетельствующим о нарушении процессов пролиферации и дифференцировки кератиноцитов и служащим гистологическим маркером повышенного риска злокачественной трансформации. ЭД представляет собой спектр изменений, которые оцениваются по архитектурным и цитологическим критериям [Gale N. et al., 2014]. Диагноз ЭД является решающим фактором, определяющим дальнейшую тактику ведения пациента, поскольку именно наличие степени ЭД коррелирует с вероятностью развития ПР [Warnakulasuriya S. et al., 2008].

Архитектурные нарушения при ЭД включают: нарушение стратификации; потерю полярности базальных клеток; формирование «каплевидных» или «луковичных» эпителиальных выростов; увеличение числа митотических фигур, особенно в мальпигиевом слое и дискератоз [Rodrigues A.Z. et al., 2025].

Цитологическими признаками ЭД является: анизонуклеоз, ядерный плеоморфизм, увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения в пользу ядра, гиперхромазия ядер, неравномерное распределение хроматина, появление крупных, отчётливых ядрышек и наличие атипичных митозов, например, трёхполюсных или асимметричных [Speight P.M. et al., 2018; Odell E.W., 2021].

Для стандартизации оценки и определения прогноза была предложена система градации ЭД. Традиционная трёхступенчатая система ВОЗ (2005) разделяла ЭД на ЭДНС, ЭДСС и ЭДВС в зависимости от того, какую часть толщины эпителия затрагивают диспластические изменения (нижнюю треть, до двух третей или более двух третей соответственно) [Barnes L. et al., 2005]. Однако из-за низкой межэкспертной воспроизводимости, особенно при разграничении ЭДНС и ЭДСС, в последней классификации ВОЗ (2017) была рекомендована бинарная система [Gale N. et al., 2014], в рамках которой ЭД классифицировали на ЭДНС, включающую в себя ЭДНС и ЭДСС, а также ЭДВС, которая включала в себя ЭДВС и рак *in situ* [Neville B.W. et al., 2022]. При ЭДНС изменения распространяются не более чем на 1/3 толщины эпителия, а при ЭДВС – более 2/3 его толщины.

Рак *in situ* представляет собой крайнюю степень ЭД, при которой атипичные клетки занимают всю толщу эпителия, но без нарушения целостности базальной мембраны и инвазии в строму. Было принято решение объединить этот диагноз с ЭДВС, в связи с одинаковыми клиническими подходами в ведении пациентов и для нивелирования расхождений при патологоанатомическом исследовании [El-Naggar A.K. et al., 2017; Dost F. et al., 2013].

### ***1.2.3. Плоскоклеточный рак***

ПР является конечным результатом процесса малигнизации эпителия СОПР и представляет собой злокачественную опухоль, способную к инвазивному росту и метастазированию. Гистологическим признаком, определяющим ПР, является инвазия атипичных эпителиальных клеток через базальную мембрану в подлежащую соединительную ткань. Опухолевые клетки формируют неправильной формы гнезда, тяжи или проникают в строму поодиночке [Gale N. et al., 2014].

В зависимости от степени сходства опухолевых клеток с нормальными кератиноцитами шиповатого слоя ПР классифицируют по степени дифференцировки. Высокодифференцированный (G1) ПР состоит из клеток, которые в значительной степени напоминают нормальный эпителий, с обильной эозинофильной цитоплазмой, наличием межклеточных мостиков и выраженным ороговением с формированием «раковых жемчужин» [Angadi P.V. et al., 2007; Kosmehl H. et al., 1999].

Умеренно дифференцированный (G2) ПР является наиболее частым вариантом. В нём признаки ороговения менее выражены и наблюдаются лишь в отдельных клетках или небольших группах. Ядерный полиморфизм, гиперхромазия и митотическая активность более выражены по сравнению с G1, межклеточные мостики определяются с трудом [Odell E.W., 2017; Sabbatini S. et al., 2013; Vohberg M. et al., 2017].

Низкодифференцированный (G3) ПР характеризуется преобладанием недифференцированных, базалоидных или плеоморфных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, выраженной атипией и высокой митотической активностью, включая патологические митозы. Признаки ороговения и межклеточные мостики практически отсутствуют [Vohberg M. et al., 2017; Safi A.F. et al., 2019; Togni L. et al., 2022].

#### ***1.2.4. Веррукозная гиперплазия***

ВГ является особой формой эпителиальной пролиферации с экзофитным ростом, формирующей бородавчатую или ворсинчатую поверхность. В отличие от простой ЭГ, ВГ рассматривается как истинное потенциально злокачественное заболевание, которое может существовать самостоятельно или трансформироваться в ВК или ПР [El-Naggar A.K. et al., 2017]. Гистологически ВГ характеризуется широкими, утолщёнными, часто сливающимися эпителиальными выростами, которые имеют скорее «вдавливающий», чем инфильтрирующий характер роста по отношению к подлежащей строме. Поверхность обычно покрыта толстым слоем кератина с паракератозом, который заполняет углубления между ворсинчатыми структурами. При ВГ незначительно может быть нарушена архитектоника эпителия, при этом сохраняется правильное созревание клеток от базального слоя к поверхностному и не изменена полярность клеток базального слоя [El-Naggar A.K. et al., 2017; Walvekar R.R. et al., 2009].

#### ***1.2.5. Веррукозная карцинома***

ВК, также известная как опухоль Аккермана, является высокодифференцированным и медленно растущим вариантом ПР. В более ранних исследованиях ВК фигурирует как самостоятельная нозологическая единица. По данным зарубежных авторов она обладает характерным экзофитным ростом, бородавчатой поверхностью и низкой склонностью к метастазированию [Askerman L.V., 1948; Walvekar R.R. et al., 2009]. В современной классификации ВК является низкоккачественным, высокодифференцированным вариантом ПР. В отличие от ПР, который чаще всего имеет вид язвы, ВК имеет экзофитную, бородавчатую структуру и проявляется с минимальной клеточной атипией [Neville B.W. et al. 2022; Duncan S. et al., 2025].

Гистологически ВК характеризуется разрастанием хорошо дифференцированного плоского эпителия с формированием широких, округлых, «вдавливающих» в строму тяжей. Цитологическая атипия минимальна, митотическая активность низкая. Поверхность опухоли часто покрыта массивными

наслоениями кератина. Основным и значимым отличием от ВГ является характер роста. При ВК рост можно описать скорее как микроинвазивный, но при этом базальная мембрана достаточно чёткая, и между изменениями в эпителиальном слое и строме может отмечаться хорошо видимая граница на фоне хронического воспалительного инфильтрата [Thompson L.D.R., 2019]. Важно также отметить, что при использовании малого увеличения (x50, x100) для исследования ВК в верхних слоях эпителия отмечается гиперкератоз и ЭГ с обширными, различной глубины и толщины эпителиальными разрастаниями в собственную пластинку СОПР. При большем увеличении (x400) в нижних слоях можно обнаружить единичные атипичные клетки на фоне хронического воспалительного процесса. Морфологически в поверхностных слоях ВК может напоминать ЭГ, ВГ и ЭД. При большом увеличении на границе со стромой отмечается клеточный плеоморфизм, беспорядочное созревание, атипичные митозы, которые характерны для ПР. Важно также подчеркнуть, что дифференциальная диагностика с ПР имеет определённые трудности при недостаточно глубокой и широкой биопсии, а также из-за наличия хронического лимфоцитарного воспаления в строме [Wise K.L. et al., 2025; Duncan S. et al., 2025].

### **1.3. Молекулярно-генетические и иммуногистохимические маркеры**

Несмотря на то, что гистологическая оценка степени ЭД является признанным критерием для определения риска малигнизации, этот метод имеет ряд ограничений [Ko Y.C.K. et al., 2025]. К ним относятся субъективность оценки и, как следствие, значительная межэкспертная вариабельность, особенно при определении доброкачественных процессов и при разграничении ЭД по степени тяжести [El-Naggar A.K. et al., 2017; Dost F. et al., 2014]. Кроме того, гистологическая картина не всегда даёт возможность точно прогнозировать склонность поражения к малигнизации [Turton N. et al., 2024], поскольку некоторые очаги ЭДНС могут быстро прогрессировать в ПР, в то время как другие, даже с признаками ЭДВС, могут оставаться стабильными в течение многих лет [Speight P.M. et al., 1996].

Именно поэтому, помимо гистологического исследования проведение ИГХ для уточнения диагноза, сегодня является золотым стандартом, в связи с чем появились и критерии отбора маркеров для разных нозологий. Идеальный ИГХ маркер прежде всего должен обладать чувствительностью и специфичностью. Но в связи с нарушением функции определенных белков в клетке происходит сбой метаболизма, что приводит к патологии других клеточных компонентов. Вследствие чего нарушаются процессы регенерации, контроля пролиферации, дифференцировки клеток, гомеостаза. Отмечается снижение защитных механизмов клетки и отсутствие стабильности её генома [Ko Y.C.K. et al., 2025].

Для повышения объективности диагностики и точности прогнозирования ведется активный поиск и подтверждение достоверности молекулярно-генетических маркеров, отражающих ключевые события канцерогенеза: пролиферацию, нарушение апоптоза, неконтролируемое деление и накопление геномной нестабильности [Warnakulasuriya S., 2009]. Эти маркеры экспрессируются белками, которые регулируют любое изменение в генах, модификацию в процессе сплайсинга или дальнейших посттрансляционных модификаций синтезированного белка (фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование или протеолитическое расщепление) и участвуют в кодировании генов [Aebersold R. et al., 2016]. В зависимости от уровня повреждения клеток экспрессия белков может проявляться по-разному, поскольку отражает клеточный ответ на повреждение [Kumar V. et al., 2015; Alberts B. et al., 2014; Barros C.C.D.S. et al., 2022].

### ***1.3.1. Маркер пролиферации Ki-67***

В современной диагностике неоплазии особое значение придаётся анализу клеточного цикла. Наиболее часто для диагностики опухолевых и неопухолевых заболеваний СОПР используют маркер пролиферации клеток — белок Ki-67. Использование моноклональных антител к Ki-67 необходимо для выявления этого белка в фазах клеточного цикла G1, S, G2 и M, в то время как он не обнаруживается в фазе G0 [Scholzen T. et al., 2000]. Благодаря этой особенности он является

надёжным и широко используемым ИГХ маркером для оценки пролиферативной активности клеточной популяции [Juríková M. et al., 2016]. В нормальном многослойном плоском эпителии СОПР пролиферативная активность ограничена базальным и парабазальным слоями, что отражает упорядоченный процесс физиологической регенерации [Patel S. et al., 2014; Rocha D.M.S. et al., 2025]. Соответственно, экспрессия Ki-67 в норме выявляется только в ядрах клеток этих слоёв [Rocha D.M.S. et al., 2025].

В процессе малигнизации контроль над клеточной пролиферацией утрачивается [Hanahan D. et al., 2011]. Это находит свое морфологическое отражение в расширении пролиферативного потенциала. При развитии ЭД наблюдается не только увеличение общего числа Ki-67-позитивных клеток (индекса пролиферации), но и их появление в мальпигиевом слое, а затем и в поверхностных слоях эпителия [da Silva S.D. et al., 2011; Patel S. et al., 2014]. Существует прямая корреляция между степенью ЭД и индексом пролиферации Ki-67: по мере увеличения степени ЭД и при переходе в ПР, индекс пролиферации и количество иммунопозитивных клеток в верхних двух третях эпителиального пласта прогрессивно возрастает [Rocha D.M.S. et al., 2025]. Оценка экспрессии Ki-67 служит объективным показателем нарушения контроля клеточного цикла и является важным дополнительным критерием в диагностике и прогнозировании ПЗЗ [Juríková M. et al., 2016; Patel S. et al., 2014; Pagalla A.K. et al., 2020]. При высокодифференцированных формах ПР индекс пролиферации как правило меньше 50% [Lu E.M.C. et al., 2019], но иногда обнаруживаются участки с высоким уровнем пролиферации, что свидетельствует о гетерогенности опухоли [Vieira F.L. et al., 2008].

### ***1.3.2. Опухолевый супрессор P53***

Белок-супрессор P53, кодируемый геном *TP53* на коротком плече 17-й хромосомы (17p13.1), является центральным регулятором клеточного ответа на стресс и по праву называется «стражем генома» [Lane D.P., 1992; Levine A.J., 2020]. Белок P53 регулирует гены, отвечающие за клеточный цикл, репарацию ДНК,

ангиогенез, индукцию клеточной смерти, антиоксидантные процессы и метаболизм, его активация осуществляется только при наличии повреждений ДНК клетки [Ivina A.A. et al., 2025].

В здоровой клетке этот белок находится в неактивном состоянии и постоянно разрушается белком MDM2 [Momand J. et al., 1992]. При повреждении ДНК или ином стрессе белок P53 активируется путём фосфорилирования, что высвобождает его из-под контроля белка MDM2 [Shiloh Y., 2003; Liu Y. et al., 2019]. Стабилизированный P53 запускает каскад реакций, направленных на выживание клетки: остановку клеточного цикла (через активацию гена p21/CDKN1A), репарацию ДНК или, если повреждения слишком серьёзны, запускает апоптоз [el-Deiry W.S. et al., 1993; Kastan M.B. et al., 1991]. Важнейшей особенностью белка P53 является очень короткий период полураспада (15–20 минут). Он появляется в ядре только на короткое время для выполнения своей функции и затем быстро деградирует.

Активация белка также происходит при наличии большого количества пролиферирующих клеток (потенциально онкогенных) и проявляется как «дикий» тип [Ivina A.A. et al., 2025]. Чаще всего функция белка P53 анализируется с точки зрения его ядерного влияния, а именно его участие в посттрансляционных модификациях, транскрипции и апоптозе. Помимо этого, данный белок имеет и внеядерное влияние. Он контролирует работу клеточных органелл и участвует в метаболизме клетки [Liu J. et al., 2015].

Описана также и обратная функциональная связь между активным белком P53 и белком пролиферативной активности Ki-67: активация белка P53 приводит к остановке клеточного цикла, что, в свою очередь, ведёт к снижению экспрессии белка Ki-67 [El-Gendi S. et al., 2018].

Инактивация P53 вследствие мутаций в гене *TP53* является одним из ключевых событий в канцерогенезе [Hollstein M. et al., 1991; Donehower L.A. et al., 1992]. Клетка с мутированным геном теряет способность останавливать свой цикл или запускать апоптоз в ответ на повреждение ДНК, что приводит к образованию и накоплению стабильного «мутантного» типа белка P53 [Freed-Pastor W.A. et al.,

2012; Vousden K.H. et al., 2005], что может способствовать приобретению клеткой новых онкогенных функции [Muller P.A. et al., 2014; Hrabal V. et al., 2024].

Таким образом, белок P53 играет важную роль в подавлении развития опухолевых заболеваний. Его проявление возможно при повышенной пролиферации клеток («дикий» тип) и при наличии повреждения гена *TP53* («мутантный» тип). Экспрессия белка P53 играет важное значение при диагностике предопухолевых и опухолевых процессов не только СОПР [Li H. et al., 2023], но и при развитии рака молочной железы, желудка, простаты [Vousden, K.H. et al., 2005].

### *1.3.3. Теломераза*

Теломераза – это клеточный фермент, который представлен рибонуклеопротеином с функцией обратной транскриптазы [Greider C.W., Blackburn E.H., 1985]. Его основная задача — поддержание длины теломер, путём добавления повторяющихся последовательностей ДНК (TTAGGG) [Morin G.B., 1989]. Это предотвращает укорочение хромосом при каждом клеточном делении («проблема концевой недорепликации») и защищает геном от деградации и слияния [Blackburn E.H., 2001; de Lange T., 2018]. Как правило, теломераза локализуется в ядре, однако в последних исследованиях была описана её локализация и функция в цитоплазме и митохондриях. Это означает, что теломераза имеет внеядерное влияние и может регулировать клеточный метаболизм и апоптоз [Santos J.H. et al., 2006; Saretzki G., 2014].

В большинстве соматических клеток ген *TERC* (Telomerase RNA Component), который кодирует каталитическую субъединицу теломеразы, репрессирован, что приводит к постепенному укорочению теломер и переходу клетки в состояние репликативного старения [Harley C.B. et al., 1990]. Теломеры защищают генетический материал от повреждений и деградации, предотвращая потерю важной информации при делении клетки. Со временем теломеры укорачиваются и запускается апоптоз. В здоровых клетках активность TERT обычно низкая или отсутствует, что ограничивает их деление, но при этом она может быть активна в гаметоцитах, стволовых и эмбриональных клетках. Однако в опухолевых клетках

TERT часто активируется, что позволяет им бесконечно делиться и способствует опухолевому росту [Shay J.W. et al., 2011]. Кроме того, регуляция TERT связана с механизмами клеточного цикла и репарации ДНК, а её дисфункция может приводить к геномным повреждениям и генетической нестабильности [Blackburn E.H., 2001; Armanios M., Blackburn E.H., 2012].

Для приобретения способности к неограниченному делению, что является одним из фундаментальных признаков рака [Hanahan D., 2011], опухолевые клетки в 85–90% случаев реактивируют TERT [Shay J.W. et al., 2001; Kim N.W. et al., 1994]. Основная причина её появления — это транскрипционная активация гена *TERC*. Чаще всего это происходит из-за соматических мутаций в промоторной области этого гена, которые создают новые сайты связывания для транскрипционных факторов и приводят к аномально высокой экспрессии данной транскриптазы [Horn S. et al., 2013; Vinagre J. et al., 2013; Huang F.W. et al., 2013]. Безусловно считается, что пролиферация клеток, несомненно, является одним из признаков развития неоплазии, но при этом она зависит от нескольких факторов. Основными условиями постоянного деления клетки являются регуляция белка P53 (апоптоз) и активность TERT (бесконечное деление) [Shay J.W. et al., 2001; Nault J.C. et al., 2019].

С одной стороны, ИГХ помогает в динамическом наблюдении за развитием заболевания, а с другой стороны, существуют и сложности. Например, большая часть маркеров всё ещё находятся на стадии исследования и не используются из-за недостаточной чувствительности или специфичности, существуют технические препятствия, такие как идентификация и стандартизация результатов. Более того, некоторые из потенциальных маркеров, показавших многообещающие результаты на ранних этапах исследований, не смогли воспроизвести аналогичные успешные результаты в ходе крупномасштабных диагностических испытаний [Zhang J. et al., 2025].

### *1.3.4. Амплификация гена TERC методом FISH*

FISH — это молекулярно-цитогенетический метод, который позволяет выявлять и локализовать конкретные ДНК- или РНК- последовательности на хромосомах или внутри клеток с помощью меченых флуоресцентных зондов. Этот метод широко применяется для диагностики генетических аномалий, определения хромосомных перестроек, амплификаций и делеции, а также для оценки генетического статуса клеток. Меченые флуоресцентные зонды — это молекулы ДНК или РНК, которые специально синтезированы и помечены флуоресцентными красителями. Они предназначены для связывания с определёнными последовательностями в генетическом материале (ДНК или РНК) в ходе метода FISH. После связывания зонд излучает флуоресцентный свет под воздействием определённой длины волны, что позволяет визуализировать и локализовать целевые участки на хромосомах или внутри клеток с помощью флуоресцентного микроскопа.

Метод FISH используют для обнаружения участков мутаций и небольших делеций. Локальные мутации могут быть выявлены только при наличии специфических ДНК-зондов, которые помогают определить полиморфные локусы, используемые в качестве генетических маркеров определённых участков хромосом [Gaman M.A. et al., 2025; Kerner N. et al., 2025]. Окончательный генетический диагноз формулируется после определения нуклеотидной последовательности исследуемого фрагмента ДНК и сравнения его с нормой [Feng J. et al., 1995].

Основными преимуществами данного метода в отличие от ИГХ являются: точность локализации, обнаружение хромосомных перестроек, что сложно или невозможно сделать с помощью ИГХ; возможность проводить исследование неделящихся клеток, тогда как ИГХ требует наличия делящихся клеток для получения качественных результатов; использование нуклеиновых кислот, вместо специфичных антител к белкам; меньшая зависимость от антигенов — в отличие от ИГХ, которая требует наличия специфичных антител к белкам, что снижает риск ложноположительных или ложноотрицательных результатов из-за низкой экспрессии белков или их модификаций [Gorbokon N. et al., 2025; Lee J. et al., 2023].

Благодаря высокой чувствительности и специфичности, представляется возможность анализа как делящихся, так и неделящихся клеток, а также проведение исследования на малых образцах и в условиях, приближенных к клиническим. В ходе исследования меченые зондовые молекулы гибридизуются с целевыми участками ДНК внутри клетки, после чего под микроскопом с использованием флуоресцентных фильтров визуализируются локализованные сигналы. Использование различных генов в методе FISH позволяет проводить мультифункциональный генетический анализ, выявляя множественные аномалии одновременно. Например, при диагностике рака молочной железы, яичников, лёгких применяют зонды, нацеленные на гены, связанные с ростом и прогрессией опухоли, такие как *HER2*, *MYC*, *TERC*, а также гены, связанные с хромосомными перестройками, например, *BCR-ABL* или *ALK* [Caria P. et al., 2016; Alidousty C. et al., 2021; Kumar T. et al., 2025].

Ген *TERC* кодирует РНК-компонент теломеразы, которая служит матрицей для синтеза теломерной ДНК с помощью TERT [Feng J. et al., 1995]. Этот ген расположен на длинном плече 3-й хромосомы, в локусе 3q26 [Blasco M.A. et al., 1995]. В отличие от TERT, ген *TERC* экспрессируется в большинстве клеток, но его количество может быть ограничено. Ключевым событием в канцерогенезе является не точечная мутация, а амплификация гена *TERC*. Это приводит к избыточной продукции РНК-матрицы, что в сочетании с реактивацией TERT резко повышает её общую активность в клетке [El-Naggar A.K. et al., 2022; Heselmeyer-Haddad K. et al., 2005]. Однако более важный механизм связан с тем, что локус 3q26 является частью области, который очень часто подвергается амплификации на самых ранних этапах развития неоплазии [Garnis C. et al., 2009; Zheng L. et al., 2010].

Таким образом, увеличение числа копий гена *TERC* является не только фактором, усиливающим работу TERT, но и важным маркером общей геномной и хромосомной нестабильности, которая является движущей силой опухолевой прогрессии [Nault J.C. et al., 2019]. Для детекции изменений числа копий гена *TERC* в ядрах клеток используется метод FISH. Увеличение среднего числа копий гена *TERC* на ядро часто коррелирует с гистологической картиной [Cao Y. et al., 2008;

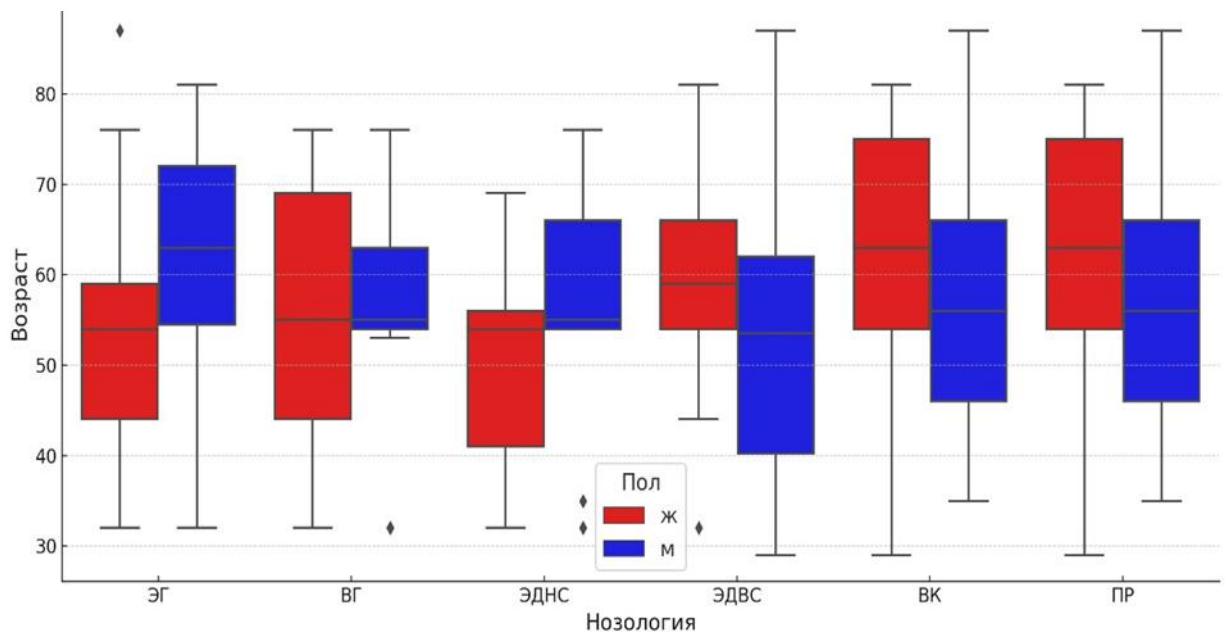
Zheng L. et al., 2010]. Амплификация гена *TERC* может быть обнаружена даже в морфологически нормальных или слабо изменённых участках эпителия, что позволяет выявлять и идентифицировать клетки с высоким риском малигнизации [Rosin M.P. et al., 2000].

## Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования использовали архивный операционный и биопсийный материал лаборатории патологической анатомии НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России за период с 2018 по 2024 год. Были исследованы биоптаты слизистой оболочки рта 166 пациентов, в том числе 73-х женщин и 93-х мужчин. Средний возраст женщин составил 68 лет, а мужчин – 71 год. Материал отбирался по клиническим диагнозам: лейкоплакия (71 случай) и ПР (95 случаев).

Биопсийный материал был определён в группы по гистологическим диагнозам согласно классификации ВОЗ (2017). Были выявлены: ЭГ (32 случая), ВГ (30 случаев), ЭДНС (31 случай), ЭДВС (27 случаев), ВК (14 случаев), ПР (32 случая). В настоящем исследовании для изучения ЭД была использована бинарная система классификации [Nankivell P. et al., 2013].

Распределение исследуемых случаев по полу, возрасту и диагнозам отображено на Рисунок 1. Средний возраст пациентов представлен в таблице 2.



**Рисунок 1** – Распределение исследуемых случаев по полу, возрасту в исследуемых нозологиях

**Таблица 2** – Средний возраст пациентов по каждому диагнозу

Диагноз	Me[Q1;Q3]
ЭГ	55 [51;67]
ВГ	55 [53;68]
ЭДНС	55 [49;59]
ЭДВС	55 [44;63]
ВК	59 [46;69]
ПР	59 [46;69]

### 2.1. Гистологическое исследование

Для исследования операционного и биопсийного материала СОПР осуществляли фиксацию образцов в 10% забуференном формалине (рН 7,4) в течение 24 часов. Затем материалы обрабатывали на гистопроцессоре карусельного типа STP 120 фирмы Thermo Scientific, а на станции заливки EC-350 той же компании погружали в парафин с температурой плавления +54°C. Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали на микротоме Microm HMS, после чего их окрашивали «Гематоксилин Карацци» (BioVitrum, Россия) в автоматическом режиме 740 Thermo Scientific с дополнительным окрашиванием эозином. После окраски стёкла погружали в среду Bio-Mount (Bio Optica Milano S.P.A., Италия).

### 2.2. Иммуногистохимические исследования

ИГХ исследование биопсийного материала выполнялось согласно стандартному протоколу. Из подготовленных блоков, предназначенных для гистологического анализа, с помощью микротомы нарезали серийные срезы толщиной 5 мкм, которые фиксировали на предварительно покрытые поли-L-лизинном стёкла. Далее стёкла маркировали с указанием: порядкового номера, номера биопсии, названия маркера, даты исследования и индивидуального штрих-кода для автоматического считывания.

Депарафинизацию и высокотемпературную демаскировку антител осуществляли с помощью РТ-модуля (Thermo Scientific, Великобритания) в течение 20 минут при температуре +98°C. Для выявления ядерных антигенов использовали буфер с рН 6,0, а при исследовании цитоплазматических белков — буфер с рН 9,0.

Процедура ИГХ окрашивания выполнялась в автоматическом режиме на системе Autostainer 360 (Thermo Scientific) с использованием системы визуализации QUANTO.

В протокол входили: 10-ти минутная обработка 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> для блокировки эндогенной пероксидазной активности, 10 минут — нанесение протеинового блока Рbлк для предотвращения неспецифического фона, 30 минут — нанесение первичных антител, 10 минут — усиление окраски с помощью амплификатора Amp, 20 минут — инкубация с полимером HRP и 5 минут — реакция с DAB (3,3'-диаминобензидин). Такой протокол обеспечивал получение на срезах специфической коричневой окраски. Во время процедуры срезы промывали TRIS Buffer рН 7,6 с Tween 20. После инкубации срезы промывали в дистиллированной воде, затем в течение 3 минут докрашивали гематоксилином Майера. После окраски, приобретая голубой оттенок, стёкла извлекали, погружали в дистиллированную воду, в которую добавляли несколько капель раствора аммиака для получения щелочной среды. Далее проводили обезвоживание в восходящей серии спиртов и заключали в среду Bio-Mount (Bio Optica Milano S.P.A., Италия).

Исследование проводили под микроскопом (Axioplan 2 Imaging, Karl Zeiss) с фотофиксацией (AxioCam ERc 5s).

### **2.3. Метод тканевых матриц**

Часть операционного и биопсийного материала была исследована с использованием метода тканевых матриц (Tissue Microarray – TMA). Этот метод применялся в 15 случаях из 32 при ЭГ, в 10 из 30 случаев при ВГ, в 10 из 31 при ЭДНС, в 10 из 27 при ЭДВС, в 10 из 14 при ВК и в 20 из 32 при ПР СОПР.

Для изготовления матриц использовался набор Manual Tissue Microarray Kit IW-121 EZ NVF (ИНС World, США). Всего было подготовлено 6 матриц. С каждой

матрицы подготовили по 6 стёкол: для окрашивания гематоксилином и эозином, исследования пролиферативной активности эпителия СОПР с помощью белка Ki-67, белка апоптоза P53 различных клонов DO-7 и Y-5, также была использована теломеразная обратная транскриптаза TERT (TRT, Abbiotec) и определена амплификация гена *TERC* методом FISH.

Подготовка тканевых матриц:

- 1) на парафиновый блок-реципиент наносится разметка в соответствии с количеством образцов, запланированных для исследования;
- 2) затем составляется схема будущей матрицы, на которой обязательно делается метка для ориентации — свободный от выемки квадрат парафина;
- 3) из блока реципиента пункционной иглой извлекаются столбики парафина;
- 4) в блоке-доноре согласно схеме расположения срезов, отмечается нужный участок. Область выемки ткани выбирается ориентировочно в соответствии с областью на ранее окрашенном гематоксилином-эозином стекле;
- 5) маркером обводится зона выемки на блоке-доноре строго в вертикальном направлении. Пункционную иглу в отмеченной области вводят перпендикулярно поверхности блока-донора, погружая её на нужную глубину до дна пластиковой кассеты;
- 6) поворотом иглы по часовой стрелке извлекают столбик ткани;
- 7) осторожно вставляют полученный столбик в подготовленное гнездо в блоке-реципиенте, следуя ранее намеченной схеме, а иглу после этого извлекают из блока-реципиента;
- 8) после заполнения блока-реципиента его укладывают лицевой стороной на чистое предметное стекло и помещают в термостат при +40°C на 15–20 минут для закрепления ткани;
- 9) готовый тёплый парафиновый блок на некоторое время помещают в морозильную камеру, после чего стекло, на которое положили блок, аккуратно снимают;
- 10) на микротоме изготавливают срезы толщиной 5 мкм.

Характеристики используемых первичных антител представлены в таблице

3.

**Таблица 3** – Характеристики используемых первичных антител

<i>Тип антитела</i>	<i>Клон</i>	<i>Фирма</i>	<i>Разведение</i>
Моноклональные мышинные антитела к Ki-67	MM1	Diagnostic Biosystems, США	1:200
Моноклональные кроличьи антитела против дикого белка P53	DO-7	Novocastra, Великобритания	1:200
Моноклональные кроличьи антитела против мутантного белка P53	Y-5	Epitomics, США	1:200
Поликлональные кроличьи антитела теломеразы	–	TRT, Abbotec, США	1:200

#### **2.4 Метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH)**

Для выявления копий гена *TERC* в исследуемых образцах СОПР был использован метод FISH. Исследование проводили на серийных срезах толщиной 4–5 мкм, полученных с парафиновых блоков. В работе применялся набор ДНК-зондов (LSP *TERC/CCP3* FISH Probe Kit, CytoTest, USA), предназначенный для одновременной детекции локуса гена *TERC* и центромерного региона хромосомы 3. В набор входили два зонда: ДНК-зонд, специфичный к локусу гена *TERC* (расположен на хромосомном участке 3q26), меченный оранжевым флуорофором, и зонд, специфичный к альфа-сателлитной последовательности центромеры хромосомы 3 (*CCP3*), меченный зелёным флуорофором, который использовался в качестве контрольного сигнала для оценки анеупloidности хромосомы. Протокол исследования включал следующие этапы: срезы, нанесенные на адгезивные стёкла, подвергали депарафинизации в ксилоле и регидратации в спиртах нисходящей концентрации. Затем проводили этап предобработки для демаскировки ядерной ДНК: срезы инкубировали в цитратном буфере (рН 6,0) при температуре +85°C в течение 45 минут, после чего следовала ферментативная обработка протеиназой-К. После предобработки на срезы наносили смесь ДНК-зондов. Ко-денатурацию ДНК зондов и ядерной ДНК на стекле проводили при температуре +75°C в течение 5 минут. Гибридизацию осуществляли во влажной камере при температуре +37°C в течение 18–20 часов. По завершении гибридизации стёкла подвергали серии

постгибридизационных отмывок в буферных растворах для удаления связавшихся зондов. Ядра клеток докрашивали флуоресцентным красителем DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндо́л) (Biotium, USA), который входит в состав среды для заключения срезов.

## **2.5 Система оценки экспрессии белков и амплификации гена *TERC***

Исследуемый многослойный плоский эпителий представлен слоями клеток; однако признаки неоплазии выявлялись только в нижней половине эпителия — от базальной мембраны до зернистого слоя. В данной работе, при всех нозологиях, кроме ПР СОПР, оценку экспрессии маркеров проводили в 300 клетках двух зон эпителия: первая — ростковая зона (мальпигиев слой), включающая базальный слой и два вышележащих ряда клеток; вторая — шиповатый слой. При ПР СОПР оценивали экспрессию в центральной и периферической зонах опухоли.

Пролиферативную активность клеток исследовали при помощи мышинных моноклональных антител к Ki-67 – клон MM1 (Diagnostic Biosystems, США).

Апоптотическую активность по белку P53 определяли при помощи различных клонов (DO-7 и Y-5). Клон DO-7 (Novocastra, Великобритания) использовали для определения одновременно «дикого» и «мутантного» типов белка P53, при этом его экспрессия является суррогатным методом оценки статуса гена *TP53* [Köbel M. et al., 2019; Li M. et al., 2023; Li W. et al., 2021]. Клон Y-5 – это моноклональные антитела, которые специфично распознают только «мутантный» тип белка P53, что делает его более точным маркером наличия мутации в гене *TP53* [Osakabe M. et al., 2024; Li M. et al., 2023].

TERT при ИГХ исследовании определяли по наличию реакции в ядрах клеток. Экспрессию белка оценивали по интенсивности окрашивания ядер в коричневый цвет: 0 – окрашивание отсутствует, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – выраженное окрашивание.

Амплификация гена *TERC* определялась при использовании флуоресцентного микроскопа (Imager.M2, Zeiss), который оснащён соответствующими наборами светофильтров для DAPI (синий), а также для

индикации оранжевого и зелёного флуорофоров. Количество сигналов оценивали путём подсчёта количества оранжевых (*TERC*) и зелёных (*CPP3*) сигналов в 100 клетках. Интерпретация результатов проводилась на основе соотношения числа сигналов *TERC* и *CPP3*, где нормальный статус клетки (отсутствие амплификации), а соотношение  $TERC/ CPP3 \leq 2,0$  (2:2) это диплоидные клетки с двумя оранжевыми и двумя зелёными сигналами [Zheng L. et al., 2010; Heselmeier-Haddad K. et al., 2005].

Амплификацию гена *TERC* оценивали как положительную при наличии более двух оранжевых сигналов, а появление трёх и более зелёных сигналов указывало на увеличение числа хромосом.

TERT при ИГХ и *TERC* при FISH исследовали в тех же участках, где определяли пролиферативную активность клеток по маркеру Ki-67 и апоптотическую активность по белку P53 (клоны DO-7 и Y-5).

Анализ и подсчёт проводили при увеличении  $\times 200$  для ИГХ и  $\times 1000$  для FISH.

## 2.6. Статистический метод исследования

Статистическую обработку данных проводили в среде Windows 10 (IBM Corporation, США), используя SPSS Statistics 23 version. Для количественной оценки результатов проводились морфометрические исследования. Статистический анализ осуществляли при помощи программы SPSS Statistics 23 version в среде Windows 10.

При статистическом исследовании ИГХ реакций (Ki-67, белка P53 по клонам DO-7 и Y-5 и TERT) выбранные нозологии были разделены на группы. В 1-ю группу были включены диагнозы: ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР. Во 2-ю группу: ВГ и ВК. Для статистического исследования 1-й группы были использованы параметрический однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и тест Тьюки для определения достоверности различий между парами групп; для 2-й группы был использован непараметрический метод U-критерий Манна-Уитни. Для попарного сравнения между двумя группами также использовался вышеуказанный,

непараметрический метод, обусловленный тем, что большинство данных не имеют нормальное распределение по результатам теста Шапиро-Уилка.

Для анализа частоты амплификации гена *TERC* и *CCP3* между диагнозами: ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР, ВГ, ВК были использованы непараметрические методы Краскела-Уолиса и Манна-Уитни в попарных сравнениях. Для оценки взаимосвязи между амплификацией *TERC* и *CCP3* был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена на основе средних значений частоты амплификации в исследуемых диагнозах.

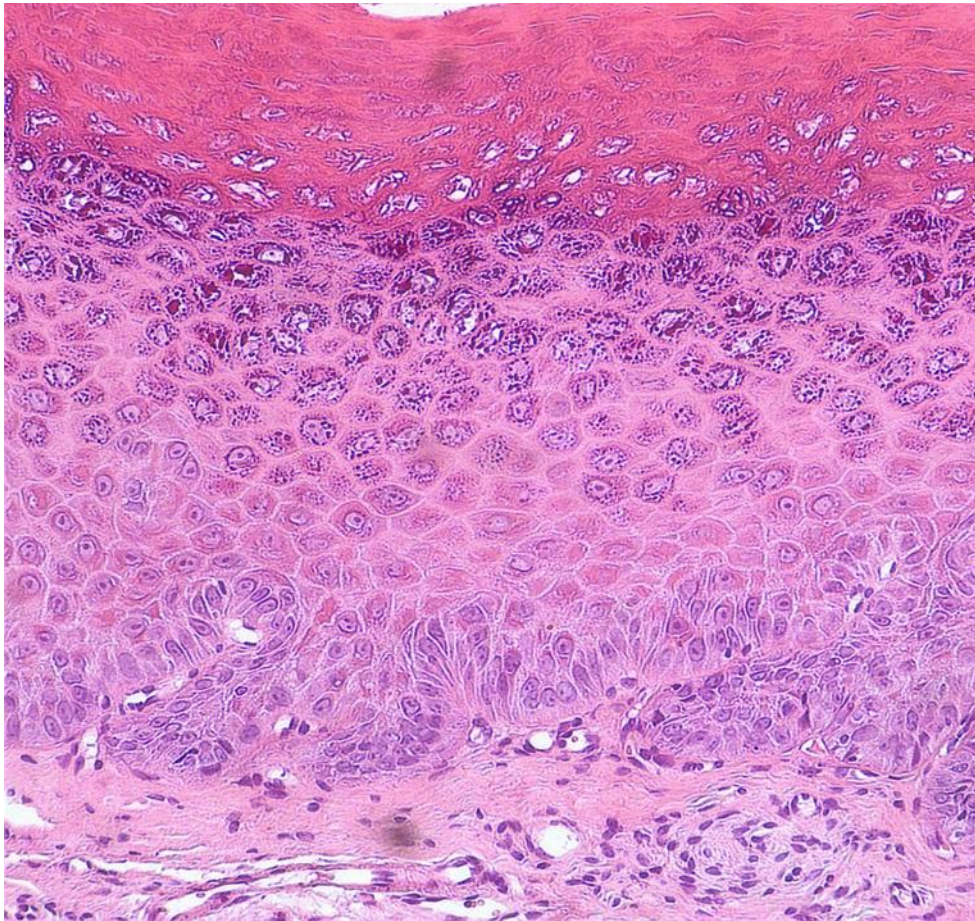
## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Гистологическое исследование

#### *Эпителиальная гиперплазия СОПР*

В данном исследовании диагноз ЭГ был обнаружен в 32 случаях: у 17 (53,1%) женщин и у 15 (46,8%) мужчин.

При исследовании ЭГ СОПР отмечалось увеличение количества клеток базального и шиповатого слоёв, а также гиперкератоз. Отсутствовали признаки ЭД (Рисунок 2).

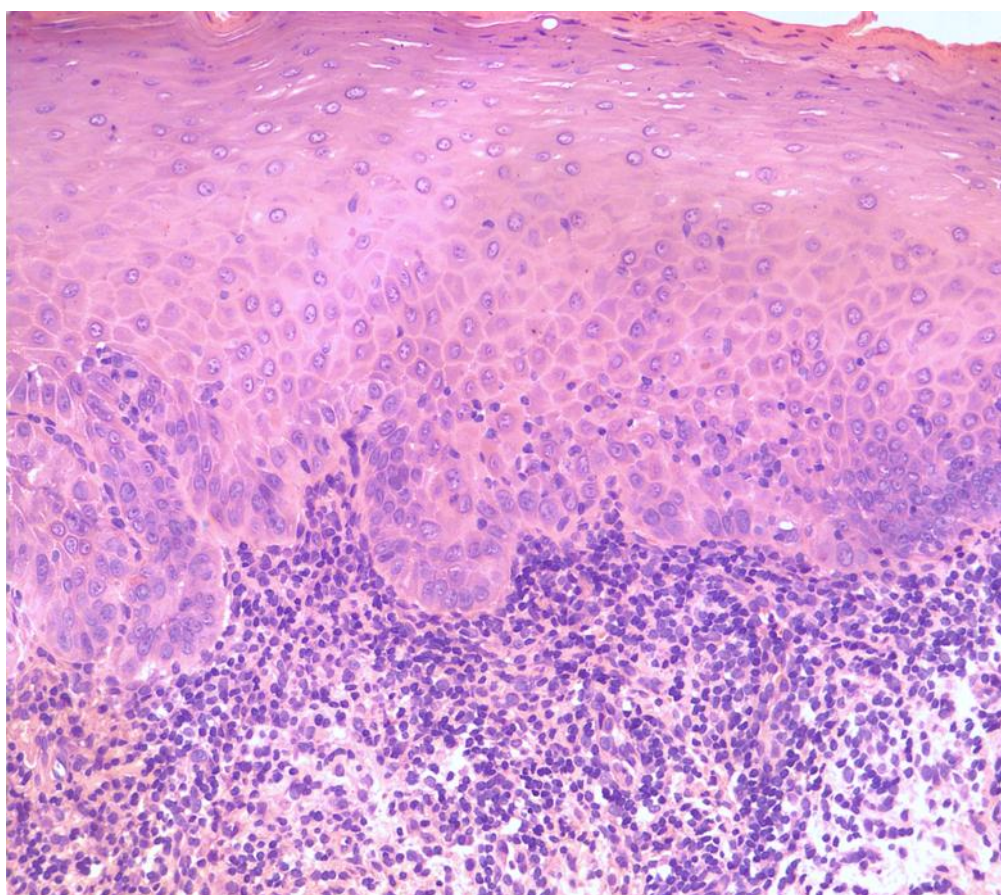


**Рисунок 2** – ЭГ СОПР. Окр. гематоксилином-эозином (×100)

### *Эпителиальная дисплазия низкой степени СОПР*

В этом исследовании диагноз ЭДНС был обнаружен в 31 случае: у 14 (45,1%) женщин и у 17 (54,8%) мужчин.

При исследовании ЭДНС СОПР основные изменения затрагивали нижнюю треть толщины эпителия и проявлялись как увеличение клеточно-ядерного полиморфизма, гиперхроматизма, увеличения ядерно-цитоплазматического соотношения, также было обнаружено хроническое воспаление в собственной пластинке СОПР, отмечался гиперкератоз (Рисунок 3).

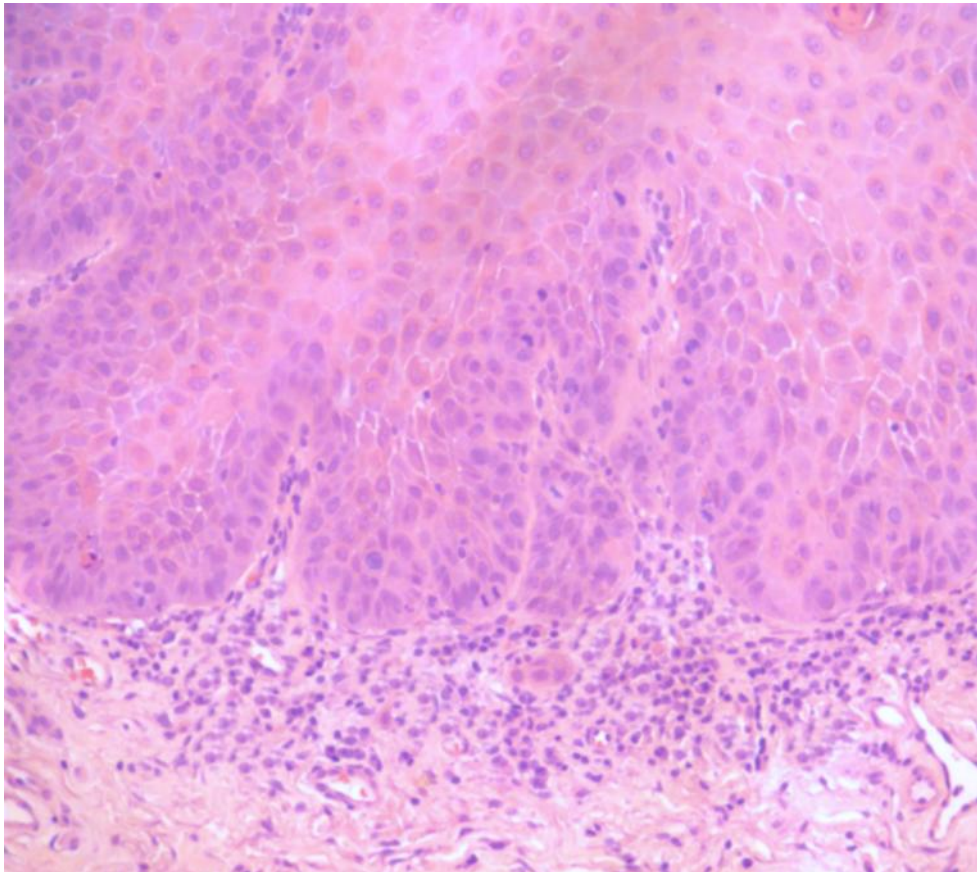


**Рисунок 3** – ЭДНС СОПР. Окр. гематоксилином-эозином (x100)

### *Эпителиальная дисплазия высокой степени СОПР*

В настоящем исследовании диагноз ЭДВС был обнаружен в 27 случаях: у 10 (37,1%) женщин и у 17 (62,9 %) мужчин.

При ЭДВС СОПР изменения наблюдались в более чем половине толщины эпителия. Помимо указанных изменений при ЭДНС, при ЭДВС отмечались выраженный полиморфизм клеток, увеличение числа ядрышек в клетках, хронический воспалительный инфильтрат в собственной пластинке СОПР. В некоторых случаях был отмечен паракератоз (Рисунок 4).

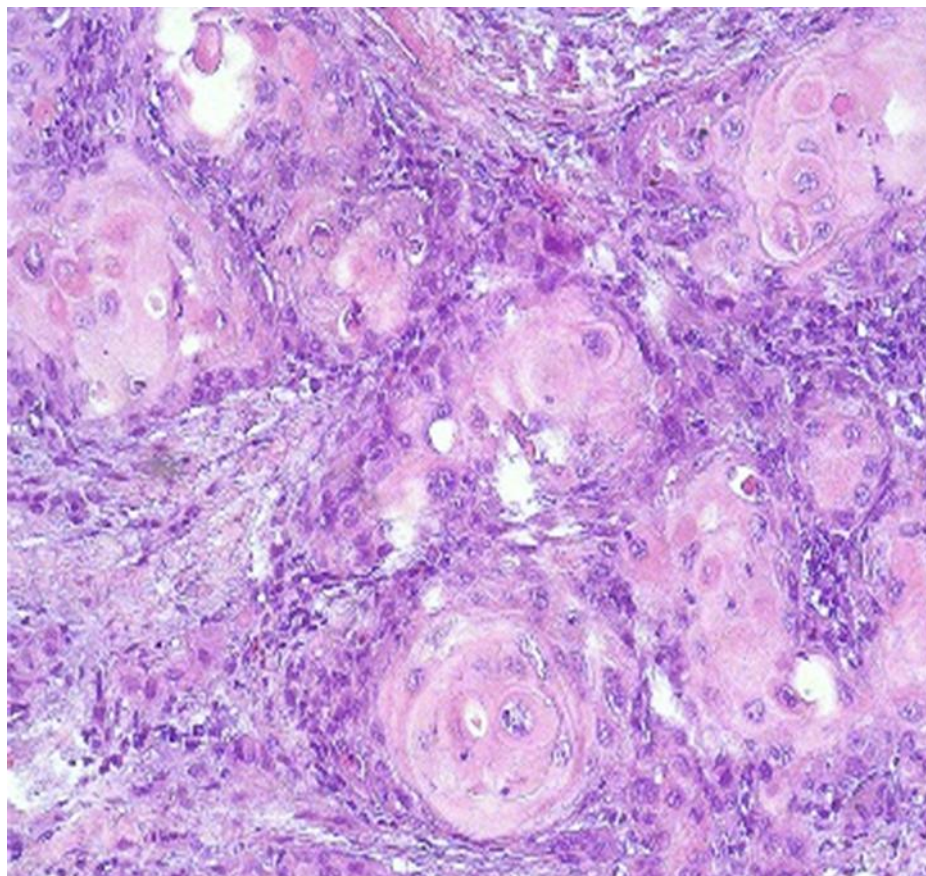


**Рисунок 4** – ЭДВС СОПР. Окр. гематоксилином-эозином (x100)

### *Плоскоклеточный рак СОПР*

В данном исследовании диагноз ПР был обнаружен в 32 случаях: у 12 (37,5%) женщин и у 20 (62,5 %) мужчин.

При исследовании ПР СОПР были обнаружены изменения клеток эпителия, а именно: полное отсутствие рядности и структуры. Также во всех случаях наблюдался инфильтрирующий рост и увеличение количества митозов, в том числе появлялись патологические митозы. При неороговевающем типе ПР отмечались комплексы атипичных клеток, а при ороговевающем также были выявлены «раковые жемчужины» (Рисунок 5).

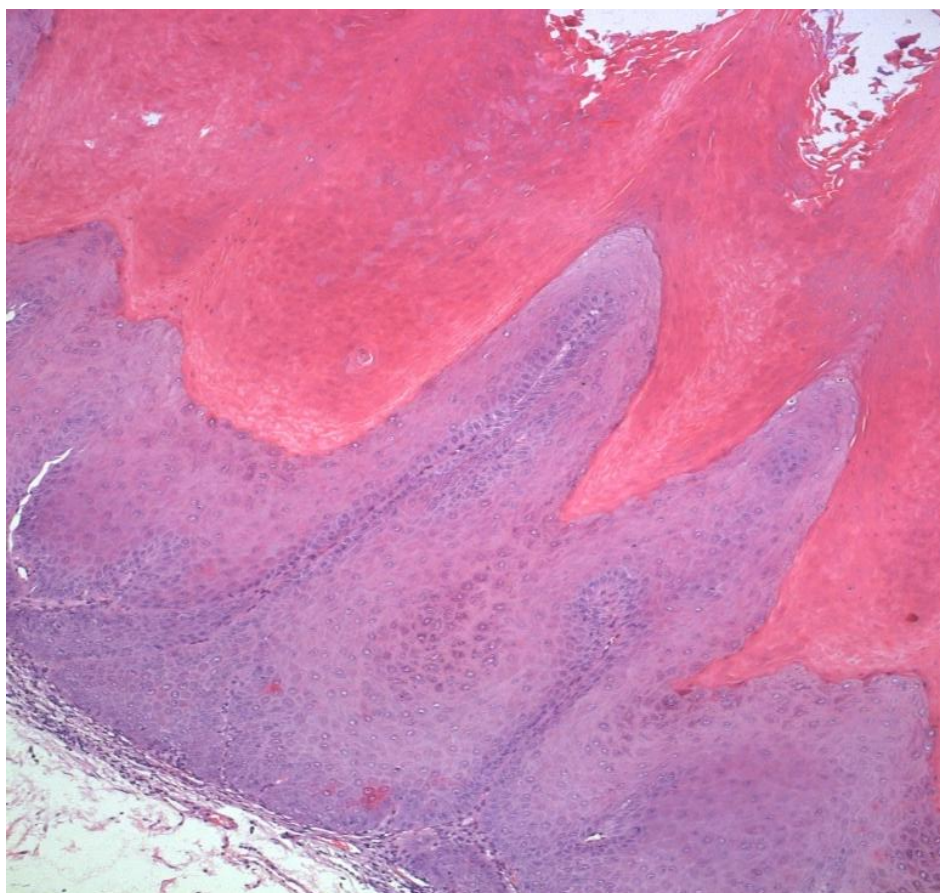


**Рисунок 5** – ПР СОПР. Окр. гематоксилином-эозином (×200)

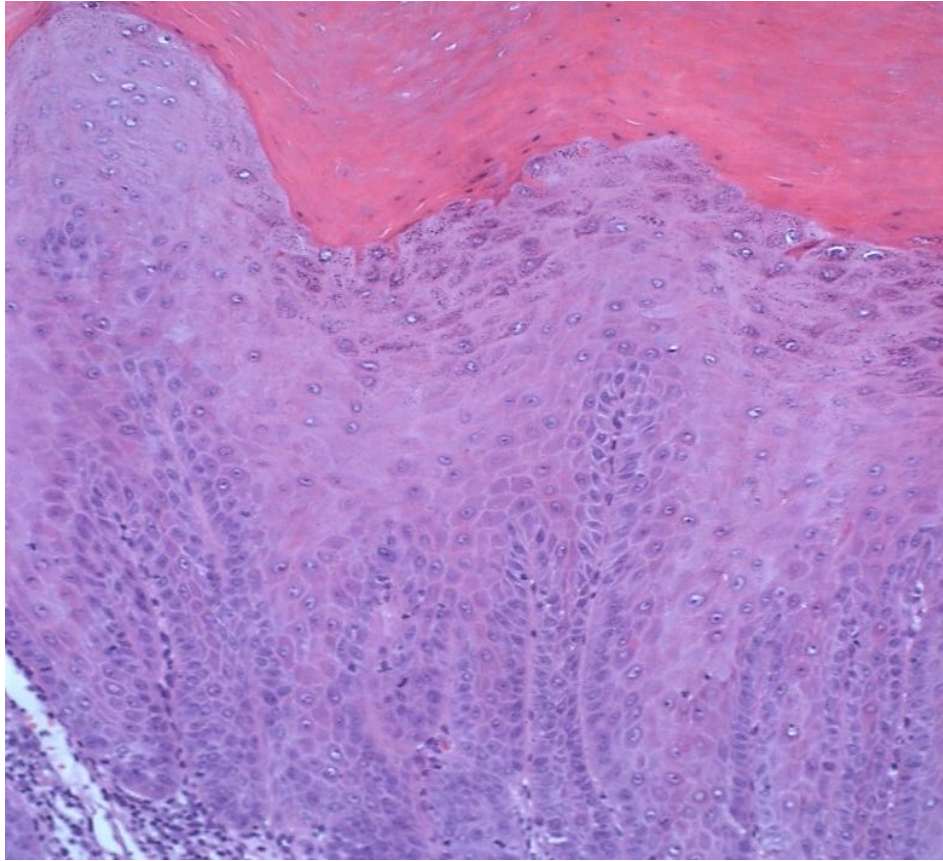
### ***Веррукозная гиперплазия***

В настоящем исследовании диагноз ВГ был обнаружен в 30 случаях: у 14 (46,6%) женщин и у 16 (53,3 %) мужчин.

При исследовании ВГ СОПР отмечалось утолщение рогового слоя, широкие эпителиальные выросты в собственную пластинку СОПР, гиперплазия шиповатого слоя эпителия, в 16 (53,3%) случаях отмечалось хроническое воспаление в собственной пластинке СОПР (Рисунок 6а, 6б).



**Рисунок 6а** – ВГ СОПР. Окр. гематоксилином-эозином ( $\times 100$ )

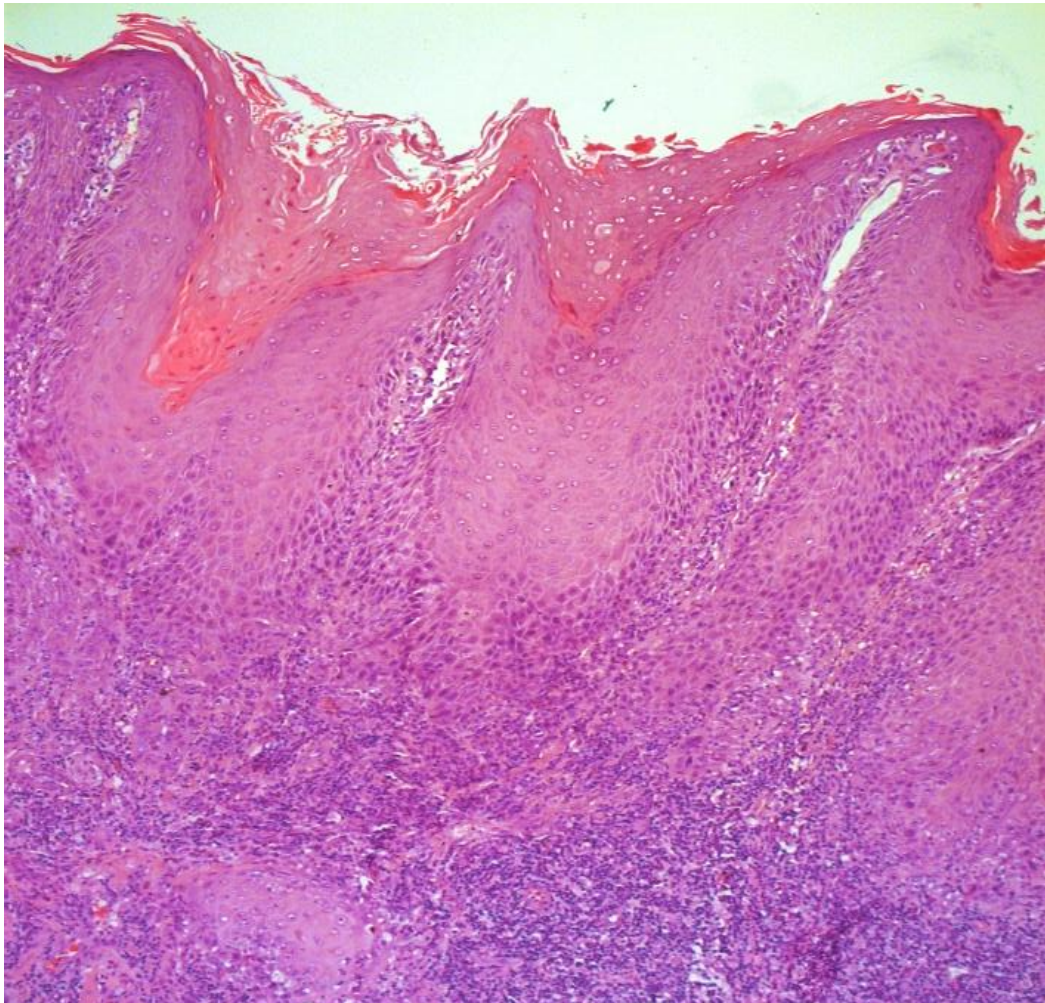


**Рисунок 66** – ВГ СОПР. Окр. гематоксилином-эозином ( $\times 200$ )

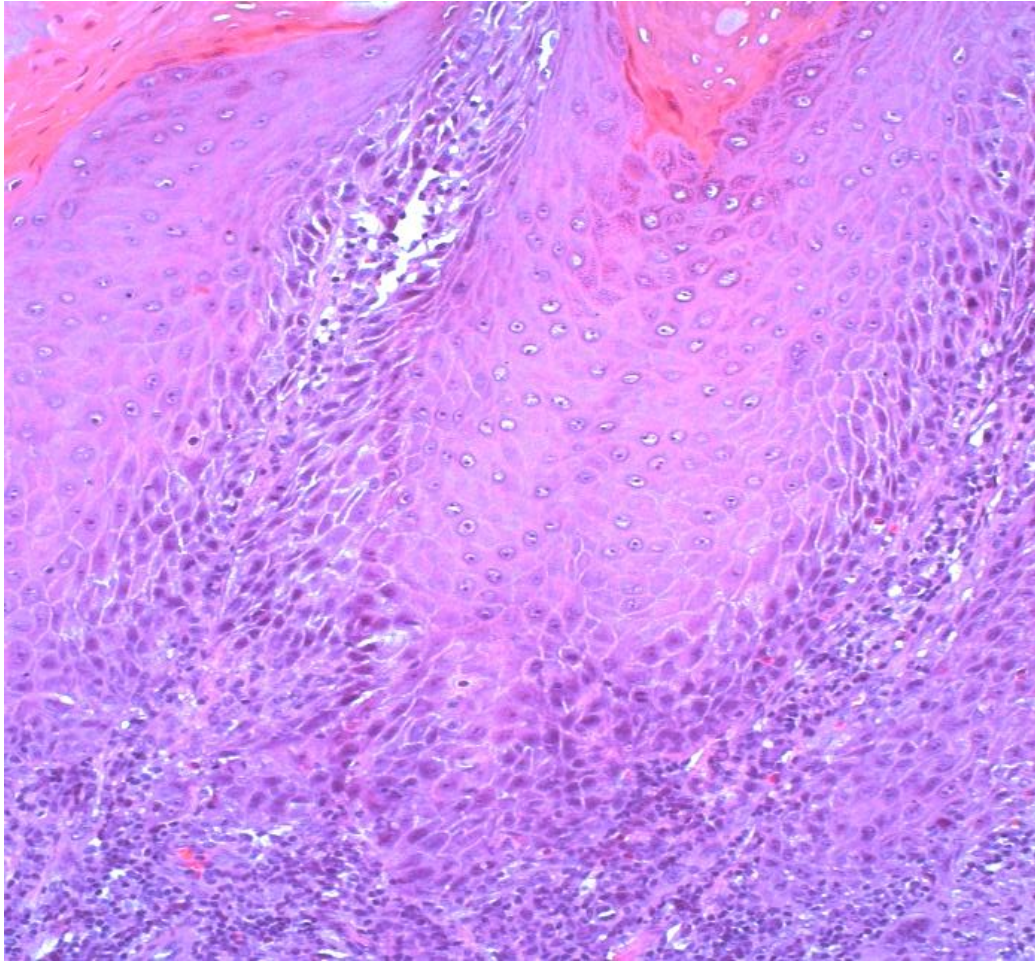
***Веррукозная карцинома***

В настоящем исследовании диагноз ВК был обнаружен в 14 случаях: у 4 (28,5%) женщин и у 10 (71,4 %) мужчин.

При исследовании ВК СОПР выявлялся гиперкератоз, а также эпителиальные разрастания в собственную пластину СОПР, в которой определялся хронический воспалительный инфильтрат во всех исследованных случаях. В ростковом слое выявлялись единичные атипичные клетки (Рисунок 7а, 7б).



**Рисунок 7а** – ВК СОПР. Окр. гематоксилином-эозином ( $\times 100$ )



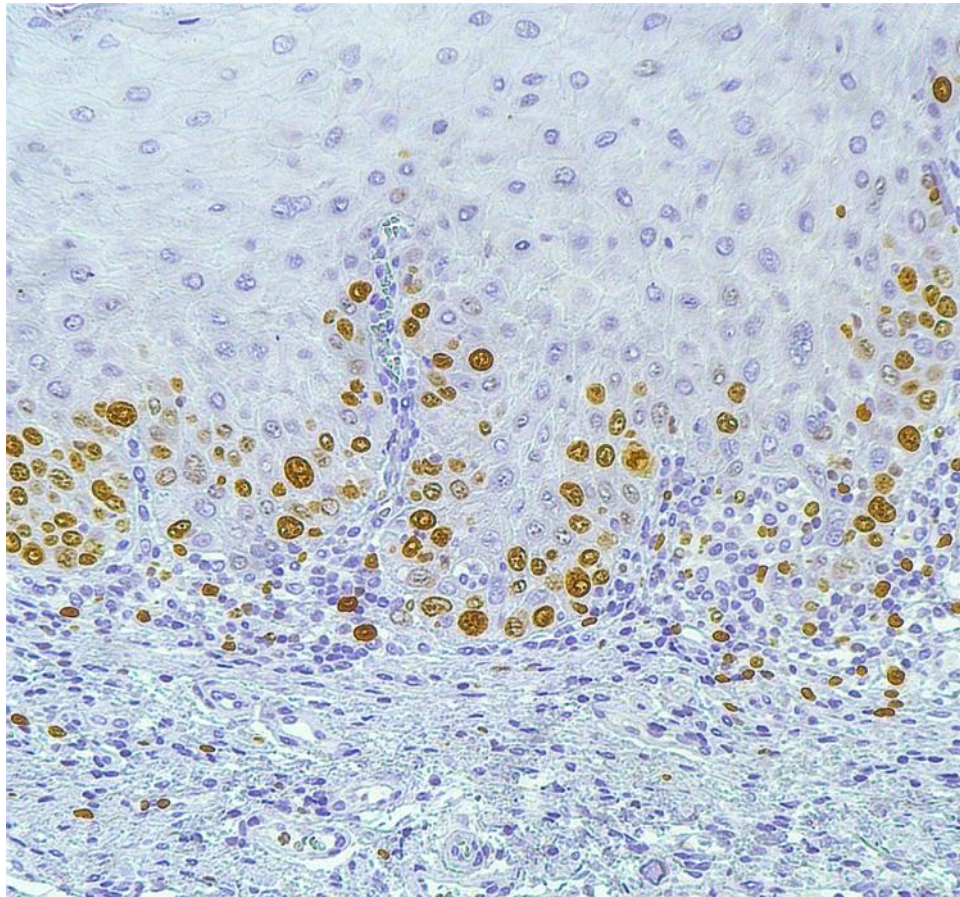
**Рисунок 76** – ВК СОПР. Окр. гематоксилином-эозином ( $\times 200$ )

## 3.2 Иммуногистохимическое исследование

### 3.2.1. Белок Ki-67

#### *При эпителиальной гиперплазии СОПР*

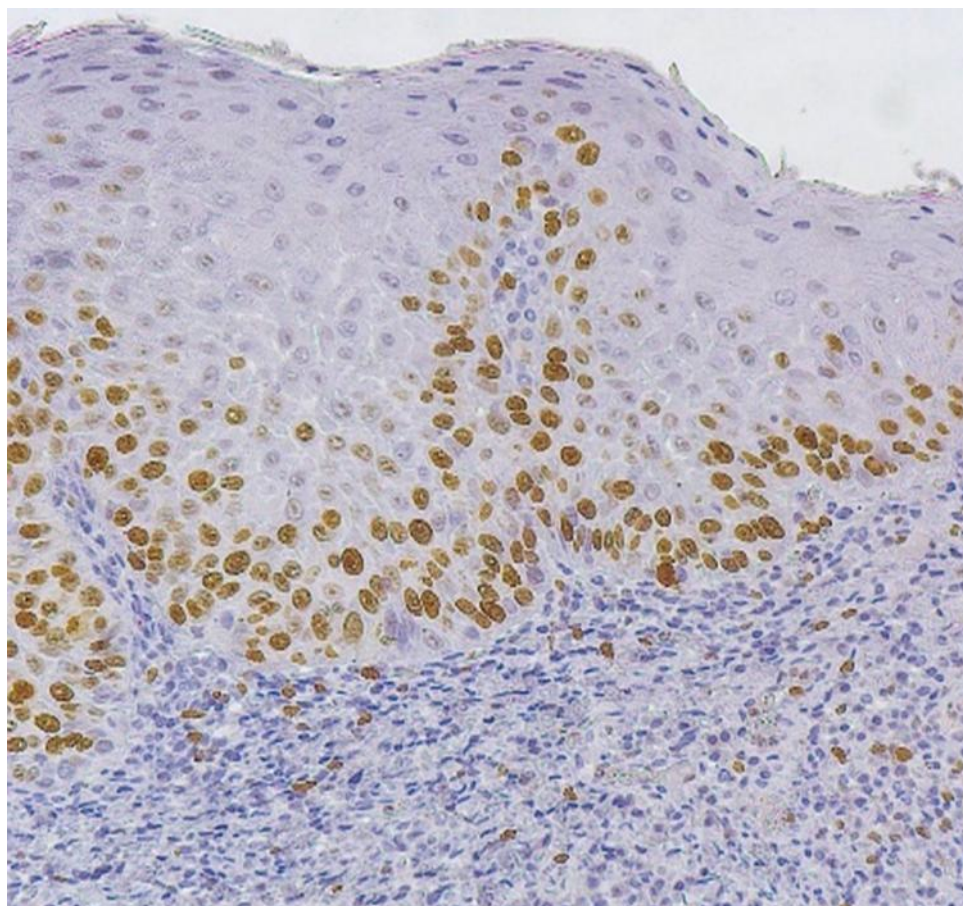
При исследовании пролиферативной активности по ядерному белку Ki-67 иммунопозитивные клетки во всех случаях при ЭГ располагались преимущественно в ростковом и единично в шиповатом слоях эпителия (Рисунок 8).



**Рисунок 8** – ИГХ реакция при ЭГ СОПР с антителами к белку Ki-67. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При эпителиальной дисплазии низкой степени СОПР*

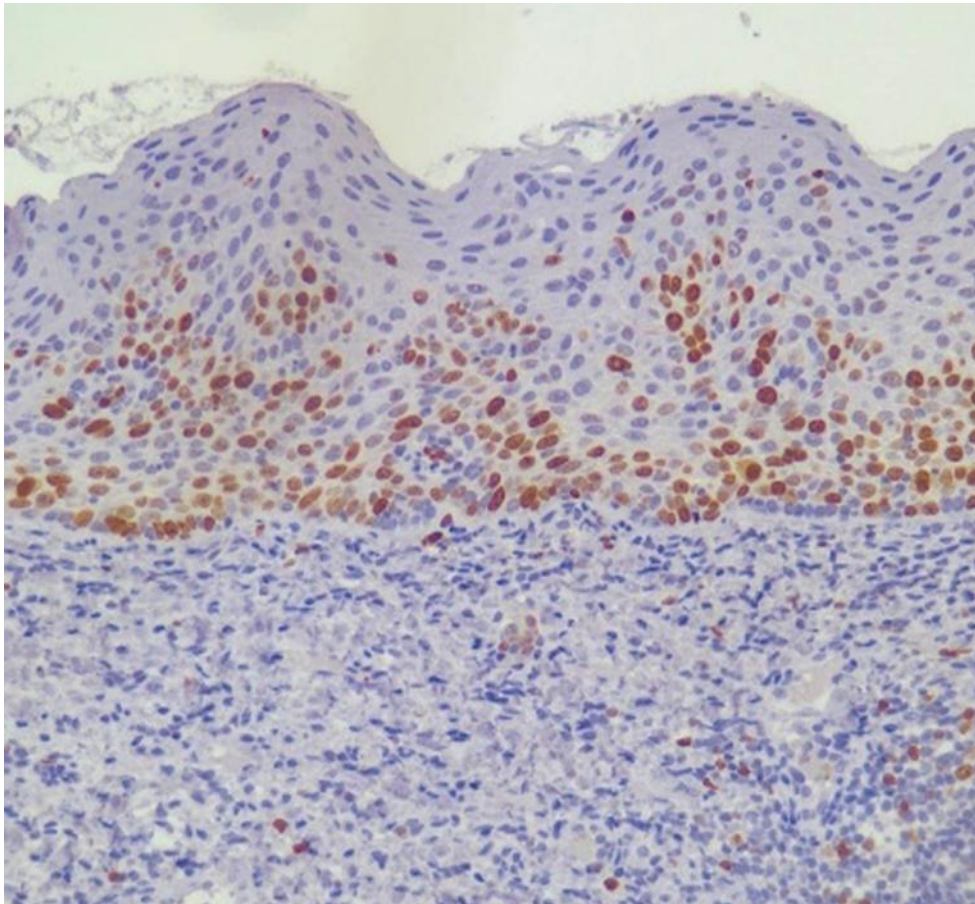
Иммунопозитивные клетки по Ki-67 при ЭДНС выявлялись во всех случаях в ростковом и шиповатом слоях эпителия (Рисунок 9).



**Рисунок 9** – ИГХ реакция при ЭДНС СОПР с антителами к белку Ki-67. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При эпителиальной дисплазии высокой степени СОПР*

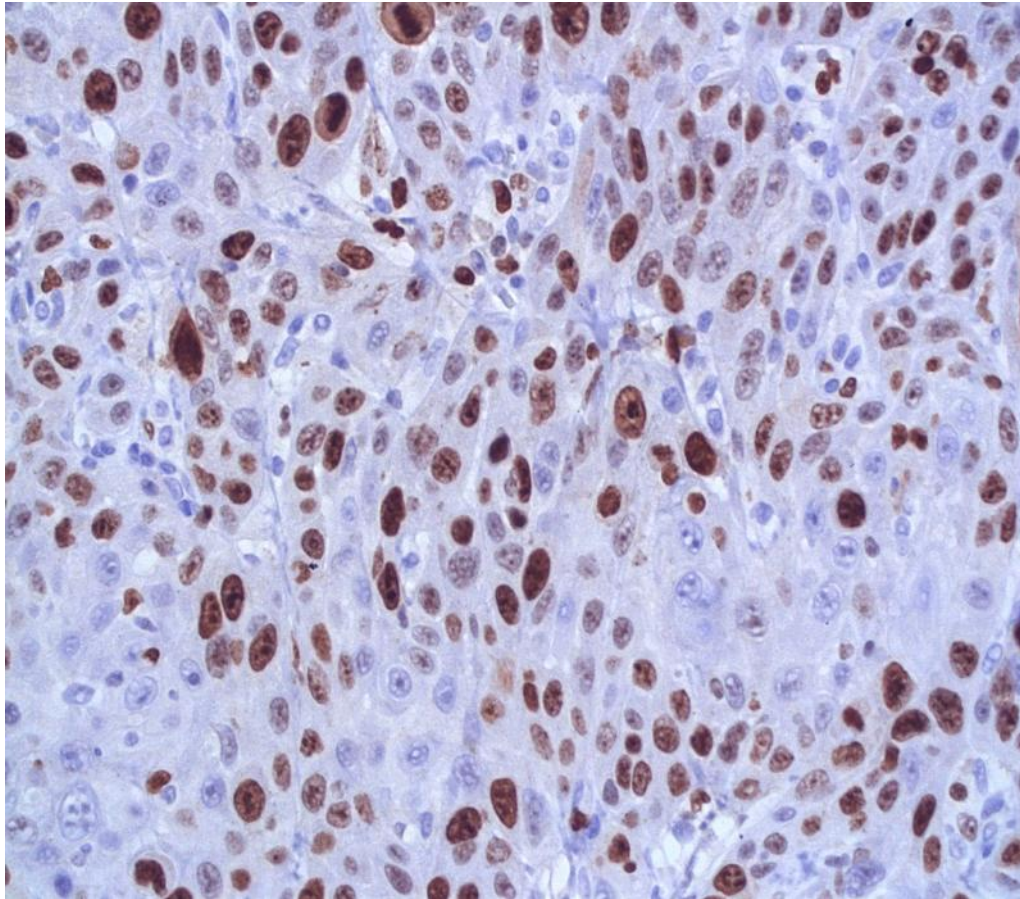
При исследовании ЭДВС пролиферация клеток по ядерному белку Ki-67 характеризовалась наличием иммунопозитивных клеток во всех случаях в ростковом и в шиповатом слоях эпителия, при этом окрашивание ядер отмечалось сильнее в обоих слоях, чем при ЭДНС (Рисунок 10).



**Рисунок 10** – ИГХ реакция при ЭДВС СОПР с антителами к белку Ki-67. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера ( $\times 100$ )

*При плоскоклеточном раке СОПР*

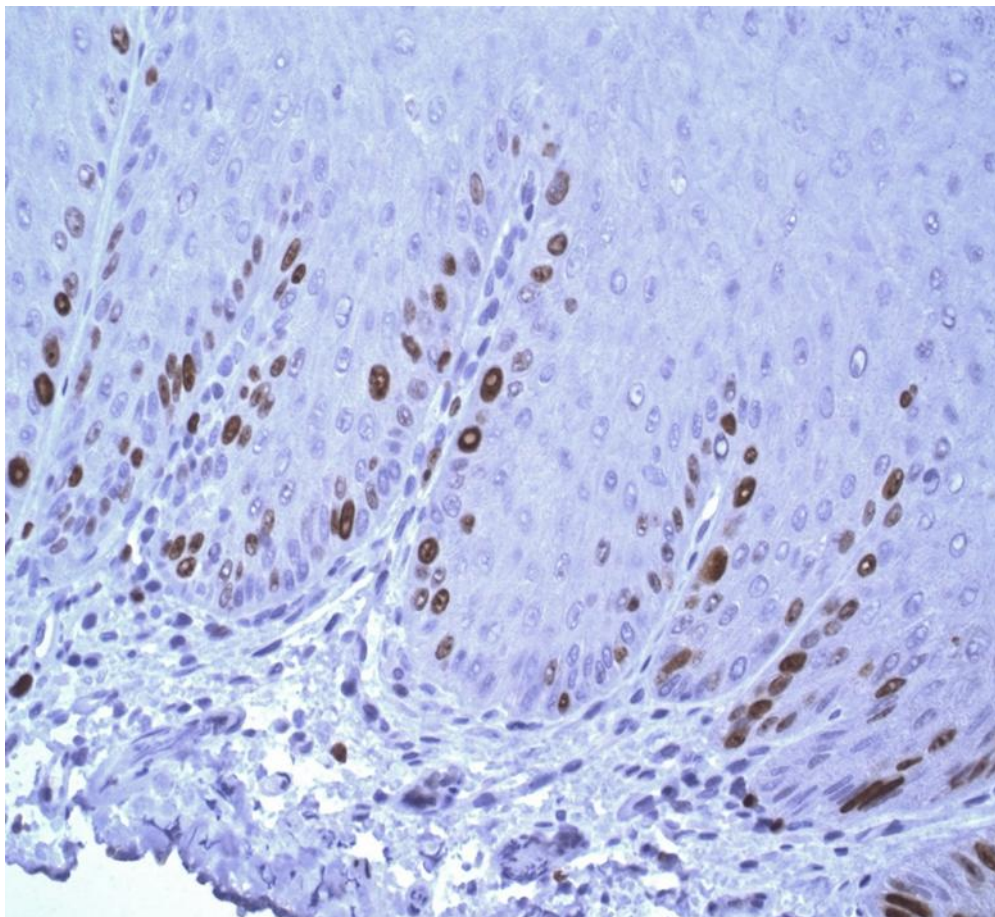
При исследовании пролиферативной активности ПР по ядерному белку Ki-67 иммунопозитивные клетки выявлялись во всех случаях. Окрашенные ядра обнаруживались в центральной и периферической зонах опухоли (Рисунок 11).



**Рисунок 11** – ИГХ реакция при ПР СОПР с антителами к белку Ki-67.  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×400)

*При verrукозной гиперплазии СОПР*

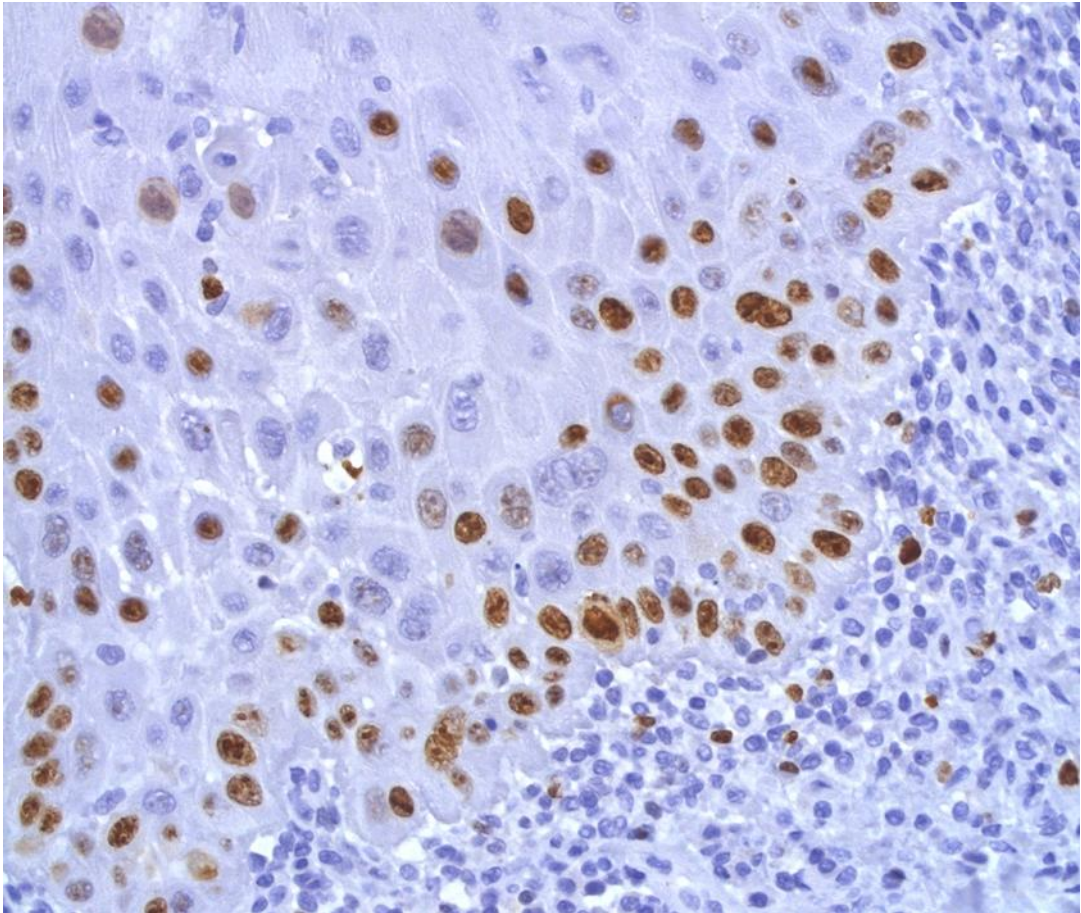
При исследовании ВГ пролиферативная активность по ядерному белку Ki-67 отмечалась во всех случаях только в ростковом слое (Рисунок 12).



**Рисунок 12** – ИГХ реакция при ВГ СОПР с антителами к белку Ki-67.  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При веррукозной карциноме СОПР*

При исследовании пролиферативной активности ВК СОПР по ядерному белку Ki-67 иммунопозитивные клетки отмечались во всех случаях и располагались как в ростковом, так и в шиповатом слоях эпителия, при этом количество и интенсивность окрашенных ядер клеток в ростковом слое при ВК были выявлены в большем количестве, чем при ВГ (Рисунок 13).

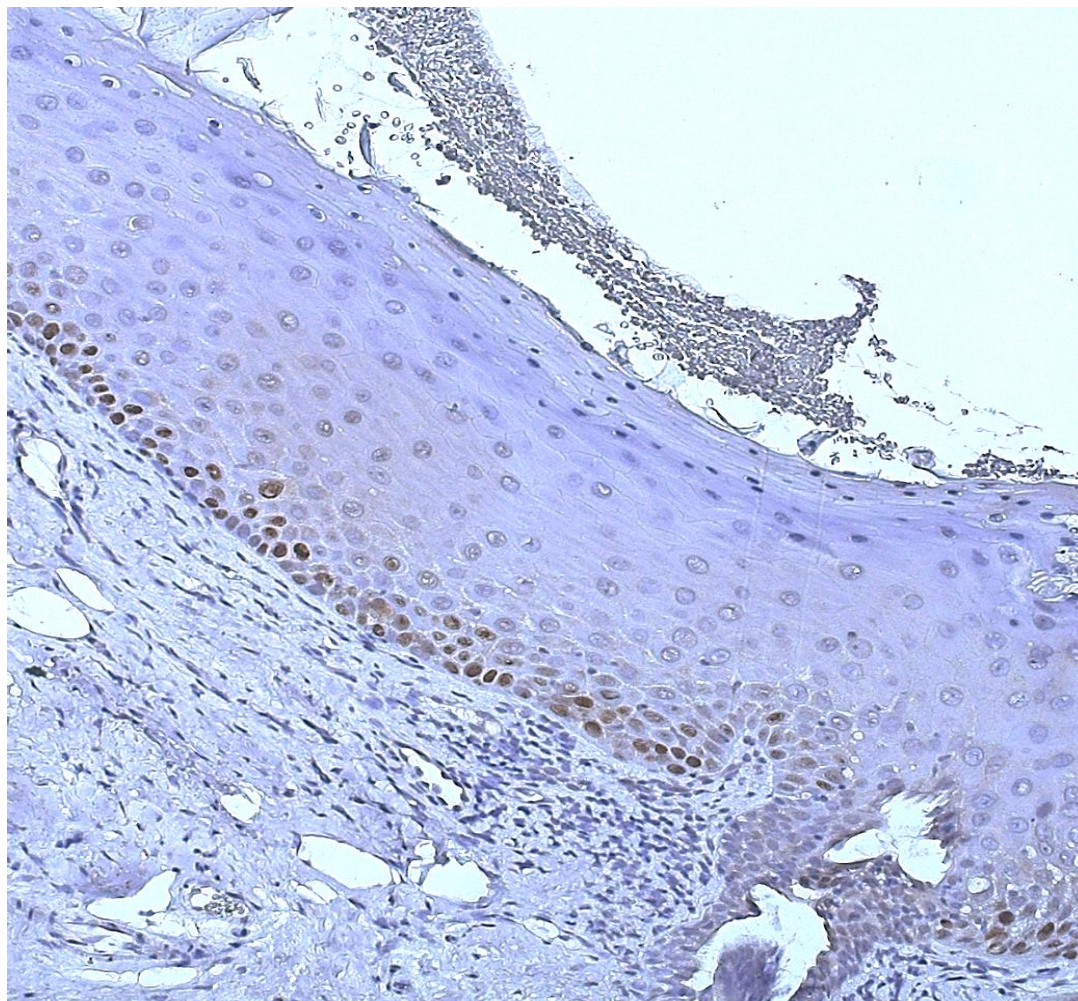


**Рисунок 13** – ИГХ реакция при ВК СОПР с антителами к белку Ki-67.  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

### 3.2.2 Белок P53 (клон DO-7)

#### *При эпителиальной гиперплазии СОПР*

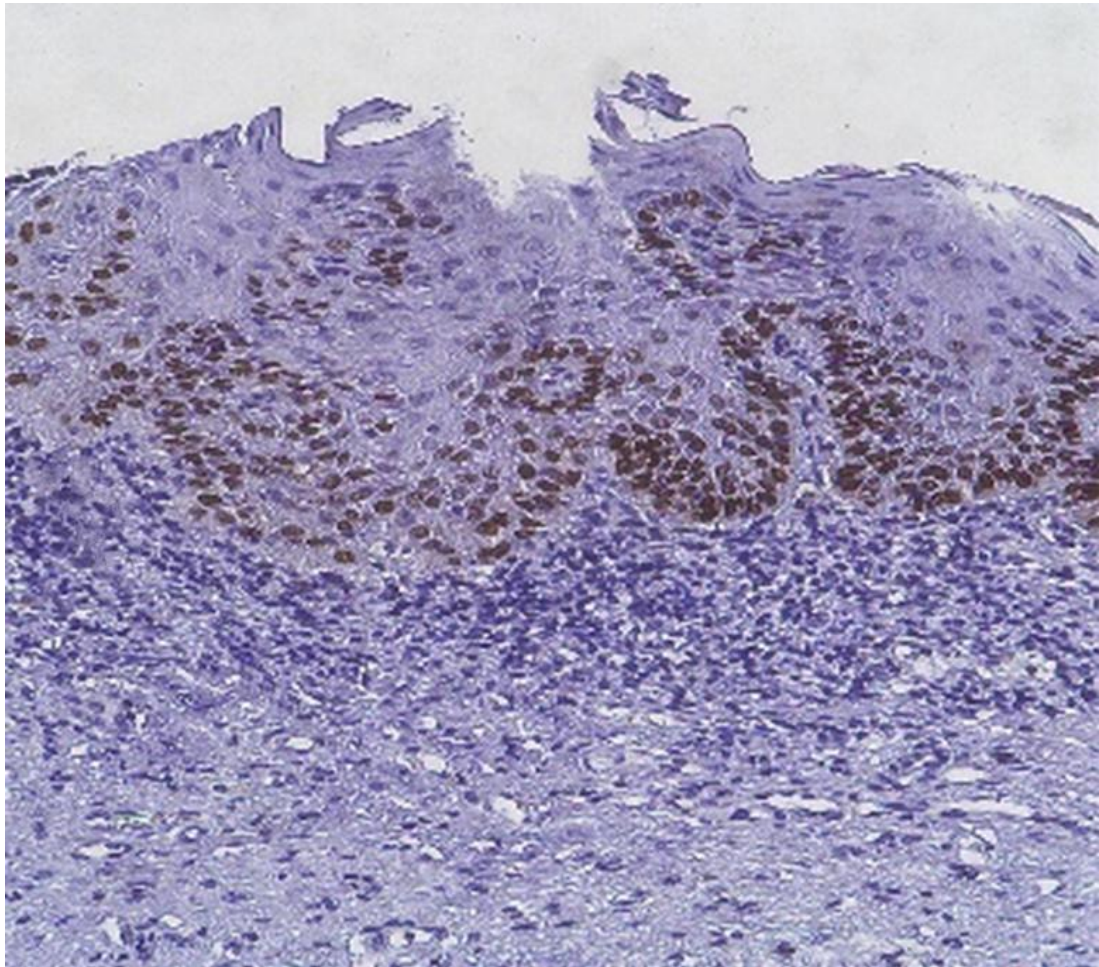
При исследовании клона DO-7 отмечалась слабая реакция при ЭГ СОПР. Иммунопозитивные клетки отмечались во всех случаях в ростковом и шиповатом слоях эпителия, но ядра окрашивались слабо (Рисунок 14)..



**Рисунок 14** – ИГХ реакция при ЭГ СОПР по белку P53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При эпителиальной дисплазии низкой степени СОПР*

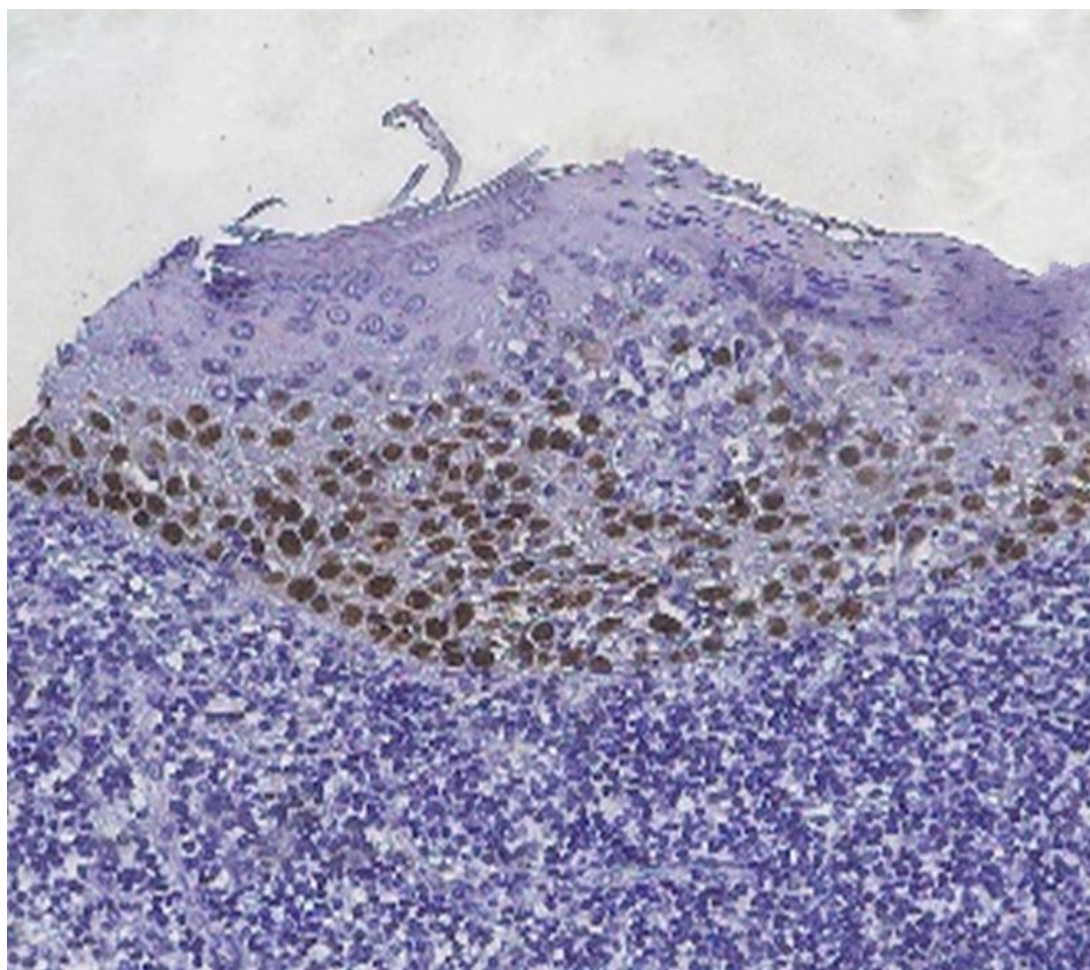
При исследовании клона DO-7 иммунопозитивные клетки при ЭДНС были обнаружены во всех случаях в ростковом слое, а также изменённые клетки затрагивали и шиповатый слой. Окрашивание ядер в обоих слоях отмечалось интенсивнее чем при ЭГ (Рисунок 15).



**Рисунок 15** – ИГХ реакция при ЭДНС СОПР по белку Р53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×100)

*При эпителиальной дисплазии высокой степени СОПР*

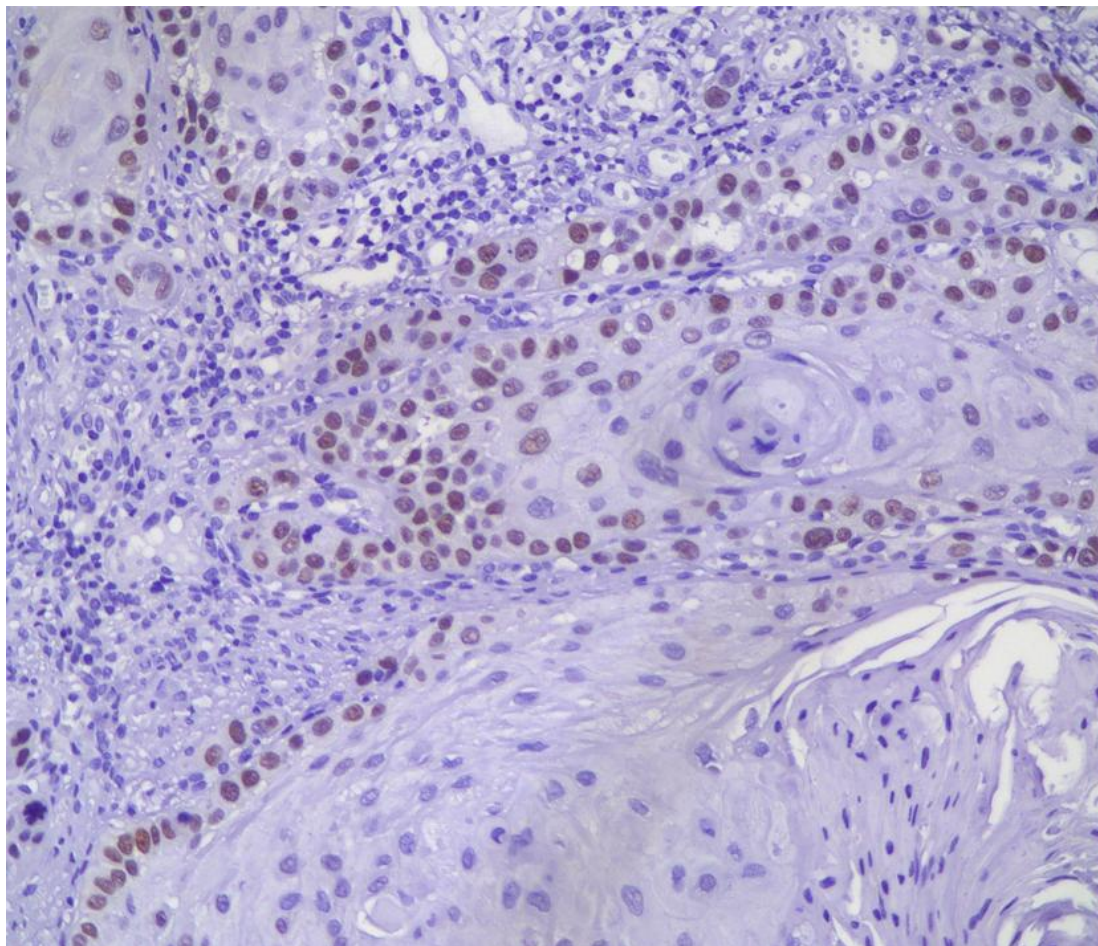
При исследовании клона DO-7 иммунопозитивные ядра при ЭДВС были интенсивно окрашены и обнаружены во всех случаях в ростковом и в шиповатом слоях (Рисунок 16).



**Рисунок 16** – ИГХ реакция при ЭДВС СОПР по белку Р53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×100)

*При плоскоклеточном раке СОПР*

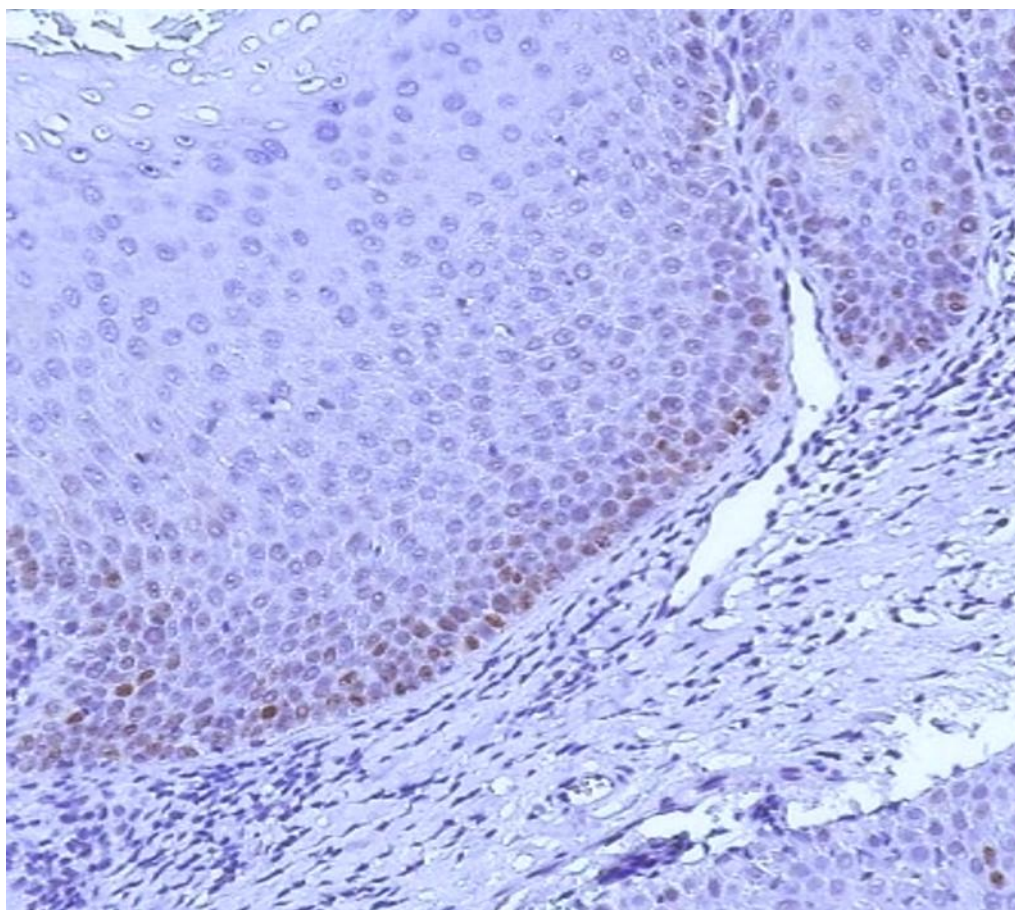
При исследовании клонa DO-7 при ПР СОПР иммунопозитивные клетки были обнаружены в центральной и периферической зонах опухоли (Рисунок 17).



**Рисунок 17** – ИГХ реакция при ПР СОПР с антителами по белку Р53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При веррукозной гиперплазии СОПР*

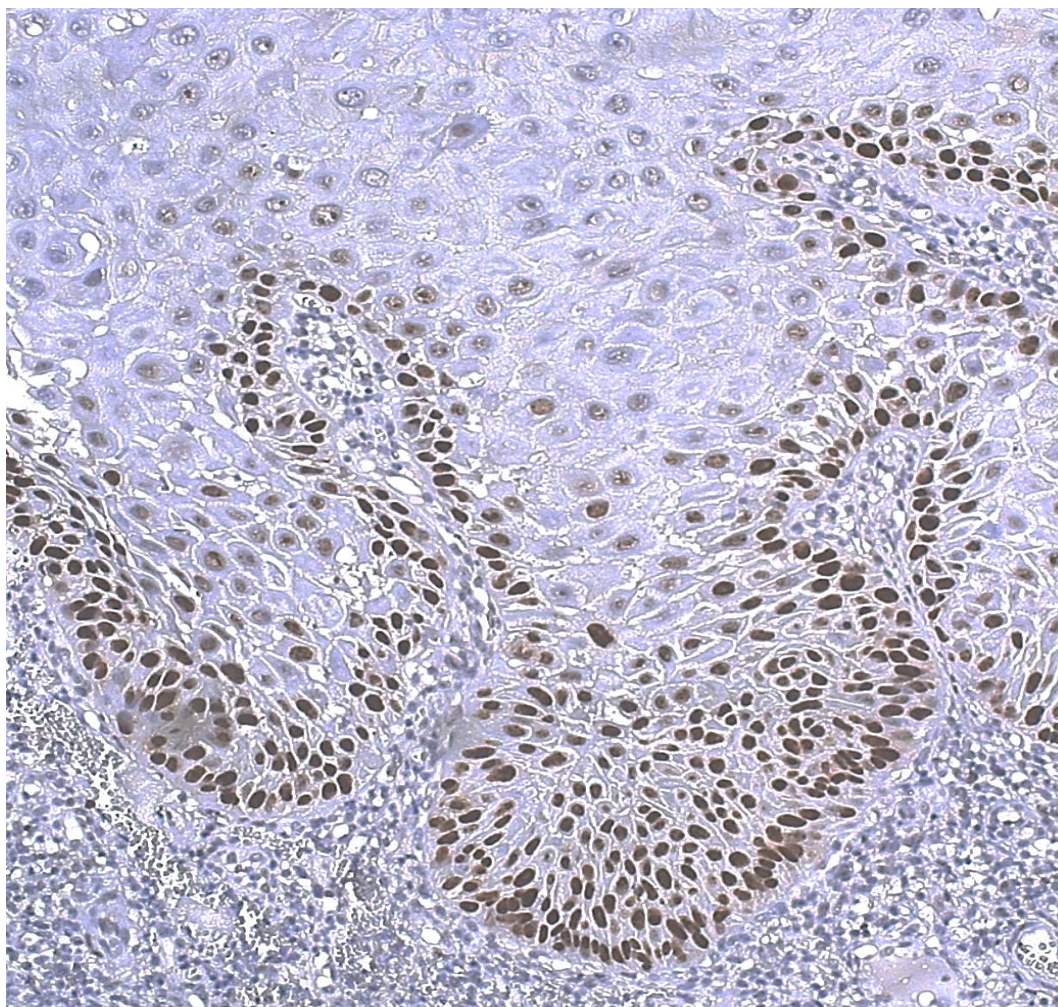
При исследовании клона DO-7 положительная реакция при ВГ была обнаружена во всех случаях в ростковом слое, также единичные иммунопозитивные клетки были замечены в шиповатом слое (Рисунок 18).



**Рисунок 18** – ИГХ реакция при ВГ СОПР по белку Р53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера ( $\times 100$ )

*При веррукозной карциноме СОПР*

При исследовании клона DO-7 иммунопозитивные ядра клеток при ВК были обнаружены во всех случаях в ростковом и в шиповатом слоях эпителия (Рисунок 19).

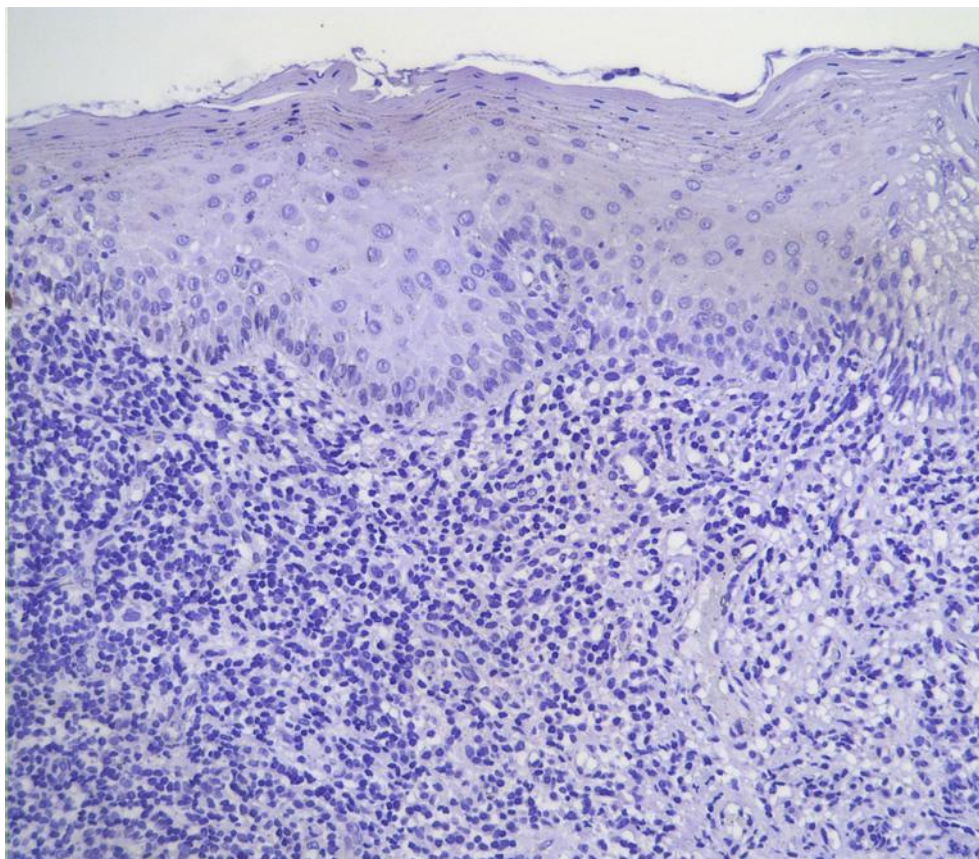


**Рисунок 19** – ИГХ реакция при ВК СОПР по белку Р53 (клон DO-7).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

### 3.2.3 Белок P53 (клон Y-5)

#### *При эпителиальной гиперплазии СОПР*

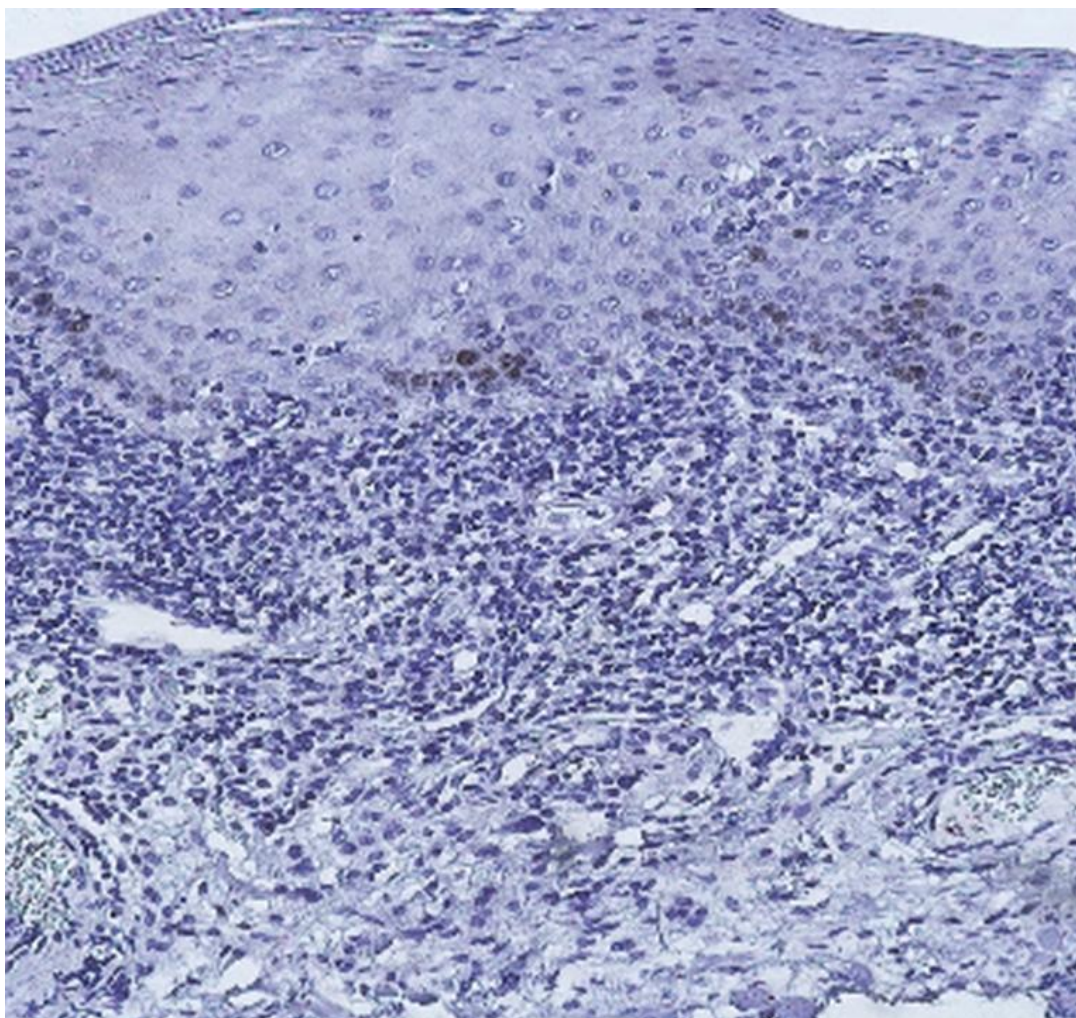
При исследовании клона Y-5 иммунопозитивные клетки при ЭГ СОПР не были обнаружены ни в одном исследованном случае (Рисунок 20).



**Рисунок 20** – Отсутствие ИГХ реакции при ЭГ СОПР с антителами по белку P53 (клон Y-5). Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x100)

*При эпителиальной дисплазии низкой степени СОПР*

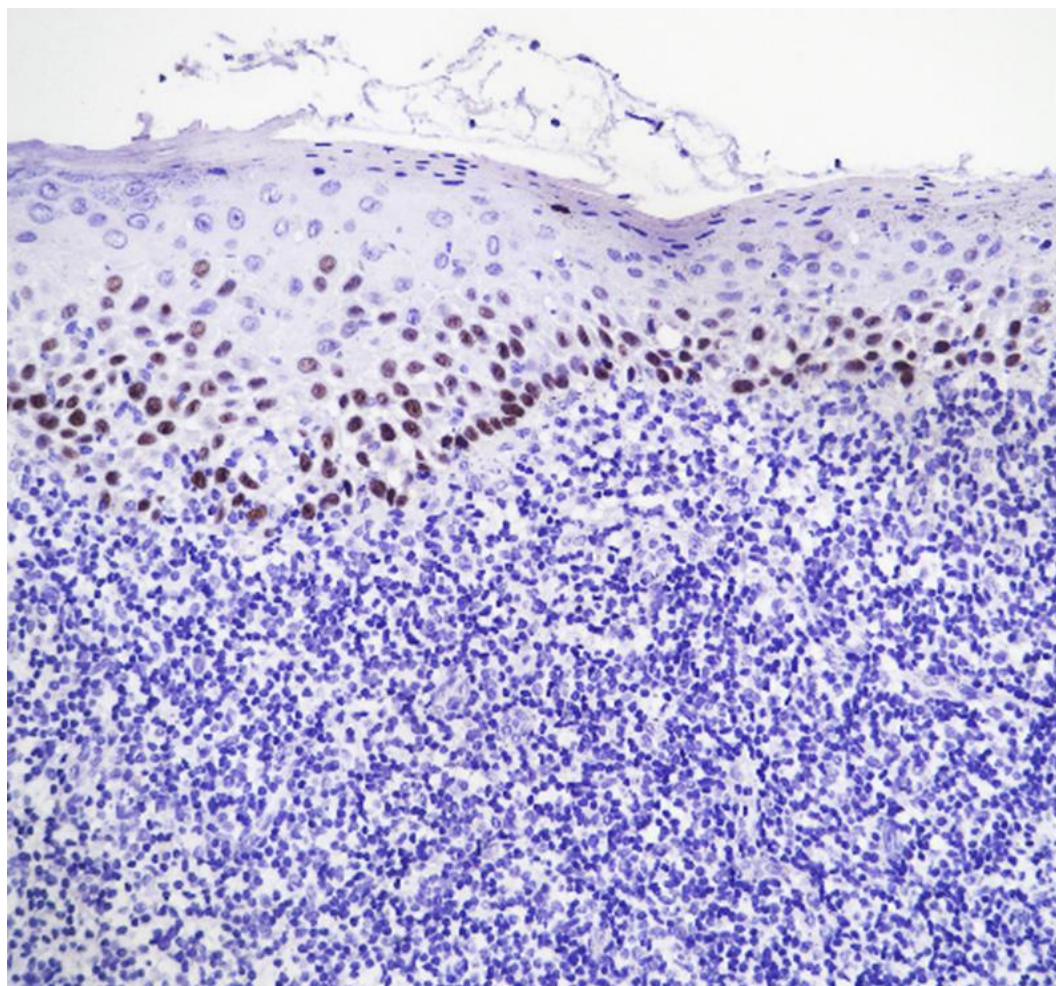
При исследовании клонa Y-5 наблюдалось слабое окрашивание клеток в ростковом слое при ЭДНС СОПР (Рисунок 21).



**Рисунок 21** – ИГХ реакция при ЭДНС СОПР с антителами по белку Р53 (клон Y-5). Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x100)

*При эпителиальной дисплазии высокой степени СОПР*

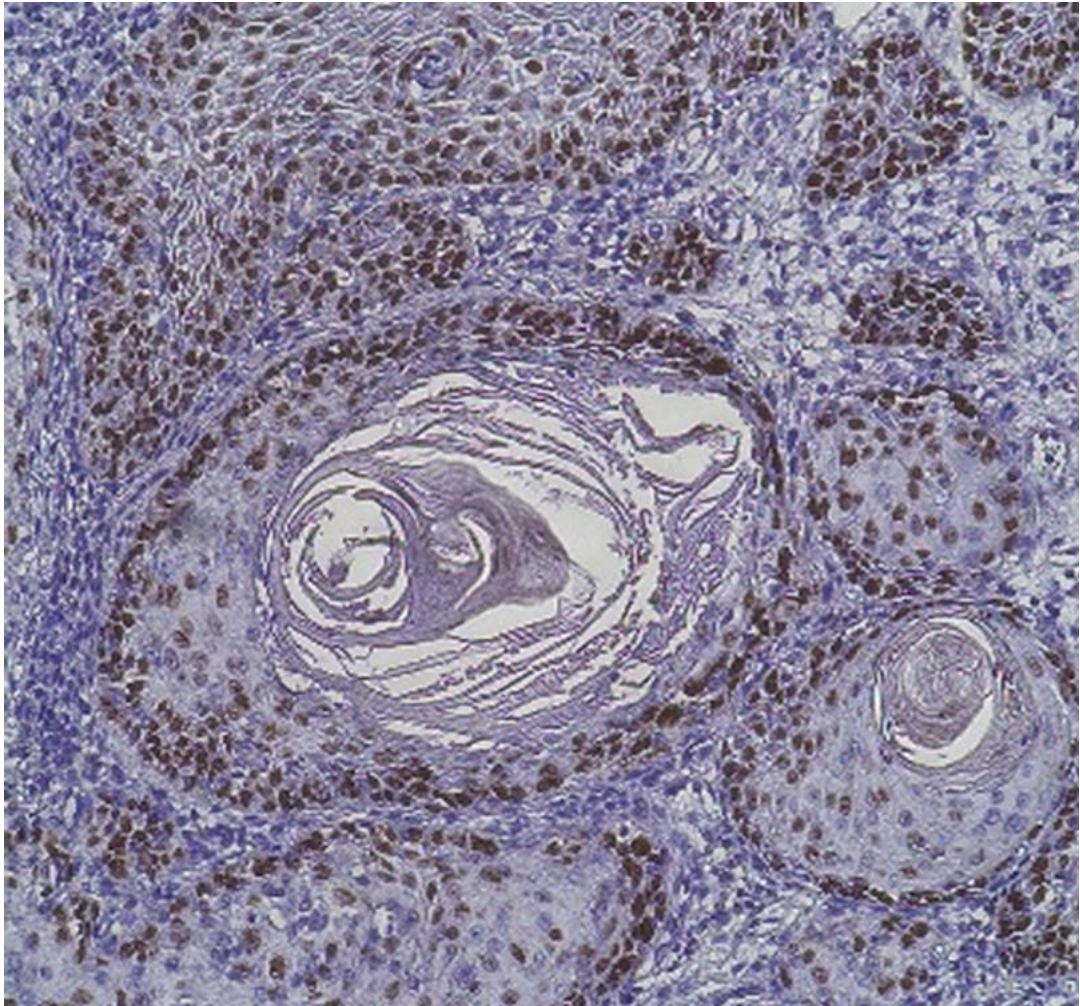
При исследовании клонa Y-5 при ЭДВС СОПР окрашивание ядер клеток было интенсивным в ростковом и в шиповатом слоях эпителия (Рисунок 22).



**Рисунок 22** – ИГХ реакция при ЭДВС СОПР с антителами по белку P53 (клон Y-5). Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x100)

*При плоскоклеточном раке СОПР*

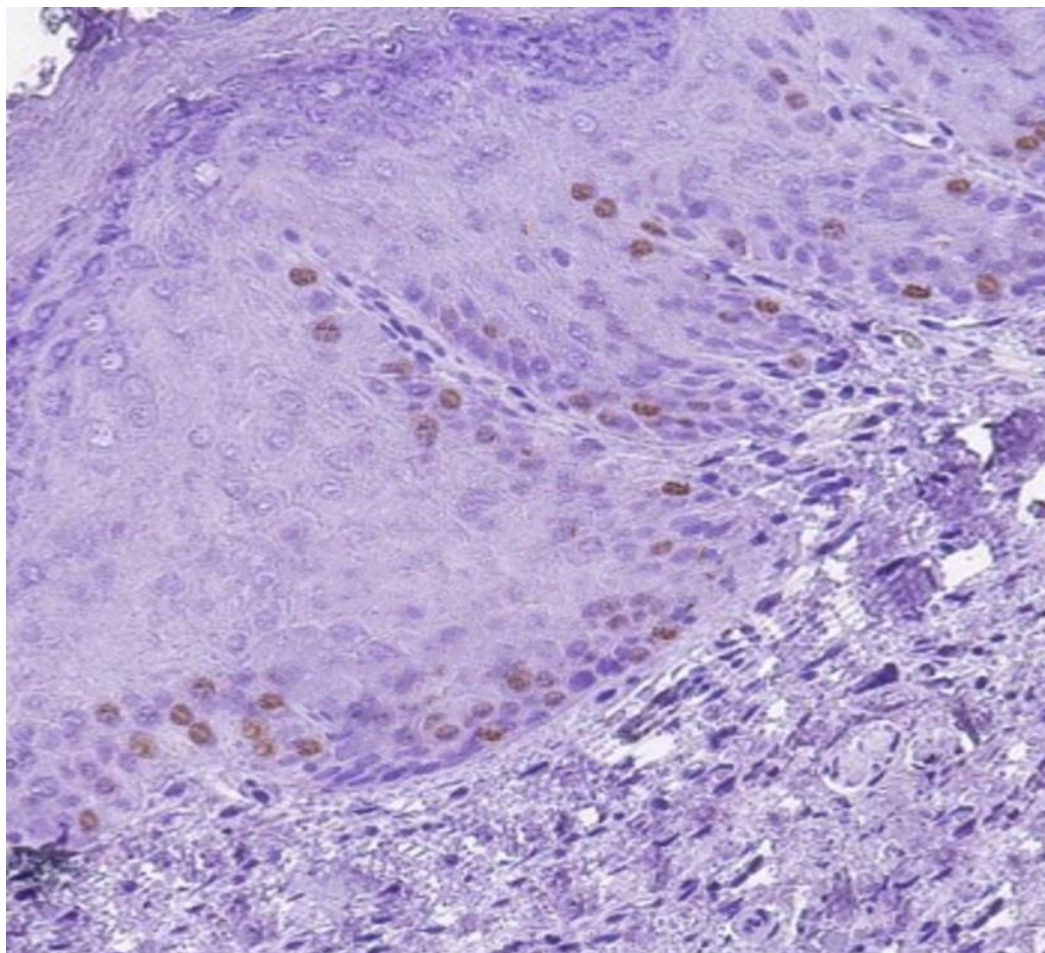
При исследовании клона Y-5 при ПР СОПР ядерная реакция была обнаружена во всех случаях и была интенсивной как в центральной, так и в периферической зонах опухоли (Рисунок 23).



**Рисунок 23** – ИГХ реакция при ПР СОПР с антителами по белку Р53 (клон Y-5).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

*При веррукозной гиперплазии СОПР*

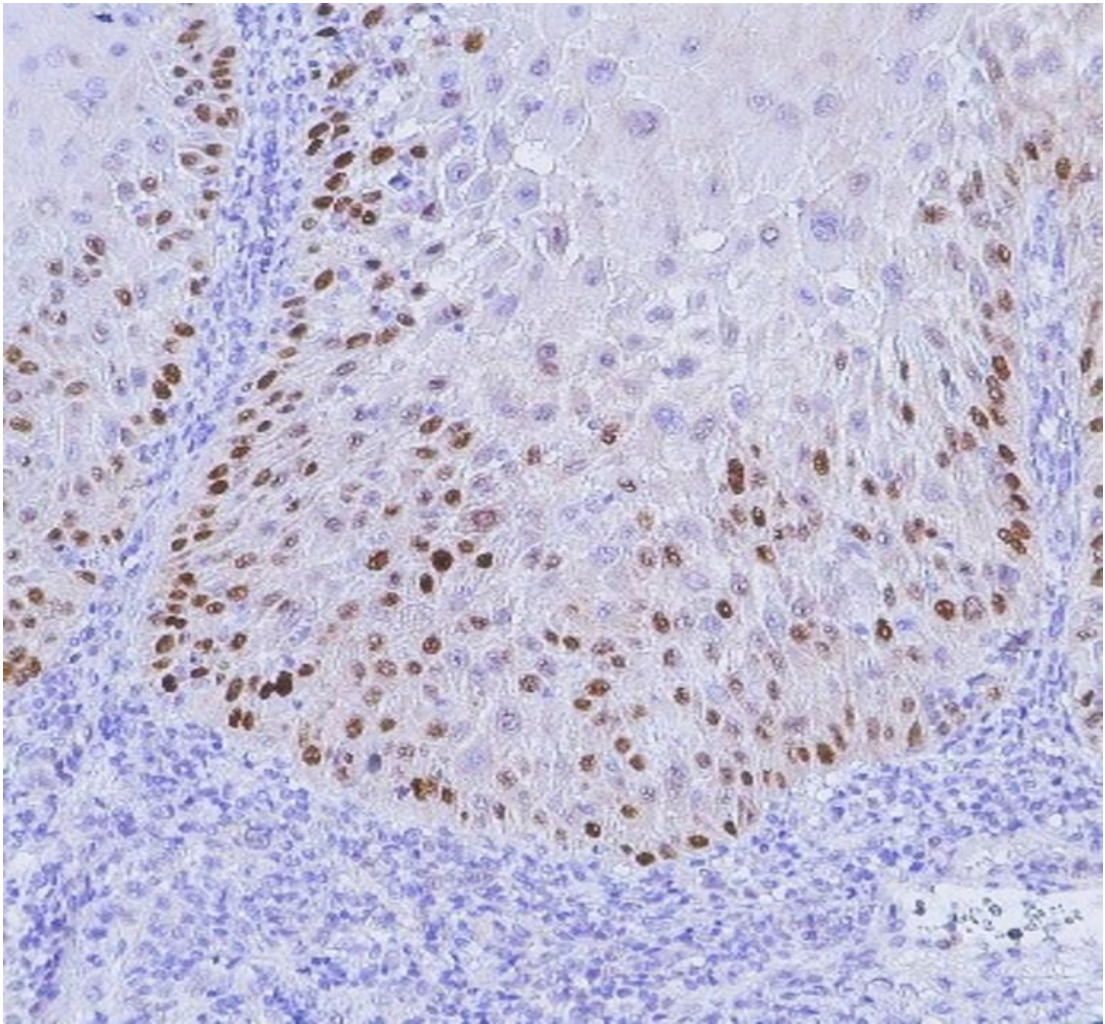
При исследовании клона Y-5 иммунопозитивные клетки при ВГ были обнаружены во всех случаях в ростковом слое, а также единичные слабоокрашенные клетки были замечены в шиповатом слое (Рисунок 24).



**Рисунок 24** – ИГХ реакция при ВГ СОПР с антителами по белку Р53 (клон Y-5).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (×200)

*При веррукозной карциноме СОПР*

При исследовании клона Y-5 иммуноположительные клетки были обнаружены во всех случаях при ВК и окрашены в ростковом слое выраженнее, чем при ВГ. ИГХ реакция при ВК также затрагивала клетки шиповатого слоя (Рисунок 25).

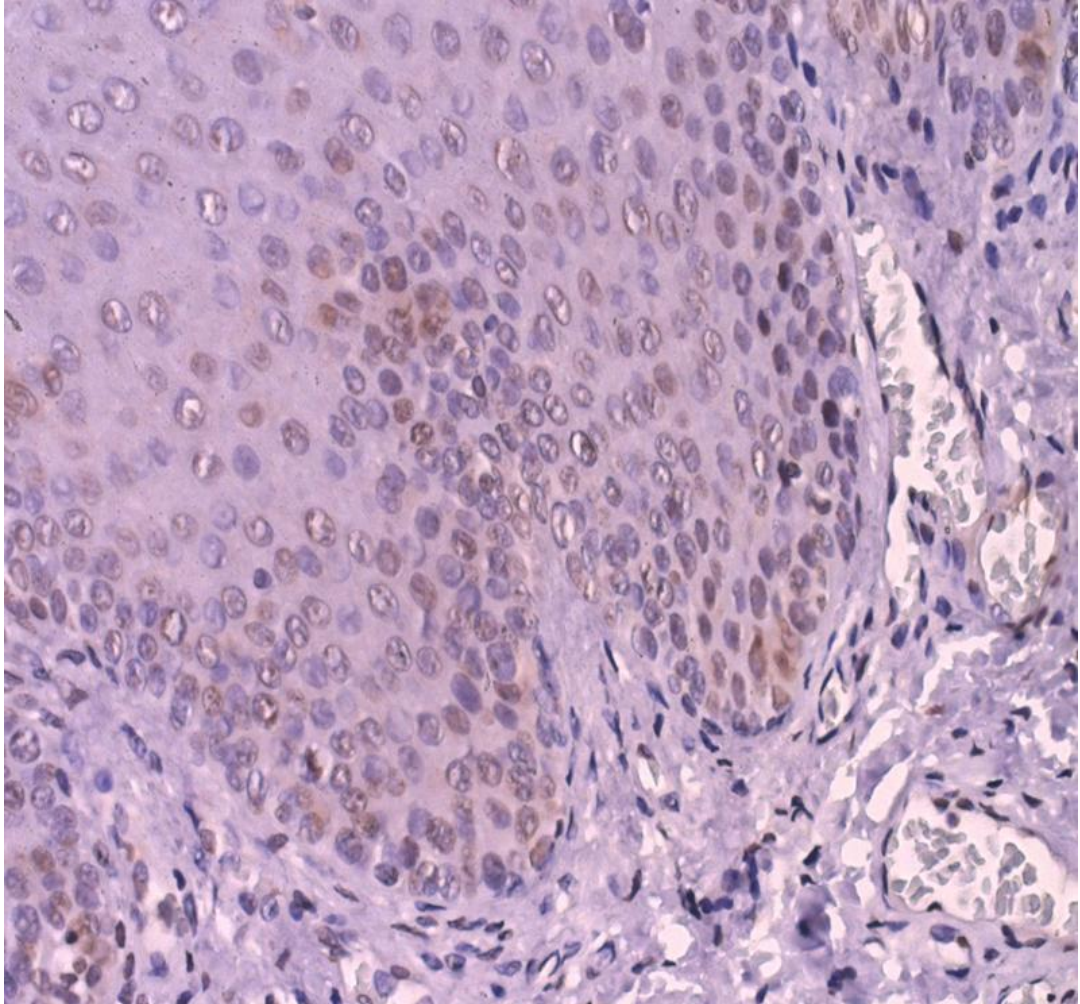


**Рисунок 25** – ИГХ реакция при ВК СОПР с антителами по белку Р53 (клон Y-5).  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

### ***3.2.4 Теломеразная обратная транскриптаза (TERT)***

#### ***При эпителиальной гиперплазии СОПР***

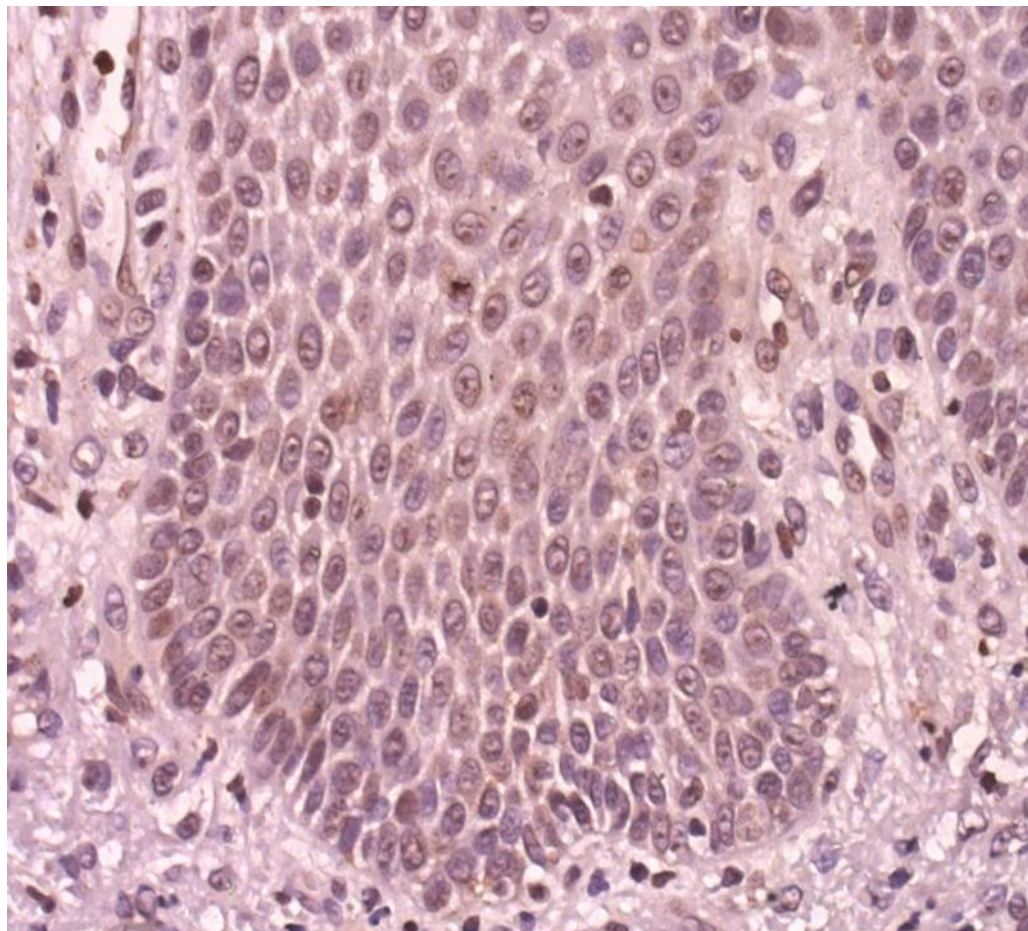
При исследовании TERT выявлялось слабое окрашивание ядер клеток в ростковом и в шиповатом слоях эпителия при ЭГ СОПР (Рисунок 26).



**Рисунок 26** – ИГХ реакция при ЭГ СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера ( $\times 200$ )

*При эпителиальной дисплазии низкой степени СОПР*

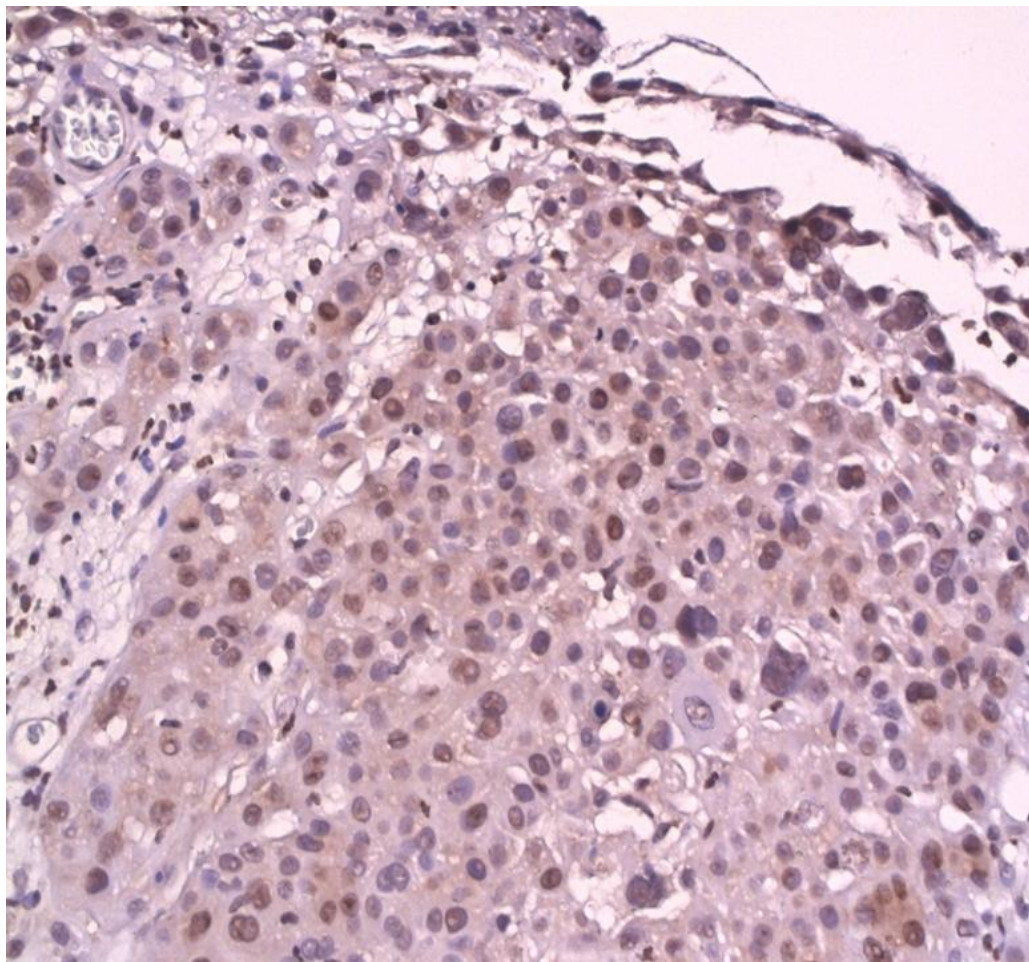
При исследовании TERT выявлялось умеренное окрашивание ядер клеток в ростковом и в шиповатом слоях при ЭДНС СОПР (Рисунок 27).



**Рисунок 27** – ИГХ реакция при ЭДНС СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера ( $\times 200$ )

*При эпителиальной дисплазии высокой степени СОПР*

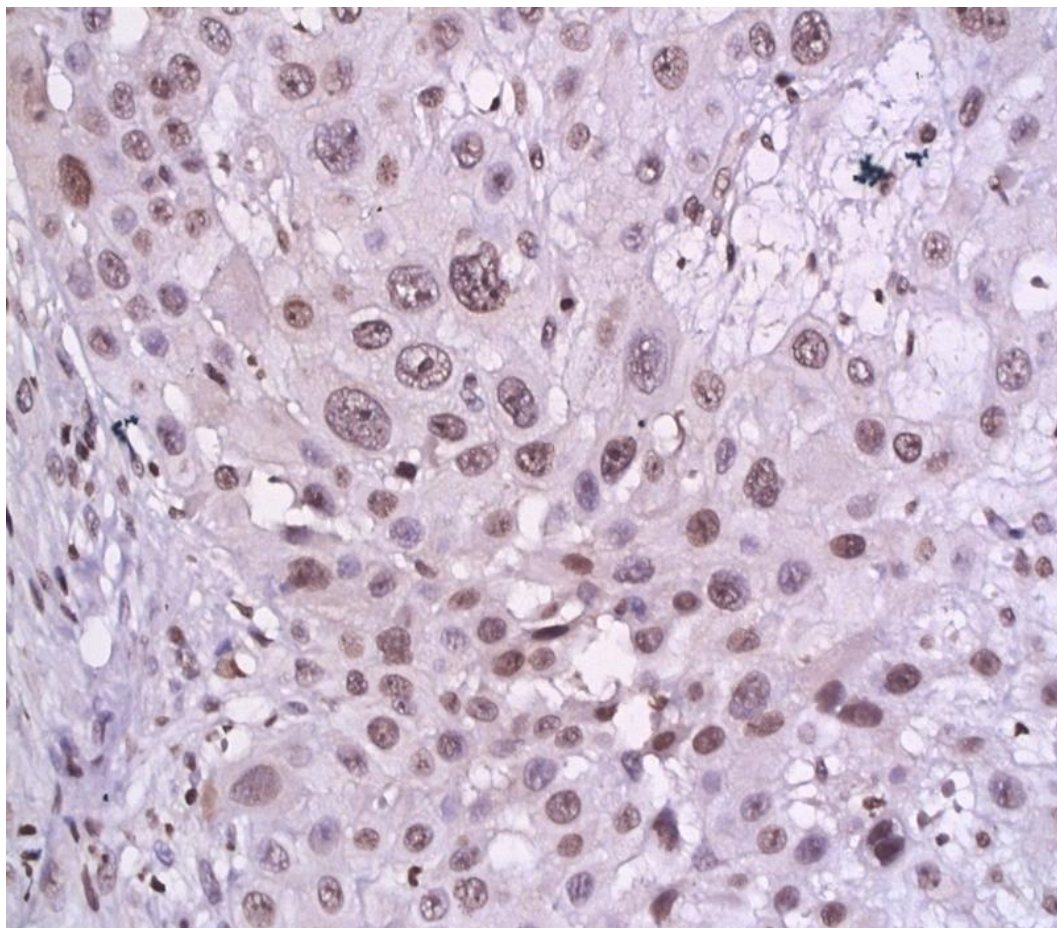
При исследовании TERT выявлялось выраженное окрашивание ядер клеток в ростковом и в шиповатом слоях при ЭДВС СОПР (Рисунок 28).



**Рисунок 28** – ИГХ реакция при ЭДВС СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

*При плоскоклеточном раке СОПР*

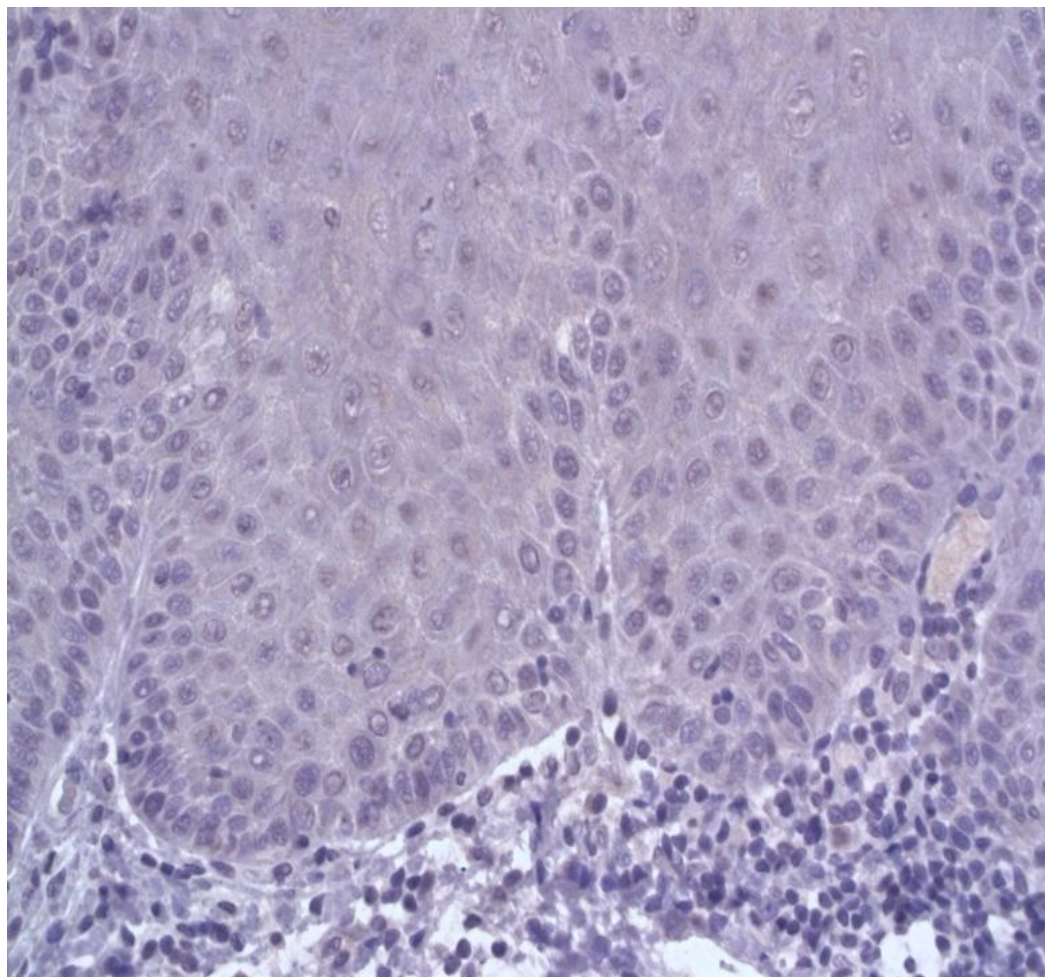
При исследовании TERT реакция проявлялась в виде выраженного окрашивания ядер клеток при ПР в центральной и периферической зонах опухоли (Рисунок 29).



**Рисунок 29** – ИГХ реакция при ПР СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ гематоксилином Майера (x400)

*При веррукозной гиперплазии СОПР*

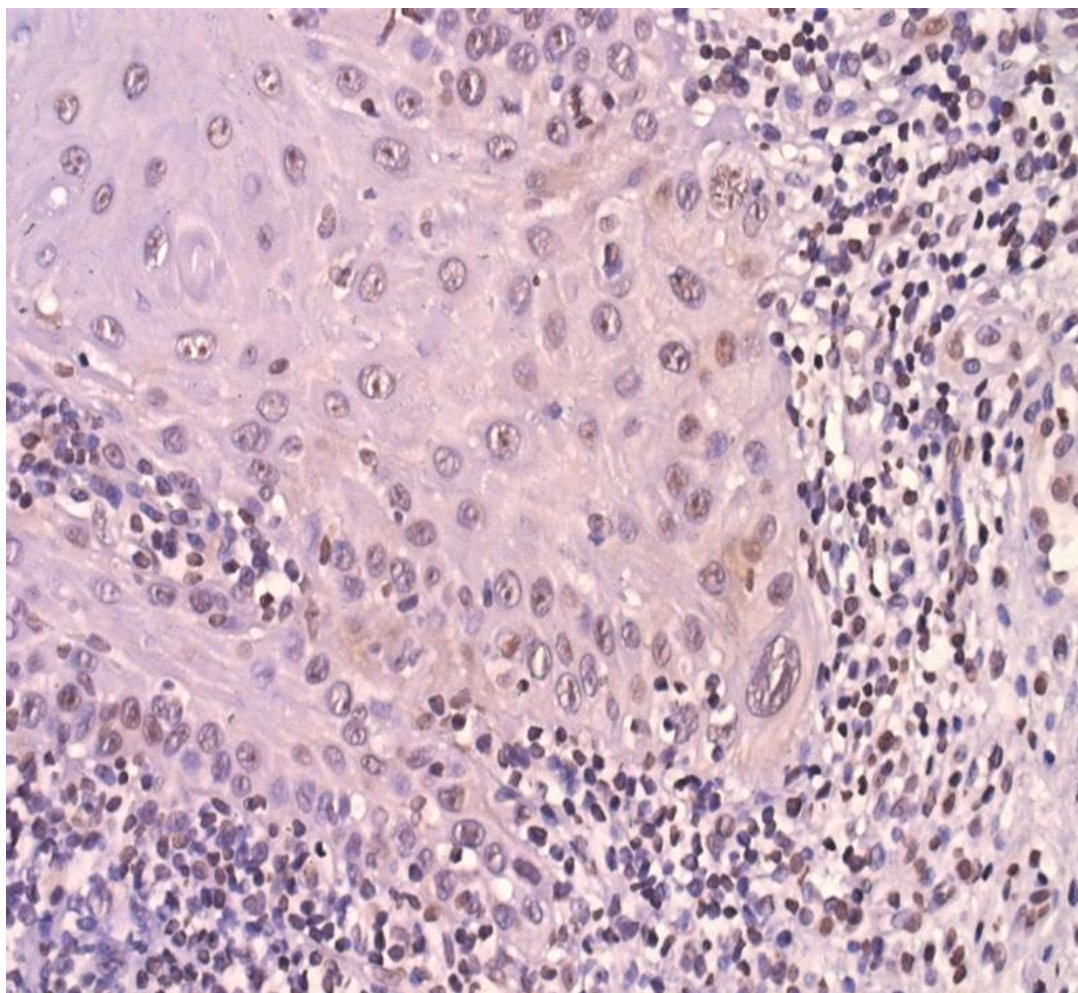
При исследовании TERT выявлялось очень слабое окрашивание ядер клеток в ростковом слое, а также определялись единичные иммунопозитивные клетки в шиповатом слое при ВГ СОПР (Рисунок 30).



**Рисунок 30** – ИГХ реакция при ВГ СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

*При веррукозной карциноме СОПР*

При исследовании TERT выявлялось умеренное окрашивание ядер клеток в ростковом и в шиповатом слоях эпителия при ВК СОПР (Рисунок 31).

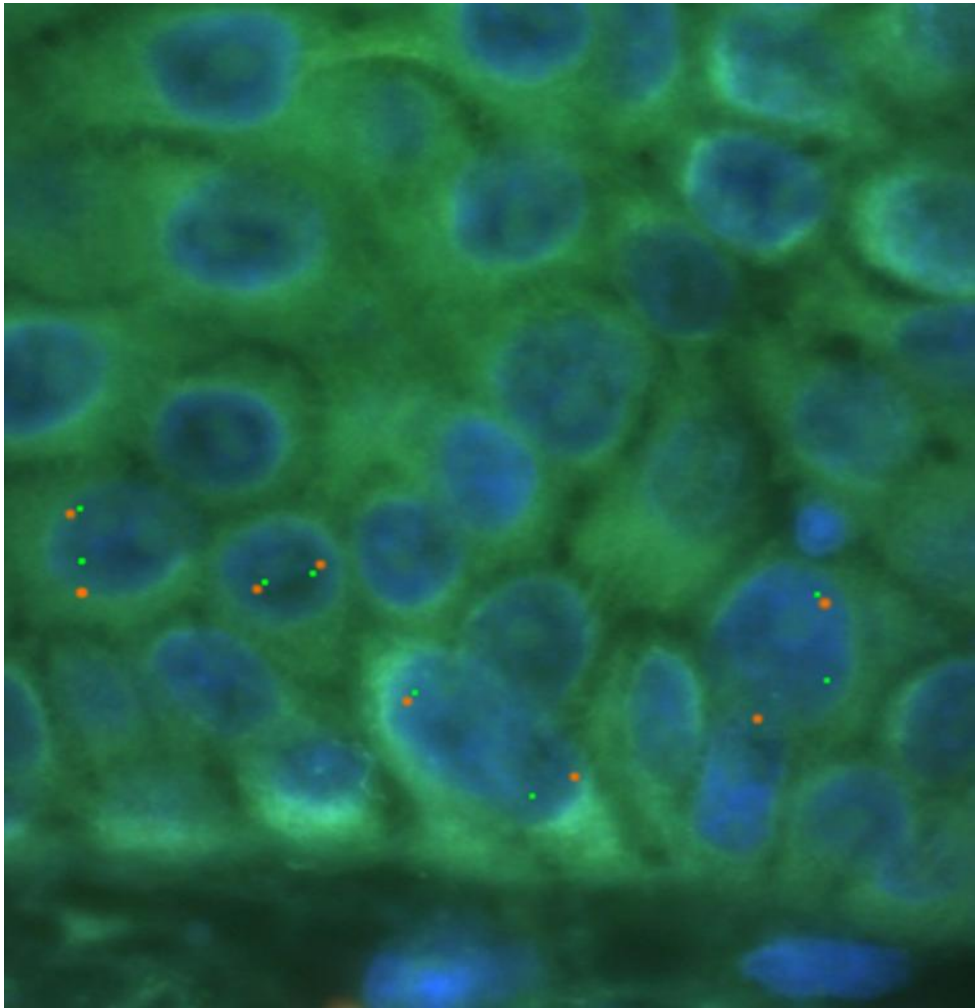


**Рисунок 31** – ИГХ реакция при ВК СОПР с использованием TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера (x200)

### 3.3 Амплификация гена *TERC* методом FISH

#### *При эпителиальной гиперплазии СОПР*

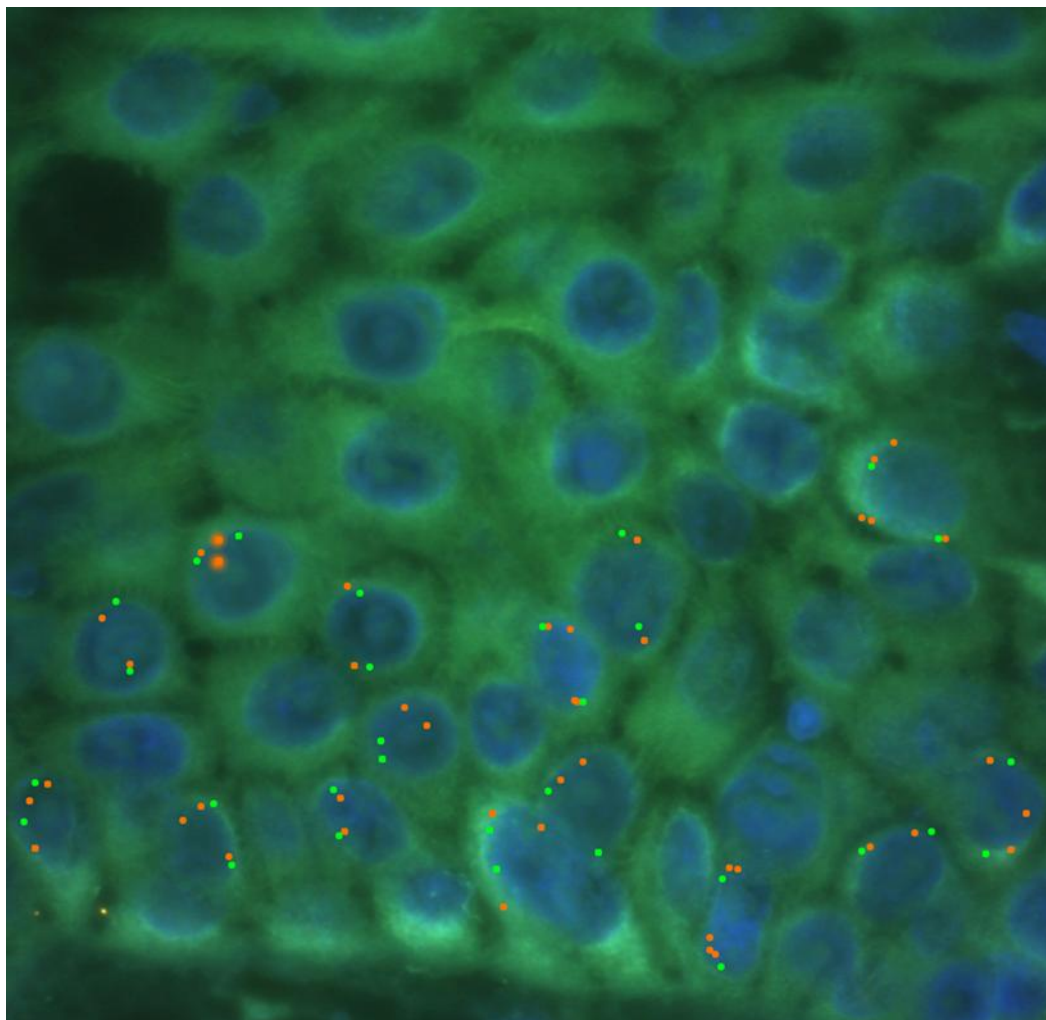
При исследовании ЭГ СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2 (Рисунок 32).



**Рисунок 32** – Амплификация *TERC* при ЭГ СОПР методом FISH,  $\times 1000$

*При эпителиальной дисплазии низкой степени СОПР*

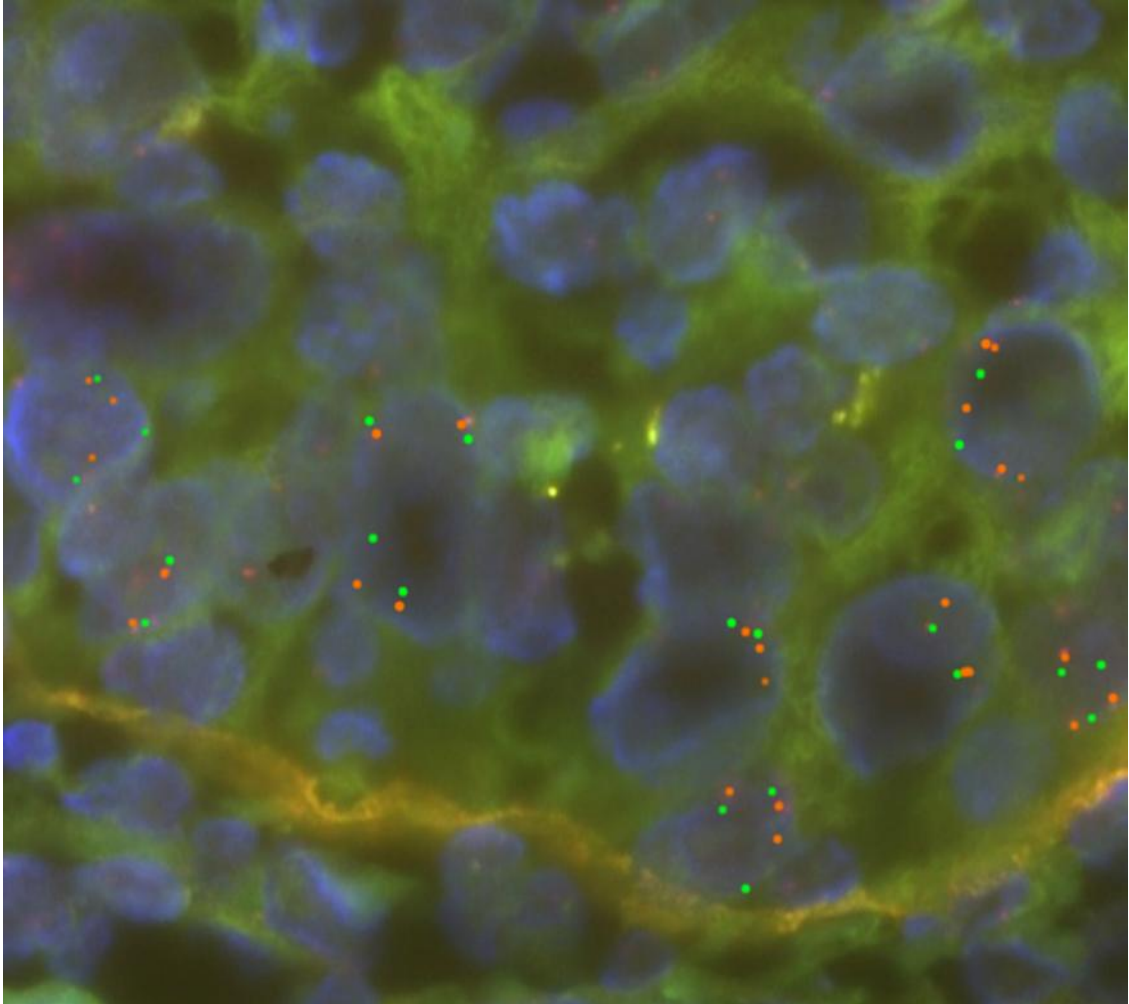
При исследовании ЭДНС СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2; 2:3 (Рисунок 33).



**Рисунок 33** – Амплификация *TERC* при ЭДНС СОПР методом FISH,  $\times 1000$

*При эпителиальной дисплазии высокой степени СОПР*

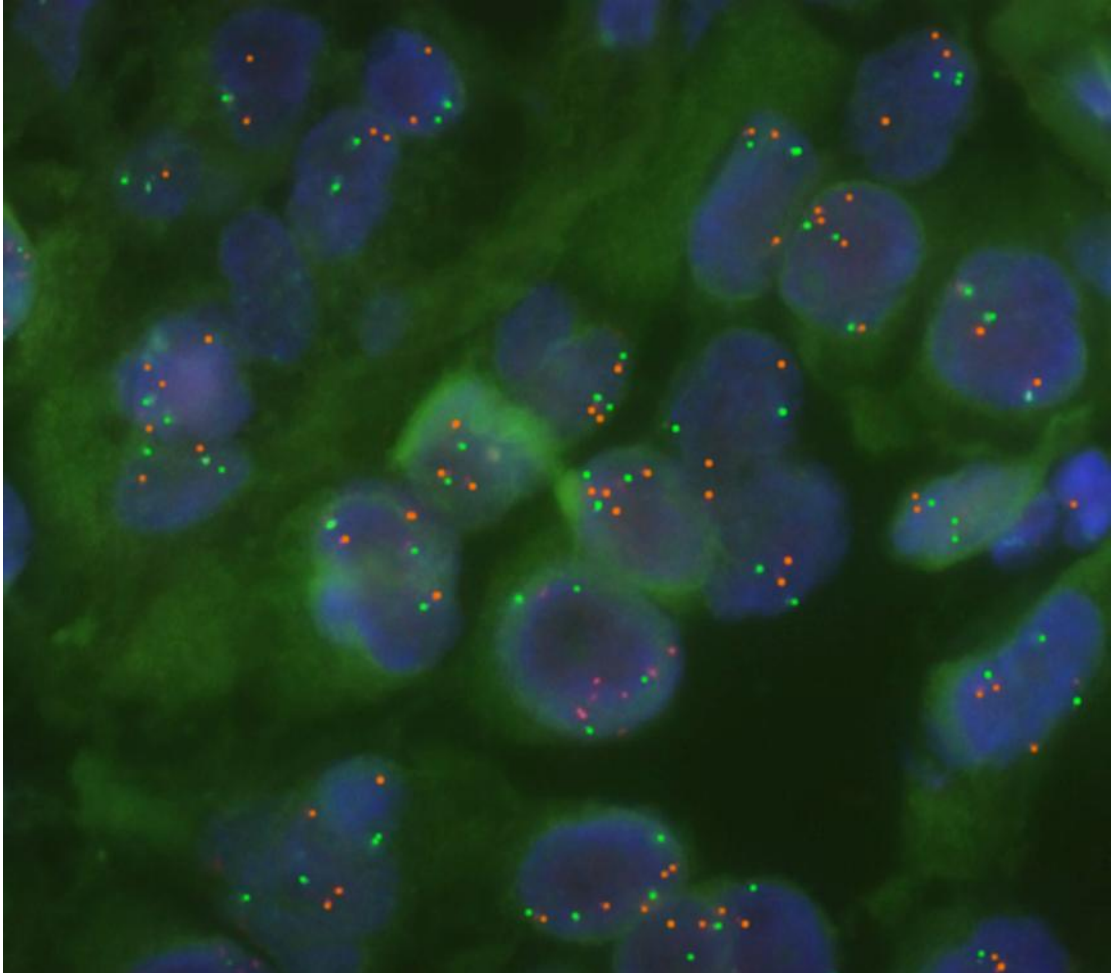
При исследовании ЭДВС СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2; 2:3; 2:4; 3:3 (Рисунок 34).



**Рисунок 34** – Амплификация *TERC* при ЭДВС СОПР методом FISH,  $\times 1000$

*При плоскоклеточном раке СОПР*

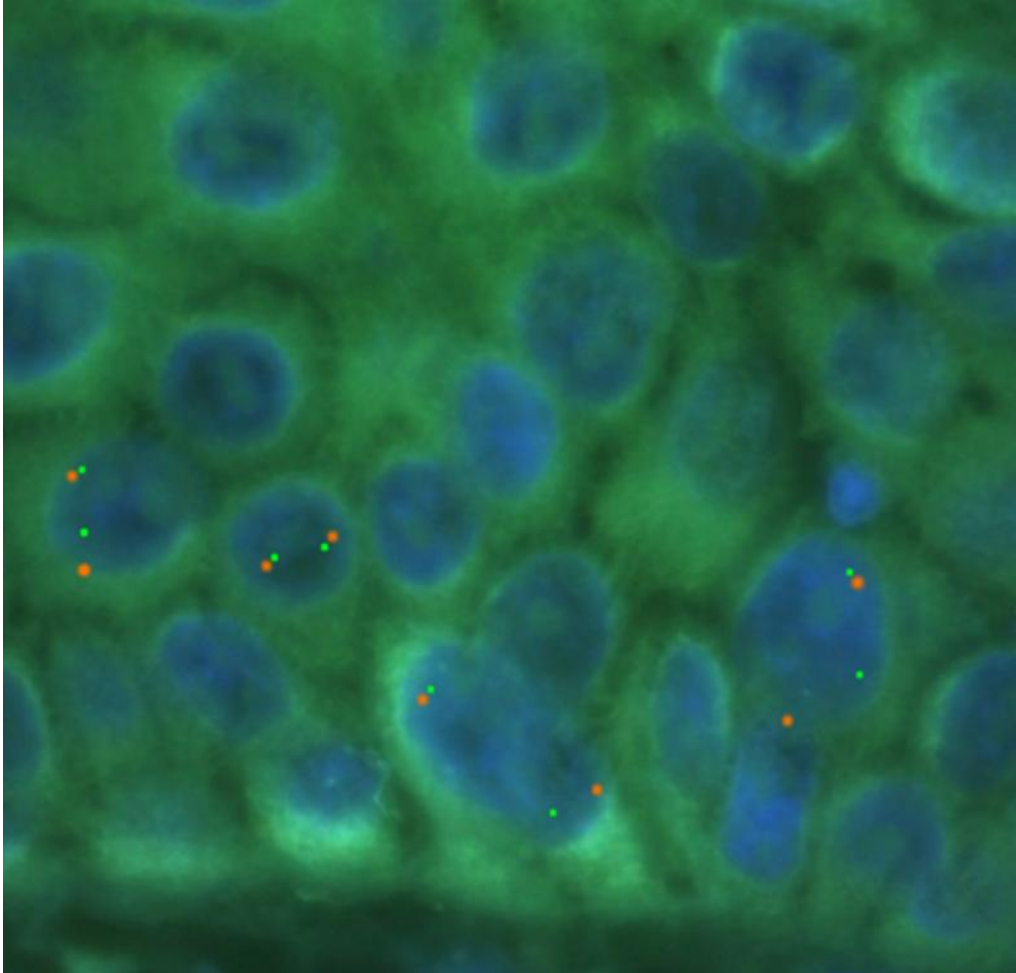
При исследовании ПР СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2; 2:3; 2:4; 3:3; 3:4; 4:4; 4:5 (Рисунок 35).



**Рисунок 35** – Амплификация *TERC* при ПР СОПР методом FISH,  $\times 1000$

*При веррукозной гиперплазии СОПР*

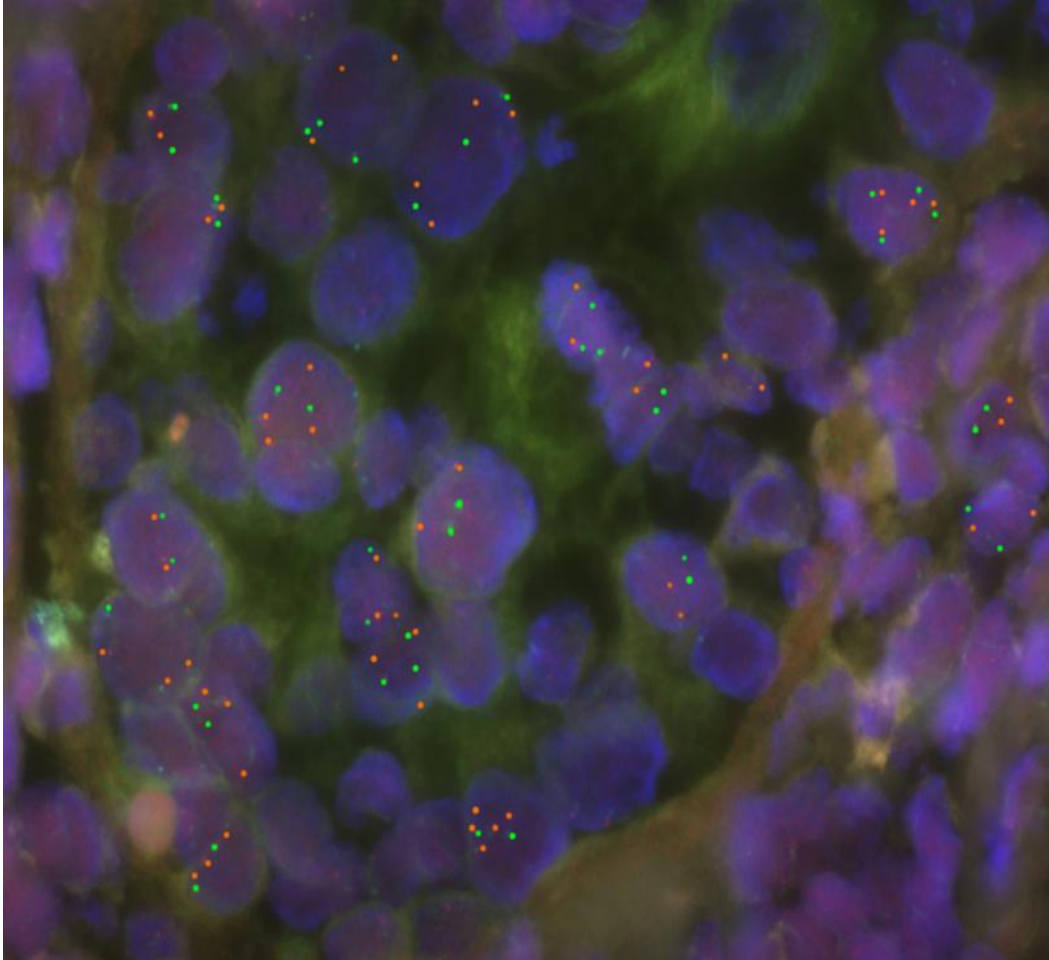
При исследовании ВГ СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2 и единично 2:3 (Рисунок 36).



**Рисунок 36** – Амплификация *TERC* при ВГ СОПР методом FISH,  $\times 1000$

*При веррукозной карциноме СОПР*

При исследовании ВК СОПР методом FISH по зонду *TERC* отмечались сигналы: 2:2; 2:3; 2:4; 3:3 (Рисунок 37).



**Рисунок 37** – Амплификация *TERC* при ВК СОПР методом FISH,  $\times 1000$

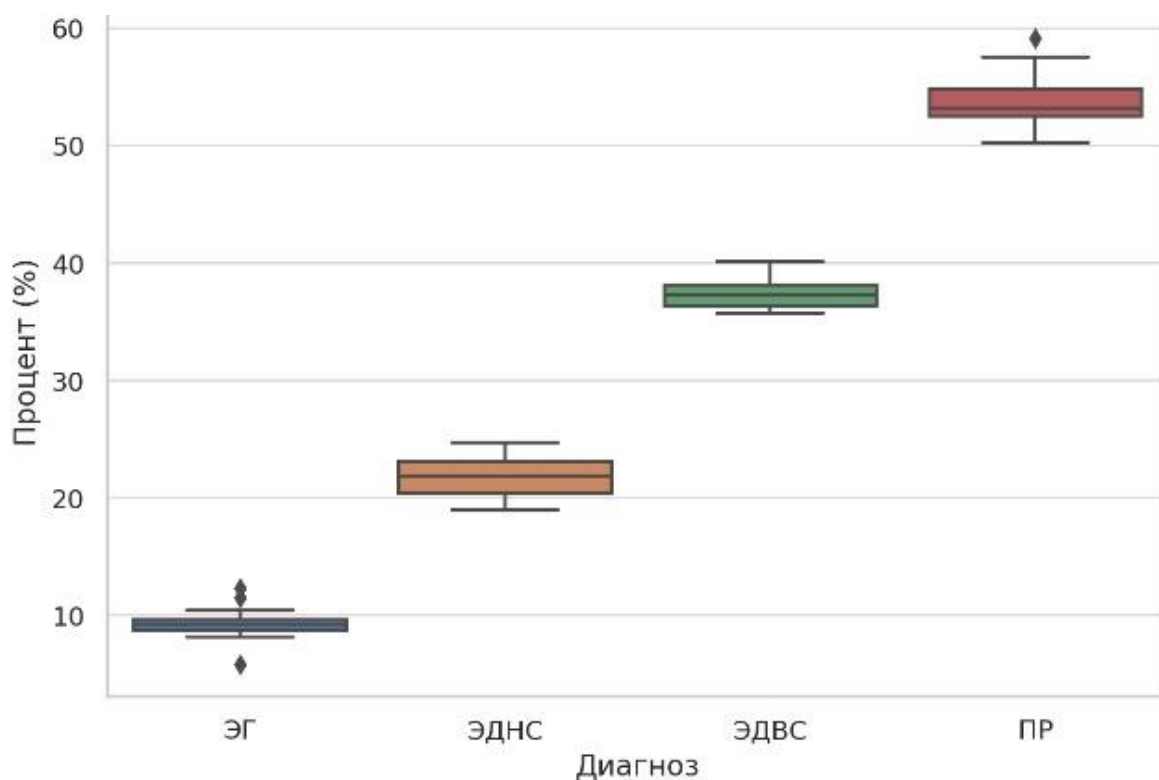
### 3.4 Статистический анализ полученных результатов

#### 3.4.1 Статистический анализ полученных результатов для ИГХ

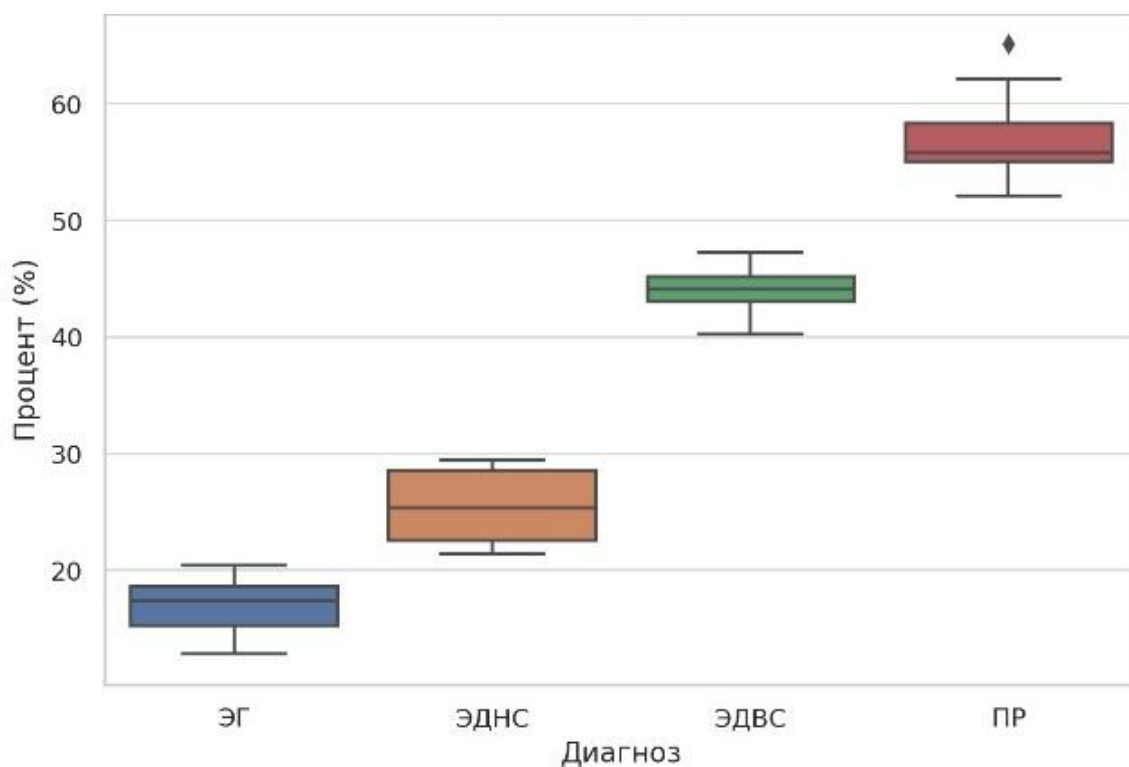
Дисперсионный анализ ANOVA по экспрессии белка Ki-67 маркеров в 1-й группе (ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР) показал статистически значимые различия между нозологиями ( $F=1892,03$ ;  $p=0,01$ ). Для маркера P53 (клон DO-7) также отмечены значимые различия ( $F=674,38$ ;  $p=0,01$ ), с последовательным увеличением экспрессии от ЭГ к ПР. Различия между всеми парами групп были статистически значимыми при  $p < 0,01$ . Экспрессия белка P53 (клон Y-5) была минимальной или отсутствовала при ЭГ и ЭДНС, однако резко возрастала при ЭДВС и особенно при ПР ( $F=1528,35$ ;  $p=0,01$ ). Это говорит о том, что выявление клона Y-5 ассоциировано с ЭДВС и злокачественным преобразованием клеток эпителия. Анализ экспрессии TERT также показал выраженное нарастание значений от ЭГ к ПР ( $F=1778,11$ ;  $p=0,01$ ).

Тест Тьюки показал, что все попарные сравнения между группами ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР для каждого маркера статистически значимы при  $p < 0,01$ . Установлено последовательное и достоверное увеличение уровней экспрессии Ki-67, P53 (клон DO-7) и TERT от ЭГ к ПР. Экспрессия белка P53 (клон Y-5) отсутствовала или была минимальной при ЭГ и ЭДНС, но резко возрастала от ЭДВС к ПР (Рисунок 38, 39, 40, 41, таблица 4).

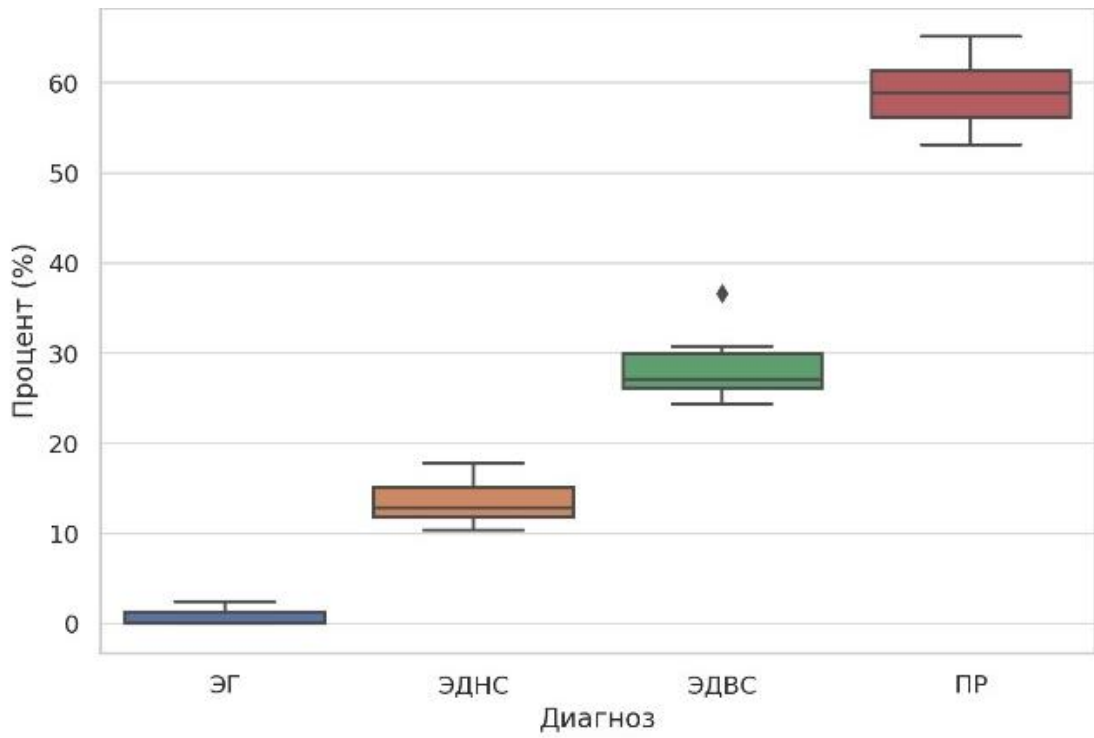
Таким образом, статистический анализ подтверждает наличие прогрессирующего увеличения экспрессии ключевых маркеров клеточной пролиферации, апоптоза и теломеразной обратной транскриптазы при переходе от ЭГ к ПР.



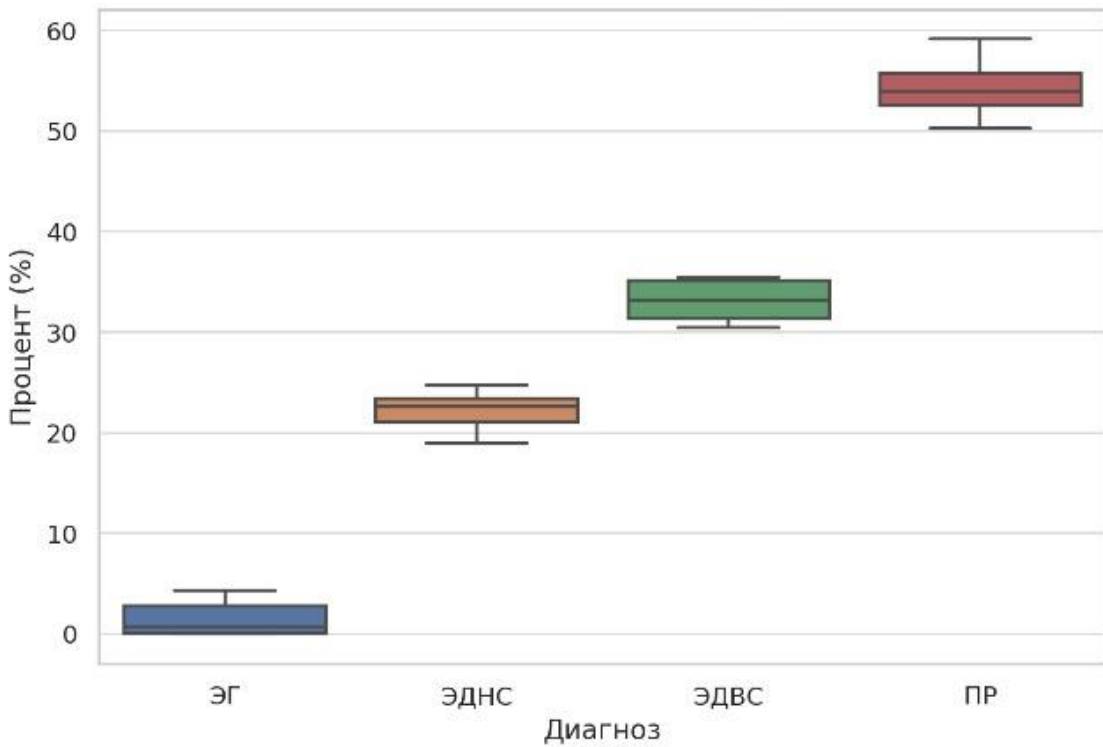
**Рисунок 38** – Распределение экспрессии маркера Ki-67 при ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР СОПР



**Рисунок 39** – Распределение экспрессии маркера P53 (клон DO-7) при ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР СОПР



**Рисунок 40** – Распределение экспрессии маркера P53 (клон Y-5) при ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР СОПР

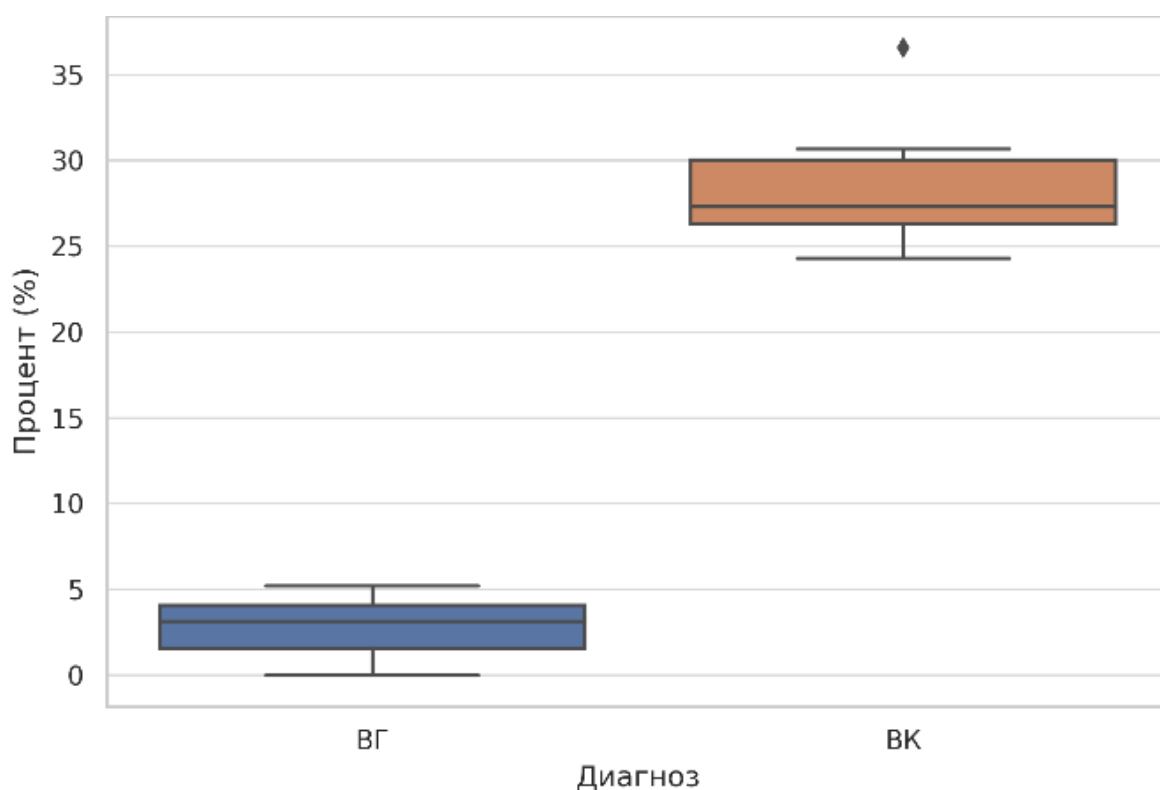


**Рисунок 41** – Распределение экспрессии TERT при ЭГ, ЭДНС, ЭДВС и ПР СОПР

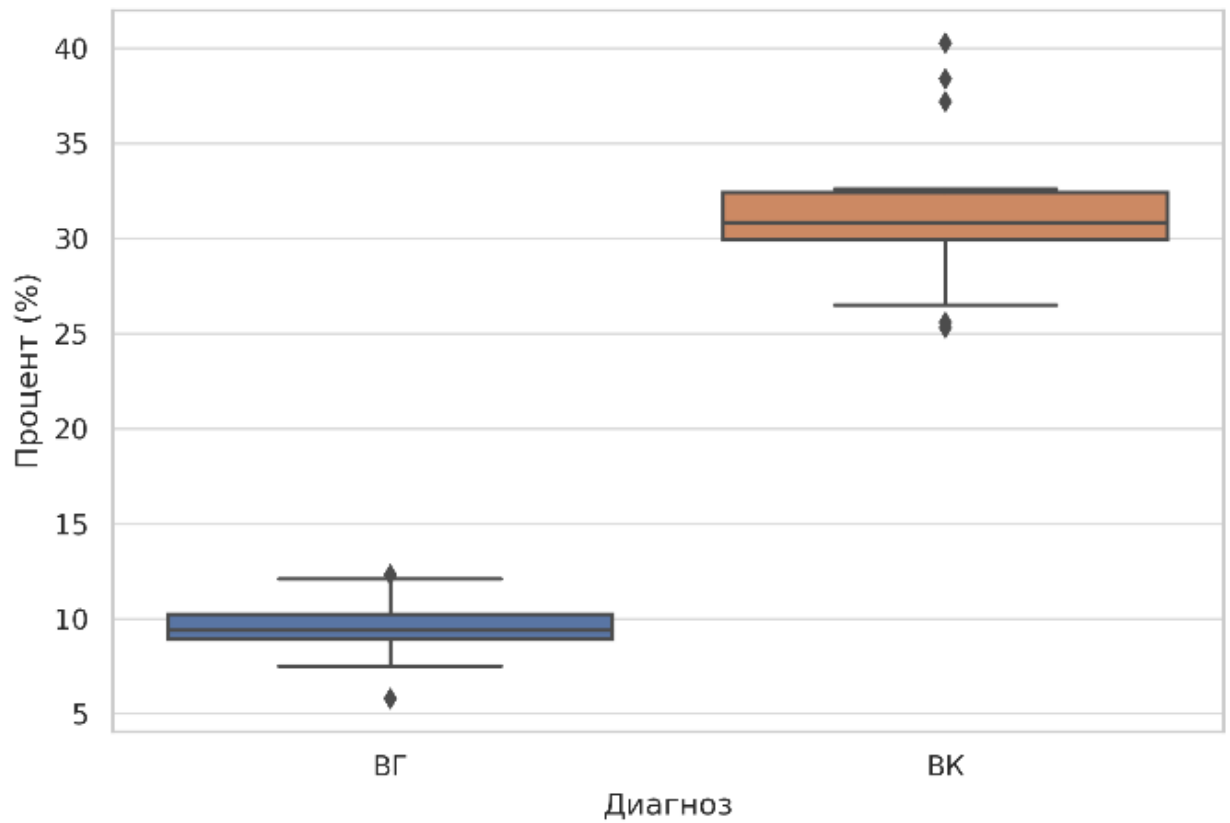
**Таблица 4** – Результаты анализа экспрессии маркеров Ki-67, P53 (клоны DO-7 и Y-5) и TERT при ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР СОПР при  $p < 0,01$

Маркер	Диагнозы	F	Особенности экспрессии	Статистические различия
Ki-67	ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР	1892,03	Увеличение от ЭГ к ПР	Статистически значимые различия между всеми парами
WTP53	ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР	674,38	Увеличение от ЭГ к ПР; минимальная или отсутствует при ЭГ и ЭДНС	
MTP53	ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР	1528,35	Минимальная или отсутствующая при ЭГ и ЭДНС; резко возрастает при ЭДВС и ПР	Увеличение с ЭДВС к ПР
TERT	ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР	1778,11	Наращение от ЭГ к ПР	Увеличение уровней экспрессии

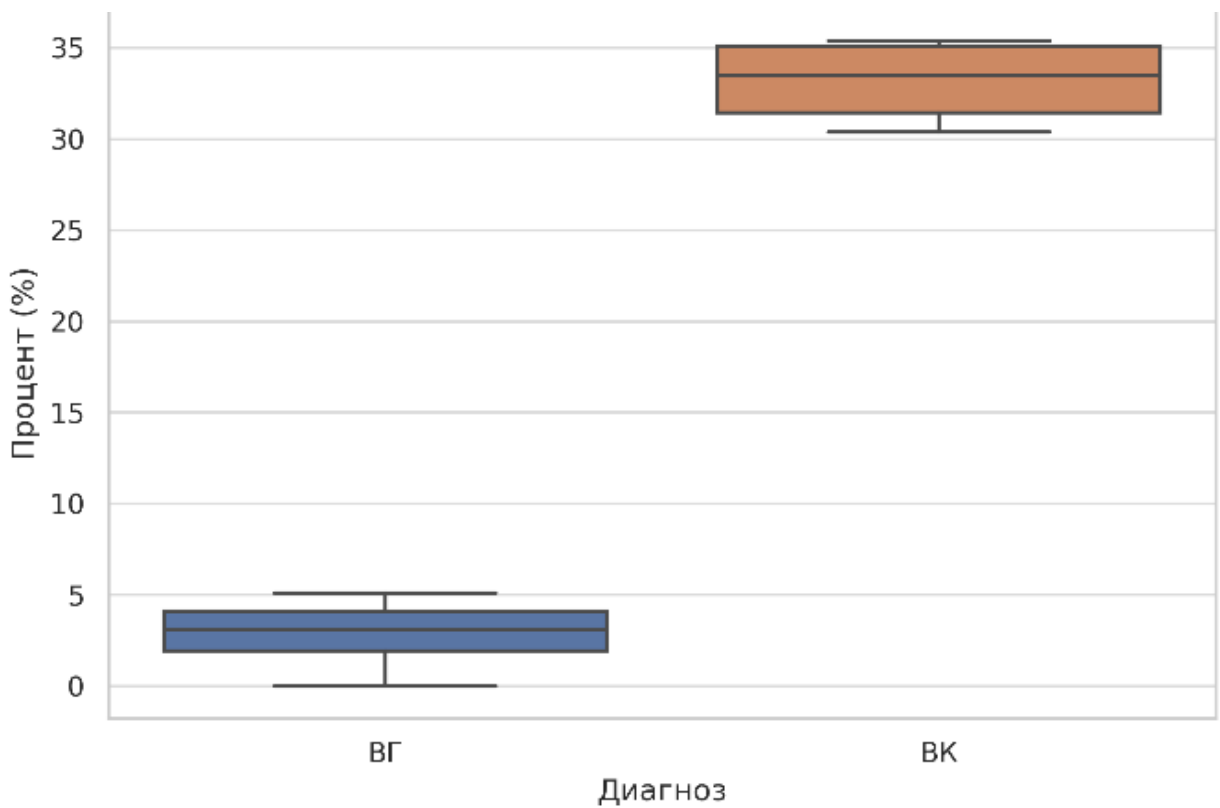
Результаты анализа показали наличие статистически значимых различий во 2-й группе (ВГ и ВК) по всем четырём маркерам при  $p < 0,01$ . Экспрессия маркеров Ki-67, P53 (клон DO-7) и TERT существенно выше при ВК, чем при ВГ. Экспрессия P53 (клон Y-5) вовсе отсутствует или проявляется как слабая при ВГ, при этом резко появляется и увеличивается при ВК (Рисунки 42, 43, 44, 45).



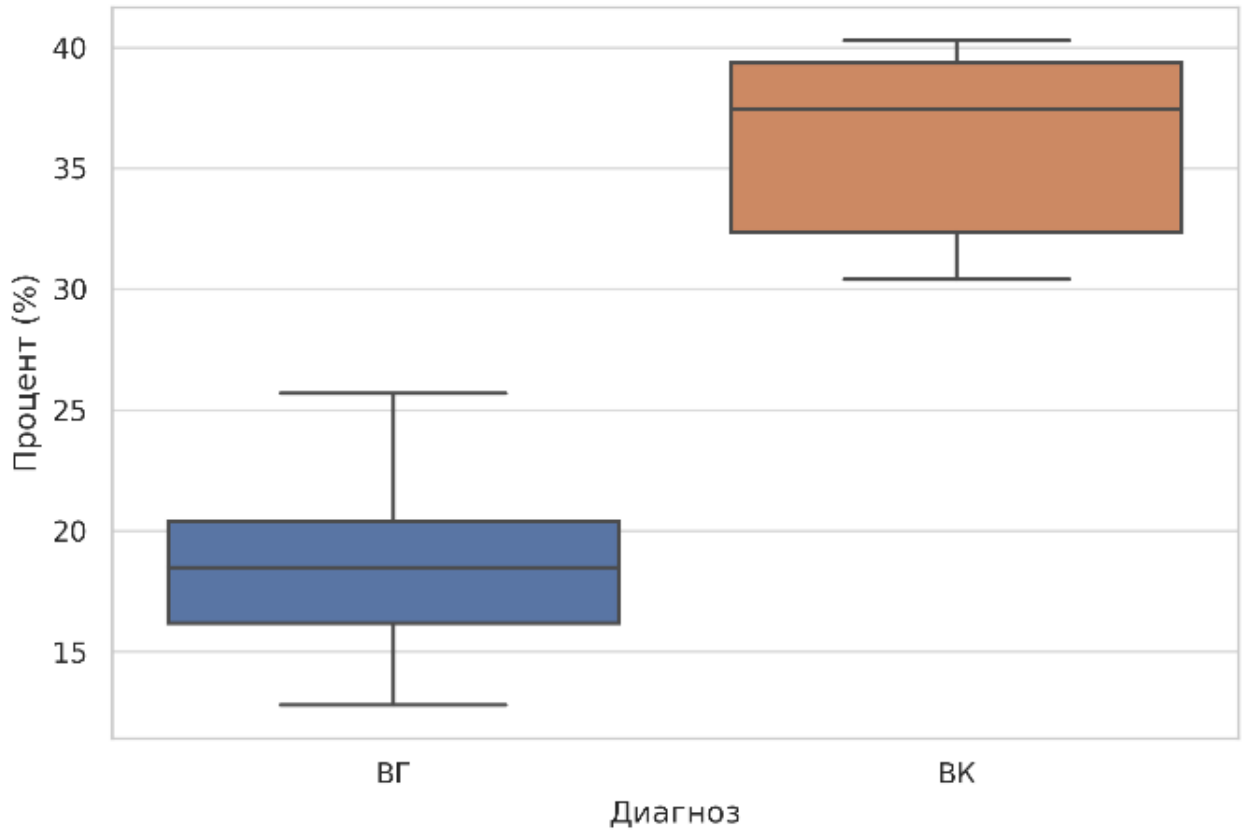
**Рисунок 42** – Распределение экспрессии маркера Ki-67 при ВГ и ВК СОПР



**Рисунок 43** – Распределение экспрессии маркера P53 (клон DO-7) при ВГ и ВК СОПР



**Рисунок 44** – Распределение экспрессии маркера P53 (клон Y-5) при ВГ и ВК СОПР



**Рисунок 45** – Распределение экспрессии TERT при ВГ и ВК СОПР

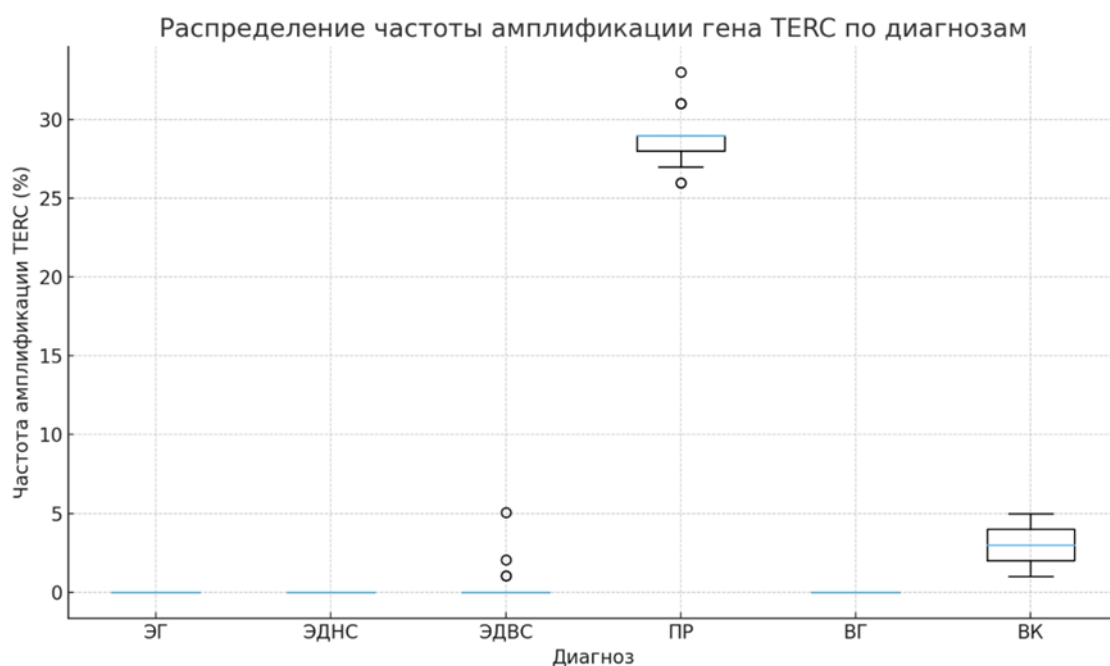
### 3.4.2 Анализ амплификации по зондам *TERC* и *CCP3*

#### Частота амплификации гена *TERC* по исследуемым диагнозам

Анализ частоты амплификации гена *TERC* выявил статистически значимые различия между диагнозами (ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР, ВГ и ВК) по критерию Краскела-Уоллиса,  $p < 0,05$ . Наиболее низкие значения отмечены при ЭГ и ЭДНС, где амплификация *TERC* либо полностью отсутствовала, либо регистрировалась лишь в единичных случаях (Me 0,0%). При ЭДВС доля ядер с амплификацией *TERC* увеличивалась, тогда как при ПР и ВК зафиксированы наиболее высокие показатели частоты амплификации *TERC*: медианные значения около 29% при ПР и 3% при ВК (таблица 5). Попарное сравнение диагнозов с использованием U-критерия Манна-Уитни показало статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) между ЭГ и ЭДНС, ЭГ и ЭДВС, а также между ПР и ВК, что отражает резкое нарастание амплификации *TERC* в ходе перехода от доброкачественных и диспластических изменений к ПР.

**Таблица 5** – Среднее число копий гена *TERC* и *CCP3* на ядро и соотношение *TERC/CCP3* при исследуемых диагнозах эпителия СОПР

Диагноз	<i>n</i> случаев	Доля ядер с амплификацией <i>TERC</i> , % Me [Q1; Q3]
ЭГ	15	0,0 [0,0; 0,0]; 0,0–0,0
ЭДНС	10	0,0 [0,0; 0,0]; 0,0–0,0
ЭДВС	27	0,0 [0,0; 0,0]; 0,0–5,1
ПР	20	29,0 [28,0; 29,0]; 26,0–33,0
ВГ	10	0,0 [0,0; 0,0]; 0,0–0,0
ВК	10	3,0 [2,0; 4,0]; 1,0–5,0



**Рисунок 46** – Частота амплификации гена *TERC* при исследуемых диагнозах ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР, ВГ и ВК

**Таблица 6** – Количественное соотношение сигналов *TERC/CCP3* в процентах при различных диагнозах эпителия СОПР

Диагноз	Количество случаев	2:2	2:3	2:4	3:3	3:4	4:4	4:5
ЭГ	15	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ЭДНС	10	83,9	17,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ЭДВС	27	6,4	25,9	30,1	22,2	15,2	0,0	0,0
ПР	20	10,2	11,3	3,1	18,5	25,4	24,6	6,9
ВГ	10	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ВК	10	12,4	19,2	47,7	11,5	9,2	0,0	0,0

Как видно из представленных данных в таблице 6, при ЭГ и ВГ во всех наблюдениях регистрировался только диплоидный вариант соотношения сигналов 2:2, что свидетельствует об отсутствии выраженной геномной нестабильности при данных поражениях.

Анализ соотношения сигналов *TERC/CCP3* показал, что при ЭДНС преобладал вариант 2:2 при наличии клеток с соотношением 2:3. При ЭДВС выявлялся более широкий спектр нарушений, включающий варианты 2:2, 2:3, 2:4, 3:3 и 3:4. При ВК также определялись варианты 2:2, 2:3, 2:4, 3:3 и 3:4, а при ПР регистрировались все исследованные варианты соотношения сигналов, включая

более сложные комбинации 4:4 и 4:5. Полученные данные свидетельствуют о прогрессирующем нарастании хромосомных нарушений по мере перехода от ЭД к ПР.

Распределение различных вариантов соотношения сигналов *TERC/CCP3*, полученное на основании результатов FISH-анализа, отражает совокупность цитогенетических нарушений, включая амплификацию гена *TERC* и изменения соотношения сигналов *TERC/CCP3*.

**Таблица 7** – Доля анеуплоидии по *CCP3* в структуре *TERC*-ассоциированных нарушений при различных диагнозах эпителия СОПР

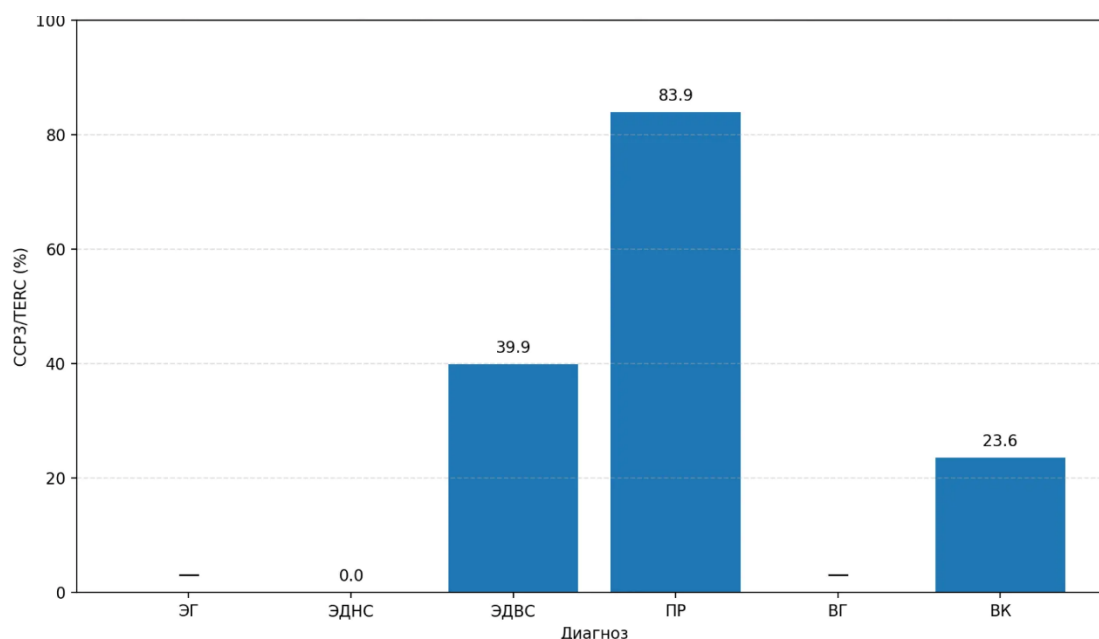
Диагноз	<i>TERC</i> , %	<i>CCP3</i> , %	<i>CCP3/TERC</i> , %
ЭГ	0,0	0,0	—
ЭДНС	17,1	0,0	0,0
ЭДВС	93,6	37,4	39,9
ПР	89,8	75,4	83,9
ВГ	0,0	0,0	—
ВК	87,6	20,7	23,6

**Примечание:** показатель *CCP3/TERC* (%) рассчитывали как отношение доли ядер с анеуплоидией по *CCP3* к доле ядер с *TERC*-ассоциированными нарушениями, выраженное в процентах. При отсутствии *TERC*-ассоциированных нарушений показатель не рассчитывался.

При ЭДНС суммарная доля ядер с отклонением от диплоидного варианта составила 17,1%, при ЭДВС — 93,6%, при ВК — 87,6%, а при ПР достигала 89,8%, что отражает нарастание геномных нарушений в процессе малигнизации эпителия СОПР.

Как видно из данных таблицы 7, удельный вес анеуплоидии по *CCP3* в структуре *TERC*-ассоциированных нарушений различался в зависимости от диагноза. При ЭДНС показатель *CCP3/TERC* составлял 0,0%, что указывает на отсутствие анеуплоидии по *CCP3*. При ЭДВС значение показателя возрастало до 39,9%, что свидетельствует о нарастании количественных хромосомных нарушений в клетках с амплификацией *TERC*. При ВК показатель составил 23,6%, отражая промежуточный характер геномной нестабильности. Максимальное

значение зарегистрировано при ПР — 83,9%, что указывает на значительное вовлечение анеуплоидии по *CCP3* в структуру геномных нарушений при злокачественной трансформации эпителиальных клеток (рисунок 47).



**Рисунок 47** – Показатели *CCP3/TERC* (%) при различных диагнозах эпителия СОПР

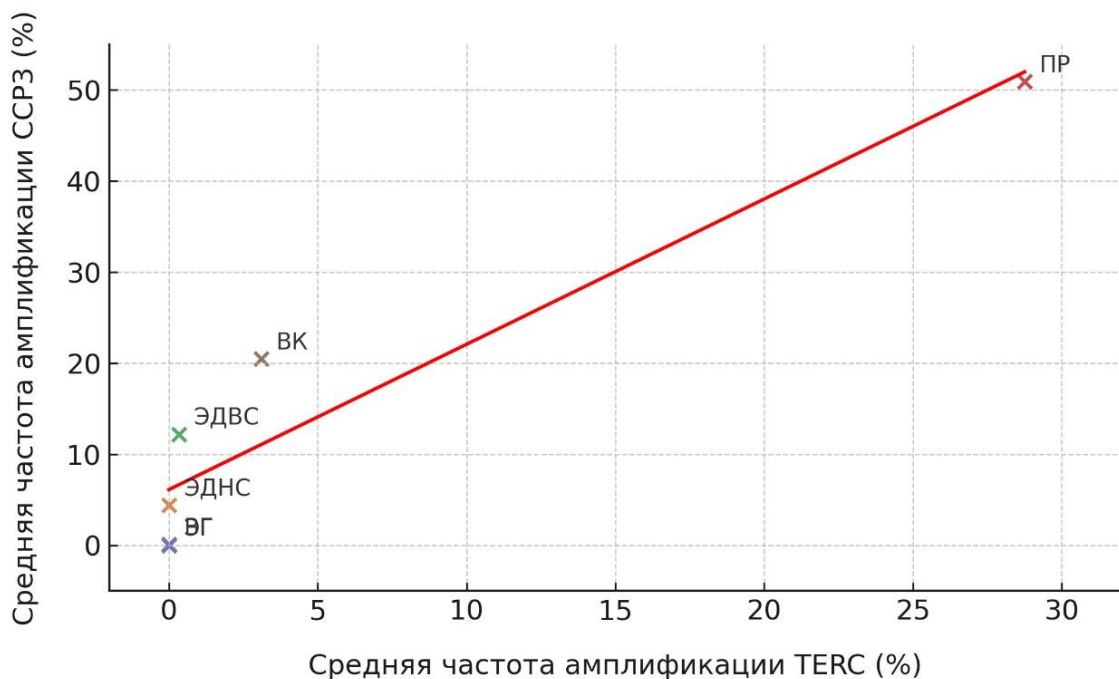
Следует отметить, что, несмотря на более высокий процент *TERC*-ассоциированных нарушений при ЭДВС по сравнению с ПР, при злокачественной трансформации происходит не столько увеличение их доли, сколько качественное усложнение геномной нестабильности, сопровождающееся значительным ростом вклада анеуплоидии по *CCP3*.

Для количественной оценки анеуплоидии по *CCP3* был проведён анализ доли ядер с  $CCP3 > 2$ . Статистический анализ проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса с последующим попарным сравнением по критерию Манна-Уитни с поправкой на множественные сравнения (метод Бонферрони). Установлены статистически значимые различия между исследуемыми группами ( $p < 0,001$ ). Минимальные значения доли анеуплоидных ядер отмечены при ЭГ и ВГ (Me 0,0%), при ЭДНС медиана составила 4,0% [3,0; 5,0], при ЭДВС — 12,2% [6,6; 16,0], при ВК — 20,5% [13,5; 26,5], а максимальные значения зарегистрированы при ПР — 51,5% [49,0; 52,0], что отражает выраженную геномную нестабильность при злокачественной трансформации. Попарный анализ показал отсутствие

статистически значимых различий между ЭГ и ВГ ( $p > 0,05$ ), тогда как между большинством остальных групп различия были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ). Различия между ЭДВС и ВК носили пограничный характер ( $p \approx 0,07$ ).

### Взаимосвязь между амплификацией *TERC* и *CCP3*

Для оценки связи между амплификацией гена *TERC* и анеуплоидией *CCP3* был рассчитан коэффициент ранговой корреляции Спирмена на основании средних значений частоты амплификации между диагнозами ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР, ВГ и ВК. Получено значение  $r = 1,0$  при  $p = 0,01$ , что свидетельствует о наличии выраженной положительной корреляции между *TERC* и *CCP3* (Рисунок 48). По мере увеличения частоты анеуплоидии *CCP3* в исследуемых нозологиях параллельно возрастает и частота амплификации *TERC*, что отражает согласованное вовлечение локуса *TERC* и третьей хромосомы в процесс опухолевой трансформации эпителия СОПР.



**Рисунок 48** – Корреляционный график между средней амплификацией гена *TERC* и *CCP3* по исследуемым диагнозам ЭГ, ЭДНС, ЭДВС, ПР, ВГ и ВК

#### Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящей работе было проведено комплексное исследование ключевых звеньев канцерогенеза СОПР при помощи анализа панели маркеров, отражающих различные этапы и механизмы малигнизации. Были проанализированы показатели пролиферации клеток эпителия с помощью маркера Ki-67, что позволило оценить активизацию клеточного деления и выявить участки повышенной пролиферации. Нарушения механизмов апоптоза и контроля клеточного цикла исследовались с помощью анализа белка P53 (клонов DO-7 и Y-5), которые играют важную роль в регуляции апоптоза и остановке деления при повреждении ДНК. Активация TERT рассматривалась как фактор, способствующий бесконечному делению клеток и их дальнейшему злокачественному росту. Также было проведено исследование накопления геномной нестабильности, в частности амплификации гена *TERC*, что свидетельствует о нарушениях в структуре и функции генома, способствующих прогрессии опухоли.

В результате проведённого исследования была выявлена пролиферация клеток по белку Ki-67 в ядрах эпителиальных клеток при всех исследуемых диагнозах. Были получены данные о последовательном и статистически значимом росте уровня пролиферации. Полученные результаты также согласуются с проведёнными ранее исследованиями [Kim S.H. et al., 2015; Davidson M.A. et al., 2017; Lalkota V.P. et al., 2023].

В нашем исследовании при ЭГ и ВГ пролиферирующие клетки локализовались преимущественно в ростковом и шиповатом слоях, что характерно для физиологической регенерации или реактивного ответа клеток на внешнее повреждение (химическая, термическая, механическая травмы) [Regezi J.A. et al., 2016]. Тогда как при ЭДВС и ВК иммунопозитивные клетки по белку Ki-67 распространялись на среднюю и верхнюю трети толщины эпителиального пласта. Этот результат, подтверждён и другими исследователями [Kim S.H. et al., 2015; Davidson M.A. et al., 2017]. Однако сама по себе высокая пролиферация не является синонимом неоплазии. В генетически стабильных (здоровых) клетках существуют мощные механизмы, сдерживающие деление клеток с повреждённой ДНК,

основным маркером этих процессов является белок-супрессор P53 и его основной задачей является регуляция клеточного цикла, остановка деления клеток при повреждении ДНК, запуск апоптоза и поддержание геномной стабильности, что как правило предотвращает развитие опухолевой трансформации [Levine A.J. et al., 2020; Vousden K.N. et al., 2007; Bourdon J.C., 2007; Vousden K.N. et al., 2009].

В нашей работе мы дифференцированно подходили к оценке белка P53 (клоны DO-7 и Y-5). Было установлено, что экспрессия клона DO-7, который выявляет одновременно «дикий» и «мутантный» типы белка P53, достоверно нарастает от ЭГ к ЭДВС и от ВГ к ВК. Повышение экспрессии данного клона отражает активность защитных механизмов, однако при прогрессировании злокачественного процесса эти механизмы могут быть подавлены или недостаточны для предотвращения опухолевого роста [Soussi T. et al., 2015; Kasthuber E.R. et al., 2017]. По данным некоторых авторов увеличение экспрессии клона DO-7 не всегда означает функциональную активность P53 [Petitjean A. et al., 2007; Khoury M.P. et al., 2011; Kandath C. et al., 2013].

Ряд учёных считает, что экспрессия клона Y-5 белка P53 является ранним событием в канцерогенезе СОПР и нарастает по мере увеличения степени тяжести ЭД [Humayun S. et al., 2011; Raj S. et al., 2022; Zdrojewski J. et al., 2024]. Данное утверждение подтверждено исследованием. Как показали наши результаты, ключевым событием является появление экспрессии клона Y-5 белка P53. Экспрессия по данному белку проявлялась при ЭДВС и резко увеличивалась к ПР. Это свидетельствует об инактивации гена-супрессора *TP53*, что служит одним из центральных событий в канцерогенезе [Hollstein M. et al., 1991; Zhou G. et al., 2016; Binayke A. et al., 2019; Ivina A.A. et al., 2025].

Таким образом, если умеренная экспрессия клона DO-7 на ранних стадиях может отражать физиологический стресс-ответ, то появление экспрессии белка клона Y-5 является маркером необратимых генетических поломок и формирования клеток с высоким злокачественным потенциалом. Этот вывод подтверждает данные о том, что появление экспрессии клона Y-5 белка P53 является неблагоприятным прогностическим признаком при ранней диагностике ПР СОПР. Ранее также было

проведено исследование мутаций гена *TP53* и накопление «мутантного» типа белка P53 при диагностике рака матки и гортани [Ramos-García P. et al., 2022; Novack R. et al., 2023; Ko Y.C.K. et al., 2024; Caponio V.C.A. et al., 2024; Li W. et al., 2023].

Для обеспечения непрерывной пролиферации клеткам требуется фактор, который позволит им делиться без ограничений. Согласно данным Liu M. и соавт., (2024) и Noureen N. и соавт., (2021), в большинстве случаев это достигается за счёт реактивации TERT. Данный процесс ранее был описан и при исследовании по заболеваниям пищевода и желудка [Куо S. et al., 2002; Hiyama E. et al., 2003; Tahara H. et al., 1997]. Результаты нашего исследования полностью коррелируют с результатами этих авторов, а именно экспрессия TERT проявляется очень слабо при ЭГ и ВГ. Далее появление TERT последовательно и достоверно увеличивается по мере появления ЭД и достигает максимума при ПР и ВК [Ивина А.А. и др., 2023].

Можно отдельно подчеркнуть, что процесс активации TERT тесно связан с высокой пролиферацией клеток, а также с инактивацией и мутациями гена *TP53*. Согласно данным Ramlee M.K. и соавт., (2016), высокая пролиферация возможна только при наличии активной TERT. В то же время, по данным Tutton S. и соавт., (2016), в здоровых клетках инактивация гена *TP53* должна подавлять активность TERT. Однако происходит нарушение этого процесса, что способствует активации TERT и дальнейшему росту клеток за счёт их бесконтрольного деления [Ивина А.А. и др., 2023].

Высокая пролиферативная активность по белку Ki-67 свидетельствует о постоянном делении клеток. Для поддержания такого режима TERT должна быть активна, чтобы предотвратить достижение клетками лимита Хейфлика (теоретическая граница, которая определяет максимальное количество клеточных делений). Таким образом, наличие активной TERT является необходимым условием для поддержания устойчивой высокой пролиферации клеток эпителия [Chen R.J. et al., 2017].

Появление «мутантного» типа белка P53 (клон Y-5) способствует реактивации гена *TERC* [Tutton S. et al., 2016; Chen R.J. et al., 2017; Liu M. et

al.,2024]. Таким образом, активация TERT является не изолированным событием, а логичным следствием нарушения контроля клеточного цикла и апоптоза.

При детальном исследовании экспрессии выбранных маркеров при ВК, в отличие от ВГ, наблюдается резкое, скачкообразное увеличение их экспрессии. Исследование профиля экспрессии ВГ схож с ЭГ или ЭДНС, а именно: в умеренной пролиферации, минимальной экспрессии по клону Y-5 и уровню активности TERT, а при ВК уровень экспрессии приближался к профилю ЭДВС и ПР. Это свидетельствует о том, что, несмотря на «спокойную» морфологическую картину, эпителиальные клетки при ВК обладают высоким пролиферативным потенциалом, нарушенными механизмами апоптоза и высокой активностью TERT. Появление выраженной экспрессии P53 по клону Y-5 при ВК является особенно важным дифференциально-диагностическим признаком, указывающим на наличие мутации в гене *TP53*, что характеризует злокачественную природу процесса [Тигай Ю.О. и др., 2025].

Накопление генетических ошибок, которое возможно после увеличенной пролиферации генетически изменённых клеток и активации TERT, вследствие инактивации белка P53, приводит к геномной нестабильности клеток.

В нашей работе этот процесс оценивался с помощью FISH-анализа гена *TERC*, который локализуется в локусе 3q26. Амплификация данного гена является относительно ранним событием и может быть зафиксировано уже при ЭДНС. При исследовании и сравнении амплификации гена *TERC* отмечается увеличение сигналов при ЭДВС и ПР. Это подтверждает данные о том, что амплификация плеча 3q является одним из пусковых механизмов в развитии ПР и детекция этого события может служить индикатором высокого риска даже при минимальных морфологических изменениях [Rosin M.P. et al., 2000; Garnis C. et al., 2009; Cao Y. et al., 2008]. Ранее метод FISH показал высокую чувствительность и специфичность в исследовании раковых и предраковых заболеваний эпителия желудка, матки и гортани [Heselmeyer-Haddad K. et al., 2005; Zheng L. et al., 2010; Liu Y. et al., 2012].

При исследовании методом FISH важным результатом нашего исследования стало выявление разных механизмов нестабильности в гене *TERC*. Для основного

пути малигнизации эпителия через ЭД к ПР была характерна сильная корреляция между амплификацией *TERC* и анеупloidией по зонду *CCP3*, что свидетельствует о преобладании анеупloidии. В то же время, для ВК была характерна амплификация *TERC* при нормальном числе копий *CCP3*. Отсутствие анеупloidии по *CCP3* при наличии амплификации *TERC* является отличительным признаком ВГ от ВК, что может быть использовано для их дифференциальной диагностики, так как эти результаты указывают на фокальную амплификацию гена *TERC*, что может объяснять менее агрессивное течение ВК..

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведённое нами исследование показало, что ни один из маркеров не является самодостаточным, но их комплексная оценка позволяет создать целостную картину патологического процесса. Нарастание экспрессии белка Ki-67 и TERT является пусковым фактором, способствующий прогрессированию опухолевого процесса. При этом экспрессия клона DO-7 отражает попытку клетки этому противостоять, а появление экспрессии клона Y-5 указывает на полное выключение защитных механизмов клетки. Патологическая амплификация гена *TERC* характеризует наличие геномных мутаций, что способствует активации TERT, тем самым поддерживает бесконечное деление опухолевых клеток.

Совокупность этих данных позволяет с высокой степенью достоверности отличить доброкачественные гиперпластические процессы (ЭГ и ВГ), предраковые состояния низкого (ЭДНС) и высокого риска (ЭДВС и ВК) от собственно ПР, что легло в основу разработанных нами диагностических критериев.

## ВЫВОДЫ

1. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67 и белка теломеразной обратной транскриптазы TERT увеличивается от ЭГ к ПР ( $p < 0,01$ ). Отмечается достоверная корреляция экспрессии белка Ki-67 и TERT при ЭГ, ЭД и ПР СОПР.

2. При сравнительной оценке экспрессии различных клонов белка P53, иммуноположительные клетки по клону DO-7 определяются на всех этапах малигнизации от ЭГ к ПР. Экспрессия белка P53 (клон Y-5) выявляется при ЭДВС и ПР, что позволяет использовать данный клон как маркер ранней малигнизации эпителия СОПР.

3. Частота аномальной амплификации гена *TERC* по зонду (LSP *TERC*) увеличивается от ЭДНС к ПР ( $p < 0,05$ ), а по зонду, который отвечает за количество хромосомы (*CCP3*), увеличивается только при ПР ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о появлении анеуплоидии и является достоверным маркером для диагностики малигнизации эпителия.

4. Экспрессия белков Ki-67, TERT и P53 (клон DO-7) демонстрирует увеличение количества иммуноположительных ядер от ВГ к ВК ( $p < 0,01$ ). Экспрессия белков P53 (клон Y-5), TERT и амплификация гена *TERC* появляется только при ВК ( $p < 0,05$ ), по данному критерию, ВК сопоставима с ЭДВС.

5. Для ранней диагностики малигнизации эпителия СОПР на этапе ЭДВС и ВК, оптимальной панелью маркеров является: Ki-67, P53 (клон Y-5), TERT и амплификация гена *TERC* методом FISH.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании результатов, полученных в ходе диссертационного исследования, для повышения точности диагностики и стратификации риска малигнизации эпителия СОПР в клиническую практику врача-патологоанатома предлагаются следующие рекомендации:

1. В сложных диагностических случаях, при наличии ЭД или при трудностях в дифференциальной диагностике между реактивными изменениями и истинной неоплазией, рекомендуется использовать стандартное гистологическое и ИГХ исследование с применением панели маркеров: Ki-67, P53 (клон Y-5) и TERT.

2. Выявление экспрессии клона Y-5 белка P53 в клетках эпителия СОПР следует расценивать как молекулярный признак высокого риска злокачественной трансформации, что подтверждает такие диагнозы как: ЭДВС, ВК и ПР.

3. Обнаружение амплификации *TERC* при ЭДНС указывает на повышенный риск дальнейшей прогрессии и требует более активного динамического наблюдения.

4. Амплификация гена *TERC* является ключевой для дифференциальной диагностики веррукозных поражений, так как амплификация *TERC* характерна для ВК. Обнаружение только (оранжевого сигнала) без анеуплоидии по зонду *CCP3* (зелёный сигнал) является дифференциальной диагностикой между ВГ и ВК.

5. При диагностике ЭДВС и ВК рекомендована панель из следующих маркеров: Ki-67, P53 (клон Y-5), TERT и амплификация гена *TERC*.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ВГ – веррукозная гиперплазия

ВК – веррукозная карцинома

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ИГХ – иммуногистохимия

КПЛ – красный плоский лишай

ПР – плоскоклеточный рак

СОПР – слизистая оболочка полости рта

ЭГ – эпителиальная гиперплазия

ЭД – эпителиальная дисплазия

ЭДВС – эпителиальная дисплазия высокой степени

ЭДНС – эпителиальная дисплазия низкой степени

ЭДСС – эпителиальная дисплазия средней степени

ССР3 – центромерный контрольный зонд 3

FISH – fluorescence *in situ* hybridization (флюоресцентная гибридизация *in situ*)

Ki-67 – ядерный белок пролиферации

P53 – ядерный белок P53

TERC – telomerase RNA component (теломеразный РНК компонент)

TERT - telomerase reverse transcriptase (теломеразная обратная транскриптаза)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алекперов Р. Т. Подслизистый фиброз полости рта // Научно-практическая ревматология. – 2011. – Т. 49, № 6. – С. 75–77. – DOI: 10.14412/1995–4484-2011-525.
2. Байрамова Г.Р., Баранов И. И., Ежова Л. С., Трофимов Д. Ю., Припутневич Т.В., Амирханян А.С., Старинская А.М. Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки: возможности ранней диагностики и тактики ведения пациенток // Доктор.Ру. – 2019. - №11. – С.166
3. Боровский Е.В., Машкиллейсон А.Л. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ. – М.: Медицина, 2001. – 320 с.
4. Жуйкова Л. Д., Кононова Г. А., Ананина О.А., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е. В., Колегова Е. С., Жуйкова А. С. Эпидемиология рака полости рта у мужчин и женщин в Сибирском федеральном округе //Профилактическая медицина. 2024. – Т.27 №11. – С. 46–53. <https://doi.org/10.17116/profmed20242711146>
5. Ивина А.А., Родионов В. Э., Бабиченко И.И. Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта // Архив патологии. – 2020. – Т. 82, № 4. – С. 79–83
6. Ивина А.А., Семкин В.А., Рабинович О. Ф., Бабиченко И.И. К вопросу о злокачественном потенциале пролиферирующей веррукозной лейкоплакии // Архив патологии. – 2020. – Т. 82, № 3. – С. 13–17.
7. Ивина А.А., Тигай Ю.О., Рабинович О. Ф., Горячев В. А., Фамилья Фриас Д.Р., Бабиченко И.И. Молекулярно-генетические критерии малигнизации эпителия слизистой оболочки рта // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 23–31. – DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.23-31.
8. Ивина А.А., Тигай Ю.О., Рабинович О. Ф., Рабинович И. М., Бабиченко И.И. Особенности молекулярно-генетической диагностики веррукозной лейкоплакии // Стоматология. – 2023. – Т. 102, № 4. – С. 6–10. – DOI: 10.17116/stomat20231020416.
9. Керимханов К.А., Иорданишвили А.К., Баринов Е. Х., Мальцев А.Е. Поздняя диагностика рака слизистой оболочки дна полости рта // Вятский медицинский вестник. – 2025. – № 3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pozdnyaya-diagnostika-raka-slizistoy-obolochki-dna-polosti-rta> (дата обращения: 09.10.2025).
10. Межевикина Г.С., Глухова Е. А. Современные методы диагностики предраковых и раковых изменений слизистой оболочки рта // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2018. – Т. 6, № 4. – С. 600–606.
11. Рабинович О. Ф., Рабинович И. М., Бабиченко И.И., Семкин В.А., Умарова К. В., Шиндич О.И. Оптимизация диагностики предраковых заболеваний слизистой оболочки рта и красной каймы губ (абразивный преинвазивный хейлит

Манганотти и эритроплакия) // Стоматология. – 2021. – Т. 100, № 6–2. – С. 16–21. – DOI: 10.17116/stomat202110006216.

12. Рутковская А. С. Клинические и морфологические проявления плоского лишая слизистой оболочки рта // Современная стоматология. – 2013. – № 1 (56). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskie-i-morfologicheskie-proyavleniya-ploskogo-lishaya-slizistoy-obolochki-rta> (дата обращения: 09.10.2025).

13. Рыхлевич А.А., Сандаков Я.П. Злокачественные и потенциально злокачественные заболевания полости рта, проблемы и методы их обнаружения (обзор) // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2021. – № 9–10. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zlokachestvennye-i-potentsialno-zlokachestvennye-zabolevaniya-polosti-rta-problemy-i-metody-ih-obnaruzheniya-obzor> (дата обращения: 09.10.2025).

14. Салагай О.О., Антонов Н. С., Сахарова Г. М. Анализ тенденций в потреблении табачных и никотинсодержащих изделий в Российской Федерации по результатам онлайн-опросов 2019–2023 гг. // Профилактическая медицина. – 2023. – Т. 26, № 5. – С. 7–16. – DOI: 10.17116/profmed2023260517.

15. Семченко И. М., Макарова О. В., Пронорович О.Н. Предраковые поражения полости рта // Современная стоматология. – 2021. – № 4 (85). – С. 25–30. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/predrakovye-porazheniya-polosti-rta> (дата обращения: 09.10.2025).

16. Тигай Ю.О., Ивина А.А., Бабиченко И.И., Рабинович О. Ф., Рабинович И. М., Фамилья Фриас Д.Р. Изучение продукции белков Ki67 и p53 при развитии веррукозной карциномы // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2025. – Т. 14, № 3. – С. 42–48. – DOI: 10.31088/CEM2025.14.3.42-48.

17. Чистенко Г.Н., Терехова Т. Н., Иконникова А. В., Джураева Ш. Ф., Колчанов В.М. Структура и ранние клинические особенности злокачественных новообразований полости рта // Современная стоматология. – 2020. – № 1 (78). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/struktura-i-rannie-klinicheskie-osobennosti-zlokachestvennyh-novoobrazovaniy-polosti-rta> (дата обращения: 09.10.2025).

18. Шоркина К.Ю., Рыжов А. С., Михайлов Е. М. Особенности метастазирования плоскоклеточного рака слизистой полости рта // Парадигма. – 2025. – № 10–2. – С. 17–22.

19. Юй Р.И., Ергазина М.Ж. Влияние табакокурения на цитогамму эпителия слизистой оболочки полости рта // Евразийский Союз Ученых. – 2016. – № 29-1. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-tabakokureniya-na-tsitogrammu-epiteliya-slizistoy-obolochki-polosti-rta> (дата обращения: 09.10.2025).

20. Ackerman L.V. Verrucous carcinoma of the oral cavity // *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. – 1948. – Vol. 86. – P. 573–578.
21. Aebersold R., Mann M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function // *Nature*. – 2016. – Vol. 537, № 7620. – P. 347–355. – DOI: 10.1038/nature19949.
22. Alajaji S., Wu W., Yousef N., Molloy E.K., Nguyen J., Sultan A. Spatial transcriptomic characterization of proliferative leukoplakia // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2025. – Vol. 140, № 3. – P. e110. – DOI: 10.1016/j.oooo.2025.04.133.
23. Al-Azzawi H.M.A., Hamza S.A., Paolini R., Lim M., Patini R., Celentano A. PD-L1/PD-1 Expression in the Treatment of Oral Squamous Cell Carcinoma and Oral Potentially Malignant Disorders: An Overview of Reviews // *Journal of Personalized Medicine*. – 2025. – Vol. 15, № 4. – Art. 126. – DOI: 10.3390/jpm15040126.
24. Alberts B., Johnson A., Lewis J. [et al.]. *Molecular Biology of the Cell*. – 6th ed. – New York: Garland Science, 2014. – 1464 p.
25. Alidousty C., Duerbaum N., Wagener-Rydzek S. [et al.]. Prevalence and potential biological role of TERT amplifications in ALK translocated adenocarcinoma of the lung // *Histopathology*. – 2021. – Vol. 78, № 4. – P. 578–585. – DOI: 10.1111/his.14256.
26. Angadi P.V., Krishnapillai R. Cyclin D1 expression in oral squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma: correlation with histological differentiation // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. – 2007. – Vol. 103, № 3. – P. e30–e35. – DOI: 10.1016/j.tripleo.2006.09.011.
27. Arduino P.G., Surace A., Carbone M., Elia A., Massolini G., Gandolfo S., Broccoletti R. Outcome of oral dysplasia: a retrospective hospital-based study of 207 patients with a long follow-up // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2009. – Vol. 38, № 6. – P. 540–544. – DOI: 10.1111/j.1600-0714.2009.00782. x.
28. Armanios M., Blackburn E.H. The telomere syndromes // *Nature Reviews Genetics*. – 2012. – Vol. 13. – P. 693–704. – DOI: 10.1038/nrg3246.
29. Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? // *The Lancet*. – 2001. – Vol. 357, № 9255. – P. 539–545. – DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0.
30. Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sidransky D. (eds.). *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. – Lyon: IARC Press, 2005.
31. Barros C.C.D.S., Freitas R.A., Miguel M.C.D.C., Dantas da Silveira É.J. DNA damage through oxidative stress is an important event in oral leukoplakia // *Archives of*

- Oral Biology. – 2022. – Vol. 135. – Art. 105359. – DOI: 10.1016/j.archoralbio.2022.105359.
32. Bavle R.M., Venugopal R., Konda P. Molecular classification of oral squamous cell carcinoma // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2016. – DOI: 10.7860/JCDR/2016/19967.8565.
33. Binayke A., Mishra S., Suman P., Das S., Chander H. Awakening the “guardian of genome”: reactivation of mutant p53 // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2019. – Vol. 83, № 1. – P. 1–15. – DOI: 10.1007/s00280-018-3701-x.
34. Blackburn E.H. Switching and signaling at the telomere // *Cell*. – 2001. – Vol. 106. – P. 661–673. – DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00492-5.
35. Blasco M.A., Funk W.D., Villeponteau B., Greider C.W. Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA // *Science*. – 1995. – Vol. 269. – P. 1267–1270. – DOI: 10.1126/science.7544492.
36. Bourdon J.C. p53 and its isoforms in cancer // *British Journal of Cancer*. – 2007. – Vol. 97, № 3. – P. 277–282.
37. Boxberg M., Jesinghaus M., Dorfner C., Mogler C., Drecoll E., Warth A. [et al.]. Tumour budding activity and cell nest size determine patient outcome in oral squamous cell carcinoma: proposal for an adjusted grading system // *Histopathology*. – 2017. – Vol. 70, № 7. – P. 1125–1137. – DOI: 10.1111/his.13173.
38. Bugshan A., Farooq I. Oral squamous cell carcinoma: metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis // *F1000Research*. – 2020. – DOI: 10.12688/f1000research.22941.1.
39. Cao Y., Bryan T.M., Reddel R.R. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells // *Cancer Science*. – 2008. – Vol. 99, № 6. – P. 1092–1099. – DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00815.x.
40. Caponio V.C.A., Zhurakivska K., Mascitti M., Togni L., Spirito F., Cirillo N., Lo Muzio L., Troiano G. High-risk TP53 mutations predict poor primary treatment response of patients with head and neck squamous cell carcinoma // *Oral Diseases*. – 2024. – Vol. 30, № 4. – P. 2018–2026. – DOI: 10.1111/odi.14698.
41. Caria P., Cantara S., Frau D.V. [et al.]. Genetic Heterogeneity of HER2 Amplification and Telomere Shortening in Papillary Thyroid Carcinoma // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17, № 10. – Art. 1759. – DOI: 10.3390/ijms17101759.
42. Carreras-Torras C., Gay-Escoda C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review // *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. – 2015. – DOI: 10.4317/medoral.20347.

43. Chen R.J., Wu P.H., Ho C.T., Way T.D., Pan M.H., Chen H.M., Ho Y.S., Wang Y.J. P53-dependent downregulation of hTERT protein expression and telomerase activity induces senescence in lung cancer cells as a result of pterostilbene treatment // *Cell Death & Disease*. – 2017. – Vol. 8, № 8. – Art. e2985. – DOI: 10.1038/cddis.2017.333.
44. Cheng Y.S., Gould A., Kurago Z., Fantasia J., Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2016. – Vol. 122, № 3. – P. 332–354. – DOI: 10.1016/j.oooo.2016.05.004.
45. Chi A.C., Day T.A., Neville B.W. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2015. – Vol. 65, № 5. – P. 401–421. – DOI: 10.3322/caac.21293.
46. Cívico-Ortega J.L., Ramos-García P., González-Moles M.Á. [et al.]. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) upregulation in the prediction of the malignant transformation risk in oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis // *Frontiers in Oral Health*. – 2025. – Vol. 5. – Art. 1578561. – DOI: 10.3389/froh.2025.1578561.
47. Conway D.I., Purkayastha M., Chestnutt I.G. The changing epidemiology of oral cancer: definitions, trends, and risk factors // *British Dental Journal*. – 2018. – Vol. 225, № 9. – P. 867–873. – DOI: 10.1038/sj.bdj.2018.922.
48. Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer // *Nature*. – 2002. – Vol. 420. – P. 860–867. – DOI: 10.1038/nature01322.
49. Cristaldi M., Mauceri R., Di Fede O., Giuliana G., Campisi G. Salivary biomarkers for oral squamous cell carcinoma diagnosis and follow-up: current status and perspectives // *Frontiers in Physiology*. – 2019. – DOI: 10.3389/fphys.2019.01476.
50. da Silva S.D., Ferlito A., Takes R.P., Brakenhoff R.H., Valentin M.D., Woolgar J.A., Bradford C.R., Rodrigo J.P., Rinaldo A., Hier M.P., Kowalski L.P. Advances and applications of oral cancer basic research // *Oral Oncology*. – 2011. – Vol. 47, № 9. – P. 783–791. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2011.07.004.
51. Davidson M.A., Shanks E.J. 3q26-29 Amplification in head and neck squamous cell carcinoma: a review of established and prospective oncogenes // *FEBS Journal*. – 2017. – Vol. 284. – P. 2705–2731. – DOI: 10.1111/febs.14061.
52. de Lange T. Shelterin-Mediated Telomere Protection // *Annual Review of Genetics*. – 2018. – Vol. 52. – P. 223–247. – DOI: 10.1146/annurev-genet-032918-021921.
53. Dharmavaram A.T., Nallakunta R., Reddy S.R., Chenoju S.K. Demystifying the Enigma of Smoking – An Observational Comparative Study on Tobacco Smoking // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2016. – Vol. 10, № 4. – P. ZC94–ZC99. – DOI: 10.7860/JCDR/2016/16359.7677.

54. Donehower L.A., Harvey M., Slagle B.L., McArthur M.J., Montgomery C.A., Butel J.S., Bradley A. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours // *Nature*. – 1992. – Vol. 356. – P. 215–221. – DOI: 10.1038/356215a0.
55. Dost F., Lê Cao K., Ford P.J., Ades C., Farah C.S. Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: a real-world evaluation of histopathologic grading // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2014. – Vol. 117, № 3. – P. 343–352. – DOI: 10.1016/j.oooo.2013.09.017.
56. Dost F., Lê Cao K.A., Ford P.J., Farah C.S. A retrospective analysis of clinical features of oral malignant and potentially malignant disorders with and without oral epithelial dysplasia // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2013. – Vol. 116, № 6. – P. 725–733. – DOI: 10.1016/j.oooo.2013.08.005.
57. Duncan S., Finegersh A., Orosco R.K., Wu N., Brumund K.T., Califano J.A., Coffey C.S., Moss W.J. Clinicopathologic Features of Oral Verrucous Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis // *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*. – 2025. – Vol. 134, № 3. – P. 187–194. – DOI: 10.1177/00034894241298378.
58. El-Deiry W.S., Tokino T., Velculescu V.E. [et al.]. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression // *Cell*. – 1993. – Vol. 75, № 4. – P. 817–825. – DOI: 10.1016/0092-8674(93)90500-P.
59. El-Gendi S., Abu-Sheasha G. Ki-67 and Cell Cycle Regulators p53, p63 and cyclinD1 as Prognostic Markers for Recurrence// *Progression of Bladder Urothelial Carcinoma. Pathology oncology research: POR*, 24(2), 309–322. <https://doi.org/10.1007/s12253-017-0250-2>
60. El-Naggar A.K., Chan J.K.C., Grandis J.R., Takata T., Slootweg P.J. (eds.). WHO Classification of Head and Neck Tumours. – 4th ed. – Lyon: IARC, 2017. – 347 p.
61. El-Naggar A.K., Chan J.K.C., Grandis J.R., Takata T., Slootweg P.J. (eds.). WHO Classification of Head and Neck Tumours. – 5th ed. – Lyon: IARC Press, 2022. – 560 p.
62. El-Naggar A.K., Mao L., Staerckel G., Coombes M.M. Genetic heterogeneity in saliva from patients with oral squamous carcinomas: implications in molecular diagnosis and screening // *The Journal of Molecular Diagnostics*. – 2001. – DOI: 10.1016/S1525-1578(10)60668-X.
63. Farhi D., Dupin N. Pathophysiology, etiologic factors, and clinical management of oral lichen planus, part I: facts and controversies // *Clinics in Dermatology*. – 2010. – Vol. 28, № 1. – P. 100–108. – DOI: 10.1016/j.clindermatol.2009.03.004.
64. Feng J., Funk W.D., Wang S.S. [et al.]. The RNA component of human telomerase // *Science*. – 1995. – Vol. 269, № 5228. – P. 1236–1241. – DOI: 10.1126/science.7544491.

65. Ferraz D.L.F., Pedroso C.M., Bezerra H.K.F. [et al.]. A clinicopathological study of marginal gingival leukoplakia // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2025. – Vol. 54, № 5. – P. 411–419. – DOI: 10.1111/jop.70052.
66. Freed-Pastor W.A., Prives C. Mutant p53: one name, many proteins // *Genes & Development*. – 2012. – Vol. 26, № 12. – P. 1268–1286. – DOI: 10.1101/gad.190678.112.
67. Gale N., Zidar N., Poljak M., Cardesa A. Current views and perspectives on classification of squamous intraepithelial lesions of the head and neck // *Head and Neck Pathology*. – 2014. – Vol. 8, № 1. – P. 16–23. – DOI: 10.1007/s12105-014-0530-z.
68. Gaman M.A., Dugăeșescu M., Popescu D.C. Applications of artificial intelligence in acute promyelocytic leukemia: a systematic review // *Journal of Clinical Medicine*. – 2025. – Vol. 14, № 5. – Art. 1670. – DOI: 10.3390/jcm14051670.
69. Garnis C., Chari R., Buys T.P. [et al.]. Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk // *Molecular Cancer*. – 2009. – Vol. 8. – Art. 50. – DOI: 10.1186/1476-4598-8-50.
70. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S. [et al.]. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing // *New England Journal of Medicine*. – 2012. – Vol. 366. – P. 883–892. – DOI: 10.1056/NEJMoa1113205.
71. González-Moles M.Á., Ramos-García P. Malignant transformation of oral lichen planus: where are we now? // *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. – 2025. – Vol. 30, № 1. – P. e65–e75. – DOI: 10.4317/medoral.26834.
72. González-Moles M.Á., Warnakulasuriya S., González-Ruiz I. [et al.]. Worldwide prevalence of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis // *Oral Diseases*. – 2021. – Vol. 27, № 4. – P. 813–828. – DOI: 10.1111/odi.13323.
73. Gorbokon N., Teljuk K., Möller K., Büyücek S. [et al.]. Prevalence of heterozygous and homozygous 9p21 deletions in human cancer: a tissue microarray study on 4999 tumors from 125 different tumor types // *Cancer Research*. – 2025. – Vol. 85, Suppl. 1. – Art. 3359. – DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-3359.
74. Greider C.W., Blackburn E.H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts // *Cell*. – 1985. – Vol. 43. – P. 405–413. – DOI: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
75. Gupta B., Johnson N.W., Kumar N. Global epidemiology of head and neck cancers: a continuing challenge // *Oncology*. – 2016. – Vol. 91, № 1. – P. 13–23. – DOI: 10.1159/000446117.
76. Gurizzan C., Licata A.G., Lorini L. [et al.]. The interplay of hypoxia, inflammation, and microbiota as indicators of malignant transformation in oral potentially malignant

disorders // *Oral Oncology*. – 2025. – Vol. 168. – Art. 107583. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2025.107583.

77. Hafner A., Bulyk M.L., Jambhekar A., Lahav G. The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2019. – Vol. 20. – P. 199–210. – DOI: 10.1038/s41580-019-0110-x.

78. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. – 2011. – Vol. 144, № 5. – P. 646–674. – DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

79. Harley C.B., Futcher A.B., Greider C.W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts // *Nature*. – 1990. – Vol. 345. – P. 458–460. – DOI: 10.1038/345458a0.

80. Heselmeyer-Haddad K., Sommerfeld K., White N.M. [et al.]. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer // *The American Journal of Pathology*. – 2005. – Vol. 166, № 4. – P. 1229–1238. – DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62341-3.

81. Hiyama E., Hiyama K. Telomerase as tumor marker // *Cancer Letters*. – 2003. – Vol. 194, № 2. – P. 221–233. – DOI: 10.1016/S0304-3835(02)00709-7.

82. Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B., Harris C.C. P53 mutations in human cancers // *Science*. – 1991. – Vol. 253, № 5015. – P. 49–53. – DOI: 10.1126/science.1905840.

83. Horn S., Figl A., Rachakonda P.S. [et al.]. TERT promotes mutations in familial and sporadic melanoma // *Science*. – 2013. – Vol. 339. – P. 959–961. – DOI: 10.1126/science.1230062.

84. Hrabal V., Stenckova M., Zavadil Kokas F. [et al.]. TAp73 and  $\Delta$ TAp73 isoforms show cell-type specific distributions and alterations in cancer // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 29949. – DOI: 10.1038/s41598-024-80927-9.

85. Huang F.W., Hodis E., Xu M.J. [et al.]. Highly recurrent TERT promotes mutations in human melanoma // *Science*. – 2013. – Vol. 339. – P. 957–959. – DOI: 10.1126/science.1229259.

86. Huebner R.J., Todaro G.J. Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1969. – Vol. 64, № 3. – P. 1087–1094. – DOI: 10.1073/pnas.64.3.1087.

87. Humayun S., Prasad V.R. Expression of p53 protein and Ki-67 antigen in oral premalignant lesions and oral squamous cell carcinomas: an immunohistochemical study // *National Journal of Maxillofacial Surgery*. – 2011. – Vol. 2, № 1. – P. 38–46. – DOI: 10.4103/0975-5950.85852.

88. Iocca O., Sollecito T.P., Alawi F. [et al.]. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: a systematic review and meta-analysis of malignant

transformation rate by subtype // *Head & Neck*. – 2020. – Vol. 42, № 3. – P. 539–555. – DOI: 10.1002/hed.26006.

89. Irani S. Pre-cancerous lesions in the oral and maxillofacial region: a literature review with special focus on etiopathogenesis // *Iranian Journal of Pathology*. – 2016. – Vol. 11, № 4. – P. 303–322.

90. Ismail S.B., Kumar S.K., Zain R.B. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation // *Journal of Oral Science*. – 2007. – Vol. 49, № 2. – P. 89–106. – DOI: 10.2334/josnusd.49.89.

91. Ivina A.A., Tigay Yu.O., Familia Frias D.R., Rabinovich O.F., Babichenko I.I. Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa // *RUDN Journal of Medicine*. – 2025. – Vol. 29, № 4. – P. 000–000. DOI: 10.22363/2313-0245-2025-29-4

92. Johnson D.E., Burtneß B., Leemans C.R., Lui V.W.Y., Bauman J.E., Grandis J.R. Head and neck squamous cell carcinoma // *Nat Rev Dis Primers*. – 2020. Vol. 26, № 6. – P.92. doi: 10.1038/s41572-020-00224-3.

93. Juríková M., Danihel L., Polák Š., Varga I. Ki67, PCNA, and MCM proteins: markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer // *Acta Histochemica*. – 2016. – Vol. 118, № 5. – P. 544–552. – DOI: 10.1016/j.acthis.2016.05.002.

94. Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F. [et al.]. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types // *Nature*. – 2013. – Vol. 502, № 7471. – P. 333–339. – DOI: 10.1038/nature12634.

95. Kastan M.B., Onyekwere O., Sidransky D. [et al.]. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage // *Cancer Research*. – 1991. – Vol. 51, № 23. – P. 6304–6311.

96. Kasthuber E.R., Lowe S.W. Putting p53 in context // *Cell*. – 2017. – Vol. 170, № 6. – P. 1062–1078. – DOI: 10.1016/j.cell.2017.08.028.

97. Kerner N., Hershkovitz D., Trestman S., Shragai T. [et al.]. Deep-learning-based prediction of t(11;14) in multiple myeloma H&E-stained samples // *Cancers*. – 2025. – Vol. 17, № 11. – Art. 1733. – DOI: 10.3390/cancers17111733.

98. Khoury M.P., Bourdon J.C. p53 isoforms: an intracellular microprocessor? // *Genes & Cancer*. – 2011. – Vol. 2, № 4. – P. 453–465. – DOI: 10.1177/1947601911408893.

99. Kim C.H., Lee H.S., Park J.H. [et al.]. Prognostic role of p53 and Ki-67 immunohistochemical expression in patients with surgically resected lung adenocarcinoma: a retrospective study // *Journal of Thoracic Disease*. – 2015. – Vol. 7, № 5. – P. 822–833. – DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.05.02.

100. Kim N.W., Piatyszek M.A., Prowse K.R. [et al.]. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer // *Science*. – 1994. – Vol. 266. – P. 2011–2015. – DOI: 10.1126/science.7605428.
101. Kim S.H., Choi E.C., Woo S.H. [et al.]. Prognostic value of Ki-67 and p53 in squamous cell carcinoma of the head and neck // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. – 2015. – Vol. 141, № 1. – P. 35–45. – DOI: 10.1007/s00432-014-1775-0.
102. Ko Y.C.K., Dillon J.K. Rethinking dysplasia: a p53 perspective // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2025. – Vol. 83, № 4. – P. 399–401. – DOI: 10.1016/j.joms.2024.11.019.
103. Ko Y.C.K., Liu K.Y.P., Chen E., Zhu S.Y., Poh C.F. p53 abnormal oral epithelial dysplasias are associated with high risks of progression and local recurrence: a retrospective study in a longitudinal cohort // *Modern Pathology*. – 2024. – Vol. 37, № 12. – Art. 100613. – DOI: 10.1016/j.modpat.2024.100613.
104. Köbel M., Ronnett B.M., Singh N. Interpretation of p53 immunohistochemistry in endometrial carcinomas: towards increased reproducibility // *International Journal of Gynecological Pathology*. – 2019. – Vol. 38, Suppl. 1. – P. S123–S131. – DOI: 10.1097/PGP.0000000000000540.
105. Kosmehl H., Berndt A., Strassburger S., Borsi L., Rousselle P., Mandel U. [et al.]. Distribution of laminin and fibronectin isoforms in oral mucosa and oral squamous cell carcinoma // *British Journal of Cancer*. – 1999. – Vol. 81, № 6. – P. 1071–1079. – DOI: 10.1038/sj.bjc.6690809.
106. Kowalski M., Vasilyeva D., Philipone E. Custom medicine trays for imiquimod application: design and outcomes in management of proliferative verrucous leukoplakia // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2025. – Vol. 140, № 3. – P. e114. – DOI: 10.1016/j.oooo.2025.04.143.
107. Krishna R., Urs A.B., Augustine J., Kumar P. Barnaculate carcinoma – a new terminology for the recognition of a histologically familiar entity // *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. – 2025. – Vol. 29, № 2. – P. 335–339. – DOI: 10.4103/jomfp.jomfp\_357\_24.
108. Kujan O. Oral Potentially Malignant Disorders. Current Knowledge and Future Directions // *Dent Clin North Am*. – 2025. – Vol. 69, P. 327–346.
109. Kumar T., Singh S., Vemulakonda L.A. [et al.]. Primary pericardial synovial sarcoma: a case series and review of literature // *Cureus*. – 2025. – Vol. 17, № 2. – Art. e374024.
110. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C. *Robbins Basic Pathology*. – 9th ed. – Philadelphia: Elsevier, 2015. – 928 p.

111. Kyo S., Inoue M. Complex regulatory mechanisms of telomerase activity in normal and cancer cells: how can we apply them for cancer therapy? // *Oncogene*. – 2002. – Vol. 21, № 4. – P. 688–697. – DOI: 10.1038/sj.onc.1205163.
112. Lalkota B.P., Srinivasa B.J., Swamy M.V. [et al.]. The role of p53 and Ki-67 in predicting clinical outcome in breast cancer patients // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2023. – Vol. 19, № 2. – P. 208–213. – DOI: 10.4103/jcrt.JCRT\_1830\_20.
113. Lane D.P. Cancer: p53, guardian of the genome // *Nature*. – 1992. – Vol. 358. – P. 15–16. – DOI: 10.1038/358015a0.
114. Lavoie V., Lee E., Chugh D., Leong I., Bubola J. [et al.]. Spatial transcriptomic analysis of oral epithelial dysplasia reveals unique differentially expressed genes and microenvironment changes // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2025. – DOI: 10.1016/j.oooo.2025.08.004.
115. Levine A.J. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery // *Nature Reviews Cancer*. – 2020. – Vol. 20. – P. 471–480. – DOI: 10.1038/s41568-020-0262-1.
116. Li H., Liu Y., Zhou S. [et al.]. Systematic evaluation of TP53 codon 72 polymorphisms associated with onset and progression of oral potentially malignant disorders // *BMC Oral Health*. – 2023. – Vol. 23. – Art. 659. – DOI: 10.1186/s12903-023-03316-0.
117. Li M., Chen C., Gao J. [et al.]. Accurate interpretation of p53 immunohistochemical patterns in human tumors: a practical guide for pathologists // *BMC Cancer*. – 2023. – Vol. 23, № 1. – Art. 11513. – DOI: 10.1186/s12885-023-11513-x.
118. Li M., Sun D., Song N. [et al.]. Mutant p53 in head and neck squamous cell carcinoma: molecular mechanism of gain of function and targeting therapy (review) // *Oncology Reports*. – 2023. – Vol. 50, № 3. – Art. 162. – DOI: 10.3892/or.2023.8599.
119. Li W., Chen C., Zhu J. [et al.]. p53 immunohistochemistry patterns are surrogate for TP53 mutation status and clinicopathological characteristics in human cancers // *Cancer Cell International*. – 2021. – Vol. 21, № 1. – Art. 722. – DOI: 10.1186/s12935-021-02365-8.
120. Lingen M.W., Kalmar J.R., Karrison T., Speight P.M. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer // *Oral Oncology*. – 2008. – Vol. 44, № 1. – P. 10–22. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2007.06.011.
121. Liu J., Zhang C., Hu W., Feng Z. Tumor suppressor p53 and its mutants in cancer metabolism // *Cancer Letters*. – 2015. – Vol. 356, № 2 (Pt A). – P. 197–203. – DOI: 10.1016/j.canlet.2013.12.025.

122. Liu M., Zhang Y., Jian Y. [et al.]. The regulation of telomerase reverse transcriptase (TERT) in cancer // *Cell Death & Disease*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 90. – DOI: 10.1038/s41419-024-06454-7.
123. Liu Y., Dong X.L., Tian C. [et al.]. Human telomerase RNA component (hTERC) gene amplification detected by FISH in precancerous lesions and carcinoma of the larynx // *Diagnostic Pathology*. – 2012. – Vol. 7. – Art. 34. – DOI: 10.1186/1746-1596-7-34.
124. Liu Y., Tavana O., Gu W. p53 modifications: exquisite decorations of the powerful guardian // *Journal of Molecular Cell Biology*. – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 564–577. – DOI: 10.1093/jmcb/mjz060.
125. Lorini, L., Bescós Atín, C., Thavaraj, S., Müller-Richter, U., Alberola Ferranti, M., Pamiás Romero, J., Sáez Barba, M., de Pablo García-Cuenca, A., Braña García, I., Bossi, P., Nuciforo, P., & Simonetti, S. (2021). Overview of Oral Potentially Malignant Disorders: From Risk Factors to Specific Therapies. *Cancers*, 13(15), 3696. <https://doi.org/10.3390/cancers13153696>
126. Lu E.M.C., Ratnayake J., Rich A.M. Assessment of proliferating nuclear antigen (PCNA) expression at the invading front of oral squamous cell carcinoma // *BMC Oral Health*. – 2019. – Vol. 19. – Art. 233. – DOI: 10.1186/s12903-019-0928-9.
127. Marques M.B., Posantes G.E.M., Gonçalves L.S.S., Maradiaga G., Capella M.A. Multifocal necrotizing sialometaplasia in the tongue surgical specimen: an immunohistochemical study // *Head and Neck Pathology*. – 2025. – DOI: 10.1007/s12105-025-01756-4.
128. Mehta F.S., Jalnawalla P.N., Daftary D.K., Gupta P.C., Pindborg J.J. Reverse smoking in Andhra Pradesh, India: variability of clinical and histologic appearances of palatal changes // *International Journal of Oral Surgery*. – 1977. – Vol. 6, № 2. – P. 75–83. – DOI: 10.1016/S0300-9785(77)80002-1.
129. Mello F.W., Miguel A.F.P., Dutra K.L. [et al.]. Prevalence of oral potentially malignant disorders: a systematic review and meta-analysis // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2018. – Vol. 47, № 7. – P. 633–640. – DOI: 10.1111/jop.12726.
130. Momand J., Zambetti G.P., Olson D.C., George D., Levine A.J. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation // *Cell*. – 1992. – Vol. 69. – P. 1237–1245. – DOI: 10.1016/0092-8674(92)90644-R.
131. Moreira M.D., Maia F.D., Zimbrão V.L., Collodetti E., Souza A.S. [et al.]. Demographic and clinicopathological comparison among oral lichen planus, lichenoid lesions and proliferative verrucous leukoplakia: a retrospective study // *BMC Oral Health*. – 2024. – Vol. 24. – Art. 153. – DOI: 10.1186/s12903-024-05305-3.

132. Morin G.B. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats // *Cell*. – 1989. – Vol. 59, № 3. – P. 521–529. – DOI: 10.1016/0092-8674(89)90035-4.
133. Muller P.A., Vousden K.H. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities // *Cancer Cell*. – 2014. – Vol. 25, № 3. – P. 304–317. – DOI: 10.1016/j.ccr.2014.01.021.
134. Müller S. Oral epithelial dysplasia, atypical verrucous lesions and oral potentially malignant disorders: focus on histopathology // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2018. – Vol. 125, № 6. – P. 591–602. – DOI: 10.1016/j.oooo.2018.02.012.
135. Nader M., Soliman S., Yussif S.M., El-Sissi A.A. A collaborative immunohistochemical study of Drp1 and cortactin in the epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma // *Diagnostic Pathology*. – 2025. – Vol. 20, № 1. – DOI: 10.1186/s13000-025-01627-0.
136. Nagao T., Bishop J.A., Brandwein-Gensler M., Cardesa A. [et al.]. WHO Classification of Head and Neck Tumours. – 5th ed. – Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2022. – 560 p.
137. Nankivell P, Williams H, Matthews P, Suortamo S, Snead D, McConkey C, Mehanna H. The binary oral dysplasia grading system: validity testing and suggested improvement. // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013 Jan;115(1):87-94. doi: 10.1016/j.oooo.2012.10.015. PMID: 23217539.
138. Nault J.C., De Reynies A., Villanueva A. [et al.]. The role of telomerase reverse transcriptase promotes mutations in hepatocellular carcinoma and cirrhosis // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 5305.
139. Nault J.C., Ningarhari M., Rebouissou S., Zucman-Rossi J. The role of telomeres and telomerase in cirrhosis and liver cancer // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2019. – Vol. 16, № 9. – P. 544–558. – DOI: 10.1038/s41575-019-0165-3.
140. Neville B.W., Damm D.D., Allen C.M., Chi A.C. *Oral and Maxillofacial Pathology*. – 5th ed. – St. Louis: Elsevier, 2022. – 928 p.
141. Noureen N., Wu S., Lv Y. [et al.]. Integrated analysis of telomerase enzymatic activity unravels an association with cancer stemness and proliferation // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 139. – DOI: 10.1038/s41467-020-20474-9.
142. Novack R., Zhang L., Hoang L.N. [et al.]. Abnormal p53 immunohistochemical patterns shed light on the aggressiveness of oral epithelial dysplasia // *Modern Pathology*. – 2023. – Vol. 36, № 7. – Art. 100153. – DOI: 10.1016/j.modpat.2023.100153.

143. Odell E.W. Cancers of the oral mucosa and oropharynx // *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine* / E.W. Odell (ed.). – 9th ed. – Elsevier, 2017. – P. 219–241.
144. Odell E.W., Kujan O., Warnakulasuriya S. [et al.]. Oral epithelial dysplasia: recognition, grading and clinical significance // *Oral Diseases*. – 2021. – Vol. 27, № 8. – P. 1947–1976. – DOI: 10.1111/odi.13993.
145. Osakabe M., Kobayashi T., Murata S. [et al.]. The pattern-based interpretation of p53 immunohistochemistry for predicting TP53 mutations and prognosis in head and neck squamous cell carcinoma // *Modern Pathology*. – 2024. – Vol. 37. – Art. 100073. – DOI: 10.1038/s41379-024-01477-0.
146. Pagalla A.K., Gunde P., Gunde M. Cell proliferation marker Ki-67: its prognostic and predictive value in squamous epithelial dysplasias and SCC of oropharynx // *Journal of Chalmeda Anand Rao Institute of Medical Sciences*. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 79–84.
147. Pai S.I., Westra W.H. Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. – 2009. – Vol. 4. – P. 49–70. – DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092158.
148. Pandiar D., G.P., Krishnan R.P., T.N.U.M. Correlation between clinical and histopathological stagings of oral submucous fibrosis: a clinicopathological cognizance of 238 cases from South India // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15, № 11. – Art. e49107. – DOI: 10.7759/cureus.49107.
149. Patel S., Patel K., Patel P., Gamit B., Hathila R., Gupta S. Expression of p53 and Ki-67 in oral dysplasia and squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study // *International Journal of Medical Science and Public Health*. – 2014. – Vol. 3. – P. 1201. – DOI: 10.5455/ijmsph.2014.030720144.
150. Patel S.C., Carpenter W.R., Tyree S. [et al.]. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18 to 44 years // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29, № 11. – P. 1488–1494. – DOI: 10.1200/JCO.2010.31.7883.
151. Pereira P.P.I., Almeida A.B., Hanneman J.A.C., Guimarães E.P., Petean H.C., Rozendo D.M.M., Pereira A.A. Malignant transformation of oral lichen planus after 6 years: a case report // *General Dentistry*. – 2025. – Vol. 73, № 5. – P. 59–63.
152. Petitjean A., Mathe E., Kato S. [et al.]. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database // *Human Mutation*. – 2007. – Vol. 28, № 6. – P. 622–629. – DOI: 10.1002/humu.20495.
153. Petti S., Masood M., Scully C. The magnitude of tobacco smoking–betel quid chewing–alcohol drinking interaction effect on oral cancer in South-East Asia: a meta-

analysis of observational studies // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 11. – Art. e78999. – DOI: 10.1371/journal.pone.0078999.

154. Pindborg J.J., Daftary D.K., Mehta F.S. A follow-up study of sixty-one oral dysplastic precancerous lesions in Indian villagers // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. – 1977. – Vol. 43, № 3. – P. 383–390. – DOI: 10.1016/0030-4220(77)90325-5.

155. Querzoli G., Gabusi A., Gissi D.B., Bassani S., Rossi R., Tarsitano A., Montebugnoli L., Foschini M.P. Cell-mediated mucositis of the oral cavity: narrative review on etiology, clinico-pathological aspects and malignant transformation // Pathologica. – 2025. – Vol. 117, № 2. – P. 84–100. – DOI: 10.32074/1591-951X-1093.

156. Rahman Q.B., Iocca O., Kufta K., Shanti R.M. Global burden of head and neck cancer // Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America. – 2020. – Vol. 32, № 3. – P. 367–375. – DOI: 10.1016/j.coms.2020.04.002.

157. Raj S., Vachher N., Aden D., Srivastava A., Nath D. Co-expression of p53 and Ki-67 in premalignant and malignant oral/oropharyngeal biopsies in Bundelkhand region, India // Archives of Medicine and Health Sciences. – 2022. – Vol. 10, № 2. – P. 168–175. – DOI: 10.4103/amhs.amhs\_155\_22.

158. Rajendran R. Oral submucous fibrosis: etiology, pathogenesis, and future research // Bulletin of the World Health Organization. – 1994. – Vol. 72, № 6. – P. 985–996.

159. Ramlee M.K., Wang J., Toh W.X., Li S. Transcription regulation of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene // Genes. – 2016. – Vol. 7, № 8. – Art. 50.

160. Ramos-García P., González-Moles M.Á., Warnakulasuriya S. Significance of p53 overexpression in the prediction of the malignant transformation risk of oral potentially malignant disorders: a systematic review and meta-analysis // Oral Oncology. – 2022. – Vol. 126. – Art. 105734. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2022.105734.

161. Ramos-García P., González-Ruiz I., González-Moles M.Á. [et al.]. Cancer hallmarks expression in oral leukoplakia: systematic review and meta-analysis // Oral Diseases. – 2025. – Early View. – DOI: 10.1111/odi.70106.

162. Ravindran S., Ranganathan S., Kannan S.K. The role of molecular biomarkers in the diagnosis, prognosis, and treatment stratification of oral squamous cell carcinoma: a comprehensive review // The Journal of Liquid Biopsy. – 2025. – DOI: 10.1016/j.jlb.2025.100285.

163. Rebaudi F., Rebaudi A., De Rosa A., Rebaudi A.L., Pesce S., Greppi M., Roghi M., Boggio M., Candiani S., Marcenaro E. Case report: non-invasive cyto-salivary sampling and biomarker detection via ELISA versus histopathology for diagnosing oral potentially malignant disorders – insights from a case-control study // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1477477. – DOI: 10.3389/fimmu.2024.1477477.

164. Regezi J.A., Sciubba J.J., Jordan R.C. Oral Pathology: Clinical-Pathologic Correlations. – 7th ed. – St. Louis: Elsevier, 2016. – 480 p.
165. Regezi J.A., Sciubba J.J., Jordan R.C.K. Oral Pathology: Clinical-Pathologic Correlations. – 6th ed. – St. Louis: Elsevier Saunders, 2016. – 496 p.
166. Rocha D.M.S., Oliveira K.C., Bordignon N.C.T., Reis M.L., Cavalcanti de Albuquerque-Júnior R.L., Gondak R. Squamous basaloid carcinoma in the base of the tongue: unusual case // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. – 2025. – Vol. 139, № 5. – P. e7. – DOI: 10.1016/j.oooo.2025.01.038.
167. Rodrigues A.Z., Laureano N.K., Maraschin B.J., da Silva A.D., da Silva V.P., Rados P.V., Visioli F. Diagnostic criteria for oral epithelial dysplasia: predicting malignant transformation // Head and Neck Pathology. – 2025. – Vol. 19, № 1. – Art. 21. – DOI: 10.1007/s12105-025-01754-6.
168. Rosin M.P., Cheng X., Poh C. [et al.]. Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia // Clinical Cancer Research. – 2000. – Vol. 6, № 2. – P. 357–362.
169. Sabbatini S., Conti C., Rubini C., Librando V., Tosi G., Giorgini E. Infrared microspectroscopy of oral squamous cell carcinoma: spectral signatures of cancer grading // Vibrational Spectroscopy. – 2013. – Vol. 68. – P. 196–203. – DOI: 10.1016/j.vibspec.2013.07.002.
170. Safi A.F., Grochau K., Drebber U., Schick V., Thiele O., Backhaus T. [et al.]. A novel histopathological scoring system for patients with oral squamous cell carcinoma // Clinical Oral Investigations. – 2019. – Vol. 23, № 10. – P. 3759–3765. – DOI: 10.1007/s00784-019-02804-4.
171. Santos J.H., Meyer J.N., Van Houten B. Mitochondrial localization of telomerase as a determinant for hydrogen peroxide-induced mitochondrial DNA damage and apoptosis // Human Molecular Genetics. – 2006. – Vol. 15. – P. 1757–1768. – DOI: 10.1093/hmg/ddl098.
172. Saretzki G. Extra-telomeric functions of human telomerase: cancer, mitochondria and oxidative stress // Current Pharmaceutical Design. – 2014. – Vol. 20, № 41. – P. 6386–6403. – DOI: 10.2174/1381612820666140630095606.
173. Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown // Journal of Cellular Physiology. – 2000. – Vol. 182, № 3. – P. 311–322. – DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9.
174. Sciubba J.J. Oral leukoplakia // Critical Reviews in Oral Biology & Medicine. – 1995. – Vol. 6, № 2. – P. 147–160. – DOI: 10.1177/10454411950060020401.

175. Seethalakshmi C., Suresh R., Balakrishnan V., Parameswaran A. Early detection of oral squamous cell carcinoma (OSCC) – role of genetics: a literature review // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2013. – DOI: 10.7860/JCDR/2013/5552.3281.
176. Sharma D., Pal S., Pal U.S., Yadav N.P. Elucidating the pathogenesis of oral submucous fibrosis: a comprehensive review // *Archives of Oral Biology*. – 2025. – Vol. 178. – Art. 106362. – DOI: 10.1016/j.archoralbio.2025.106362.
177. Shay J.W., Wright W.E. Role of telomeres and telomerase in cancer // *Seminars in Cancer Biology*. – 2011. – Vol. 21, № 6. – P. 349–353. – DOI: 10.1016/j.semcancer.2011.10.001.
178. Shay J.W., Zou Y., Hiyama E., Wright W.E. Telomerase and cancer // *Human Molecular Genetics*. – 2001. – Vol. 10, № 7. – P. 677–685. – DOI: 10.1093/hmg/10.7.677.
179. Shiloh Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity // *Nature Reviews Cancer*. – 2003. – Vol. 3. – P. 155–168. – DOI: 10.1038/nrc1011.
180. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, 2023 // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2023. – DOI: 10.3322/caac.21763.
181. Soares A.B., Perschbacher K., Perez-Ordonez B. Oral potentially malignant disorders // *Diagnostic Histopathology*. – 2018. – Vol. 24, № 5. – P. 161–165. – DOI: 10.1016/j.mpdhp.2018.03.005.
182. Soussi T., Wiman K.G. TP53: an oncogene in disguise // *Cell Death and Differentiation*. – 2015. – Vol. 22, № 8. – P. 1239–1249. – DOI: 10.1038/cdd.2015.53.
183. Speight P.M., Farthing P.M., Bouquot J., Neville B.W. The premalignant and malignant lesions of oral mucosa // *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine* / E. Odell (ed.). – 9th ed. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 2017. – P. 100–117.
184. Speight P.M., Farthing P.M., Bouquot J.E. The pathology of oral cancer and precancer // *Current Diagnostic Pathology*. – 1996. – Vol. 3. – P. 165–176. – DOI: 10.1016/S0968-6053(05)80014-6.
185. Speight P.M., Khurram S.A., Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2018. – Vol. 125, № 6. – P. 612–627. – DOI: 10.1016/j.oooo.2017.12.011.
186. Stratton M.R., Campbell P.J., Futreal P.A. The cancer genome // *Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 719–724. – DOI: 10.1038/nature07943.
187. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209–249. – DOI: 10.3322/caac.21660.

188. Tahara H., Tahara E., Ide T. Telomeres and telomerase in gastrointestinal cancers // *Molecular Pathology of Gastroenterological Cancer* / E. Tahara (ed.). – Tokyo: Springer, 1997. – P. 233–248. – DOI: 10.1007/978-4-431-65915-0\_17.
189. Tang J., Liu J., Zhou Z. [et al.]. Oral submucous fibrosis: pathogenesis and therapeutic approaches // *International Journal of Oral Science*. – 2025. – Vol. 17, № 1. – Art. 8. – DOI: 10.1038/s41368-024-00344-6.
190. Thompson L.D.R. *Head and Neck Pathology*. – 3rd ed. – Elsevier, 2019. – 784 p.
191. Tilakaratne W.M., Klinikowski M.F., Saku T. Peters T.J., Warnakulasuriya S. Oral submucous fibrosis: review on aetiology and pathogenesis // *Oral Oncology*. – 2006. – Vol. 42, № 6. – P. 561–568. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2005.08.005.
192. Tilakaratne W.M., Pitiyage G., Tavassoli M. Molecular markers in oral epithelial dysplasia: review // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2009. – DOI: 10.1111/j.1600-0714.2009.00804. x.
193. Togni L., Caponio V.C.A., Zerman N., Troiano G., Zhurakivska K., Lo Muzio L. [et al.]. The emerging impact of tumor budding in oral squamous cell carcinoma: main issues and clinical relevance of a new prognostic marker // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14, № 15. – P. 3571. – DOI: 10.3390/cancers14153571.
194. Turton N., Payne K., Higginson J., Praveen P., Mehanna H., Nankivell P. Prognostic biomarkers for malignant progression of oral epithelial dysplasia: an updated systematic review and meta-analysis // *British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*. – 2024. – Vol. 62, № 5. – P. 415–425. – DOI: 10.1016/j.bjoms.2024.03.001.
195. Tutton S., Lieberman P.M. A role for p53 in telomere protection // *Molecular & Cellular Oncology*. – 2016. – Vol. 4, № 6. – Art. e1143078. – DOI: 10.1080/23723556.2016.1143078.
196. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa: terminology, classification and present concepts of management // *Oral Oncology*. – 2009. – Vol. 45, № 4–5. – P. 317–323. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.05.016.
197. van Leeuwen L., Forman G., Nagalla S. [et al.]. Preliminary results from a phase IIa trial of APG-157 in oral cavity and oropharyngeal dysplasia // *Journal of Clinical Oncology*. – 2025. – Vol. 43, № 16\_suppl. – Abstract e18119. – DOI: 10.1200/JCO.2025.43.16\_suppl.e18119.
198. Vieira F.L., Vieira B.J., Guimarães M.A. [et al.]. Cellular profile of the peritumoral inflammatory infiltrate in squamous cell carcinoma of oral mucosa: correlation with the expression of Ki-67 and histological grading // *BMC Oral Health*. – 2008. – Vol. 8. – Art. 25. – DOI: 10.1186/1472-6831-8-25.

199. Vinagre J., Almeida A., Populo H. [et al.]. Frequency of TERT promotes mutations in human cancers // *Nature Communications*. – 2013. – Vol. 4. – Art. 2185. – DOI: 10.1038/ncomms3185.
200. Vogelstein B., Kinzler K.W. Cancer genes and the pathways they control // *Nature Medicine*. – 2004. – Vol. 10. – P. 789–799. – DOI: 10.1038/nm1087.
201. Vousden K.H., Lane D.P. p53 in health and disease // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2007. – Vol. 8, № 4. – P. 275–283.
202. Vousden K.H., Prives C. p53 and prognosis: new insights and further complexity // *Cell*. – 2005. – Vol. 120, № 1. – P. 7–10. – DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.027.
203. Vousden K.H., Ryan K.M. p53 and metabolism // *Nature Reviews Cancer*. – 2009. – Vol. 9, № 10. – P. 691–700.
204. Walvekar R.R., Chaukar D.A., Deshpande M.S., Pai P.S., Chaturvedi P., Kakade A., Kane S.V., D'Cruz A.K. Verrucous carcinoma of the oral cavity: a clinical and pathological study of 101 cases // *Oral Oncology*. – 2009. – Vol. 45, № 1. – P. 47–51. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.03.014.
205. Warnakulasuriya S. Causes of oral cancer – an appraisal of controversies // *British Dental Journal*. – 2009. – Vol. 207, № 10. – P. 471–475. – DOI: 10.1038/sj.bdj.2009.1009.
206. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer // *Oral Oncology*. – 2009. – Vol. 45, № 4–5. – P. 309–316. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.06.002.
207. Warnakulasuriya S. Oral potentially malignant disorders: a comprehensive review on clinical aspects and management // *Oral Oncology*. – 2020. – Vol. 102. – Art. 104550. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.104550.
208. Warnakulasuriya S., Kujan O., Aguirre-Urizar J.M. [et al.]. Oral potentially malignant disorders: a consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO collaborating centre for oral cancer // *Oral Diseases*. – 2021. – Vol. 27, № 8. – P. 1862–1880. – DOI: 10.1111/odi.13704.
209. Warnakulasuriya S., Reibel J., Bouquot J., Dabelsteen E. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2008. – Vol. 37, № 3. – P. 127–133. – DOI: 10.1111/j.1600-0714.2007.00584. x.
210. Warnakulasuriya S., Sutherland G., Scully C. Tobacco, oral cancer, and treatment of dependence // *Oral Oncology*. – 2005. – Vol. 41, № 3. – P. 244–260. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2004.08.010.

211. Warnakulasuriya S., Trivedy C., Peters T.J. Areca nut use: an independent risk factor for oral cancer // *BMJ*. – 2002. – Vol. 324, № 7341. – P. 799–800. – DOI: 10.1136/bmj.324.7341.799.
212. Weber, M., Wehrhan, F., Baran, C. et al. Malignant transformation of oral leukoplakia is associated with macrophage polarization. *J Transl Med* 18, 11 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-02191-0>
213. Weinberg R.A. *The Biology of Cancer*. – 2nd ed. – New York: Garland Science, 2014. – 960 p.
214. Wise K.L., Argyris P.P., McNamara K.K., Kalmar J.R. Intraosseous verrucous carcinoma evolving from keratinizing odontogenic cyst: report of a rare variant with review of the literature // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. – 2025. – Vol. 140, № 3. – P. e108–e109. – DOI: 10.1016/j.oooo.2025.04.129.
215. Yakin M., Kujan O. Histopathology of the mucosal potentially malignant (dysplastic) disorders // *Oral Histology and Oral Histopathology: A Practical Approach* / S.R. Prabhu, N. Narayana, N.A. Firth, D.F. Wilson (eds.). – Springer, Cham, 2025. – P. 589–605. – DOI: 10.1007/978-3-031-77481-2\_29.
216. Yuwanati M, Ramadoss R, Kudo Y, Ramani P, Senthil Murugan M. Prevalence of oral submucous fibrosis among areca nut chewers: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2023 Jul;29(5):1920-1926. doi: 10.1111/odi.14235. Epub 2022 May 20. PMID: 35503720.
217. Zdrojewski J., Nowak M., Nijakowski K. [et al.]. Potential immunohistochemical biomarkers for grading oral dysplasia: a literature review // *Biomedicines*. – 2024. – Vol. 12, № 3. – Art. 577. – DOI: 10.3390/biomedicines12030577.
218. Zhang J., Zhu H., Liu W., Miao J., Mao Y., Li Q. Prognostic and predictive molecular biomarkers in colorectal cancer // *Frontiers in Oncology*. – 2025. – Vol. 15. – DOI: 10.3389/fonc.2025.1532924.
219. Zheng L., Liu A.L., Qi T. [et al.]. Human telomerase RNA gene amplification detection increases the specificity of cervical intraepithelial neoplasia screening // *International Journal of Gynecological Cancer*. – 2010. – Vol. 20, № 6. – P. 912–917. – DOI: 10.1111/IGC.0b013e3181e5c424.
220. Zhou G., Liu Z., Myers J.N. TP53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma and their impact on disease progression and treatment response // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2016. – Vol. 117, № 12. – P. 2682–2692. – DOI: 10.1002/jcb.25592.
221. Zygogianni A.G., Kyrgias G., Karakitsos P., Psyrri A. Oral squamous cell cancer: early detection and the role of alcohol and smoking // *Head & Neck Oncology*. – 2011. – DOI: 10.1186/1758-3284-3-2.