

Молекулярно-генетические критерии малигнизации эпителия слизистой оболочки рта

А.А. Ивина^{1,2}, Ю.О. Тигай¹, О.Ф. Рабинович², В.А. Горячев¹, Д.Р. Фамилья Фриас¹, И.И. Бабиченко^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Введение. При обследовании слизистой оболочки рта (СОР), особенно при наличии в ней воспалительного процесса, не всегда видны начальные признаки малигнизации. На фоне воспалительного инфильтрата могут скрываться как доброкачественные изменения, такие как эпителиальная гиперплазия (ЭГ) и эпителиальная дисплазия (ЭД) разной степени выраженности, так и плоскоклеточный рак (ПР). Целью исследования стало изучение пролиферативной активности эпителиальных клеток СОР, экспрессии TERT и амплификации гена *TERC* теломеразы при развитии эпителиальной гиперплазии, дисплазии и ПР.

Материалы и методы. Для исследования сформированы четыре группы пациентов: 1-я группа – 16 пациентов (26,6%) с диагнозом «эпителиальная гиперплазия», 2-я группа – 16 пациентов (26,6%) с диагнозом «эпителиальная дисплазия низкой степени» (ЭДНС), 3-я группа – 13 человек (21,6%) с диагнозом «эпителиальная дисплазия высокой степени» (ЭДВС), 4-я группа – 15 (25%) с диагнозом «плоскоклеточный рак». Иммуногистохимические (ИГХ) и гистологические исследования проведены стандартным методом, оценивалась экспрессия к белку Ki-67 и активность теломеразы. FISH-исследование проводилось с применением ДНК-зондов LSP *TERC* и ССР3.

Результаты. Во всех исследуемых группах при ИГХ исследовании выявлены высокая пролиферация клеток и активность теломеразы. При изучении амплификации *TERC* участка РНК в третьей хромосоме методом FISH в 1-й группе амплификация практически отсутствовала и соотношение сигналов соответствовало 2:2 в 1,3% случаев, в остальных группах выявлялась амплификация гена *TERC*, во 2-й группе – в 83,9% случаев, в 3-й – в 97,3% и в 4-й – в 89,8%.

Заключение. Амплификация сигналов участка *TERC* в третьей хромосоме выявляется при озлокачествлении процесса, что может служить основным критерием для ранней диагностики малигнизации эпителия СОР.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак, эпителиальная дисплазия, амплификация *TERC*, теломераза

Для корреспонденции: Юлия Олеговна Тигай. E-mail: chen.juliya@gmail.com

Для цитирования: 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. Клини. эксп. морфология. 2023;12(4):23–31. DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.23-31.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 28.06.2023. Получена после рецензирования 12.07.2023. Принята в печать 20.11.2023.

Molecular genetic criteria for oral mucosal epithelial malignization

A.A. Ivina^{1,2}, Yu.O. Tigay¹, O.F. Rabinovich², V.A. Goryachev¹, D.R. Familia Frias¹, I.I. Babichenko^{1,2}

¹ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

² Central Research Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. When examining the oral mucosa (OM) in the presence of an inflammatory process, the initial signs of malignancy are not always visible. Amid an inflammatory infiltrate, benign changes such as epithelial hyperplasia (EH), epithelial dysplasia (ED) of varying severity, and squamous cell carcinoma (SCC) can be hidden. The aim of the paper was to study the proliferative activity of epithelial cells of the OM, TERT expression, and amplification of telomerase *TERC* gene in the development of epithelial hyperplasia, dysplasia, and SCC.

Materials and methods. We divided 60 patients into four groups: Group 1 with EH (n=16, 26.6%); Group 2 with low-grade epithelial dysplasia (LGED) [n=16, 26.6%]; Group 3 with high-grade epithelial dysplasia (HGED) [n=13, 21.6%]; and Group 4 with SCC (n=15, 25%). IHC and histological studies were carried out using standard methods; expression to Ki-67 protein and telomerase activity were evaluated. The FISH method was used with LSP *TERC* and CCP3 DNA probes.

Results. High-cell proliferation and telomerase activity were revealed by IHC study in all groups. Amplification of *TERC* RNA site in chromosome 3 by FISH in Group 1 was almost absent and showed a 2:2 signal ratio in 1.3% of cases; in other groups, the amplification of *TERC* gene was positive: in groups 2, 3, and 4 it was in 83.9%, 97.3%, and 89.8% of cases, respectively.

Conclusion. Amplification of *TERC* site signals in chromosome 3 is detected during malignization which may be the main criterion for early diagnosis of malignization of OM epithelium.

Keywords: squamous cell carcinoma, epithelial dysplasia, *TERC* amplification, telomerase

Corresponding author: Yulia O. Tigay. E-mail: chen.juliya@gmail.com

For citation: Ivina A.A., Tigay Yu.O., Rabinovich O.F., Goryachev V.A., Familia Frias D.R., Babichenko I.I. Molecular genetic criteria for oral mucosal epithelial malignization. Clin. exp. morphology. 2023;12(4):23–31. (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.23-31.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 28.06.2023. **Received in revised form** 12.07.2023. **Accepted** 20.11.2023.

Введение

В современном мире с каждым годом растет число онкологических заболеваний, включая рак головы и шеи, в связи с чем данная патология является одной из наиболее актуальных проблем в медицине. В 2021 году в Российской Федерации выявлено 580 415 новых случаев злокачественных новообразований. Прирост данного показателя по сравнению с 2020 годом составил 4,4% [1]. По оценкам Е.Н. Беляковой, в 2018 году в разных странах было зарегистрировано 705 078 новых случаев заболеваний и 358 144 случая смерти от рака головы и шеи [2].

Ш.Ф. Джураева и соавт. считают, что рак никогда не возникает в здоровом органе и что всякий рак имеет свой предрак [3]. По данным И.М. Семченко, любое предраковое состояние слизистой оболочки рта (СОР) под действием неблагоприятных факторов может подвергаться озлокачествлению [4]. Обследовать СОР удобно, но, несмотря на это, клинически не всегда возможно определить наличие злокачественного процесса. Под хроническим воспалением СОР могут скрываться как доброкачественные изменения – эпителиальная гиперплазия (ЭГ), эпителиальная дисплазия (ЭД) разной степени выраженности, так и плоскоклеточный рак (ПР). Неопластические изменения, а именно трансформация ЭД в ПР, в настоящее время изучены недостаточно [5].

Прогноз для пациентов с ПР СОР остается неблагоприятным, агрессивность ПР заключается в его инвазивном росте и метастазировании в региональные лимфатические узлы. Пятилетняя выживаемость у пациентов с ПР СОР без метастазов в шейных лимфатических узлах составляет 75%, а у пациентов с метастазами в одном, двух или трех лимфатических узлах и более – 49, 30 и 13%, соответственно [6].

Для определения доброкачественного либо злокачественного течения заболевания применяют дополни-

тельные методы исследования. Чаще всего используют иммуногистохимический метод (ИГХ), который широко применяется для верификации диагнозов.

Белок Ki-67 является маркером выбора и используется практически во всех случаях диагностики злокачественных опухолей. Его экспрессия отражает уровень пролиферации клеток эпителия, который считается одной из характеристик опухолевого процесса. Данный маркер выявляется во всех фазах митотического цикла, кроме G₀ [7]. Согласно исследованию Е. Mizukoshi и S. Kaneko, активность пролиферации поддерживается и контролируется теломерами и теломеразой [8]. Теломеры – концевые участки хромосом, образованные специфической теломерной ДНК. Они укорачиваются при делении клеток вследствие неполной репликации концевых участков. Данный процесс контролирует теломераза (telomerase reverse transcriptase – TERT). Она представляет собой РНК-зависимую ДНК-полимеразу, содержащую белковый компонент и ассоциированную РНК, которая используется в качестве матрицы для добавления теломерных повторов. Теломераза блокирует концевую недорепликацию ДНК и тем самым удлиняет теломеры, что помогает опухолевым клеткам делиться бесконечно и неконтролируемо [9]. Для характеристики злокачественных опухолей в последнее время большое значение приобретает молекулярно-генетический метод выявления теломеразной активности клеток, основанный на изучении повреждений генома опухолевой клетки [10]. Широкое применение получил метод флуоресцентной гибридизации (fluorescence in situ hybridization – FISH), он позволяет идентифицировать хромосомы, хромосомноспецифичные области или однокопийные уникальные последовательности при помощи меченых зондов. Зонд представляет собой специально синтезированные фрагменты ДНК, которые комплементарны необходимому участку ДНК, поэтому

можно провести исследование как целой хромосомы, так и ее отдельного участка. Метод FISH позволяет оценить генетический статус отдельной клетки среди других клеток, и его можно выполнять на неделящихся клетках. Считается, что при ПР наблюдаются множественные хромосомные повреждения, которые сопровождаются потерей или увеличением генетического материала в хромосомах, что свидетельствует о геномной нестабильности в опухолевых клетках [11]. Известно, что высокая активность хромосомного участка 3q26, который кодирует РНК-субъединицу теломеразы *TERC* (telomerase RNA component), часто наблюдается в таких злокачественных опухолях как рак гортани, желудка, кишечника и матки [12].

Цель данного исследования – изучить пролиферативную активность эпителиальных клеток, экспрессию *TERT* и амплификацию гена *TERC* теломеразы при гиперплазии эпителия, формировании эпителиальной дисплазии и ПР СОР.

Материалы и методы

Материалом исследования служили биоптаты СОР 60 пациентов (25 женщин и 35 мужчин) отделения заболеваний слизистой оболочки рта с клиническими диагнозами «лейкоплакия» и «плоскоклеточный рак» и архивный материал лаборатории патологической анатомии НМИЦ ЦНИИСиЧЛХ Минздрава России за период с 2019 по 2021 год. Средний возраст пациентов составил 66,7 года.

При гистологическом исследовании установлены четыре диагноза: «эпителиальная гиперплазия» (ЭГ), «эпителиальная дисплазия низкой степени» (ЭДНС), «эпителиальная дисплазия высокой степени» (ЭДВС), «плоскоклеточный рак» (ПР). В настоящем исследовании использовали бинарную систему классификации дисплазии эпителия, в которой объединили ЭДНС и эпителиальную дисплазию средней степени (ЭДСС) [13].

Для исследования были выделены четыре группы: в 1-ю группу включили 16 пациентов (26,6%) с диагнозом «эпителиальная гиперплазия», во 2-ю группу – 16 пациентов (26,6%) с диагнозом «эпителиальная дисплазия низкой степени», в 3-ю группу – 13 пациентов (21,6%) с диагнозом «эпителиальная дисплазия высокой степени», в 4-ю группу – 15 пациентов (25%) с диагнозом «плоскоклеточный рак».

Гистологическое и ИГХ исследования биопсийного материала проводили согласно стандартному протоколу. Для определения пролиферативной активности клеток использовали мышинные моноклональные антитела к Ki-67 (клон MM1, Diagnostic Biosystems, США). Активность *TERT* оценивали с помощью кроличьих поликлональных антител (TRT, Abbiotec, США). Флуоресцентную гибридизацию *in situ* проводили с применением ДНК-зондов (LSP *TERC*/CCP3 FISH Probe Kit, CytoTest, США). Зонд LSP *TERC* обнаруживает активацию гена *TERC* в хромосоме, а зонд CCP3 –

центромеру третьей хромосомы и указывает на число хромосом.

Индекс пролиферации по Ki-67 рассчитывали, как отношение количества клеток с иммунореактивными ядрами к общему числу ядер эпителиальных клеток. Большая часть пролиферирующих клеток при ЭГ локализуется в нижних слоях эпителия, поэтому экспрессию белка Ki-67 определяли в 300 клетках базального и парабазального слоев. При ЭДНС и ЭДВС оценка проводилась в ростковом и шиповатом слоях. Подсчет Ki-67 положительных ядер клеток при ПР проводили в центральной и периферической зонах опухоли.

Активность теломеразы *TERT* при ИГХ исследовании определяли в виде наличия реакции в ядрах клеток. Экспрессию белка оценивали по интенсивности окрашивания ядер в коричневый цвет: 0 – окрашивание отсутствует, 1 – слабая интенсивность окрашивания, 2 – умеренная интенсивность окрашивания, 3 – выраженное окрашивание. Реакцию FISH исследовали при помощи флуоресцентного микроскопа Axio Imager M2 с фотофиксацией камерой AxioCam ERc 5s (Carl Zeiss, Германия), где положительная реакция LSP *TERC* проявлялась оранжевым цветом, а CCP3 зеленым. Амплификацию гена *TERC* оценивали, как положительную при наличии более двух оранжевых сигналов, а появление зеленых сигналов (от трех и больше) указывало на увеличение числа хромосом.

TERT теломеразу при ИГХ и *TERC* при FISH исследовали в тех же участках, где определяли пролиферативную активность клеток, в площади стандартных размеров (на единицу площади), при $\times 200$ для ИГХ и $\times 1000$ для FISH.

Статистический анализ осуществляли при помощи программы SPSS Statistics 23 version в среде Windows 10 (IBM Corporation, США) с использованием непараметрических методов статистики. Для парного сравнения групп применяли критерий Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони, для множественного межгруппового сравнения – метод Тьюки. Показатели индекса Ki-67 представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3), различия между группами признавали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Для метода FISH различия при сравнительном анализе методом Тьюки рассматривали как значимые при $p < 0,001$.

Результаты

При гистологическом исследовании ЭГ в препаратах выявлялся акантоз за счет увеличения количества клеток без признаков атипии на фоне пара- или гиперкератоза. Рост клеток наблюдался на фоне воспаления в собственной пластинке СОР. При изучении ЭДНС в эпителии отмечались нарушение рядности клеток и небольшое количество полиморфных клеток только в 1/2 эпителиального слоя, дифференцировка клеток сохранялась в верхних 2/3 эпителия. При ЭДВС в эпителии выявлялись выраженный клеточно-ядерный полиморфизм и высокая митотическая активность, которая

также отмечалась в клетках поверхностного эпителия. При гистологическом исследовании ПР определялись комплексы атипичных клеток плоского эпителия и инфильтрирующий рост в собственную пластинку СОР. Наблюдалось высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение в клетках, а также большое количество патологических митозов. При ороговевающем ПР СОР выявлялся дискератоз, который сопровождался появлением «раковых жемчужин». При неороговевающем ПР СОР отмечалась более выраженная тканевая и клеточная атипия по сравнению с ороговевающим ПР.

При ИГХ исследовании пролиферативной активности по Ki-67 при ЭГ иммунопозитивные клетки располагались только в ростковом слое и отсутствовали в шиповатом слое эпителия. В группе ЭДНС количество пролиферирующих клеток в ростковом слое было больше, чем при ЭГ, они отмечались в шиповатом слое. При ЭДВС пролиферирующие клетки выявлялись до поверхностного эпителиального слоя. В группе ПР активная пролиферация отмечалась во всех случаях,

и иммунореактивные клетки располагались в периферической и центральной зонах опухоли (рис. 1).

Между группами были выявлены статистически значимые различия индекса Ki-67 ($\chi^2=48,367$; $p<0,001$). Установлено, что ЭГ (Me=31,3 [28,0; 34,5]) отличается от ЭДНС (Me=40,3 [39,3; 43,2]) при уровне значимости $p=0,019$, от ЭДВС (Me=44,7 [39,8; 47,5]) и от ПР (Me=48,7 [54,0; 60,0]) при $p<0,001$. Значимые различия между ЭДНС и ЭДВС не выявлены ($p=1$). ПР по уровню пролиферативной активности значимо отличался от ЭДНС (Me=40,3; [39,3; 43,2]) при $p<0,001$, но не от ЭДВС (Me=44,7; [39,8; 47,5]) при $p=0,054$ (табл. 1).

Экспрессия теломеразы TERT обнаружена во всех случаях, окрашивание клеточных ядер соответствовало экспрессии Ki-67. В группе ЭГ выявлялось слабое окрашивание ядер клеток в базальном и парабазальном слоях, а в группе ЭДНС отмечалось дополнительное окрашивание клеток в нижней части шиповатого слоя, в группах ЭДВС и ПР наблюдалось интенсивное окрашивание клеточных ядер всех слоев и зон (рис. 2).

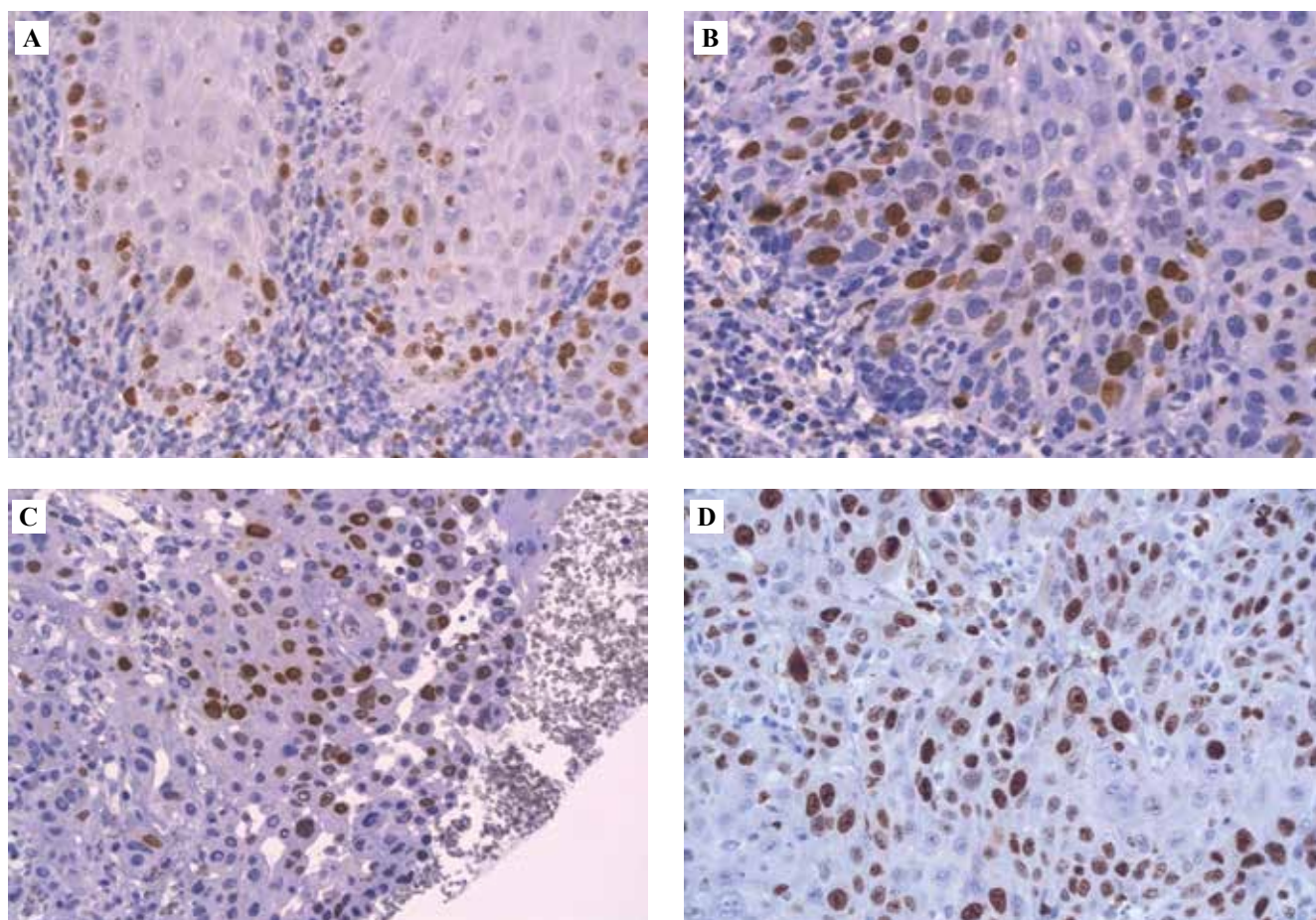


Рис. 1. Пролiferативная активность клеток в эпителии слизистой оболочки рта при гиперплазии (А), эпителиальной дисплазии низкой степени (В), эпителиальной дисплазии высокой степени (С) и плоскоклеточном раке (D). ИГХ реакция с антителами к Ki-67, окраска ДАБ – гематоксилин Майера, $\times 200$

Fig. 1. Proliferative cell activity in the epithelium of the oral mucosa in hyperplasia (A), low-grade epithelial dysplasia (B), high-grade epithelial dysplasia (C), and squamous cell carcinoma (D). IHC assay with Ki-67 antibodies, stain DAB – Mayer's hematoxylin, $\times 200$

При изучении *TERC* участка РНК в третьей хромосоме при ЭГ амплификация методом FISH выявлялась в 1,3% случаев, в 98,7% амплификация в ядрах клеток не выявлялась и характеризовалась как два оранжевых сигнала на фоне двух зеленых (2:2). При ЭДНС в 17,1% случаев соотношение сигналов составляло

2:2, при этом амплификация гена *TERC* отмечалась в 83,9% случаев и проявлялась в соотношении 2:3. При ЭДВС соотношение сигналов 2:2 наблюдалось в 2,7% случаев, а амплификация гена *TERC* в 97,3% в соотношении 2:3, 2:4, 2:5, 3:3. При ПР соотношение сигналов 2:2 присутствовало в 10,2% случаев, при этом

Таблица 1 | Table 1

Сравнительный анализ пролиферативной активности по Ki-67 в исследуемых группах методом Краскела–Уоллиса | Comparative analysis of Ki-67 proliferative activity in the groups by the Kruskal–Wallis test

Группы Groups	Пролиферативная активность по Ki-67 Ki-67 proliferative activity Me (Q1; Q3)	Парные сравнения Paired comparisons (p)					
		ЭГ–ЭДНС EH–LGED	ЭГ–ЭДВС EH–HGED	ЭГ–ПР EH–SCC	ЭДНС–ЭДВС LGED–HGED	ЭДНС–ПР LGED–SCC	ЭДВС–ПР HGED–SCC
ЭГ EH	31,3 (28,0; 34,5)	0,019	0,000	0,000	1,000	0,000	0,054
ЭДНС LGED	40,3 (39,3; 43,2)						
ЭДВС HGED	44,7 (39,8; 47,5)						
ПР SCC	54,0 (48,7; 60,0)						

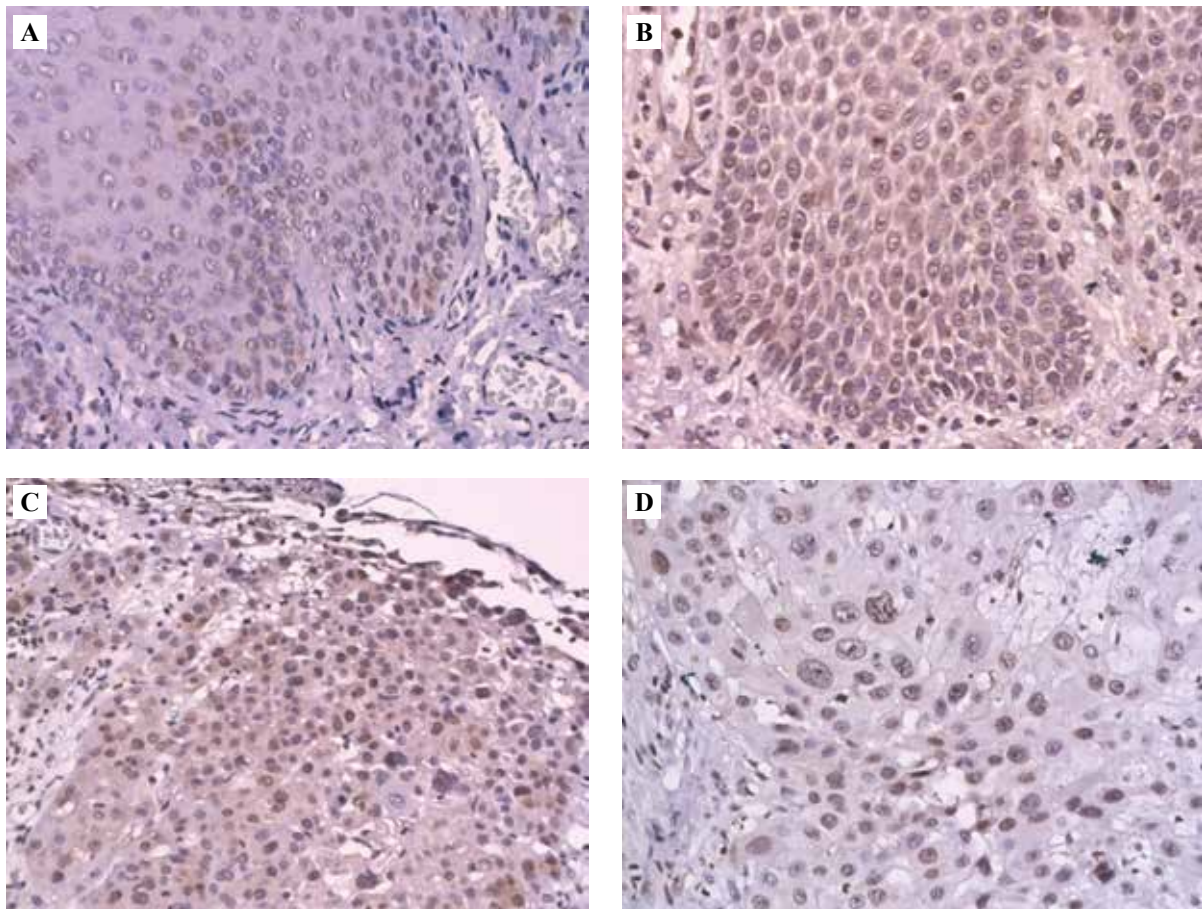


Рис. 2. Экспрессия теломеразы TERT в эпителии слизистой оболочки рта при гиперплазии (А), эпителиальной дисплазии низкой степени (В), эпителиальной дисплазии высокой степени (С) и плоскоклеточном раке (D). ИГХ реакция, экспрессия теломеразы TERT, окраска ДАБ – гематоксилин Майера, $\times 200$

Fig. 2. Expression of telomerase TERT in the epithelium of the oral mucosa in hyperplasia (A), low-grade epithelial dysplasia (B), high-grade epithelial dysplasia (C), and squamous cell carcinoma (D). IHC assay, TERT telomerase expression, stain DAB – Mayer's hematoxylin, $\times 200$

Множественные сравнения FISH сигналов между группами методом Тьюки |
Multiple comparisons of FISH signals between the groups by the Tukey's method

Группы Groups		Разность средней частоты случаев Difference of mean frequencies of cases	Стандартная ошибка Standard error	Значимость различий, p Significance of the differences, p
ЭГ EH	ЭДНС LGED	-11,43	3,73	<0,001
	ЭДВС HGED	-29,90	3,94	
	ПП SCC	-53,28	3,79	
ЭДНС LGED	ЭГ EH	11,43	3,73	
	ЭДВС HGED	-18,46	3,94	
	ПП SCC	-41,84	3,79	
ЭДВС HGED	ЭГ EH	29,90	3,94	
	ЭДНС LGED	18,46	3,94	
	ПП SCC	-23,37	4,00	
ПП SCC	ЭГ EH	53,28	3,79	
	ЭДНС LGED	41,84	3,79	
	ЭДВС HGED	23,37	4,00	

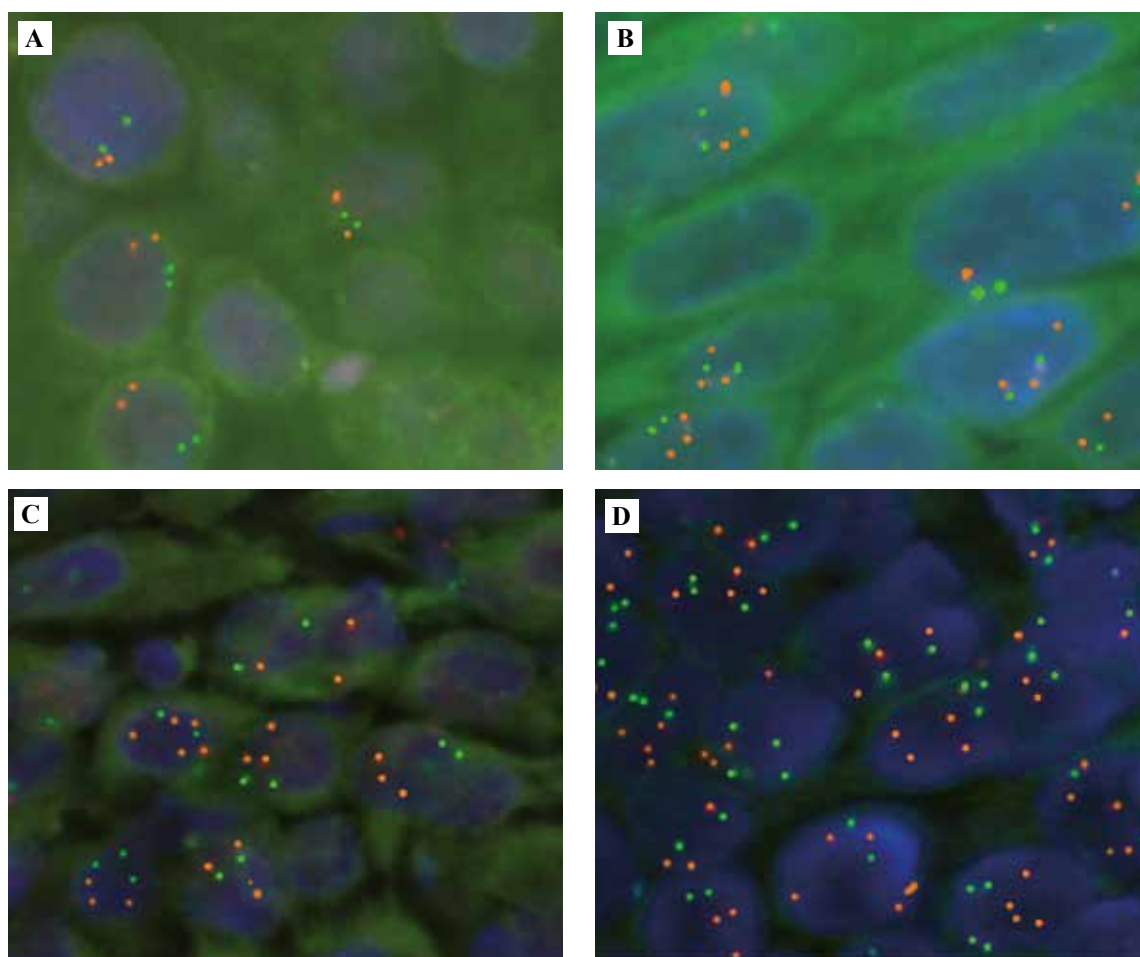


Рис. 3. Амплификация *TERC* методом FISH, $\times 1000$.

А – эпителиальная гиперплазия, В – эпителиальная дисплазия низкой степени, С – эпителиальная дисплазия высокой степени, D – плоскоклеточный рак

Fig. 3. Amplification of *TERC* by the FISH method, $\times 1000$.

A – epithelial hyperplasia, B – low-grade epithelial dysplasia, C – high-grade epithelial dysplasia, D – squamous cell carcinoma

Таблица 3 | Table 3

Показатели соотношения центромер третьей хромосомы и гена *TERC* в различных морфологических группах | Ratios of centromeres of chromosome 3 to the *TERC* gene in different morphological groups

Группы (число случаев) Groups (Number of cases)	Число случаев положительных реакций по гену <i>TERC</i> (%) Number of cases of positive reactions for the <i>TERC</i> gene (%)	Количество клеток, (%) Number of cells, (%)	Характеристики типов сигналов по зондам CCP3 и <i>TERC</i> (%) Characteristics of signal types by CCP3 and <i>TERC</i> probes (%)						
			2:2	2:3	2:4	2:5	3:3	3:4	4:4
ЭГ (16) ЕН (16)	5 (31,5%)	20 (1,2%)	1,3	–	–	–	–	–	–
ЭДНС (16) LGED (16)	10 (62,5%)	203 (12,6%)	17,1	83,9	–	–	–	–	–
ЭДВС (13) HGED (13)	10 (76,9%)	405 (31,1%)	2,7	61,9	3,9	25,8	5,7	–	–
ПР (15) SCC (15)	15 (100%)	818 (54,5%)	10,2	11,3	3,1	18,5	25,4	24,6	6,9

соотношение сигналов составляло 2:3, 2:4, 2:5, 3:3, 3:4 и 4:4 в 89,8% случаев (рис. 3). Частота амплификации по зонду LSP *TERC* (оранжевый) увеличивается от ЭДНС к ПР (табл. 2). Для метода FISH сравнительный анализ методом Тьюки показал достоверность полученных результатов (табл. 2). Амплификация сигналов по зонду CCP3 (зеленый) присутствует в 5,7% случаев при ЭДВС и в 56,9% при ПР. Данный сигнал характеризует центромеры третьей хромосомы, что свидетельствует о триплоидии и тетраплоидии (табл. 3).

Обсуждение

Полученные результаты изучения пролиферативной активности подтверждают сведения A.R. Gadbaei et al. о том, что пролиферативная активность клеток эпителия напрямую зависит от степени клеточной и тканевой атипии многослойного плоского эпителия [14]. Маркер Ki-67 может предоставить уникальную информацию о клиническом состоянии и прогнозе заболевания.

По данным M. Jie et al., TERT обычно экспрессируется в клетках с высокой степенью самообновления и отсутствует в дифференцированных соматических клетках [15]. Авторы показали, что увеличение активной теломеразы значительно способствует инициации и развитию рака. Y. Liu et al. при изучении предраковых состояний и рака гортани описывали активную теломеразу как переходное событие в прогрессировании ПР [16]. Результаты этой работы свидетельствуют о том, что переход от ЭГ к ПР связан с прогрессирующим накоплением генетических изменений эпителиальных клеток, которые приводят к образованию клональной популяции малигнизированных клеток.

Согласно данным H. Liu et al., которые проводили исследование прогрессирования ЭД шейки матки до инвазивного рака, а также B. Singh et al., изучавших ПР СОР с использованием амплификации локуса *TERC*, была обнаружена геномная амплификация, которая значительно коррелировала с тяжестью дисплазии эпителия [17, 18]. Авторы исследований определили,

что активность *TERC* характерна для злокачественной трансформации эпителиальных клеток. В нашем исследовании при ЭГ амплификация *TERC* наблюдалась достаточно редко – в 1,3% случаев, что может свидетельствовать о доброкачественном процессе. При ЭДНС и ЭДВС, а также при ПР выявлялась амплификация гена *TERC*, что коррелировало со степенью дисплазии эпителия. Полученные результаты свидетельствуют о наличии изменений генома клеток, характерных для проявлений малигнизации эпителия, которые обнаруживаются при гистологическом и ИГХ исследованиях.

Заключение

В данной работе были изучены пролиферативная активность клеток эпителия, активность теломеразы TERT, а также амплификация гена *TERC* при возникновении в многослойном плоском эпителии гиперплазии, дисплазии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки рта. По результатам исследования увеличение количества сигналов хромосомного участка *TERC* выявляется при озлокачествлении процесса, что может служить основным критерием для ранней диагностики злокачественных образований слизистой оболочки рта.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.А. Ивина, И.И. Бабиченко. Сбор и обработка материала – Ю.О. Тигаи, О.Ф. Рабинович, В.А. Горячев, Д.Р. Фамилья Фриас. Написание текста – Ю.О. Тигаи. Редактирование – И.И. Бабиченко, А.А. Ивина.

Authors contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.A. Ivina, I.I. Babichenko. Collected the data and performed the analysis – Yu.O. Tigay, O.F. Rabinovich, V.A. Goryachev, D.R. Familia Frias. Wrote the paper – Yu.O. Tigay. Edited the manuscript – I.I. Babichenko, A.A. Ivina.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Кульбакин Д.Е., Чойзонов Е.Л., Толмачев И.В., Стариков Ю.В., Старикова Е.Г., Каверина И.С.* Искусственный интеллект в онкологии: области применения, перспективы и ограничения. *Вопросы онкологии.* 2022;68(6):691–699. DOI: 10.37469/0507-3758-2022-68-6-691-699.
Kulbakin DE, Choizonov EL, Tolmachev IV, Starikov IuV, Starikova EG, Kaverina IS. Artificial intelligence in oncology: areas of its application, prospects and limitations. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology.* 2022;68(6):691–699 (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2022-68-6-691-699.
2. *Белякова Е.Н., Брико Н.И., Лопухов П.Д.* Характеристика заболеваемости раком головы и шеи, потенциально ассоциированным с вирусом папилломы человека, в России в 2007–2018 гг. *Профилактическая медицина.* 2021;24(2):30–36. DOI: 10.17116/profmed20212402130.
Belyakova EN, Briko NI, Lopukhov PD. Characteristics of the head and neck cancer incidence potentially associated with human papillomavirus in Russia in 2007–2018. *Profilakticheskaya Meditsina.* 2021;24(2):30–36 (In Russ.). DOI: 10.17116/profmed20212402130.
3. *Джурбаева Ш.Ф., Чистенко Г.Н., Терехова Т.Н., Иконникова А.В.* Рак полости рта: факторы риска и скрининг. Современная стоматология. 2020;2(79):3–7. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43991995> (получено 26.06.2023).
Dzhurbaeva ShF, Chistenko GN, Terekhova TN, Ikonnikova AV. Oral cancer: risk factors and screening. *Sovremennaya stomatologiya.* 2020;2(79):3–7. Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43991995> (accessed 26.06.2023).
4. *Семченко И.М., Макарова О.В., Пронорович О.Н.* Предраковые поражения полости рта. Современная стоматология. 2021;4(85):31–41. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47832565> (получено 26.06.2023).
Siomchenko IM, Makarova OV, Pronorovich ON. Precancerous lesions of the oral cavity. *Sovremennaya stomatologiya.* 2021;4(85):31–41. Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47832565> (accessed 26.06.2023).
5. *Волкова Л.В., Шушвал М.С.* Морфологическая характеристика диспластических процессов в слизистой оболочке, прилегающей к опухоли, при раке желудка кишечного типа. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(3):47–54. DOI 10.31088/CEM2021.10.3.47-54.
Volkova LV, Shushval MS. Morphological characteristics of dysplasia in the mucous membrane adjacent to the tumor in intestinal type gastric cancer. *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(3):47–54 (In Russ.). DOI 10.31088/CEM2021.10.3.47-54.
6. The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of head and neck tumours. 4th ed. Lyon: IARC, 2017. 347 p.
7. *Gadbail AR, Chaudhary M, Sarode SC, Gondivkar S, Tekade SA, Zade P et al.* Ki67, CD105, and α -SMA expression supports the transformation relevant dysplastic features in the atrophic epithelium of oral submucous fibrosis. *PLoS One.* 2018;13(7):e0200171. DOI: 10.1371/journal.pone.0200171.
8. *Mizukoshi E, Kaneko S.* Telomerase-targeted cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8):1823. DOI: 10.3390/ijms20081823.
9. *Егоров Е.Е.* Теломеры, теломераза, канцерогенез и мера здоровья. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2010;3(2):184–197. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15280404> (получено 26.06.23).
Egorov EE. Telomeres, telomerase, oncogenesis and measure of health. *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice.* 2010;3(2):184–197 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15280404> (accessed 26.06.2023).
10. *Боженко В.К., Захаренко М.В., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л., Сенчукова А.Л., Станоевич У.С. и др.* Исследование уровня экспрессии гена *TERT* в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2020;20(3):15–39. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/wforgp> (получено 26.06.2023).
Bozhenko VK, Zakharenko MV, Kulnich TM, Dzhikiya EL, Senchukova AL, Stanoevich US et al. Investigation of the level of TERT gene expression in the colon mucosa in various pathologies. *Vestnik of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology.* 2020;20(3):15–39 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/wforgp> (accessed 26.06.2023).
11. *Курчин В.П., Смолякова Р.М., Бамбиза А.В., Матусевич В.А.* Молекулярно-генетическое профилирование плоскоклеточного рака легкого. Экологический вестник. 2016;1(35):99–104. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44548873> (получено 26.06.2023).
Kurchyn VP, Smolyakova RM, Bambiza AV, Matusевич VA. Molecular genetic profiling squamous lung cancer. *Ekologicheskii Vestnik.* 2016;1(35):99–104 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44548873> (accessed 26.06.2023).
12. *Скворцов Д.А., Рубцова М.П., Зверева М.Э., Киселев Ф.Л., Донцова О.А.* Регуляция теломеразы в онкогенезе. *Acta Naturae.* 2009;1(1):51–67. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15113854> (получено 26.06.2023).
Skvortsov DA, Rubtsova MP, Zvereva MI, Kiselev FL, Dontsova OA. Regulaciya telomerazy v onkogeneze (Regulation of telomerase in oncogenesis). *Acta Naturae.* 2009;1(1):51–67 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15113854> (accessed 26.06.2023).
13. *Nankivell P, Williams H, Matthews P, Suortamo S, Snead D, McConkey C et al.* The binary oral dysplasia grading system: validity testing and suggested improvement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;115(1):87–94. DOI: 10.1016/j.oooo.2012.10.015.
14. *Gadbail AR, Sarode SC, Chaudhary MS, Gondivkar SM, Tekade SA, Yuwanati M et al.* Ki67 Labelling Index predicts clinical outcome and survival in oral squamous cell carcinoma. *J Appl Oral Sci.* 2021;29: e20200751. DOI: 10.1590/1678-7757-2020-0751.
15. *Jie MM, Chang X, Zeng S, Liu C, Liao GB, Wu YR et al.* Diverse regulatory manners of human telomerase reverse transcriptase. *Cell Commun Signal.* 2019;17(1):63. DOI: 10.1186/s12964-019-0372-0.
16. *Liu Y, Dong XL, Tian C, Liu HG.* Human telomerase RNA component (hTERC) gene amplification detected by FISH in precancerous lesions and carcinoma of the larynx. *Diagn Pathol.* 2012;7:34. DOI: 10.1186/1746-1596-7-34.

17. Liu H, Liu S, Wang H, Xie X, Chen X, Zhang X *et al.* Genomic amplification of the human telomerase gene (hTERT) associated with human papillomavirus is related to the progression of uterine cervical dysplasia to invasive cancer. *Diagn Pathol.* 2012;7:147. DOI: 10.1186/1746-1596-7-147.
18. Singh B, Stoffel A, Gogineni S, Poluri A, Pfister DG, Shaha AR *et al.* Amplification of the 3q26.3 locus is associated with progression to invasive cancer and is a negative prognostic factor in head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Pathol.* 2002;161(2):365–71. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64191-0.

Информация об авторах

Анастасия Анатольевна Ивина – доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии РУДН им. Патриса Лумумбы.

Юлия Олеговна Тигай – ассистент кафедры патологической анатомии РУДН им. Патриса Лумумбы.

Ольга Филипповна Рабинович – доктор медицинских наук, заведующая отделением патологии слизистой оболочки полости рта ЦНИИСиЧЛХ.

Вячеслав Александрович Горячев – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова РУДН им. Патриса Лумумбы.

Диана Росина Фамилья Фриас – ассистент кафедры патологической анатомии РУДН им. Патриса Лумумбы.

Игорь Иванович Бабиченко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии РУДН им. Патриса Лумумбы, заведующий лабораторией патологической анатомии ЦНИИСиЧЛХ.

Author information

Anastasia A. Ivina – Dr. Sci. (Med), Associate Professor, Department of Anatomic Pathology, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia;

<https://orcid.org/0000-0001-8387-4413>

Yulia O. Tigay – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-6500-9220>

Olga F. Rabinovich – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathology of the Oral Mucosa, Central Research Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery.

<https://orcid.org/0000-0002-1018-9017>

Vyacheslav A. Goryachev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, V.A. Frolov Department of General Pathology and Pathological Physiology, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-2787-5494>

Diana R. Familia Frias – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-7878-2901>

Igor I. Babichenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anatomic Pathology, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; Head of the Laboratory of Anatomic Pathology, Central Research Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery.

<https://orcid.org/0000-0001-5512-6813>