

## КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Кіреєва С.С., Юрченко Н.П., Іщенко В.В., Скрипникова Т.П., Баштан В.П.  
УДК616.31-006.6:611-018.07.

### **Р53 ТА КІ-67 ЯК БІОМАРКЕРИ ОБ'ЄКТИВІЗАЦІЇ ГІСТОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПЕРЕДПУХЛИННИХ СТАНІВ ТА РАКУ СЛИЗОВОЇ ПОРОЖНИНИ РОТА НА БІОПСІЙНОМУ МАТЕРІАЛІ**

*Кіреєва С.С., Юрченко Н.П., Іщенко В.В., Скрипникова Т.П., Баштан В.П.*

Відділення біотехнічних проблем діагностики ІПКК НАН України, м. Київ,  
Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

*Исследовалась роль иммуногистохимического определения биомаркеров p53 и Ki-67 при гистологической диагностике предопухолевых состояний и рака слизистой полости рта на биопсийном материале. Материалом исследования были биопсии слизистой полости рта, взятые у 21 пациента, которые по гистологическому диагнозу представлены: плоскоклеточная папиллома (2 набл.), лейкоплакия (2 набл.) дисплазия (3 набл.), интраэпителиальный рак (3 набл.), плоскоклеточный рак (12 набл.). Обработку материала проводили согласно традиционной гистологической техники. Иммуногистохимическое определение белка p53 и Ki-67 проводили используя первичные моноклональные антитела (антиген p53, clone DO-7, который содержит антитела как к дикому, так и мутированному типу белка p53; антиген Ki-67, clone MIB-1) и системы визуализации, "Dako Cyto-mation", Дания. Отрицательный контроль проводили без первичного антитела. Окрашивали белки с помощью хромогена-3-диаминобензидина тетрагидрата (ДАБ). Препараты докрашивали гематоксилином. Результаты иммуногистохимической реакции оценивали, подсчитывая процент положительно окрашенных ядер клеток (5-10 полей) и средний показатель определяли как индекс мечения (ИМ%). Проведенный анализ уровня клеток с p53 и Ki-67 на биопсийном материале предопухолевых состояний и рака слизистой полости рта показал, что применение иммуногистохимических технологий определения белка гена супрессора опухолевого роста p53 и белка пролиферирующих клеток Ki-67 при гистологической диагностике позволяет дать более объективную индивидуальную оценку процессам, которые происходят в предопухолевых состояниях слизистой полости рта, оценить риск малигнизации, пролиферативный потенциал и спрогнозировать злокачественность опухоли.*

Ключевые слова: предопухолевые состояния, плоскоклеточный рак слизистой полости рта, p53, Ki-67, гистологическая диагностика

Рак порожнини рота складає приблизно 3% серед усіх злоякісних пухлин і є суттєвою всесвітньою проблемою здоров'я [5, 6, 12, 14]. Не дивлячись на суттєвий прогрес у методах лікування, 5-ти річне виживання не покращилось за декілька останніх десятиліть і все ще складає приблизно 50-60% [12]. Більш ніж 80% раків порожнини рота - плоскоклітинна карцинома, яка розвивається із епітелію слизової через прогресію від гіперплазії до дисплазії та карциноми *in situ* і далі до інвазивного раку. Суттєва частка плоскоклітинної карциноми розвивається з передзлоякісних ушкоджень. Не дивлячись на доступність порожнини рота для клінічного обстеження, великий відсоток пухлин діагностуються не на рівні передпухлинних станів, а на останніх стадіях хвороби. Раннє виявлення раку слизової порожнини рота має критичне значення для лікування, тому що строки виживання помітно покращуються, якщо патологія у слизовій порожнини рота виявляється на ранній стадії та кваліфіковано діагностується [1, 6, 8, 9, 12]. Слід відмітити, що передпухлинні стани та рак на ранній стадії у слизовій протікають переважно безсимптомно. Суттєвий відсоток пе-

редпухлинних станів слизової порожнини рота може бути виявленим не тільки онкологами, а також отоларингологами та стоматологами при огляді порожнини рота у пацієнтів, що звертаються з хворобами їх профілю [1, 3, 4, 7, 10, 14].

У теперішній час мутації в гені Р53 або втрата цього гену в хромосомі 17р найбільш розповсюджена генетична аномалія, яка відмічається у злоякісних пухлинах людини епітеліального генезу (від 40% до 60%). І найбільший відсоток припадає на рак слизової порожнини рота (60-80%) [19, 20]. У клітині головна функція продукту гену супресору пухлинного росту білку р53 полягає у регуляції нормальної проліферації, активації та транскрипції генів, що задіяні у репарації ДНК при її пошкодженні, та регуляції апоптозу. Мутації в гені Р53 та надекспресія протеїну р53 вважається початковою подією у розвитку карцином у порожнині рота та аеродегестивного шляху і є показником прогресії патологічного фенотипу, що має вже генетичні зміни в клітинах [13, 17, 19, 20]. Білок Кі-67 належить до білків регуляторів клітинного циклу. Швидкість росту пухлинних клітин є ключовою харак-

теристикою, що обумовлює агресивність пухлини. Визначення рівня експресії білку Ki-67 дозволяє об'єктивно оцінити проліферативну активність пухлин епітеліального генезу [17, 18]. Для того, щоб попередити переродження передпухлинних станів у слизовій порожнини рота, потрібні багаторазові адресні методи скринінгу серед груп ризику (тютюнопаління у поєднанні зі зловживанням алкоголю, професійні тривалі контакти з мутагенами та канцерогенами) для виявлення передпухлинних станів та об'єктивізації методів діагностики з використанням сучасних технологій визначення біомаркерів, що передують розвитку раку [1,5,7,8,9].

Мета роботи: дослідити та оцінити рівень клітин з p53 та Ki-67 при передпухлинних станах та у раку слизової порожнини рота для об'єктивізації гістологічної діагностики на біопсійному матеріалі.

### Матеріали та методи дослідження

Матеріалом дослідження були біопсії слизової порожнини рота, взяті у 21 пацієнтів, які за клінічним діагнозом мали патологічні зміни у слизовій, передпухлинні стани та новоутворення, що потребували гістологічної верифікації. Методи дослідження: гістологічні та імуногістохімічні технології виявлення ядерного білку гену супресора пухлинного росту p53 та ядерного білку Ki-67, що експресується у проліферуючих клітинах.

Отриманий матеріал фіксували у 10 % нейтральному формаліні. Обробку матеріалу проводили згідно традиційної гістологічної техніки. З кожного спостереження готували декілька препаратів. Препарати фарбували гематоксілін-еозином для гістологічної діагностики, решта препаратів використовували для імуногістохімічних технологій. Зміни у слизовій оцінювались згідно критеріїв міжнародної гістологічної класифікації (UICC) [16].

Імуногістохімічне виявлення окремо білків p53 та Ki-67, проводили використовуючи первинні моноклональні антитіла (антиген p53, clone DO-7, що містить антитіла до дикого та мутованого білку p53; антиген Ki-67, clone MIB-1) та системи візуалізації, "Dako Cytomation", Данія. Негативний контроль проводили без первинного антитіла. Забарвлення білків здійснювали за допомогою хромогену-3-діамінобензидину тетрахлориду (ДАБ). Препарати дофарбовували гематоксіліном. Результати імуногістохімічної реакції оцінювали шляхом підрахунку кількості позитивно забарвлених ядер клітин. Рівень мічених клітин p53 та Ki-67 визначали у відсотках - підраховували відсоток клітин з маркером у 5-10-ти полях по 100 клітин, визначали середній відсоток і його показник оцінювали як індекс мічення (IM %).

### Результати та їх обговорення

Розподіл досліджених біопсій за гістологічним діагнозом та рівнем p53 та Ki-67 представлено у таблиці 1. За гістологічним діагнозом досліджені біопсії розподілились: плоскоклітинна папілома (2 спост.), лейкоплакія (2 спост.), дисплазія (3 спост.), інтраепітеліальний рак, (*Ca in situ*) (3 спост.), плоскоклітинний рак (12 спост.).

Проведений аналіз клітин з експресією p53 та Ki-67 виявив індивідуальні особливості як у рівнях експресії досліджених біомаркерів, так і їх розподілу у досліджених спостереженнях. Так, серед гістологічно

визначеного папіломатозу (плоскоклітинна папілома) у слизовій відмічена різниця у експресії p53 та Ki-67. Одне спостереження було з ознаками незначної дисплазії епітелію (низька), де клітин зр53 не було виявлено, лише мали місце поодинокі клітини з Ki-67 у окремих полях гіперплазованого папіломатозного епітелію. У другому спостереженні відмічені папіломатозні розростання клітин багат шарового плоского епітелію з ознаками дисплазії та експресією p53 у клітинах у зоні проліферуючих клітин, у клітинах супрабазального шару, безпосередньо за парабазальним шаром клітин епітелію. У окремих ділянках папіломатозних виростів виявлено поодинокі клітини з p53 у базальному та парабазальному шарі та у клітинах поверхневих супрабазальних шарів та клітини з експресією Ki-67 у полях клітин з ознаками дисплазії. ІМ клітин з p53 та Ki-67 склав 29,6% з коливаннями у окремих полях від 19% до 42% та 17,2% з коливаннями 10%-24%, відповідно. Слід відмітити, що дисплазія у цьому спостереженні морфологічно була невисокого рівня, суб'єктивно на рівні середньої, але визначення суттєвого рівня клітин з p53 і особливо у клітинах поверхневих супрабазальних шарів та проліферуючих клітин з Ki-67 дало підстави визначитись на користь малігнізації.

Це спостереження демонструє як визначення досліджених біомаркерів та їх топографія дозволяють гістологу позбутись суб'єктивних оцінок при постановці діагнозу та об'єктивізувати індивідуальну діагностику.

Серед досліджених лейкоплакія у одному спостереженні не виявлено клітин ні з p53, ні з Ki-67, що свідчить про відносно спокійний стан епітелію у біопсійному матеріалі цієї лейкоплакії. У другому спостереженні була діагностована лейкоплакія з ознаками дисплазії та проліферації клітин базального шару та суттєвим рівнем клітин з p53 (ІМ 24,6%, коливання 12%-33% ) та Ki-67 (ІМ 14,5%, коливання 6%-21%, відповідно), що може свідчити про порушення у гені супресорі пухлинного росту P53 та його білку p53, що призводять до порушень у регуляції нормальної проліферації, репарації ДНК та апоптозу [19,20]. Про це свідчить і відмічена проліферація клітин базального шару епітелію та визначений рівень проліферуючих клітин у цій лейкоплакії.

У літературі накопичені ретроспективні дані, про малігнізацію таких лейкоплакія та розвиток раку з них через певний термін часу і такі лейкоплакії потребують моніторингу після проведеного лікування [1,9,15,16].

Серед діагностованих дисплазій епітелію слизової у одному спостереженні з незначною дисплазією клітин багат шарового плоского епітелію (дисплазія від низької до середньої) клітин з p53 та Ki-67 не було виявлено. У другому спостереженні багат шарового плоского епітелію з полями дисплазії (низька) виявлено поодинокі клітини з p53 з дуже слабкою імуноекспресією (ІМ 1%, коливання 1-2%) і з поодинокими клітинами з експресією Ki-67 (ІМ 0,4%, коливання 0-2%). Для третього спостереження, де було цитоморфологічно виявлено багат шаровий плоский епітелій з ознаками дисплазії (середня), у великому сегменті гістологічного зрізу при імуногістохімічному дослідженні визначено високий рівень клітин з p53 та Ki-67 (p53, ІМ 44,9%, коливання 35-55%; Ki-67, ІМ 27,5%, коли-

## Проблеми екології та медицини

вання 20-34%, відповідно). Характерним для цього спостереження були розміщені, не зливаючись один з одним, розрізнені групи клітин, що виглядали як окре-

мі клони клітин з інтенсивною експресією p53 у супра-базальних шарах епітелію.

*Таблиця 1*  
*Розподіл досліджених біопсій за патогістологічним діагнозом та рівнем клітин з p53 та Ki-67*

№ п/п	№ біопсії	Клінічний діагноз	Патгістологічний діагноз	p53 (ІМ %) коливання	Ki67 (ІМ %) коливання
1	2	3	4	5	6
1	49895/08	Бластома лівої гайморової пазухи	Папіломатоз	0,0	0,2 0-2
2	49891-2/08	Пухлина лівої гайморової пазухи (В1)	Папіломатоз з малігнізацією (дисплазія середня)	29,6 19-42	17,2 10-24
3	13743/04	Лейкоплакія бокової поверхні язика	Лейкоплакія	0,0	0,0
4	24134	Гіперкератоз червоної кайми нижньої губи	Лейкоплакія (дисплазія висока)	24,6 12-33	14,6 6-21
5	29118-20	Відокремлений гіперкератоз червоної кайми нижньої губи	Дисплазія епітелію (низька)	0,0	0,0
6	4814/04	Рак слизової твердого піднебіння	Дисплазія епітелію (висока)	44,9 35-55	27,5 20-24
7.	37437/08	Рак слизової дна порожнини рота	Дисплазія епітелію (низька)	1,0 1-2 (слабка експресія у поодиноких клітинах)	0,4 0-2
8.	5697/04	Підозра на рак губи	Дисплазія епітелію (висока), інтраепітеліальний рак	8,0 2-6	8,4 5-12
9.	48891-2/08	Підозра на рак слизової оболонки дна порожнини рота	Дисплазія епітелію (висока), інтраепітеліальний рак	34,9 10-60	15,1-2
10.	20539/04	Підозра на рак губи	Дисплазія епітелію (висока), інтраепітеліальний рак	69,2 62-77	9,6 7-12
11.	44888/08	Ділянка слизової дна порожнини рота з післяпроменевим рубцем	Залишки плоско-клітинного раку з проникненням пухлинних клітин у гранулоцитарну тканину	3,1 1-6	1,7 1-7
12	35951/05	Рак слизової м'якого піднебіння	Плоскоклітинний рак	1,0 0-3	1,0 1-2
13	49839/08	Підозра на рак губи	Плоскоклітинний рак	3,75 0-15	8,1 3-26
14	4812/04	Рак слизової твердого піднебіння	Плоскоклітинний рак	15,5 6-32	0,4 0-2
15	30059/04	Рак слизової дна порожнини рота	Плоскоклітинний рак	27,6 13-59	7,8 5-14
16	30058/04	Рак слизової дна порожнини рота	Плоскоклітинний рак	39,3 28-47	16,3 0-48
17	49893/08	Кусок пухлини лівої гайморової пазухи	Плоскоклітинний рак	34,5 16-45	16,4 4-26
18	4603/04	Підозра на рак губи	Плоскоклітинний рак	30,4 21-45	4,2 0-9
19	49894/08	Кусок пухлини лівої гайморової пазухи	Плоскоклітинний рак	18,1 2-38	10,8 6-23
20	4602/03	Підозра на рак губи (В1)	Плоскоклітинний рак	23,4 10-43	22,3 10-43
21	29120/04	Обмежений гіперкератоз червоної облямівки нижньої губи	Плоскоклітинний рак	15,3 9-22	13,2 7-22
22	19406/0 4	Підозра на рак губи	Плоскоклітинний рак з орого-вінням	0,0	0,0

Згідно даних літератури, виявлена супрабазальна імуноекспресія p53 строго асоціюється зі ступенем прояву дисплазії і ризиком малігнізації таких дисплазій [2, 17].

Інтраепітеліальний рак (3 пост.) було діагностовано також із залученням до гістологічної характеристики рівня клітин з p53 та Ki-67 у цих спостереженнях.

Для двох спостережень характерним був високий рівень дисплазії та показників досліджених біомаркерів (p53, ІМ 69,2% , коливання 62%-77% та ІМ 29,6%, коливання 19-42%; Ki-67, ІМ 9,6%, коливання 7-12% і ІМ 17,2%, коливання 10-24%, відповідному цих двох спостереженнях у ділянках багатошарового плоского епітелію з ознаками високої дисплазії клітини з p53 та

Ki-67 переважали у поверхневих супрабазальних шарах епітелію. У одному спостереженні у багатошаровому плоскому епітелію за цитоморфологічними знаками відмічена висока дисплазія, але з незначним рівнем клітин з p53 та Ki-67 (p53, ІМ 8,0%, коливання 2-6%, Ki-67, ІМ 8,4%, коливання 5-12%, відповідно). Але визначена експресія цих білків у ядрах клітин поверхневих супрабазальних шарів епітелію та суттєвий показник проліферуючих клітин також на рівні поверхневих супрабазальних шарів, де у нормі проліферуючі клітини майже відсутні, (у окремих полях їх рівень доходив до 12% ) дозволив у дослідженому біопсійному матеріалі поставити діагноз не дисплазія, а інтраепітеліальний рак. Це спостереження чітко демонструє

як за допомогою імуногістохімічного дослідження біомаркерів p53 та Ki-67 на біопсійному атеріалі можна об'єктивізувати патгістологічну діагностику змін у слизовій порожнини рота.

Як свідчать дослідження, за допомогою гістологічного аналізу потенційну загрозу раку при передпухлинних станах слизової можна визначити, але подальшу біологічну поведінку їх передбачити не можливо. Проте визначення експресії досліджених біомаркерів p53 та Ki-67 дозволяє об'єктивно підійти до індивідуальної оцінки рівня дисплазії цього передпухлинного стану та подальшої тактики лікування [7, 19, 20].

Серед біопсій (12 спост.), де цитоморфологічно було діагностовано плоскоклітинний рак слизової порожнини рота, також виявлені індивідуальні особливості як у рівні експресії досліджених біомаркерів, так і їх розподілу у досліджених пухлинах, що дозволяє індивідуально оцінити їх злоскісність та проліферативний потенціал [17,18,19]. Так, у одному спостереженні, де було діагностовано рак з ороговінням, клітин з p53 та Ki-67 не було виявлено. Існують спостереження плоскоклітинного раку, коли білок p53 мутованого гену імуногістохімічно не виявляється у пухлинних клітинах, але це не виключає мутацій у гені P53.

У двох спостереженнях раку визначено низький рівень клітин з дослідженими біомаркерами, що у одному випадку було пов'язано з тим, що у гістологічний зріз для імуногістохімії не потрапила суттєва частина зрізу з пухлинною тканиною (p53, ІМ 1%, коливання 0-3%, Ki-67, ІМ 1%, коливання 1-2%, відповідно) і друге спостереження з ІМ p53- 3,75%, але з коливаннями івня p53 у досліджених полях пухлинних клітин від 0 до 15% та суттєвим рівнем клітин з Ki-67 (ІМ, 1%, коливання 3-26%).

У одному спостереженні з діагнозом плоскоклітинний рак слизової порожнини рота після опромінення (біопсія тканини рубця після опромінення) серед грануляційної тканини виявлено поля епітеліальних клітин з ознаками променевого патоморфозу та поля клітин з ознаками дисплазії (висока), а імуногістохімічно визначено клітини з p53 (ІМ 3,1%, коливання 1 - 6% ) та Ki-67 (ІМ 1,7%, коливання 1% -7%). Збереження пухлинних клітин з p53, для яких властива більша злоскісність, та проліферуючих клітин серед них свідчить про можливість рецидиву пухлини у зоні сформованого рубця після опромінення. Це спостереження демонструє можливість при імуногістохімічному дослідженні рівня клітин з p53 та Ki-67 більш об'єктивно оцінити стан слизової після проведеного лікування. В інших спостереженнях плоскоклітинного раку (9 спост.) ІМ клітин з p53 коливався у межах від 15,3% до 39,3%, а ІМ клітин з Ki-67 у межах від 0,4% до 22,3%, відповідно.

Високий рівень експресії молекулярних біомаркерів p53 та Ki-67 у плоскоклітинному раку порожнини рота свідчить про високий злоскісний потенціал цих пухлин. Рівень пухлинних клітин з p53 є визначальним індивідуальним біомаркером оцінки злоскісності плоскоклітинного раку порожнини рота [18,19].

Таким чином, проведений аналіз рівня клітин з p53 та Ki-67 на біопсійному матеріалі передпухлинних станів та раку слизової порожнини рота свідчить, що застосування імуногістохімічних технологій визначення білку гену супресору пухлинного росту p53 та білку проліферуючих клітин Ki-67 при гістологічній діагнос-

тиці дозволяє дати більш об'єктивну індивідуальну оцінку процесам, що відбуваються у передпухлинних станах слизової порожнини рота, оцінити ризик малигінізації, проліферативний потенціал та прогнозувати злоскісність пухлини.

### Література

1. Driemelo Kunkel H., Hullman Bornstein MM., Luond-Valesheviute I., Altermatt HJ., Stauffer E., Buser D Oral mucosal lesions diagnosed in a stomatology service. An examination of clinico- pathological findings from the years 2003//Schweiz Monatsschr zanzmed.-2006.-№11(5).-P.468-475.
2. Cruz IB, Napier S S, van der Waal I, Snijders P J F , Wal-boomers J M M , Lamey J , Cowan C G, Gregg T A, Maxwell C, Meijer CJ . Suprabasal p53 mmunoexpression is strongly associated with high grade dysplasia and risk for alignant transformation in potentially malignant oral lesions from Northern Ireland //J of Clinical Pathology.-2002.-Vol.55.-P.98-104.
3. Epstein J., Gorsky M., Cabay R.,Gonsalves W Screening for diagnosis of oral remalignant lesions and oropharyngeal squamous cell carcinoma// Can Fam hisician.-2008.-Vol.54(6).-P.870-875.
4. Epstein JB, Gorsky M, Lonky S, Silverman S, Jr, Epstein JD, Bride MY The efficacy of oral lumenoscopy (ViziLite) in visualizing oral mucosal lesions//Spec are Dentist.-2006.-Vol.26(4).-P.171-174.
5. Kademani D Oral cancer. //Mayo Clin Proc.-2007.-Vol.82(7).-P.878-887.
6. Nagao T., Ikeda N., Fucano H.,Miyazaki H.,Yano M., Warkakulasuriya S Outcome following a population screening programme for oral cancer and precancer in Japan//Oral Oncol.-2000.-Vol.36(40).-P.340-346.
7. Napier SS, Speight PM Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature//J Oral Pathol Med.-2008.-Vol.37(1).-P.1-10.
8. Neville BW, Day TA Oral cancer and precancerous lesions//Ca Cancer J Clin.-2002.-Vol.52(4).-P.195-215.
9. Patton LL The effectiveness of community-based visual screening and utility of adjunctive diagnostic aids in the early detection of oral cancer// Oral Oncol.-2003.-Vol. 39(7).-P.708-723.
10. Pinborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, Van der Waal I //World Health Organization international Histological Classification of Tumours Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa.-Berlin: Springer, 1997.
11. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlander N, Horner MJ, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, Altekruse SF, Lewis DR, Clegg L, Eisner MP, Reichman M, Edwards BK (eds). SEER // Cancer Statistics Review, 1975-2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, <http://seer.cancer.gov/csr/19752005/>, based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008 [database online]. 2008 Updated 2008.
12. Shin D., Rim J., Ro JY. et al. Activation of p53 gene expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis // Cancer Res. 1994; 54: 321-326.
13. Silverman S Jr // Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. J Am Dent Assoc. 2001; 132 Suppl: 7S-11S..
14. Silverman S, Jr, Gorsky M, Lozada VII Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. Cancer. 1984; 53(3): 563-568.
15. McDowel J.D. An overview of epidemiology and common risk factors for oral squamous cell carcinoma//Otolaryngol Clin North Am.-2006.-Vol.39(2).-P.277-294.
16. Schepman KP, van der Meij EH, Smelee LE, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands//Oral Oncol.-1998.-Vol.34(4).-P.270-275
17. 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 Oral Pathology and Medicine.-2006.-Vol.35(6).-P.369-375.
18. Tumuluri V., Thomas GA., Fraser IS// Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumor front of human oral squamous

- cell carcinoma//J Oral Pathol Med.-2000.-Vol.31(10).-P.598-604.
19. 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.-Vol.198.-P.476-486
20. Voravud N., Chin DM., Ro JY., Lee JS., Hong W., Hittelman WN. Increased polysomies of chromosomes 7 and 17 during head and neck multistage tumorigenesis // Cancer Res.-1993.-P.53(12).-P.2874-2883.
21. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I//Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa//J Oral Pathol Med.-2007.-Vol.36(10)P.575-580.
22. Zakrzewska JM, Martin IC// Oral cancer screening//Br Dent J.-2000.-Vol.189(3).-P.124 – 125.

### Summary

#### P53 AND KI-67 AS BIOMARKERS FOR HISTOLOGICAL DIAGNOSTICS OBJECTIFICATION OF PRECANCER AND ORAL MUCOSA CANCER BASED ON BIOPSY MATERIALS.

Kirieleva S.S., Yurchenko N.P., Ishchenko V.V., Skrypnikova T.P., Bashtan V.P.

Key words: precancer, oral cancer, p53, Ki-67, histological diagnosis.

The article examines the role of immunohistochemical identification of p53 and Ki-67 biomarkers in histological diagnostics of precancer and oral cancer based on the biopsy materials. The materials were the biopsy specimens of oral mucosa obtained from 21 patients with precancerous lesions and oral mucosa cancer: squamous cell papilloma (2 observations), leukoplakia (2 observations), dysplasia (3 observations), intraepithelial cancer (3 observations), oral squamous cell carcinoma (OSCC) (12 observations). The material was processed in accordance with the traditional histological technique. The immunohistochemical identification of p53 and Ki-67 protein was performed using the monoclonal antibodies: antigen p53 (clone DO-7), antigen Ki-67 (clone MIB-1), and Daco Cytomation imaging system (Denmark). The negative control was performed without the primary antibody. The proteins were stained with chromogen - 3-diaminobenzidine tetrachloride, and counterstained with hematoxylin. The results of immunohistochemical reaction were assessed by counting the rate of positively stained nuclei (5-10 fields), the average rate was assessed as the labeling index (LI%).

The performed analysis suggests that the use of immunohistochemical technologies of identification of the tumor growth suppressor gene protein p53 and proliferating cells protein Ki-67 provides the opportunity to give more objective individual estimation of the oral mucosa precancer processes, to assess the risk for malignant transformation; proliferative capacity, as well as to prognosticate tumors.

Ministry of Public Health of Ukraine

Department IPKK diagnosis biotechnical problems of NAS of Ukraine, Kyiv

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

*Матеріал надійшов до редакції 03.09.2010 р.*