

Березин К.А., Цыплаков Д.Э., Шулаев А.В., Старцева Е.Ю.

УДК 616.8

DOI 10.25694/URMJ.2019.09.06

Значимость иммуногистохимических маркеров в оценке состояния слизистой оболочки рта

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань

Berezin K. A., Tsyplakov D.E., Shulaev A. V., Startseva E.Y.

The significance of immunohistochemical markers in the assessment of the oral mucosa

Резюме

Лейкоплакия – наиболее распространенное поражение слизистой оболочки рта. Ранние методы диагностики этого заболевания является залогом успешного лечения. С целью повышения качества диагностических особенностей веррукозной лейкоплакии, было проведено иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки щек взятых у 12 пациентов, которые обратились с целью профилактического осмотра в период 2017-2019 гг. Нами представлены результативные данные иммуногистохимического метода исследования, позволяющие своевременно определить патологическую трансформацию клеток эпителия слизистой оболочки щек в области патологического очага.

Ключевые слова: слизистая оболочка рта, общественное здравоохранение, лейкоплакия, предраковые заболевания, иммуногистохимические маркеры

Summary

Leukoplakia – the most common lesion of the oral mucosa. Early methods of diagnosis of this disease are the key to successful treatment. With the aim of improving the quality of the diagnostic features of verrucous leukoplakia, immunohistochemical examination was conducted of the buccal mucosa biopsy specimens that were taken from 12 patients who had applied for the purpose of routine inspection in the period 2017-2019 biennium. We present the results of the immunohistochemical method of research, allowing to timely determine the pathological transformation of the epithelial cells of the mucous membrane of the cheeks in the pathological focus.

Key words: oral mucosa, public health, leukoplakia, precancerous diseases, immunohistochemical markers

Введение

Лейкоплакия – наиболее распространенное поражение слизистой оболочки рта. В общей структуре оказания медицинской помощи больным в стоматологических медицинских организациях лейкоплакия встречается в возрастной группе пациентов от 30 до 70 лет, преимущественно у мужчин (4,3% по сравнению с 1,9% у женщин).

Лейкоплакия относится к одной из разновидностей кератозов, характеризующихся хроническим течением и поражающих слизистую оболочку рта (СОР) и красную кайму губ [2,11,17,22]. Особой формой лейкоплакии считается веррукозная лейкоплакия. Основной ее клинический признак — значительно возвышающийся над уровнем СОР и резко отличающийся от нее по цвету участок выраженного ороговения эпителия. Очаги гиперкератоза имеют яркий молочно-белый цвет. Различают бляшечную и бородавчатую формы веррукозной лейкоплакии [23]. При бляшечной форме определяются ограниченные молочно-белые, иногда — соломенно-желтые округлые образования с четкими контурами, возвышающиеся над

окружающей слизистой оболочкой. Наиболее выраженную склонность к злокачественной трансформации имеет веррукозная форма лейкоплакии с бородавчатыми разрастаниями [1,10,18,21]. Бородавчатая разновидность веррукозной лейкоплакии характеризуется плотными серовато-белыми бугристыми образованиями, возвышающимися на 2—3 мм над уровнем слизистой оболочки; она обладает большим потенциалом к озлокачествлению, чем бляшечная. Ряд зарубежных и отечественных авторов отмечают, что именно веррукозная лейкоплакия в 70% случаев трансформируется в плоскоклеточный рак [6,9,10,20,24,25,26].

Гистологически эпителиальный покров слизистой оболочки резко утолщен за счет разрастания рогового и зернистого слоев. В цитоплазме клеток зернистого слоя увеличивается количество кератогиалина. Самые поверхностные клетки имеют вид тонких чешуек с плотной гомогенной эозинофильной протоплазмой и дегенерирующими ядрами. Тонкие соединительнотканые сосочки глубоко вдаются в толщу покровного эпителия. Акантоз

выражен, в подлежащей, отечной и разрыхленной соединительной ткани определяется хроническое воспаление, гиперемия, клеточная инфильтрация. При веррукозной лейкоплакии обнаруживают выраженный гиперкератоз, редко сочетающийся с небольшими очагами паракератоза; иногда в патологический процесс вовлечен блестящий слой; зернистый слой состоит из 4—5 рядов клеток с хорошо выраженными гранулемами, шиповатый слой — из 8—12 рядов клеток. Возможно выявление атипичных клеток. В отдельных случаях акантоз сопровождается удлинением и расширением эпителиальных выростов. Наблюдают изменения клеток шиповатого слоя. Клетки — разной величины и формы, имеют крупные гиперхромные ядра, содержащие в среднем 2—4 крупных ядрышка.

По данным многих авторов микроскопически в 80-85% случаев поражений обнаруживают очаговую эпителиальную гиперплазию, в 5-15% случаев — дисплазию, в 2-5% случаев выявляют рак, в 1-17% случаев лейкоплакия в течение последующих 10 лет подвергается малигнизации. На 100% случаев обращающихся с лейкоплакией рта приходится 5,6% предраковых состояний и 4,87% случаев раннего рака. Это пациенты с веррукозной и эрозивно-язвенной формой лейкоплакии, у которых состояние предрака может трансформироваться в инвазивный плоскоклеточный рак [3,13]. Поэтому любой случай лейкоплакии, который не поддается четкому определению и не является однозначно доброкачественным требует проведения исследований, чтобы вовремя диагностировать предраковое состояние или рак [2,5,6,15,19,27].

Перспективным представляется использование современных диагностических технологий, позволяющих точно оценить клинической состояние слизистой оболочки рта, дифференцировать вид ее поражения, установить правильный диагноз.

Цель нашего исследования - сравнительная оценка особенностей состояния слизистой оболочки рта в норме и при веррукозной форме лейкоплакии на основании анализа данных иммуногистохимических исследований.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели был изучен исследовательский биопсийный материал, полученный выборочным методом из архивного материала от 12 больных с веррукозной формой лейкоплакии слизистой оболочки рта, проживающих в городе Казани и находившиеся на лечении в РКОД Министерства здравоохранения Российской Федерации за период 2017-2019 гг. В качестве контроля объектами исследования послужили фрагменты биоптатов слизистой оболочки рта 52 практически здоровых лиц, погибших от случайных причин (судебно-медицинские вскрытия). Забор секционного материала производили в патологоанатомическом отделении РКОД Министерства здравоохранения России.

Критериями выбора секционного материала служили: возраст от 20 до 55 лет, участок всей толщины слизистой оболочки преддверья рта в области премоляров размерами в пределах 3 см. Забор гистологического материала проводили в доступной области перехода при-

крепленной слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней и/или нижней челюсти в слизистую оболочку рта или губы в области. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине по Лилли или жидкости Боуэна. Согласно общепринятой методике после соответствующей проводки по спиртам возрастающей концентрации следовала обработка в ксилоле и заливка секционного материала в парафин [13]. Срезы толщиной 4-5 мкм изготавливали на санном микротоме Leica SM 2000R. Полученные препараты окрашивали гематоксилином, эозином, по Ван Гизону, а также по Пикро-Маллори, что дало возможность идентифицировать «молодой», «зрелый» и «старый» фибрин [7]. Для иммуногистохимического исследования парафиновые срезы расправляли в водяной бане Гистобат LEICA HI 1210 и помещали на предметные стекла, обработанные поли-L-лизинном и высушивали при температуре 35°C в течение одного часа [4,11]. После депарафинирования, промывки и обезвоживания следовала демаскировка антигенов в цитратном буфере (DAKO:Target Retrieval Solution, pH 6,0, код S 169984-2). Подавление эндогенной пероксидазы проводилось при помощи 3% раствора перекиси водорода.

Для постановки иммуногистохимических реакций с выявлением тканевых антигенов использовали набор моноклональных мышинных антител (табл. 1).

Первые антитела разводили специальным буфером с компонентом, препятствующим неспецифическому связыванию антител (DAKO: Antibody Diluent with Background Reducing Component, код S3002). Экспозиция первых МКАТ составляла 1 час при постоянной (30° С) температуре, поддерживаемой при помощи нагревательной платы (гистоплата LEICA HI 1220). Затем стекла со срезами промывали в течение 10 мин. в Трис-буфере.

Связывание первых антител с клеточными и структурными элементами определяли при помощи стандартного биотин-стрептавидин-пероксидазного метода (DAKO: LSAB® + System-HRP, код K0690) с диаминобензидином в качестве хромогена. После промывки в дистиллированной воде препараты дополнительно окрашивали гематоксилином Майера в течение 1-2 мин. Затем следовала повторная промывка в воде (15 мин.), дегидратация в 96% спирте (10мин.) и осветление в карбол-ксилоле (5 мин.). Срезы заключали в канадский балзам или в специальные среды фирмы DAKO (Ultrapount, Faramount, код S302580-2). Для оценки обнаруженных изменений использовались рекомендации по патоморфологической диагностике патологических изменений в соответствии с современными требованиями доказательной медицины [8].

Результаты и обсуждение

С учетом общепринятой классификации А.Л. Машкиллэйсона (1984) были выделены 2 группы исследования:

- 1 - контроль — исследовалась неизмененная слизистая оболочка рта.
- 2 — исследовались участки слизистой оболочки рта с веррукозной формой лейкоплакии [11].

Таблица 1. Характеристика первых антител

Антиген	Клон	Специфичность	Рабочее разведение	Фирма-производитель
CD 45	MS355-R	Все лейкоциты	1:200	Thermo
Миелоп-Роксидаса	поликло-нальные, код RB-373-A	Нейтрофильные лейкоциты	1:800	Dako
CD 3	SP7	T-лимфоциты	1:150	Lab Vision
CD 20	L26	B-лимфоциты	1:250	Lab Vision
CD 38	AT13/5	Плазматические клетки	1:100	Diagnostic Biosystems
CD 68	PGM1	Макрофаги	1:200	BioGenex
CD 31	9611	Эндотелий сосудов	1:20	BioGenex
Коллаген IV	PHM-12 + CIV22	Базальные мембраны	1:150	Lab Vision
Пан-цитокератины (ЦКР)	AE1/AE3	Эпителий	1:300	Lab Vision
Виментин	V9	Фибробласты, соединительная ткань	1:300	Lab Vision
Ki 67	B56	Пролиферирующие клетки	1:50	Pharmingen

При исследовании материала контрольной группы слизистая оболочка рта представлена на гистологических препаратах в виде многослойного плоского неороговевающего эпителия и собственной пластинки, которая без четкой границы переходит в подслизистую основу, что соответствует норме (рис. 1 — *этой и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вставке журнала — прим. ред.*).

Эпителиальный пласт состоит из трех слоев, первый слой базальный, образован призматическими или кубическими клетками и располагается на базальной мембране, промежуточный слой как наиболее широкий (шиповатый) состоит из эпителиоцитов округлой или полигональной формы, а поверхностный представлен плоскими клеточными элементами.

Иммуногистохимически весь эпителиальный пласт равномерно окрашивается МКАТ против пан-цитокератинов, базальная мембрана контурируется в виде непрерывной тонкой линии МКАТ против коллагена IV типа, а ядра митотически активных клеток экспрессируют МКАТ против Ki 67 (рис. 2А, 2Б).

Собственная пластинка слизистой оболочки в норме образует немногочисленные невысокие сосочки. Она, так же как и подслизистая основа, представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, а на отдельных участках более плотными фиброэластическими структурами (рис. 3).

В соединительной ткани располагаются сосуды кровеносного микроциркуляторного русла, в подслизистой основе, встречаются отдельные небольшие слюнные железы и жировые клетки, фибробласты, лимфоциты, макрофаги, а также отдельные плазмциты, лейкоциты и тучные клетки.

Иммуногистохимический анализ собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы показывает высокую экспрессию МКАТ против виментина (рис. 4А), эндотелий кровеносных сосудов выявляется

МКАТ против CD 31 (рис. 4Б), а их базальные мембраны — против коллагена IV типа.

Большинство клеточных элементов, инфильтрирующих соединительнотканную основу экспрессирует общий лейкоцитарный антиген CD 45 (рис. 5А), часть клеток представлена CD 3 позитивными Т-лимфоцитами, CD 20 (+) В-лимфоцитами и CD 68 (+) макрофагами (рис. 5Б, 5В).

Определяется меньшее количество плазматических клеток, дающих реакцию с МКАТ против CD 38, а нейтрофильные лейкоциты встречаются как единичные клетки, выявляемые МКАТ против миелопероксидазы.

При иммуногистохимическом исследовании биоптатов второй исследуемой группы с веррукозной формой лейкоплакии отмечается неравномерное утолщение эпителиальной выстилки, прогрессирование явлений гиперкератоза и акантоза.

Ороговевающие пласты многослойного плоского эпителия характеризуются наличием клеточного полиморфизма и формированием «жемчужин» (рис. 6).

Иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки рта с веррукозной лейкоплакией выявляет экспрессию МКАТ против пан-цитокератинов как в самом эпителии, так и в «жемчужинах» (рис. 7А).

Отмечается пролиферация и расширение базального слоя. В базальных и парабазальных клетках отмечается высокая митотическая активность, что выявляют МКАТ против Ki 67 (рис. 7Б).

Определяется нарушенная структура базальной мембраны эпителия с неравномерным окрашиванием МКАТ против коллагена IV типа, в отдельных участках её утолщение, расщепление и фрагментация (рис. 7В).

Эпителиальные «жемчужины» дают положительную окраску на фибрин (рис. 8).

При сравнении полученных данных иммуногистохимических исследований биоптатов слизистой оболочки рта с веррукозной лейкоплакией определяется

хроническое воспаление, в результате чего значительно увеличивается воспалительная клеточная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы с выраженной экспрессией МКАТ против CD 45 (рис. 9А).

В эпителиальном пласте также значительно преобладают лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги, CD3 позитивные Т-лимфоциты, CD 20(+) В-лимфоциты, CD 38(+) плазматические клетки и CD 68(+) макрофаги.

В меньшем количестве в клеточных инфильтратах определяются нейтрофильные лейкоциты (реакция с МКАТ против миелопероксидазы), что подтверждается иммуногистохимическим исследованием (рис. 9Б, 9В).

На отдельных участках биоптатов слизистой рта наблюдается выраженный склероз собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы (рис. 10А) с увеличением экспрессии МКАТ против виментина (рис. 10Б).

В собственной пластинке слизистой оболочки рта выражено прогрессируют микроциркуляторные расстройства и вследствие этого происходит отложение масс «зрелого» и «старого» внутри- и внесосудистого фибрина (рис. 11А). В просвете сосудов эндотелий подвержен набуханию и десквамации, что выявляются в реакции МКАТ против CD 31 (рис. 11Б). Базальные мембраны также значительно отличаются от нормы. МКАТ против коллагена IV типа зачастую показывают их утолщение или расщепление.

Заключение

Проведенный иммуногистохимический анализ с помощью использования моноклональных мышинных антител в биоптатах слизистой оболочки с веррукозной формой лейкоплакии наглядно указывает на хроническую диффузную воспалительную клеточную инфильтрацию собственной пластинки и её подслизистой основы. В биоптатах слизистой подтверждается преобладание CD3 (Т-лимфоциты, клон — SP7), CD 20 (В-лимфоциты, клон — L26), CD 38 (плазматические клетки, клон — AT13/5) и CD 68 (макрофаги, клон — PGM1). Ороговевающие пласты многослойного плоского эпителия характеризуются

наличием клеточного полиморфизма и формированием «ожемчужин».

В биоптатах нормальной слизистой оболочки на её отдельных участках наблюдается выраженный склероз собственной пластинки и подслизистой основы с увеличением экспрессии МКАТ против виментина (фибробласты, соединительная ткань, клон — V9). Реакция с МКАТ против CD 3 (Т-лимфоциты, клон — SP7) подтверждает инфильтрацию Т-лимфоцитами собственной пластинки слизистой оболочки с проникновением клеток в эпителиальный пласт. Прогрессирующие микроциркуляторные расстройства, сопровождаются отложением масс «зрелого» и «старого» внутри- и внесосудистого фибрина, что подтверждает реакция с МКАТ против CD 31 (эндотелий сосудов, клон — 9611).

Таким образом, сравнительное изучение состояния слизистой оболочки рта с использованием иммуногистохимических методов исследований позволяет своевременно спланировать качественные лечебно-профилактические мероприятия, что в комплексе снизит не только частоту утяжеления патологии но и снизит степень ее малигнизации. ■

Березин Константин Алексеевич (Berezin K. A.) кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Цыплаков Дмитрий Эдуардович (Tsyplakov D. E.) д.м.н., профессор кафедры патологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Шулаев Алексей Владимирович (Shulaev A. V.), доктор медицинских наук, профессор, проректор по клинической работе, заведующий кафедрой общей гигиены с курсом радиационной гигиены ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Старцева Елена Юрьевна (Staritseva E. Y.) кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Автор, ответственный за переписку — Березин Константин Алексеевич e-mail: kotik2011@mail.ru

Литература:

1. Анисимова И.В., Недосеко В.Б., Томиашвили Л.М. Клиника, диагностика и лечение заболеваний слизистой оболочки рта и губ. М. 2008; 191. (Anisimova V. I., Nedoseko V. B., Lomiashvili M. Clinic, diagnosis and treatment of diseases of the oral mucosa and lips. M. 2008; 191.)
2. Бабиченко И.И., Рабинович О.Ф., Ивина А.А., Рабинович И.М., Тогонидзе А.А. К вопросу о папилломавирусном генезе лейкоплакии слизистой оболочки рта. Архив патологии. 2014; 1:32-36. (Babichenko I. I., Rabinovich O. F., Ivina, A. A., Rabinovich I. M., Tagonidze A. A. To the question of the Genesis of human papilloma virus leukoplakia of the oral mucosa. Archives of pathology. 2014; 1:32-36.)
3. Бароян М.А., Милова Е.В., Винокур А.В., Дударь Е.В., Актуальность внедрения программ онкоскрининга в стоматологии. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 8-1. С. 156. (Baroyan M. A., Milova E. V., Vinokur A. V., Dudar E. V. The Relevance of the implementation of cancer screening programs in dentistry. International journal of applied and fundamental research. 2014. No. 8-1. P. 156.)
4. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Иммуногистохимия. В кн.: Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. СПб-Казань, 1999. — С. 33-54.

- (Belyanin V. L., Tsyplakov D. E. *Immunohistochemistry. In the book: Diagnosis of reactive lymph node hyperplasia.* - SPb-Kazan, 1999. - P 33-54.)
5. Березин К.А. Выбор и обоснование возможностей использования иммуногистохимического метода исследований в диагностике ранних проявлений кератотических процессов слизистой оболочки рта / К.А. Березин, Е.Ю. Старцева // Уральский медицинский журнал. —2019.—№ 1.—С.30-33. (Berezin K. A. the Choice and justification of the possibilities of using the immunohistochemical method of research in the diagnosis of early manifestations of keratotic processes of the oral mucosa / K. A. Berezin, E. Yu. Startseva // Ural medical journal. -2019.—№ 1.—P. 30-33.)
 6. Гилева О.С., Либих Т.В., Позднякова А.А., Сатюкова Л.Я. Предраковые заболевания в структуре патологии слизистой оболочки полости рта. // Проблемы стоматологии. 2013; 2:3-9. (Gileva O. S., Libich T. V., Pozdnyakova A. A., Sadykova L. Y. Precancerous lesions in the structure of pathology of the mucous membrane of the oral cavity. // Dental problems. 2013; 2:3-9.)
 7. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. Методика для определения «возраста» фибрина при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Архив патологии. - 1984. - №8. - С. 72 - 75. (Zerbino D. D. Lukasevich L. L. Method for determining the "age" of fibrin in disseminated intravascular coagulation syndrome // Archive of pathology. - 1984. - №8. - P. 72 - 75.)
 8. Куликов Л.С., Кременецкая Л.Е., Фрейд Г.Г., Крючков А.Н. Руководство к практическим занятиям по курсу орофациальной патологии. - М.: «Русский врач», 2003. - 166 с. (Kulikov S., Kremenskaya L. E., Freind G. G., Kryuchkov A. N. Guide to practical training on the course of Orofacial pathology. - M: "Russian doctor", 2003. - 166 p.)
 9. Кабилова М.Ф. Морфологические исследования эпителия слизистой оболочки полости рта при лейкоплакии / Кабилова М.Ф., Усманова И.Н., Бакиров А.Б., Лебедева А.И., Ахметов Т.Ф. // Клиническая стоматология. 2011. № 2 (58). С. 80-82. (Kabirova M. F. Morphological studies of the epithelium of the oral mucosa in leukoplakia / Kabirova M. F., Usmanova I. N., Bakirov A. B., Lebedeva A. I., Akhmetov T. F. // Clinical dentistry. 2011. № 2 (58). P. 80-82.)
 10. Лангле Р.П., Миллер К.С. Атлас заболеваний полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. (Langle R. P., Miller K. S. Atlas of oral diseases. M.: GEOTAR-Media; 2008.)
 11. Машикеллейсон А.Л. Предраковые заболевания слизистой оболочки полости рта и красной каймы губ. - М.: Медицина, 1984. - 254 с.323-348. (Mashkilleysen L. Precancerous diseases of the oral mucosa and the red border of the lips. - M.: Medicine, 1984. - 254 S. 323-348)
 12. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека.- 4 изд., доп. и перераб., Казань, 2012.- 624 с. (Petrov S. V., Raikhlin N. T. Manual on immunohistochemical diagnostics of human tumors.- 4 ed., additional and pererab., Kazan, 2012.- 624 p.)
 13. Рабинович О.Ф. Оптимизация диагностики различных форм лейкоплакии / О.Ф.Рабинович, И.И. Бабиченко, И.М. Рабинович, А.Д. Островский, А.А. Тогоидзе //Стаматология.—2012.—№4.—С.20. (Optimization of diagnostics of various forms of leukoplakia / O. F. Rabinovich, I. I. Babichenko, I. M. Rabinovich, A. D. Ostrovsky, A. A. Togonidze // Dentistry.-2012.—№4.—P. 20.)
 14. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника.- М.: Медицина, 1996.- 544 с. (Sarkisov D. S., Perov Y. L. Microscopic technique.- M.: Medicine, 1996.- 544 p.)
 15. Способ дифференциальной диагностики кератотических процессов слизистой оболочки рта относящихся к «белым проявлениям» пат № 2544173 Рос. Федерация / Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Кабилова М.Ф., Усманов И.Р., Хуснаризанова Р.Ф., и др: Опубл. 10.03.2015з Бюллетень № 7. (A method of differential diagnosis of keratotic processes of the oral mucosa related to the "white manifestations" Pat № 2544173 Grew. Federation / Usmanova I. N., Gerasimova L. P., Kabirova M. F., Usmanov I. R., Kusnezova R. F., and others: Publ. 10.03.2015 g Bulletin № 7.)
 16. Arduino P.G., Bagan J., El-Naggar A.K., Carrozzo M. Urban legends series: oral leukoplakia. Oral Diseases. 2013;19(7):642-659. doi.10.1111/odi.12065
 17. Bagan J., Scully C., Jimenez Y., Martorell M. Proliferative verrucous leukoplakia: a concise update. Oral Diseases. 2010;16(4):328-329. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01632.x>
 18. Bagan J.V., Jimenez Y., Sanchis J.M. et al. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2003; 32(7):379-382. doi: 10.1034/j.1600-0714.2003.00167.x
 19. Berezin K.A. The evaluation of the immunohistochemical changes of the periodontal tissue in the individuals of young ageon Hormonal Metabolism of Blood Serum / K.A. Berezin, D.E. Tsyplakov, A.V. Shulayev, Ye.Yu. Startseva // Морфология.—2018.—Т.153—№3.—С. 40-42. ISSN 0004-1947.
 20. Bishen L.A., Sethi A. Proliferative Verrucous Leukoplakia—diagnostic pitfalls and suggestions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009;1:14(6):263-264-
 21. Bouquet J.E., Gnepp D.R. Laryngeal precancer — a review of the literature, commentary and comparison with oral leukoplakia. Head Neck. 1991;13:488-497. doi: 10.1002/hed.2880130604
 22. Feller L., Lemmer J. Field cancerization and oral leukoplakia, in Field Cancerization: Basic Science and Clinical Applications, G.D. Dakubo Ed. Nova Science, Ontario, Canada. 2011; 95-111.
 23. Gandolfo S., Castellani R., Pentenero M. Proliferative verrucous leukoplakia: a potentially malignant disorder involving periodontal sites. J Periodontol. 2009; 80(2):274-281. doi: 10.1902/jop.2009.080329

24. Gillenwater A.M., Vigneswaran N., Fatani H., Saintigny P., El-Naggar A.K. Proliferative Verrucous Leukoplakia (PVL): A Review of an Elusive Pathologic Entity. *Advances in Anatomic Pathology*. 2013; 20(6):416-423. doi.org/10.1097/pap.0b013e3182a92df1
25. Lindenmüller I.H., Lambrecht J.T. Proliferative verrucous leukoplakia. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2006; 116(5):508-520.
26. Parlatescu I., Gheorghe C., Coculescu E., Tovar S. Oral leukoplakia — an update *Maedica (Buchar)*. 2014; 9(1):88-93.
27. Startseva Ye. Yu. Methodological aspect of forming the system of indicators in medical ecology / A.V. Gordeeva, I.D. Sitdikova, L.I. Gerasimova, D.V. Lopushov, Ye. Yu. Startseva // *Indo American journal of pharmaceutical sciences*. №05, 2018, С. 10343-10347



Рис. 1. Слизистая оболочка рта в норме. Многослойный плоский неороговевающий эпителий. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$.

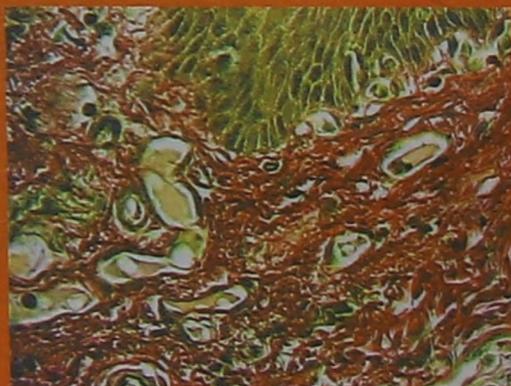


Рис. 3 – Слизистая оболочка рта в норме. Рыхлая волокнистая соединительная ткань собственной пластинки слизистой. Окраска по Ван Гизону. $\times 400$.

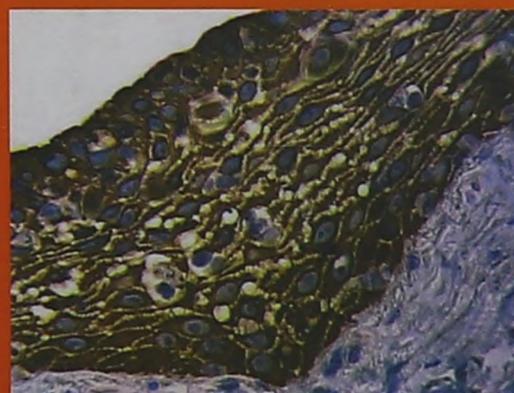


Рис. 2а – Слизистая оболочка рта в норме. Экспрессия МКАТ против пан-цитокератинов в эпителии. LSAB-метод с докраской гематоксилином, $\times 400$.

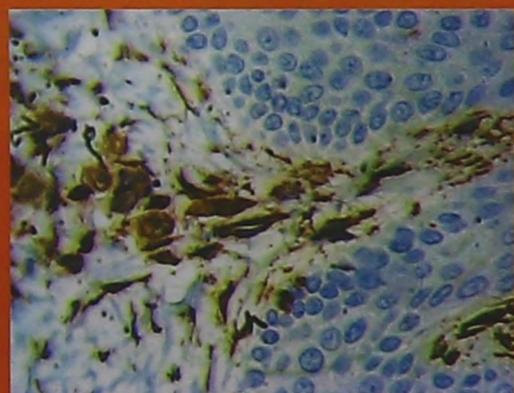


Рис. 4а – Слизистая оболочка рта в норме. Экспрессия МКАТ против виментина в собственной пластинке слизистой. LSAB-метод с докраской гематоксилином, $\times 400$.

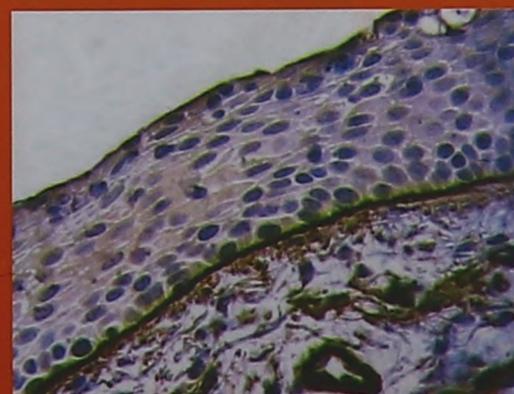


Рис. 2б – Слизистая оболочка рта в норме. Экспрессия МКАТ против коллагена IV типа в базальной мембране эпителии. LSAB-метод с докраской гематоксилином, $\times 400$.

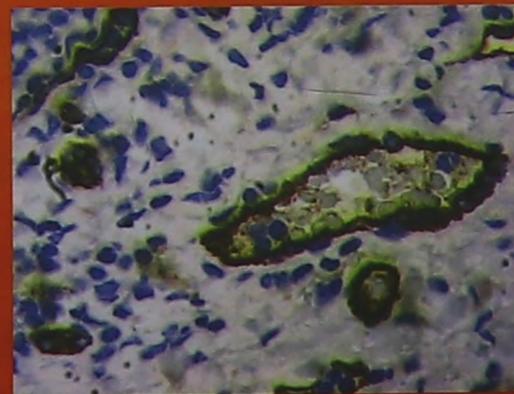


Рис. 4б – Слизистая оболочка рта в норме. Экспрессия МКАТ против CD 31 в эндотелии сосудов. LSAB-метод с докраской гематоксилином, $\times 400$.



Рис. 5А – Экспрессия МКАТ против CD 45 в клетках собственной пластинки слизистой. LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.



Рис. 5Б – Экспрессия МКАТ против CD 3 в Т-клетках собственной пластинки слизистой. LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.

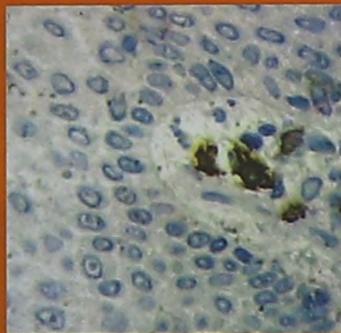


Рис. 5В – Экспрессия МКАТ против CD 68 в макрофагах собственной пластинки слизистой. LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.



Рис. 6 – Веррукозная форма лейкоплакии. Ороговение эпителия с формированием «жемчужин». Окраска гематоксилином и эозином, х 300.

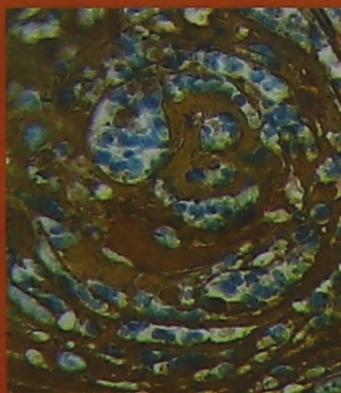


Рис. 7А – Экспрессия МКАТ против пан-цитокератинов в клетках эпителия и в «жемчужинах». LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.

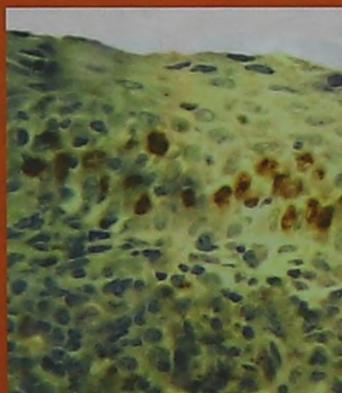


Рис. 7Б – Экспрессия МКАТ против Ki 67 в ядрах пролиферирующих клеток базального и парабазального слоев. LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.

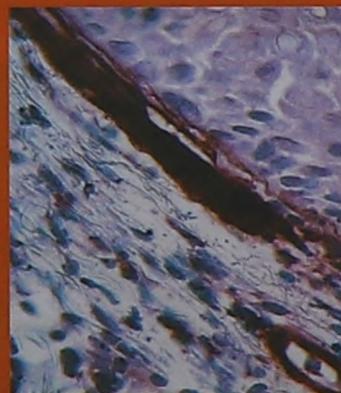


Рис. 7В – Неравномерная окраска, утолщение и расщепление базальной мембраны эпителия. Реакция с МКАТ против коллагена IV типа. LSAB-метод с докраской гематоксилином, х 400.

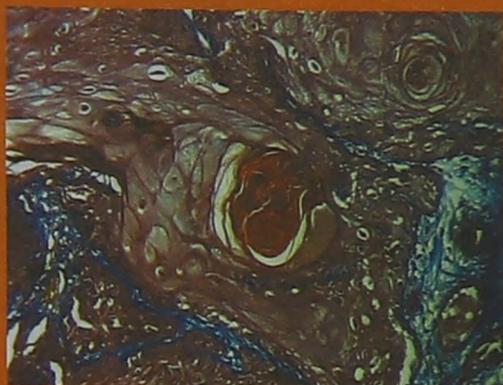


Рис. 8 – Веррукозная форма лейкоплакии. Положительная реакция на фибрин в «жемчужине» ороговевающего эпителия. Окраска по Пикро-Маллори. x 300.



Рис. 9А – Диффузная воспалительная клеточная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы. Окраска гематоксилином и эозином. x 200.

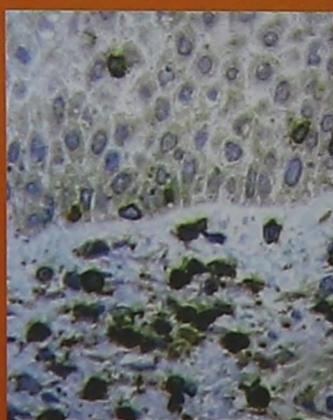


Рис. 9Б. - Инфильтрация Т-лимфоцитами собственной пластинки слизистой оболочки с проникновением клеток в эпителиальный пласт. Реакция с МКАТ против CD 3. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.



Рис. 9В. - Инфильтрация В-лимфоцитами собственной пластинки слизистой оболочки с проникновением клеток в эпителиальный пласт. Реакция с МКАТ против CD 20. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.



Рис. 10А – Склероз собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы. Окраска по ван Гизону. x 200.



Рис. 10Б – Высокая экспрессия МКАТ против виментина в собственной пластинке слизистой оболочки. LSAB-метод с докраской гематоксилином. x 400.

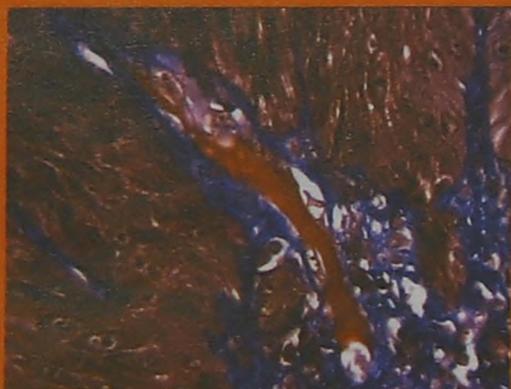


Рис. 11А –Отложение «зрелого» и «старого» фибрина в собственной пластинке слизистой оболочки. Окраска по пикро-Маллори. х 400

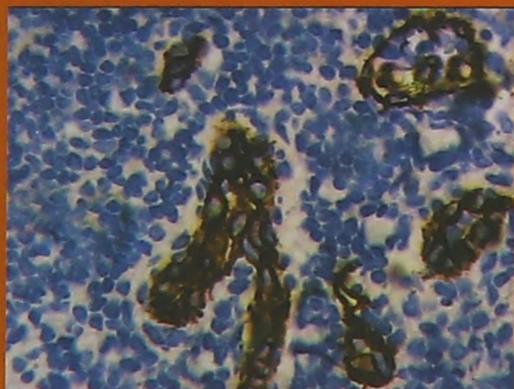


Рис. 11Б –Набухание и десквамация эндотелия в просвет сосудов собственной пластинки слизистой оболочки. Реакция с МКАТ против CD 31. LSAB-метод с докраской гематоксилином. х 400.