

© Кіреєва С.С., Юрченко Н.П., Іщенко В.В., Процик В.С., Сидоренко М.В.
УДК616.31-006.6:611-018.07.

ЗМІНИ У СЛИЗОВІЙ НА ВІДСТАНІ ВІД СФОРМОВАНОЇ ПУХЛИНИ ТА ПРОФІЛЬ БІЛКІВ P53 ТА KI-67 У КЛІТИННИХ ШАРАХ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ У ХВОРИХ НА ПЛОСКОКЛІТИННИЙ РАК ПОРОЖНИНИ РОТА

Кіреєва С.С., Юрченко Н.П., Іщенко В.В., Процик В.С., Сидоренко М.В.

Відділення біотехнічних проблем діагностики ІПКК НАН України, м. Київ,
Інститут раку МОЗ України, м. Київ,
Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»,
м. Полтава

Исследовалась слизистая на расстоянии от сформировавшейся опухоли и профиль белков p53 и Ki-67 в клеточных слоях эпителия слизистой у больных плоскоклеточным раком полости рта. В работе использованы биоптаты слизистой, взятые на расстоянии от сформировавшейся опухоли с визуально макроскопически неизменной ткани, от 18-ти пациентов (мужчины, возраст 43-79 лет), больных плоскоклеточным раком полости рта. Большинство исследуемых больных имели длительный статус курения и употребления алкоголя, а также контакт с канцерогенами и мутагенами. Иммуногистохимическое выявление белков p53 и Ki-67 проводили, используя первичные моноклональные антитела (антиген p53, clone DO-7 антиген Ki-67, clone MIB-1, система визуализации En Vision, "Daco Cytomation", Denmark). Гистологический анализ слизистой полости рта на расстоянии от сформировавшейся карциномы с оценкой профиля белков p53 та Ki-67 выявил все стадии патологической прогрессии в эпителии: гиперплазия (2 набл.), дисплазия (средняя, 2 набл., высокая, 3 набл.), дисплазия с развитием интраэпителиального рака (Ca in situ), (4 набл.) и плоскоклеточный рак (7 набл.), а также зависимость от гистопатологических изменений в слизистой экспрессию p53 и Ki-67 в клетках супрабазальных слоев эпителия. Показано, что микроскопические поля клеток с экспрессией p53 и Ki-67 в супрабазальных слоях эпителия являются индикатором трансформированного фенотипа и могут быть очагом развития вторично - первичного рака и рецидива в слизистой полости рта после проведенной терапии. Иммуногистохимическое выявление клеток с p53 и Ki-67 может быть использовано для объективизации оценки степени дисплазии и риска рака при гистологической диагностике.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак полости рта, слизистая на расстоянии от опухоли, шары эпителия слизистой, биомаркеры p53, Ki-67.

Захворюваність на рак порожнини рота впродовж останнього десятиріччя має неухильну тенденцію до зростання в індустріальних країнах, а також в Україні, що відображає загально світову тенденцію. До основних факторів ризику раку порожнини рота належать тривалий термін тютюнокуріння та вживання алкоголю, дія інших факторів, що пошкоджують ДНК, та індивідуальна чутливість до них [1, 2, 5, 8, 9, 20].

Рак порожнини рота характеризується агресивно-інвазивним ростом, часто розвитком первинно-множинних і вторинно-первинних пухлин та локального рецидиву і вторинних пухлин після проведенної сучасної терапії. Пацієнти, які успішно пройшли лікування, мають високий ризик розвитку вторинних пухлин у дихальному та травному шляхах. Ризик розвитку вторинно-первинних пухлин у них оцінюється в 20% і щорічно в 4-6%. [3, 5, 9, 13,18]. Тому доцільним постає розробка нових стратегій для діагностики та оцінки ризику вторинно-первинного раку та локального рецидиву у слизовій порожнини рота після лікування.

Загально визнано, що епітеліальний канцерогенез - багатостадійний процес, який базується на послідовних генетичних змінах з подальшим клональним ростом генетично змінених клітин та формуванням трансформованого фенотипу, а далі інвазивного фенотипу. [3, 4, 10, 12]. У 1953 році Слотер з співавторами вперше на основі даних, отриманих при дослідженні гістологічних змін в епітеліальній тканині, що оточує пухлину, запропонували концепцію "поля

трансформації" [15]. Сучасні молекулярно-генетичні дослідження підтвердили і поглибили морфологічну концепцію "поля трансформації" чи "ефекту поля" при формуванні епітеліальних пухлин. Запропоновано пояснення розвитку первинно-множинних пухлин та локально повторного раку з "поля трансформації", яке описано в таких системах органів як ротова порожнина, ротоглотка та глотка, легені, вульва, стравохід, шийка матки, молочна залоза, шкіра, пряма кишка і сечовий міхур. Поля цих клітин для раку порожнини рота, легень, шкіри та молочної залози можна розпізнати по наявності мутацій у гені супресорі пухлинного росту P53 чи аномальній акумуляції його ядерного білку p53 у клітинах. Мутації в гені P53 вважаються початковою подією в розвитку карцином у слизовій порожнини рота та дихального шляху і є показником прогресії патологічного фенотипу, що має вже генетичні зміни в клітинах [3, 4, 5,8, 9, 11, 14, 17, 19, 21]. У свою чергу проліферація клітин є ключовою характеристикою, що також обумовлює канцерогенез та агресивність пухлини. Визначення рівня експресії ядерного білку проліферації Ki-67 дозволяє сьогодні об'єктивно оцінити проліферативну активність при передпухлинних станах та пухлин епітеліального генезу [19]

Мета роботи: Оцінити гістологічні зміни та профіль білків p53 та Ki-67 у клітинних шарах епітелію слизової на відстані від сформованої пухлини у хворих на

рак порожнини рота для об'єктивізації змін у слизовій та оцінки ризику раку.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використано біоптати слизової на відстані від сформованої пухлини з візуально макроскопічно незміненої тканини, взяті у 18-ти пацієнтів (чоловіки, вік 43-79 років), хворих на плоскоклітинний рак порожнини рота. Всі діагнози раку верифіковані у гістологічній лабораторії Інституту раку МОЗУ. Дослідження виконувались згідно правил комітету з етики.

Більшість досліджених пацієнтів мали тривалий статус тютюнокуріння (15 з 18 спост. статус куріння >20 р. > 20 цигарок в день) і вживання алкоголю та контакт з канцерогенами та мутагенами.

Для дослідження біоптати брали зі слизової на відстані від пухлини з візуально макроскопічно незміненої тканини. Матеріал фіксували у 10% забуференому нейтральному формаліні. Обробку матеріалу проводили за традиційною гістологічною технікою, препарати фарбували гематоксиліном та еозином для гістологічної діагностики, решта препаратів використовували для імуногістохімічних досліджень. Зміни у слизовій оцінювались згідно критеріїв міжнародної гістологічної класифікації (UICC) [16].

Для визначення білків p53 та Ki-67 використовували імуногістохімічні технології. Імуногістохімічне виявлення біомаркерів p53 та Ki-67 проводили, використовуючи первинні моноклональні антитіла (антиген p53, clone DO7 антиген Ki-67, clone MIB-1, система візуалізації En Vision, "Daco Cytomation", Denmark). Негативний контроль проводили без первинного антитіла. Забарвлення білків здійснювали за допомогою хромогену-3-діамінобензидину тетрахлориду (ДАБ). Препарати дофарбовували гематоксиліном та еозином. Результати імуногістохімічної реакції оцінювали шляхом підрахунку кількості позитивно забарвлених клітин. Інтенсивність p53 по імуногістохімічній реакції оцінювали наполовину кількісною методикою, яка враховувала відсутність та наявність клітин з біомаркером, а також інтенсивність забарвлення згідно рівнів градації: 0 – негативна 0(-), відсутність клітин з p53, 1-а градація – позитивна, 1(+), невелика кількість клітин з p53 зі слабким забарвленням; 2-а градація – середній рівень наявності клітин з p53, 2(++), та середньої інтенсивності забарвлення; 3-а градація - велика кількість клітин з p53, 3(+++) та інтенсивне забарвлення [11].

Рівень мічених клітин з Ki-67 визначали у відсотках; підраховували відсоток клітин з біомаркером у 10-ти полях по 100 клітин, визначали середній відсоток і його показник оцінювали як індекс мічення (IM %).

Досліджені білки у клітинах епітелію слизової на відстані від пухлини оцінювались у клітинах базального, парабазального шару і супрабазальних шарів епітелію та в залежності від гістологічних змін у слизовій.

Результати та їх обговорення

Проведений аналіз анамнезу хворих показав, що рак у слизовій порожнини рота формувався переважно на фоні тривалого тютюнокуріння та за дії на організм мутагенів та канцерогенів, визначених згідно реєстру BOO3 (табл. 1).

Гістологічний аналіз слизової порожнини рота на відстані від сформованої карциноми з оцінкою профілю біомаркерних білків злоякісності p53 та Ki-67 виявив усі стадії патологічної прогресії в епітелії: від гіперплазії епітелію до гіперплазії з переходом у дисплазійний епітелій різного ступеня прояву, і до дисплазій з розвитком інтраепітеліального раку (*Ca in situ*) та раку. Індивідуальний аналіз розподілу клітин з p53 та Ki-67 виявив особливості як у рівні аномальної акумуляції білку p53 і рівні експресії Ki-67, так і у розподілі цих біомаркерів у клітинних шарах епітелію дистантної слизової. Рівень клітин з p53 та Ki-67 у супрабазальних шарах епітелію по відношенню до їх рівнів у базальному та парабазальному шарі у переважній більшості спостережень мав чітке зростання в залежності від ступеню дисплазії, у спостереженнях інтраепітеліальному раку та раку (табл. 1).

Слід відмітити, що тільки в одному спостереженні у дистантній слизовій, де була діагностована гіперплазія епітелію, не було визначено ні аномальної акумуляції білку p53 у клітинах, ні експресії Ki-67. Це дало підстави оцінити зміни у цій слизовій як реактивну гіперплазію. Друге спостереження, де гістологічно також була діагностована гіперплазія, акумуляції білку p53 у клітинах епітелію не виявлено, а експресія білку проліферації Ki-67 визначена у клітинах супрабазальних шарів, де у нормі він не експресується. Це свідчить про появу у цій гіперплазії серед клітин супрабазальних шарів проліферуючих клітин, що свідчить про порушення кінцевого дозрівання цих клітин. На прикладах цих двох гіперплазій, визначених гістологічно, видно, що вже гіперплазії у слизовій можуть відрізнятися між собою і їх відмінності можуть об'єктивно діагностуватись тільки із залученням до діагностики біомаркерів злоякісності. У спостереженнях дисплазій, що гістологічно були визначені як дисплазії середнього ступеню (2 спост.), аномальна акумуляція p53 визначена в клітинах усіх шарів епітелію як у базальному, де цей білок у нормі взагалі не експресується, так і у супрабазальних шарах епітелію, але з різним рівнем акумуляції. Експресія Ki-67 визначена у незначній кількості клітин (IM 0,5%) лише у одному спостереженні. Проведений аналіз свідчить, що гістологічно визначені дисплазії як середня, можуть мати клітини з аномальною акумульованим p53. Серед дисплазій, де гістологічні зміни можна було оцінити як дисплазії високого ступеню, 5 спостережень за рівнем IM p53 та IM Ki-67 наближались до їх показників у пухлині і були оцінені як інтраепітеліальний рак (*Ca in situ*). Дисплазії, що мають клітини з p53 у всіх шарах епітелію, а особливо у супрабазальних шарах, а також проліферуючі клітини у супрабазальних шарах, можуть швидко прогресувати після терапії пухлини, і слизова хворого з такою топографією цих біомаркерів потребує динамічного спостереження [6, 7]. Отримані дані свідчать, що виявлення клітин з p53 та Ki-67 у супрабазальних шарах дисплазійного епітелію та визначення їх рівня за індексом мічення клітин (IM %) може бути використано для об'єктивізації оцінки ступеня дисплазії при гістологічній діагностиці. Згідно сучасної гістологічної діагностики високий ступінь дисплазії у слизовій розцінюється як інтраепітеліальний рак [44].

Таблиця 1.

Рівень та топографія клітин з р53 та Ki-67 у шарах епітелію слизової на відстані від сформованої пухлини в залежності від гістопатологічних змін у слизовій у хворих на плоскоклітинний рак порожнини рота

№ п/п	№ реєстрації	Спостереження, вік, стать	Статус куріння (кількість років, ц/д) Алкоголь (-, +), інші чинники, що пошкоджують ДНК	Гістологічний діагноз змін у слизовій на відстані від пухлини з урахуванням профілю р53, Ki-67	Рівень р53, локалізація у шарах епітелію слизової	Рівень Ki-67, локалізація у шарах епітелію слизової, (ІМ, %)
1	2	3	4	5	6	7
1	14	О-ко 43, ч.	25р<20ц (++) бензпірен	Гіперплазія	0 (-)	0,0
2	7	Л-да 64, ч.	35р>20ц 15р(-) (+) хлор	Гіперплазія	0 (-)	3,6 супрабазальні
3	6	Я-ша 59, ч.	45р., 60ц (+++) бензпірен	Дисплазія (середня)	2 (++) супрабазальні, парабазальний, базальний	0,5 Супрабазальні (ближче до пара базального)
4	10	Л-та 79, ч.	60р<20ц (++) бензпірен	Дисплазія (середня)	1(+) супрабазальні, пара- базальний, базальний	0,0
5	8	В-в 69, ч.	50р., 15ц (++)	Дисплазія (висока)	1(+) парабазальний, базальний,	5,8 супрабазальні (поверхневі ша- ри)
6	5	Ш-ня 62, ч.	32р>10ц (-), ліквідатор нас- лідків ЧАЕС	Дисплазія (висока)	2(++) супрабазальні (групками), Парабазальний, база- льний.	7,1 супрабазальні
7	4	Т-ч 63, ч	33р., 20ц (-)	Дисплазія (висока)	2 (++) супрабазальні	12,0 супрабазальні
8	20	Р-ч 68, ч.	49р., 20ц (+) бензпірен, лаки, розчинники	Дисплазія (висока), інтраепітеліальний рак.	1(+), супрабазальні	5,5 супрабазальні парабазаль- ний(поодинокі)
9	2	Б-й 63, ч.	30р., 15ц. (+), рентген опромінення	Дисплазія (висока). інтраепітеліальний рак	3(+++) супрабазальні	9,0 супрабазальні, пухлина, парабазальні (поодинокі)
10	16	Неб-й, 55, ч	22р.20ц. (+) γ-опромінення	Дисплазія (висока), інтраепітеліальний рак	2 (++) супрабазальні	7,3 супрабазальні
11	21	Я-ов 55, ч.	Некур.(-) (+) γ-опромінення	Дисплазія (висока), інтраепітеліальний рак	2 (++) супрабазальні	5,0 супрабазальні, парабазальний
12	18	С-сь 65, ч.	Некур.(-) (+) γ-промінення,	Плоскоклітинний рак	2 (++) супрабазальні парабазальний базальний	13,1 супрабазальні, пухлина
13	3	К-ко 53, ч.	36р., 10ц (+), гербіциди, інсектициди	Плоскоклітинний рак	2 (++) супрабазальні	7,2 супрабазальні, пухлина
14	1	К-к 52, ч.	30р>20ц (-)	Плоскоклітинний рак	1 (+) супрабазальні. пухлина	7,3 супрабазальні, парабазальний, пухлина
15	22	Філ-ов, 43, ч.	29р.,20ц. (+) Ліквідатор ЧАЕС	Плоскоклітинний рак	2 (++) супрабазальні, пухлина	7,8 супрабазальні, пухлина парабазальний
16	15	Ш-як 77, ч.	Некур.(-) (+) бензпірен	Плоскоклітинний рак	3(+++) в усіх шарах і у пухлині	13,4 супрабазальні, пухлина парабазальний (поодинокі)
17	17	К-к, 69, ч.	49р.,40 ц. (+), бензпірен	Плоскоклітинний рак	3(+++) пухлина (комплекси)	5,8 супрабазальні
18	11	Ку-ко, 44, ч.	15 р., 40ц. (+), свинець	Плоскоклітинний рак	3(+++) пухлина	10,2 супрабазальні, пухлина

У спостереженнях інтраепітеліального раку та раку показники p53 та Ki-67 зростали і клітини з цими біомаркерами локалізувались переважно у супрабазальних шарах ще збереженого поверхневого епітелію та у пухлинних клітинах.

Отримані дані слугують підтвердженням концепції "поля трансформації" Слотера [15,] і демонструють наявність у слизовій полів, де формуються морфологічні стадії епітеліального канцерогенезу за постійної дії на слизову порожнину рота епідеміологічних факторів ризику, визначених з анамнезу, на фоні дії яких у цих осіб і розвинулась карцинома. Виявлені у слизовій на відстані від розвинутої пухлини всі етапи гістопатологічної прогресії трансформованого фенотипу до розвитку інтраепітеліального раку (*Ca in situ*) та раку свідчать, що у слизовій на відстані від пухлини існують поля трансформації, із яких і розвинулись дисплазії та визначені нами карциноми. Ці поля трансформації, а також уже сформовані передпухлинні стани у слизовій, що мають у своєму складі генетично змінені та проліферуючі клітини, можуть після терапії представляти ризик розвитку вторинно-первинних пухлин та рецидиву [3,4,5,14,17,18,19,21].

Висновки

1. Виявлені в слизовій на відстані від сформованої пухлини мікроскопічні поля епітеліальних клітин з комплексом ознак трансформованого фенотипу-аккумуляції у клітинах білку гену супресора пухлинного росту p53 та експресії біомаркерного білку проліферації Ki-67 у поверхневих супрабазальних шарах епітелію потенційно можуть бути вогнищем розвитку вторинно-первинного раку та рецидиву у слизовій порожнини рота після проведеного лікування.

2. Стан слизової вухорих на рак порожнини рота після проведеної сучасної терапії потребує моніторингу із залученням біомаркерів злоякісності p53 та Ki-67 для оцінки процесів, що відбуваються у слизовій.

3. Імуногістохімічне виявлення клітин з p53 та Ki-67 у супрабазальних шарах дисплазійного епітелію може бути використано для об'єктивізації оцінки ступеня дисплазії та ризику раку при гістологічній діагностиці.

Література

- Шалимов С.А., Федоренко З.П., Гулак Л.О. Структура захворюваності населення України злоякісними новообразованиями //Онкологія.– 2007.–Т.3.(2-3)–С.91-95.
- Черниченко І. О., Литвиненко О.М. Особливості формування канцерогенного навантаження продуктів паління на організм // Довкілля та здоров'я – 2006.– Т.36(1).– С.–46-50.
- Almadori G., Bussu A., Cadoni G., Galli J., Rigante M., Artuso A., Maurizi M. Multistep laryngeal carcinogenesis helps our understanding of the field cancerisation phenomenon: a review // European J. of Cancer –2004.– N.40.–P. 2383-2388.
- Braakhuis B J M., Tabor M P., Kummer J. A., Leemans C R., Brakenhoff R H. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: Evidence and clinical implications // Cancer Res. – 2003. – N.63.–P. 1727-1730.
- Cloos J., Leemans Ch. R., van der Sterre M.L.T., Kuik D.J., Snow G.B., Braakhuis B.J.M. Mutagen sensitivity as a biomarker for second primary tumors after head and neck squamous cell carcinoma // Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. – 2000– N. 9. – P. 713-717.
- Cruz I.B., Snijders P.J.F., Meijer C.J., Braakhuis B.J.M., Snow G.B., Walboomers J. M., van der Waal I. p53 expression above the basal cell layer is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing squamous cell carcinoma //J of Pathol. – 1999. – N.184.–P. 360–368.
- Cruz I.B., Napier S. S., van der Waal I., Snijders P. J. F., Walboomers J. M. M., Lamey P. J., Cowan C. G., Gregg T. A., Maxwell C., Meijer C.J.L.M. Suprabasal p53 immunoeexpression is strongly associated with high grade dysplasia and risk for malignant transformation in potentially malignant oral lesions from Northern Ireland //J of Clinical Pathology.–2002.–N. 55. – P. 98-104.
- Cruz I.B., Snijders P.J.F., van Houten V., Vosjan M., van der Waal I., Meijer C.J.L.M. Specific p53 immunostaining patterns are associated with smoking habits in patients with oral squamous cell carcinomas // J Clin. Pathol.–2002. – N.55(10).–P. 834-840.
- Forastiere A., Koch W., Trotti A., Sidransky D.// Head and neck cancer. Engl. J. Med.–2001.– N. 345.–P.1890-1900.
- Knudson A.G. Two genetic hits (more or less) to cancer // Nature Rev. Cancer.–2001.–N.1.–P. 157-162
- Langdon J., Partidge M. Expression of the tumour suppressor gene p53 in oral cancer // Br. J. Maxillofac Sur.– 1992.– N. 30. – P. 214-220.
- Nowel P.C. The clonal evolution of tumor cell populations // Science.– 1976.– N. 194.–P. 23-28.
- Seitz H.K., Stickel F., Homann N. Pathogenetic mechanisms of upper erodigestive tract cancer in alcoholics // Int. J. Cancer. – 2004.– N. 108. – P. 483-487.
- Shin D.M., Rim J., Ro J.Y., Shaw T., Hong W.K., Hittelman W.N. p53 expression and genetic instability in head and neck tumorigenesis // Proc. Am. Ass. Cancer Res. – 1994.– N. 35. – P. 944-950.
- Slaughter D.P., Southwick H.W., Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin //Cancer (Phila).–1953.– N. 6.–P. 963-968.
- Sobin L. H., Wittekind C.H. Head and Neck tumors-lips and oral cavity. In Wittekind CH, editor, TNM classification of malignant tumors, 5th ed. International Union Against Cancer, New York: Wiley-Liss. – 1997.– P. 59-62.
- Tabor M. P., Brakenhoff R.H., van Houten V.M.M., Kummer J.A., Snel M.H.J., Snijders P.J.F., Snow G.B., Leemans C R., Braakhuis B J M. Persistence of genetically altered fields in head and neck cancer patients: Biological and clinical implications // Clin. Cancer Res. – 2001.– N.7. P. 1523-1532.
- Tabor M.P., Brakenhoff R.H., Ruijter-Schippers H.J., van der Waal J.E., Snow G.B., Leemans C.R., Braakhuis B J M. Multiple head and neck tumors frequently originate from a single preneoplastic lesion // Am. J. Patol. – 2002.– N.161.– P.1051-1060.
- Takeda T., Sugihara K., Hirayama Y., Hirano M., Tanuta J-I., Semba I. Immunohistological evaluation of Ki 67, p63, CK19 and p53 expression in oral epithelial dysplasias //J of Pathology and Medicine.– 2006.– N. 35(6).– P. 369-375.
- Van Houten V.M.M., van der Cruz I, Snijders P.J F., Van Houten V., Vosjan M., Van der Waal I., and Meijer C J L M. Specific p53 immunostaining patterns are associated with smoking habits in patients with oral squamous cell carcinomas // J. Clin. Pathol. – 2002.– N. 55(11)– P. 834-840.
- Van Houten V.M.M., Tabor M. P., van den Brekel M.W.M., Kummer J.A., Denkers F., Dijkstra J., Leemans C.R., van der Waal I., Snow G.B., Brakenhoff R.H. Mutated P53 as molecular marker for the diagnosis of head and neck cancer // J. Pathol. – 2002.– N.198.–P.476-486.

Summary

ALTERATIONS IN TUMOR-DISTANT ORAL MUCOSA AND PROFILE OF PROTEINS P53, KI-67 IN EPITHELIAL LAYERS IN PATIENTS WITH ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA.

Kirieleva S. S., Yurchenko N. P., Ishchenko V.V., Protsyk V. S., Sidorenko M. V. Abstract

Key words: oral squamous cell carcinoma, p53, Ki-67

Investigation of the tumor-distant oral mucosa and expression of p53, Ki-67 in epithelial layers of mucosa from patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC). Formalin-fixed biopsy specimens of tumor-distant oral mucosa were obtained from 18 patients with OSCC (male, age from 43 to 79 years). Most of the patients have the smoking-drinking status and long-term professional contact with carcinogen and mutagen. Tissue sections were immunohistochemically stained using monoclonal antibodies: for p53 (clone DO-7), for Ki-67 (clone MIB-1) and En Vision "Daco Cytomation". In tumor-distant mucosa revealed the progression of histopathological phenotype to hyperplasia, to dysplasia to carcinoma *in situ* and carcinoma, and expression p53, Ki-67 in suprabasal layers of mucosa. Expression p53 and Ki-67 in suprabasal layers are the indication of the transformation phenotype in tumor-distant oral mucosa and represent high risk of development of second primary carcinomas and recurrent after treatment. The revelation of p53 and Ki-67 cells in suprabasal layers of epithelial dysplasia may provide useful information to evaluate the grading oral epithelial dysplasia and risk of cancer by histopathological diagnostics.

Branch biotechnical problems diagnosing the IPCC, of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Cancer Institute, Kiev

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava

Матеріал надійшов до редакції 19.05.2010 р.