

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М.СЕЧЕНОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Александрова Александра Константиновна

**Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика
себорейного кератоза**

14.03.02- Патологическая анатомия

14.01.10- Кожные и венерические болезни

Диссертация

на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

Доктор медицинских наук

Смольяникова Вера Анатольевна

Москва -2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	15
Глава 2. Материалы и методы.....	53
Глава 3. Результаты собственных исследований	
3.1 Клиническая характеристика пациентов с себорейным кератозом.....	60
3.1.1 Клиническая характеристика пациентов I группы.....	65
3.1.2 Клиническая характеристика пациентов II группы.....	69
3.2 Морфологические исследования	
3.2.1. Гистологическая характеристика себорейного кератоза.....	85
3.2.2. Иммуногистохимическая характеристика себорейного кератоза.....	104
3.2.2.1 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p53.....	106
3.2.2.2 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p63.....	114
3.2.2.3 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к EGFR.....	123
3.2.2.4 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p16.....	130
3.2.2.5 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p27.....	141
3.2.2.6 Иммуноморфологическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к Ki-67.....	148
3.2.2.7 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к Melan A.....	155
3.2.2.8 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к HPV (6,11,18 типы).....	162
Глава 4. Клинические и иммуногистохимические особенности себорейного кератоза у пациентов при динамическом наблюдении	164

Заключение.....	171
Выводы.....	189
Практические рекомендации.....	191
Приложение.....	192
Список сокращений.....	193
Список литературы.....	194

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Себорейный кератоз (СК) - доброкачественная эпителиальная опухоль кожи, которая возникает, как правило, у лиц после 50 лет [29,37, 48, 128, 244], достигая 80-100% в популяции [130,168]. Чаще всего опухоли имеют множественный характер роста, что приводит к значительному косметическому дефекту. Кроме того, большинство исследователей рассматривают множественный СК как паранеопластический процесс [16,33,62, 84, 216, 232, 250,257,260].

Данные, полученные в ходе современных исследований об этиологии и патогенезе СК противоречивы. Вариабельность его клинических и морфологических проявлений затрудняет создание единой классификации опухоли. Помимо этого, схожесть клинических проявлений СК с другими опухолями кожи, такими, как вульгарные бородавки, лихеноидный кератоз, внутридермальные невусы, некоторыми формами базально-клеточной и плоскоклеточной карциномы кожи, меланомы [73, 152,173, 196, 241,243, 273] приводят к частым диагностическим ошибкам, которые, по данным морфологических исследований, составляют от 33,6% до 75,1% случаев [33,244].

Для СК характерен медленный рост, отсутствие самопроизвольного регресса, детали контроля его клеточного цикла изучены недостаточно, что не позволяет решить спорный вопрос о возможности малигнизации [2,92,167,279,287]. Оценка результатов иммуногистохимических исследований (ИГХ-исследований), направленных на изучение нарушений клеточного цикла и пролиферации при СК, приводит к взаимоисключающим выводам. Это является следствием того, что экспрессия основных белков, участвующих в контроле пролиферативного потенциала любой клетки: p53, p63, p16,p27, а также маркера пролиферации Ki-67, наиболее детально изучена только при определенных гистологических типах СК, на малом количестве материала или с

использованием ретроспективного анализа, без учета распространенности, локализации опухолей.

Не учтены так же наличие или отсутствие предполагаемых этиологических факторов заболевания - инсулинорезистентности, избыточной инсоляции, генетической предрасположенности [78,97,130,180,203]. Крайне скудно в литературе освещены факторы, влияющие на меланогенез в СК, тогда как именно пигментация опухоли приводит чаще всего к диагностическим ошибкам [107,187,189]. Несмотря на проведенные многочисленные молекулярные исследования, не ясна роль вирусов папилломы человека (ВПЧ) в развитии опухоли, что не позволяет оценить возможность и эффективность проведения противовирусной терапии.

Таким образом, учитывая распространенность и отсутствие единого взгляда на этиологию и патогенез СК, отсутствие единого мнения о возможных прогностических факторах его развития и прогрессирования, очевидна актуальность его дальнейших исследований. Детальное изучение нарушений в регуляции клеточного цикла, пролиферативной активности клеток и меланогенеза при разных гистологических формах СК, с учетом клинических факторов (распространенности и локализации опухолей, наличия нарушений углеводного обмена) позволит уточнить патогенез заболевания и оценить риск злокачественной трансформации опухоли, усовершенствовать диагностику и разработать более дифференцированный подход к его терапии.

Степень разработанности темы исследования

Изучению СК посвящены многочисленные работы зарубежных авторов, однако единого мнения о причинах возникновения и сущности опухолевого процесса нет. К факторам, способствующим развитию опухоли, относят генетическую предрасположенность [16, 29, 70, 128, 226, 275]; наличие активирующих мутаций в FGFR3 (третий рецептор фактора роста фибробластов) [123, 129, 184]; избыточную инсоляцию [130,168]; вирус папилломы человека (ВПЧ) [25,126,274], иммунологические нарушения [33,105,146,277] и «старение кератиноцитов» [203]. Множественные очаги СК могут указывать на наличие

злокачественных новообразований внутренних органов. Быстрый рост и распространение СК в течение короткого времени (симптом Лезера-Трела) предположительно обусловлен выработкой клетками злокачественных опухолей цитокинов (трансформирующего фактора роста - α , эпидермального фактора роста и др.), влияющих на пролиферацию кератиноцитов [135]. Так, у пациентов с злокачественными новообразованиями внутренних органов, в СК была обнаружена повышенная экспрессия EGFR [216,232]. Однако Saraiya A. с соавт. (2013), наблюдая пациента с синдромом Лезера-Трела и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа), не исключила роль в стимуляции клеточной пролиферации повышенного уровня инсулина [249]. Работ, касающихся изучения углеводного обмена у пациентов с СК в литературе нам не встречалось.

В подтверждение о возможной малигнизации, в СК была выявлена повышенная экспрессия белка p63 [254,285], характерная преимущественно для злокачественных эпителиальных опухолей [86, 224, 248]. Данные об экспрессии p53 в СК крайне противоречивы – в части исследований экспрессия отсутствует [129,203], или слабая [165], или встречается гиперэкспрессия [188].

В большинстве работ пролиферативная активность клеток СК характеризуется как низкая [33,97,127,129]. По мнению Bruecks A.K. с соавт. (2007) ее контролирует белок p27 (Kip1), учитывая его выраженную экспрессию в СК при ИГХ-исследовании, не встречающуюся при других новообразованиях кожи [78]. Экспрессия другого циклин-зависимого ингибитора киназы, белка p16 изучена при отдельных гистологических видах СК. Его повышенная экспрессия в работах одних авторов была расценена как маркер «старения» клеток [143,203], у других - как маркер злокачественной трансформации СК [134,287].

Роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в этиологии опухоли на настоящий момент вызывает сомнение. ДНК ВПЧ в негенитальных СК встречается от 3,5% до 83,7%, представлено преимущественно 6,11 и 18 типами и его выявление напрямую зависит от метода исследования [126,268, 300]. По данным Кладовой

А.Ю. (2007) в 70% случаев СК ассоциирован с ВПЧ рода beta [25]. В некоторых исследованиях ДНК вируса не обнаруживают ни в одном случае [172,191].

Вызывает интерес и пигментация СК, а так же факторы, влияющие на меланогенез. В единичных исследованиях при анализе гистологических препаратов СК, окрашенных гематоксилином и эозином или по методу Массона-Фонтаны, отмечалось увеличение количества меланина в СК в отличие от непораженного эпидермиса [107]. О нарушении синтеза меланогенных цитокинов в СК свидетельствует как увеличение содержания мРНК эндотелина 1 -митогена и меланогена, так и гиперэкспрессия фактора некроза опухолей - α (ФНО- α) в клетках опухоли [187, 267].

Все вышесказанное определяет актуальность работы, служит обоснованием ее цели и задач.

Цель исследования

Выявить патогенетические механизмы развития различных форм СК на основании комплексного клинического, морфологического и иммуногистохимического исследований и разработать алгоритм диагностики заболевания.

Задачи исследования:

1. Дать клиническую характеристику пациентов с множественным и единичным СК.
2. Изучить морфологические особенности разных гистологических типов СК.
3. Изучить экспрессию белков p53, p63, p16 и p27(Kip1), участвующих в регуляции клеточного цикла и экспрессию рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) у пациентов с множественным и единичным СК при разных гистологических типах опухоли иммуногистохимическим методом.
4. Оценить состояние пролиферативной активности клеток по уровню экспрессии Ki-67 -маркера пролиферации клеток у пациентов с множественным и единичным СК при разных гистологических типах опухоли иммуногистохимическим методом.

5. Изучить процессы меланогенеза при разных гистологических типах СК иммуногистохимическим методом по уровню экспрессии маркера дифференцировки меланоцитов Melan A.
6. Оценить выявляемость ДНК ВПЧ (6,11,18типы) иммуногистохимическим методом у пациентов с множественным и единичным СК.
7. Сравнить полученные результаты и выявить зависимость морфологических и иммуногистохимических изменений от нарушений углеводного обмена у пациентов с множественным и единичным СК.

Научная новизна.

В работе впервые:

-выявлены особенности клинических проявлений СК в зависимости от наличия у пациентов нарушений углеводного обмена (сахарного диабета 2 типа и нарушенной толерантности к глюкозе). На основании полученных данных предложена клиническая классификация опухолей.

-установлены различия в патогенетических механизмах развития единичного и множественного СК: при единичных опухолях в основе лежит повышение экспрессии p16 в сочетании со слабой экспрессией p63 и EGFR, при множественных отмечается гиперэкспрессия p16, p63 и EGFR.

-определена роль инсулинорезистентности в развитии множественного СК. Доказано, что гиперэкспрессия белков клеточного цикла p16, p63 и EGFR в СК ассоциирована с наличием нарушений углеводного обмена у пациентов и распространенностью опухолей.

-выявлен единый патогенез акантотического, клонального и аденоидного типа СК, учитывая отсутствие значимых различий в экспрессии белков клеточного цикла p53, p63, p16, p27, EGFR и маркера пролиферативной активности Ki-67, что дает возможность объединить их в единую группу обычного (простого) СК в гистологической классификации.

-выявлены патогенетические особенности раздраженного типа СК, в виде гиперэкспрессии белков клеточного цикла p53, p27, p16 и увеличения пролиферативной активности клеток опухоли, что свидетельствует о риске его злокачественной трансформации.

-определены прогностические факторы прогрессирования СК по результатам клинических и иммуногистохимических исследований: наличие гиперэкспрессии p16, p63, EGFR в опухоли у пациентов с сопутствующими нарушениями углеводного обмена.

- на основании клинических, морфологических и иммуногистохимических исследований установлено, что пигментация СК связана не с усилением меланогенеза под воздействием УФ излучения, а с накоплением пигмента в силу старения клеток опухоли, о чем свидетельствует снижение экспрессии Melan A в клетках СК по сравнению с окружающим эпидермисом, а так же локализация наиболее пигментированных опухолей на закрытых участках туловища.

-выявлено отсутствие корреляционной связи между степенью выраженности экспрессии EGFR и пролиферативной активностью опухоли (по Ki-67), что свидетельствует о снижении чувствительности клеток СК к влиянию данного фактора роста.

Практическая значимость

Разработан алгоритм диагностики и ведения пациентов с множественным и единичным СК на основании особенностей клинической картины и морфологических проявлений заболевания. Установлено, что сочетание множественных очагов СК с преимущественным расположением в крупных складках кожи с множественными фиброэпителиальными полипами является основанием для проведения исследований, направленных на поиск у пациентов СД 2 типа или нарушенной толерантности к глюкозе.

На основании результатов иммуногистохимического исследования с моноклональными антителами к p53, p16 и Ki67 определен риск злокачественной трансформации раздраженной формы СК, что обосновывает применение

активной хирургической тактики по удалению опухоли с обязательным гистологическим исследованием при ее локализации на открытых участках у пациентов с множественным СК.

Выявленные нами в ходе исследования прогностические факторы прогрессирования заболевания имеют несомненную ценность и могут использоваться в клинической практике на этапе планирования комплексного лечения пациентов с СК.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные научные положения соответствуют паспорту специальностей: 14.03.02- Патологическая анатомия, а именно областям исследований: п.2 «Прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов, научный анализ патологического процесса, лежащего в основе заболевания»; п.3 «Исследование патогенетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ патогенетической терапии»; а так же 14.01.10 –Кожные и венерические болезни, областям исследований: п.1 «Различные аспекты патогенеза кожных болезней и заболеваний, передаваемых половым путем (клинические, патоморфологические, генетические, иммунологические, биохимические, функциональные, серологические исследования в динамике болезни»; п.3 «Современные клинические проявления кожных и венерических болезней, их роль в комплексной диагностике. Выявление связи поражений кожи с заболеваниями других органов и систем. Клинико-лабораторные параллели при кожных и венерических болезнях. Совершенствование диагностики дерматозов с использованием клинических, лабораторных, функциональных и других методов исследования. Дифференциальный диагноз дерматозов и инфекций, передаваемых половым путем».

Методология и методы исследования

Методология заключалась в системном подходе и комплексном анализе исследований отечественных и зарубежных авторов, посвященных клиническим проявлениям и патогенезу СК. На основании полученных данных были сформулированы цель и задачи исследования. В работе были использованы клинический, генеалогический, лабораторный, гистологический и иммуногистохимический (ИГХ) методы исследования, результаты которых были статистически обработаны.

Положения, выносимые на защиту.

1. СК является гетерогенным заболеванием, клинические проявления которого зависят от генетической предрасположенности и нарушений углеводного обмена.

2. Основную роль в патогенезе СК играет «старение» клеток на фоне окислительного стресса и нарушения метаболических процессов в клетке, приводящих к активации супрессорной активности в виде увеличения экспрессии p16 при низкой пролиферативной активности опухоли. Наличие у пациентов хронической гипергликемии приводит к ускоренному старению клеток, что клинически проявляется достоверным преобладанием множественного СК у пациентов с СД 2 типа и НТГ и сопровождается изменением экспрессии p63 и EGFR в клетках опухоли.

3. В отличие от акантоцитического, аденоидного и клонального типов СК формирование раздраженного типа с очагами плоскоклеточной дифференцировки происходит на фоне гиперэкспрессии маркеров клеточного цикла- p53, p27, p16 и повышенной пролиферативной активности клеток, что свидетельствует о возможности его злокачественной трансформации в дальнейшем.

4. Характер пигментации СК зависит от степени накопления пигмента в стареющих клетках, учитывая низкое содержание меланоцитов по данным

экспрессии Melan A и отсутствие стимуляции меланогенеза под воздействием УФ излучения в опухоли.

5. Множественные фиброэпителиальные полипы и наличие нарушений углеводного обмена у пациентов с СК в сочетании с гиперэкспрессией p63, EGFR, p16 при ИГХ-исследовании являются прогностическими факторами дальнейшего прогрессирования заболевания.

Степень достоверности результатов проведенных исследований, обоснованность научных положений, выводов, рекомендаций.

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в работе, базируются на достаточном по числу наблюдений материале. Достоверность полученных данных обеспечивается последовательным и логичным изложением задач исследования, использованием комплекса современных методов исследования, достаточного объема материала, адекватным применением методов статистического анализа, сравнении полученных результатов с актуальными данными современной литературы и их оценкой.

Апробация работы

Результаты исследования доложены на IV Московском форуме «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики» (Москва, 2014); XXXII Юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: Вчера, сегодня, завтра отечественной дерматологии» (Москва, 2015); XV Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2015); XXXIII научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: от дерматологии А.И.Поспелова до наших дней-170лет» (Москва, 2016); X Юбилейной научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов (Санкт-Петербург, 2016); Annual International Conference on Research, Education and Teaching by Russian Academics (Афины, Греция, 2016); VI Межрегиональном Форуме "Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики"

(Москва, 2016); X Международном форуме дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2017); в виде постерного доклада на 29th European Congress of Pathology (Амстердам, Голландия, 2017); XI Международном форуме дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2018).

Личный вклад автора

Планирование диссертационной работы, тщательный анализ литературы по теме исследования, обследование и динамическое наблюдение пациентов с СК, забор материала для гистологического и иммуногистохимического исследования и их проведение, анализ и интерпретация полученных результатов, их статистическая обработка, формулировка научных положений, выводов и практических рекомендаций, а так же написание статей по основным результатам исследования выполнены лично автором.

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанный автором в результате проведенных исследований алгоритм диагностики СК с учетом особенностей клинической картины и установленные прогностические факторы прогрессирования заболевания используются в практической работе врачей медико-санитарной части АО «Корпорация «Московский институт теплотехники»» (г.Москва) и многопрофильного медицинского центра ООО «Королев Медицина» (МО, г.Королев). Материалы диссертации, посвященные патогенезу СК, возможности его малигнизации и особенностям нарушений клеточного цикла используются в учебном процессе: на практических занятиях и в лекционном курсе для студентов, ординаторов и аспирантов кафедры патологической анатомии имени академика А.И. Струкова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ, а так же на кафедре патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 33 научные печатные работы, в том числе 12- в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных результатов диссертационного исследования. В зарубежных и российских научных рецензируемых изданиях - 3 статьи и 18 - материалы международных конференций и съездов.

Структура и объем работы.

Диссертация изложена в традиционной форме, представлена на 223 страницах. Состоит из оглавления, введения и четырех глав: обзора литературы, материалов и методов исследования, собственных результатов исследования, а также заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения и списка принятых сокращений. Работа иллюстрирована 57 рисунками, включает так же 59 таблиц и 2 диаграммы. Список литературы содержит 287 источников, из которых 40 отечественных и 247 иностранных работ.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Себорейный кератоз (СК) (*keratoma senile*, старческая бородавка) является доброкачественной эпителиальной опухолью кожи. Ее клинические проявления варьируемы [29,37,28,50,244]. До недавнего времени некоторыми исследователями СК рассматривался не как опухоль, а как результат реактивной гиперплазии эпидермиса, исходя из того, что при сравнительной геномной гибридизации не было обнаружено хромосомных aberrаций, характерных почти для каждого типа опухоли человека [44, 132,143]. Была доказана стабильность генома СК [129]. Клональная природа опухоли была подтверждена в исследованиях Nakamura H. с соавт. (2001) и Hafner C. с соавт. (2010) путем анализа человеческого андрогенного рецептора (HUMARA) в образцах СК гетерозиготных женщин [129,202]. В настоящее время считается, что СК формируется в результате пролиферации клона соматически мутировавших клеток [188].

СК может локализоваться на любом участке кожного покрова. Не встречается на коже ладоней и подошв. В литературе есть данные о возникновении СК на слизистых оболочках половых органов, на конъюнктиве, на коже наружного слухового прохода [48, 124,127,162,163,169,284]. Болеют как мужчины, так и женщины в равной степени, преимущественно среднего и пожилого возраста [127,168]. Так, по данным Yeatman J.M. с соавт. (1997), при обследовании 100 пациентов с клиническими проявлениями СК наблюдалось увеличение распространенности опухолей с 12% в возрастной группе 15-25 лет до 100% в группе старше 50 лет. Среднее число элементов СК также увеличивалось с возрастом - от 6 опухолей на пациента в возрасте 15-25 лет до 69 в возрасте старше 75 лет. Не было выявлено различий в распространенности, количестве СК между мужчинами и женщинами [292]. Это согласуется с результатами исследований Zhang R.Z. с соавт. (2011) [298] и Roh N.K. с соавт. (2016) [244].

Проявляется заболевание на ранней стадии пятнами, желто-коричневой окраски. С течением времени пятна постепенно превращаются в выпуклые

бляшки, как будто «приклеенные» к коже. В большинстве случаев они мягкой консистенции, с гладкой или веррукозной, гофрированной поверхностью, с сальным блеском. Характерно наличие пигментированных комедоноподобных роговых кист темного цвета. Размер опухолей может варьировать от нескольких мм до нескольких см. У афроамериканцев в 30-35% случаев СК встречается на коже лица и называется папулезным черным дерматозом. [29,48,174,188,215]. У пациентов может быть несколько единичных СК, но чаще опухоли множественные. В литературе, в большинстве случаев описывают расположение множественных СК по линиям натяжения кожи в области спины, живота и боковых поверхностях туловища [16, 29,153], но встречаются описания и необычной локализации - в виде линейно расположенных СК на коже поясницы [177], в виде «капель дождя» на коже спины [136,298]. Расположение множественных СК по линиям Блашко, которое наблюдал у пациента Mabuchi T. с соавт. (2008) указывает на возможность генетического мозаицизма при данном заболевании [185]. Кроме того, множественные СК (более 50 опухолей) чаще всего встречаются у нескольких членов семьи, что свидетельствует в пользу наличия генетической отягощенности [131, 226].

Некоторые авторы отмечают большую распространенность СК на открытых участках, подверженных инсоляции, однако единого мнения нет [33, 168, 225, 292]. Опухоль растет медленно, самопроизвольно не регрессирует, детали контроля ее клеточного цикла изучены мало. В соответствие с гистологической классификацией опухолей кожи выделяют 7 типов СК: акантотический, аденоидный, пигментированный, инверсный, раздраженный, гиперкератотический (папилломатозный) и клональный [37, 171]. Однако среди исследователей единого мнения нет. Отечественные авторы выделяют гиперкератотический, акантотический, аденоидный, клональный [50] и смешанный гистологические типы СК [29]. В зарубежной литературе чаще всего встречается описание 6 гистологических типов: акантотический, аденоидный или ретикулярный, гиперкератотический или папилломатозный, клональный, воспаленный и раздраженный [107,239,294]. Hood A.F. с соавт. (1993) к СК

наряду с перечисленными выше гистологическими типами относит так же инвертирующий фолликулярный кератоз [144]; Kim H.C. с соавт. (2013) - штукатурный кератоз [162], Jackson J.M. с соавт. (2015)- меланоакантому, папулезный черный дерматоз и штукатурный кератоз [153], Roh N.K. с соавт. (2016) - меланоакантому и смешанный тип опухоли [244]. Были выделены и клиничко- патологические варианты СК: простой СК, мягкие фибромы, ретикулярный, клональный, раздраженный, СК с плоскоклеточной атипией, меланоакантома, штукатурный кератоз и черный папулезный дерматоз [16]. Requena L. с соавт. в 2006 году выделил ранее не описанные гистологические типы СК: адамантиноидный - с большим количеством муцина в клетках и когда базалоидные кератиноциты расположены в опухоли по типу «псевдорозеток» [239].

Морфологическая картина СК представлена гиперкератозом, акантозом, папилломатозом, характерным является наличие истинных роговых и псевдороговых кист. В опухоли присутствуют три основных вида клеток - базалоидные кератиноциты, шиповатые клетки и меланоциты. Количество пигмента меланина варьирует от почти полного отсутствия до значительного количества [37,50,107].

Этиология СК не установлена. В настоящее время существует несколько теорий, которые не объясняют сущность патологического процесса, многообразия клинических и морфологических форм заболевания, и кроме того, часто противоречат друг другу.

В развитие СК предположительно играют роль: генетическая предрасположенность [29, 70, 128, 226], мутации третьего рецептора фактора роста фибробластов (FGFR3) [123, 129, 184], избыточная инсоляция [168,290], вирус папилломы человека (ВПЧ) [25,126,274], иммунологические нарушения [33] и «старение кератиноцитов» [203]. Существуют теории о роли в патогенезе СК *Pityrosporum ovale* [71], полиомавируса [143] и вируса герпеса 6А типа [101].

Спорным остается вопрос о злокачественной трансформации СК. В литературе встречаются лишь единичные наблюдения [167,279, 287, 290]. Так,

Vun Y. с соавт. в 2006 году при ретроспективном анализе 813 гистологических препаратов с диагнозом СК обнаружил злокачественную трансформацию в интрадермальную карциному в 5,3% случаев [279]; по данным Rajabi P. с соавт. (2012) из исследуемых 429СК в 1,4% имелась бовеноидная трансформация в пределах СК, преимущественно акантотического типа [235]. Мекни А. с соавт. (2003) [192] и Wu Y.H. с соавт. (2015) [287] предположили взаимосвязь между злокачественной трансформацией СК и наличием ВПЧ в тканях опухоли, тогда как Gaffney D.C. с соавт. (2014)- с избыточным УФ излучением [114]. Этот взгляд разделили и Cimrean I. с соавт. (2019). Они наблюдали трансформацию СК в плоскоклеточный рак у мужчины 69 лет, кроме того, исследователи провели анализ литературы, на основании которого была выявлена закономерность. Так, наибольшей частоте злокачественной трансформации подвержен СК, расположенный на открытых местах, с избыточным воздействием УФ излучения [92].

Значительно чаще доброкачественные и злокачественные новообразования кожи имитируют клинически СК [73, 152,173, 196, 241,243, 273].

Так, в исследованиях Лебедевой Ю.В. (2010) при изучении СК с локализацией на коже лица расхождения клинического и патогистологического диагнозов были выявлены в 75,1% случаев [33]; у Roh N.K. с соавт. (2016) – в 33,6% случаев [244]. При этом наиболее часто клинически схожи с СК вульгарные бородавки, лихеноидный кератоз и внутридермальный невус, расположенные преимущественно на местах, подверженных частой инсоляции. Злокачественные и предраковые заболевания кожи так же представляли значительный процент случаев несоответствия клинической и морфологической картин. В исследованиях Roh N.K. с соавт. (2016) он составил 24,2% (22/91)- это базально-клеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома и актинический кератоз [244]. При исследовании Izikson L.с соавт. (2002) 9204 биопсий с направительным клиническим диагнозом СК в 61 случае (0,66%) была выявлена меланома [152]. В результате анализа 4361 гистологических препаратов с клиническим диагнозом СК Chen T.Y. с соавт. (2017) выявил злокачественные

новообразования в 3,1% случаев, из которых большинство (67%) были плоскоклеточной карциномой, 24,3%- базальноклеточной карциномой и 8,8%- меланомой [87].

Не только клиническая картина, но и гистологическая картина СК может в некоторых случаях напоминать вседозрепителиоматозную гиперплазию при плоскоклеточном раке [50], что привело к необходимости поиска маркеров для дифференциальной диагностики. Neuhaus I.M. с соавт. (2006), исследуя СК с крупными клетками, расположенными на базальной мембране с оптически пустой цитоплазмой, которые гистологически имитировали меланому *in situ*, использовал для дифференциальной диагностики ИГХ- исследование с антителами к Melan A и S 100, экспрессия которых в СК не была обнаружена [211]. В 2018 году Richey J.D. с соавт. предпринял попытку найти ИГХ- маркеры, позволяющие отличить раздраженный СК от плоскоклеточного рака. В результате исследования 103 СК раздраженного типа и 111 случаев плоскоклеточного рака с использованием моноклональных антител к EGFR, IMP3 и BCL-2 автор выявил, что комбинация IMP3 и BCL-2 может быть диагностически полезна в повседневной клинической практике. Так, 63% СК экспрессировали Bcl-2 и были отрицательны для IMP3, в отличие от плоскоклеточной карциномы, при котором положительно было лишь 14% и 23% соответственно. А вот результаты экспрессии EGFR были идентичны и внимание автора не привлекли [242].

Нередко в литературе встречаются сообщения о коллизионных опухолях, содержащих злокачественное новообразование и СК. В исследованиях Lim С. (2006) 639 гистологически подтвержденных СК в 6,9% была выявлена ассоциация со злокачественными новообразованиями, преимущественно немеланоцитарного генеза [180]. Thomas I. с соавт. (2004) описал пациента с клиническим диагнозом СК, при гистологическом исследовании у которого в пределах опухоли была выявлена меланома [271]. Terada Т. с соавт. (2012) обнаружил микроинвазивную плоскоклеточную карциному в центре сильно пигментированного СК аденоидного типа у 84-летней женщины на коже века.

Гистологически опухоль была представлена базалоидными клетками, с псевдороговыми кистами, с накоплениями меланина. Атипичный пул клеток наблюдался только в центре очага, и был представлен полиморфными клетками с явлениями ядерной атипии, с патологическими митозами и инвазией в дерму [269]. Jee H. с соавт. (2013) описал коллизионную опухоль, состоящую из СК аденоидного типа и нодулярной базально-клеточной карциномы, без четких гистологических границ [154]. Аналогичный случай был описан Laing M.E. с соавт. (2009) [170] и Kurihara Y. с соавт. (2019) [167]. Ishida M. С соавт. (2011) наблюдал пациентку 89 лет, с базально-клеточной карциномой в пределах СК на коже ушной раковины. При проведении иммуногистохимического исследования экспрессия цитокератинов 17,19 и белка p53 регистрировалась только в клетках базально-клеточной карциномы, и отсутствовала в клетках СК, что привело автора к убеждению о разном патогенезе данных новообразований, несмотря на то, что, по его мнению, обе опухоли имеют происхождение от фолликулярного эпителия [151]. Предполагаемую морфогенетическую близость СК к волосяному фолликулу поддерживает и Choi HJ с соавт. (2007). Плоскоклеточные включения в раздраженном СК он относит анатомически к акротрихиям [90]. Некоторые авторы формирование плоскоклеточной дифференцировки при раздраженном типе СК связывают с активацией апоптоза. Морфологические особенности данного типа опухоли, по их мнению, соответствуют фазе инволюции, которая характеризуется изменением клеточного баланса с недостаточным обновлением и увеличением потерь клеток [230].

Таким образом, чаще всего ассоциация СК встречалась с интраэпидермальной и базально-клеточной карциномами, при локализации на коже головы или шее, поэтому гистологическое исследование является необходимым при удалении опухоли. Является ли СК коллизионной опухолью или предшественником злокачественной опухоли, до настоящего времени остается под вопросом [110, 158, 180, 186, 279].

Для более точного понимания этиологии и патогенеза заболевания, был проведен ряд генетических исследований. В результате были обнаружены

активирующие мутации в третьем рецепторе фактора роста фибробластов (FGFR3) и /или фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) в значительной части как спорадического СК [128- 130, 137,184], так и в СК у лиц, имеющих в семье множественный СК в двух поколениях [131]. Однако данные мутации оказались не строго специфичны для СК. Различные по спектру и затрагивающие внеклеточный, цитоплазматический и тирозинкиназный домены рецепторов, с разной частотой они встречаются как при доброкачественных новообразованиях, гистологически близких к СК (эпидермальном невусе) [140], так и при злокачественных - карциномах мочевого пузыря [69] и множественной миеломе [88]. Hafner С. с соавт. (2010), изучая однонуклеотидные полиморфизмы (SNaPshot анализ) в 175 СК аденоидного, гиперкератотического и акантотического типов от 25 пациентов, обнаружил соматические мутации FGFR3 в 71% (124/175) СК (K652M, R248C, K652E). Так же были выявлены типичные онко- ассоциированные активирующие мутации PIK3CA (E542K, E545K, H1047R) в 50% СК (80/159), которые в большинстве случаев встречаются в урогенитальных карциномах. Таким образом, хотя бы одна онко-ассоциированная мутация регистрировалась в 89% случаях СК. HRAS мутации были идентифицированы только в 3% СК (5/160) [129]. Единичная соматическая мутация p.L858R в гене EGFR была выявлена Georgieva I.A. с соавт. (2014) в 1 из 58СК, при секвенировании по методу Сэнгера и SNaPshot анализе [117].

Наиболее часто соматические мутации FGFR3 регистрировались при акантотическом и аденоидном типе опухоли, не зависели от распространенности процесса и времени появления, однако их процент возрастал с увеличением возраста пациентов и при локализации СК в области головы и шеи. Это указывает на роль длительного воздействия ультрафиолета в их возникновении [127].

Таким образом, несмотря на доброкачественную природу опухоли, обнаруженные при СК множественные мутации в онкогенах основных сигнальных путей FGFR3-RAS-MARK(митоген-активируемых протеинкиназ) и PI3K-AKT (серин/треониновой протеинкиназы) ставят под сомнение их

неоспоримую и единоличную роль в злокачественной прогрессии опухолей [131, 142]. Возможно, формирование доброкачественного фенотипа СК происходит благодаря наличию двойной положительной регуляторной петли между активацией FGFR3 и экспрессией FOXN1 (транскрипционного фактора, ответственного за раннюю дифференцировку кератиноцитов) [137,209]. В режиме real-time ПЦР оба гена были сильно повышены в СК и подавлены в плоскоклеточной карциноме. Возможно, повышенная экспрессия FGFR3, несущего активирующие мутации, приводит к снижению сигнала EGFR, и как следствие, повышению экспрессии FOXN1, находящегося под отрицательным контролем EGFR. Таким образом, увеличение активности EGFR наряду с FGFR3 характеризует доброкачественный фенотип опухоли, в отличие от активации только EGFR при злокачественных новообразованиях [188]. Вызывает интерес и тот факт, что пролиферативная активность клеток по данным исследования Ki-67 была значительно выше в СК, которые содержали дикий, а не мутантный тип FGFR3. Учитывая тот факт, что соматические мутации FGFR3 и PIK3CA при эпидермальном невусе обусловлены генетически, наличие аналогичных мутаций в СК может свидетельствовать о «молчащих» мутациях с детства, активация которых происходит с возрастом [129].

При злокачественных новообразованиях кожи- базально-клеточной и плоскоклеточной карциноме, мутации FGFR3 по данным зарубежных исследователей, отсутствовали [159]. Кроме того, более 90% плоскоклеточных карцином и более 50% базально-клеточных карцином содержали УФ-специфические мутации в гене -супрессоре p53 [16]. Данные мутации обнаруживаются так же при актиническом кератозе в 75% случаев, что предполагает их раннюю роль в формировании неоплазий [74,75].

Белок p53 («страж генома») не нужен для нормальной дифференцировки клеток и развития организма: фенотип p53 null мышей неотличим от нормального. Его основная роль - обеспечение стабильности генома и генетической однородности клеток организма в целом [51,72]. Более чем в половине всех опухолей человека (50-60% новообразований 60 различных типов)

обнаруживаются мутации гена TP53, из которых 90% представляет собой миссенс-мутации [27, 199]. Мутации меняют конформацию молекулы белка, что ведет к потере наиболее важных его функций. Происходит потеря или ослабление способности связывать и активировать гены с p53-респонсивными элементами, репрессировать другие специфические гены-мишени, ингибировать репликацию ДНК и стимулировать репарацию ДНК. Кроме того, мутантный белок p53 ингибирует функции дикого белка p53 по доминантно-негативному механизму.

При отсутствии стрессовых факторов p53 находится в «латентной форме», в которой он обладает слабой транскрипционной активностью, однако стимулирует рекомбинацию и репарацию ДНК. При стрессах и внутриклеточных нарушениях, таких как УФ- и g-облучение, присутствие в клетке разорванной ДНК, изменение числа внутриклеточного пула нуклеотидов, нарушение межклеточных контактов, отсутствие или избыток ростовых факторов или цитокинов, ингибирование ДНК- и РНК-полимераз, гиперэкспрессия онкогенов, вирусная инфекция, гипоксия, повышение уровня продукции кислородных радикалов, гипо- и гипертермия, различных нарушениях клеточной архитектуры наблюдается активация транскрипционных функций p53, что приводит к пост-трансляционным модификациям молекулы p53, которые определяют ее переход в так называемую «стрессовую» конформацию [27,51]. Такой p53 трансактивирует и/или трансрепрессирует специфические гены-мишени, следствием чего является индукция в поврежденных клетках или остановки клеточного цикла, или апоптоза [27]. Интересно, что по данным исследований при увеличении экспрессии p53 уровень мРНК и скорость трансляции p53 не меняются, что свидетельствует об увеличении его жизни на уровне белка [160]. Однако «стрессовый» p53 в значительной степени утрачивает активности, стимулирующие рекомбинацию и/или репарацию ДНК [27].

Следует учитывать выраженную индивидуальность в реакции разных типов клеток на действие p53, из-за взаимовлияния разных транскрипционных факторов, поскольку величины индукции или репрессии p-53 регулируемых

генов, а также их пропорции в разных типах клеток могут существенно различаться [51].

Главную роль в стабилизации белка p53 и повышении его транскрипционной активности играют изменения взаимодействия p53 с белком-ингибитором Mdm2. При связывании белка Mdm2 с N-концом молекулы p53 наступает протеосомная деградация белка p53. Поэтому, в норме время жизни белка не превышает около 30 мин, а уровень экспрессии очень мал. [13,40,77].

В настоящее время идентифицировано более сотни генов, являющихся мишенями транскрипционных активностей p53. Белок p53 контролирует синтез компонентов основных путей индукции апоптоза: митохондриального и стимулируемого "рецепторами смерти" [13, 27, 51, 60, 176,278, 295]. Кроме того, белок p53 способен как самостоятельно вырезать поврежденные участки ДНК, так и с помощью ДНК-зависимой протеинкиназы [51]. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что подавление роста опухолей связано с проапоптотической активностью p53, так как в медленно растущих опухолях уровень апоптотической гибели клеток гораздо выше [54, 266]. Нарушение процессов апоптоза в значительной мере происходят вследствие мутаций гена p53 [51].

К генам-мишеням, которые репрессируются p53, принадлежит ген каталитической субъединицы теломеразы (TERT). Возможно, таким образом p53 участвует в процессах репликативного старения клеток [27]. Необратимая остановка пролиферации «старых» клеток сопровождается p53 зависимой транскрипционной активацией генов мишеней p53, а инактивация p53 приводит к бессмертию клеток [49]. Вне стрессов, p53 осуществляет важную антиоксидантную функцию, повышая экспрессию ряда антиоксидантных белков и сестринов, тем самым обеспечивая поддержание низкого уровня кислородных радикалов внутри клетки [246].

Судьба клетки при активации p53 определяется множеством факторов: гистогенетическим типом клеток и физиологических условий, в которых она находится, степенью активации p53, функциональной активностью сигнального

пути pRb-E2F, а так же характером модификации самих молекул p53 и/или их белок-белковых взаимодействий [27].

При превышении физиологически-допустимого для клетки уровня повреждений активность p53 уже направлена не на поддержание гомеостаза и адекватного уровня репарации, а на активацию апоптоза или необратимую задержку клеточного деления. Хроническое воспаление в тканях в результате интоксикаций, облучения, инфекции и нарушения метаболизма (например, сахарном диабете) вызывает окислительный стресс, изменения внеклеточного матрикса, накопления поврежденных белков и способствует возникновению локального старения тканей- с ускоренной эрозией теломер и выработкой ресурса регенерации ткани [51].

При электронной микроскопии эпидермиса у лиц пожилого и старческого возраста (65-75 лет) наблюдалось увеличение содержания апоптозных кератиноцитов в базальном слое [118], наряду со снижением уровня пролиферативной активности кератиноцитов (по Ki-67) и одновременным увеличением числа p53-позитивных клеток при ИГХ-исследовании. Наибольшее количество p53-позитивных клеток выявляется в 19–25 лет, а затем только в возрасте 66–75 лет, уже на фоне низкой пролиферативной активности клеток. Предположительно, это можно объяснить тем, что в юношеские годы белок p53 преимущественно активирует репарацию повреждённой ДНК. К пожилому возрасту содержание клеток с повреждённой ДНК (апоптотические клетки) нарастает, и они гибнут в основном путём апоптоза.

По данным Гореловой М.В. (2011), экспрессия p53 никогда не встречается в клетках зернистого и рогового слоя, т.е. там, где протекает процесс терминальной дифференцировки, а не апоптоз. Терминальная же дифференцировка кератиноцитов не меняется существенно с возрастом [21].

Сочетание гиперэкспрессии p53 и высокой пролиферативной активности клеток встречается при злокачественных новообразованиях кожи- базально-клеточной и плоскоклеточной карциномах, где уровень их экспрессии отражает степень злокачественности. Многими исследователями было отмечено также

повышение экспрессии p53 как в непораженном эпидермисе, так и в новообразованиях кожи, подверженных интенсивному УФ излучению [65,75].

В отличие от злокачественных новообразований, в единичных исследованиях при СК не было выявлено мутаций p53 [129,188]. В ряде случаев при ИГХ- исследовании наблюдалось отсутствие экспрессии белка p53 в СК [129,203], слабая экспрессия [165], или увеличение экспрессии белка p53 в несколько раз по сравнению с нормальной кожей, что, по мнению авторов, было обусловлено накоплением белка p53 дикого типа и активацией апоптоза [188].

Доброкачественная природа СК, несмотря на наличие множественных онко-ассоциированных мутаций в генах двух основных сигнальных путей, приводящих к злокачественным опухолям, наводит на мысль об активации супрессорной активности. Тем более, что в генах-супрессорах (TSC1, PTEN, TP53) мутаций при СК не было выявлено [129]. Данные о нарушениях апоптоза при СК противоречивы - от его активации [188] до торможения, учитывая значительное повышение экспрессии протеина bcl-2 в исследованиях Ко С.Д. с соавт. (2005), Hafner С. с соавт. (2007), Puizina-Ivie N. с соавт. (2008) и Лебедевой Ю.В. (2010) [33,127,165,233].

СК встречается преимущественно у лиц после 30-40 лет, когда происходит истончение эпидермиса на 10%. Эпидермальные кератиноциты «стареют» и становятся более устойчивыми к апоптозу. Они в большей степени аккумулируют мутации, что увеличивает риск злокачественной трансформации [16, 142]. Старение происходит на клеточном уровне и отражает как заложенную генетически программу, так и суммарное повреждение, полученное в результате действий окружающей среды, являясь необратимым состоянием, биохимической альтернативой саморазрушению для сильно повреждённых клеток. Возрастные изменения в соматических клетках организма обусловлены снижением пролиферативного потенциала и свободнорадикальными реакциями, основным источником которых является восстановление кислорода митохондриями, микросомами и НАДФ Н –оксидантными системами фагоцитов и других специализированных клеток. Накопление повреждений в клетках и скорость

старения зависят от соотношения процессов образования активных форм кислорода и их обезвреживания ферментативной системой антиокислительной защиты [22]. Еще Хейфлик Л. (1997) установил, что нормальные соматические клетки человека имеют ограниченный митотический потенциал и конечную продолжительность жизни [49]. В стареющих клетках вследствие снижения функциональной активности клеток подавлена экспрессия циклинов, CDK, IGF-1 и других факторов – сигнальных молекул и эндогенных пептидов, необходимых для пролиферации и дифференцировки [55,161].

Теория «старения кератиноцитов» при СК нашла свое отражение в исследованиях Nakamura S. с соавт. (2003). Он не обнаружил фрагментации ДНК в клетках 5 исследуемых СК, тогда как в контрольных образцах непораженной кожи фрагментация ДНК была зафиксирована в зернистом и роговом слое. Кроме того, в отличие от нормальных кератиноцитов, большинство клеток СК в культуре выжили более 3 недель, демонстрируя морфологические признаки старения [203]. Li Y. с соавт. (2018) при ИГХ- исследовании, результатам Вестерн- блоттинга и real-time ПЦР выявил увеличение количества белка-предшественника амилоида в СК по сравнению с нормальной кожей, который является, по мнению автора, маркером старения клеток [178].

Механизмы индукции «старения» клеток различны: активирующие мутации в онкогенах и генах - супрессорах, оксидативный стресс, нерепарируемое и персистирующее поражение ДНК [93].

В последнее время возрос интерес и к конечным продуктам усиленной гликации (AGEs), которые образуются в больших количествах в организме в процессе старения и при сахарном диабете [301]. Именно гликационный стресс наряду с фотостарением является основной причиной деструктивных изменений кожного покрова с возрастом [119]. Гликация представляет собой неферментативную реакцию связывания глюкозы и белков, в результате которой появляются AGEs (карбоксиметиллизин, пентозидин и глиосаксаль, метиоглиоксаль и др), высокореактивные токсичные соединения, приводящие к нарушению функции клеток с помощью белковых модификаций. Так же они

способствуют развитию воспаления в коже и тканях, связываясь со специфическим рецептором RAGE и активируя клеточные сигналы, генерирующие цитокины [112]. Так, один из них, карбоксиметиллизин является биомаркером общего оксидативного стресса в организме. Он накапливается в коже с возрастом и при сахарном диабете, как и метилглиоксаль, важнейший из гликирующих реагентов, приводящий к нарушению функций белков. Данные продукты лишены деградации и являются активными индукторами окисления [220]. AGEs могут образовываться за счет экзогенных факторов (продукты питания, УФ-излучение) и эндогенным путем. Формирование эндогенных AGEs значительно повышается при СД 2 типа. Кроме того, при групповом исследовании здоровых моно и гетерозиготных близнецов было выявлено, что уровень циркулирующих AGEs генетически детерминирован [15].

Одним из основных генов, ответственных за процессы старения, наряду с TP53, является ген CDKN2A, расположенный на хромосоме 9 (9p21.3). Его продукт – белок p16/INK4a. В отличие от других ингибиторов клеточного цикла, именно его экспрессия (самого белка и его мРНК) резко возрастает с возрастом наряду с дисфункцией теломер (их укорочением в результате хромосомных разрывов) в большинстве тканей млекопитающих, возможно, не за счет увеличения его синтеза, а уменьшение его деградации, что вносит свой значительный вклад в возрастной функциональный спад и способность к репликации тканей [166]. По данным Donati P. с соавт. (2013), увеличение экспрессии p16 в новообразованиях кожи (меланоцитарных и немеланоцитарных) наблюдается у пациентов старше 61 года [102]. Таким образом, белок p16 является биомаркером, который измеряет молекулярное (клеточное), а не хронологическое старение, и может быть использован для прогнозирования болезней старости: ишемического инсульта, болезни коронарной артерии и сахарного диабета 2 типа (СД 2 типа) [182].

С момента открытия p16 в 1993 году [241], продолжается дискуссия о значении его повышенной экспрессии. Являясь ингибитором циклин-зависимых киназ (CDK), «хранителем клеточного цикла», p16 связывается с киназами

CDK4/6, нарушая их взаимодействие с циклином D, что приводит к гипофосфорилированию белка pRb (белок ретинобластомы), с последующей остановкой клетки в фазе G₁ клеточного цикла [245, 258]. Экспериментально было показано, что снижение экспрессии p16 приводит к гиперфосфорилированию белка pRb, который при этом не может оставаться связанным с фактором транскрипции E2F. Поэтому комплекс Rb-E2F диссоциирует и свободный фактор E2F активирует транскрипцию генов, специфичных для S фазы (S-phase-specific-gene) [164]. Во многих источниках подтверждается, что нарушения в G₁-фазе и G₁/S-контрольной точке приводят к неконтролируемому росту опухолей. В случаях, когда нарушения затрагивают G₁-фазу, это происходит главным образом потому, что гены, кодирующие регуляторные белки семейства E2F приобретают неограниченную активность и увеличивают экспрессию генов G₁/S-циклинов, в результате чего клетка неконтролируемо вновь и вновь вступает в клеточный цикл [197]. Повышенную экспрессию гена p16 с возрастом раковые клетки преодолевают путем его инактивации, с помощью гиперметилирования или делеции. Таким образом, действие данного гена и его продукта белка p16 соединяет разные процессы: онкогенез и старение, фиксируя их на противоположных концах. В одном случае, гиперметилирование, мутации, делеции p16 приводят к нарушению регуляции гена и к развитию злокачественных новообразований через нарушение регуляции клеточного цикла. В другом случае, при повреждении ДНК и увеличении возраста происходит активация p16, что приводит к накоплению в тканях белка, снижению пролиферативной активности клеток и старению клеток [236]. Отсутствие же p16 приводит к уменьшению снижения репликативной способности быстро пролиферирующих клеток-гемопоэтических стволовых клеток, панкреатических β-клеток и В-лимфоцитов [182].

По данным литературы, при регистрации повышенной экспрессии p16 в эпителиальных клетках человека, рассматриваются три основные интерпретационные линии: 1) p16 как маркер прогрессирования опухоли и показатель ее злокачественности, учитывая инактивацию гена в результате

мутаций во многих первичных злокачественных опухолях человека [63,91,97,116,134,212,276]; 2) экспрессия p16 в качестве дополнительного маркера вируса при поражениях, связанных с ВПЧ [145,259,287]; 3) p16 в качестве маркера клеточного старения [102,182, 203].

Кроме того, повышение экспрессии p16 некоторыми авторами объясняется «старением» клеток, связанным с УФ излучением [85,102,227]. Так, при облучении кожи субэритемными дозами УФ, уровни p16 резко увеличивались до 16 ч после облучения, достигали пика в течение 24 часов и снижались через 72 часа. p16 экспрессировался в ядре и цитоплазме меланоцитов и кератиноцитов, причем степень выраженности реакции зависела от проникающей способности различных УФ-диапазонов [227]. При использовании многопараметрического ИГХ- исследования и биохимического анализа, было выявлено, что меланоциты и кератиноциты базального и супрабазальных слоев подвергаются остановке клеточного цикла в G2 фазе в течение 48 часов после УФ облучения и арест связан с увеличением экспрессии p16, но без видимого участия p53, что авторы считают результатом облучения низкими уровнями УФ, которые были использованы в исследовании [228].

При СК Nakamura S. с соавт. в 2003 году при ИГХ - исследовании обнаружил расширение экспрессии белка p16 на все клетки опухоли, тогда как в нормальном эпидермисе присутствие p16 регистрировалось только в кератиноцитах зернистого слоя эпидермиса. Кроме того, p16 обнаруживался им и в культивированных клетках СК [203]. При ИГХ-исследовании 23СК, проводимых Hillen L.M. с соавт. (2017) в 69,6% случаев была отмечена высокая экспрессия p16, как в цитоплазме, так и в ядрах клеток [143]. Однако в исследованиях Hafner C с соавт. (2010) экспрессия p16 соответствовала таковой в образцах здоровой кожи, что автор интерпретировал как отсутствие активации программы «старения» кератиноцитов в СК [129]. Этот же взгляд еще ранее был высказан Brueks A.K. с соавт. (2007). По данным изучения 10 СК акантоического и раздраженного типов уровень экспрессии белка p16 был умеренным, что, по мнению автора, свидетельствовало об отсутствии его роли в патогенезе

заболевания [78]. Похожий результат был обнаружен и Harvey N.T. с соавт. в 2013 году при исследовании 20 СК [134]. В других исследованиях экспрессия p16 в СК и вовсе отсутствовала [97].

Повышение экспрессии p16 наблюдается преимущественно при болезни Боуэна [134], на фоне гиперэкспрессии p53 [63], а так же при базально-клеточной и плоскоклеточной карциноме, коррелируя с увеличением пролиферативной активности клеток опухоли (по Ki-67) и избыточным солнечным излучением в отличие от СК и непораженного эпидермиса [97]. Поэтому Wu Y.H. с соавт.(2015) было предложено исследовать экспрессию p16 у пациентов с СК для выявления возможной злокачественной трансформации опухолей. При изучении 17 СК с признаками бовеноидной трансформации он обнаружил в атипичных клетках повышенную экспрессию p16 и p21, идентичную для болезни Боуэна и бовеноидного папулеза на фоне повышенной пролиферативной активности [287]. В исследованиях Bahrani E. с соавт.(2019) 23 клональных СК в 70% случаев была выявлена слабая экспрессия p16 на фоне высокой пролиферативной активности, тогда как при болезни Боуэна (15 образцов опухоли) экспрессия p16 в 80% случаев всегда была повышена, на фоне повышенной экспрессии Ki-67. Это позволило автору сделать вывод о диагностическом значении повышенной экспрессии p16 с Ki-67 или изолированно при дифференциальной диагностике клонального СК с болезнью Боуэна [64]. К аналогичному мнению пришла и Kalegowda I.Y.(2017), исследуя 29 СК и 13 образцов плоскоклеточного рака *in situ* [156]. Однако Omman RA с соавт. (2019) считает наличие повышенной экспрессии p16 в «гнездах» клеток при клональном СК нормой [217].

Важно отметить, что злокачественная трансформация СК все же остается чрезвычайно редким событием [96,235,279] .

До настоящего времени мнения о пролиферативной активности клеток СК, нарушения которой обязательны для формирования любой опухоли, различны. Пролиферативная активность клеток нормального эпидермиса значительно меняется с возрастом. Начиная с антенатального периода развития

организма, происходит постепенное увеличение количества Ki-67-позитивных клеток. Пик их максимального содержания достигается к 19–21 годам жизни, остается приблизительно на одном уровне до 40-45 лет, а к 75 годам уменьшается [21].

Результаты работ по изучению маркера пролиферации Ki-67 при СК крайне противоречивы [33,97,127]. При исследовании 65СК акантоотического типа Hafner С. с соавт. в 2007 году Ki-67-позитивными были $6.8 \pm 3.1\%$ - $7.7 \pm 4.0\%$ клеток, тогда как экспрессия Ki-67 в 19 образцах нормального эпидермиса была достоверно ниже и не превышала $2.3 \pm 0.8\%$ клеток [127]. Однако в исследовании 175СК в 2010 году автор обнаружил пролиферацию клеток СК идентичной таковой в нормальном эпидермисе, с единственным отличием, что при СК окрашенные ядра встречались и в супрабазальном слое [129]. Низкая пролиферативная активность клеток была выявлена и в исследованиях Conscience I. с соавт. (2006): из 10 СК экспрессия Ki-67 в более 5% клеток опухоли встречалась только в 3 опухолях [97]. Brueks A.K. с соавт. (2007) главным фактором, контролирующим пролиферацию кератиноцитов при СК, обозначил протеин p27 (Kip1) -ингибитор циклин-зависимой киназы 1В, член семейства белков Cip/Kip. Он является продуктом гена-супрессора CDKN1В человека. Изучив 10 СК акантоотического типа и раздраженного типа, он в обеих группах отметил низкий индекс пролиферации по степени экспрессии Ki-67 в сочетании с выраженной, диффузной экспрессией белка p27 и практически отсутствием другого циклин-зависимого ингибитора киназы, p16 [78]. P27 регулирует течение клеточного цикла и отвечает за его остановку в G1-фазе путем подавления активности комплексов циклин A/Cdk 2 и циклин E/Cdk 2 [197]. Мутации в гене p27 обуславливают предрасположенность к развитию множественных опухолей эндокринных желез у человека и крыс [229].

Обращает на себя внимание и выявленная гиперэкспрессия белка p63 при СК по сравнению с непораженным эпидермисом, более характерная для плоскоклеточного рака и болезни Боуэна [285], причем преимущественно его $\Delta Np63a$ изоформы [254].

Белок p63, играющий ключевую роль в морфогенезе эпидермиса, кодируется геном TP63, локализованным на хромосоме 3q27 и относится к семейству белков p53, включающему в себя транскрипционные факторы p53, p63 и p73 [120]. Имея достаточно высокую степень гомологии в участках трансактивационного (TA) (~30%), центрального ДНК-связывающего (DBD) (~60%) и олигомеризационного доменов (OD) (~30%), эти белки способны связываться с общими генами-мишенями и участвовать в регуляции апоптоза, процессах остановки клеточного цикла в ответ на генотоксический стресс. Все три белка семейства имеют множество изоформ, образующихся за счет альтернативного сплайсинга и альтернативной инициации трансляции и наличия нескольких промоторов [23,199,280,286]. Так, на настоящий момент известно около 20 изоформ p53 и 10 изоформ белка p63, обладающих (TA-формы) и не обладающих (Δ DN-формы) транс-активационным доменом. Δ DN изоформы функционируют как ингибиторы по доминантно-негативному пути TA-форм. Таким образом, баланс между ними в конечном счете необходим для снижения транскрипционной активности TA - форм. Нарушение регуляции, а так же изменение баланса между изоформами белков p53 семейства играет критическую роль в развитии опухолей и развитии резистентности к химиотерапии [223,224,280].

Изоформы, содержащие транс-активационный домен, выполняют в клетках типичные для семейства p53 функции проапоптотического транскрипционного фактора - индуцируют апоптоз [265], старение [125,264], и препятствуют продвижению клетки по клеточному циклу, активируя p53-респонсивные гены [115]. Известна роль TAp63 в регуляции липидного и углеводного обмена. Так, у трансгенных (TAp63 null) мышей развивается преждевременное старение и инсулинорезистентность, которая приводит к ожирению и развитию СД 2 типа. Данные нарушения формируются даже при низкокалорийной пище [206]. Кроме того, содержание TAp63 изоформ в коже повышается в ответ на применение метформина [264]. Δ DNp63, ранее считавшаяся транскрипционно -неактивной изоформой [288], как показали дальнейшие исследования, способна активировать

экспрессию генов- мишеней в кератиноцитах (в частности, экспрессию генов цитокератинов 5/14) и является ключевым регулятором развития и дифференцировки эпителиальных тканей [72,120]. Кроме того, Δ DNp63 является доминирующей изоформой в большинстве эпителиальных клеток, с высокой экспрессией в базальном слое эпидермиса [280,288], играя важную роль в развитии и сохранении стволовых клеток ороговевающего эпителия и железистой ткани [231]. Тогда как TAp63 в эпидермисе в отсутствие неблагоприятных факторов не определяется [72]. Δ DNp63 изоформы белка регулируют клеточный метаболизм [67,81], оказывают негативное воздействие на дифференцировку клеток, ингибируют старение и апоптоз [120].

Как Δ DNp63, так и TAp63 необходимы для развития кожи и эпидермиса [72,219,289]. При нокауте гена p63 у мышей наблюдается полное отсутствие кожи и других эпителиальных тканей и гибель эмбрионов. Возможно, это связано с преждевременной дифференцировкой стволовых клеток эпителия и исчерпанием их запаса к моменту рождения животных [27,288]. Есть мнение зарубежных авторов, что для поддержания пролиферативной активности базальных кератиноцитов, p63 оказывает ингибирующее влияние на экспрессию генов супрессоров p16/Ink4a и PTEN [72].

Потеря экспрессии или мутации гена p63 крайне редко встречаются в опухолях человека. Чаще в них отмечается увеличение экспрессии белка. И, хотя в некоторых исследованиях не проводилось выделения изоформ p63, большинством авторов принято считать, что повышение содержания p63 в опухоли происходит преимущественно из-за транскрипционно-неактивных Δ DN-форм [27, 72, 238, 248, 280]. Так, гиперэкспрессия p63 наблюдается при базально-клеточной карциноме, плоскоклеточной низкодифференцированной карциноме кожи [223], ротоглотки [99], шейки матки [181], легких [148] и свидетельствует о плохом прогнозе заболевания [200].

Имеются данные, что Δ DN-формы белков p63 и p73 могут подавлять транскрипционную активность p53 по доминантно-негативному механизму [81], конкурировать с p53 за места посадки на ДНК генов-мишеней, или

секвестрировать p53 путем связывания его молекул и образования неактивных комплексов [27,262]. ДНК элемент, уже занятый каким-либо вариантом белка семейства p53, будет закрыт для влияний со стороны других изоформ. Этим могут объясняться тканеспецифические различия в p53-зависимых эффектах, так как уровень экспрессии изоформ белков p63 и p73 значительно варьирует. При наличии мутантного p53 происходит модификация активности и его гомологов – p63 и p73 [51], в частности, ингибирование их активности (ТА-форм) [199, 263].

К факторам, вызывающим внезапное появление множественных СК (симптом Лезера- Трела), предположительно относят выработку клетками злокачественных опухолей внутренних органов цитокинов- эндогенных медиаторов (трансформирующего фактора роста-альфа (TNF- α), эпидермального фактора роста (EGF) и др.), влияющих на пролиферацию кератиноцитов и вызывающих быстрый рост СК [135]. Еще Ellis D.L. с соавт. в 1987 году указал на роль факторов роста в развитии паранеопластических дерматозов. При ИГХ-исследовании он выявил интенсивное мембранное окрашивание и расширение экспрессии EGFR на все слои эпидермиса, за исключением рогового, у пациентов с черным акантозом, симптомом Лезера- Трела и множественными акрохордонами, тогда как в непораженной коже экспрессия EGFR была только в базальных кератиноцитах [108]. Схожие результаты были получены Ponti G. с соавт.(2010) у пациента с аденокарциномой желудка и метакронным раком в анамнезе и синдромом Лезера- Трела [232]. Ohashi N. и Hidaka N. в 1997году наблюдали увеличение количества и размеров СК у 53- пациента с аденокарциномой поджелудочной железы, и значительный регресс высыпаний после оперативного лечения. При ИГХ- исследовании экспрессия EGF была низкой в клетках карциномы поджелудочной железы, но высокой в СК [216].

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), крупный гликопротеин, является продуктом одного из онкогенов семейства erb-c-erbB1 и относится к числу рецепторных тирозинкиназ, важных регуляторов клеточной пролиферации и злокачественной трансформации. Его особенностью является трансмембранная локализация и необходимость во взаимодействии с соответствующим

полипептидным лигандом для реализации киназной активности [19]. Лиганды, стимулирующие EGFR, включают в себя собственно эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста-альфа (TGF- α), гепаринсвязанный фактор роста (HBGF), бетацеллюлин и Cripto - 1 фактор. Эти пептиды имеют сходные биологические эффекты и способны перекрестно индуцировать синтез друг друга [20,30,32,139]. Передача митогенного сигнала происходит через связывание специфичных лигандов, что приводит к димеризации и аутофосфорилированию EGFR и активации его цитоплазматического тирозинкиназного домена [89]. Важнейшие внутриклеточные системы, участвующие в реализации эффектов факторов роста – это сигнальный путь, включающий фосфатидилинозитол 3-киназу (PIK3) и ее нижележащий эффектор серин/треониновую протеинкиназу Akt, а так же Ras- Raf сигнальный путь, включающей целый каскад митоген-активируемых протеинкиназ [20,30].

Помимо EGFR к рецепторам фактора роста с тирозинкиназной активностью относят рецепторы инсулина и инсулиноподобного фактора роста (IGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF), фактора роста гепатоцитов (рассеивающий фактор) (HGF/SF) и фактора роста фибробластов (FGF) [104] (рисунок 1).

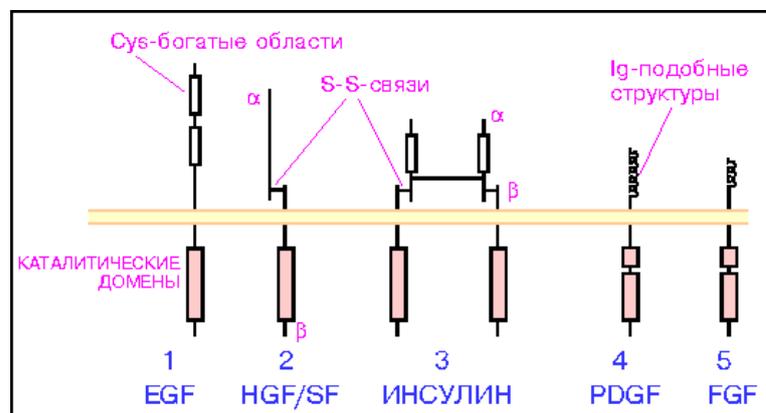


Рисунок 1. Представлены основные типы рецепторных тирозинкиназ, выделяемых на основе гомологии первичной структуры, структурных характеристик и аминокислотных мотивов цитоплазматического домена. (База знаний по биологии человека, электронный ресурс <http://humbio.ru/humbio/oncogenetics/0015895b.htm>)

Особенности экспрессии EGFR были изучены преимущественно при злокачественных новообразованиях. Делеции мРНК EGFR обнаружены в широком спектре неоплазий. Его повышенное количество является общей тенденцией к быстрому росту всех EGFR-положительных эпидермальных и мезенхимальных опухолей, что соотносят с плохим прогнозом, пониженным выживанием и/или повышенным метастазированием [30,32]. Известна его роль в развитии и прогрессировании гепатоцеллюлярной карциномы, колоректального рака, рака мочевого пузыря и молочной железы [19,149,237]. Не всегда уровень активации EGFR сопоставим с количеством лигандов, его активирующих, что особенно характерно для злокачественных новообразований -рака эндометрия и молочной железы [30]. Существенную роль играет и нарушение продукции и активности сигнальных путей рецепторов других факторов роста, активирующих рецепторы семейства c-erbB, их лигандов, а также уровня фосфорилирования нижележащих сигнальных белков [20]. Кроме того, не всегда выявляется зависимость между митогенной активностью ростовых факторов и их способностью предотвращать клеточную гибель. Так, тромбоцитарный и инсулиноподобный факторы роста обладают мощным антиапоптотическим действием. В то же время FGF или EGF, несмотря на их высокую митогенную активность, практически не влияют на выживаемость клеток [133].

Известно о повышении экспрессии EGFR при некоторых гиперпролиферативных наследственных заболеваниях – ихтиозиформных дерматозах [205]. Nanney L.V.с соавт.(1992), используя ИГХ-исследование для изучения экспрессии EGFR в растущих (оценивалась клеточная пролиферация с использованием 5-бромдеоксиуридина) и находящихся не в фазе роста элементах СК, акрохордонах, вульгарных бородавках и при контагиозном моллюске отметил увеличение экспрессии EGFR только в растущих элементах СК и акрохордонах. Автором не было выявлено корреляции между гистологическим типом СК (гиперкератотическим, аденоидным, клональным) и уровнем экспрессии EGFR. Присутствие же в СК лимфоцитарно- моноцитарного инфильтрата в большинстве случаев сопровождалось увеличением

пролиферативной активности и гиперэкспрессией EGFR. В растущих СК отсутствие экспрессии EGFR наблюдалось только в очагах плоскоклеточной дифференцировки и роговых псевдокистах, на фоне его повышенной экспрессии в опухоли. При контагиозном моллюске интенсивное окрашивание наблюдалось только в базальных кератиноцитах и отсутствовало в пораженных вирусом клетках. Таким образом, повышение экспрессии EGFR четко коррелировало с увеличением пролиферативной активности при двух разных доброкачественных заболеваниях эпидермиса [204].

Наличие гиперэкспрессии EGFR в СК предполагает тесную взаимосвязь между клиническими проявлениями заболевания и наличием злокачественных новообразований внутренних органов [232], однако не ясно, являются ли злокачественные опухоли первичным источником или провоцируют вторичную секрецию факторов роста, в частности TGF- α и EGF. Большую часть злокачественных новообразований, описанных при симптоме Лезера-Трела, составляют аденокарциномы, из них 47,7% поражают желудочно-кишечный тракт [16]. Вторыми по частоте являются лимфопролиферативные заболевания (лимфомы, лейкемии) [208]. Встречаются также малочисленные сообщения о множественном СК при злокачественных поражениях легких, молочной железы, почек и метастазирующей меланоме [62, 84,216,250,257,260]. Кроме того, множественный СК на коже шеи и лица, исходя из результатов исследований Лебедевой Ю.В. (2010), можно рассматривать как факультативный маркер висцерального рака [33]. Во многих случаях при злокачественных опухолях внутренних органов множественный СК ассоциирован с черным акантозом, который является паранеопластическим дерматозом [135,218,251,297]. Паранеопластическую природу множественного СК подтверждают и описания регресса высыпаний у пациентов после удаления злокачественной опухоли [216,293].

Однако некоторые авторы не считают симптом Лезера-Трела истинным паранеопластическим дерматозом. Множественный СК является очень распространенным заболеванием, имеет доброкачественный характер и

развивается у лиц пожилого и старческого возраста, которые наиболее подвержены злокачественным новообразованиям [16, 122,283]. Поэтому в зарубежной литературе предлагают разделять «симптом Лезера-Трела» (sign), когда внезапное появление очагов СК сопровождается зудом или сопутствующим черным акантозом и присутствует с или без скрытой злокачественной опухоли и «синдром Лезера-Трела», который используют уже для описания паранеопластического синдрома у пациентов с «симптомом Лезера-Трела» при установленной висцеральной опухоли [135]. Не связанные с онкологией множественные СК так же было предложено называть псевдосимптомом Лезера-Трела [147]. Он наблюдается в редких случаях у пациентов с лейкозами при проведении химиотерапии [179], а так же при терапии антагонистами фактора некроза опухоли - α (ФНО- α) по поводу хронических дерматозов [105,277]. Появление множественных элементов СК описано у пациентов при трансплантации сердца [146], при ВИЧ-инфекции [150] и болезни Девержи [252]. Эти данные дают возможность предположить роль иммуносупрессии в возникновении и прогрессировании СК.

Safa G. и Darrieux L. в 2011 году был представлен случай симптома Лезера-Трела у 66-летней здоровой женщины, у которой последующее наблюдение в течение двухлетнего периода не выявило каких-либо признаков злокачественных поражений [247]. Аналогичное наблюдение описано и Turan E. с соавт. в 2013 году [275]. Кроме того, Yamamoto T. с соавт. (1996) наблюдал 79-летнего пациента злокачественным новообразованием билиарного тракта, у которого множественный СК развился постепенно, в течение 10 лет и характеризовался повышенной экспрессией EGFR в папилломатозных тяжах базалоидных клеток, а так же отсутствием регресса высыпаний после оперативного лечения. В семье данного пациента в трех поколениях наблюдался множественный СК, ассоциированный с висцеральным раком желудочно-кишечного тракта, что свидетельствует о генетической отягощенности более, чем о паранеопластической природе множественных СК [291].

Сочетание множественного СК, черного акантоза и акрохордонов при отсутствии онкологии наблюдала Saraiya A. с соавт. в 2013 году у пациента с инсулинорезистентностью и СД 2 типа. Основная роль в стимуляции синтеза ДНК и пролиферации автором была отдана высокой концентрации инсулина [249].

Сахарный диабет часто сопровождается различного рода поражениями кожи, которые отличаются своеобразием клинической картины, течением и локализацией. Машкиллейсоном А.Л. и Перламутровым Ю.Н. в 1989 г была предложена патогенетическая классификация кожных изменений при сахарном диабете, которая не утратила актуальности и по настоящее время:

1)Дерматозы, обусловленные сахарным диабетом:

липоидный некробиоз, ксероз кожи, ангиодерматит;

2)Дерматозы, возникшие на фоне сахарного диабета:

трофические язвы, псориаз, алопеция, себорея;

3)Дерматозы, течение которых усугубляется сахарным диабетом:

пиодермия, микозы;

4)Дерматозы, вызываемые препаратами, применяющимися при лечении сахарного диабета:

крапивница, зуд кожи; [35].

Их возникновение в большинстве случаев является результатом гипергликемии и гиперлипидемии, а на ранних стадиях СД 2 типа - гиперинсулинемии, абсолютной или относительной [34]. Так, патологическая эпидермальная пролиферация при черном акантозе (пигментно-сосочковой дистрофии кожи), по данным зарубежных авторов, развивается вследствие воздействия избыточного количества инсулина на рецептор IGF-1, который экспрессируется на кератиноцитах и фибробластах [16,100]. К тому же, с нарушением углеводного обмена ассоциированы все пять типов пигментно-сосочковой дистрофии кожи: наследственный доброкачественный, доброкачественный (юношеский), злокачественный, ложный (псевдоакантоз) и лекарственный [207].

Другим кожным маркером нарушенной толерантности к глюкозе являются множественные мягкие фибромы (акрохордоны), особенно при поражении нескольких анатомических областей (шеи, крупных складок кожи, век). У пациентов с избыточным весом они более, чем в 45% случаев, сопровождаются нарушением толерантности к глюкозе. При исследовании Bhargava P. с соавт. (1996) 100 пациентов с множественными акрохордонами, у 32 пациентов они сочетались с множественными СК и нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ), у 8 - с множественными СК, псевдоакантозом, ожирением и СД 2 типа [68]. В других исследованиях было зарегистрировано нарушение углеводного метаболизма у пациентов с множественными акрохордонами даже в случаях, не связанных с ожирением [155,256].

Инсулин является мощным фактором, стимулирующим клеточный рост и пролиферацию. Рецепторы инсулина, относящиеся к семейству рецепторов фактора роста, представляют собой мембранные гликопротеины, состоящие из двух белковых субъединиц - внеклеточной α , и пронизывающей клеточную мембрану β - субъединицей. Именно ее цитоплазматический домен обладает тирозинкиназной активностью, которая и запускает специфические внутриклеточные пути передачи: гормонального митогенного сигнала, который опосредует ростовые факторы инсулина, и метаболического, который регулирует метаболизм питательных веществ [17]. Инсулин участвует в разных метаболических процессах, большинство из которых реализуются путем изменения экспрессии более чем 100 разных генов [11]. Инсулиноподобные факторы роста (IGF) IGF-1 и IGF-2 так же являются митогенами кератиноцитов человека. Их действия в основном опосредуются через рецептор IGF -1, тогда как инсулин является митогеном как через рецептор IGF-1, так и рецептор инсулина [210]. Связывание инсулина с рецептором приводит к активации различных сигнальных каскадов, в том числе MARK и PIK-3 пути, которые контролируют пролиферацию клеток, дифференцировку и апоптоз (рисунок 2). В условиях хронического воспаления высокие уровни провоспалительных цитокинов способны активировать P38MARK, что через фосфорилирование субстратов

инсулинового рецептора приводит к блокаде дифференцировки и к увеличению пролиферации базальных кератиноцитов [79].

СД 2 типа развивается постепенно, после 35-40 лет, часто на фоне избыточной массы тела и генетической отягощенности. Он является самым распространенным эндокринным заболеванием вследствие старения населения. Согласно данным Международной диабетической федерации (International Diabetes Federation (IDF)), 415 млн взрослых людей в возрасте 20–79 страдают диабетом во всем мире, а распространенность диабета у лиц старше 65 лет достигает 20% [42]. Таким образом, численность больных сахарным диабетом в мире за последние 10 лет увеличилась более чем в 2 раза, и, согласно прогнозам, к 2030 г. им будет болеть каждый 10-й житель планеты [47].

Классические симптомы СД 2 типа обычно выражены слабо, или отсутствуют. По данным Лыковой С.Г. с соавт. (1997), только у 37,7% пациентов характерные кожные изменения развились на фоне верифицированного диагноза сахарного диабета. В остальных случаях изменения кожного покрова выступали в качестве первых, «сигнальных» признаков диабета, и в 62,3% случаев диагноз был поставлен дерматологом [34].

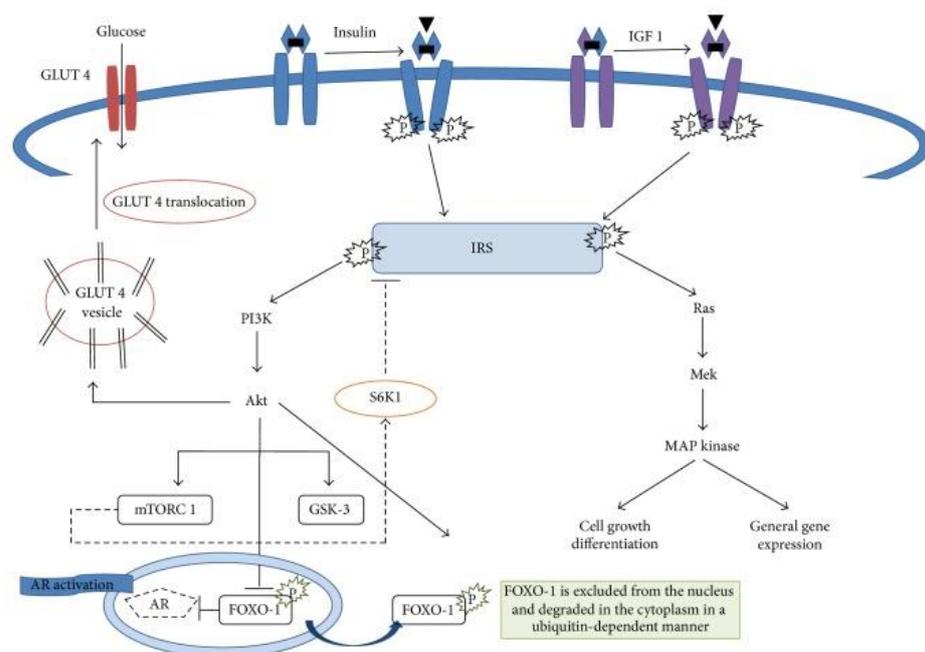


Рисунок 2. Инсулиновый сигнальный путь. Инсулин связывается с рецептором, приводя к его аутофосфорилированию и рекрутированию

адапторных молекул - субъединиц рецептора инсулина (IRS 1-6). Иницирование IRS также может быть иницировано сигнализацией IGF-1. Фосфоинозитид-3-киназа (PI3-K) / Akt, мишень млекопитающих рапамицина (mTOR) и пути Ras / MAPK (mitogen-activated proteinkinase) представляют собой основные клеточные сигнальные пути. Например, АКТ контролирует сборку транспортера глюкозы (GLUT-) 4 на клеточной мембране и, таким образом, контролирует приток глюкозы в клетку. mTOR-комплекс 1 (mTORC1) активирует киназу S6K1, которая фосфорилирует и ингибирует IRS и, таким образом, снижает поглощение глюкозы, зависящую от АКТ-GLUT, основного механизма периферической резистентности к инсулину. Путь фосфорилирования АКТ ингибирует экспрессию, опосредованную FOXO-1 геном, путем экстракции из ядра в цитоплазму, предотвращая опосредованное FOXO-1 репрессирование рецепторов андрогенов. (Napolitano M. et al., 2015)[207].

До появления клинических проявлений СД 2 типа у пациентов развивается инсулинорезистентность. Другими словами, СД 2 типа до момента возникновения значимой гипергликемии манифестирует проявлениями стойкой инсулинорезистентности [52]. Это генетически детерминированное состояние проявляется снижением физиологической реакции инсулинчувствительных тканей на действие инсулина при его достаточной концентрации, что приводит к снижению утилизации и поглощения глюкозы периферическими органами (печенью, мышцами, жировой тканью) [11]. Даже с учетом взаимосвязи глюкоза-инсулин, важно отметить, что инсулинорезистентность распространяется на все механизмы биологического действия инсулина, включая влияние на липидный и белковый обмен, сосудистую эндотелиальную функцию и экспрессию генов [12,59,190].

Вплоть до настоящего времени общепринятых, клинически значимых и выраженных в числах определений, характеризующих данное состояние, нет. Не изучен механизм формирования инсулинорезистентности, она полигенна по своей природе. Считается, что основной причиной инсулинорезистентности

являются пострецепторные (внутриклеточные) нарушения передачи сигнала инсулина, а именно нарушения в IRS-1/PI-3-кинадном сигнальном пути, ответственным за утилизацию глюкозы, тогда как Ras/MAP-киназный путь остается восприимчивым к действию инсулина. В результате такого избирательного поражения PI-3-сигнального пути на фоне инсулинорезистентности и сопутствующей компенсаторной гиперинсулинемии, развивается гиперактивация митогенного сигнального пути и усиление пролиферативного ответа на воздействие факторов роста [11,12,17].

У пациентов долгое время может сохраняться эугликемия при гиперинсулинемии, пока β -клетки поджелудочной железы окажутся способны поддерживать достаточно высокий уровень инсулина плазмы крови. При потере β -клетками способности к гиперсекреции инсулина происходит переход от инсулинорезистентности с гиперинсулинемией к нарушенной толерантности к глюкозе (НТГ), а затем к клиническому сахарному диабету и гипергликемии. Компенсаторно организм отвечает почти 16-кратным снижением количества рецепторов инсулина [12], что усугубляет инсулинорезистентность. Важную роль играет и избыточная масса тела, которая присутствует у 60-80% пациентов с СД 2 типа [17]. Адипоциты висцеральной жировой ткани являются активным секреторным органом. Они синтезируют IGF-1,2 и TGF- β . Некоторые исследователи существенное место в развитии инсулинорезистентности адипоцитов отводят ФНО- α , который тормозит тирозинкиназную активность рецепторов.

Возможно наличие врожденной резистентности мышечной и жировой ткани к действию инсулина. У таких лиц при достаточной физической нагрузке и оптимальном питании состояние выраженной инсулинорезистентности может не проявиться в течение жизни либо возникнуть в глубокой старости [52].

Нарушение углеводного обмена приводит к накоплению избыточных продуктов метаболизма в межклеточном и внутриклеточном пространстве, снижению в клетках гликогеносинтеза и активации гликонеогенеза и гликогенолиза, к изменению активности фагоцитирующих клеток. Нарушение

образования мукополисахаридов способствует структурным изменениям в дерме, эпидермисе, фолликулах и потовых железах. Блокирование ферментов цикла Кребса ведет к формированию паракератотических и гиперкератотических процессов, нарушая механизмы ороговения клеток. В коже быстро развиваются дегенеративные процессы, связанные с не утилизированной глюкозой. Свободная глюкоза соединяется с белками и подвергается процессу самоокисления, являясь источником свободных радикалов. Интересно, что в элементах сыпи при сахарном диабете концентрация сахара может достигать 6,33 ммоль/л и более, что в 3 раза превосходит показатель у здоровых людей и больных сахарным диабетом без дерматозов [34].

Кожа принимает активное участие в метаболизме гормонов, и любые изменения гормонального фона влияют на структурные изменения в кожных покровах [83]. Снижение концентрации 17-В-эстрадиола у женщин с возрастом приводит к ухудшению чувствительности тканей к инсулину и формированию инсулинорезистентности. Кроме того, положительные влияния эстрогенов в виде снижения факторов воспаления (С-реактивного белка, ФНО- α), торможения апоптоза эпителиальных клеток, снижения уровня эндотелина -1 резко уменьшаются, что способствует развитию менопаузального метаболического синдрома [41].

В исследованиях Лебедевой Ю.В. (2010) так же говорится о нарушении иммунно-клеточных реакций и процессов ангиогенеза при СК, а также «цитокератинового» профиля и дифференцировки кератиноцитов. Автором было проведено ИГХ- исследование с использованием моноклональных антител для выявления эндотелия микрососудов (СД 34), активированных моноцитов и макрофагов- СД 68, Т и В-клеток (СД3, СД 20), цитокератинов 5,8,9,11,14,17,18, антител к маркеру пролиферативной активности Ki-67 и онкопротеину bcl-2. В результате была выявлена разная пролиферативная активность разных типов СК и прямая зависимость между значением индекса Ki-67 и показателем экспрессии bcl-2, установлено нарушение дифференцировки кератиноцитов из-за неполноценного синтеза цитокинов [33].

На нарушение терминальной дифференцировки при СК было обращено внимание в ранних работах Nindl M с соавт.(1992) и Broekaert D. с соавт. (1993). По результатам их исследований была выявлена гиперэкспрессия «пролиферативных» цитокератинов 6 и 16 типов в базалоидных кератиноцитах СК и в то же время сохранение нормального профиля K1 и K10 в супрабазальных слоях и K5, K14- в базальном слое [76, 214]. В более поздних работах Yoshimi N. С соавт. (2013) при анализе разных гистологических типов СК было выявлено, что кроме гиперкератотического типа опухоли, все остальные типы – акантотический, аденоидный, раздраженный и клональный экспрессируют K14. При акантотическом типе в ряде случаев выявлялся K15, при раздраженном в плоскоклеточных включениях - K17. Только гиперкератотический тип СК показывал завершенную дифференцировку кератиноцитов в виде экспрессии K1 и K10 [294]. Наличие нарушений дифференцировки кератиноцитов в СК подтверждает и факт эффективного лечения опухолей препаратами ацитретина и этретината [252,272] и препаратами, содержащими топический витамин D3 [141,195].

Многими авторами предпринимались попытки определить роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в этиологии СК, исходя из данных о клинической и морфологической схожести с ним плоских бородавок, аногенитальных кондилом, однако до сих пор вирусная природа заболевания остается спорной [126]. Папилломавирусы относятся к роду А семейства паповавирусов (Papovaviridae). Выделяют ВПЧ кожи (род beta, gamma, mu, nu) и слизистых оболочек (род alpha). Кроме того, ВПЧ делят по канцерогенному потенциалу. Так, по степени онкогенного риска лидируют типы HPV 16,18,45,56 (высокая степень риска), HPV 31,33,35,51,52,58(средняя степень риска) и HPV 6,11,42,43,44 (низкая степень риска). ВПЧ инфицирует пролиферирующие эпителиальные клетки базального слоя эпителия, где происходит репликация ДНК вируса. Последовательное размножение ВПЧ в отдельных слоях эпидермиса с окончательной активной сборкой зрелых вирусных частиц и их почкованием в клетках рогового слоя представляет собой особый случай тесного сопряжения жизненного цикла вируса

с процессами дифференцировки эпидермиса. Папилломатозные разрастания формируются в локусах максимальной репродукции вируса, ведь ВПЧ подчиняют клеточные механизмы репликации своим задачам, индуцируя экспрессию Ki-67 и пролиферативный клеточный ядерный антиген в нереплицирующихся дифференцированных кератиноцитах [14]. Важно, что спонтанный регресс поражений может наступить через 6-8 месяцев в результате работы иммунной системы, в частности, клеточного звена иммунитета. Кроме того, даже отсутствие клинических и гистологических признаков инфекции при выявлении ДНК ВПЧ может свидетельствовать о латентной или асимптомной инфекции [36].

После обнаружения ДНК ВПЧ в вульгарной бородавке в 1949 году, вирус был найден во многих доброкачественных и злокачественных пролиферативных заболеваниях кожи и слизистых [82]. Многие авторы рассматривают ВПЧ, особенно при его ассоциации с УФ излучением, в качестве ко-фактора в развитие базально-клеточного и плоскоклеточного рака кожи, однако достоверных доказательств участия вируса в их патогенезе нет [56,213].

Наиболее частыми клиническими проявлениями ВПЧ инфекции являются вульгарные бородавки на коже и четыре типа генитальных бородавок: остроконечные кондиломы, кератотические бородавки, папулезные (бовеноидный папулез) бородавки и плоские бородавки. Именно кератотические бородавки, имеющие вид роговых наслоений, часто принимают за СК. Генитальные бородавки обычно ассоциируются с ВПЧ -6 (в 80%), реже с ВПЧ-11 типа [36].

Характерной морфологической особенностью данных новообразований является папилломатоз, акантоз и койлоцитоз- патогномоничный цитологический признак вирусных инфекций [261]. Однако лишь некоторые из этих образований имеют цитопатические изменения, характерные для ВПЧ [82]. Кроме того, при высокочувствительных молекулярных методах ДНК ВПЧ обнаруживается и в образцах здоровой кожи [61].

Для выявления ВПЧ наиболее часто применяют молекулярно-генетические методы: неамплификационные (дот-блот, саузерн-блот-гибридизацию, гибридизацию *in situ* на фильтре и в ткани) и амплификационные- в частности,

ПЦР и Hybrid capture (HC) анализ. Однако в последнее время были созданы наборы реагентов, предназначенные для обнаружения в биопсийных гистологических препаратах ДНК ВПЧ, интегрированных в хромосомы инфицированных клеток. Способ обнаружения - специфическая гибридизация элементов вирусного генома с олигонуклеотидными зондами, модифицированными биотином, с последующим присоединением к зондам комплекса стрептавидина и щелочной фосфатазы [36].

Высокий процент обнаружения ДНК ВПЧ в СК регистрируется при локализации опухоли на половых органах. Так, Zhu W.Y. с соавт. (1992) методом ПЦР обнаружил ДНК ВПЧ 6 и 11 типа в 53% (23/43) генитальных СК и всего в 3,5% (1/29) СК с экстрагенитальной локализацией. Он также отметил, что перинуклеарная вакуолизация клеток, наличие дискератотических клеток и митозы при гистологическом исследовании были более характерны для ВПЧ-положительных образцов, хоть встречались и в негативных СК [300]. В исследованиях Tardio J.C. с соавт. (2012) методом ПЦР к 37 типам ВПЧ 70% генитальных СК (40/28) содержали ДНК ВПЧ, преимущественно 18 (высокоонкогенного) и 6 типа, тогда как при экстрагенитальной локализации только в 10% (20/2) СК регистрировалась положительная реакция [268]. Интересен тот факт, что в описании большинства подобных исследований крайне редко приводятся данные гистологического исследования, а в некоторых информация о том, было ли оно проведено, и вовсе отсутствует. Это ставит под сомнение наличие именно СК на коже половых органов. Так, Li J. и Askerman A.B. (1994) считают, что СК в аногенитальной области, содержащие ДНК ВПЧ, являются аногенитальными кондиломами [175].

Данные исследований СК, расположенных экстрагенитально, на наличие ВПЧ, противоречивы. В ранних работах Tsambaos D. с соавт. (1995) при гибридизации *in situ* из 137СК в 15СК был обнаружен ВПЧ 6/11 типа, в 14- ВПЧ 31/33/35 типов [274]. Lee E.S. с соавт. (2001), исследовав 40 негенитальных СК методом ПЦР *in situ*, ни в одном случае не обнаружил наличие ДНК ВПЧ 6, 11, 31 и 33 типа [172]. Аналогичные результаты продемонстрировал и Meibody NT.

С соавт. (2013) при исследовании 50 СК с кожи лица методом ПЦР [191]. Gushi A. с соавт. (2003) изучили 104 негенитальных СК на наличие ДНК ВПЧ, используя молекулярные методы исследования: ПЦР, гибридизацию *in situ* (ISH), Саузерн блот- гибридизацию и секвенирование вирусной ДНК в ПЦР-апплифицированных фрагментах. Так же использовался иммуногистохимический метод для детализации вириона (протеина капсулы ВПЧ) в ISH- положительных образцах. Были использованы 2 кожных и 8 слизистых типов ВПЧ. Оказалось, разные методы исследования дают разные результаты. При использовании ISH только 28,8% СК содержали ДНК ВПЧ, во всех образцах был обнаружен вирион в ядрах кератиноцитов, тогда как при ПЦР и Саузерн блот гибридизации 83,7% образцов содержали ВПЧ-18 типа, 77,9%- ВПЧ 6 типа и 70,2%- обоих типов. В 20 контрольных образцах непораженной кожи была выявлена негативная реакция при ISH, однако в 7 обнаружилась ДНК ВПЧ при секвенировании (ПЦР). Автор предположил, что ко- инфекция ВПЧ 6 и 18 типов играет важную роль в патогенезе СК [126]. Имеются данные об ассоциации СК с ВПЧ рода beta в 70% случаев при real time ПЦР, что почти в 2 раза чаще, чем в здоровой коже. Кроме того, при проведении количественного анализа вирусная нагрузка ВПЧ в СК превышает таковую в нормальной коже [25].

Так как ДНК ВПЧ распространены в немеланозных раках кожи, а также обнаруживаются в непораженной коже, вполне вероятно, что позитивность на наличие ВПЧ опухоли может просто отражать «загрязнение» поверхности кожи. Forslund O. с соавт. (2004) протестировал на наличие ДНК ВПЧ материал тампона, собранного поверх опухолей кожи у 229 пациентов, и биопсии тех же опухолей, полученных после снятия ленты с целью удаления поверхностных слоев. ДНК ВПЧ была обнаружена поверх поражений в 69% (159/229) и в 12% (28/229) биопсий. Разница наблюдалась для всех четырех типов изученных опухолей. При СК поверх опухоли положительными были 79% (34/43) СК, против 19% (8/43) при биопсии; при актиническом кератозе- 83% (38/46) против 11% (5/46); при базально-клеточной карциноме - 63% (69/109) по

сравнению с 8% (9/109) при биопсии, а при плоскоклеточной карциноме - 58% (18/31) по сравнению с 19% (6/31) при биопсии. Таким образом, ДНК ВПЧ была распространена в поверхностных слоях поражений, при этом не обязательно присутствуя в глубине опухоли [113].

Escutia В. с соавт. (2011) на основе изучения 72 образцов здоровой кожи с помощью ПЦР на наличие ДНК ВПЧ отметил, что инфицирование ВПЧ достоверно повышается с возрастом и наличием актинических повреждений кожи, что наводит на мысль о том, что ВПЧ является комменсалом кожи и слизистых [109]. Наличие ДНК ВПЧ в образцах здоровой кожи было так же отмечено в исследованиях Zaravinos А. с соавт. (2010) [296]. Однако в других исследованиях и при использовании других методов - гибридизации *in situ* образцы здоровой кожи были негативны [274].

Таким образом, наличие ВПЧ в опухоли может быть следствием активной вирусной инфекции или бессимптомной персистенции вируса [25]. Этиологическая роль вируса в эпителиальных опухолях кожи не может быть доказана на основании его обнаружения. Кроме того, вирус может только инициировать развитие поражений или являться нормальным комменсалом кожи с возрастом. Большую роль играет и метод детекции [157].

В клинической практике пигментированный СК часто имитирует меланому, базально-клеточную карциному или пигментный актинический кератоз [189]. Вызывает особый интерес обнаруженное Zhang Y. с соавт. (2006) при помощи количественной ПЦР увеличение содержания в СК мРНК эндотелина 1 [299]. Повышенная экспрессия его рецептора (EDNBR) является одним из основных факторов активации меланоцитов при гиперпигментациях, вызванных УФ облучением, в том числе и при сенильном лентиго [267]. Кроме того, его активация ведет к повышению пролиферативной активности клеток и увеличению их жизненного цикла. На продукцию эндотелина 1, в свою очередь, оказывает влияние ФНО- α и эндотелин-превращающий фермент 1- α , повышение экспрессии которых были обнаружены в базалоидных клетках при СК [187].

Таким образом, существует ряд значимых различий между непораженным эпидермисом и СК в производстве меланогенных цитокинов. Не исключена и модулирующая роль в пигментации кожи транскрипционного фактора FOXN1, который регулирует ранние стадии дифференцировки кератиноцитов, и возможно, влияет на их миграцию [281].

В норме в коже и волосяных фолликулах на один меланоцит приходится от 5 до 10 базальных кератиноцитов, причем наибольшее количество меланоцитов присутствует в коже лица и гениталий. С возрастом, когда преимущественно развивается СК, число ферментативно- активных меланоцитов снижается на 15-20%. Это приводит к ослаблению защитного барьера кожи по отношению к солнечному излучению. Кроме того, происходит уменьшение плотности эпидермальных меланоцитов примерно на 10% каждую декаду жизни. Однако, *in vitro* у пожилых людей, несмотря на пониженную способность к пролиферации меланоцитов, общий уровень меланина повышен [16,38]. В литературе имеются сведения об увеличении содержания меланина в СК по сравнению с нормальным эпидермисом, основанные на анализе препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином и по методу Массона- Фонтаны [107]. Не было выявлено повышенной пролиферации меланоцитов в СК раздраженного типа у пациента 71 года по результатам экспрессии моноклональных антител к белку S100 и HMB 45 в единичном исследовании Mansur A.T. и Yildiz S. (2019). Однако данные маркеры окрашивали не только меланоциты, но и клетки Лангерганса [189].

Исследования с антигеном дифференцировки меланоцитов Melan A (MART-1), позволяющие изучить содержание меланоцитов в СК, проводились Fernandez-Flores A. с соавт. (2017) у пациента при ассоциации СК и аденомы сальной железы [111] и Neuhaus I.M. (2006) при СК с признаками лентигозной дисплазии [211], что не позволяет оценивать результаты как характерные именно для СК.

Таким образом, отсутствие четких представлений об этиологии и патогенезе СК; разнообразие его клинических и гистологических форм, приводящее к диагностическим ошибкам; данные о злокачественной трансформации и

коллизиионных опухолях, содержащих СК и злокачественное новообразование, определяет важность его дальнейших исследований. Использование современных методов морфологической диагностики, включающих ИГХ - исследование с маркерами белков клеточного цикла, пролиферации и маркера терминальной дифференцировки меланоцитов даст возможность к более точному пониманию нарушений регуляции клеточного цикла и меланогенеза при различных типах СК. Это позволит по-новому взглянуть на устоявшиеся взгляды и теории, а так же получить фактический материал для новых предложений по усовершенствованию диагностики и тактики дальнейшего ведения пациентов с СК.

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 334 пациента с клиническими проявлениями СК, обратившиеся для диагностики и удаления новообразований кожи в медицинскую санитарную часть АО Корпорации «Московский институт теплотехники» в период с 2013 по 2017 год. По результатам обследования в исследование были включены 300 человек, из них 227 (75,7%) -женского и 73 (24,3%) - мужского пола. Возраст пациентов варьировал от 45 до 78 лет (средний возраст $63,5 \pm 8,0$ лет, медиана 63 года).

Критерием включения в исследование было наличие у пациента СК, гистологически верифицированного; отсутствие на момент осмотра и в анамнезе злокачественных новообразований кожи (базально-клеточный рак, меланома, плоскоклеточный рак), злокачественных новообразований внутренних органов, в том числе получающих химиотерапию и/или иммунотерапию. Таким образом, в исследование не вошли 34 пациента, у которых при гистологическом исследовании диагноз СК не был подтвержден, что было связано с вариабельностью его клинических проявлений.

Для достижения цели и решения поставленных задач в качестве основных методов исследования были использованы: клинико-лабораторный, гистологический, иммуногистохимический (ИГХ) и статистический. Морфологические исследования проводились на базе кафедры патологической анатомии имени академика А.И. Струкова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет).

Исследование было одобрено на заседании этического комитета Сеченовского университета (№11-13 от 13.11.2013).

Две трети пациентов (69,4%) находились в возрастной группе старше 60 лет, что свидетельствует о развитии СК преимущественно в пожилом возрасте.

Средний возраст мужчин был достоверно выше, чем у женщин ($p=0,001$) и составил 66,1 и 62,7 лет соответственно (таблица 1).

Таблица 1

Распределение пациентов в зависимости от пола и возраста

Возраст	Мужчины	Женщины	Всего
Кол-во пациентов	73 (24,3%)	227 (75,7%)	300 (100%)
До 50 лет	1 (1,4%)	15 (6,6%)	16 (5,3%)
50-59лет	14 (19,2%)	62 (27,3%)	76 (25,3%)
60-69лет	26 (35,6%)	91 (40,1%)	117 (39,0%)
70лет и старше	32 (43,8%)	59 (26,0%)	91 (30,4%)
Средний возраст	66,1±7,5	62,7±7,9	63,5±8,0

Здесь и далее $M \pm St.Dev.$

Нами была разработана регистрационная карта для пациентов с СК, включающая в себя данные клинического обследования и результаты лабораторных исследований.

Наличие при осмотре значительных различий в количестве СК у пациентов позволило нам разделить их на 2 группы:

I группа. В нее вошли 150 пациентов с единичным СК (не более 20 опухолей) любой локализации.

II группа. В нее вошли 150 пациентов с множественным СК (более 20 опухолей) любой локализации.

Всем пациентам было проведено клиническое обследование:

- **сбор анамнеза заболевания** (локализация первых СК, динамика процесса, данные о предшествующем лечении или удалении);
- **осмотр** кожи и видимых слизистых оболочек, наличие сопутствующих заболеваний кожи - не реже 1 раза в год в течение 4 лет;
- **определение фототипа кожи (I-VI)** по Т. Фитцпатрику: I тип- белая, не склонная к загару кожа (только ожоги), часто веснушки; II тип- не склонная к загару кожа без веснушек; III тип- склонная к загару кожа, темные волосы, карие

глаза; IV тип- смуглая кожа (средиземноморский или латиноамериканский тип); V тип- очень смуглая кожа (Жители Юго-Восточной Азии); VI тип- черная кожа (жители Центральной Африки) [18];

-генеалогический анализ - составление родословной пациента, осмотр его родственников);

Лабораторные методы обследования проводились всем пациентам и включали в себя: 3-х кратное исследование глюкозы крови натощак 1 раз в месяц на аппарате ЭЛТА «Сателлит» (норма 3,33-5,55ммоль/л).

По данным результатов анализов назначалась консультация эндокринолога. Сопутствующий диагноз СД 2 типа, НТГ пациентам с СК устанавливался с учетом диагностических критериев ВОЗ 1999–2013 гг. и «Алгоритмов специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» (под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой – 2017 г. – 8 выпуск) [24] с применением дополнительных методов исследования: проведения однократного перорального глюкозотолерантного теста (норма- <5,6ммоль/л натощак, через 2 часа < 7,8ммоль/л)), определения уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}- норма <6,0%).

Морфологические исследования.

Проводилась эксцизионная биопсия опухолей кожи у 334 пациентов, из них в исследование вошли только 300. Опухоль иссекали хирургическим путем под местной анестезией Sol. Novocaini- 0,5%, отступя от видимого края не менее чем на 0,5см. В большинстве случаев выбирали СК в виде очага не более 1,5см в диаметре, возвышающегося в виде бляшки, с гиперкератотической поверхностью. Обязательным было наличие письменного информированного согласия пациентов на проведение операционного вмешательства.

С открытых мест, которые легко подвергаются воздействию солнечного света, было удалено 109СК (36,3%): 20СК – с кожи лица, 29СК – с кожи шеи, 34СК – с зоны декольте, 24СК -с кожи плеч и крайне редко с голени - 2СК. С мест, менее склонных к воздействию УФ облучения, было удалено 191СК

(63,7%): 86СК – с кожи живота, 66СК- с кожи нижней трети спины и 39СК – с боковых поверхностей туловища (таблица 2).

Таблица 2

Локализация себорейного кератоза, взятого для морфологических исследований у пациентов по группам

		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов		150	100	150	100	300	100
Локализация СК	Лицо	9	6,0	11	7,3	20	6,7
	Шея	12	8,0	17	11,3	29	9,7
	Зона декольте	18	12,0	16	10,7	34	11,3
	Плечи	17	11,3	7	4,7	24	8,0
	Голень	2	1,3	0	0,0	2	0,7
	Живот	37	24,7	49	32,7	86	28,7
	Нижняя спина 1/3	37	24,7	29	19,3	66	22,0
	Боковая поверхность туловища	18	12,0	21	14,0	39	13,0
Воздействие УФ	нет	92	61,3	99	66,0	191	63,7
	есть	58	38,7	51	34,0	109	36,3

Для морфологических исследований материал фиксировали 10% нейтральным раствором формалина и обрабатывали по стандартной методике, с последующей заливкой в парафиновые блоки. Окраску гистологических препаратов проводили гематоксилином и эозином.

Для проведения ИГХ-исследования использовали парафиновые блоки от 130 пациентов с установленным гистологическим диагнозом СК: 65 от пациентов I группы и 65 от пациентов II группы. Серийные парафиновые срезы материала опухолей толщиной 5 мкм помещали на адгезивные стекла, покрытые полизином («Menzel-Glaser»Германия), далее обрабатывали по стандартной методике с депарафинизацией и обработкой в микроволновой печи. Применяли набор реактивов и системы визуализации Novolink™ Polymer Detection System и следующие моноклональные антитела:

- к p53 (мышинные) (Novocastra Ltd.) clone DO-7, ready-to-use- специфичные для выявления дикого типа человеческого белка p53 и его мутантных форм;
- к p63 (мышинные) (Dako Cytomation, Denmark), clone 4A4 в разведении 1:1000- специфичные для выявления TAp63 α , TAp63 γ , Δ Np63 α , Δ Np63 γ изоформ p63;
- к p27 (мышинные) (Novocastra Ltd;) clone 1B4 в разведении 1:20;
- к EGFR (Novocastra Ltd;) clone EGFR.25, ready-to-use;
- к p16 (мышинные) (BD Pharmingen), clone G175-405, в разведении 1:1000;
- к папилломавирусу HPV-тип 6,11,18 (мышинные) (Novocastra Ltd;), разведение 1:4;1:5; 1:10; 1:20;
- к Melan A (мышинные) (Novocastra Ltd;) clone A103, ready-to-use;
- к Ki-67 (Novocastra Laboratories Ltd.) ready-to-use.

В качестве позитивного и негативного контроля для каждого маркера использовали рекомендованные производителями образцы тканей.

Оценку и интерпретацию результатов морфологических исследований проводили при помощи световой микроскопии (микроскоп Leica DM4000B) при разных увеличениях - x100, x200, x400.

Для маркеров p53, p63 и p27 учитывали количество окрашенных ядер клеток опухоли. Отсутствие реакции или слабое окрашивание менее 10% клеток расценивали как отрицательную реакцию; от 10% до 30% - как положительную; окраску более 30% ядер клеток - как гиперэкспрессию. Интенсивность окраски описывали как слабую (+) или выраженную (++). Ядра клеток при выраженной окраске были полностью темно-коричневого цвета, при слабой - в виде широкого темного кольца с более светлым центром.

Для оценки экспрессии маркера цитоплазматических мембран клеток EGFR учитывали количество окрашенных клеток опухоли. Отсутствие реакции или слабое окрашивание менее 10% клеток расценивали как отрицательную реакцию; от 10% до 30% - как положительную, окраску более 30% ядер клеток - как гиперэкспрессию, а также по интенсивности окраски: слабая (+) и выраженная (++).

Для цитоплазматического маркера p16 результаты ИГХ-исследования оценивали по интенсивности диффузного цитоплазматического окрашивания: выраженная (++) – (гиперэкспрессия), слабая (+).

Для оценки экспрессии маркера Ki-67 считали количество положительно окрашенных ядер клеток опухоли к 300 клеткам опухоли в местах с наибольшей экспрессией (увеличение $\times 400$ в трех полях зрения).

Для оценки экспрессии цитоплазматического маркера Melan A считали количество положительно окрашенных клеток опухоли к 300 клеткам опухоли в местах с наибольшей экспрессией (увеличение $\times 400$ в трех полях зрения).

Для оценки экспрессии HPV учитывали наличие окрашенных ядер клеток опухоли.

Статистическая обработка данных.

Полученные данные клинических и морфологических исследований были формализованы с помощью специально разработанного кодификатора, внесены в базу данных, которая была создана на основе электронных таблиц EXCEL.

Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента для нормально распределенных величин или по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Для сравнения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (95% точности).

Степень взаимосвязи параметров оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Чтобы описать величину коэффициента корреляции использовали следующие градации: очень слабая корреляция (до 0,2), слабая корреляция (до 0,5), средняя корреляция (до 0,7), высокая корреляция (до 0,9) и очень высокая - свыше 0,9. Так же проводили многофакторный логистический регрессионный анализ для выявления прогностических факторов прогрессирования СК. Для анализа практической ценности прогноза использовали построение ROC-кривой.

Статистическая обработка материала и расчеты показателей были проведены с использованием статистического пакета программ Statistica for Windows v.10 и SPSS v21.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

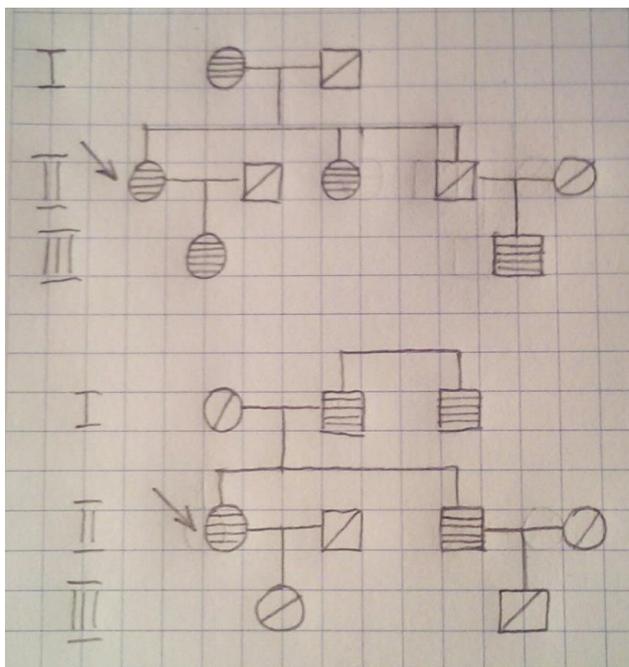
3.1. Клиническая характеристика пациентов с себорейным кератозом

Под нашим наблюдением находились 300 пациентов с СК. Количество лиц женского пола значительно преобладало - 227 к 73 мужского пола (соотношение женщин /мужчин 3,1:1). Возраст варьировал от 45 до 78 лет (средний возраст $63,5 \pm 8,0$ лет).

Из анамнеза стало известно, что первые опухоли у большинства больных - 249 человек (83%) появились после 40 лет, у 51 пациента (17%) - после 55 лет. Локализовались на коже живота или спины, субъективно не беспокоили. Спонтанной регрессии СК не наблюдалось ни у одного больного. Даже после травмирования опухоли и отпадения ее большей части, постепенно на месте травмы отмечался медленный рост, что служило наиболее частой причиной обращения пациентов к дерматологу в связи с онкологической настороженностью. Еще одной причиной служил выраженный косметический дефект при наличии множественных элементов СК, особенно на коже шеи и лица.

При проведении *генеалогического анализа* наследственная отягощенность (наличие множественного СК у родственников) была установлена у 159 пациентов (53%). Из них 127 пробандов (79,9%) были с множественным СК, с единичным - всего 32 пациента (20,1%). Таким образом, экспрессивность заболевания значительно варьировала. Так, у 144 пациентов (48%) множественный СК наблюдался в семье у одного из родителей (преимущественно у матери - 83,3%) и в 11,1% случаев также у сибсов пробанда (16 пациентов). У 15 наблюдаемых пациентов (5%) множественный СК присутствовал у родственников по материнской (13 случаев) и по отцовской линии (2 случая) в III поколениях (включая пробанда).

Приводим примеры родословных:



_____ лица с множественным СК

_____ лица с единичным СК

↘-пробанд

У 141 пациентов (47%) отсутствовали сведения о родственниках в виду отсутствия детей или ранней смерти родителей.

Для определения фототипа кожи мы использовали шкалу Т. Фитцпатрика, которая включает VI типов. Наиболее распространенными были III фототип- 154 человека (51,4%) и II фототип - 142 человек (47,3%). Только 4 пациента (1,3%) были с I фототипом кожи. IV, V и VI фототип не встречались.

Большинство СК у лиц со II фототипом кожи визуалью имели более светлую окраску- желтовато- коричневую или желтовато- серую, однако встречались и темно- коричневого цвета отдельные опухоли. Как показало в дальнейшем комплексное клинко-морфологическое исследование, цвет опухоли не соответствовал определенному типу пигментации, вернее, не имел каких- либо отличительных гистологических черт.

В качестве визуального диагностического признака СК мы отметили характерную особенность - отделение поверхностных кератотических масс в виде *творожной жирной крошки* при поскобливании шпателем, особенно при растягивании опухоли в стороны, что невозможно получить при поскобливании клинически наиболее сходных с СК новообразований – вульгарной бородавки, старческой кератомы и внутридермального невуса.

При осмотре кожных покровов обращала на себя внимание повышенная

сухость кожи, особенно спины, предплечий и голеней, однако кожа лица в большинстве случаев была жирной. У 15 пациентов (мужского пола) встречалась гиперплазия сальных желез в виде отдельных белесоватых папул на коже лба и щек. Возрастные изменения кожи включали в себя снижение ее эластичности и явления гиперпигментации – старческое лентиго (у всех пациентов), которое локализовалось на коже декольте, лица, тыла кистей и предплечий в виде мелких множественных пигментных пятен светло-коричневого цвета. У 35 пациентов были проявления идиопатического каплевидного гипомеланоза.

Из сопутствующих новообразований кожи у всех пациентов с СК на коже туловища и конечностей рассеянно встречались вишневые ангиомы в виде мелких, иногда точечных опухолей насыщенного красного цвета (от 5 до 30 образований) и фиброэпителиальные полипы (ФП). Более редко регистрировались: актинический кератоз - у 21 пациента (7%), множественные внутридермальные (простые) невусы- у 9 пациентов (3%), атеромы- у 9 (3%), множественные диспластические невусы – у 6 (2%), сенильная гемангиома - у 3 (1%), липома- у 3 (1%), дерматофиброма – у 2 (0,7%) и кератоакантома – у 2 (0,7%).

При ознакомлении с медицинской документацией первых пациентов, особое внимание привлекли нарушения углеводного обмена, как наиболее часто встречающиеся и сочетающиеся с множественным СК. Так же у многих пациентов СК был ассоциирован с множественными ФП- известными маркерами нарушений углеводного обмена. Это позволило нам предположить взаимосвязь СК и состояния *инсулинорезистентности*, что нашло отражение в нашем исследовании.

Было выявлено, что из 300 обследуемых пациентов СД 2 типа регистрировался у 114 человек (38%). Из анамнеза было установлено, что длительность заболевания составляла от 2 до 8 лет. Впервые СД 2 типа был выявлен у 23 пациентов. Уровень глюкозы крови натощак варьировал от 6,2- до 8,0 ммоль/л. Терапию сахароснижающими препаратами (метформин) получали 27

пациентов, однако нерегулярно, постоянно у эндокринолога не наблюдаясь и самостоятельно отменяя препарат при снижении уровня глюкозы. Нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) было обнаружено у 45 пациентов (15%). Уровень глюкозы натощак составлял 5,6-6,0 ммоль/л. У 141 (47%) пациента нарушений углеводного обмена выявлено не было, уровень глюкозы натощак составлял от 4,2 до 5,3 ммоль/л.

Значимой корреляции между присутствием или отсутствием нарушений углеводного обмена, возрастом и полом пациентов не было найдено.

Сопутствующие кожные заболевания присутствовали у 91 пациента (30,3%) и значимо коррелировали с наличием нарушений углеводного обмена ($R=0,33$; $p=0,0000001$). Так, сочетание от 2 до 4 сопутствующих заболеваний кожи встречалось у 35 пациентов (11,7%), из них у всех в анамнезе был СД 2 типа.

Преобладали заболевания грибковой и вирусной этиологии. Так, дистально-латеральная форма онихомикоза стоп была выявлена у 42 пациентов (14%), дерматофития стоп - у 24 (8%), разноцветный лишай – у 9 (3%), кандидоз складок - у 5 (1,7%), паховая эпидермофития- у 4 (1,3%), эритразма- у 4 (1,3%). Вульгарные бородавки на коже тыла кистей и лице встречались у 13 пациентов (4,3%). Воспалительные заболевания кожи, вызванные нарушением регуляции и реактивностью Т- клеток, встречались у 21 пациента (7%), из них себорейный дерматит - у 18 пациентов, вульгарный псориаз – у 2 и красный плоский лишай - у 1 пациента. Генетически обусловленные заболевания с нарушением кератинизации были диагностированы у 9 пациентов (3%), из них - вульгарный ихтиоз у 6 и диссеминированный порокератоз у 3 пациентов [1,6]. Редко встречались пиодермии (фурункулез - у 4 пациентов (1,3%)).

В течение жизни у одних пациентов элементы СК оставались единичными, отмечался их медленный рост и увеличение в размерах, у других появились множественные опухоли. Наличие при осмотре значительных различий в количестве СК у пациентов позволило нам разделить их на 2 группы:

I группа.

В нее вошли 150 пациентов с единичным СК (не более 20 опухолей) любой

локализации.

II группа.

В нее вошли 150 пациентов с множественным СК (более 20 опухолей) любой локализации.

Особенности клинической картины СК для каждой анализируемой группы описываются далее отдельно, так как имеют характерные черты. Приводим характеристику пациентов по группам.

3.1.1 Клиническая характеристика пациентов I группы

В I группу вошли 150 пациентов: 108 женского пола и 42 мужского пола в возрасте от 45- до 77 лет (средний возраст $62,162,1 \pm 8,6$ лет).

В локализации СК не было замечено определённой закономерности. Опухоли с одинаковой частотой присутствовали на коже живота, спины, боковой поверхности туловища (рисунок 3), на коже лица (височная область, кожа лба в зоне роста волос), на шее и в области декольте и отсутствовали на коже ладоней, подошв, а также на видимых слизистых оболочках.



Рисунок 3. Пациент П, 60 лет. Единичные элементы себорейного кератоза на коже боковой поверхности туловища.

На коже дистальных отделов конечностей СК встречались крайне редко. Так, на передней поверхности голени регистрировались отдельные СК у 5 пациентов (1,7%) (рисунок 4), а на коже предплечий и тыльной поверхности кистей - у 4 пациентов (1,3%).



Рисунок 4. Пациентка В., 54года. Себорейный кератоз на коже голени.

СК были представлены новообразованиями двух видов: куполообразной формы, серовато-коричневого цвета, с участками неравномерной пигментации, от 0,5см до 2см в диаметре, с сального вида папилломатозной или гладкой поверхностью, с милиарными темными псевдороговыми кистами (рисунок 5)



Рисунок 5. Пациентка Р., 51год. Себорейный кератоз на коже правой молочной железы.

или приподнятыми над поверхностью бляшками (как бы «приклеенными» к коже) овальной формы, с выраженным гиперкератозом на поверхности (рисунок 6).



Рисунок 6. Себорейный кератоз на коже спины у пациента К., 72 года.

Пигментация опухолей варьировала от серовато-желтого до темно-коричневого цвета.

При оценке кожных покровов мы определяли фототип кожи. Наиболее распространенным (98,7%) был III и II фототип – по 74 пациента, и 2 пациента (1,3%) были с I фототипом кожи. Визуально характер окраски опухолей не зависел от фототипа кожи. Как при I, так и при III фототипе кожи отдельные СК имели неравномерную светло-желтую и темно-коричневую окраску у одного пациента.

Нарушения углеводного обмена в виде СД 2 типа были у 16 пациентов (10,7%), продолжительность заболевания составляла от 2- до 5 лет. Уровень глюкозы натощак регистрировался 6,4 - 7,7 ммоль/л. Нарушенная толерантность к глюкозе (НТГ) была впервые диагностирована у 9(6%) человек. Уровень глюкозы крови натощак был 5,5- 5,9 ммоль/л. У 125 (83,3%) пациентов отсутствовали нарушения углеводного обмена. Уровень глюкозы натощак составлял 4,2- 5,3ммоль/л.

У 114 пациентов (76%) встречались единичные (не более 5 элементов) фиброэпителиальные полипы (ФП), в виде мягких, нитчатых образований, телесного цвета или с коричневой пигментацией в центре. Располагались ФП преимущественно в естественных складках кожи, их размеры варьировали, от 0,3 до 0,7см в диаметре. Множественные ФП регистрировались у 36 пациентов (24%): из них 20 пациентов были с нарушениями углеводного обмена (12- с СД 2 типа, 8- с НТГ). Надо отметить, что поражение двух и более анатомических областей - шеи, подмышечных впадин, широкой складки живота, век было характерно только для 17 пациентов, у которых были нарушения углеводного обмена.

Из других новообразований кожи наиболее часто отмечены актинический кератоз на коже лица - у 5 пациентов (3,3%), множественные внутридермальные невусы (более 5 невусов)- у 5(3,3%), сенильная гемангиома- у 3(2,2%), множественные диспластические невусы (более 5 невусов)- у 6(4%), дерматофиброма- у 2(1,3) и у 1 пациента (0,7%) множественные атеромы (более 5 атером).

Сопутствующая кожная патология была выявлена у 25 пациентов (16,7%): вульгарные бородавки – у 9 пациентов (6%), дистальная и дистально-латеральная форма онихомикоза стоп – у 9 (6%), себорейный дерматит - у 4(2,7%), вульгарный ихтиоз, вульгарный псориаз и эпидермофития паховая – по 2 (1,3%) пациента соответственно, у 1(0,7%) пациента был диагностирован фурункулез и у 1(0,7%) – красный плоский лишай. Только у трех пациентов имелось сочетание двух заболеваний и у одного - трех.

3.1.2. Клиническая характеристика пациентов II группы

Во II группу вошли 150 пациентов, из них 119 женского пола и 31 мужского пола в возрасте от 46- до 78 лет (средний возраст $64,9 \pm 7,1$ лет).

Множественные СК располагались преимущественно по линиям натяжения кожи, так называемым линиям Лангера. Гендерных различий в локализации не было выявлено. Среднее количество опухолей на одного пациента составило 51. Индекс встречаемости СК в зависимости от области тела составил: область спины, живота, боковых поверхностей туловища-100% (150/150), область шеи и декольте - 100% (150/150), большая складка живота и складка под молочными железами - 89,3% (134/150), кожа лица- 90,7% (136/150), кожа волосистой части головы- 34,7% (52/150), паховые складки- 14% (21/150).

СК представляли собой новообразования овальной формы в виде грязно-желтых или коричневых приподнятых бляшек. Их поверхность была папилломатозной, сального вида, или сухой, гладкой, покрытой тонкой, крошащейся коркой. Часто в СК присутствовали роговые темные псевдокисты или белые, комедоноподобные образования. Большинство СК были от 0,5 до 0,8 см в диаметре, однако встречались опухоли до 2,4 см.

При определении фототипа кожи пациенты с III фототипом были самой многочисленной группой- 80 пациентов (63,4%), II фототип встречался у 68 пациентов (45,3%) и у 2 пациентов - I фототип (1,3%).

Мы отметили вариабельность клинических проявлений СК у пациентов в зависимости от наличия нарушений углеводного обмена.

У **98 пациентов (65,3%)** был выявлен СД 2 типа в анамнезе (длительность заболевания составляла от 2- до 8 лет) или впервые установленный (23 пациента). Уровень глюкозы крови натощак был 6,2-8,0 ммоль/л. При осмотре на коже живота, боковых поверхностях туловища у пациентов локализовались преимущественно крупные, до 2,1 см в диаметре пигментированные СК [7] (рисунок 7).



Рисунок 7. Пациентка А., 73 года. Множественный себорейный кератоз на коже боковой поверхности туловища.

На спине количество опухолей было значительно меньше, и более мелких размеров (0,4-0,8см в диаметре), в виде пятен и бляшек с умеренным гиперкератозом. Они располагались асимметрично, преимущественно в области лопаток и верхней трети спины (рисунки 8,9).



Рисунок 8,9. Множественный себорейный кератоз на коже спины у пациентки Р., 58 лет (слева); у пациента С., 67 лет (справа).

В области большой складки живота, а у женщин в инфрамаммарных складках СК сливались в один полосовидный очаг, были поверхностными, более светлой окраски и покрыты жирными чешуйками, которые легко отделялись при поскабливании (рисунок 10).



Рисунок 10. Пациентка Т., 68лет. Множественный себорейный кератоз на коже живота и в инфрамаммарных складках.

Поражение кожи лица и волосистой части головы не было характерно. Множественные СК по краю роста волос, на щеках и в височной области встречались только у пациентов старческого возраста (75-78 лет). На коже шеи СК были множественные, слабо пигментированные, до 0,5 см в диаметре [7].

Для всех пациентов было характерно наличие множественных ФП (более 5 элементов): у 15 пациентов на коже шеи или в подмышечных областях, у 83 пациентов - в двух и более анатомических областях. Так, поражалась кожа век, шеи, боковые поверхности туловища, крупные естественные складки кожи. ФП чаще всего были пигментированы, локализовались как рядом с СК, на непораженной коже, так и на их поверхности в виде «мешочка» мягко-эластической консистенции (рисунок 11, 12).



Рисунок 11. Пациентка В., 72лет. Себорейный кератоз с фиброэпителиальным полипом в центральной части. Кожа лица.



Рисунок 12. Пациентка К., 77лет. Себорейный кератоз и фиброэпителиальные полипы в складке под молочными железами и на боковой поверхности туловища.

У **36 пациентов (24%)** была диагностирована нарушенная толерантность к глюкозе (НТГ). Уровень глюкозы натощак составлял 5,6-6,0ммоль/л. Клиническая картина СК была несколько иной. Опухоли были более мелкими, множественными, без значительного гиперкератоза на поверхности, от 0,4 до 1см в диаметре. Располагались преимущественно на коже туловища (живот, боковые поверхности туловища, декольте). В складках кожи СК были представлены

мелкими, склонными к слиянию желтовато-серыми пятнами со слабым гиперкератозом (рисунок 13,14).



Рисунок 13. Пациентка Т., 71год. Множественный себорейный кератоз на коже живота и в инфрамаммарных складках.



Рисунок 14. Пациентка С., 61 год. Множественный себорейный кератоз кожи шеи. Единичные фиброэпителиальные полипы.

На коже спины СК располагались ассиметрично, были единичными, с незначительным гиперкератозом на поверхности. У 25 пациентов сочетались с множественными ФП: из них у 12 пациентов – с множественными ФП в двух и более анатомических зонах.

У **16 пациентов (10,7%)** глюкоза крови натощак составляла 4,6-5,2ммоль/л, что свидетельствовало об отсутствии нарушений углеводного обмена. На коже живота, боковых поверхностях СК были множественными, не склонными к слиянию, в виде четко очерченных очагов. Размер опухолей варьировал от 0,4- до 1,8 см в диаметре (рисунок 15).



Рисунок 15. Пациент Ш., 73 года. Множественный себорейный кератоз на коже туловища.

На спине элементы СК были расположены линейно, вдоль позвоночного столба по типу «елочки», «капель дождя», или регистрировались отдельно расположенные крупные, от 1,5 см в диаметре СК, со значительным гиперкератозом на поверхности (рисунки 16-18). У 4 пациентов в височной и теменной области локализовались крупные СК, размером более 3см в диаметре, в виде бляшек с папилломатозной поверхностью и значительным гиперкератозом.

Всегда поражалась кожа лица. Наиболее характерным было наличие поверхностных СК в виде слегка приподнятых бляшек, умеренно пигментированных на коже лба, на границе роста волос, на скулах и в подчелюстной области.



Рисунки 16,17. Множественный себорейный кератоз на коже спины у пациентки Т., 56 лет (слева), у пациента К., 72 лет (справа).



Рисунок 18. Множественный себорейный кератоз на коже спины у пациентки Т., 77 лет.

В крупных складках кожи СК отсутствовали в отличие от пациентов с сопутствующими нарушениями углеводного обмена. У большинства пациентов (9 человек) ФП были единичными (менее 5 элементов) с локализацией на коже век или шеи. Множественные ФП на шее и в подмышечных впадинах регистрировались только у 4 пациентов. Также четко прослеживалась генетическая предрасположенность - в большинстве случаев по материнской линии, у некоторых - в III поколениях (родословные приведены выше).

Среди других новообразований кожи у пациентов II группы преобладал актинический кератоз - у 16 пациентов (10,7%), множественные атеромы (до 5 образований) - у 8 (5,3%), липома- у 3(2%), множественные внутридермальные (простые) невусы -у 4 (2,7%) и кератоакантома- у 2 пациентов (1,3%).

Сопутствующие заболевания кожи были у 66 пациентов (44%), причем у 31 встречалось несколько, от 2 до 4 сопутствующих заболеваний. Преобладали заболевания грибковой этиологии - 46 пациентов (30,7%): разноцветный лишай- 9 (6%), дистальная и дистально-латеральная форма онихомикоза стоп - 22 (42%), дерматофития стоп - 24 (16%), эритразма - 4 (2,7%), эпидермофития паховая - 2 (1,3%), кандидоз складок - 5 (3,3%). Себорейный дерматит кожи лица и в/ч головы регистрировался у 14 пациентов (9,3%), вульгарный ихтиоз - у 4 (2,7%), порокератоз - у 3(2%). Вирусные заболевания кожи (вульгарные бородавки кожи туловища) и пиодермии (фурункулез) встречались редко - у 4 (2,7%) и 3 (2%) пациентов соответственно.

У 34 пациентов с клиническими проявлениями СК диагноз не подтвердился при морфологическом исследовании. Так, мы наблюдали 18 пациентов с множественными высыпаниями, клинически сходными с СК, в виде мелких, 0,4-0,7см сухих гиперкератотических бляшек, локализованных на коже туловища (рисунок 19). Единичные опухоли встречались так же на коже плеч, предплечий, наружной и внутренней поверхности бедер. У данных пациентов не было нарушений углеводного обмена, однако часто присутствовала рецидивирующая герпетическая инфекция (5 пациентов), в 3 случаях - хронический гепатит В.

Сопутствующими новообразованиями кожи чаще всего были мелкие, множественные пигментированные ФП на коже шеи.



Рисунок 19. Пациентка Е., 58 лет. Наличие множественных старческих кератопапиллом на коже туловища

При гистологическом исследовании были установлены диагнозы: старческая бородавка (старческая кератопапиллома). Схожие новообразования, расположенные преимущественно на коже дистальных отделов конечностей, в литературе описывают как штукатурный кератоз [29,50,144].

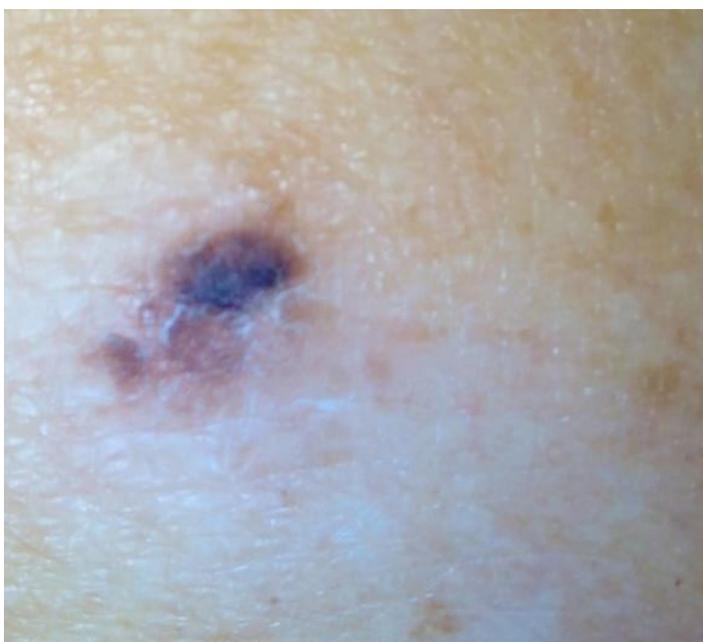
Кроме старческих бородавок (53%), наиболее часто СК имитировали вульгарные бородавки (23,5%), а так же внутридермальные невусы, актинический кератоз (по 8,8%) и базальноклеточный рак (5,9%).

В 2 случаях, которые первоначально рассматривались нами как меланома и кератоакантома кожи, морфологически был диагностирован СК, и пациенты включены в исследование (рисунок 20,21).

Таким образом, расхождение клинического и морфологического диагнозов в нашем исследовании составило 10,8%.



*Рисунок 20. Пациент М., 68 лет. Клинический диагноз - кератоакантома.
Гистологический диагноз - себорейный кератоз, раздраженный тип.*



*Рисунок 21. Пациентка К., 74 г. Клинический диагноз - меланома.
Гистологический - себорейный кератоз, акантотический тип.*

Таким образом, в результате проведенного исследования, нами были выявлены факторы, влияющие на клинические проявления СК. Это возраст, наследственность и метаболические нарушения. Так, во II группе с множественным СК средний возраст пациентов был достоверно выше ($p=0,002$), преобладали пациенты 67-78 лет ($p=0,003$), тогда как пациенты в возрастной группе 45-55 лет преобладали в I группе ($p=0,001$) (таблица 3).

Распределение пациентов по возрасту и полу в исследуемых группах.

Характеристика пациентов		Группа			
		I		II	
		Абс.	%	Абс.	%
Кол-во пациентов		150	100	150	100
Пол:	мужской	42	28,0	31	20,7
	женский	108	72,0	119	79,3
Возрастная группа	45-55 лет	32	21,3	12	8,0* (0,001)
	56-66 лет	72	48,0	68	45,3
	67-78 лет	46	30,7	70	46,7* (0,003)
Возраст (годы; М±δ) min-max		62,1±8,6 45-77		64,9±7,1* (0,002) 46-78	

*достоверные различия между группами (p).

СК встречался как у мужчин, так и у женщин, однако количество женщин значительно преобладало (75,7%). На наш взгляд, это обусловлено не более частым обращением по сравнению с мужчинами, а не одинаковой скоростью процесса старения, что напрямую связано с гормональным фоном организма [83,270]. Так, снижение продукции эстрогенов в климактерическом периоде у женщин ведет к их дефициту, ухудшению чувствительности тканей к инсулину и ускоренному старению тканей [41]. Это подтверждает и тот факт, что средний возраст мужчин в нашем исследовании был достоверно больше, чем у женщин (p=0,001) и составил 66,1 и 62,7 лет соответственно.

Анализ распределения больных позволил предположить аутосомно-доминантный тип наследования с вариабельной экспрессивностью, особенно в случае множественного СК. Это подтверждает высокий процент (79,9%) наличия у пациентов II группы родственников с множественным СК в II- III поколениях, отсутствие пропуска поколений и описание семейных случаев множественных СК в литературе [131]. Нарушения углеводного обмена, выявленные у 159 пациентов с СК (53%) в виде СД 2 типа (114 пациентов) и НТГ (45 пациентов), достоверно чаще встречались во II группе: 89,3% в отличие от 16,7% в I группе (p=0,00001) (таблица 4).

Показатели глюкозы у пациентов с себорейным кератозом по группам

Характеристика пациентов	Группа				Всего		
	I		II		Абс.	%	
	Абс.	%	Абс.	%			
Кол-во пациентов	150	100	150	100	300	100	
Уровень глюкозы, ммоль/л min-max	5,1±0,7 4,2-7,7		6,3±0,7*(0,001) 4,6-8,0		5,7±0,9 4,2-8,0		
Повышение глюкозы более 5,55 ммоль/л	25	16,7	134	89,3* (0,00001)	159	53,0	
Нарушения углеводного обмена	Нет	125	83,3	16	10,7* (0,00001)	141	47,0
	Есть	25	16,7	134	89,3* (0,00001)	159	53,0
Вид нарушения	СД 2 типа	16	10,7	98	65,3* (0,00001)	114	38,0
	НТГ	9	6,0	36	24,0* (0,00001)	45	15,0

*достоверные различия между группам (p)

Надо учесть тот факт, что установить начало СД 2 типа крайне сложно, большинству пациентов данный диагноз ставиться в результате обращения с другими заболеваниями или во время профилактического осмотра. Этому способствует медленное нарастание инсулинорезистентности и отсутствие в течение длительного времени симптомов диабета. В нашем исследовании впервые НТГ было установлено у всех пациентов, СД 2 типа - у 23 пациентов.

Нарушения углеводного обмена оказывали значимое влияние на клиническую картину СК. Для пациентов с нарушениями углеводного обмена были характерны склонные к слиянию в линейные очаги поверхностные СК в крупных складках кожи и достоверно чаще встречались множественные ФП (96,5%) чем единичные (11,9%) (p=0,00001), в отличие от пациентов без нарушений углеводного обмена (таблица 5). Кроме того, у пациентов с множественным СК достоверно чаще, чем при единичном, встречались множественные ФП, локализующиеся в одной (20,7% к 12,7%) (p=0,044) или нескольких анатомических областях (66,3% к 11,3%) (p=0,00001). Тогда как единичные ФП достоверно чаще были у пациентов I группы- 76% и 13,3%

соответственно ($p=0,00001$) (таблица 6).

Таблица 5

Взаимосвязь фиброэпителиальных полипов с наличием нарушений углеводного обмена у пациентов с себорейным кератозом

		Фиброэпителиальные полипы					
		Единичные		Множественные в 1 анат. области		Множественные в 2 и более анат. областях	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во пациентов		134		50		116	
Эндокринные нарушения (СД 2 типа +НТГ)	отсутствуют	118	88,1	19	38,0	4	3,5
	есть	16	11,9	31	62,0* (0,00001)	112	96,5*+ (0,00001; 0,00001)

*достоверные различия с единичными фиброэпителиальными полипами (p).

+ достоверные различия с множественными фиброэпителиальными полипами в 1 зоне (p)

Таблица 6

Характеристика распространенности фиброэпителиальных полипов у пациентов исследуемых групп

Характеристика кожных покровов		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов		150	100	150	100	300	100
ФП	единичные	114	76,0	20	13,3* (0,00001)	134	44,7
	множественные (одна анатомическая зона)	19	12,7	31	20,7* (0,044)	50	16,7
	множественные (две и более анатомические зоны)	17	11,3	99	66,0* (0,00001)	116	38,6

*достоверные различия между группами (p).

Таким образом, характер развития как множественного СК, так и единичного СК у лиц с генетической предрасположенностью и без нарушений углеводного обмена и у лиц с сопутствующими нарушениями углеводного

обмена протекают по-разному, что указывает на роль инсулинорезистентности в патогенезе опухоли.

СК локализовались как на закрытых участках кожного покрова (живот, спина, боковые поверхности туловища), так и на открытых, наиболее интенсивно инсолируемых областях - лицо, шея, декольте. Это противоречит результатам исследований некоторых авторов о расположении СК преимущественно на открытых участках кожного покрова и не позволяет считать ведущей теорию о главенствующей роли инсоляции в его патогенезе [33,130,162,168].

Зависимости между количеством опухолей и определенным фототипом кожных покровов выявлено не было (таблица 7).

Таблица 7

Распределение пациентов исследуемых групп по фототипу кожи.

Характеристика кожных покровов		Группа				Всего	
		I		II		Абс. %	
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов		150	100	150	100	300	100
Фототип	I	2	1,3	2	1,3	4	1,3
	II	74	49,3	68	45,3	142	47,3
	III	74	49,3	80	53,3	154	51,3

Достоверных различий между группами нет ($p > 0,05$)

При анализе сочетания СК с другими новообразованиями кожи нами было установлено достоверное преобладание их у пациентов II группы ($p=0,034$), особенно актинического кератоза ($p=0,01$) и множественных атером ($p=0,018$). А вот множественные диспластические невусы были наиболее характерны для лиц с единичным СК ($p=0,015$) (таблица 8).

Сопутствующая кожная патология присутствовала у 91 пациента (30,3%) и достоверно чаще регистрировалась во II группе -44% против 16,7% в I группе ($p=0,00001$). У пациентов с множественным СК было отмечено статистически значимое повышение частоты встречаемости дерматофитии стоп ($p=0,00001$), разноцветного лишая ($p=0,0017$), дистально-латеральной формы онихомикоза стоп ($p=0,00001$) и себорейного дерматита ($p=0,013$) в отличие от пациентов I группы (таблица 9). Таким образом, взаимосвязь между наличием нарушений

углеводного обмена у пациентов и сочетанием нескольких сопутствующих заболеваний кожи, преобладающая у лиц с множественным СК, еще раз подтверждает тот факт, что постепенное ухудшение чувствительности тканей к глюкозе, наряду с хронической гипергликемией является важным фактором в изменении баланса между пролиферацией и дифференцировкой клеток.

Таблица 8

Сопутствующие новообразования кожи у пациентов с себорейным кератозом по группам.

Новообразования кожи	Группа				Всего	
	I		II		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов	150	100	150	100	300	100
Актинический кератоз	5	3,3	16	10,7* (0,01)	21	7,0
Кератоакантома	-	-	2	1,3	2	0,7
Дерматофиброма	2	1,3	-	-	2	0,7
Липома	-	-	3	2,0	3	1,0
Множественные атеромы	1	0,7	8	5,3* (0,018)	9	3,0
Множественные простые невусы	5	3,3	4	2,7	9	3
Сенильная гемангиома	3	2,0	-	-	3	1,0
Множественные диспластические невусы	6	4,0	-	-* (0,015)	6	2,0
Всего новообразований	20	13,3	33	22,0* (0,034)	53	17,7

**достоверные различия между группами (p).*

Сопутствующие заболевания кожи у пациентов исследуемых групп

Характеристика больных	Группа				Всего	
	I		II		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов	150	100	150	100	300	100
Вульгарные бородавки	9	6,0	4	2,7	13	4,3
Вульгарный ихтиоз	2	1,3	4	2,7	6	2,0
Разноцветный лишай	-	-	9	6,0* (0,0017)	9	3,0
Себорейный дерматит	4	2,7	14	9,3* (0,013)	18	6,0
Псориаз вульгарный	2	1,3	-	-	2	0,7
Дистально-латеральная форма онихомикоза стоп	9	6,0	33	22,0* (0,00001)	42	14,0
Дерматофития стоп	-	-	24	16,0* (0,00001)	24	8,0
Эритразма	-	-	4	2,7	4	1,3
Фурункулез	1	0,7	3	2,0	4	1,3
Эпидерматофития паховая	2	1,3	2	1,3	4	1,3
Кандидоз складок	-	-	5	3,3	5	1,7
Порокератоз	-	-	3	2,0	3	1,0
Красный плоский лишай	1	0,7	-	-	1	0,3
Всего сопутствующих заболеваний кожи	25	16,7	66	44,0* (0,00001)	91	30,3

*достоверные различия между группами (p).

На основании проведенных исследований нами предложена клиническая классификация заболевания:

1. Единичный себорейный кератоз.
2. Множественный себорейный кератоз с инсулинорезистентностью.
3. Множественный себорейный кератоз без инсулинорезистентности.

3.2. Морфологические исследования

3.2.1. Гистологическая характеристика себорейного кератоза

Нами был проведен анализ 334 гистологических препаратов с клиническим диагнозом СК, из них 300 вошли в исследование. В 34 случаях клинический диагноз СК не подтвердился. В исследовании встречались следующие гистологические типы опухоли: акантотический тип - 194 СК (64,7%), аденоидный - 42СК (14%), клональный - 34СК (11,3%) и раздраженный - 30СК (10%).

Наши данные совпадают с данными литературы о наиболее распространённом типе себорейного кератоза - акантотическом [242]. Для любого гистологического типа СК специфические клинические особенности отсутствовали, поэтому его определение требовало обязательного морфологического исследования (рисунки 22-25).

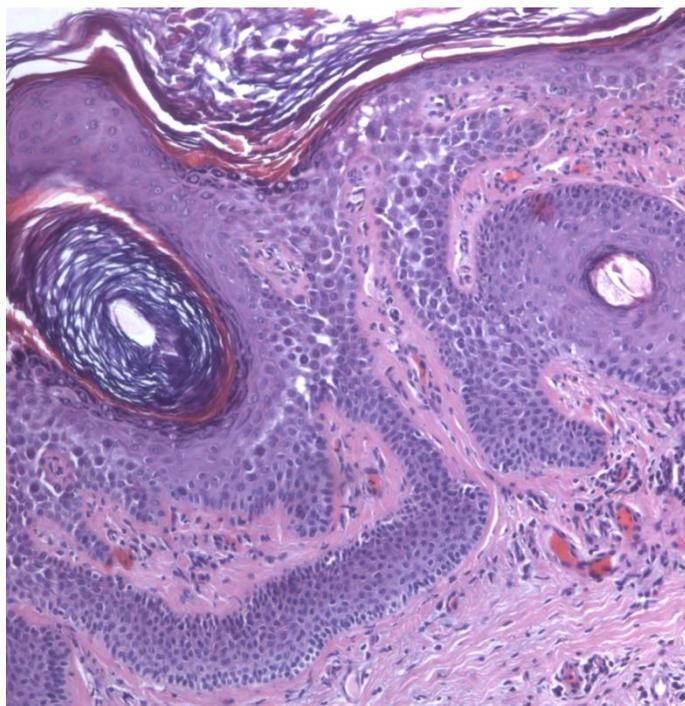


Рисунок 22. Акантотический тип себорейного кератоза - клиническая и гистологическая картина. Окраска гематоксилином и эозином, x200

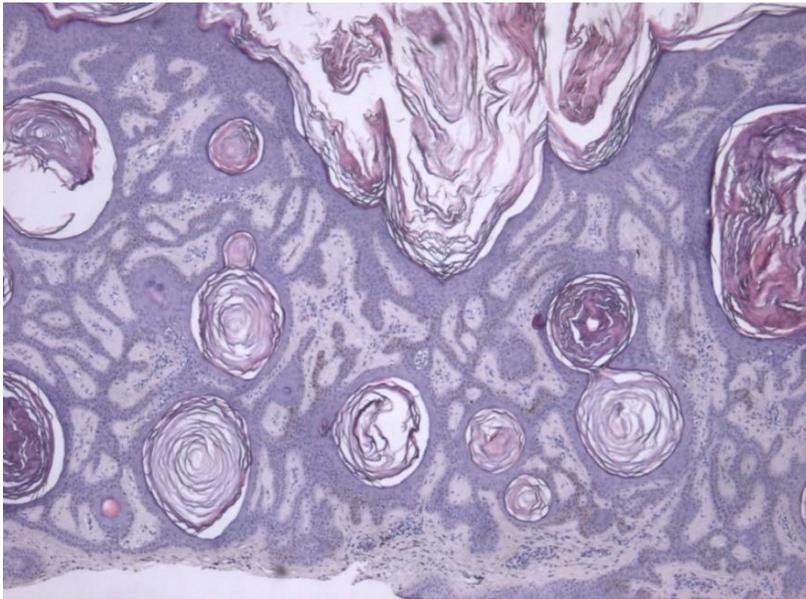


Рисунок 23. Аденоидный тип себорейного кератоза - клиническая и гистологическая картина. Окраска гематоксилином и эозином, x50

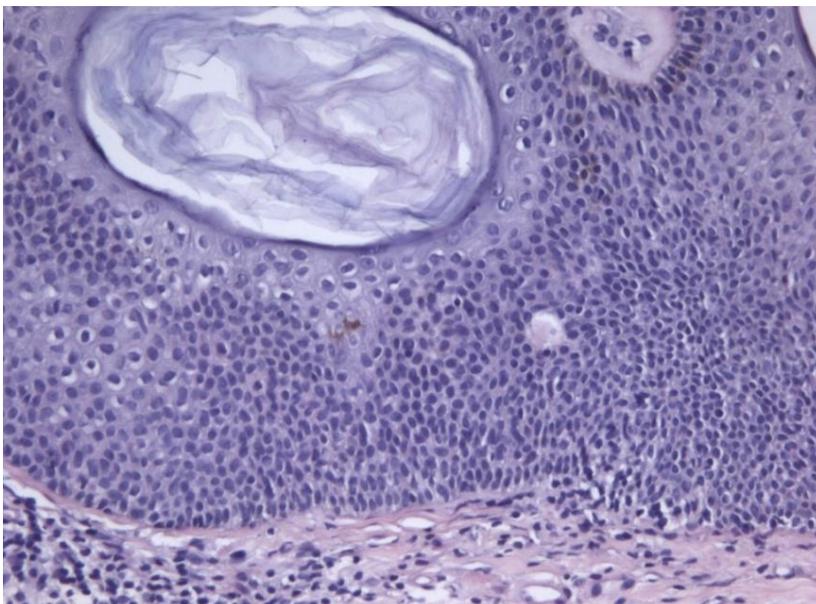


Рисунок 24. Клональный тип себорейного кератоза - клиническая и гистологическая картина . Окраска гематоксилином и эозином, x200

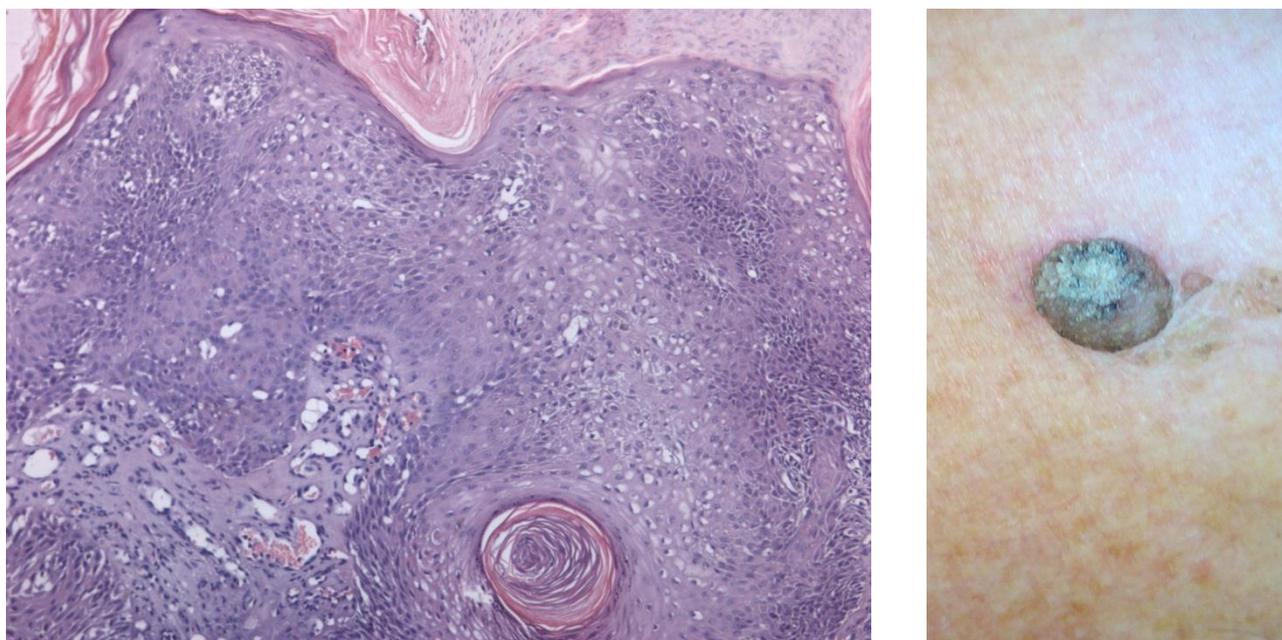


Рисунок 25. Раздраженный тип себорейного кератоза - клиническая и гистологическая картина. Окраска гематоксилином и эозином, x100

На настоящий момент единой морфологической классификации СК нет [16,107,144,239]. В нашем исследовании гистологические типы СК были выбраны с учетом нескольких причин. Так как гиперкератоз в опухоли был представлен всегда, разной степени выраженности, то мы не выделяли отдельно гиперкератотическую форму СК. Тем более, что описание в литературе гистологической картины гиперкератотического типа СК, включающее в себя наличие возвышений эпидермиса по типу «церковных шпилей», слабовыраженную базалоидность клеток или ее полное отсутствие, отсутствие роговых кист совпадает с описанием старческой кератомы или кератопапилломы, а также с поражениями кожи при акродерматите верруциформном Гопфа и штукатурном кератозе [107]. Нами не был выделен в отдельный гистологический тип и воспаленный СК, так как лимфоцитарно-моноцитарный инфильтрат разной степени выраженности встречался во всех опухолях.

В большинстве исследуемых СК при серийных срезах встречались характерные особенности нескольких типов, что подчеркивает единую природу всех гистологических типов СК. Чаще всего при аденоидном типе СК имелись участки акантотического типа, при клональном типе - акантотического и

раздраженного (в виде единичных очагов плоскоклеточной дифференцировки), при раздраженном – акантотического или аденоидного.

Однако выделять смешанные виды опухоли мы не стали, так как всегда явно преобладали характерные особенности определенного типа.

При анализе гистологических типов и локализации исследуемых СК было выявлено следующее. Акантотический тип достоверно чаще выявлялся на закрытых местах, менее подверженных воздействию УФ (75,9% к 44,9%) ($p=0,00001$), а аденоидный (20,2% к 10,5%) и раздраженный (24,8% к 1,6%) – преимущественно на подверженных УФ-излучению местах ($p=0,017$ и $p=0,00001$ соответственно) (таблица 10). Коэффициент корреляции между гистологическим типом и воздействием УФ излучения составил $R=0,34$ при $p=0,000001$.

Таблица 10

Гистологические типы себорейного кератоза в зависимости от локализации опухоли

Гистологический тип	Локализация			
	Без УФ излучения		УФ излучение	
	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК	191		109	
Акантотический тип	145	75,9	49	44,9*(0,00001)
Аденоидный тип	20	10,5	22	20,2*(0,017)
Клональный тип	23	12,0	11	10,1
Раздраженный тип	3	1,6	27	24,8* (0,00001)

**достоверные различия с локализацией без УФ (p)*

Таким образом, в 90% случаев (27 из 30СК) раздраженный тип локализовался на подверженных избыточному солнечному излучению участках, что не ставит под сомнение роль УФ излучения в его развитии. Тогда как аденоидный тип СК, возникающий из сенильного лентиго по мнению некоторых авторов [37, 107] с исключительной локализацией на открытых участках тела [244] - только в 52,4% случаев (22 из 42СК).

Во всех препаратах в опухоли присутствовали три вида клеток: преимущественно базалоидные, незначительное количество шиповатых и единичные меланоциты. Гиперкератоз присутствовал в виде умеренного или

выраженного ортокератоза, акантотические тяжи опухолевых клеток были различной величины - от двухрядных, тонких при аденоидном типе опухоли до широких при других гистологических типах. При клональном типе базалоидные клетки были мелкими, с выраженными базофильными ядрами и располагались в опухоли в виде «гнезд». При раздраженном типе встречались очаги плоскоклеточной дифференцировки, напоминающие истинные роговые жемчужины при плоскоклеточном раке [7].

У некоторых пациентов среди роговых чешуек обнаруживались множественные округлые сферические тельца дермальных грибов сапрофитов (рисунок 26).

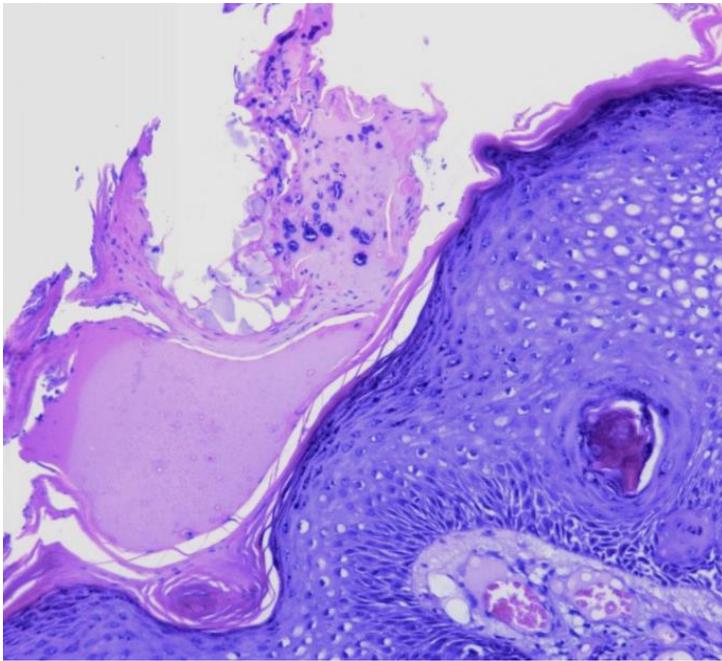


Рисунок 26. Себорейный кератоз, акантотический тип. Вакуолизация клеток опухоли, наличие телец грибов сапрофитов в роговом слое. Окраска гематоксилином и эозином, x200

В I группе достоверно преобладал аденоидный тип СК ($p=0,033$), во II группе- акантотический ($p=0,035$) (таблица 11).

Распределение гистологических типов себорейного кератоза в исследуемых группах

Гистологический тип	Группа				Всего	
	I		II		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во СК	150	100	150	100	300	100
Акантотический тип	89	59,3	105	70,0* (0,035)	194	64,7
Аденоидный тип	27	18,0	15	10,0* (0,033)	42	14,0
Клональный тип	22	14,7	12	8,0	34	11,3
Раздраженный тип	12	8,0	18	12,0	30	10,0

**достоверные различия между группами (p).*

Нами был проведен анализ отдельных морфологических признаков СК: воспаления, роговых кист и характера пигментации.

I. Воспаление

Наиболее часто в СК присутствовали скудные периваскулярные лимфоцитарно-моноцитарные инфильтраты в строме опухоли, особенно в папилломатозных выростах, а также в виде единичных очагов в нижележащей дерме- в 227СК (75,7%) (рисунок 27).

Более выраженная воспалительная реакция в виде периваскулярных и очаговых (более двух очагов в дерме) инфильтратов встречалась в 47 СК (15,7%) (рисунок 28). Выраженный диффузный лимфоцитарно-моноцитарный инфильтрат вплоть до сетчатого слоя дермы присутствовал только в 26 СК (8,7%).

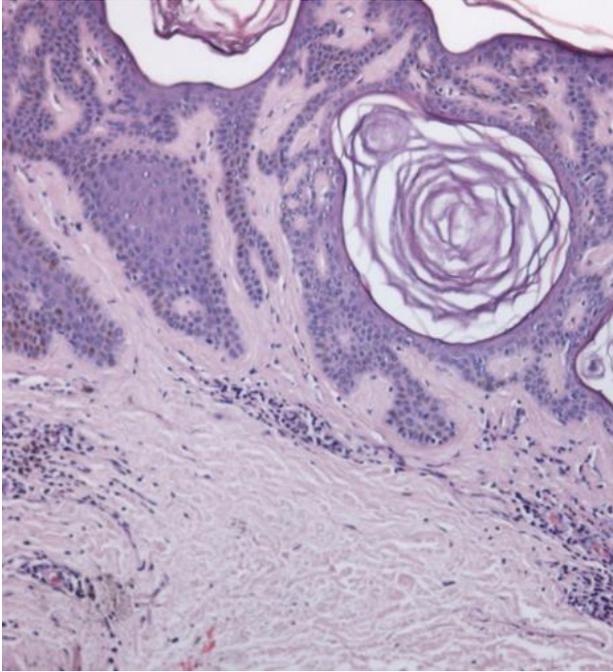


Рисунок 27. Себорейный кератоз, аденоидный тип. Скучные периваскулярные лимфоцитарно-моноцитарные инфильтраты в строме опухоли и нижележащей дерме. Окраска гематоксилином и эозином, x100

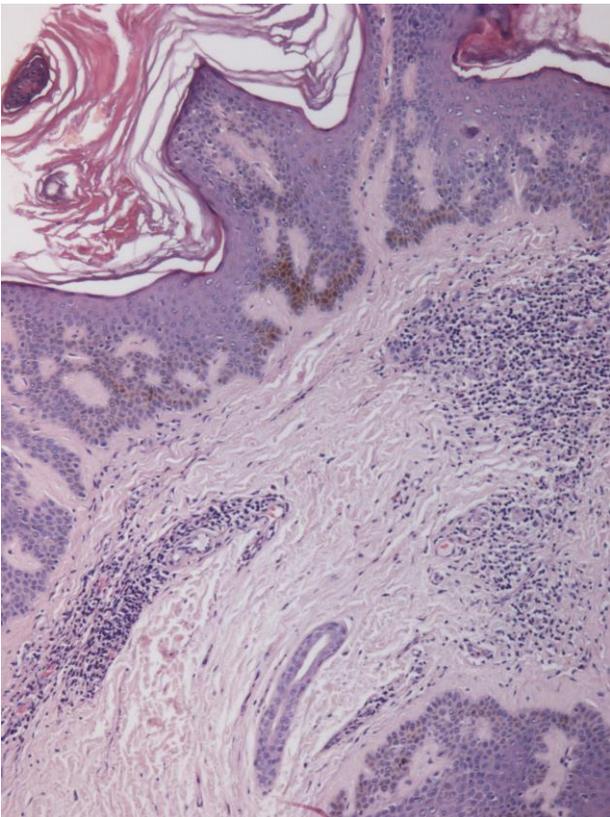


Рисунок 28. Себорейный кератоз, акантотический тип. Периваскулярные лимфоцитарно-моноцитарные инфильтраты в строме опухоли и отдельные очаги в нижележащей дерме. Окраска гематоксилином и эозином, x100

Статистический анализ характера воспалительной реакции в группах выявил достоверное преобладание СК с выраженным воспалением во II группе ($p=0,011$) (таблица 12).

Таблица 12

Характеристика воспаления при себорейном кератозе в исследуемых группах

Морфологический признак		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во СК		150	100	150	100	300	100
Воспаление	слабое	118	78,7	109	72,7	227	75,7
	умеренное	25	16,7	22	14,7	47	15,7
	выраженное	7	4,6	19	12,6* (0,011)	26	8,7

*достоверные различия между группами (p).

Взаимосвязи характера воспаления с возрастом и полом пациентов выявлено не было. Хроническая гипергликемия так же не коррелировала с наличием слабого или выраженного лимфоцитарно - моноцитарного инфильтрата в опухоли. Так, у пациентов с нарушениями углеводного обмена (159 пациентов) в 71,7% случаев (114СК) встречалось слабое воспаление в опухоли, однако встречалось и умеренное в 17,6% (28СК) и выраженное – в 10,7% (17СК). Для пациентов без нарушений углеводного обмена (141 пациент) слабое воспаление так же было наиболее характерно- 113СК (80,1%).

Характер воспаления имел свои особенности в зависимости от гистологической формы СК. Была найдена значимая корреляционная взаимосвязь между воспалением и гистологическим типом опухоли ($R=0,49$ при $p=0,0000001$). Так, слабое воспаление достоверно чаще встречалось при акантоическом типе (88,7%) в отличие от других гистологических форм, а так же было более характерно для клонального (67,7%) и аденоидного (66,7%) гистологических форм СК по сравнению с раздраженным типом (13,3%). Умеренное воспаление достоверно чаще присутствовало при аденоидном (28,6%) и клональном типе (32,3%) в отличие от акантоического (9,8%) ($p=0,0025$ и $p=0,001$ соответственно). Выраженная воспалительная реакция была характерна

для раздраженного типа СК и встречалась в 70% случаев. Это было достоверно чаще, чем при остальных типах рассматриваемых СК ($p=0,00001$) (таблица 13).

Таблица 13

Характер воспаления при разных гистологических типах себорейного кератоза

Воспаление	Гистологический тип							
	Акантотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс	%	Абс	%
Кол-во СК	194		42		34		30	
слабое	172	88,7+ (0,00001)	28	66,7*+ (0,0009; 0,00001)	23	67,7*+ (0,003 0,00001)	4	13,3* (0,018)
умеренное	19	9,8	12	28,6* (0,0025)	11	32,3* (0,001)	5	16,7
выраженное	3	1,5+ (0,00001)	2	4,8+ (0,00001)	-	-+ (0,00001)	21	70,0

*достоверные различия по сравнению с акантотическим типом (p)

+ достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p)

Анализ характера воспаления между группами по гистологическим типам не выявил достоверных различий для акантотического и аденоидного типов СК. Для клонального типа у лиц с единичным СК достоверно чаще выявляли слабое воспаление, при множественном - умеренное ($p=0,003$). При раздраженном типе в I группе достоверно чаще выявляли слабое воспаление ($p=0,018$), во II группе - выраженное ($p=0,009$) (таблица 14). Найденные зависимости отражают общую тенденцию более выраженной воспалительной реакции в опухоли у пациентов II группы.

При слабой и умеренной степени воспаления в 21 СК (7,7%) встречались расширенные сосуды в строме опухоли и нижележащем слое дермы, а также не резко выраженная вакуолизация клеток опухоли, расположенных в верхних отделах, ближе к роговому слою. В 3 СК акантотического типа со слабой воспалительной реакцией, наряду с расширенными сосудами дермы и очаговой

вакуолизацией клеток верхних отделов опухоли встречались эозинофильные лейкоциты.

Таблица 14

Характеристика воспаления при разных гистологических типах себорейного кератоза по группам

Воспаление	Гистологический тип							
	Акантотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	89		27		22		12	
слабое	79	88,8	16	59,3	19	86,4	4	33,3
умеренное	10	11,2	9	33,3	3	13,6	3	25,0
выраженное	-	-	2	7,4	-	-	5	41,7
	II группа							
Кол-во СК	105		15		12		18	
слабое	93	88,6	12	80,0	4	33,3* (0,003)	-	-* (0,018)
умеренное	9	8,6	3	20,0	8	66,7* (0,003)	2	11,1
выраженное	3	2,8	-	-	-	-	16	88,9* (0,009)

*достоверные различия между группами (p).

Присутствие нейтрофильных лейкоцитов в строме опухоли наблюдалось в 16СК раздраженного типа с выраженным воспалением. В 7 СК (3 клонального, 3 акантотического и 1 аденоидного типа) с умеренной и выраженной степенью воспаления наличие нейтрофильных лейкоцитов сочеталось с начальным формированием отдельных очагов плоскоклеточной дифференцировки (рисунок 29). Это позволило нам сделать предположение, что в формировании очагов плоскоклеточной дифференцировки, а затем раздраженного гистологического типа СК определенную роль играет воспалительная реакция с наличием именно *нейтрофильных* лейкоцитов.

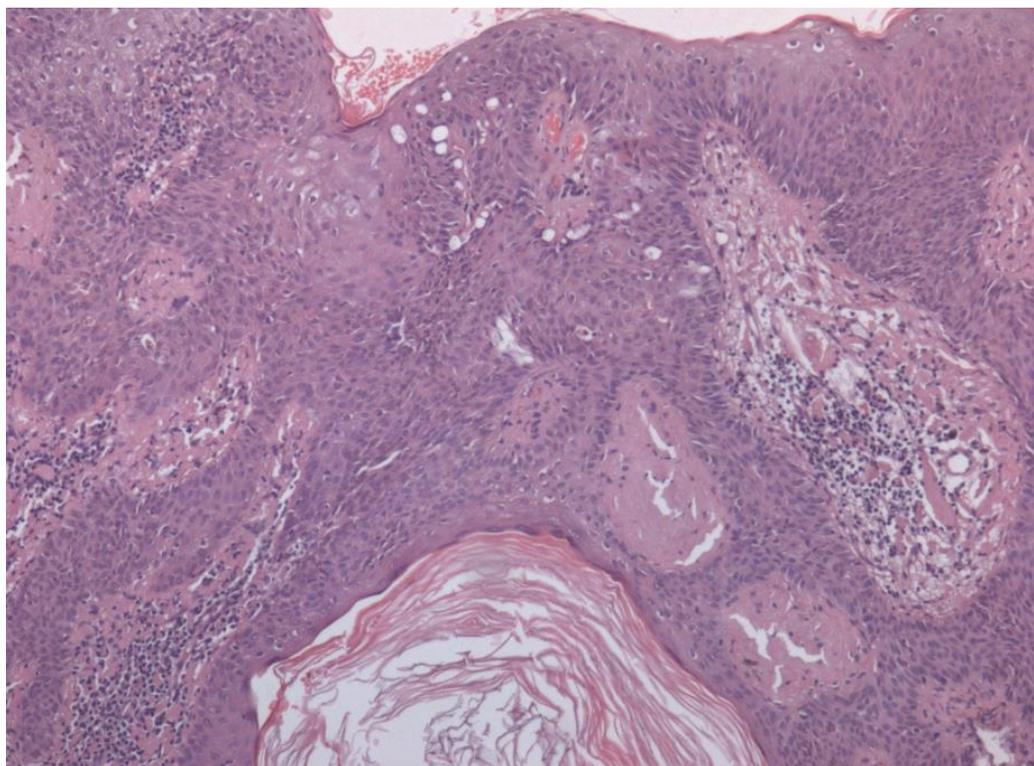


Рисунок 29. Клональный тип себорейного кератоза. Нейтрофилы в строме опухоли, отдельные очаги формирования плоскоклеточной дифференцировки. Окраска гематоксилином и эозином, x100

Все опухоли были расположены на подверженных избыточному влиянию УФ излучения участках кожи. Таким образом, стало очевидно, что в формировании плоскоклеточных включений и раздраженного типа СК необходимым является сочетание двух факторов - избыточного УФ излучения и инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами (предположительно в результате хронического травмирования, возможно, трения одеждой). Одного из этих факторов недостаточно, так как в остальных СК, локализованных на открытых для УФ излучения местах, даже при умеренном воспалении, не было признаков плоскоклеточной дифференцировки.

Важно отметить, что при раздраженном типе СК дифференцировка клеток опухоли идет иначе, чем при других типах, определяется явное преобладание шиповатых клеток над базалоидными, что подтверждают проведенные зарубежными авторами исследования экспрессии цитокератинов [294].

О влиянии УФ излучения на характер воспаления в СК говорит значимая корреляция в обеих группах ($R=0,37$, $p=0,0000001$). Умеренное и выраженное воспаление достоверно чаще встречалось в СК, расположенных на подверженных интенсивному УФ излучению местах, чем на закрытых от влияния солнца ($p=0,00001$). Так, из 73СК с выраженным и умеренным воспалением 48СК (65,8%) были удалены с мест, подверженных избыточному УФ излучению- с кожи лица, шеи и декольте. Данная тенденция прослеживалась в обеих группах (таблица 15).

Таблица 15

Характер воспаления в зависимости от локализации себорейного кератоза в исследуемых группах

Воспаление		Локализация СК			
		Без УФ излучения		УФ излучение	
		Абс.	%	Абс.	%
I группа	слабое	81	88,0	37	63,8* (0,00001)
	умеренное	10	10,9	15	25,9*(0,016)
	выраженное	1	1,1	6	10,3* (0,014)
II группа	слабое	85	85,9	24	47,1*(0,00001)
	умеренное	13	13,1	9	17,6
	выраженное	1	1,0	18	35,3*(0,00001)
Всего	слабое	166	86,9	61	56,0*(0,00001)
	умеренное	23	12,0	24	22,0*(0,00001)
	выраженное	2	1,1	24	22,0*(0,00001)

**достоверные различия по сравнению с группой без УФ излучения (p)*

Интересно, что вне зависимости от рассматриваемых выше факторов, во всех случаях в опухоли присутствовал лимфоцитарно - моноцитарный инфильтрат, что отличает СК от простых внутридермальных невусов, а так же других доброкачественных опухолей и опухолеподобных процессов в коже.

Так как до проведения эксцизионной биопсии пациенты не проводили лечения СК, а травмированные элементы мы удаляли по мере исчезновения воспалительных изменений, то тут речь идет о специфической реакции иммунной системы, что подтверждают исследования Лебедевой Ю.В. (2010) [33].

II. Пигментация

Пигмент меланин в СК встречался неравномерно, часто отдельными очагами. Так, при серийных срезах можно было встретить усиленное отложение пигмента над апикальными полюсами ядер в клетках опухоли в центре и его почти полное отсутствие в краевых участках СК. Клинически это проявлялось неравномерной окраской СК, что чаще всего служило причиной диагностических ошибок.

Нами было выделено три типа пигментации СК:

I тип. Слабая пигментация отдельных клеток СК, расположенных преимущественно в области основания опухоли или отдельными очагами. Меланин располагался в виде «шапочек» над ядрами клеток и/или в виде единичных отдельных глыбок и меланофагов в дерме и строме опухоли. Данный тип пигментации встречался в 176СК (58,7%).

II тип. Равномерная пигментация клеток, расположенных на дермоэпидермальной границе, с единичными меланофагами в дерме и строме опухоли или их полным отсутствием. Присутствовал в 79 СК (26,3%) (рисунок 30).

III тип. Выраженная диффузная пигментация в виде большого количества меланина в клетках, расположенных в основании опухоли и вышележащих слоях. В нижележащей дерме и строме СК скопления меланина в виде глыбок и меланофагов. Встречался в 45СК (15%) (рисунок 31) [44].

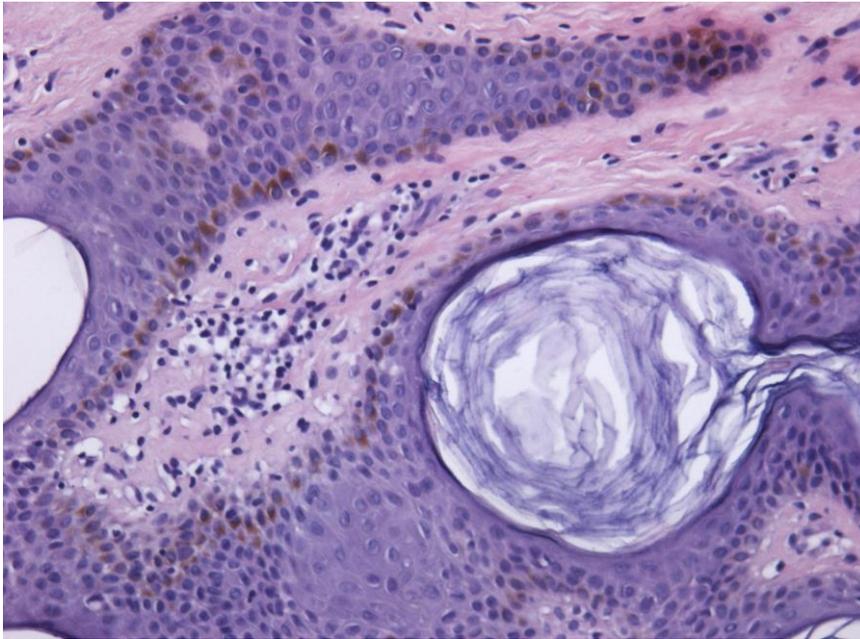


Рисунок 30. Себорейный кератоз, акантотический тип. II тип пигментации. Наличие пигмента в виде «шапочек» в клетках опухоли на дермоэпидермальной границе. Окраска гематоксилином и эозином, х200

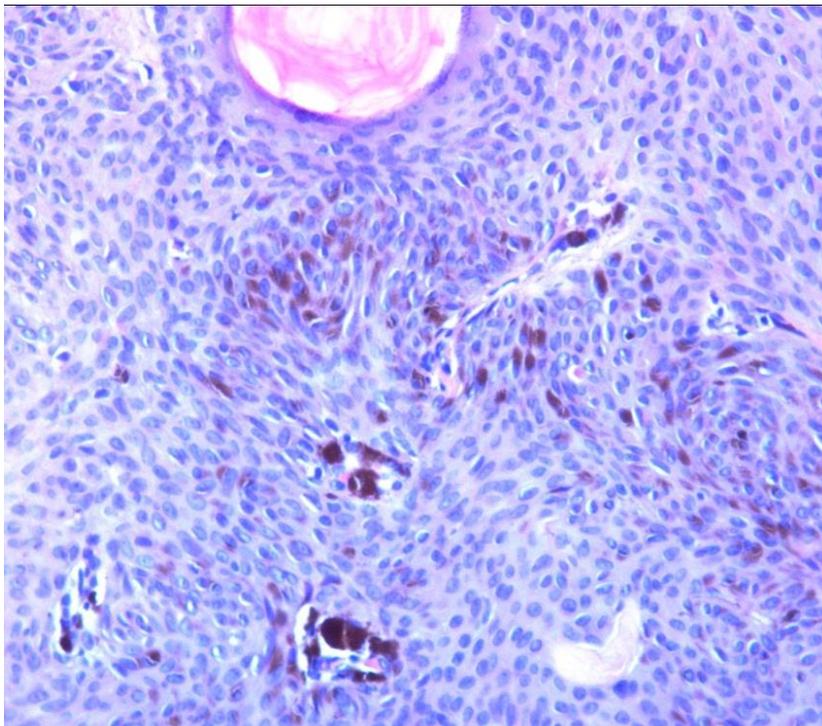


Рисунок 31. Себорейный кератоз, клональный тип. Глыбки меланина в строме опухоли, наличие пигмента в базалоидных клетках. III тип пигментации. Окраска гематоксилином и эозином, х200

Корреляционной зависимости характера пигментации с возрастом и полом пациентов, фототипом кожи не было. Учитывая данные литературы об усилении отложения пигмента с возрастом в неизмененном эпидермисе и появлении множественных гиперпигментированных очагов (старческого лентиго) [16], выявленное нами отсутствие усиления пигментации в СК с возрастом свидетельствует об индивидуальных нарушениях меланогенеза.

Достоверных различий в характере пигментации между исследуемыми группами выявлено не было (таблица 16).

Таблица 16

Характер пигментации себорейного кератоза в исследуемых группах

Пигментация		Группа				Всего	
		I		II			
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК		150	100	150	100	300	100
Тип пигментации	I	89	59,3	87	58,0	176	58,7
	II	37	24,7	42	28,0	79	26,3
	III	24	16,0	21	14,0	45	15,0

Достоверных различий между группами нет ($p > 0,05$).

Наличие или отсутствие у пациентов нарушений углеводного обмена так же не влияло на характер пигментации. Так, у пациентов с нарушениями углеводного обмена (159 человек) наиболее распространен был I тип пигментации- 96 СК (60,4%), в 45СК (28,3%) встречался II тип пигментации и в 18СК (11,3%) - III тип пигментации. У пациентов без нарушений углеводного обмена (141 человек) I тип пигментации так же преобладал- 80СК (56,7%). II тип присутствовал в 34СК (24,2%), III тип- в 27СК (19,1%).

При сравнении типов пигментации при разных гистологических формах СК было выявлено, что при раздраженном типе во всех случаях был I тип пигментации, что не встречалось при других типах ($p=0,00001$). Единичные глыбки меланина можно было найти только в дерме, или в отдельных клетках опухоли там, где не прилегал к ее основанию дермальный воспалительный инфильтрат.

III тип пигментации встречался достоверно чаще при клональном типе (52,9%) по сравнению с акантоотическим (13,9%) ($p=0,00001$) и не встречался при аденоидном и раздраженном ($p=0,0035$ и $p=0,00001$ соответственно). II тип пигментации наблюдался только при двух типах СК- аденоидном (38,1%) и акантоотическом (32,5%) (таблица 17).

Таблица 17

Характер пигментации при разных гистологических типах себорейного кератоза

Тип пигментации	Гистологический тип							
	Акантоотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК	194		42		34		30	
I	104	53,6* (0,00001)	26	61,9* (0,00001)	16	47,1* (0,00001)	30	100
II	63	32,5*+ 0,00001 0,00001	16	38,1*+ (0,00001 0,00001)	-	-	-	-
III	27	13,9*+ (0,0158 0,00001)	-	-+ (0,0035)	18	52,9* (0,00001)	-	-+ (0,00001)

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p)

+достоверные различия по сравнению с клональным типом (p)

Аналогичные данные были получены при проведении сравнения типов пигментации при разных гистологических типах СК внутри исследуемых групп.

Учитывая преобладание раздраженных и аденоидных форм СК на подверженных избыточному УФ излучению участках кожи и выявленные особенности пигментации, мы провели анализ зависимости пигментации от локализации СК. Нами была выявлена отрицательная корреляционная связь- $R=-0,23$ при $p=0,00004$. Так, выраженная пигментация в клетках опухоли регистрировалась в СК, локализованных на открытых и подверженных УФ излучению местах только в 3,7% случаев (4 СК из 109СК). Тогда как на закрытых, защищенных от солнечного света - в 21,5% случаев, что достоверно чаще (41СК из 191СК) ($p=0,00001$). В то же время слабая пигментация достоверно чаще встречалась в СК, локализованных на открытых участках тела - в 73,4% случаях ($p=0,00001$) (таблица 18).

Характер пигментации в зависимости от места локализации себорейного кератоза у пациентов исследуемых групп

Тип пигментации		Локализация			
		Без УФ излучения		УФ излучение	
		Абс.	%	Абс.	%
I группа	I	42	45,7	47	81,0* (0,00001)
	II	27	29,3	10	17,3
	III	23	25,0	1	1,7* (0,00001)
II группа	I	54	54,5	33	64,7
	II	27	27,3	15	29,4
	III	18	18,2	3	5,9* (0,03)
Всего	I	96	50,2	80	73,4* (0,00001)
	II	54	28,3	25	22,9
	III	41	21,5	4	3,7* (0,00001)

*достоверные различия по сравнению с группой без УФ излучения(*p*)

Это подтверждают и клинические данные – наиболее пигментированные опухоли локализовались у пациентов на коже живота и боковых поверхностях туловища.

Таким образом, при СК стимуляции меланогенеза под воздействием УФ излучения не происходило в отличие от непораженного эпидермиса. Возможно, причиной являлось нарушение эпидермального баланса между стимуляторами и ингибиторами меланогенеза - паракринными цитокинами. Более выраженная воспалительная реакция в СК, локализованных на подверженных излишнему УФ излучению местах ($p=0,00001$) приводила, в свою очередь к повышенной экспрессии в СК ФНО α и других провоспалительных цитокинов, ингибиторов меланогенеза, в сочетании с повышенным содержанием эндотелина 1- известного митогена для меланоцитов и стимулятора меланогенеза [187]. Между воспалением и типом пигментации нами выявлена отрицательная корреляционная

взаимосвязь ($R=-0,23$ при $p=0,00004$). Так, II и III тип пигментации достоверно чаще встречался при слабом воспалении – в 89,9% и 84,4% случаев в отличие от I типа (67,1%) ($p=0,00001$ и $p=0,015$ соответственно), тогда как I тип преобладал при выраженном воспалении (13,6%) в отличие от II типа (2,5%) ($p=0,004$). III тип пигментации не встречался при выраженной лимфоцитарно- моноцитарной реакции в опухоли ни в одном случае (таблица 19).

Таблица 19

Взаимосвязь характера воспаления и типа пигментации при себорейном кератозе

Воспаление		Тип пигментации					
		I		II		III	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК	слабое	118	67,1	71	89,9* (0,00001)	38	84,4* (0,015)
	умеренное	34	19,3	6	7,6* (0,011)	7	15,6
	выраженное	24	13,6	2	2,5* (0,004)	-	-* (0,003)

*достоверные различия с I типом пигментации(p)

III. Роговые кисты

Роговые кисты, являясь патогномоничным признаком СК, в большинстве случаев были истинными. Располагались в толще или между тяжами базалоидных клеток. Также присутствовали псевдокисты, представляя собой роговые массы в инвагинациях эпидермиса. Встречались как огромные, занимающие большую часть опухоли истинные кисты, так и мелкие, вне зависимости от гистологического типа СК. В некоторых СК истинные кисты объединялись с псевдокистами, расположенными на поверхности.

Чтобы проанализировать количество истинных кист в СК, мы считали наличие более 5 кист на опухоль - множественными, менее 5 кист - единичными.

Множественные кисты в СК преобладали и регистрировались в 63,7% случаев (191СК), единичные – в 36,3% (109СК). Взаимосвязи между количеством кист и клиническими данными - возрастом, локализацией СК и наличием у пациентов нарушений углеводного обмена не было выявлено.

Достоверных различий между исследуемыми группами не было, что отражено в таблице 20.

Таблица 20

Характеристика роговых кист при себорейном кератозе в исследуемых группах

Роговые кисты		Группа				Всего	
		I		II			
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК		150	100	150	100	300	100
Роговые кисты	Единичные	53	35,3	56	37,3	109	36,3
	Множественные	97	64,7	94	62,7	191	63,7

Достоверных различий между группами нет ($p > 0,05$)

Корреляционной зависимости между гистологическим типом и количеством роговых кист, в том числе в группах, не было выявлено. Это противоречит данным проведенных ранее исследований об отсутствии роговых кист при аденоидном типе СК и их множественности при других формах [107]. При любой гистологической форме СК преобладали множественные кисты (таблица 21).

Таблица 21

Роговые кисты при гистологических типах себорейного кератоза

Роговые кисты	Гистологический тип							
	Акантолитический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК	194		42		34		30	
единичные	77	39,7	11	26,2	12	35,3	9	30,0
множественные	117	60,3	31	73,81	22	64,7	21	70,0

Достоверных различий между гистологическими типами нет ($p > 0,05$)

На основании различий, выявленных в результате проведенного клинического, морфологического и статистического анализа нами предложена морфологическая классификация СК:

1. Обычный (простой) себорейный кератоз
2. Себорейный кератоз с плоскоклеточной дифференцировкой.

3.2.2 Иммуногистохимическая характеристика себорейного кератоза

Наиболее изучаемыми маркерами клеточного цикла, которые участвуют в контроле пролиферативного потенциала любой клетки, являются белки семейства p53, ингибитор циклин-зависимой киназы p16, а так же факторы роста (EGF и др.). Возможность определения их экспрессии с помощью иммуногистохимических методов позволяет выявить степень нарушения пролиферации, которая неизменно сопровождается опухолевым ростом, способностью опухоли к инвазии и метастазированию [253].

Для ИГХ-исследований были отобраны: 40 СК акантотического и по 30 СК аденоидного, клонального и раздраженного типа (таблица 22).

Таблица 22

Распределение гистологических типов себорейного кератоза в группах для ИГХ- исследования

Гистологический тип	Акантотический	Аденоидный	Клональный	Раздраженный
I группа	14	19	20	12
II группа	26	11	10	18

63 СК (27СК в I группе и 36СК во II группе) были удалены с подтвержденных избыточному УФ излучению участков, 67 (38СК в I группе и 29СК во II группе)- с мест, чаще закрытых, не подвергающихся частому воздействию солнца (рисунок 32).

При сопоставлении с клиническими данными с нарушениями углеводного обмена в I группе было 15 (23,1%) пациентов, из них с СД 2 типа- 12пациентов, с НТГ- 3. Во II группе с нарушениями углеводного обмена было 53 человека (81,5%), из них с СД 2 типа - 32 пациента, с НТГ- 21человек.

Мы изучали взаимосвязь экспрессии всех маркеров с клиническими данными (возрастом, полом, фототипом кожных покровов, локализацией СК, наличием нарушений углеводного обмена у пациентов), а так же

морфологическими (гистологическим типом СК, характером воспаления и пигментации опухоли) по группам и внутри групп.

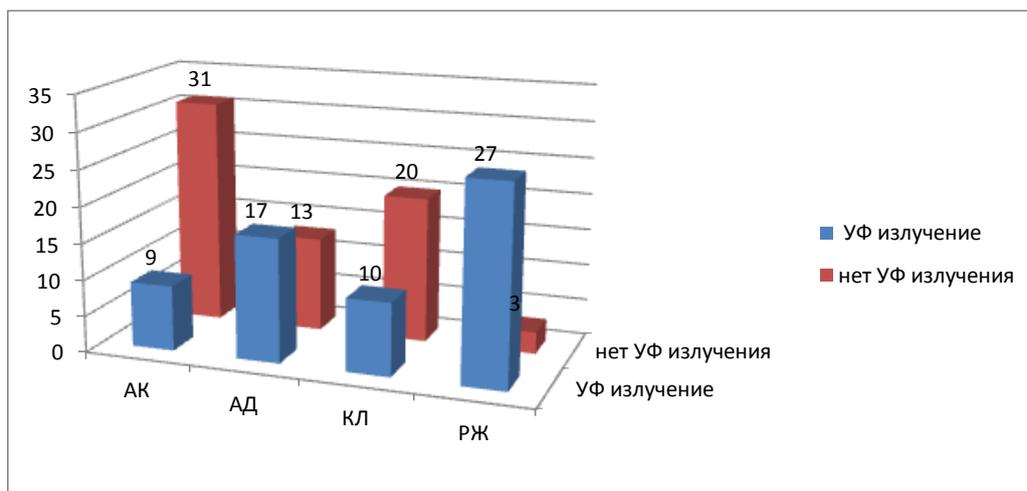


Рисунок 32. Распределение гистологических типов себорейного кератоза, взятых для ИГХ-исследования, в зависимости от места локализации опухоли. (АК-акантоотический, АД-аденоидный, КЛ-клональный, РЖ-раздраженный тип себорейного кератоза).

3.2.2.1 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p53

Белок p53 («страж генома») является транскрипционным фактором, регулирующий клеточный цикл, продуктом гена-супрессора TP53. Экспрессируется во всех клетках организма.

При отсутствии стрессовых факторов p53 находится в латентной форме, обладая слабой транскрипционной активностью. Располагается преимущественно в цитоплазме клеток и имеет короткий период полураспада (5-20мин в зависимости от типа клеток), его содержание может быть ниже чувствительности ИГХ-методов [13,40].

Активация p53 (переход в стрессовую конформацию) происходит в ответ на различные повреждения ДНК, а также при состояниях, способных повлиять на целостность генома (генотоксические воздействия): нарушение баланса пролиферативных сигналов, изменение метаболизма, гипоксия и др.[51].

При активации p53 возможна остановка клеточного цикла и репликации ДНК, или запуск апоптоза, когда повреждение устранить невозможно [27]. Известно, что ген P53 контролирует репликативное старение клеток, о чем свидетельствует его активация в «старых» клетках [103].

При ИХГ-исследовании с моноклональными антителами к p53 положительная реакция регистрировалась в 66 СК (50,7%). Корреляционной зависимости с возрастом и полом пациентов не было выявлено. Экспрессия p53 была диффузной, при наличие воспалительного инфильтрата в дерме - неравномерной. Это выражалось в большем количестве окрашенных ядер клеток опухоли как над очагом воспаления, так и в самом СК. При отсутствии экспрессии p53 в опухоли, в прилегающем неизмененном эпидермисе реакция с моноклональными антителами также отсутствовала. При положительной реакции с моноклональными антителами к p53 в опухоли в прилегающем эпидермисе определялась окраска ядер клеток базального и шиповатого слоя, интенсивность которой и количество окрашенных ядер клеток ослабевала по мере удаления от

опухоли.

I. Экспрессия моноклональных антител к p53 в исследуемых группах.

В I группе у пациентов с единичным СК положительная реакция с моноклональными антителами к p53 регистрировалась в 29 СК (44,6%), в виде окраски ядер 10-30% клеток.

Во II группе, у пациентов с множественным СК, экспрессия p53 была обнаружена в 37СК (56,9%), из них в 12СК - в более 30% клеток опухоли (гиперэкспрессия). Таким образом, значимых отличий в положительной экспрессии p53 в 10-30% клеток опухоли или ее отсутствии между группами не было, однако гиперэкспрессия p53 встречалась только во II группе- 18,5% при отсутствии в I группе ($p=0,0001$) (таблица 23).

Таблица 23

Экспрессия моноклональных антител к p53 у пациентов с себорейным кератозом в исследуемых группах

Показатель		Группа				Всего	
		I		II			
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК		65	100	65	100	130	100
p53 (экспрессия в опухоли)	отсутствует	36	55,4	28	43,1	64	49,2
	10-30% клеток	29	44,6	25	38,5	54	41,5
	более 30% клеток	0	0,0	12	18,5* (0,0001)	12	9,2

**достоверные различия между группами(p)*

Слабая корреляционная связь была выявлена между экспрессией p53 и наличием нарушений углеводного обмена у пациентов ($R=0,29$, $p=0,00098$). Так, гиперэкспрессия p53 встречалась только у пациентов с нарушениями углеводного обмена ($p=0,0003$), тогда как у пациентов без нарушений углеводного обмена достоверно чаще встречалось отсутствие экспрессии p53 ($p=0,007$) (таблица 24).

**Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к p53
с наличием нарушений углеводного обмена у пациентов**

p53 (экспрессия в опухоли)	Нарушения углеводного обмена			
	нет		Есть	
	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во пациентов	62		68	
отсутствует	38	61,3	26	38,2* (0,007)
10-30% клеток	24	38,7	30	44,1
более 30% клеток	-	-	12	17,7* (0,0003)

**достоверные различия с отсутствием нарушения углеводного обмена(p)*

II. Экспрессия моноклональных антител к p53 при разных гистологических типах себорейного кератоза.

При *акантолическом* типе СК реакция с моноклональными антителами к p53 была положительна только в 10 СК (25%). Окрашивались ядра 10% - 30% клеток опухоли (рисунок 33). Интенсивность окраски была слабой или умеренной. В остальных 30 СК (75%) реакция отсутствовала.

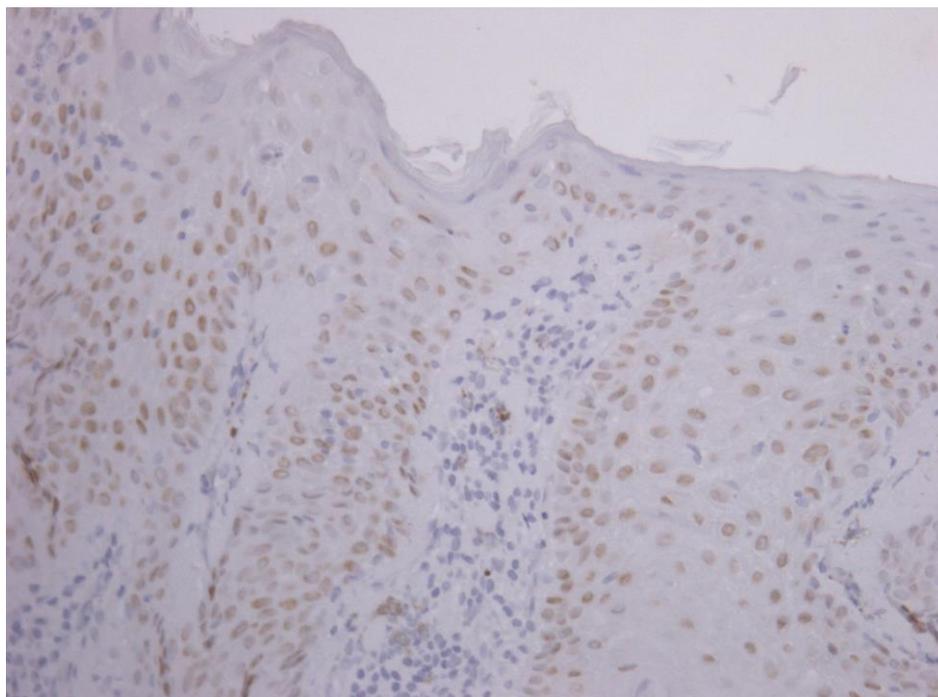
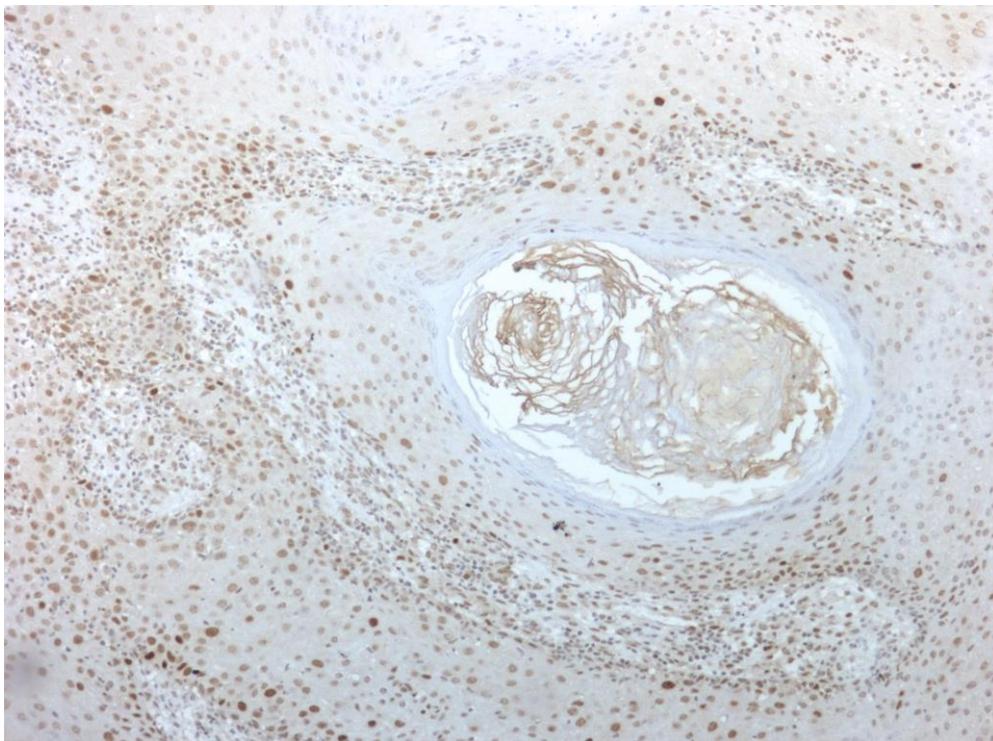


Рисунок 33. Экспрессия p53 в ядрах 10-30% клеток. Себорейный кератоз, акантолический тип. Иммунопероксидазный метод, x100

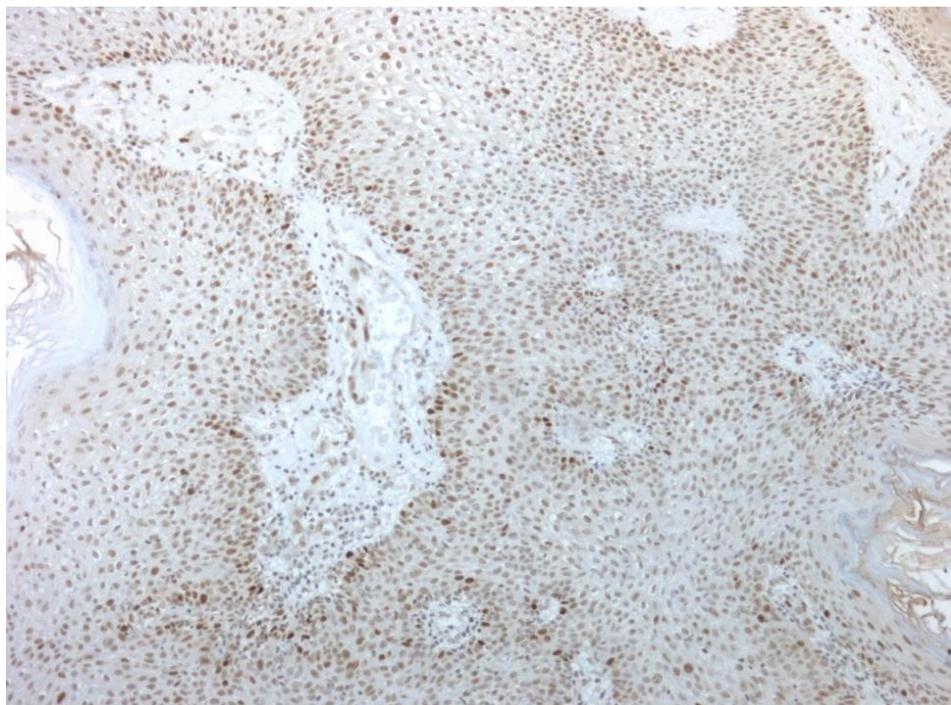
При *аденоидном* типе СК в 21СК (70%) регистрировалась окраска ядер 10% - 30% клеток опухоли умеренной интенсивности, в 5 СК (30%) реакция отсутствовала.

При *клональном* типе в 10 СК (33,3%) регистрировалась слабая экспрессия p53 в 10%-30% клеток опухоли, в остальных 20СК (66,7%) реакция отсутствовала.

При *раздраженном* типе СК в 12СК (40%) экспрессия p53 была интенсивной, в ядрах более 30 % клеток опухоли (рисунки 34 а,б). В 13 СК (43,3%) - в 10% -30% клетках, умеренной степени и ослабевала по мере удаления от базальной мембраны, в 5СК (16,7%) реакция отсутствовала.



а)



б)

Рисунок 34 (а,б). Экспрессия p53 в ядрах более 30% клеток опухоли (гиперэкспрессия). Себорейный кератоз, раздраженный тип.

Иммунопероксидазный метод x100

Была выявлена значимая корреляционная зависимость между экспрессией p53 и гистологическим типом СК ($R=0,42$ при $p=0,000001$). Гиперэкспрессия p53 регистрировалась только при раздраженном типе опухоли, в 40% случаев и не встречалась при других гистологических типах ($p=0,0001, p=0,00001$). Все случаи гиперэкспрессии p53 наблюдались во II группе пациентов. Кроме того, достоверно выше была частота положительной экспрессии p53 в 10-30% клеток опухоли при аденоидном типе по сравнению с акантоическим ($p=0,0002$), клональным ($p=0,0046$) и раздраженным ($p=0,034$) (таблица 25).

Сопоставление с клиническими данными выявило, что при локализации СК на местах, наиболее подверженных УФ излучению (лицо, шея, область декольте) достоверно чаще регистрировалась положительная экспрессия p53, как в виде гиперэкспрессии ($p=0,0003$), так и в 10-30% клеток опухоли ($p=0,00001$) - в 92,1% случаев (58 из 63СК). Тогда как в СК, расположенных на закрытых для УФ излучения местах экспрессия p53 отсутствовала в 88,1% случаев (59 из 67СК). Положительная корреляционная связь была высокозначимой ($R=0,79, p=$

0,000001) (таблица 26).

Таблица 25

**Экспрессия моноклональных антител к p53 при разных
гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах**

p53(экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантогический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
отсутствует	9	64,3	7	36,8+ (0,0182)	15	75,0	5	41,7
10-30% клеток	5	35,7	12	63,2+ (0,0182)	5	25,0	7	58,3
более 30% клеток	-	-	-	-	-	-	-	-
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
отсутствует	21	80,8* ^о (0,00001; 0,0006)	2	18,2	5	50,0* (0,0026)	-	-
10-30% клеток	5	19,2 ^о (0,0006)	9	81,8* (0,0144)	5	50,0	6	33,3
более 30% клеток	-	-* (0,00001)	-	-* (0,0004)	-	-* (0,0006)	12	66,7
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
отсутствует	30	75,0* ^о (0,00001; 0,0002)	9	30,0+ (0,0046)	20	66,7* (0,0001)	5	16,7
10-30% клеток	10	25,0 ^о (0,0002)	21	70,0*+ (0,034; 0,0046)	10	33,3	13	43,3
более 30% клеток	-	-* (0,00001)	-	-* (0,0001)	-	-* (0,0001)	12	40,0

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p)

+достоверные различия по сравнению с клональным типом (p)

°достоверные различия по сравнению с аденоидным типом (p)

Характер экспрессии моноклональных антител к p53 в зависимости от локализации себорейного кератоза у пациентов исследуемых групп

p53 (экспрессия в опухоли)	Локализация СК			
	Без УФ излучения		УФ излучение	
	Абс.	%	Абс.	%
	I группа			
Кол-во СК	38		27	
отсутствует	33	86,8	3	11,1*(0,00001)
10-30% клеток	5	13,2	24	88,9*(0,00001)
более 30% клеток	-	-	-	-
	II группа			
Кол-во СК	29		36	
отсутствует	26	89,7	2	5,6*(0,00001)
10-30% клеток	3	10,3	22	61,1*(0,00001)
более 30% клеток	-	-	12	33,3*(0,0003)
	Всего			
Кол-во СК	67		63	
отсутствует	59	88,1	5	7,9*(0,00001)
10-30% клеток	8	11,9	46	73,0*(0,00001)
более 30% клеток	-	-	12	19,1*(0,0003)

**достоверные различия по сравнению с локализацией без УФ (p)*

Очевидно, что положительная экспрессия p53 в СК индуцируется УФ излучением, вызывающим повреждение ДНК. О том, что идет накопление и стабилизация в ядре дикого типа p53, а не его мутантных форм, говорит отсутствие экспрессии в 49,3% СК и четкая взаимосвязь положительной экспрессии с УФ излучением. Кроме того, гиперэкспрессия p53 (более 30% клеток опухоли) выявлялась только в СК раздраженного типа, с присутствием нейтрофильных лейкоцитов в воспалительном инфильтрате (вероятно вследствие индукции неблагоприятными факторами острой фазы воспаления) и локализованных на местах, подверженных повышенной инсоляции. Возможно, что присутствие у пациента хронической гипергликемии и увеличения количества свободных кислородных радикалов в эпидермисе является дополнительным стимулом для активации p53, однако отсутствие статистических различий в ее

положительной экспрессии между пациентами с нарушениями и отсутствием нарушений углеводного обмена говорит о незначительной роли нарушения углеводного метаболизма в активации p53.

3.2.2.2. Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с мноклональными антителами к p63.

P63- транскрипционный фактор, член семейства белков p53, «страж человеческой репродукции». p63 экспрессируется в эмбриональных клетках, в ядрах базальных клеток различных видов эпителия, выявляется в пролиферирующих клетках эпителия шейки матки, уротелия, пищевода и предстательной железы [13], а также в базальных клетках сальных и потовых желез и не выявляется в клетках с терминальной дифференцировкой. У взрослых транскрипционно-неактивные Δ DN-формы p63 экспрессируются в том числе в стволовых и недифференцированных эпителиальных клетках [238].

P63 активно участвует в поддержании клеточного гомеостаза, в том числе в метаболизме глюкозы и липидов [206].

Положительная реакция с моноклональными антителами к p63 при ИХГ-исследовании регистрировалась в 107 СК (82,3%). Интенсивность окраски ядер клеток варьировала - от выраженной, когда ядра полностью были насыщенного коричневого цвета до слабой, когда центр ядер оставался светлым. При выраженной положительной реакции экспрессия p63 была равномерной, диффузной, более 30% клеток опухоли (гиперэкспрессия) (рисунок 35).

Слабая ядерная окраска клеток СК регистрировалась преимущественно в 10%-30% клеток, расположенных преимущественно в основании опухоли, на дермоэпидермальной границе, с уменьшением положительно окрашенных клеток к вышележащим слоям (рисунок 36). В прилегающем неизмененном эпидермисе при слабой окраске в опухоли или ее отсутствии всегда регистрировалась положительная реакция с моноклональными антителами к p63 в виде слабой по интенсивности окраски ядер клеток базального слоя. При наличии в СК очаговых лимфоцитарно-моноцитарных инфильтратов в строме и нижележащей дерме усиления экспрессии p63 выявлено не было [9].

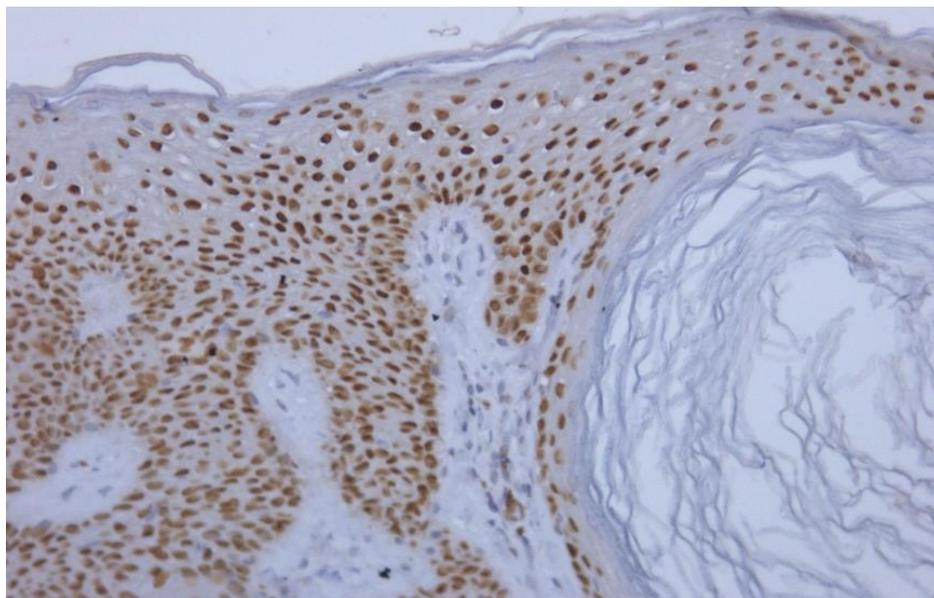


Рисунок 35. Выраженная экспрессия p63, окраска ядер более 30% клеток опухоли (гиперэкспрессия). Себорейный кератоз, акантоический тип. Иммунопероксидазный метод, x200

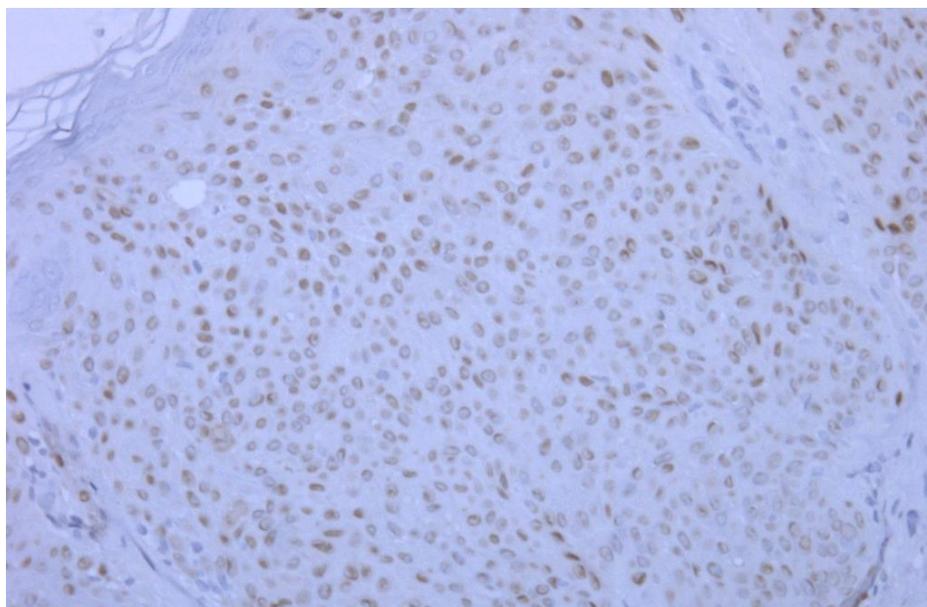


Рисунок 36. Слабая экспрессия p63, окраска ядер 10-30% клеток опухоли. Себорейный кератоз, раздраженный тип. Иммунопероксидазный метод, x200

Слабая корреляционная взаимосвязь экспрессии p63 в СК с возрастом пациентов ($R=0,24$, $p=0,0052$) была выявлена только во II группе: гиперэкспрессия p63 чаще встречалась у лиц после 65 лет. Однако, на наш взгляд, это не свидетельствует о возрастании экспрессии с возрастом, учитывая достоверное преобладание лиц пожилого возраста во II группе. Значимой

корреляции с полом, фототипом, локализацией СК, выявлено не было.

I. Экспрессия моноклональных антител к р63 в исследуемых группах.

В I группе гиперэкспрессия р63 в виде интенсивного окрашивания более 30% клеток опухоли наблюдалась в 19 СК (29,2%). В 28СК (43,1%) регистрировалась слабая окраска 10-30% клеток опухоли. В остальных 18СК реакция отсутствовала (27,7%).

Во II группе гиперэкспрессия р63 присутствовала в 46СК (70,8%), в 14СК (21,5%) регистрировалась слабая экспрессия 10-30% клеток. Отсутствие реакции было выявлено в 5 СК (7,7%).

Были выявлены достоверные межгрупповые различия в экспрессии р63 в виде более частого ее отсутствия в I группе- 27,7% к 7,7% ($p=0,0025$) и преобладания ее гиперэкспрессии во II группе - 70,8% против 29,2% в I группе ($p=0,00001$) (таблица 27).

Таблица 27

Экспрессия моноклональных антител к р63 в исследуемых группах

Показатель		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во СК		65	100	65	100	130	100
Р63 (экспрессия в опухоли)	отсутствует	18	27,7	5	7,7* (0,0025)	23	17,7
	10-30% клеток	28	43,1	14	21,5* (0,007)	42	32,3
	Более 30% клеток	19	29,2	46	70,8* (0,00001)	65	50,0

*достоверные различия между группами (p).

При сопоставлении с клиническими данными была выявлена статистически значимая взаимосвязь экспрессии р63 и нарушений углеводного обмена у пациентов ($R= 0,82$, $p= 0,0000001$). Так, гиперэкспрессия р63 наблюдалась в 89,7% случаях у пациентов с нарушениями углеводного обмена (при СД 2 типа - в 100% случаев, при НТГ - в 70,8%) по сравнению с 6,4% у пациентов без нарушений углеводного обмена ($p=0,00001$). Достоверность различий была

характерна для обеих групп. Кроме того, отсутствие экспрессии р63 в СК встречалось исключительно у пациентов без нарушений метаболизма углеводов - 37,1% ($p=0,00001$) (таблица 28).

Таблица 28

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к р63 с наличием нарушений углеводного обмена у пациентов с себорейным кератозом

р63 (экспрессия в опухоли)	нарушения углеводного обмена			
	нет		есть	
	Абс.	%	Абс.	%
	I группа			
Кол-во пациентов	50		15	
отсутствует	18	36,0	-	-* (0,0036)
10-30% клеток	28	56,0	-	-* (0,00001)
Более 30% клеток	4	8,0	15	100,0* (0,00001)
	II группа			
Кол-во пациентов	12		53	
отсутствует	5	41,7	-	-* (0,0001)
10-30% клеток	7	58,3	7	13,2* (0,0022)
Более 30% клеток	-	-	46	86,8* (0,00001)
	Всего			
Кол-во пациентов	62		68	
отсутствует	23	37,1	-	-* (0,00001)
10-30% клеток	35	56,5	7	10,3* (0,00001)
Более 30% клеток	4	6,4	61	89,7* (0,00001)

*достоверные различия с отсутствием нарушений углеводного обмена (p).

II Экспрессия моноклональных антител к р63 при разных гистологических типах себорейного кератоза.

При *акантолическом типе* в 17 СК (42,5%) была выявлена гиперэкспрессия р63 (рисунок 37), в 12 СК (30%) регистрировалось слабое окрашивание 10- 30% клеток, в остальных 11СК (27,5%) реакция отсутствовала.

При *аденоидном* строении опухоли в 17 СК (56,7%) положительная реакция с моноклональными антителами к р63 была интенсивной, более 30% клеток опухоли (рисунок 37). В 9 СК (30%) реакция была слабой, в 4 СК (13,3%) отсутствовала.

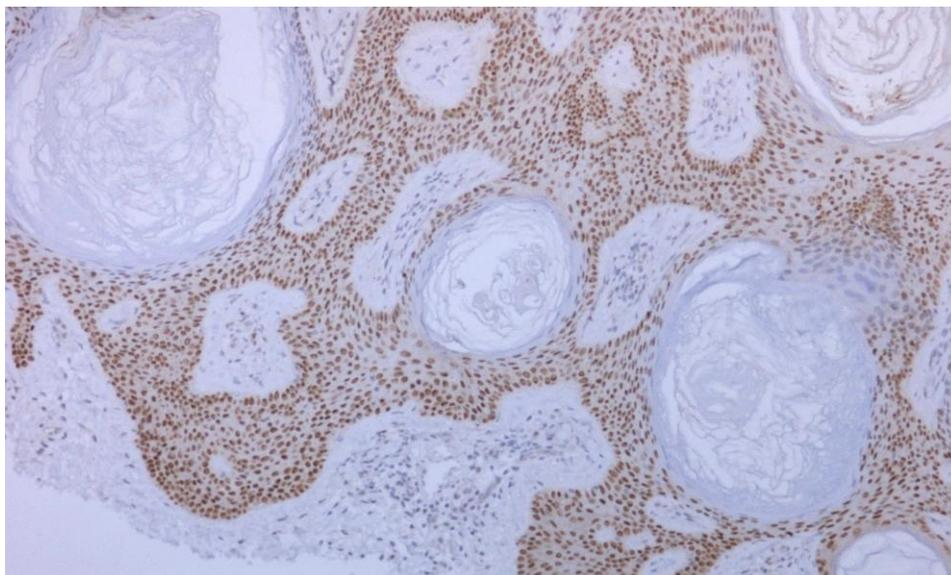


Рисунок 37. Выраженная экспрессия p63, окраска ядер более 30% клеток опухоли. Себорейный кератоз, аденоидный тип. Иммунопероксидазный метод, x100

При клональном типе СК в 12 СК (40%) окраска была интенсивной, более 30% клеток опухоли (рисунок 38). В 11 СК (36,7%) реакция была слабой, в 7 (23,3%) отсутствовала.

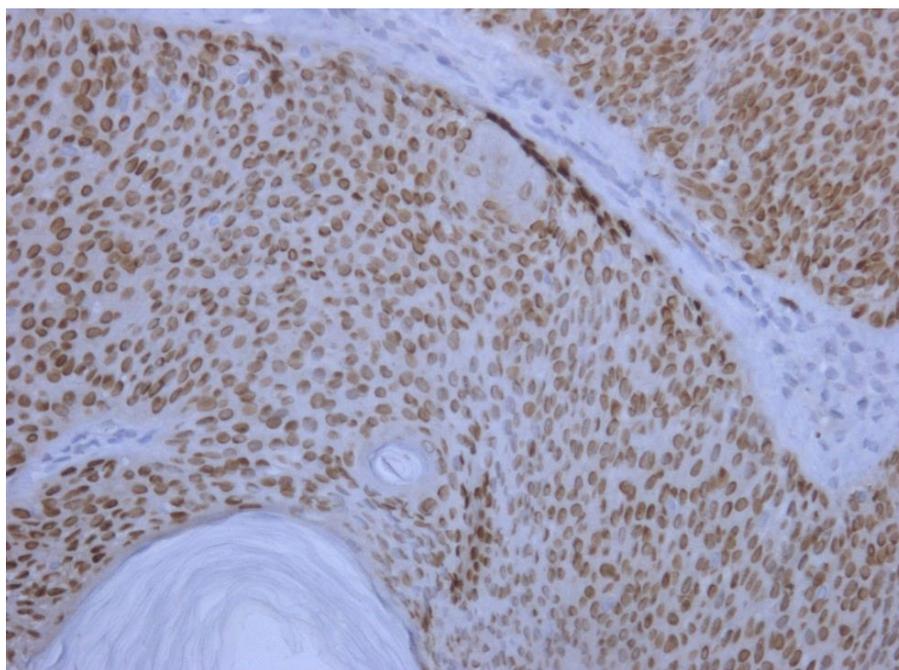


Рисунок 38. Выраженная экспрессия p63, окраска ядер более 30% клеток опухоли. Себорейный кератоз, клональный тип. Иммунопероксидазный метод, x100

При *раздраженном* типе в 19 СК (63,3%) регистрировалась выраженная реакция с моноклональными антителами к p63, в 11СК (36,7%)- слабая, в 10-30% клеток опухоли. Окрашивались **только базалоидные клетки**, в участках с плоскоклеточной дифференцировкой окраски не было.

В отличие от раздраженного типа СК, при котором всегда отмечалась положительная экспрессия p63 в 10-30% или в более 30% клеток опухоли, при акантоотическом и клональном типе чаще регистрировалось отсутствие экспрессии ($p=0,0005$ и $p=0,0053$ соответственно), как и при аденоидном типе, не достигшее статистической значимости (таблица 29).

Таблица 29

Экспрессия моноклональных антител к p63 при разных гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах.

P63 (экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантоотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
отсутствует	7	50,0* (0,0052)	4	21,1	7	35,0* (0,023)	-	-
10-30% клеток	7	50,0	8	42,1	8	40,0	5	41,7
Более 30% клеток	-	-* ^o (0,0012; 0,0118)	7	36,8	5	25,0	7	58,3
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
отсутствует	5	19,2	-	-	-	-	-	-
10-30% клеток	4	15,4	1	9,1	3	30,0	6	33,3
Более 30% клеток	17	65,4	10	90,9	7	70,0	12	66,7
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
отсутствует	12	30,0* (0,0005)	4	13,3	7	23,3* (0,0053)	-	-
10-30% клеток	11	27,5	9	30,0	11	36,7	11	36,7
Более 30% клеток	17	42,5	17	56,7	12	40,0	19	63,3

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p).

^oдостоверные различия по сравнению с аденоидным типом (p).

Если рассматривать только положительную экспрессию в 10-30% клеток или гиперэкспрессию p63, то достоверных различий не было ни для одного гистологического типа, что свидетельствует об отсутствии роли p63 в формировании определенного гистологического типа СК.

В неизмененном эпидермисе экспрессия p63 присутствовала всегда в клетках базального слоя, тогда как при СК экспрессия могла быть от выраженной до минимальной, ниже порога детекции ИГХ- тестами. Важно отметить, что гиперэкспрессия p63 наблюдается преимущественно при базально-клеточной и плоскоклеточной низкодифференцированной карциноме кожи [223], ротоглотки [99], шейки матки [181], легких [148] и свидетельствует о плохом прогнозе заболевания [200]. Однако выявленное в нашем исследовании наличие взаимосвязи экспрессии p63 и нарушений углеводного обмена в обеих группах подтверждает его ведущую роль в регуляции метаболических процессов в клетках СК. Увеличение экспрессии преимущественно транскрипционно-неактивных Δ DN-форм p63, на наш взгляд, происходит компенсаторно, из-за значительного нарушения клеточного гомеостаза и является необходимым фактором стабилизации гликолиза, однако в то же время приводит к снижению дифференцировки клеток и ингибированию апоптоза. Повышение экспрессии именно транскрипционно - неактивных форм p63 в СК было отмечено и в исследованиях Seo EY с соавт. (2012) [254].

Известно, что Δ DN-формы белка p63 могут подавлять транскрипционную активность другого белка семейства - p53 по доминантно-негативному механизму [95]. Их тетрамеры могут конкурировать с p53 за места посадки на ДНК генов-мишеней, а мономеры или димеры - секвестрировать p53 путем связывания его молекул, в результате чего образуются неактивные комплексы [27,262].

Мы провели сравнение экспрессии белков p53 и p63. В I группе не было СК с гиперэкспрессией p53. Так же отсутствие p63 достоверно чаще было отмечено при отсутствии p53 ($p=0,023$), чем при экспрессии p53 в 10-30% клеток. Гиперэкспрессию p63 достоверно чаще регистрировали при экспрессии p53 в 10-30% клеток, чем при отсутствии p53 ($p=0,003$). Во II группе у всех пациентов

гиперэкспрессия p53 сочеталась с гиперэкспрессией p63. При экспрессии p53 в 10-30% клеток или ее отсутствии гиперэкспрессия p63 регистрировалась достоверно реже- 67,9% и 60% соответственно ($p=0,009$, $p=0,025$). Экспрессия p63 в 10-30% клеток достоверно чаще регистрировали при положительной экспрессии p53, чем при ее отсутствии ($p=0,035$) (таблица 30).

Таблица 30

Экспрессия моноклональных антител к p53 и p63 при себорейном кератозе у пациентов в исследуемых группах

p63 (экспрессия в опухоли)		p53					
		отсутствует		10-30% клеток		более 30% клеток	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа	отсутствует	14	38,9	4	13,8* (0,023)	-	-
	10-30% клеток	17	47,2	11	37,9	-	-
	Более 30% клеток	5	13,9	14	48,3* (0,003)	-	-
II группа	отсутствует	5	17,9	-	-	-	-
	10-30% клеток	4	14,2	10	40,0* (0,035)	-	-
	Более 30% клеток	19	67,9	15	60,0	12	100,0*+ (0,025;0,009)
Всего	отсутствует	19	29,7	4	7,4* (0,00001)	-	-
	10-30% клеток	21	32,8	21	38,9	-	-
	Более 30% клеток	24	37,5	29	53,7	12	100,0*+ (0,00001;0,002)

*достоверные различия по сравнению с отсутствием экспрессии p53 (p).

+достоверные различия по сравнению с экспрессией p53 в 10-30% клеток (p).

Без учета групп, гиперэкспрессия p53 всегда сочеталась с гиперэкспрессией p63, что было достоверно чаще, чем при отсутствие экспрессии p53 -37,5% ($p=0,00001$) или экспрессии p53 в 10-30% клеток опухоли -53,7% ($p=0,002$). Так же отсутствие p63 достоверно чаще было отмечено при отсутствии p53 -29,7% ($p=0,023$), чем при экспрессии p53 в 10-30% клеток- 7,4% ($p= 0.00001$).

Таким образом, при положительной экспрессии p63 положительна была и экспрессия p53; если отсутствовала экспрессия одного белка - в большинстве

случаев отсутствовала и другого, что не позволяет говорить о замещении функций, а скорее о нарушении баланса между белками p53 – семейства.

3.2.2.3 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к EGFR

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), крупный гликопротеин, относится к числу рецепторных тирозинкиназ, важных регуляторов клеточной пролиферации и злокачественной трансформации. Среди его лигандов присутствуют эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста-альфа (TGF- α), гепаринсвязанный фактор роста (HBGF), бетацеллюлин и Cripto - 1 фактор. Рецепторы семейства EGFR реализуют, в первую очередь, митогенные эффекты своих лигандов. В нормальных тканях взрослого организма EGF рассматривается как основной регулятор EGFR- сигнального пути [19,30,104,139].

Во всех исследуемых 130 СК отмечалась положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR, статистически значимой ассоциации с возрастом, полом, а также локализацией СК не было выявлено. При анализе ИГХ- препаратов учитывалась только окраска мембран клеток опухоли. При выраженной экспрессии положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR была диффузной, равномерной, более 30% клеток опухоли (гиперэкспрессия). При слабой экспрессии окрашивались мембраны 10-30% клеток опухоли, преимущественно расположенные ближе к дермоэпидермальной границе, с уменьшением интенсивности окраски и количества клеток к роговому слою.

В прилежащем к опухоли неизмененном эпидермисе реакция с моноклональными антителами к EGFR была аналогичной реакции в СК: при слабой экспрессии в опухоли регистрировалось слабое мембранное окрашивание клеток базального слоя эпидермиса, при выраженной экспрессии отмечалась выраженная диффузная окраска всех слоев эпидермиса, вплоть до рогового слоя.

I. Экспрессия моноклональных антител к EGFR в исследуемых группах

В I группе в 20СК (30,8%) экспрессия EGFR была выраженной, диффузной, более 30% клеток опухоли.

Слабая диффузная окраска 10-30% мембран клеток наблюдалась в 45СК (69,2%) (рисунки 39,40).

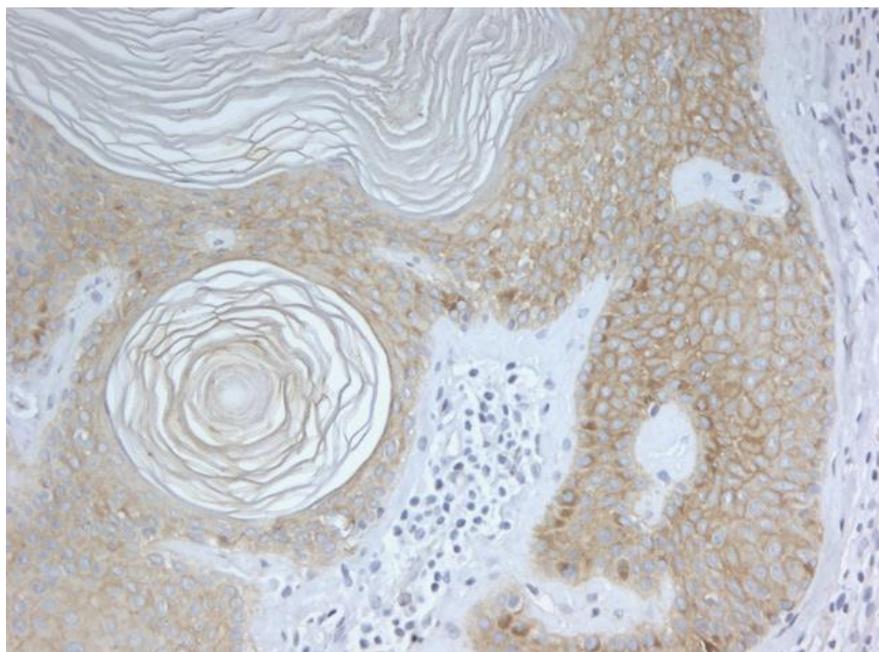


Рисунок 39. Положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR в опухоли, слабая окраска мембран 10-30% клеток. Себорейный кератоз у пациента I группы. Акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, x100

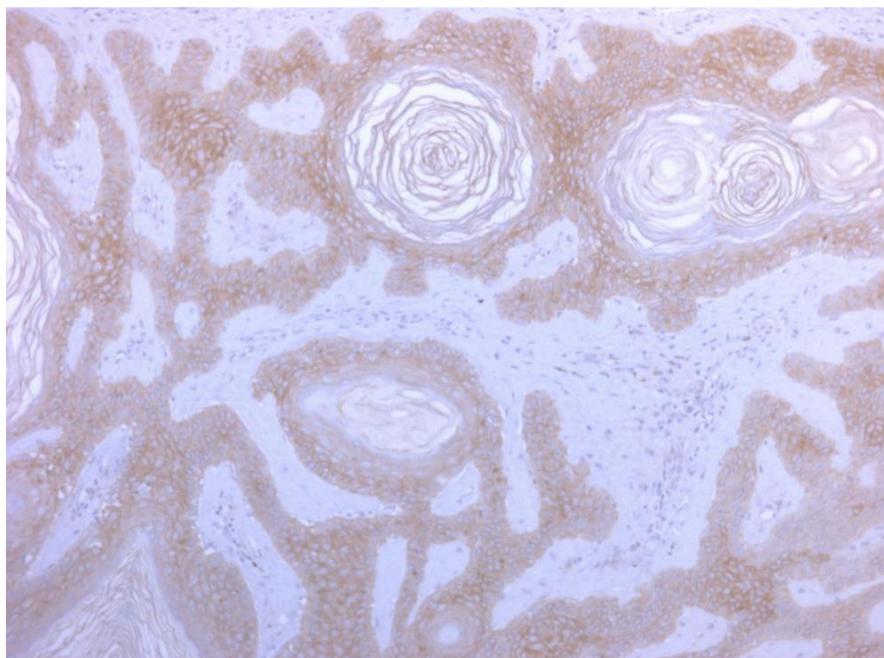


Рисунок 40. Положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR в опухоли, слабая окраска мембран 10-30% клеток. Себорейный кератоз у пациента I группы. Аденоидный тип. Иммунопероксидазный метод x50

Во II группе в 50 СК (76,9%) окраска мембран более 30% клеток СК была интенсивной, диффузной (рисунок 41), в 15 СК (23,1%) наблюдалась слабая экспрессия EGFR только в 10-30% клеток.

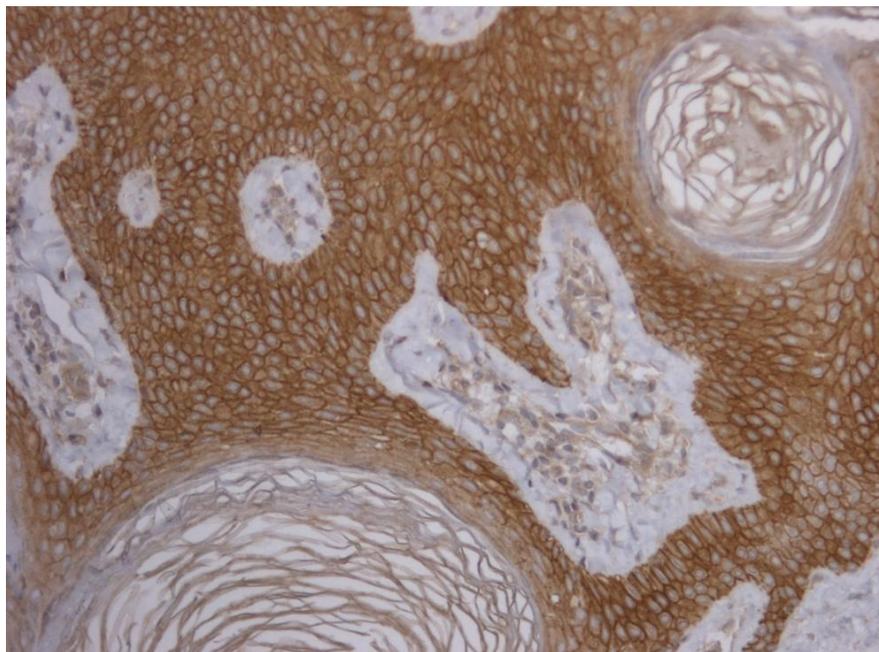


Рисунок 41. Положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR в опухоли, выраженная диффузная окраска мембран более 30% клеток. Себорейный кератоз у пациента II группы. Акантотический тип. Иммунопероксидазный метод x200

Таким образом, были выявлены достоверные межгрупповые различия в экспрессии EGFR: гиперэкспрессия EGFR преобладала у пациентов с множественным СК- 76,9% против 30,8% с единичным СК ($p=0,00001$) (таблица 31).

Таблица 31

Экспрессия моноклональных антител к EGFR в исследуемых группах

Показатель		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во СК		65	100	65	100	130	100
EGFR (экспрессия в опухоли)	10-30% клеток	45	69,2	15	23,1* (0,00001)	60	46,1
	более 30% клеток	20	30,8	50	76,9* (0,00001)	70	53,9

*достоверные различия между группами (p)

При сопоставлении с клиническими данными, была выявлена статистически значимая высокая степень корреляции экспрессии EGFR и наличия нарушений углеводного обмена у пациентов в обеих группах ($R=0,82$, $p=0,0000001$). Так, у лиц с нарушением углеводного обмена (68 пациентов) гиперэкспрессия EGFR наблюдалась в 92,6% случаев (63 пациента), из них у 39/44 с сопутствующим СД2 типа (85,7%) и у всех 24 пациентов с НТГ (100%), тогда как у лиц без нарушений углеводного обмена (62 пациента) - всего в 11,3% случаях (7 пациентов) ($p=0,00001$) (таблица 32).

Таблица 32

Взаимосвязь экспрессии EGFR и наличия у пациентов нарушений углеводного обмена

EGFR (экспрессия в опухоли)	нарушения углеводного обмена			
	нет		есть	
	Абс.	%	Абс.	%
	I группа			
Кол-во пациентов	50		15	
10-30% клеток	45	90,0	-	-* (0,00001)
Более 30% клеток	5	10,0	15	100,0* (0,00001)
	II группа			
Кол-во пациентов	12		53	
10-30% клеток	10	83,3	5	9,4* (0,00001)
Более 30% клеток	2	16,7	48	90,6* (0,00001)
	Всего			
Кол-во пациентов	62		68	
10-30% клеток	55	88,7	5	7,4* (0,00001)
Более 30% клеток	7	11,3	63	92,6* (0,00001)

*достоверные различия с отсутствием нарушений углеводного обмена (p).

II. Экспрессия моноклональных антител к EGFR при разных гистологических типах себорейного кератоза.

При *акантотическом типе* СК выраженное мембранное окрашивание более 30% клеток опухоли встречалось в 25 СК (62,5%) (рисунок 42), при аденоидном - в 20 СК (66,7%), при клональном - в 9 СК (30%), при раздраженном типе - в 16 СК (53,3%). В остальных случаях положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR регистрировалась в 10-30% клеток опухоли, и была слабой по интенсивности.

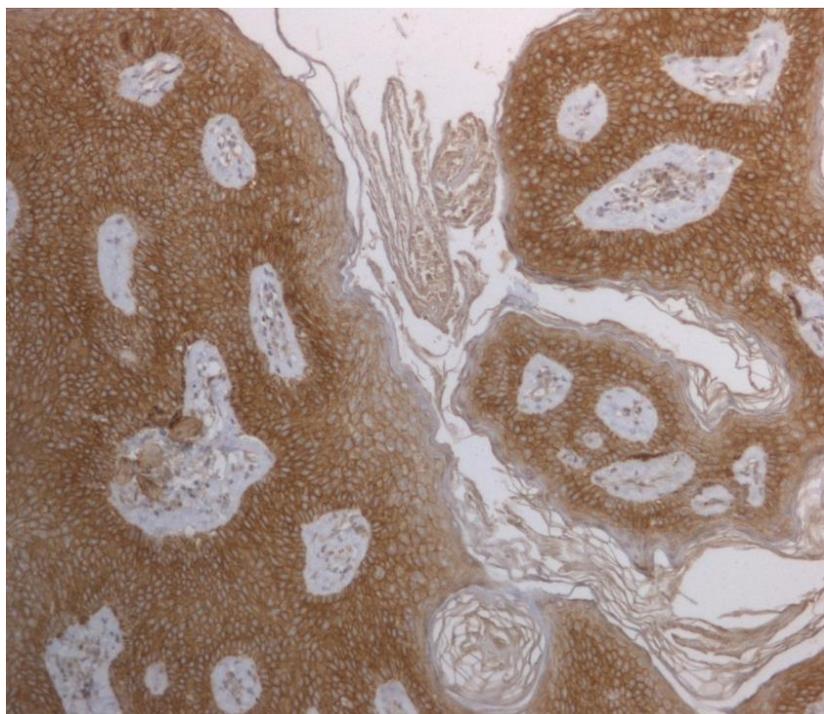


Рисунок 42. Положительная реакция с моноклональными антителами к EGFR. Себорейный кератоз, акантотический тип. Выраженная диффузная окраска мембран более 30% клеток опухоли. Иммунопероксидазный метод x100

Достоверные различия в экспрессии EGFR встречались только во II группе в виде увеличения частоты встречаемости гиперэкспрессии EGFR при аденоидном типе в отличие от клонального ($p=0,012$) и раздраженного ($p=0,04$) и при акантотическом в отличие от клонального ($p=0,046$) (таблица 33).

При всех гистологических типах СК гиперэкспрессия EGFR преобладала у пациентов II группы, что соответствует данным по группам. Корреляционной взаимосвязи между экспрессией EGFR и гистологическим типом выявлено не

было, что свидетельствует об отсутствии его значимого участия при формировании определенных гистологических форм опухоли.

Таблица 33

**Экспрессия EGFR при разных гистологических типах себорейного кератоза
в исследуемых группах**

EGFR (экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантогический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
10-30% клеток	11	78,6	10	52,6	16	80,0	8	66,7
Более 30% клеток	3	21,4	9	47,4	4	20,0	4	33,3
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
10-30% клеток	4	15,4+ (0,046)	-	-*+ (0,04; 0,012)	5	50,0	6	33,3
Более 30% клеток	22	84,6+ (0,046)	11	100,0*+ (0,04; 0,012)	5	50,0	12	66,7
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
10-30% клеток	15	37,5+ (0,0068)	10	33,3+ (0,0046)	21	70,0	14	46,7
Более 30% клеток	25	62,5+ (0,0068)	20	66,7+ (0,0046)	9	30,0	16	53,3

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p).

+достоверные различия по сравнению с клональным типом (p).

Исходя из результатов исследования, мы считаем, что на экспрессию EGFR в СК влияет наличие у пациентов инсулинорезистентности. Об этом свидетельствует также высокая экспрессия EGFR в подлежащем к опухоли неизменном эпидермисе у пациентов с нарушением углеводного обмена и статистически значимая зависимость между экспрессией протеина p63 и EGFR.

Так, гиперэкспрессия EGFR присутствовала при гиперэкспрессии p63 в 86,1% случаев, что достоверно чаще, чем при отсутствии (17,4%) или экспрессии p63 в 10-30% клетках опухоли (23,8%) (p= 0,00001, p=0,00001) (таблица 34).

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к EGFR и p63 при себорейном кератозе у пациентов в исследуемых группах

EGFR (экспрессия в опухоли)		p63 (экспрессия в опухоли)					
		отсутствует		10-30% клеток		более 30% клеток	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа	10-30% клеток	16	88,9	25	89,3	4	21,1*+ (0,00001; 0,00001)
	Более 30% клеток	2	11,1	3	10,7	15	78,9*+ (0,00001; 0,00001)
II группа	10-30% клеток	3	60,0	7	50,0	5	10,9*+ (0,023; 0,004)
	Более 30% клеток	2	40,0	7	50,0	41	89,1*+ (0,023; 0,004)
Всего	10-30% клеток	19	82,6	32	76,2	9	13,9*+ (0,00001; 0,00001)
	Более 30% клеток	4	17,4	10	23,8	56	86,1*+ (0,00001; 0,00001)

*достоверные различия с отсутствием p63 (p).

+достоверные различия с экспрессией p63 10-30% (p).

При инсулинорезистентности развитие гиперинсулинемии приводит к гиперактивации митогенного сигнального пути инсулина и усилению пролиферативного ответа клеток на воздействие факторов роста. Компенсаторно, в организме снижается количество рецепторов инсулина, по данным литературы, почти в 16 раз [11,12], что, в свою очередь, может приводить к увеличению экспрессии других рецепторов факторов роста с тирозинкиназной активностью, в частности EGFR. Учитывая отсутствие по литературным данным мутаций в гене EGFR [117,129] при СК, очевидно, что функциональная активность рецепторов сохранена. Их гиперэкспрессия достоверно чаще регистрируется в опухолях у пациентов с множественными поражениями и нарушениями углеводного обмена, наиболее вероятно - отражая метаболические нарушения в клетках опухолей, приводящих к изменению ответа на действие факторов роста или их синтез.

3.2.2.4. Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p16

Ген p16/INK4 является геном-супрессором опухолевого роста и относится к группе "хранителей клеточного цикла". Его продукт, внутриклеточный белок p16 осуществляет контроль клеточного деления и пролиферации. Он связывается с циклин-зависимыми киназами CDK4 и CDK6 и нарушает их взаимодействие с циклином D1, что ведет к гипофосфорилированию белка pRB и уменьшению экспрессии E2F-зависимых генов. В результате переход клетки из фазы G1 в фазу S блокируется. Таким образом, белок p16 осуществляет контроль разобщения комплекса E2F-Rb, не допуская пролиферации клеток [236,240]. В нормально функционирующих клетках синтез белка p16 сдерживается по механизму обратной связи и, следовательно, концентрация данного белка чрезвычайно мала, что проявляется негативной иммуноцитохимической реакцией [28].

Увеличение количества p16 в тканях происходит с возрастом, и, по данным исследований, происходит не за счет увеличения его синтеза, а в результате уменьшения его деградации. Его гиперэкспрессия является важным звеном в снижении пролиферации клеток при старении [57, 166].

При ИГХ-исследовании положительная реакция с моноклональными антителами к p16 наблюдалась во всех 130 СК в виде цитоплазматического окрашивания более 50% клеток опухоли. Окраска была диффузной, однако неравномерной. Так, при выраженном диффузном окрашивании (гиперэкспрессии) встречались отдельные группы клеток со слабой окраской, или ее отсутствием. На фоне же слабой диффузной окраски также присутствовали единичные очаги более интенсивной реакции (рисунок 43).

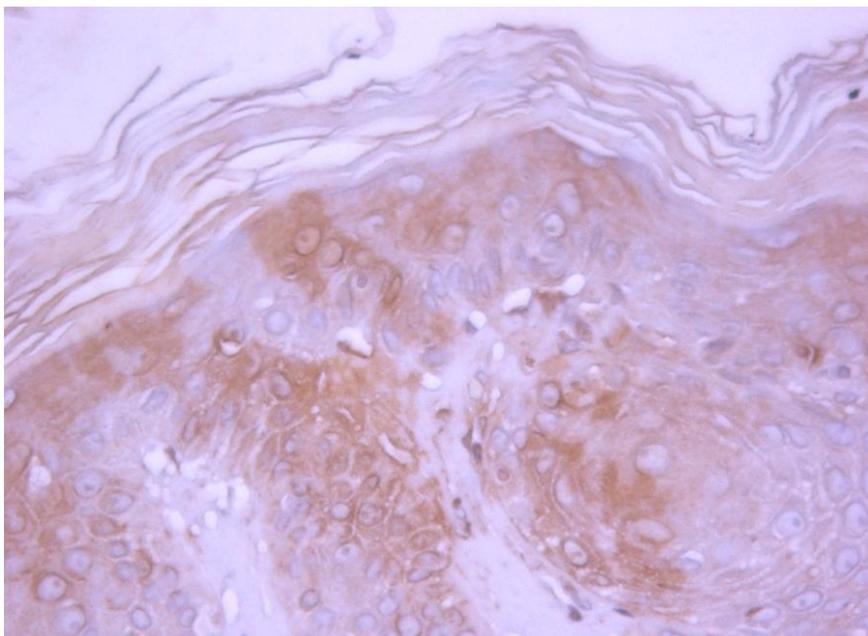


Рисунок 43. Экспрессия моноклональных антител к p16, видны отдельные очаги выраженной цитоплазматической окраски на фоне слабой реакции. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, x400

I. Экспрессия моноклональных антител к p16 в исследуемых группах

У пациентов I группы с единичным СК слабое диффузное окрашивание цитоплазмы клеток опухоли наблюдалось в 51 СК (78,5%) (рисунок 44), выраженное диффузное цитоплазматическое окрашивание отмечалось в 14 СК (21,5%).

У пациентов II группы с множественным СК выраженное диффузное цитоплазматическое окрашивание клеток опухоли отмечалось в 49 СК (75,4%) (рисунок 45). Слабая экспрессия p16 была диффузной в 16 СК (24,6%).

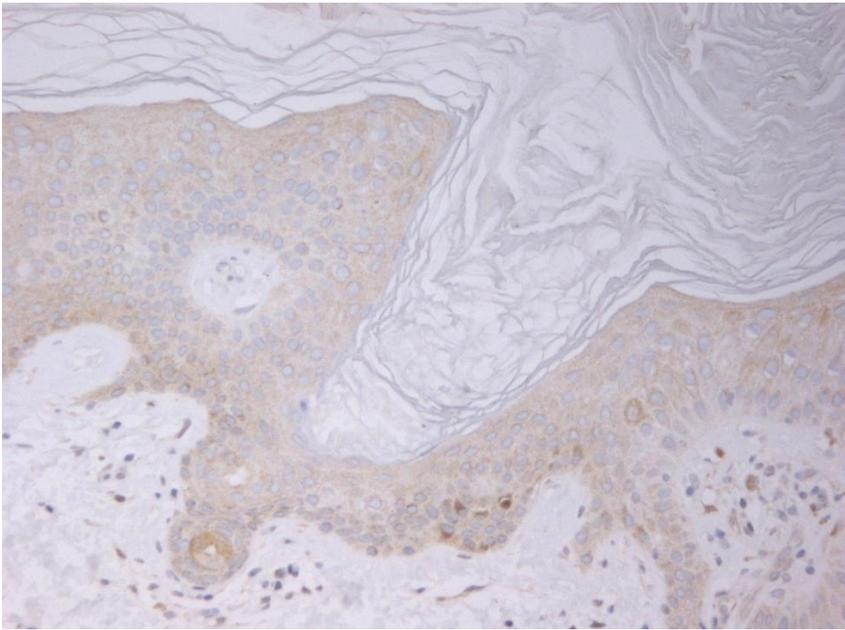


Рисунок 44. Слабая диффузная цитоплазматическая реакция с моноклональными антителами к p16 в клетках опухоли пациента I группы. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод x100

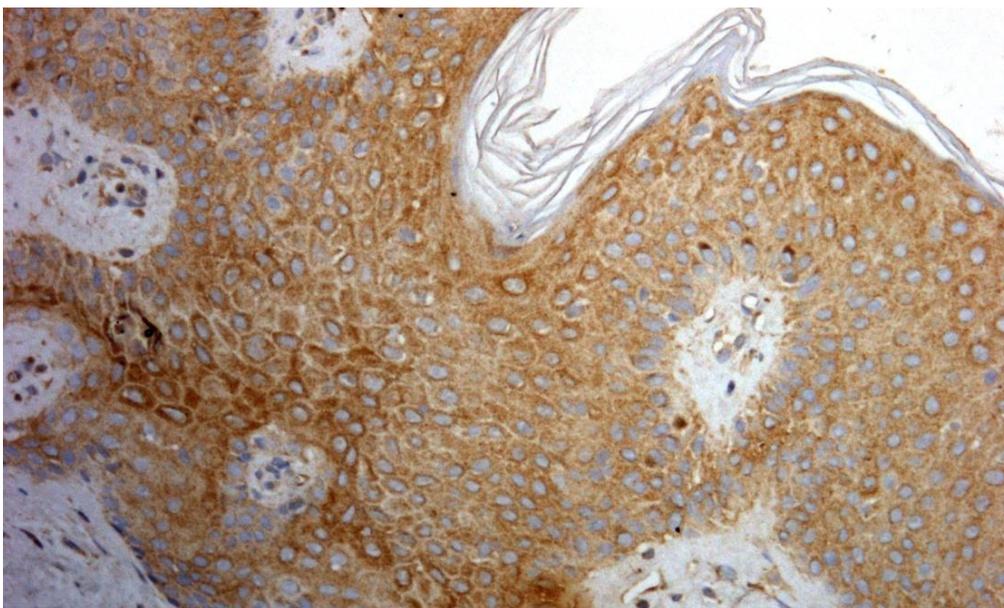


Рисунок 45. Выраженная экспрессия (гиперэкспрессия) p16 в клетках опухоли у пациента у пациента II группы. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод x100

Гиперэкспрессия p16 достоверно преобладала в СК у пациентов II группы- 75,4% к 21,5% соответственно ($p=0,00001$) (таблица 35) [43].

Таблица 35

Экспрессия моноклональных антител к p16 у пациентов в исследуемых группах

Показатель		Группа				Всего	
		I		II			
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК		65	100	65	100	130	100
P16 (экспрессия в опухоли)	Слабая экспрессия	51	78,5	16	24,6* (0,00001)	67	51,5
	Выраженная экспрессия	14	21,5	49	75,4* (0,00001)	63	48,5

*достоверные различия между группами (p).

Корреляционная зависимость экспрессии p16 с возрастом пациентов была крайне слабой ($R=0,21, p=0,019$) и присутствовала только во II группе, где выраженная экспрессия p16 сочеталась с увеличением среднего возраста пациентов ($p=0,034$) (таблица 36).

Таблица 36

Взаимосвязь среднего возраста пациентов исследуемых групп и экспрессии моноклональных антител к p16 при себорейном кератозе

	p16 (экспрессия в опухоли)		p
	Слабая экспрессия	Выраженная экспрессия	
Возраст (годы)			
I группа	62,6±8,4	63,6±7,9	0,695
II группа	61,2±5,4	65,6±7,4	0,034
Всего	62,3±7,8	65,1±7,5	0,035

Однако разная по интенсивности реакция с моноклональными антителами к p16 в СК у пациентов одной группы и одинакового возраста дает основание полагать, что экспрессия p16 является показателем, зависящим не только исключительно от возраста. Об этом так же свидетельствует разница в экспрессии p16 в неизменном эпидермисе, прилегающем к опухоли, у пациентов

одинакового возраста.

У пациентов с сопутствующими нарушениями углеводного обмена (68 человек) достоверно чаще встречалась гиперэкспрессия p16 – в 69,1% случаев (47 пациентов): из них у 36/44 - с СД2 типа (81,8%) и у 11/24 с НТГ (45,8%) в отличие от пациентов без нарушений метаболизма углеводов- 25,8% случаев (16/62) ($p=0,00001$), достигая статистической значимости только в I группе.

Таким образом, на наш взгляд, именно сопутствующий СД 2 типа играет определенную роль в накоплении белка p16 в клетках СК ($R= 0,48$, $p=0,0000001$), тогда как наличие НТГ не является значимым фактором усиления экспрессии.

Таблица 37

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к p16 и нарушений углеводного обмена у пациентов

P16 (экспрессия в опухоли)	нарушения углеводного обмена			
	нет		есть	
	Абс.	%	Абс.	%
	I группа			
Кол-во пациентов	50		15	
Слабая экспрессия	44	88,0	7	46,7* (0,0019)
Выраженная экспрессия	6	12,0	8	53,3* (0,0019)
	II группа			
Кол-во пациентов	12		53	
Слабая экспрессия	2	16,7	14	26,4
Выраженная экспрессия	10	83,3	39	73,6
	Всего			
Кол-во пациентов	62		68	
Слабая экспрессия	46	74,2	21	30,9* (0,00001)
Выраженная экспрессия	16	25,8	47	69,1* (0,00001)

**достоверные различия с отсутствием нарушения углеводного обмена (p).*

На уровень экспрессии p16 оказывало влияние и место локализации СК ($R=0,35$, $p=0,000038$). Так, гиперэкспрессия p16 в опухоли достоверно чаще встречалась в СК, локализованных на местах, подверженных избыточному

влиянию УФ излучения – в 66,7% случаев (42 СК), тогда как слабая экспрессия – только в 31,3% (21СК) ($p=0,0001$). (таблица 38).

Таблица 38

Характер экспрессии моноклональных антител к p16 в зависимости от локализации себорейного кератоза

P16 (экспрессия в опухоли)		Локализация СК			
		Без УФ		УФ излучение	
		Абс.	%	Абс.	%
Всего	Слабая окраска	46	68,7	21	33,3* (0,0001)
	Выраженная окраска	21	31,3	42	66,7

*достоверные различия по сравнению с локализацией без УФ(p)

В литературе достаточно много работ, посвященных влиянию УФ излучения на экспрессию p16, особенно при изучении неизмененного эпидермиса и меланоцитарных новообразований кожи [102, 227].

II. Экспрессия моноклональных антител к p16 при разных гистологических типах себорейного кератоза.

При *акантолическом* типе СК выраженное диффузное цитоплазматическое окрашивание более 50% клеток опухоли с моноклональными антителами к p16 отмечалось в 18 СК (45%), при *клональном* типе - в 9 СК (30%), при *аденоидном* типе - в 13 СК (43,3%), при *раздраженном* типе - в 22СК (73,3%). В остальных случаях регистрировалась слабая диффузная окраска более 50% клеток СК.

Таким образом, гиперэкспрессия p16 регистрировалась при раздраженном типе СК чаще, чем при акантолическом, аденоидном и клональном ($p=0,026$, $p=0,018$, $p=0,0008$), однако при анализе групп достигала статистической значимости только во II группе в сравнении раздраженного типа с акантолическим и клональным. При сравнении акантолического, аденоидного и клонального гистологических типов статистический анализ не выявил достоверных различий в степени выраженности экспрессии p16 в группах (таблица 39).

Гиперэкспрессия p16 преобладала во II группе вне зависимости от гистологического типа опухоли, что свидетельствует об отсутствии значимого влияния p16 на формирование определенного гистологического типа СК и его

роли в развитии множественных поражений.

Таблица 39

Экспрессия моноклональных антител к p16 при разных гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах

P16 (экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантоотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
слабая	12	85,7	15	78,9	16	80,0	8	66,7
выраженная	2	14,3	4	21,1	4	20,0	4	33,3
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
слабая	9	34,6* (0,0044)	2	18,2	5	50,0* (0,0026)	-	-
выраженная	17	65,4* (0,0044)	9	81,8	5	50,0* (0,0026)	18	100,0
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
слабая	21	52,5* (0,026)	17	56,7* (0,018)	21	70,0* (0,0008)	8	26,7
выраженная	19	47,5* (0,026)	13	43,3* (0,018)	9	30,0* (0,0008)	22	73,3

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p).

Надо отметить, что гиперэкспрессия другого белка, p53 в СК в 100% случаев сопровождалась гиперэкспрессией p16. При экспрессии p53 в 10-30% клеток опухоли или ее отсутствии, гиперэкспрессия p16 встречалась достоверно реже - в 57,4% и 31,2% случаев (p=0,003, p=0,00001)(таблица 40).

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к p16 и p53 при себорейном кератозе у пациентов в исследуемых группах

P16 (экспрессия в опухоли)		P53 (экспрессия в опухоли)					
		отсутствует		10-30% клеток		более 30% клеток	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа	слабая	31	86,1	20	69,0	-	-
	выраженная	5	13,9	9	31,0	-	-
II группа	слабая	13	46,4	3	12,0	-	-
	выраженная	15	53,6	22	88,0* (0,007)	12	100,0* (0,003)
Всего	слабая	44	68,8	23	42,6	-	-
	выраженная	20	31,2	31	57,4* (0,004)	12	100,0*+ (0,00001; 0,003)

*достоверные различия с отсутствием p53 (p)

+достоверные различия с экспрессией p53 в 10-30% клеток (p)

Повышенная экспрессия p16 в эпителиальных клетках трактуется разными зарубежными авторами по-своему: рассматривается как маркер прогрессирования опухоли и показатель ее злокачественности [63, 91,97,116,134,212, 276] или в качестве маркера старения клеток на молекулярном уровне, так как значительно увеличивается с возрастом [102,182]. В отличие от неизмененного эпидермиса в СК **всегда** присутствовала экспрессия p16, что свидетельствует о нарушениях регуляции клеточного цикла, приводящих к активации супрессорной активности и ускоренному старению клеток. Это нельзя объяснить только возрастом пациентов: корреляционная зависимость была крайне слабой. Гиперэкспрессия p16 наблюдалась в СК как у лиц 45-50 лет, так и после 75 лет. Необходимо учесть и влияние УФ излучения: преобладание гиперэкспрессии p16 достоверно чаще встречалось в СК, локализованных на открытых для солнечного излучения местах.

Сочетание гиперэкспрессии p16 и гиперэкспрессии p53 при раздраженном типе СК может свидетельствовать об ускоренной дифференцировке клеток опухоли наряду с активацией апоптоза наиболее поврежденных клеток или об

усилении супрессорной активности и остановке клеточного цикла. Это подтверждается как клиническими наблюдениями - отпадением части опухоли в результате воспаления и крайне медленное возобновление роста, так и морфологическими - преобладанием шиповатых клеток над базалоидными.

Наличие гипергликемии так же опосредованно влияет на экспрессию p16. С увеличением возраста отмечено повышение уровня p16 в поджелудочной железе, что снижает функциональную активность β -клеток, их способность реагировать на повреждение, ингибирует пролиферацию [58]. В ходе изучения Krishnamurthy J. с соавт. (2004) экспрессии p16 в органах грызунов, повышенная экспрессия p16, обусловленная возрастом, снижалась при уменьшении калорийности питания, замедляя процесс старения тканей [166]. Нами была выявлена тесная взаимосвязь между экспрессией p16 в СК и экспрессией p63-белка, отвечающего за клеточный метаболизм. Гиперэкспрессия p16 в опухоли присутствовала при гиперэкспрессии p63 в 72,3% случаев, что достоверно чаще, чем при экспрессии p63 в 10-30% клеток (28,6%) или отсутствии (17,4%) ($p=0,00001$). Данная тенденция наблюдалась в обеих группах, достигая статистической значимости в I группе (таблица 41).

При анализе экспрессии p16 и EGFR были выявлены интересные особенности. Так, при множественном СК ни в одном случае не было сочетания в опухоли слабой экспрессии p16 и EGFR, тогда как в I группе, при единичном СК слабая экспрессия p16 сочеталась со слабой экспрессией EGFR в 76,5% случаев. У пациентов с единичным СК гиперэкспрессия EGFR сочеталась с гиперэкспрессией p16 в 57,1% случаев, достоверно чаще, чем со слабой (23,5%) ($p=0,021$), тогда как при множественном СК гиперэкспрессия EGFR была при слабой экспрессии p16 в 100% случаев, что достоверно чаще, чем при выраженной экспрессией p16 (69,4%) ($p=0,008$). Без учета групп отмечалась достоверная тенденция к более частому сочетанию выраженной экспрессии EGFR с выраженной экспрессией p16 (66,7%), чем со слабой экспрессией p16 (41,8%) ($p=0,004$) (таблица 42).

Взаимосвязь экспрессии p16 и p63 при себорейном кератозе в исследуемых группах

P16 (экспрессия в опухоли)		p63 (экспрессия в опухоли)					
		отсутствует		10-30% клеток		более 30% клеток	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1 группа	Слабая экспрессия	17	94,4	24	85,7	10	52,6*+ (0,005; 0,016)
	Выраженная экспрессия	1	5,6	4	14,3	9	47,4
2 группа	Слабая экспрессия	2	40,0	6	42,9	8	17,4
	Выраженная экспрессия	3	60,0	8	57,1	38	82,6
Всего	Слабая экспрессия	19	82,6	30	71,4	18	27,7*+ (0,00001; 0,00001)
	Выраженная экспрессия	4	17,4	12	28,6	47	72,3

*достоверные различия с отсутствием p63 (p)

+достоверные различия с экспрессией p63 10-30% (p)

Таблица 42

Взаимосвязь экспрессии p16 и EGFR при себорейном кератозе в исследуемых группах

EGFR (экспрессия в опухоли)		p16 (экспрессия в опухоли)			
		Слабая экспрессия		Выраженная экспрессия	
		Абс.	%	Абс.	%
I группа	10-30% клеток	39	76,5	6	42,9* (0,021)
	более 30% клеток	12	23,5	8	57,1
II группа	10-30% клеток	-	-	15	30,6* (0,008)
	более 30% клеток	16	100,0	34	69,4* (0,008)
Всего	10-30% клеток	39	58,2	21	33,3* (0,004)
	более 30% клеток	28	41,8	42	66,7

*достоверные различия со слабой экспрессией p16 (p).

Таким образом, обнаруженная в исследовании повышенная экспрессия p16 в СК свидетельствует о старении клеток опухоли, что приводит к снижению выработки факторов роста (EGF, TGF и др), а так же изменению чувствительности кератиноцитов к их воздействию. Количество рецепторов факторов роста на поверхности клеток компенсаторно увеличивается, что, однако, не приводит к увеличению пролиферативной активности клеток СК. У лиц с множественным СК, учитывая сопутствующие нарушения метаболизма, происходит более выраженное и ускоренное старение кератиноцитов, что нашло отражение в наибольшей частоте гиперэкспрессии p16 именно во II группе.

3.2.2.5 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к p27.

p27 (Kip1) - ингибитор циклин-зависимой киназы 1В, продукт гена-супрессора CDKN1В человека, член семейства белков Cip/Kip. Этот белок является одним из регуляторов клеточного цикла, отвечает за его остановку в поздней G1-фазе путем подавления Cdk 2 и их взаимодействия с циклинами А и Е. p27 является ядерно-цитоплазматическим белком. Свои ингибиторные функции он выполняет в ядре, после его перемещения в цитоплазму становится возможным дальнейшее продвижение клетки по циклу. Максимальные его уровни обнаруживаются в клетках в G0 и раннюю G1 фазу и снижаются после митогенного стимула [121, 194].

Экспрессия моноклональных антител к p27 при СК имела свои особенности и не зависела от возраста и пола пациентов.

Во всех 29,2% случаях (38СК) положительной реакции с моноклональными антителами к p27 экспрессия была диффузной, не превышала 10-30% клеток опухоли (рисунок 46), с наибольшей концентрацией положительно окрашенных ядер в верхних отделах опухоли, ближе к роговому слою. Интенсивность окраски была умеренной, ядра клеток окрашивались в светло-коричневый цвет, в том числе окрашивалась ядерная мембрана клеток.

Положительная реакция с моноклональными антителами к p27 регистрировалась также в клетках воспалительного инфильтрата. При отрицательной реакции с моноклональными антителами к p27 в клетках опухоли (92СК) в 23 СК наблюдалась положительная окраска клеток лимфоцитарно-моноцитарных инфильтратов дермы (рисунок 47).

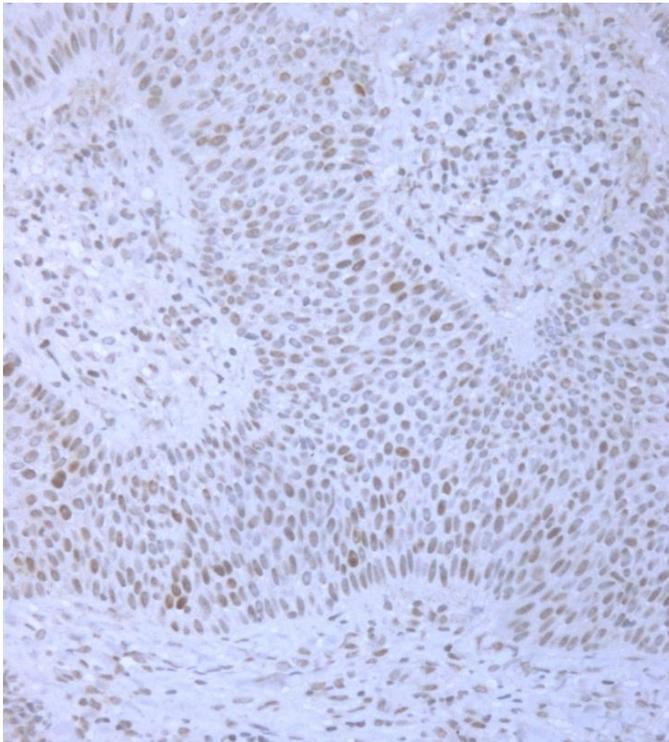


Рисунок 46. Положительная реакция с моноклональными антителами к p27 в 10-30% клеток опухоли. Себорейный кератоз, клональный тип. Иммунопероксидазный метод, x200

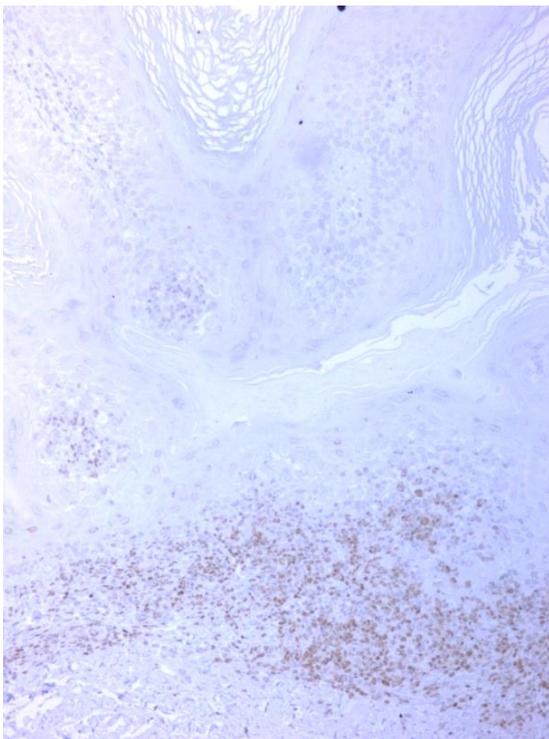


Рисунок 47. Себорейный кератоз, раздраженный тип. Отсутствие реакции с моноклональными антителами к p27 в опухоли и положительная экспрессия в клетках дермального инфильтрата. Иммунопероксидазный метод x100

I. Экспрессия моноклональных антител к p27 в исследуемых группах

В I группе ядерная экспрессия p27 присутствовала в 10-30% клетках опухоли в 18 СК (27,7%) и в 6 СК - только в ядрах клеток стромы опухоли и нижележащей дермы.

Во II группе положительная реакция с моноклональными антителами к p27 регистрировалась в 20 СК (30,8%) в виде окраски 10-30% клеток опухоли и в 17СК - только клеток стромы опухоли.

Межгрупповых различий, статистически значимых, в положительной экспрессии p27 выявлено не было. Однако во II группе достоверно чаще встречалось отсутствие экспрессии в опухоли -43,1% к 63,1% ($p=0,017$) и экспрессия p27 в клетках дермального лимфоцитарно- моноцитарного инфильтрата -26,1% (17СК) к 9,2% (6СК) в I группе ($p=0,01$) (таблица 44).

Таблица 44

Экспрессия моноклональных антител к p27 при себорейном кератозе в исследуемых группах

Показатель		Группа				Всего	
		I		II		Абс.	%
		Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов		65	100	65	100	130	100
P27 (экспрессия в опухоли)	отсутствует	41	63,1	28	43,1* (0,017)	69	53,1
	10-30% клеток	18	27,7	20	30,8	38	29,2
	В клетках стромы и дермы	6	9,2	17	26,1* (0,01)	23	17,7

*достоверные различия между группами (p).

II. Экспрессия моноклональных антител к p27 при разных гистологических типах себорейного кератоза.

При акантоцитическом типе СК экспрессия p27 присутствовала в 3 СК (7,5%) в виде ядерной окраски 10-30% клеток опухоли. В 4 СК экспрессия p27 регистрировалась только в ядрах клеток нижележащей дермы.

При *аденоидном типе* СК в 10СК (33,3%) регистрировалась положительная реакция с моноклональными антителами к p27 и в 8 СК - только в ядрах клеток стромы и нижележащей дермы.

При *клональном типе* СК окраска ядер 10-30% клеток присутствовала в 6СК (20%) (рисунок 47), и в 5 СК - присутствовала только в клетках стромы опухоли.

При *раздраженном типе* СК экспрессия p27 присутствовала в 19СК (63,3%) умеренной степени выраженности, окрашивались ядра, а также ядерные мембраны клеток. Окраска только ядер клеток дермы присутствовала в 6 СК.

Таким образом, положительная экспрессия p27 достоверно чаще встречалась при раздраженном типе СК по сравнению с акантотическим ($p=0,0001$), аденоидным ($p=0,019$) и клональным ($p=0,0007$). В то же время отсутствие экспрессии p27 в опухоли было характерно более для акантотического типа в сравнении с аденоидным ($p=0,0003$) и раздраженным типом СК ($p=0,00001$). Эта тенденция прослеживалась в обеих группах.

Кроме того, во II группе было отмечено преобладание положительной экспрессии p27 при аденоидном и раздраженном типе СК по сравнению с акантотическим и клональным (таблица 45).

Интересно, что окрашивание наблюдалось преимущественно ядерных и цитоплазматических мембран, в то время как целиком ядра клеток были бледными. Подобный характер реакции говорит о возможном выходе белка p27 в цитоплазму клеток.

Экспрессия моноклональных антител к p27 при разных гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах

P27 (экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантоотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
отсутствует	12	85,8	10	52,6	14	70,0	5	41,7* (0,025)
10-30% клеток	1	7,1	4	21,1	6	30,0	7	58,3* (0,007)
В клетках стромы и дермы	1	7,1	5	26,3	0	0,0	0	0,0
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
отсутствует	21	80,8	2	18,2* (0,0006)	5	50,0	0	0,0* (0,00001)
10-30% клеток	2	7,7	6	54,5*+ (0,004; 0,009)	0	0,0	12	66,7*+ (0,0001; 0,0006)
В клетках стромы и дермы	3	11,5	3	27,3	5	50,0* (0,024)	6	33,3
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
отсутствует	33	82,5	12	40,0* (0,0003)	19	63,3	5	16,7* (0,00001)
10-30% клеток	3	7,5	10	33,3	6	20,0	19	63,3*+° (0,0001; 0,0007;0,019)
В клетках стромы и дермы	4	10,0	8	26,7	5	16,7	6	20,0

*достоверные различия с акантоотическим типом (p)

+достоверные различия с клональным типом (p)

°достоверные различия с аденоидным типом (p)

Положительная экспрессия p27 в СК прямо коррелировала с местом локализации опухоли (R=0,81, p=0,0000001): из 61 СК с положительной экспрессией p27 59СК (96,7%) располагались на местах, подверженных

избыточному УФ излучению. Так же прослеживалась взаимосвязь с наличием в опухоли выраженного воспаления ($R=0,57$, $p=0,0000001$), о чем свидетельствует высокий процент (63,3%) положительной экспрессии p27 при раздраженном типе опухоли.

Данные особенности экспрессии были характерны для ранее рассматриваемого маркера, белка p53. При сравнении их экспрессии в СК было выявлено, что положительная экспрессия p27 в клетках опухоли присутствовала при гиперэкспрессии p53 в 100% случаев - достоверно чаще, чем при экспрессии p53 в 10-30% клеток (46,3%) или ее отсутствии (1,6%) ($p=0,0005$ и $p=0,00001$ соответственно). В клетках нижележащей дермы и стромы опухоли положительная реакция с p27 встречалась только при положительной экспрессии p53 в 10-30% клеток опухоли ($p=0,00001$) (таблица 46).

Таким образом, индукция экспрессии p27 происходила в результате активации p53 и являлась одним из механизмов остановки клеток в G0 фазе для устранения повреждений ДНК, связанных с УФ излучением и воздействием других экзогенных факторов. Отсутствие экспрессии p27 в опухоли или положительная окраска ядер единичных клеток могут свидетельствовать об отсутствии необходимости включения «запасного механизма» блокировки клеточного цикла ввиду слабой пролиферативной активности и отсутствия активации p53 [5].

Выявленное в исследовании нарушение экспрессии белка p27 в СК тесно связано с нарушениями других маркеров клеточного цикла, что приводит к изменениям в его регуляции и пролиферативной активности клеток опухоли [4].

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к p27 и p53 при себорейном кератозе в исследуемых группах

p27		p53 (экспрессия в опухоли)					
		отсутствует		10-30% клеток		Более 30% клеток	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа	отсутствует	35	97,2	6	20,7* (0,00001)	-	-
	10-30% клеток	1	2,8	17	58,6* (0,00001)	-	-
	клетки стромы и дермы	-	-	6	20,7* (0,006)	-	-
II группа	отсутствует	28	100,0	-	-* (0,00001)	-	-
	10-30% клеток	-	-	8	32,0* (0,001)	12	100,0*+ (0,00001; 0,0001)
	клетки стромы и дермы	-	-	17	68,0* (0,00001)	-	- + (0,0001)
Всего	отсутствует	63	98,4	6	11,1* (0,00001)	-	-* (0,00001)
	10-30%клеток	1	1,6	25	46,3* (0,00001)	12	100,0*+ (0,00001; 0,0005)
	клетки стромы и дермы	-	-	23	42,6* (0,00001)	-	- + (0,003)

*достоверные различия по сравнению с отсутствием p53 (p)

+достоверные различия по сравнению с экспрессией p53 10-30% (p)

3.2.2.6 Иммуноморфологическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к Ki-67.

Ki-67 является негистоновым ядерным белком и экспрессируется во всех пролиферирующих клетках во время поздних G1, S, M и G2- фазах клеточного цикла. Данный маркер пролиферативной активности клеток эпидермиса отсутствует в покоящихся клетках и в клетках, находящихся в начале G1 фазы [94]. Ki-67- короткоживущий протеин, он разрушается в течении 1,5-2 часов [40] и ассоциируется с синтезом рибосомальной РНК. Поэтому он в отличие от других клеточных цикл-ассоциированных протеинов позволяет судить о пролиферации с большей точностью [13, 80].

При ИГХ - исследовании с моноклональными антителами к Ki-67 была выявлена низкая пролиферативная активность клеток опухоли. Процент пролиферирующих клеток СК находился в пределах от 3,0% до 11,3% (средняя величина $5,6 \pm 2,3\%$). Корреляционной зависимости с полом и возрастом пациентов не было. Экспрессия моноклональных антител к Ki-67 в СК была неравномерной, большинство пролиферирующих клеток локализовались очагово в папилломатозных выростах опухоли, а не в ее основании (рисунок 48).

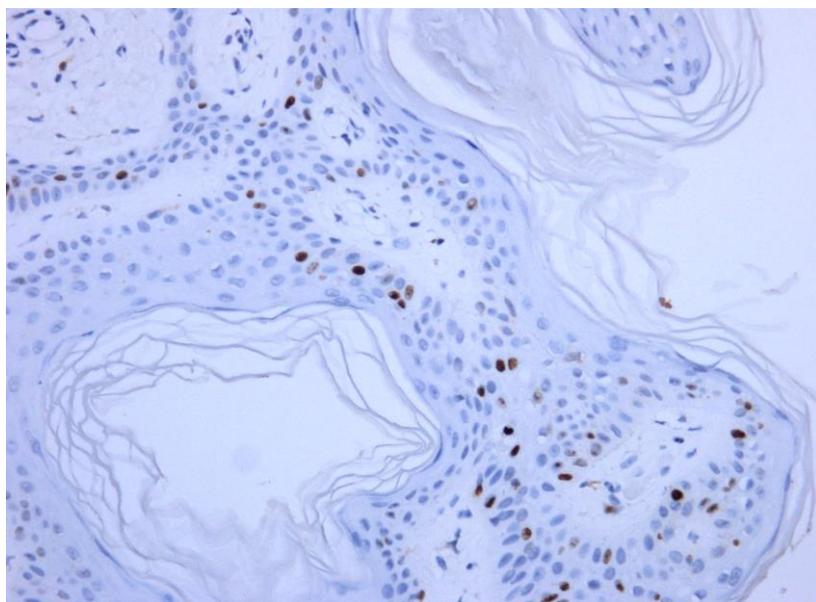


Рисунок 48. Экспрессия Ki-67 в ядрах клеток опухоли. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, x200

В центральной части большинства СК регистрировались редкие, диффузно расположенные положительно окрашенные ядра, не более 3% клеток опухоли (рисунок 49).

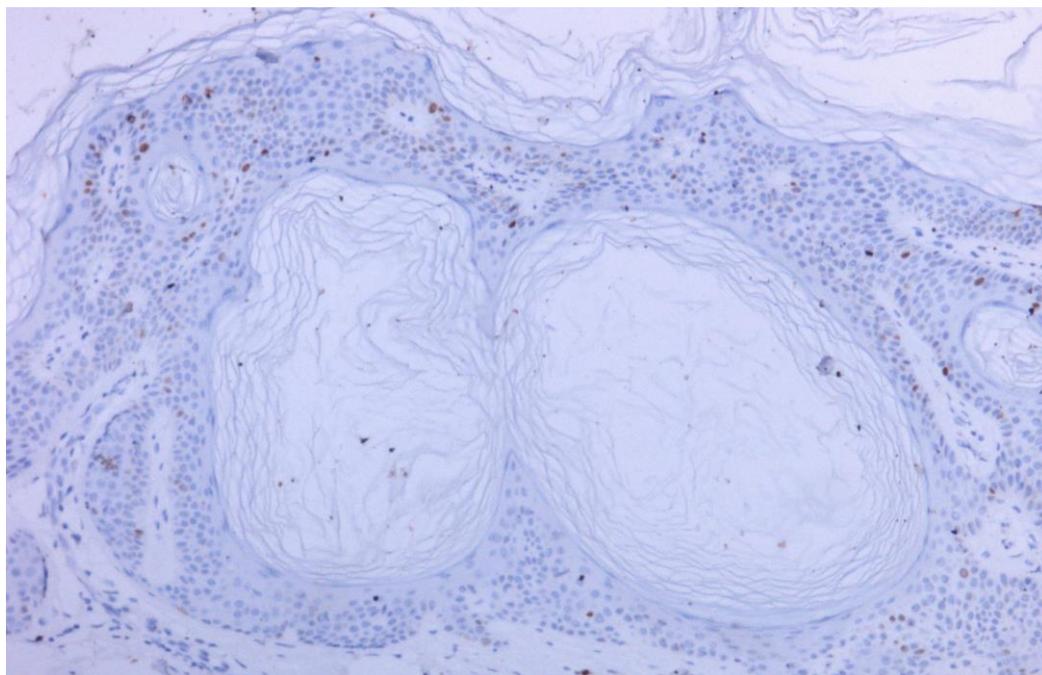


Рисунок 49. Экспрессия Ki-67 в ядрах клеток опухоли. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, $\times 100$

В неизмененном эпидермисе, прилегающем к опухоли, положительная реакция с моноклональными антителами к Ki-67 присутствовала в 7,3 - 9,0% (средняя величина $8,3 \pm 0,8\%$) клетках базального слоя, то есть выше в 1,5 раза, чем в СК ($p=0,023$) (таблица 47).

Таблица 47

Экспрессия моноклональных антител к Ki-67 при себорейном кератозе и в неизмененном эпидермисе в исследуемых группах

Ki-67 (%)	Группа		Всего
	I	II	
Себорейный кератоз (n=130)	$5,2 \pm 1,9 (3,0-9,0)$	$5,9 \pm 2,6 (3,0-11,3)$	$5,6 \pm 2,3 (3,0-11,3)$
Неизмененный эпидермис, прилежащий к опухоли (n=130)	$8,0 \pm 1,0 (7,3-8,7)^*$ (0,047)	$8,5 \pm 0,7 (8,0-9,0)$	$8,3 \pm 0,8 (7,3-9)^*$ (0,023)

($M \pm St.Dev. (min-max)$).

*достоверные различия с себорейным кератозом (p).

Статистически значимых различий при сравнении величины экспрессии Ki-67 между исследуемыми группами выявлено не было.

Нами была выявлена взаимосвязь между экспрессией Ki-67 и гистологическим типом СК ($R=0,65$, $p=0,0000001$). При раздраженном типе СК регистрировался наибольший процент пролиферирующих клеток по сравнению с акантотическим, аденоидным и клональным ($p=0,0000001$), вне зависимости от группы [45]. Причем наименьшая пролиферативная активность была во II группе при акантотическом типе ($3,8\pm 0,8\%$) по сравнению с аденоидным ($p=0,0000002$), клональным ($p=0,0000005$) и раздраженным ($p=0,0000001$) (таблица 48).

Таблица 48

Экспрессия моноклональных антител к Ki-67 при разных гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах

Ki-67 (%)	Гистологический тип							
	Акантотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	89		27		22		12	
Ki-67, %	4,9±2,2* (0,0016)		4,6±1,2* (0,0000001)		5,6±1,9* (0,0007)		8,5±1,8	
	II группа							
Кол-во СК	105		15		12		18	
Ki-67, %	3,8±0,8*+° (0,0000001; 0,0000005; 0,0000002)		5,3±0,5* (0,0000001)		6,3±1,9* (0,0004)		9,3±1,8	
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
Ki-67, %	4,2±1,5*+ (0,0000001; 0,001)		4,6±1,2*+ (0,0000001; 0,027)		5,6±1,9* (0,0000001)		8,5±4,8	

*достоверные различия по сравнению с раздраженным типом (p)

+достоверные различия по сравнению с клональным типом (p)

°достоверные различия по сравнению с аденоидным типом (p)

Таким образом, пролиферативная активность клеток при акантотическом, аденоидном и клональном типе СК была даже ниже, чем в неизмененном эпидермисе, тогда как при раздраженном типе наблюдалось ее увеличение, что вполне объяснимо.

Именно при раздраженном типе в 70% присутствовал диффузный выраженный лимфоцитарно- моноцитарный инфильтрат в опухоли. При проведении анализа между характером воспаления и уровнем Ki-67 была выявлена корреляционная зависимость ($R=0,60$ при $p=0,0000001$). Так, при выраженном воспалении в СК в обеих группах уровень Ki-67 был достоверно выше, чем при умеренном ($p=0,001$) и слабом ($p=0,0000001$). Наименьший процент ($4,0\pm 0,9\%$) пролиферирующих клеток был выявлен при слабом воспалении во II группе ($p=0,0000001$) (таблица 49).

Таблица 49

Взаимосвязь экспрессии Ki-67 и характера воспаления при себорейном кератозе в исследуемых группах

Ki-67, %	Воспаление		
	слабое	умеренное	выраженное
I группа	$4,9\pm 1,9^*$ (0,004)	$5,4\pm 1,9^*$ (0,032)	$7,5\pm 0,7$
II группа	$4,0\pm 0,9^{*+}$ (0,0000001; 0,0000001)	$7,5\pm 1,9^*$ (0,001)	$8,6\pm 2,1$
Всего	$4,5\pm 1,6^{*+}$ (0,0000001; 0,00001)	$6,4\pm 2,2^*$ (0,001)	$8,4\pm 1,9$

*достоверные различия по сравнению с выраженным воспалением (p)
+достоверные различия по сравнению с умеренным воспалением (p)

В исследовании не было выявлено взаимосвязи между уровнем Ki-67 и наличием у пациентов нарушений метаболизма углеводов. Скорее всего, инсулин меняет митотическую активность в нормальных клетках, а опухолевые клетки СК не реагируют в полной степени на сигналы в силу «старения». Этим объясняется и снижение репаративной способности тканей при наличии СД 2 типа у пациентов.

Так же не было найдено значимой корреляции между выраженностью экспрессии EGFR и уровнем экспрессии Ki-67, что свидетельствует об отсутствии участия EGFR в повышении пролиферативной активности клеток СК.

Результаты сравнения экспрессии p16 и уровня пролиферативной активности клеток СК показали, что уровень Ki-67 был достоверно выше при

гиперэкспрессии p16 ($6,7 \pm 2,4\%$), чем при слабой экспрессии p16 ($4,5 \pm 1,7\%$) ($p=0,0000001$), вне зависимости от группы (таблица 50).

Таблица 50

Взаимосвязь экспрессии моноклональных антител к p16 с экспрессией Ki-67 при себорейном кератозе в исследуемых группах

Ki-67, % клеток опухоли	p16 (экспрессия в опухоли)	
	слабая	выраженная
1 группа	$4,7 \pm 1,9$	$6,9 \pm 1,0^* (0,0001)$
2 группа	$3,9 \pm 1,0$	$6,6 \pm 2,6^* (0,0002)$
Всего	$4,5 \pm 1,7$	$6,7 \pm 2,4^* (0,0000001)$

**достоверные различия со слабой экспрессией p16 (p).*

Таким образом, наибольшая пролиферативная активность клеток наблюдалась в нашем исследовании при раздраженном типе СК, сочетаясь с гиперэкспрессией белков p16 и p53. В работах Conscience I. с соавт. (2006), Harvey N. T. с соавт. (2013), Kalegowda IY. С соавт. (2017) при исследовании болезни Боуэна и инвазивного плоскоклеточного рака кожи сочетанная гиперэкспрессия данных маркеров расценивалась как диагностический критерий злокачественной природы новообразования [97,134,156].

Увеличение экспрессии p53 и p16 при раздраженном СК может свидетельствовать об ответном усилении супрессорной активности, принимая во внимание наличие в опухоли выраженного лимфоцитарно-гистиоцитарного инфильтрата и воздействия избыточного УФ излучения. Однако, учитывая повышение пролиферативной активности клеток и описание в литературе клинических случаев малигнизации СК, не исключена возможность злокачественной трансформации именно раздраженного типа СК при дальнейшем влиянии неблагоприятных факторов (травы, УФ излучения, неадекватной терапии).

По результатам проведенного исследования, были выявлены значительные отличия в экспрессии изучаемых белков клеточного цикла при СК от их экспрессии в неизмененном эпидермисе, прилегающим к опухоли (таблица 51).

Сравнение экспрессии исследуемых белков клеточного цикла при себорейном кератозе и в неизмененном эпидермисе

ИГХ-маркеры (белки)	Кол-во СК (%) с положительной экспрессией		Неизмененный эпидермис
	I группа	II группа	
P53	44,6%	56,9%	Экспрессия отсутствует
P63	72,3%	92,3%	Положительная экспрессия только в клетках базального слоя
EGFR	100%	100%	Положительная экспрессия в клетках базального слоя, или расширение экспрессии на все слои эпидермиса
P16	100%	100%	Слабая экспрессия в клетках базального слоя или отсутствует
P27	27,7%	30,8%	Положительная окраска единичных клеток шиповатого и зернистого слоя.

Мы суммировали основные статистически достоверные различия в экспрессии изучаемых белков по группам (диаграммы 1 и 2):

Диаграмма 1. Группа I

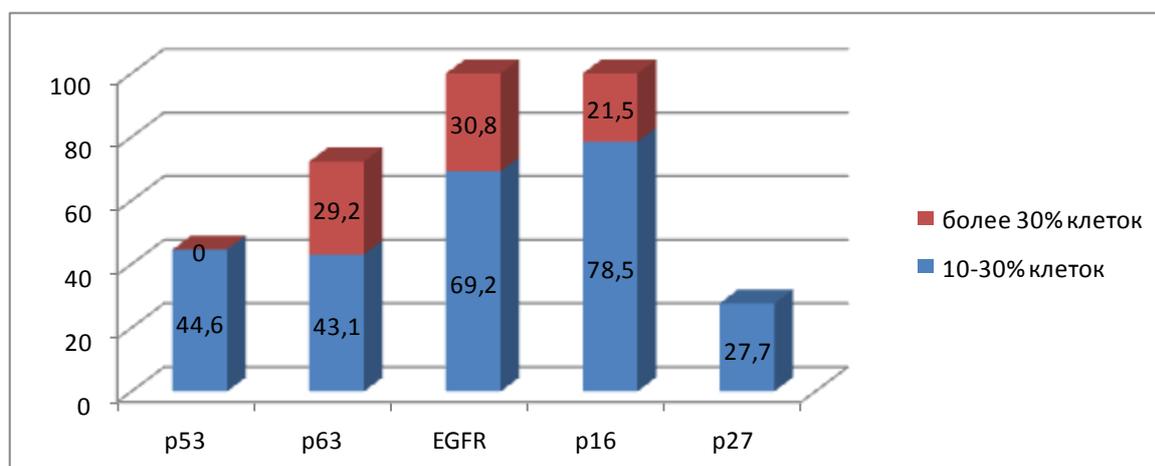
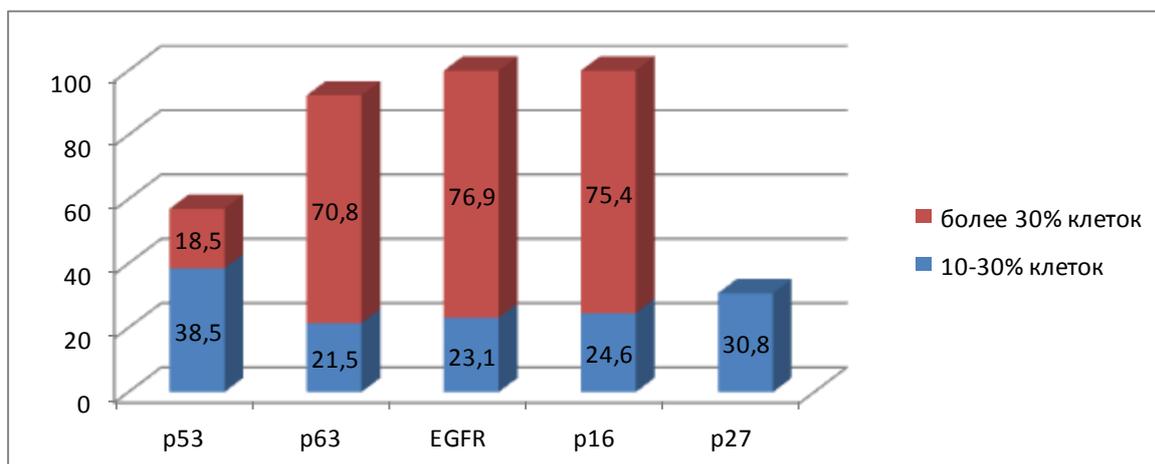


Диаграмма 2 . Группа II



Для единичного себорейного кератоза было характерно:

- отсутствие гиперэкспрессии моноклональных антител к p53;
- слабая экспрессия моноклональных антител к p63 в 43,1% или ее отсутствие – в 27,7% случаев;
- слабая экспрессия моноклональных антител к EGFR -в 69,2% случаев.
- слабая экспрессия моноклональных антител к p63 сочеталась в 85,7% случаев со слабой экспрессией p16 (24/28СК) и в 89,3% случаев со слабой экспрессией EGFR (25/28СК).
- слабая экспрессия моноклональных антител к p16 в 78,5% случаях.

Для множественного себорейного кератоза было характерно:

- наличие гиперэкспрессии моноклональных антител к p53 в 18,5% случаях.
- гиперэкспрессия моноклональных антител к p63 в 70,8% и крайне редкое ее отсутствие -в 7,7% случаев.
- гиперэкспрессия моноклональных антител к EGFR в 76,9% случаев.
- гиперэкспрессия моноклональных антител к p63 в 89,1% случаев сочеталась с гиперэкспрессией EGFR (41/46СК), а так же с гиперэкспрессией p16 в 82,6% случаев (38/46СК).
- гиперэкспрессия моноклональных антител к p16 в 75,4% случаев;

3.2.2.7 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к Melan A

Мелан А (MART-1) - трансмембранный протеин, продукт гена MLANA, является антигеном дифференцировки меланоцитов. Его экспрессию рассматривают в качестве диагностического маркера при меланоме [282], а так же при доброкачественных пигментированных эпителиальных опухолях кожи – преимущественно невусах [137, 201].

При ИХГ- исследовании с моноклональными антителами к Melan A регистрировалась положительная реакция в 0,7% - 5% клеток опухоли (2-15 клеток/на 300 клеток опухоли) (рисунок 50). Они располагались в СК диффузно, неравномерно, преимущественно на дермоэпидермальной границе.

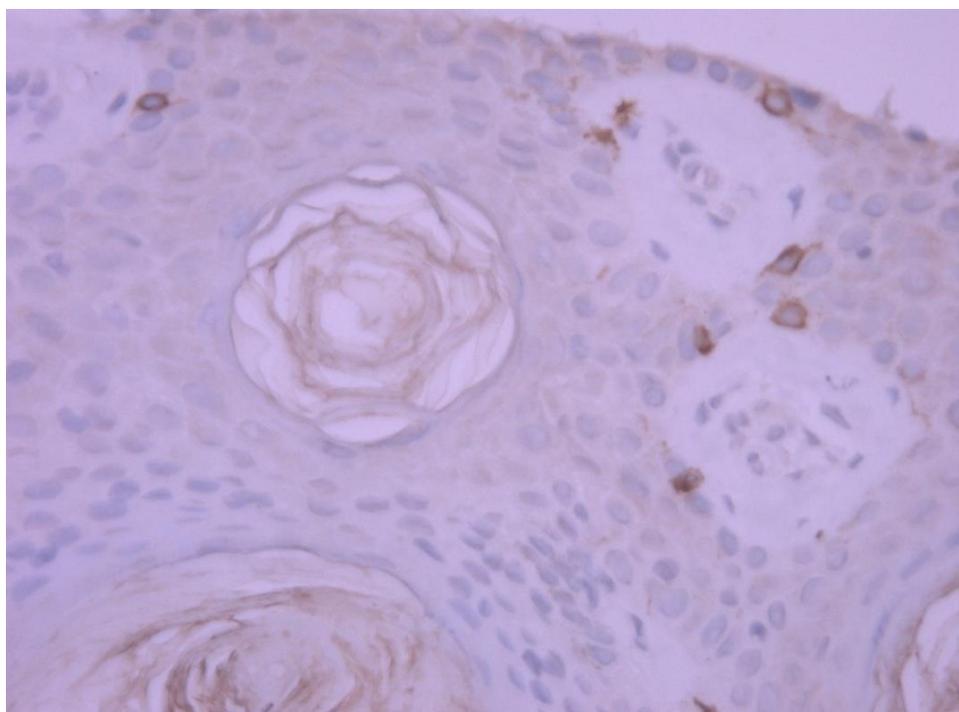


Рисунок 50. Экспрессия моноклональных антител к Melan A. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, x400

В неизмененном эпидермисе, прилежащем к опухоли, положительно окрашивались меланоциты базального слоя - от 10,7% до 14,3% клеток (32-43 клетки). Таким образом, было выявлено статистически значимое снижение

содержания меланоцитов в СК по сравнению с неизменным эпидермисом ($p=0,001$) (таблица 52).

Таблица 52

Экспрессия моноклональных антител к Melan A при себорейном кератозе и в неизменном эпидермисе

Melan A, кол-во клеток	Группа		Всего
	I	II	
Себорейный кератоз (n=130)	2-15(6,1±3,8)	2-14(6,3±3,4)	2-15(6,2±3,6)
Неизмененный эпидермис (n=130)	36-42(39,0±4,2)* (0,000001)	32-43(36,5±9,2)* (0,000001)	32-43(37,8±6,0)* (0,001)

*достоверные различия с себорейным кератозом (p).

(M±St.Dev. (min-max))

I. Экспрессия моноклональных антител к Melan A в исследуемых группах

Для описания экспрессии Melan A мы выделили СК с содержанием менее 3% меланоцитов и от 3% до 5%. Достоверных различий между группами в экспрессии Melan A выявлено не было (таблица 53).

Таблица 53

Экспрессия моноклональных антител к Melan A при себорейном кератозе в исследуемых группах

Melan A (экспрессия в опухоли)	Группа				Всего	
	I		II		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во СК	65	100	65	100	130	100
До 3% клеток	46	70,8	41	63,1	87	66,9
3% -5% клеток	19	29,2	24	36,9	43	33,1

Достоверных различий между группами нет ($p>0,05$)

Не было выявлено и статистически значимой взаимосвязи между количеством меланоцитов в опухоли, возрастом, полом и наличием нарушений углеводного обмена у пациентов.

II. Экспрессия моноклональных антител к Melan A при разных гистологических типах себорейного кератоза

При *акантоотическом типе* СК содержание в опухоли меланоцитов более 3% встречалось в 5 СК (12,5%), при *аденоидном* - в 14 СК (46,7%), при *клональном* - в 9СК (30%) и при *раздраженном типе* - в 15 СК (50%). В остальных случаях количество меланоцитов не превышало 3% клеток опухоли.

Статистический анализ при разных гистологических типах выявил достоверное преобладание экспрессии Melan A в 3-5% клетках опухоли при аденоидном типе ($p=0,015$) в I группе и раздраженном типе во II группе ($p=0,007$) по сравнению с акантоотическим типом, что подтверждалось и при анализе без учета групп (таблица 54).

Таблица 54

Экспрессия моноклональных антител к Melan A при разных гистологических типах себорейного кератоза в исследуемых группах

Melan A (экспрессия в опухоли)	Гистологический тип							
	Акантоотический		Аденоидный		Клональный		Раздраженный	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
	I группа							
Кол-во СК	14		19		20		12	
До 3% клеток	13	92,9	10	52,6* (0,015)	14	70,0	9	75,0
3% -5% клеток	1	7,1	9	47,4* (0,015)	6	30,0	3	25,0
	II группа							
Кол-во СК	26		11		10		18	
До 3% клеток	22	84,6	6	54,6	7	70,0	6	33,3* (0,007)
3% -5% клеток	4	15,4	5	45,4	3	30,0	12	66,7* (0,007)
	Всего							
Кол-во СК	40		30		30		30	
До 3% клеток	35	87,5	16	53,3* (0,0018)	21	70,0	15	50,0* (0,0018)
3% -5% клеток	5	12,5	14	46,7* (0,0007)	9	30,0	15	50,0* (0,007)

*достоверные различия с акантоотическим типом (p)

На наш взгляд, это объясняется тем, что аденоидный и раздраженный гистологические типы СК располагались чаще всего на местах, подверженных

избыточному УФ излучению: на коже лица, шеи и области декольте- 56,7% и 90% соответственно.

Это подтверждает и выявленная прямая корреляционная зависимость экспрессии Melan A в СК от локализации опухоли ($R=0,67$ при $p=0,0000001$).

Так, положительная реакция с моноклональными антителами к Melan A в более 3% клетках опухоли регистрировалась только в СК, локализованных на подверженных УФ излучению участках ($p=0,00001$) (таблица 55). О влиянии УФ излучения на содержание в коже меланоцитов, преимущественно в неизмененном эпидермисе, имеется большое количество исследований [16,107].

Таблица 55

Характер экспрессии моноклональных антител к Melan A в зависимости от локализации себорейного кератоза

Melan A (экспрессия в опухоли)		Локализация опухоли			
		Без УФ излучения		УФ излучение	
		Абс.	%	Абс.	%
Кол-во СК	До 3% клеток	67	100,0	20	31,8* (0,00001)
	3% -5% клеток	0	0,0	43	68,2* (0,00001)

*достоверные различия по сравнению с без УФ (p).

Результаты анализа экспрессии Melan A и характера распределения пигмента в СК показали, что низкое содержание меланоцитов в СК (до 3% клеток) встречалось в 77,4% случаев при II типе пигментации и в 100% - при III типе пигментации. Это достоверно отличалось от содержания меланоцитов при I типе пигментации ($p= 0,032$, $p=0,0003$ соответственно) (рисунки 51,52), при котором в 43,4% содержание меланоцитов было наибольшим (3%- 5 % клеток) (таблица 56). Корреляционная взаимосвязь была отрицательной ($R=-024$ при $p=0,006$).

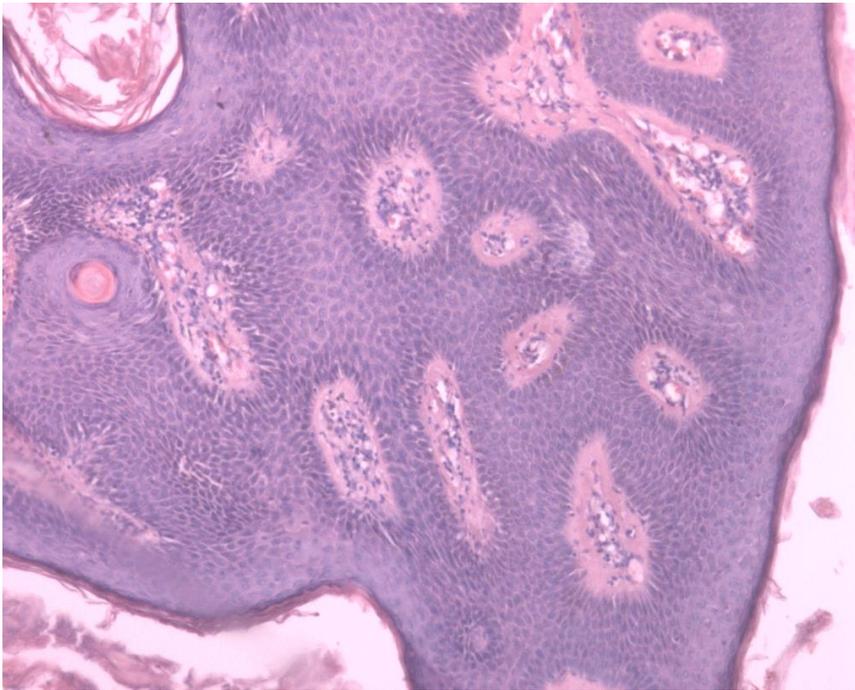


Рисунок 51. Себорейный кератоз, акантотический тип.

I тип пигментации. Гематоксилин и эозин, x100

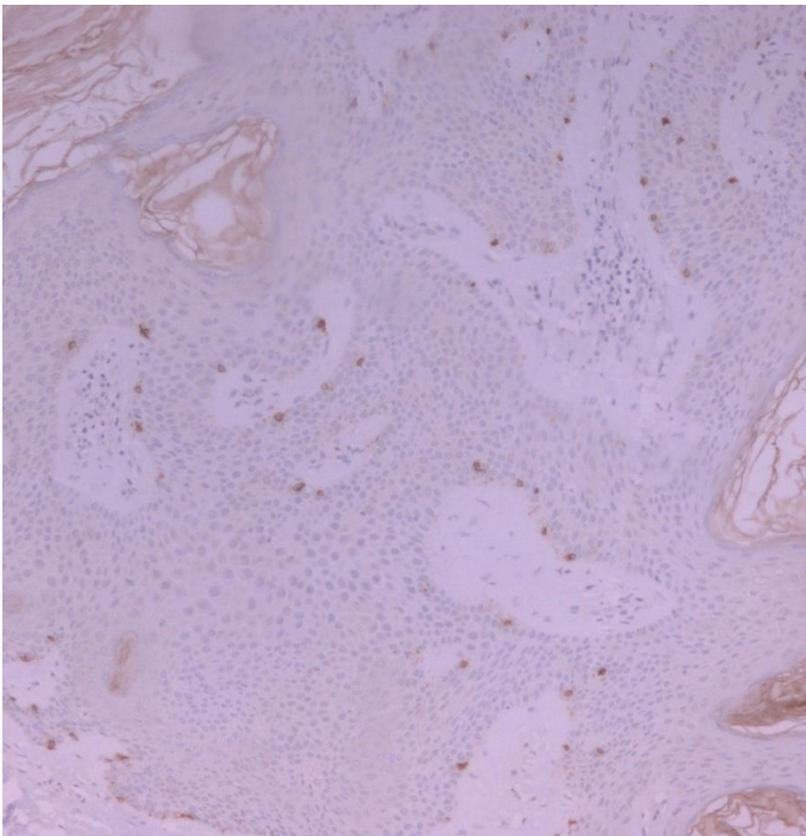


Рисунок 52. Экспрессия моноклональных антител к Melan A. Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод, x100

**Взаимосвязь пигментации и экспрессии моноклональных антител к Melan A
при себорейном кератозе в исследуемых группах**

Melan A (экспрессия в опухоли)		Тип пигментации					
		I		II		III	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
I группа	До 3% клеток	26	57,8	11	100,0* (0,006)	9	100,0* (0,013)
	3% -5% клеток	19	42,2	0	0,0	0	0,0
II группа	До 3% клеток	21	55,3	13	65,0	7	100,0* (0,026)
	3% -5% клеток	17	44,7	7	35,0	0	0,0
Всего	До 3% клеток	47	56,6	24	77,4* (0,032)	16	100,0*+ (0,0003 0,042)
	3% -5% клеток	36	43,4	7	22,6	0	0,0

*достоверные различия с I типом пигментации (p).

+достоверные различия с II типом пигментации (p).

Таким образом, даже учитывая факт снижения содержания меланоцитов с возрастом на 10% с каждой декадой жизни по данным литературных источников, нами выявлено значительное их снижение при СК. Очевидно, на выживание меланоцитов, их дендритность, меланогенез и экспрессию рецепторов на клеточной поверхности выраженное влияние оказывают сигналы от клеток опухоли, как и в нормальном эпидермисе - от кератиноцитов, причем большинство сигналов индуцируется УФ облучением [8, 16,38].

При СК увеличение количества меланоцитов в опухоли, как и локализация на местах, подверженных повышенному УФ излучению, не сопровождалось усилением пигментации. Наоборот, была выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь. Мы считаем, что наиболее вероятной причиной накопления значительного количества пигмента, причем неравномерно распределенного в опухоли, при почти полном отсутствии меланоцитов является его накопление, а не увеличение синтеза, в результате «старения» клеток СК, снижения их функциональной активности, что приводит к нарушениям синтеза и баланса стимуляторов и ингибиторов меланогенеза. Таким образом, характер

пигментации является своеобразным показателем «возраста» СК, что подтверждается и клиническими данными - наиболее пигментированы СК больших размеров со значительным гиперкератозом на поверхности, на закрытых участках туловища [8].

3.2.2.8 Иммуногистохимическое исследование себорейного кератоза с моноклональными антителами к HPV (6,11,18типы).

Клиническое и некоторое морфологическое сходство СК с вульгарными бородавками и аногенитальными кондиломами, а так же наличие данных о выявлении при молекулярно-генетических методах исследования в образцах СК ДНК ВПЧ 6 и 18 типов в настоящий момент не опровергают, но и не утверждают роль ВПЧ в патогенезе опухоли [126,268,300]. Характерной морфологической особенностью новообразований, вызванных ВПЧ, является папилломатоз, акантоз и койлоцитоз [261]. В пролиферирующих клетках базального слоя эпителия происходит репликация ДНК вируса и формируются характерные папилломатозные разрастания [14].

В результате проведенного ИГХ-исследования с моноклональными антителами к наиболее часто встречающимся типам ВПЧ в кожных новообразованиях (HPV 6,11,18) положительная реакция присутствовала в 3 СК (2,3%), в виде единичных, четко окрашенных клеток, расположенных в центральных отделах опухоли, ближе к роговому слою (рисунок 53).

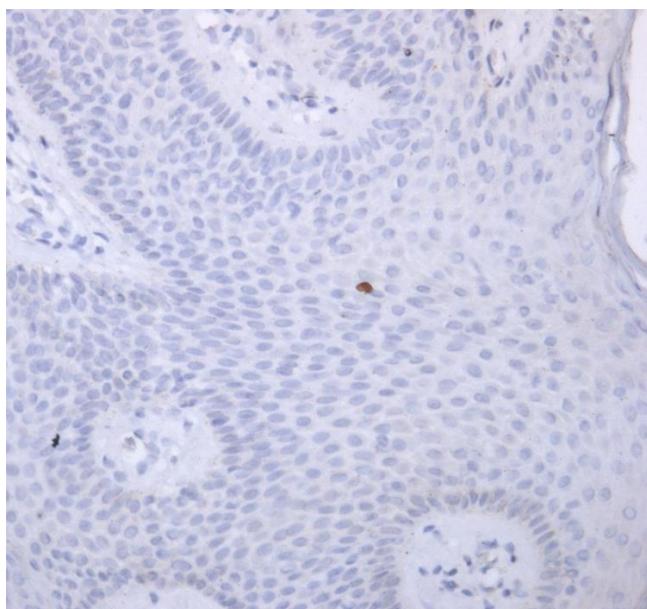


Рисунок 53. Экспрессия моноклональных антител к HPV(6,8,11). Себорейный кератоз, акантотический тип. Иммунопероксидазный метод x100

В остальных случаях реакция отсутствовала. В прилежающим к опухоли неизменном эпидермисе положительная реакция с антителами к HPV отсутствовала.

Таким образом, в нашем исследовании роль в патогенезе СК HPV 6,11,18 типов не подтвердилась, учитывая данные проведенных клинических (отсутствие эффекта от проводимой общей противовирусной и иммуномодулирующей терапии при сопутствующих множественных вульгарных бородавках); гистологических (отсутствие койлоцитоза); ИГХ-исследований.

Присутствие в опухоли ВПЧ может свидетельствовать об активной вирусной инфекции или бессимптомной персистенции. На настоящий момент детекция ВПЧ не может однозначно свидетельствовать о его этиологической роли в развитие некоторых эпителиальных новообразований кожи [25]. Кроме того, вирус может являться нормальным комменсалом кожи с возрастом [109,113].

ГЛАВА 4

КЛИНИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕБОРЕЙНОГО КЕРАТОЗА У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ДИНАМИЧЕСКОМ НАБЛЮДЕНИИ

В процессе динамического наблюдения с 2013 по 2017 год у всех пациентов было отмечено появление новых СК, однако множественные опухоли (более 20СК) возникли у 66 пациентов (22%). Приводим характеристику по группам.

I группа

Появление множественных СК было выявлено у 12 пациентов с преимущественной локализацией на коже живота, в складках под молочными железами, а также на коже лица (лоб, зона роста волос) (рисунки 54,55).

Из них у 9 пациентов был СД 2 тип, у 3 пациентов нарушений углеводного обмена не было выявлено, однако уровень глюкозы постоянно колебался, от 4,2 до 5,6 ммоль/л. Множественные ФП наблюдались у 9 пациентов с локализацией на коже шеи, в подмышечных впадинах и на веках. У 3 пациентов ФП были единичными, с локализацией на коже шеи.

II группа.

Значительное увеличение количества СК наблюдалось у 54 пациентов (рисунки 56,57). Кроме того, отмечался рост предыдущих СК, которые были склонны к слиянию в линейные очаги под молочными железами, в большой складке живота, на лице в области границы роста волос. Множественные СК сочетались с множественными ФП двух и более анатомических областей. У всех 54 пациентов наблюдались нарушения углеводного обмена: СД 2 типа – у 44 пациента, НТГ – у 10 пациентов.

Для пациентов без нарушений углеводного обмена характерно было постепенное появление единичных новых опухолей, преимущественно на коже спины, отмечался умеренный рост имеющихся СК и усиление явлений гиперкератоза опухолей.



Рисунок 54. Пациентка Б. 61г. Единичный элемент себорейного кератоза над левой бровью. Множественные лентиго.



Рисунок 55. Та же пациентка, 64г. Множественный себорейный кератоз на коже лба. Первичный элемент удален (рубцовая атрофия над левой бровью).



Рисунок 56. Пациентка У., 72г, множественный себорейный кератоз, спина. Нарушенная толерантность к глюкозе.



Рисунок 57. Та же пациентка, 76 лет. Появление множественных новых элементов себорейного кератоза на коже спины в виде поверхностных пятен и бляшек, склонных к слиянию. Нарушенная толерантность к глюкозе.

Таким образом, появление множественных новых СК у пациентов было четко взаимосвязано с наличием сопутствующих нарушений углеводного обмена и достоверно чаще встречалось во II группе -36% к 8% в I группе ($p=0,00001$) (таблица 57).

Таблица 57

Частота появления новых множественных элементов себорейного кератоза у пациентов в исследуемых группах

Появление множественных СК	Группа				Всего	
	I		II		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Кол-во пациентов	150	100	150	100	300	100
нет	138	92,0	96	64,0* (0,00001)	234	78,0
да	12	8,0	54	36,0* (0,00001)	66	22,0

* достоверные различия с I группой (*p*).

Появление СК у пациентов с нарушениями углеводного обмена происходило толчкообразно, в течение 5-6 недель в большом количестве, после чего останавливалось на несколько месяцев, что предположительно связано с колебаниями глюкозы крови (гипергликемией и гиперинсулинемией). Были характерны более поверхностные и склонные к слиянию в линейные очаги (тенденция к росту) СК, с поражением крупных складок и наличием множественных ФП в отличие от пациентов без нарушений углеводного обмена.

В ИГХ- исследование вошел операционный материал 37 пациентов, у которых отмечалось прогрессирование процесса в виде появления множественных СК: 8 СК пациентов I группы и 29СК пациентов II группы. При сопоставлении клинических данных у всех пациентов I группы был СД 2 типа, у пациентов II группы- СД 2 типа (21 пациент) и НТГ (8 пациентов). Для пациентов были характерны множественных ФП с распространением в двух и более анатомических зонах и только у 5 пациентов - в одной зоне.

Вне зависимости от группы, во всех СК была выявлена гиперэкспрессия белков p63, p16 и EGFR. Такое сочетание в характере экспрессии данных маркеров не встречалось у пациентов без распространения процесса.

Таким образом, для выявления прогностических факторов, влияющих на появление множественных СК, на первом этапе мы провели корреляционный анализ и выявили факторы, коэффициент корреляции которых $>0,5$ (таблица 58).

Таблица 58

**Факторы, влияющие на прогрессирование себорейного кератоза
(появления множественных новых опухолей)**

Факторы	Коэффициент корреляции	
	R	p
Кол-во ФП	0,61	0,0001
Эндокринные нарушения (СД+НТГ)	0,61	0,0001
Экспрессия p63	0,58	0,0001
Экспрессия EGFR	0,60	0,0001
Экспрессия p16	0,66	0,0001

Далее мы провели многофакторный логистический регрессионный анализ и получили значимую модель (таблица 59). Процент корректных данных составил 93,1% (83-ИО, 38-ИП, 9-ЛП).

Таблица 59

Результаты логистической регрессии

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значим-ти	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Кол-во ФП	-0,112	,365	,095	,758	,894	,437	1,827
Эндокринные нарушения (СД+НТГ)	6,259	1,279	23,936	,000	522,754	42,590	6416,271
Экспрессия p63	-0,344	,625	,302	,583	,709	,208	2,415
Экспрессия EGFR	-3,634	,844	18,545	,000	,026	,005	,138
Экспрессия p16	1,220	,553	4,879	,027	3,389	1,147	10,008

В результате проведенного анализа мы получили формулу для вычисления индекса появления множественных СК:

И: Множ = $-0,112 \cdot \text{Кол-во ФП} + 6,259 \cdot \text{Эндокринные нарушения} - 0,344 \cdot \text{экспрессия p63} - 3,634 \cdot \text{экспрессия EGFR} + 1,22 \cdot \text{экспрессия p16}$

Где:

Кол-во ФП = 1- един, 2-множ в 1 анат. зоне, 3-множ в 2 и более анат. зонах

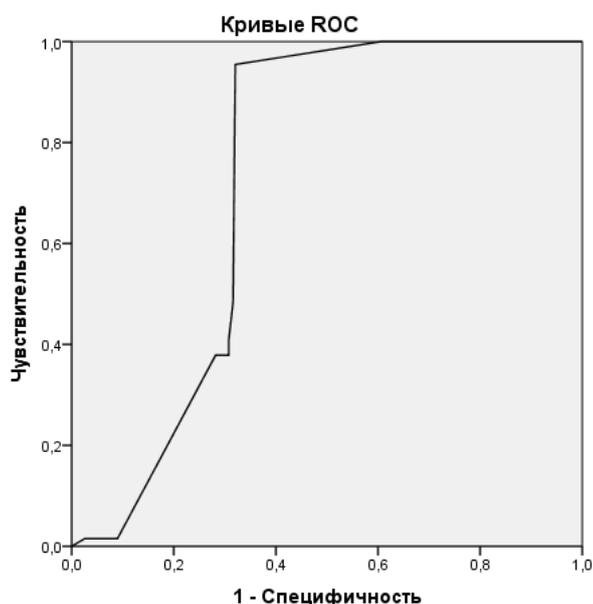
Эндокринные нарушения = 0 нет, 1 есть

p63 0=отсутств, 1=10-30%, 2=более 30% клеток

EGFR 0=отсутств, 1=10-30%, 2=более 30% клеток

p16 0=отсутств, 1=слабая, 2=выраженная

Для анализа прогностической ценности прогноза на основе вычисленного индекса нами была построена ROC-кривая. Площадь под кривой 0,729 ($p=0,0001$, 95% CI = 0,674-0,783).



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

По ROC-кривой мы определили точку отсечения между появлением и отсутствием множественных СК, равной 0, в которой наблюдается оптимальное соотношение чувствительности и специфичности (95,5% и 68,0% соответственно).

При значении индекса менее 0 частота появления множественных СК составила 3/162(1,9%), при значении 0 и более – 63/138(45,7%) ($p=0,00001$). При выборе границы индекса =0 чувствительность составила 95,5%, специфичность

67,9%, точность 74,0%, положительное прогностическое значение 45,7% и отрицательное прогностическое значение 98,1% при прогнозировании появления множественных СК.

Таким образом, проведенный статистический анализ подтвердил результаты клинических и морфологических исследований: наиболее важным прогностическим фактором прогрессирования процесса является наличие у пациентов нарушений углеводного обмена и множественных ФП, а также гиперэкспрессия p16, p63 и EGFR в СК.

С другой стороны, выявление у пациента только множественного СК не может единолично рассматриваться как фактор наличия у пациента нарушений углеводного обмена, несмотря на достоверное преобладание в данной группе пациентов с СД 2 типа и НТГ ($p=0,00001$). При анализе результатов проведенных статистических исследований, была выявлена максимальная связь наличия нарушений углеводного обмена (коэффициент корреляции $>0,5$) с ФП ($R=0,77$ при $p=0,0000001$), а так же уровнем экспрессии белков p63 ($R=0,82$ при $p=0,0000001$) и EGFR ($R=0,82$ при $p=0,0000001$). Связь с p16 ($R=0,43$ при $p=0,0000001$) была несколько ниже, что отражает влияние на экспрессию p16 комплексных факторов, в частности, воздействие избыточного УФ излучения и возраста пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведенного нами исследования показал, что на клиническую картину СК влияют следующие факторы: возраст, наследственность и нарушения углеводного обмена.

В соответствии с классификацией ВОЗ, большинство наших пациентов (69,3%) входили в группу пожилого (60-74 года) и старческого возраста (75-89 лет), что соответствует наибольшей распространенности опухоли в популяции после 50 лет [129, 168,292]. Количество лиц женского пола значительно преобладало- 75,7%. На наш взгляд, это обусловлено не более частым обращением по сравнению с мужчинами, а тем, что скорость процесса старения неодинакова у мужчин и женщин и зависит от гормонального фона организма [83, 270]. Так, снижение продукции эстрогенов в климактерическом периоде у женщин ведет к их дефициту, ухудшению чувствительности тканей к инсулину и ускоренному старению тканей [3, 41]. Это подтверждает и тот факт, что средний возраст мужчин в нашем исследовании был достоверно выше, чем у женщин, и составил 66,1 и 62,7 лет соответственно.

Анализ распределения пациентов позволил предположить аутосомно-доминантный тип наследования заболевания с вариабельной экспрессивностью, особенно в случае множественного СК. Об этом свидетельствует высокий процент (79,9%) наличия у пациентов II группы родственников с множественными очагами поражения в II- III поколениях, отсутствие пропуска поколений, а так же описание семейных случаев множественного СК в литературе [131].

В течение жизни опухоли у одних пациентов оставались единичными, отмечался их медленный рост и увеличение в размерах, у других появились множественные очаги поражения. Это позволило нам разделить пациентов на две группы. В первую группу вошли 150 пациентов с единичным СК (не более 20 опухолей), во вторую группу- 150 пациентов с множественным СК (более 20 опухолей). Спонтанной регрессии СК не наблюдалось ни в одном случае, даже

при воспалении и травме, что говорит об опухолевой природе образования, а не о реактивном процессе. Это находит подтверждение в исследованиях и зарубежных авторов [132, 143]. Клиническое многообразие СК приводило к диагностическим ошибкам, что в нашем исследовании встречалось в 10,8% случаев. Наиболее часто клинически СК имитировали старческие бородавки (53%), вульгарные бородавки (23,5%), внутридермальные невусы, актинический кератоз (по 8,8%) и базальноклеточный рак (5,9%). Высокий процент (до 75,1%) расхождений клинического и морфологического диагнозов в исследованиях других авторов обусловлен имитацией СК не только доброкачественных, но и злокачественных новообразований кожи. Это диктует необходимость подтверждения диагноза СК морфологически во всех случаях, а не только при удалении с мест, подверженных УФ излучению [33, 152, 173, 244].

СК локализовались на любом участке тела, кроме кожи ладоней и подошв, а так же отсутствовали на слизистых оболочках. Крайне редко опухоль встречалась на коже голени (1,7%) и на коже предплечий и тыльной поверхности кистей (1,3%). Случаи расположения СК на слизистых половых органов, на конъюнктиве глаза, описанные в литературе, не нашли подтверждения в нашем исследовании [124, 160]. Мы поддерживаем мнение Li J. и Ackerman A.V. (1994) [175], что новообразования на коже половых органов, клинически сходные с СК и содержащие по данным молекулярно-генетических методов исследования в 53-70% случаев ДНК ВПЧ преимущественно 6,11 и 18 типов [268,300], являются аногенитальными кондиломами (кератотическими бородавками). Об этом свидетельствует крайне редкое обнаружение ДНК ВПЧ в очагах СК экстрагенитальной локализации – от 3,5 до 28,8% [126, 268, 300] или отсутствие ДНК вируса [172, 191].

В проведенном нами ИГХ- исследовании с моноклональными антителами к HPV 6,11,18 типов положительная реакция присутствовала только в 3 СК (2,3%), что не может являться прямым доказательством этиологической роли вируса в развитии опухоли. Об этом свидетельствует и отсутствие характерных гистологических признаков вирусной инфекции, а так же отсутствие регресса

опухолей от проводимой противовирусной терапии пациентам с сопутствующими множественными вульгарными бородавками.

Гендерных различий в расположении и количестве СК не было выявлено, что согласуется с результатами исследований других авторов [244,292,298]. При единичном СК опухоли не имели характерной локализации. При множественных поражениях (среднее кол-во на пациента - 51 опухоль) СК располагались по линиям Лангера, индекс встречаемости в зависимости от области тела составил: область спины, живота, боковых поверхностей туловища-100%, область шеи и декольте - 100%, большая складка живота и складка под молочными железами- 89,3% кожа лица- 90,7%, волосистой части головы- 34,7%, паховые складки и кожа бедер- 14% случаев. Это противоречит данным некоторых авторов о распространенности СК преимущественно на открытых участках, подверженных инсоляции и основной роли УФ излучения в патогенезе заболевания [33,162,168,225,292]. Однако, как показало наше исследование, УФ излучение играет значимую роль в формировании раздраженного гистологического типа СК.

Из сопутствующих новообразований кожи наибольшее значение имели ФП. Множественные ФП (более 5 новообразований) встречались у 166 пациентов (55,3%), причем у 116 (38,7%) локализовались в нескольких анатомических областях - на коже шеи, в подмышечных впадинах, на боковых поверхностях туловища, в паховых и инфрамаммарных складках. По данным литературы, ФП являются маркерами нарушений углеводного обмена. Считается, что основную роль в патологической пролиферации кератиноцитов и фибробластов при ФП играет инсулинорезистентность, которая сопровождается гиперинсулинемией, приводящей к избыточной стимуляции рецепторов инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) [100, 155, 256]. Учитывая данный факт, мы провели исследования углеводного обмена у пациентов. В результате опроса пациентов, анализа амбулаторных карт, проведения трехкратного анализа капиллярной крови натощак с последующей консультацией эндокринолога у 114 (38%) пациентов был выявлен СД 2 типа. Длительность заболевания составляла от двух до восьми лет, у 23 пациентов диагноз СД 2 типа был установлен впервые. НТГ было

впервые выявлено у 45 пациентов (15%). У 141 (47%) пациента не было нарушений углеводного обмена [7]. У пациентов с множественным СК достоверно чаще встречались сопутствующие нарушения углеводного обмена, чем у пациентов с единичным СК (89,3% и 16,7% соответственно) и множественные ФП, расположенные как в одной, так и в двух и более анатомических областях (86,7%), по сравнению с пациентами I группы (24%).

Кроме того, другие сопутствующие новообразования кожи (актинический кератоз, липомы, атеромы) так же достоверно чаще встречались у лиц с множественным СК.

СК и СД 2 типа являются генетически детерминированными заболеваниями и развиваются после 40 лет [12,29,59]. Надо учесть тот факт, что установить начало развития инсулинорезистентности и затем СД 2 типа крайне сложно. Большинству пациентов данный диагноз ставится в результате обращения с другими заболеваниями или во время профилактического осмотра, что подтверждают данные нашего исследования и литературы [34]. Этому способствует медленное нарастание инсулинорезистентности и отсутствие в течение длительного времени симптомов диабета. Однако, как показало динамическое наблюдение за пациентами и результаты проведенного многофакторного регрессионного анализа, именно наличие нарушений углеводного обмена и множественных ФП является факторами риска появления множественных очагов СК. Кроме того, нарушения углеводного обмена оказывают значимое влияние на клиническую картину заболевания. У пациентов с множественным СК, имеющих сопутствующие СД 2 типа и НТГ, поражались крупные складки кожи, в которых опухоли были преимущественно плоскими, с крошащейся поверхностью и сливались в сплошной линейный очаг. Наименьшее количество очагов поражения было на коже спины - в виде отдельных СК, расположенных преимущественно в верхней трети спины. Поражение кожи лица и волосистой части головы не было характерно. Множественные СК по краю роста волос, на щеках и в височной области встречались только у пациентов старческого возраста (75-78 лет). У пациентов без нарушений углеводного

обмена поражение складок не встречалось, множественные очаги СК располагались достаточно равномерно на коже живота, спины, боковых поверхностей туловища. Всегда поражалась кожа лица, в виде множественных, отдельно расположенных СК, умеренно пигментированных. На коже спины опухоли располагались в виде «елочки» или «капель дождя» вдоль позвоночного столба или в виде отдельных, крупных, не склонных к слиянию СК. ФП полипы были единичными, преимущественно на коже шеи или веках.

У всех пациентов количество опухолей увеличивалось с возрастом, однако более 20 очагов СК в наблюдаемый 4-летний период появилось только у 66 пациентов (22%), из которых 95,5% были с сопутствующими нарушениями углеводного обмена. У них опухоли появлялись толчкообразно, в течение 5-6 недель в большом количестве, после чего появление новых очагов останавливалось на несколько месяцев, что предположительно связано с колебаниями глюкозы крови (гипергликемией и гиперинсулинемией). Кроме того, отмечался рост существующих очагов СК, которые были склонны к слиянию в линейные очаги под молочными железами, в большой складке живота, на лице в области границы роста волос. Для пациентов без нарушений углеводного обмена характерно было появление новых опухолей постепенно, преимущественно на коже спины и живота, отмечался умеренный рост имеющихся очагов СК и усиление явлений гиперкератоза опухолей.

Таким образом, характер развития (рост, локализация) СК у лиц с и без нарушений углеводного обмена протекали по-разному, что указывает на роль инсулинорезистентности в патогенезе заболевания. Постепенное, в течение нескольких лет ухудшение чувствительности тканей к глюкозе, наряду с хронической гипергликемией является важным фактором в изменении баланса между пролиферацией и дифференцировкой клеток. Об этом свидетельствует и намного чаще выявляемая сопутствующая кожная патология у лиц с множественным СК и нарушениями углеводного обмена.

Учитывая тот факт, что появление множественных СК в короткий промежуток времени в литературе трактуется почти исключительно как

паранеопластический процесс (синдром Лезера- Трела) [135,232], выявленные нами особенности клинической картины СК и их взаимосвязь с нарушениями углеводного обмена при отсутствии онкологической патологии у пациентов позволит врачам разных специальностей заподозрить развитие инсулинорезистентности и СД 2 типа у пациентов. Важно так же учитывать наличие в анамнезе у пациентов с СК гипертонической болезни и нарушений липидного обмена.

Мы так же разработали клиническую классификацию заболевания:

1. Единичный себорейный кератоз
2. Множественный себорейный кератоз с инсулинорезистентностью.
3. Множественный себорейный кератоз без инсулинорезистентности.

При проведение гистологического исследования были выделены только четыре типа СК: акантотический, аденоидный, клональный и раздраженный. Наличие воспаления и гиперкератоза в опухоли не являются основанием для выделения отдельных гистологических форм заболевания - гиперкератотической и воспаленной, так как данные морфологические особенности встречаются всегда, разной степени выраженности. Основным признаком именно СК является наличие базалоидных клеток, поэтому описываемые в литературе штукатурный кератоз, мягкие фибромы, инвертирующий фолликулярный кератоз, при которых базалоидность клеток отсутствует или выражена крайне слабо на границе опухоли [16,107, 144, 162] как типы СК, таковыми не могут считаться. В большинстве исследуемых СК при серийных срезах встречались характерные особенности нескольких типов, что подчеркивает их единую природу. Чаще всего при аденоидном типе СК имелись участки акантотического типа, при клональном типе - акантотического и раздраженного (в виде единичных очагов плоскоклеточной дифференцировки), при раздраженном – акантотического или аденоидного [44]. Акантотический тип СК был наиболее распространенным (64,7%), что совпадает с данными литературы [127, 244]. Аденоидный тип составил -14%, клональный- 11,3% и раздраженный - 10%.

В СК всегда присутствовал лимфоцитарно-моноцитарный инфильтрат в

нижележащей дерме и строме опухоли разной степени выраженности. Для 227СК (75,7%) были характерны скудные периваскулярные инфильтраты в строме опухоли и единичные очаги в нижележащей дерме; более выраженная воспалительная реакция в виде периваскулярных и очаговых (более 2 очагов в дерме) встречалась в 47 СК (15,7%), и только в 26 СК (8,7%) наблюдался выраженный диффузный воспалительный лимфоцитарно-моноцитарный инфильтрат вплоть до сетчатого слоя дермы [44]. Известно, что воспаление играет значительную роль в канцерогенезе, стимулируя опухолеобразование и прогрессию [221]. Так, имеются убедительные клинические и экспериментальные доказательства того, что макрофаги способствуют злокачественной трансформации опухоли. Во время ее инициации они создают воспалительную среду, которая является мутагенной и способствует росту [234]. Как при макровоспалении, так и при микровоспалении в коже появляются свободные радикалы, которые повреждают фосфолипидные мембраны клеток и ДНК [22,26, 53]. Интенсивное и длительное по времени воздействие стрессовых факторов значительно увеличивает вероятность развития хронического многоочагового микровоспаления, которое ведет к необратимому повреждению структур дермы, нарушению кровообращения, питания клеток и возникновению гиперпигментации [98,174].

В нашем исследовании выраженность воспаления в опухоли зависела от ее локализации. Так, диффузный лимфоцитарно-гистиоцитарный инфильтрат чаще встречался при раздраженном типе СК (70%), который в 90% случаев регистрировался на коже наиболее подверженных УФ излучению мест – на лице, шее и области декольте. Слабое воспаление в 88,7% встречалось при акантолическом типе СК, который являлся наиболее распространенным гистологическим типом на местах, менее подверженных УФ излучению - коже нижней трети спины, живота и боковых поверхностях туловища (75,9%). Умеренное воспаление в отличие от раздраженного и акантолического типа чаще встречалось при аденоидном типе СК (28,6%) и клональном (32,3%), которые значительно реже (20,2% и 10,1% соответственно) встречались на подверженных

УФ излучению местах. Таким образом, утверждения о том, что аденоидный тип встречается исключительно на подверженных избыточному УФ излучению местах [130, 244] не нашли подтверждения в нашем исследовании.

Присутствие нейтрофильных лейкоцитов наблюдалось преимущественно в СК раздраженного типа с выраженным воспалением, а так же при других гистологических типах СК с умеренной и выраженной степенью воспаления, в которых отмечалось формирование отдельных очагов плоскоклеточной дифференцировки. Все рассматриваемые СК были удалены с мест, подверженных УФ излучению, что позволило нам сделать предположение о роли воспалительной реакции с наличием нейтрофильных лейкоцитов и УФ излучения в формировании раздраженного типа СК. О роли экзогенных факторов в развитии раздраженного СК имеются данные и в литературе [107]. УФ излучение является причиной истощения клеточных и ферментативных антиоксидантов [39,222], кроме того, включает прямое воздействие на кератиноциты, приводя к индукции интерлейкинов IL-1 α , IL-6 и ФНО- α , и к инфильтрации кожи фагоцитами [46]. Увеличение уровня медиаторов воспаления (гистамина, лейкотриенов) и простагландинов приводит к увеличению проницаемости капилляров, активации нейтрофилов и других фагоцитирующих клеток в коже. Они, в свою очередь, являются продуцентами активных форм кислорода, что способствует оксидативному повреждению ДНК и активации транскрипционных факторов [198]. По данным нашего исследования, реакция с моноклональными антителами к «стражу генома», важнейшему транскрипционному фактору белку p53, была положительна только в 50,7% СК, преимущественно в 10-30% клетках опухоли. Только при раздраженном гистологическом типе у лиц с множественным СК в 40% случаев регистрировалась гиперэкспрессия p53 в виде окраски более 30% клеток опухоли. В 92,1% случаев положительная экспрессия p53 в СК встречалась при локализации опухоли на местах, подверженных постоянной инсоляции и только в 11,9%- на закрытых для УФ излучения участках, а так же при наличии в СК умеренного и выраженного лимфоцитарно- моноцитарного инфильтрата.

В настоящее время процесс индукции p53 при повреждениях ДНК в результате воздействия ультрафиолета наиболее изучен [51]. Влияние УФ излучения на экспрессию p53 в неизмененном эпидермисе хорошо описано в работе М.В. El-Domyati с соавт. (2003). При изучении кожи лица и кожи живота у людей обоего пола в возрасте от 6 до 77 лет им было обнаружено, что одинаковая доза УФ излучения сильнее повреждает ДНК кератиноцитов лиц пожилого возраста, чем молодых, что прямо отражается на уровне экспрессии p53 в эпидермисе [106].

Возможно, что присутствие у пациента хронической гипергликемии, приводящей к увеличению аутоокисления глюкозы, участию ее в механизмах гликирования белков и увеличению количества свободных кислородных радикалов в эпидермисе, является дополнительным стимулом для активации p53. Однако отсутствие статистических различий в положительной экспрессии p53 в СК у пациентов с нарушениями углеводного обмена и их отсутствием говорит о незначительной роли нарушений углеводного метаболизма в активации белка.

Необходимо учитывать, что реакция клеток на активацию p53 индивидуальна, так как величины индукции или репрессии p-53 регулируемых генов, а также их пропорции в разных типах клеток могут существенно различаться [51]. Положительная экспрессия p53 приводила к изменению экспрессии в СК p27- белка ингибитора циклин-зависимой киназы, который регулирует течение клеточного цикла и отвечает за его остановку в поздней G1-фазе [194, 197]. Об этом свидетельствует положительная реакция с моноклональными антителами к p27 в 10-30% клеток опухоли в 97,4% случаев (37/38СК) только в ассоциации с положительной экспрессией p53, а так же достоверное преобладание экспрессии p27 при раздраженном типе СК (63,3%) по сравнению с акантотическим (7,5%), аденоидным (33,3%) и клональным (20%).

Основываясь на полученных нами данных можно предположить, что при СК происходит накопление дикого типа p53 в результате увеличения жизни белка и возможности его детекции ИГХ-методом. Это находит подтверждение в

единичных работах зарубежных авторов [188]. При этом активированный, «стрессовый» p53 запускает процессы, направленные преимущественно на остановку клеточного цикла, а не на апоптоз, что обусловлено невысокой его экспрессией (не более 30% клеток опухоли) и дисрегуляцией белков клеточного цикла. Клетки СК продолжают терминальную дифференцировку, что особенно четко видно при раздраженном типе СК, где дифференцировка клеток опухоли идет иначе и шиповатые клетки преобладают над базалоидными. При данном гистологическом типе СК достоверно чаще регистрировалась гиперэкспрессия p16 (73,3%) - протеина, участвующего в снижении пролиферативной активности клеток при старении, в сочетании в 100% случаев с гиперэкспрессией p53 и наибольшей пролиферативной активностью клеток по данным экспрессии Ki-67 ($8,5 \pm 4,8\%$).

Таким образом, нами были выявлены достоверные отличия раздраженного гистологического типа от других рассматриваемых типов СК. Это позволило нам предложить гистологическую классификацию опухоли:

1. Обычный (простой) себорейный кератоз
2. Себорейный кератоз с плоскоклеточной дифференцировкой.

Наличие гиперэкспрессии p53, p16 и увеличения пролиферативной активности клеток при раздраженном типе СК, учитывая, что их экспрессия взаимосвязана с воздействием УФ излучения, наличием воспалительного инфильтрата в опухоли и нарушениями клеточного метаболизма, с одной стороны, могут свидетельствовать об активации супрессорной активности опухоли наряду с апоптозом наиболее поврежденных клеток. Однако в работах Conscience I. с соавт. (2006), Bagazgoitia L. с соавт. (2010), Harvey N. T. с соавт. (2013), Kalegowda Y. С соавт. (2017) при исследовании болезни Боуэна и плоскоклеточного рака кожи сочетанная гиперэкспрессия данных маркеров расценивалась как диагностический критерий злокачественной природы новообразования [63, 97,134,156]. Поэтому, учитывая описание в литературе клинических случаев малигнизации СК, не исключена возможность злокачественной трансформации именно раздраженного типа СК при

дальнейшем влиянии неблагоприятных факторов (травмы, УФ излучения, неадекватной терапии). Другие рассматриваемые морфологические варианты СК – акантоотический, аденоидный и клональный имеют одинаковый прогноз развития, роста и отсутствие риска злокачественной трансформации.

В исследовании мы уделили особое внимание пигментации СК, так как в большинстве случаев именно неравномерная, темная окраска опухоли приводила клиницистов к диагностическим ошибкам. Отложение пигмента меланина при СК было неравномерным. Так, при серийных срезах в центральных отделах опухоли можно было встретить много пигмента в клетках, а в краевых участках СК - почти полное его отсутствие. В большинстве СК (58,7%) встречалась слабая пигментация. Меланин располагался в виде «шапочек» над апикальными полюсами ядер клеток и/или в виде единичных отдельных глыбок и меланофагов в дерме и строме опухоли (I тип пигментации). В 26,3% СК регистрировалась равномерная пигментация клеток, расположенных на дермоэпидермальной границе, с единичными меланофагами в дерме и строме опухоли или их полным отсутствием (II тип пигментации). В 15% СК была выраженная диффузная пигментация в виде большого количества меланина в клетках опухоли, а так же скопления меланина в виде глыбок и меланофагов в дерме и строме СК (III тип пигментации) [44].

При осмотре кожных покровов нами было отмечено, что наиболее пигментированные СК находились у пациентов на участках туловища, чаще закрытых от УФ излучения - на коже живота и нижней трети спины. Это подтверждает и отрицательная взаимосвязь между характером пигментации в опухоли и ее локализацией. Так, в СК, локализованных на подверженных УФ излучению местах, достоверно чаще встречался I тип пигментации (73,4%), тогда как III тип пигментации - только в 3,7% случаев. Причем возраст и фототип кожи пациентов, а также наличие нарушений углеводного обмена не влиял на характер пигментации.

Меланоциты в СК по данным экспрессии моноклональных антител к Melan A составляли всего 0,7-5% клеток опухоли, что значительно отличалось от

неизмененного эпидермиса, в котором, даже учитывая факт снижения содержания меланоцитов с возрастом, их было достоверно больше - 10,7%-14,3% клеток. Наибольшее количество меланоцитов (более 3% клеток опухоли), как и в неизмененном эпидермисе [16,107], регистрировалось в СК, расположенных на местах, подверженных УФ излучению - в 68,2% случаев. Тогда как на закрытых от солнечного излучения участках ни в одном случае количество положительно окрашенных клеток опухоли не превышало 3%. Так же нами была выявлена и отрицательная взаимосвязь между количеством меланоцитов в СК и характером пигментации опухоли. Так, в наиболее пигментированных опухолях количество меланоцитов не превышало 3 % (при II типе пигментации - в 77,4%, при III типе пигментации - в 100%), тогда как при слабой пигментации в опухоли достоверно чаще регистрировалось от 3-5% меланоцитов (43,3%) .

Очевидно, на выживание меланоцитов, их дендритность, меланогенез и экспрессию рецепторов на клеточной поверхности значительное влияние оказывают сигналы от клеток опухоли. Известно, что в неизмененном эпидермисе большинство сигналов, поступающих кератиноцитам, индуцируется УФ излучением [16], однако в СК стимуляции меланогенеза при воздействии УФ излучения не происходило. На наш взгляд, наиболее вероятной причиной накопления значительного количества пигмента, причем неравномерно распределенного в опухоли, при почти полном отсутствии меланоцитов является его накопление, а не увеличение синтеза, в результате «старения» клеток СК, снижения их функциональной активности, что приводит к нарушениям эпидермального баланса между стимуляторами и ингибиторами меланогенеза - паракринными цитокинами. Об этом свидетельствуют и данные литературы об избыточной экспрессии в СК ФНО α и других провоспалительных цитокинов, ингибиторов меланогенеза, в сочетании с повышенным содержанием эндотелина 1- известного митогена для меланоцитов и стимулятора меланогенеза [8, 187]. Таким образом, пигментация СК - это специфический показатель «возраста» опухоли. Она отражает степень выраженности нарушений в процессах терминальной дифференцировки.

Роговые кисты, один из патогномоничных признаков СК по данным большинства исследований [16, 29, 244], были множественными при всех гистологических типах СК. Это расходится с данными предыдущих исследований об отсутствии роговых кист при аденоидном СК и их множественности при других гистологических типах [107]. Взаимосвязи с возрастом, полом, локализацией СК и наличием у пациентов нарушений углеводного обмена не было выявлено, что свидетельствует об индивидуальном характере формирования роговых кист в зависимости от скорости терминальной дифференцировки клеток опухоли.

Более пристальное изучение нарушений клеточного цикла позволило нам говорить о СК как изначально доброкачественной эпителиальной опухоли, без злокачественного потенциала. Обнаруженные по данным разных авторов при СК онко-ассоциированные мутации в генах двух основных сигнальных путей (FGFR3-RAS-MARK и PI3K-AKT) оказались не строго специфичны и встречались с разной частотой при эпидермальном невусе, карциноме мочевого пузыря и миеломе [69,88, 129,140], что ставит под сомнение их единоличную роль в злокачественной прогрессии. В то же время, в жизненно важных генах, регулирующих пролиферацию и являющихся основными мишенями в сигнальных путях при онкологических заболеваниях (EGFR, TP53, PTEN, TSC1) при СК, по данным литературы, не было обнаружено мутаций [117, 129, 188]. Опираясь на результаты нашего исследования, основным этиологическим фактором СК являются генетически обусловленные мутации в генах, ответственных за ингибирование образований свободных радикалов, предотвращающих повреждения ими клеток и приводящих к нарушениям в антиоксидантной системе, а не мутации в генах, устраняющих данные повреждения. При СК превалирует активность генов – супрессоров, в частности p16INK4a, в сочетании с низкой пролиферативной активностью клеток опухоли. В отличие от других ингибиторов клеточного цикла, именно белок p16 является биомаркером клеточного старения [182]. Накапливаясь в тканях, он угнетает пролиферативную активность клеток, осуществляя остановку клеток в G1 фазе цикла [236].

Положительная реакция с моноклональными антителами к p16 регистрировалась во всех исследуемых СК и зависела от возраста, воздействия избыточного УФ излучения и наличия у пациентов нарушений углеводного обмена - факторов, приводящих к ускоренному старению клеток. Именно в группе с множественным СК, где достоверно возраст пациентов был выше, чем при единичном СК ($64,9 \pm 7,1$ и $62,1 \pm 8,6$ соответственно) и нарушения углеводного обмена встречались достоверно чаще (89,3% и 10,7% соответственно), гиперэкспрессия p16 регистрировалась в 75,4% случаев. Наличие в опухоли выраженного лимфоцитарно-моноцитарного инфильтрата (при раздраженном типе СК) так же в большинстве случаев сопровождалось гиперэкспрессией p16. Это можно объяснить тем, что при воздействии УФ излучения, наличии выраженного воспаления, хронической гипергликемии образуется повышенное количество свободных радикалов, что приводит к окислительному стрессу: повреждению ДНК, изменению внеклеточного матрикса и накоплению поврежденных белков, способствуя возникновению локального старения тканей с ускоренной эрозией теломер и выработкой ресурса регенерации ткани [51]. Теория «старения» клеток при СК, учитывая выявленную повышенную экспрессию p16, нашла свое отражение и в работах Nakamura S с соавт. (2003), Hillen LM с соавт. (2017) [143,203].

При изучении белка p63, который, кроме транскрипционной активности, участвует в метаболизме глюкозы и липидов в клетках [206], было выявлено нарушение его экспрессии в СК. В отличие от неизмененного эпидермиса, где положительная реакция с антителами к p63 присутствовала только в клетках базального слоя, при СК выявлялась в 50% случаев гиперэкспрессия p63 в более 30% клеток опухоли, в 32,3% - экспрессия в 10-30% клеток опухоли, а в 17,7% - снижение экспрессии ниже порога детекции ИГХ- тестами.

Повышенная экспрессия p63 в опухоли достоверно чаще регистрировалась у пациентов с нарушениями углеводного обмена, как при единичном, так и при множественном СК (89,7%), по сравнению с 6,4% у пациентов без нарушений углеводного обмена. Кроме того, отсутствие экспрессии p63 встречалось

исключительно у пациентов без нарушений метаболизма углеводов (37,1%). Это подтверждает его ведущую роль в регуляции метаболических процессов в клетках опухоли. На наш взгляд, гиперэкспрессия p63 в СК обусловлена повышением преимущественно транскрипционно - неактивных Δ DN-формы p63 [9], что согласуется с исследованиями Seo E.Y. с соавт. (2012) [254]. В результате значительного нарушения клеточного гомеостаза, пытаясь сохранить баланс между изоформами p63, Δ DNp63 функционируют как ингибиторы Tар63, подавляя их транскрипционную активность, что в свою очередь оказывает негативное влияние на дифференцировку клеток и апоптоз в СК. Учитывая экспрессию в СК дикого типа p53, замещения его транскрипционных функций протеином p63, имеющим высокую степень гомологии в строении, не происходит. Так, при положительной экспрессии p63 достоверно чаще регистрировалась в СК положительная экспрессия и p53. Если отсутствовала экспрессия одного белка - в большинстве случаев отсутствовала и другого, что говорит о нарушении баланса между белками p53 – семейства. Присутствие гиперэкспрессии p63 в сочетании с гиперэкспрессией p16 в 72,3% случаев еще раз подтверждает влияние нарушений метаболизма глюкозы на скорость накопления стареющих клеток в опухоли.

ИГХ- исследование с моноклональными антителами к Ki-67 выявило низкую пролиферативную активность клеток СК, только в ряде случаев сопоставимую с пролиферативной активностью неизмененного эпидермиса [10]. Процент пролиферирующих клеток опухоли как при единичном, так и при множественном СК находился в пределах от 3,0% до 11,3% (средняя величина $5,6 \pm 2,3\%$), с преимущественной локализацией положительно окрашенных клеток в виде очагов в области папилломатозных выростов. Низкая пролиферативная активность СК нашла подтверждение и в исследованиях Hafner с соавт. (2010). [129]. В неизмененном эпидермисе, прилегающем к опухоли, положительная реакция присутствовала в 7,3 - 9,0% (средняя величина $8,3 \pm 0,8\%$) клетках базального слоя, то есть выше почти в 1,5 раза, чем в СК.

Увеличение пролиферативной активности наблюдалось только в СК с выраженным воспалением, локализованных на подверженных избыточному УФ

излучению местх и не зависело от присутствия или отсутствия у пациентов нарушений углеводного обмена. Хотя известно, что инсулин является митогеном, стимулирующим клеточный рост и пролиферацию. Так, при инсулинорезистентности и гиперинсулинемии происходит нарушение одного из его сигнальных путей, IRS1/P1-3, ответственного за утилизацию глюкозы. Это приводит к гиперактивации второго, митогенного Ras/MAP -киназного пути, излишней стимуляции рецепторов инсулина, IGF и усилению пролиферативного ответа на воздействие факторов роста [11]. IGF-1 и IGF-2 так же являются митогенами кератиноцитов человека и их действия в основном опосредуются через рецептор IGF типа I, тогда как инсулин является митогеном как через рецептор IGF-1, так и рецептор инсулина [210]. При таком количестве стимулирующих деление клеток сигналах отсутствие усиления пролиферативной активности можно объяснить лишь утерей способности клеток опухоли реагировать на внешние митогенный и другие стимулирующие эффекты факторов роста по мере старения. Наиболее вероятно, что основой изменения клеточной реакции на внешние воздействия являются метаболические нарушения макромолекулярного синтеза [43]. При заболеваниях, связанных с преждевременным старением - прогерии и синдроме Вернера, культуры клеток, полученные из тканей пациентов, дают значительно более низкий ответ на стимуляцию инсулином, трансформирующим фактором роста и сывороткой, чем клетки здоровых людей [66]. Нарушения в сигнальных путях рецепторов инсулина и IGF приводят с изменениям в сигнальных путях других ростовых факторов и активности их рецепторов. Так, при ИГХ - исследовании с моноклональными антителами к EGFR мы выявили гиперэкспрессию в 53,9% СК, достоверно чаще у пациентов с нарушениями углеводного обмена (92,6% к 7,4%) и регистрируемую при гиперэкспрессии p63 в 86,1% случаев, вне зависимости от распространенности СК. Учитывая отсутствие по литературным данным мутаций в гене EGFR [117] очевидно, что при СК сохранена функциональная активность рецепторов, однако увеличения пролиферативной активности клеток не происходит. Об этом свидетельствует отсутствие

взаимосвязи между выраженностью экспрессии EGFR и пролиферативной активностью клеток СК, что противоречит исследованиям Nanney L.B. с соавт. (1992) [204]. На наш взгляд, это может быть связано с одной стороны - с изменением чувствительности клеток СК к факторам роста в силу старения. С другой стороны - компенсаторного увеличения количества рецепторов из-за снижения выработки лигандов - EGF, TGF- α , учитывая тот факт, что в стареющих клетках вследствие снижения их функциональной активности подавлена экспрессия сигнальных молекул и эндогенных пептидов, необходимых для пролиферации и дифференцировки [55, 161]. К тому же, в опухолях уровень активации EGFR часто не сопоставим с количеством лигандов, его активирующих [30]. Так, при множественном СК не встречалось сочетания слабой экспрессии p16 и EGFR, достоверно чаще встречалась гиперэкспрессия обоих маркеров (75,4% и 76,9% соответственно). Тогда как при единичном СК слабая экспрессия p16 в опухоли сочеталась со слабой экспрессией EGFR в 76,5% случаев.

В работах большинства зарубежных авторов, при обнаружении гиперэкспрессии EGFR в СК предполагается тесная взаимосвязь с наличием злокачественных новообразований внутренних органов у пациентов и выработкой ими эндогенных медиаторов роста - TGF- α и EGF, что способствует росту и распространению элементов СК [108,232]. Выявленная взаимосвязь экспрессии EGFR в СК с нарушениями углеводного обмена у пациентов позволяет по - новому взглянуть на роль факторов роста в патогенезе опухоли, при отсутствии у пациента онкологического заболевания.

Экспрессия рассматриваемых маркеров клеточного цикла, в особенности p63, p16 и EGFR имела существенные различия в зависимости от распространенности процесса. Их гиперэкспрессия, преобладающая в СК при множественных опухолях, в сочетании с присутствием в клинической картине множественных ФП и нарушений углеводного обмена, являлась прогностическим фактором прогрессирования процесса. Так, при ИГХ-исследовании СК 37 пациентов, у которых в течение 4 лет появилось более 20 опухолей (у 8

пациентов I группы и у 29 пациентов II группы) наблюдалась гиперэкспрессия p63, p16 и EGFR, что не встречалось в СК лиц с отсутствием прогрессирования процесса. У всех пациентов наблюдались нарушения углеводного обмена (СД 2 типа - у 29 пациентов, НТГ - у 8 пациентов), а так же множественные ФП в двух и более анатомических зонах и только у 5 пациентов - в одной зоне.

Надо отметить, что присутствие у пациента только множественного СК не может единолично рассматриваться как фактор наличия у пациента нарушений углеводного обмена, несмотря на достоверное преобладание в данной группе пациентов с СД 2 типа и НТГ. При анализе результатов проведенных исследований, была выявлена взаимосвязь наличия нарушений углеводного обмена у пациентов с расположением опухолей преимущественно в складках, наличием множественных ФП, а так же уровнем экспрессии протеинов p63 и EGFR в СК. Связь с p16 была несколько ниже, что отражает влияние на экспрессию p16 комплексных факторов, в частности, локализации опухоли и воздействия избыточного УФ излучения и возраста пациентов.

Таким образом, СК является доброкачественной, первично-множественной эпителиальной опухолью кожи, этиологически гетерогенным заболеванием, с генетически детерминированным нарушением регуляции клеточного цикла, приводящим к преждевременному, локальному старению клеток, которое, в совокупности с нарастанием метаболических нарушений, приводит к нарушениям их терминальной дифференцировки.

ВЫВОДЫ

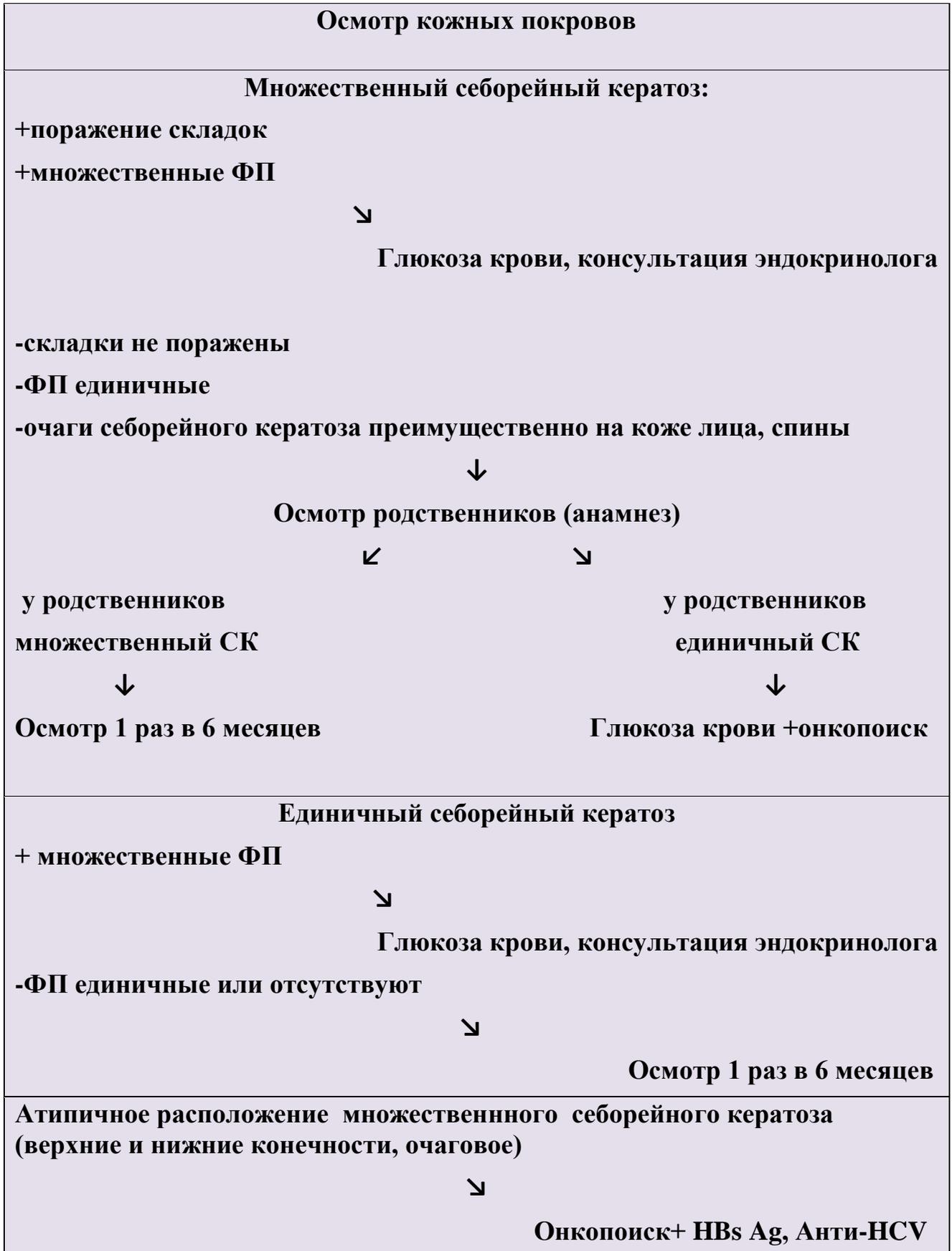
1. СК является гетерогенным, генетически детерминированным заболеванием, на клинические проявления которого влияют возраст и нарушения углеводного обмена. Множественный СК с преимущественным поражением крупных складок кожи, со склонностью к слиянию в сплошные линейные поверхностные очаги и в сочетании с множественными ФП достоверно чаще встречается у пациентов с СД 2 типа и НТГ ($p=0,00001$).
2. При акантотическом, клональном и аденоидном типе опухоли как при единичном, так и при множественном СК отсутствуют значимые различия в проявлении основных гистологических признаков и экспрессии маркеров клеточного цикла - p53, p63, p16, p27 и маркеров пролиферации EGFR и Ki-67, что свидетельствует об их едином патогенезе и позволяет отнести их к типичному (обычному) СК.
3. Формирование СК с очагами плоскоклеточной дифференцировки (раздраженного типа) происходит при участии хронического УФ излучения ($p=0,00001$) и присутствия нейтрофильных лейкоцитов в строме опухоли. Характерно повышение экспрессии p53 (40%) и p27 (65,3%), инициирующих апоптоз, наряду с активацией супрессорной активности в виде гиперэкспрессии p16 (73,3%) и увеличения пролиферативной активности клеток (Ki-67- $8,5\pm 4,8\%$), что свидетельствует о возможной малигнизации опухоли и позволяет на основании достоверных отличий выделить раздраженный тип в отдельную гистологическую форму СК.
4. Нарушение экспрессии маркера клеточного цикла p16 в виде расширения его экспрессии при единичном СК и гиперэкспрессии при множественном СК является ведущим в патогенезе опухоли и свидетельствует о старении клеток на молекулярном уровне. Достоверное преобладание при множественном СК гиперэкспрессии p16, EGFR и p63 ($p=0,00001$) отражает нарушения клеточного цикла в результате наступающих метаболических изменений в клетках опухоли, что приводит к прогрессированию заболевания.

5. Положительная экспрессия белка p53 преимущественно в СК, подверженных избыточному УФ излучению (в 92,1%), при наличии выраженного и умеренного воспаления ($p=0,00001$), а так же в сочетании с положительной экспрессией p27 в клетках опухоли свидетельствует об отсутствии нарушений транскрипционной активности p53 при СК.
6. На основании ИГХ- исследования с моноклональными антителами к Ki-67 выявлена низкая пролиферативная активность клеток СК (средняя величина $5,6\pm 2,3\%$), достоверно отличающаяся от неизмененного эпидермиса (средняя величина $8,3\pm 0,8\%$) ($p=0,023$). Корреляционной зависимости между уровнем пролиферации и степенью выраженности экспрессии в клетках опухоли EGFR у лиц как с единичным, так и множественным СК не было выявлено, что свидетельствует о снижении ответа клеток на стимуляцию фактором роста в силу старения.
7. Количество меланоцитов при СК было достоверно снижено ($0,7-5\%$ клеток опухоли) при ИГХ- исследовании с моноклональными антителами к Melan A по сравнению с неизмененным эпидермисом ($10,7\%-14,3\%$ клеток) ($p=0,001$). Учитывая наименьшее количество меланоцитов (менее 3% клеток опухоли) в наиболее пигментированных СК ($p=0,0003$), а так же отсутствие активации меланогенеза в опухоли под воздействием УФ излучения, в том числе в наиболее распространенных на подверженных солнцу местах раздраженных и аденоидных формах СК, свидетельствует о накоплении пигмента в связи с его замедленной утилизацией из-за старения и снижения метаболизма клеток опухоли.
8. Присутствие экспрессии HPV только в 2,3% СК в сочетании с отсутствием морфологических признаков вирусной инфекции свидетельствует об отсутствии значимой роли ВПЧ в патогенезе заболевания.
9. Прогностическим фактором прогрессирования заболевания являлась гиперэкспрессия p16, EGFR, и p63 в СК, которая достоверно чаще встречалась у пациентов с СД2 типа и НТГ ($69,1\%$, $92,6\%$, $89,7\%$) ($p=0,00001$), что свидетельствует о роли хронической гипергликемии в нарушениях клеточного цикла и более быстром старении клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Многообразие клинических проявлений СК, возможность имитации им злокачественных новообразований кожи, высокий процент расхождений клинического и патогистологического диагнозов делает необходимым проведение гистологического исследования для верификации диагноза во всех случаях.
2. Наличие генетической отягощенности у лиц как с единичным, так и множественным СК диктует проведение генеалогического анализа с целью прогнозирования дальнейшего распространения процесса.
3. Выявление у пациента при осмотре множественных ФП, расположенных в одной или более анатомических областях, в сочетании с множественными СК, расположенными в виде линейных, сливающихся очагов в крупных складках кожи, свидетельствует о высокой вероятности наличия нарушений углеводного обмена и диктует необходимость консультации и обследования у эндокринолога.
4. В морфологическом заключении необходимо указывать на наличие или отсутствие в опухоли очагов плоскоклеточной дифференцировки, учитывая значение данного фактора для возможной малигнизации себорейного кератоза.
5. Применение панели из моноклональных антител к EGFR, p63 и p16 рекомендовано для пациентов с множественным себорейным кератозом и ФП для прогнозирования клинического течения заболевания в дальнейшем.

Алгоритм диагностики себорейного кератоза



СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПЧ вирус папилломы человека

ИГХ-исследование иммуногистохимическое исследование

НТГ нарушенная толерантность к глюкозе

ПЦР полимеразная цепная реакция

СД 2 типа сахарный диабет 2 типа

СК себорейный кератоз

ФНО- α фактор некроза опухолей α

ФП фиброэпителиальный полип

CDK циклин-зависимые киназы

EGF эпидермальный фактор роста

FGFR3 третий рецептор фактора роста фибробластов

IGF-1 инсулиноподобный фактор роста 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова А.К. Себорейный кератоз и вульгарные бородавки у пациента с вульгарным ихтиозом / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова, А. С. Тертычный // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – №4 (146). – С. 150-153.
2. Александрова А.К. Себорейный кератоз: современные представления о патогенезе / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – Т.90. – №4. – С. 28-34
3. Александрова А.К. Инсулинорезистентность и себорейный кератоз / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – Т.91. – №5. – С. 73-78.
4. Александрова А.К. Современные представления о роли в клеточном цикле белков ингибиторов циклин-зависимых киназ p16 и p27/ А.К. Александрова, В.А. Смольяникова // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – №1(156). – С. 7-10.
5. Александрова А.К. Особенности экспрессии белка p27 при разных формах себорейного кератоза /А.К. Александрова, Г.И. Суколин, В.А Смольяникова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2016. – Т.19. – №5. – С. 283-286.
6. Александрова А.К. Болезнь Хейли-Хейли и множественный себорейный кератоз на фоне инсулинорезистентности: клинический случай /А.К. Александрова, В. А. Смольяникова// Кубанский научный медицинский вестник . – 2016. – № 5 (160). – С.158-161.
7. Александрова А.К. Особенности течения себорейного кератоза у пациентов с нарушением углеводного обмена. /А.К. Александрова, В.А. Смольяникова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2018. – Т. 94. – №5. – С. 33-38.
8. Александрова А.К. Особенности пигментации себорейного кератоза / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2019. – Т. 95. –№3. – С. 10-15.

9. Александрова А.К. Гиперэкспрессия белка р63 у пациентов с себорейным кератозом при сопутствующих нарушениях углеводного обмена /А.К. Александрова, В. А. Смольяникова// Кубанский научный медицинский вестник . – 2019. – Т. 26. – № 4. – С. 18-25.
10. Александрова А.К. Себорейный кератоз как неизменный спутник старения. Современный взгляд на этиологию и патогенез. / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова, Филатова В.А. // Пространство и время. – 2018. – №1-2(31-32). – С. 315-321.
- 11.Аметов А.С. Избранные лекции по эндокринологии: учебное пособие / А.С. Аметов. –М.: МИА, 2016.- 732с.
- 12.Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения: учебное пособие. В 7 томах / А.С. Аметов. – 3-е изд. перераб и дополн. – Т.1. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 350с.
- 13.Бабиченко И.И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: Учебное пособие / И.И. Бабиченко, В.А. Ковязин. – М.:РУДН, 2008. – 109с.
- 14.Баткаев Э.А. Папилломавирусная инфекция человека: учебное пособие / Э.А. Баткаев, Н.В. Баткаева. – М., 2013. – 24 с.
- 15.Вавилова А.А. Гликационный стресс и фотостарение кожи / А.А. Вавилова, Е.И. Губанова, В.В. Гладько // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2017. – Т. 20. – №4. – С. 243-247.
- 16.Вольф К. Дерматология Фитцпатрика в клинической практике: В 3 т. / К. Вольф, Л.А. Голдсмит, С.И. Кац и др.; пер.с англ.; под общ. ред. акад. А.А.Кубановой. – М.: Издательство Панфилова; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012.
- 17.Гарднер Д. Базисная и клиническая эндокринология. Кн.1. / Д. Гарднер, Д. Шобек; пер. с англ.; под ред. Г.А. Мельниченко. – М.: БИНОМ, 2010. – 464с.
- 18.Гельфонд М.Л. Дифференциальная диагностика опухолей кожи в практике дерматологов и косметологов /М.Л. Гельфонд // Практическая онкология. – 2012. – Т13. – №2. – С.71-74.

19. Герштейн Е.С. Рецепторы семейства c-ErbB как мишени молекулярно-направленной противоопухолевой терапии: достижения, проблемы, перспективы / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский, М.И. Давыдов // Молекулярная медицина. – 2010. – №4. – С. 5-10.
20. Герштейн Е.С. Факторы роста, их рецепторы и нижележащие сигнальные белки: от эксперимента к клинике / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – №1. – С. 27-35.
21. Горелова М.В. Изменения пролиферации и дифференцировки кератиноцитов интерфолликулярного эпидермиса височной области у лиц мужского пола в онтогенезе: автореф. дис... канд. мед. наук: 03.03.04 / Горелова Марина Вячеславовна. – М., 2011. – 26с.
22. Гусев В.А. Свободнорадикальная теория старения в парадигме геронтологии / В.А. Гусев // Успехи геронтологии. – 2000. – №4. – С. 41-49.
23. Дакс А.А. Онкосупрессор p63 регулирует экспрессию убиквитинлигазы Pirh2 / А.А. Дакс, А.В. Петухов, А.Ю. Шувалов // Цитология. – 2015. – Т.57. – № 12. – С. 876-9.
24. Дедов И.И. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 8-й выпуск // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20. – №1S. – С. 11-89.
25. Кладова А.Ю. Ассоциация эпителиальных опухолей кожи с вирусами папилломы человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.11 / Кладова Анна Юрьевна. – М., 2007. – 23с.
26. Кондакова И.В. Влияние пероксидных радикалов и оксида азота на пролиферирующую активность опухолевых клеток / И.В. Кондакова, Г.В. Загребельная, В.П. Реутов // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. – 2003. – №1. – С. 78-82.
27. Копнин Б.П. Многоликий p53: разнообразие форм, функций, опухольсупрессирующих и онкогенных активностей / Б. П. Копнин, П. Б. Копнин, Н. В. Хромова, Л. С. Агапова // Клиническая онкогематология.

- Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2008. – Т. 1. – № 1. – С. 2-9.
28. Короленкова Л.И. Клинические и молекулярно-генетические основы предрака и ранних форм рака шейки матки: автореф. дис. ... доктора мед. наук:14.01.12/ Любовь Ивановна Короленкова. – М., 2012. – 50 с.
29. Кожные и венерические болезни: Руководство для врачей. В 2-х томах. – 2-е изд., перераб. и доп. – Т.2 / Под ред. Ю.К. Скрипкина, В.Н. Мордовцева. – М.: Медицина, 1999. – 880с.
30. Костылева О.И. Клиническое значение рецепторов эпидермального фактора роста в злокачественных опухолях / О.И. Костылева, Е.С.Герштейн, Р.Р. Ажигова // Вестник ТГУ. – 2014. – Т. 19 – №1. – С. 21-35.
31. Кушлинский Н.Е. Молекулярные механизмы опухолевого роста / Н.Е. Кушлинский, М.В. Немцова // Медицинские новости. – 2014. – Т. 9. – С. 29-31.
32. Кушлинский Н.Е. Биологические маркеры опухолей в клинике – достижения, проблемы, перспективы / Н.Е. Кушлинский, Е.С.Герштейн, Л.К. Овчинникова и др. // Клиническая онкология. – 2009. – Т. 8. – №3. – С. 95-101.
33. Лебедева Ю.В. Совершенствование методов диагностики и лечения себорейного кератоза лица и шеи. (Клинико-морфологическое исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Лебедева Юлия Владиславовна. – Тверь, 2010. – 121с.
34. Лыкова С.Г. Поражение кожи при сахарном диабете (патогенез, патоморфология, клиника, терапия) /С.Г. Лыкова, О.Б. Немчанинова.– Новосибирск: Новосибирский медицинский институт. – 1997 – 44с.
35. Машкиллейсон А.Л. Кожные изменения при сахарном диабете / А.Л. Машкиллейсон, Ю.Н. Перламутров // Вестник дерматологии и венерологии. – 1989. – №5. – С. 29-31.
36. Молочков В.А Папилломавирусная инфекция-клиника, диагностика, лечение: Пособие для врачей / В.А Молочков, В.И. Киселев, И.В.Рудых, С.Н.Щербо. – Студия «Мирада Вива», 2005. – 32с.

37. Молочков В.А. Эпителиальные опухоли кожи /В.А Молочков, А.В. Молочков, А.Н. Хлебникова, Ж.С. Кунцевич. – М.: Издательство БИНОМ, 2012. – с.
38. Молочков В.А. Руководство по геронтологической дерматологии /В.А. Молочков, В.Н.Шабалин, С.С. Кряжева, Г.Ф. Романенко. – М.: МОНИКИ, 2005. – 360с.
39. Орлова О.А. Влияние пептидов эпифиза на фибробласты кожи при старении: дисс. ... канд. биол. наук:14.01.30/ Орлова Оксана Анатольевна. – Санкт-Петербург., 2017. – 115с.
40. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. – 4-е изд., доп. и перераб. / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. – Казань, 2012. –624с.
41. Руководство по климактерию / Под ред. В.И. Кулакова, В.П. Сметник. – М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 685с.
42. Саприна Т.В. Сахарный диабет 2 типа у лиц пожилого возраста - решенные и нерешенные вопросы / Т.В. Саприна, Н.М. Файзулина // Сахарный диабет. – 2016. – Т.19. – №4. – С.322 – 330.
43. Смольяникова В.А. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста при наличии инсулинорезистентности у пациентов с себорейными кератомами / В.А. Смольяникова, А.К. Александрова // Архив патологии. – 2017. – Т. 79. – № 4. – С.18-21.
44. Смольяникова В.А. К вопросу о морфологических особенностях себорейного кератоза / В.А. Смольяникова, Александрова А.К.// Клиническая и экспериментальная морфология. – 2019. – Т. 8. – №2. – С. 21-27.
45. Смольяникова В.А. Нарушение экспрессии белков-регуляторов клеточного цикла при себорейном кератозе / В.А. Смольяникова, А.К. Александрова // Архив патологии. – 2020. – Т.82. – № 2. – С.30-34.
46. Снарская Е.С. Кумулятивные эффекты воздействия ультрафиолетового излучения на развитие патологии кожи и глаз / Е.С.Снарская, А.А.Рябцева, Н.Н. Сурикова // Вестник оптометрии. – 2009. – №6. – С.53-58.

47. Сунцов Ю.И. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности в Российской Федерации / Ю.И. Сунцов, Л.Л. Болотская, О.В. Маслова, И.В. Казаков // Сахарный диабет. – 2011. – Т. 14. – №1. – С. 15–19.
48. Хэбиф Т.П. Кожные болезни: Диагностика и лечение / Т.П. Хэбиф; пер. с англ.; под общей ред. акад. РАМН, проф. А.А. Кубановой. – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 672с.
49. Хэйфлик Л. Смертность и бессмертие на клеточном уровне / Л. Хэйфлик // Биохимия. – 1997. – Т.62. – С.1380 – 93.
50. Цветкова Г.М. Патоморфология болезней кожи / Цветкова Г.М., Мордовцева В.В., Вавилов А.М., Мордовцев В.Н. – М.: Медицина, 2003.- 496с.
51. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме / П.М. Чумаков // Успехи биологической химии. – 2007. – Т47. – С. 3-52.
52. Шилов А.М. Место пероральных гипогликемических препаратов в комплексном лечении пациентов с метаболическим синдромом / А.М. Шилов, М.В. Мельник, В.Н. Гаврина // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т.14. – №5. – С.403 – 406.
53. Ярилин А.А. Кожа и иммунная система / А.А. Ярилин // Косметика и медицина. – 2001. – № 2. – С. 5—13.
54. Adams J.M. The bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy/ J.M. Adams, S. Cory // Oncogene. – 2007. – Vol. 26. – № 9. – P. 1324–27.
55. Afshari C.A. Investigation of the role of G1/S cell cycle mediators in cellular senescence / C.A. Afshari , P.J. Vojta, L.A. Annab // Exp Cell Res. – 1993. – Vol. 209. – №2. – P 231 – 237.
56. Akgül B. Cooke JC, Storey A. HPV-associated skin disease / B.Akgül, J.C. Cooke, A.Storey // J Pathol. – 2006. – Vol.208. – №2. – P.165 – 75.
57. Alcorta D.A. Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts / D.A. Alcorta, Y.Xiong, D.

- Phelps et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1996. – Vol. 93. – № 24. – P. 13742 – 47.
58. Alexandrova AK. Protein p16 role in seborrheic keratosis / Alexandra K. Alexandrova, Vera A. Smolyannikova, Varvara A. Filatova, Olga K. Alexandrova // Our Dermatology online journal. – 2016. – Vol.7. – №4. – P. 377-380.
59. American Diabetes Association: Task Force on Standardization of the Insulin Assay (Task Force Report) // Diabetes. – 1996. – Vol. 45. – P. 242 – 256.
60. Amundson S.A. Roles for p53 in growth arrest and apoptosis: putting on the brakes after genotoxic stress / S.A. Amundson, T.G. Myers, A.J. Jr. Fornace // Oncogene. – 1998. – Vol.17. – № 25. – P. 3287 – 99.
61. Antonsson A. General acquisition of human papillomavirus infections of skin occurs in early infancy. A. Antonsson, S. Karanfilovska, P.G. Lindqvist et al. // J Clin Microbiol. – 2003. – Vol. 41. – № 6. – P. 2509–14.
62. Asri H. The sign of Leser-Trélat: Think in the adenocarcinoma of the lung / H. Asri, M.Soualhi // Pan. Afr. Med. J. – 2018. – Vol.30. – P. 270.
63. Bagazgoitia L. Expression of p53 and p16 in actinic keratosis, bowenoid actinic keratosis and Bowen's disease / L.Bagazgoitia, J.Cuevas, A.Juarranz // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2010. – Vol. 24. – № 2. – P. 228–230.
64. Bahrani E. Ki-67 and p16 Immunostaining Differentiates Pagetoid Bowen Disease From "Microclonal" Seborrheic Keratosis / E. Bahrani, P.Sitthinamsuwan, T.H. McCalmont et al. // Am. J. Clin. Pathol. – 2019. – Vol. 151. – № 6. – P.551 – 560.
65. Batinac T. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases / T. Batinac, G. Zamolo, N. Jonjić // Tumori. – 2004. – Vol. 90. – № 1. – P.120 – 7.
66. Bauer E.A. Diminished response of Werner's syndrome fibroblasts to growth factors PDGF and FGF / E.A.Bauer, N.Silverman, D.F.Busiek et al. // Science. – 1986. – Vol. 234. – № 4781. – P. 1240 – 1243.
67. Benard J. TP53 family members and human cancers / J.Benard, S. Douc-Rasy, J.C. Anomadegbe // Hum.Mutat. – 2003. – Vol. 21. – № 3. – P. 182 – 191.

68. Bhargava P. Acrochordon, diabetes and associations / P. Bhargava, D. Mathur // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.- 1996. – Vol.62. – № 4. – P 226 – 228.
69. Black P.C. Growth factors and receptors as prognostic markers in urothelial carcinoma / P.C.Black, C.P. Dinney // Curr. Urol. Rep. – 2008. – Vol.9. – №1. – P. 55–61.
70. Blomberg M. FGFR3 mutations and the skin: report of a patient with a FGFR3 gene mutation, acanthosis nigricans, hypochondroplasia and hyperinsulinemia and review of the literature / M. Blomberg, E.M. Jeppesen, F. Skovby et al. // Dermatology. – 2010. – Vol.220. – №4. – P.297 – 305.
71. Borenstein M. Pityrosporum and seborrheic keratosis: an association / M. Borenstein, M. Mirzabeigi, V. Vincek // Dermatol Online J. – 2005. – Vol.11. – №2. – P.3.
72. Botchkarev V.A. p53/p63/p73 in the epidermis in health and disease / V.A. Botchkarev, E.R. Flores // Cold Spring Harb. Perspect Med. – 2014. – Vol. 4. – №8.
73. Braga J.C. Melanoma mimicking seborrheic keratosis: an error of perception precluding correct dermoscopic diagnosis/ J.C. Braga, A. Scope, I. Klaz et al. // J. Am. Acad. Dermatol. – 2008. – Vol.58. – №5. – P. 875–880.
74. Brash D.E. Cancer. Preprocancer / D. E. Brash // Science. – 2015. – Vol. 348. – №6237. – P.867 – 68.
75. Brash D.E. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion / D.E. Brash, A. Ziegler, A.S. Jonason et al. // J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. – 1996. – Vol 1. – № 2. – P.136 – 42.
76. Broekaert D. An immunohistochemical and histochemical study of cytokeratin, involucrin and transglutaminase in seborrheic keratosis / D. Broekaert, I.M. Leigh, E.B. Lane et al. // Arch Dermatol Res. – 1993. – Vol.285. – № 8. – P.482 –90.
77. Brooks C.L. p53 ubiquitination: Mdm2 and beyond / C.L. Brooks, W. Gu // Moll.Cell. – 2006. – Vol.21. – № 3. – P. 307–315.
78. Bruecks A.K. Overexpression of p27KIP1 in seborrheic keratosis / A.K. Bruecks, S. Kalia, M.J. Trotter // J Cutaneous Medicine and Surgery. – 2007. – Vol. 11. – №5. – P.174 – 8.

79. Buerger C. Interleukin-1B interferes with epidermal homeostasis through induction of insulin resistance: implications for psoriasis pathogenesis / C. Buerger, B. Richter, K. Woth et al. // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2012. – Vol. 132. – №9. – P. 2206–2214.
80. Bullwinkel J. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells / J. Bullwinkel, B. Baron-Lühr, A.J. Lüdemann et al. // *Cell Physiol*. – 2006. – Vol. 206. – № 3. – P. 624–635.
81. Candi E. How the TP53 family proteins TP63 and TP73 contribute to tumorigenesis: regulators and effectors / E. Candi, M. Agostini, G. Melino, F. Bernassola // *Hum. Mutat*. – 2014 – Vol. 35. – №6. – P. 702–714.
82. Carlson J.A. Epidermodysplasia verruciformis associated and genital mucosal high-risk human papillomavirus DNA are prevalent in nevus sebaceus of Jadassohn / J.A. Carlson, B. Cribier, G. Nuovo et al. // *J Am Acad Dermatol*. – 2008. – Vol. 59. – №2. – P. 279–94.
83. Castelo-Branco C., Davila J. Menopause and Aging Skin in the Elderly / Farad M.A. Miller H.W., Woods N.F. *Skin, Mucosa and Menopause Management of Clinical Issues*. – Springer, 2015. – P. 345-357.
84. Ceylan C. Leser-Trelat sign / C. Ceylan, S. Alper, I. Kilinç // *Int J Dermatol*. – 2002. – Vol. 41. – № 10. – P. 687–8.
85. Chazal M. P16(INK4A) is implicated in both the immediate and adaptive response of human keratinocytes to UVB irradiation / M. Chazal, C. Marionnet, L. Michel et al. // *Oncogene*. – 2002. – Vol. 21. – № 17. – P. 2652–2661.
86. Chen S. Differential expression of two new members of the p53 family, p63 and p73, in extramammary Paget's disease / S. Chen, Y. Moroi, K. Urabe et al. // *Clin Exp Dermatol*. – 2008. – Vol. 33. – № 5. – P. 634–640.
87. Chen T.Y. Cutaneous malignancies simulating seborrheic keratosis: An underappreciated phenomenon? / T.Y. Chen, A.O. Morrison, C.J. Cockerell // *J. Cutan. Pathol*. – 2017. – Vol. 44. – № 9. – P. 747–748.
88. Chesi M. The enigma of ectopic expression of FGFR3 in multiple myeloma: a critical initiating event or just a target for mutational activation during tumor

- progression / M. Chesi, P.L. Bergsagel, W.M. Kuehl // *Curr. Opin. Hematol.* – 2002. – Vol. 9. – №4. – P. 288–293.
89. Cho H.S. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab / H.S. Cho, K. Mason, K.X. Ramayar // *Nature.* – 2003. – Vol. 421. – №6924. – P. 3068–73.
90. Choi H.J. Squamous eddies in irritated seborrheic keratosis / H.J. Choi, S.K. Yun, H.U. Kim, C.W. Ihm // *Am J Dermatopathol.* – 2007. – Vol. 29. – № 1. – P.28-31.
91. Cioffi-Lavina M. P16 expression in squamous cell carcinomas of cervix and bladder/ M.Cioffi-Lavina, J.Chapman-Fredricks, C. Gomez-Fernandez et al. // *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* – 2010. – Vol. 18. – № 4. – P. 344–7.
92. Cimpean I. Seborrheic keratosis evolution into squamous cell carcinoma: A truly modified sun-related tumor? A case report and review of the literature / I. Cimpean, I. Theate, O.Vanhooteghem // *Dermatol Reports.*–2019. – Vol. 11. – №1. – P. 79-99.
93. Collado M. Senescence in tumors: Evidence from mice and humans / M. Collado, M. Serrano // *Nat. Rev. Cancer.* – 2010. – Vol. 10. – № 1. – P. 51-57.
94. Compton L.A. Diagnostic Immunohistochemistry in Cutaneous Neoplasia: An Update / L.A. Compton, G.F. Murphy, C.G. Lian // *Dermatopathology (Basel).* 2015. – Vol.2. – № 1. – P. 15-42.
95. Concin N. Transdominant Δ TAp73 isoforms are frequently up-regulated in ovarian cancer. Evidence for their role as epigenetic p53 inhibitors in vivo / N. Concin, K.Becker, N. Slade // *Cancer Research.* – 2004. – Vol. 64. – №7. – P. 2449 – 2460.
96. Conic R.Z. The role of immunosuppression in squamous cell carcinomas arising in seborrheic keratosis / R.Z. Conic, K. Napekoski, H. Schuetz // *J.Am.Acad.Dermatol.* – 2017. – Vol. 76. – № 6. – P. 1146-1150.
97. Conscience I. P16 is overexpressed in cutaneous carcinomas located on sun-exposed areas / I.Conscience, N.Jovenin, C.Coissard et al. // *Eur. J. Dermatol.* – 2006. – Vol. 16 . – № 5. – P. 518–522.
98. Costin G.E. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress / G.E.Costin, V.J. Hearing // *The FASEB Journal.* – 2007. – Vol. 21. – № 4. – P. 976-94.

99. Crook T. High level expression of ΔN -p63: a mechanism for the inactivation of p53 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (NPC)? / T. Crook, J.M. Nicholls, L. Brooks // *Oncogen.* – 2000. – Vol. 19. – № 30. – P. 3439-3444.
100. Delapp N.W. Effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) and insulin like growth factor I (IGF-I) and type II (IGF-II) on adult human keratinocyte growth and fibronectin secretion/ N.W. Delapp, D.K. Dieckman // *J Invest Dermatol.* – 1990. – Vol. 94. – №6. – P. 777-80.
101. Ding L. High prevalence and correlates of human herpesvirus-6A in nevocytic nevus and seborrheic diseases: Implication from a pilot study of skin patient tissues in Shanghai / L. Ding, X. Mo, L. Zhang, F. Zhou // *J Med Virol.* – 2018. – Vol. 90. – №9. – P. 1532–40.
102. Donati P. Another point of view on p16 and Ki67 expression in melanocytic and non-melanocytic cutaneous lesions / P. Donati, G. Paolino, C. Panetta et al. // *Acta Dermatovenerol. Croat.* – 2013. – Vol. 21. – №3. – P. 149–154.
103. Donehower LA. Does p53 affect organismal aging? / LA. Donehower // *J Cell Physiol.* – 2002. – Vol. 192. – №1. – P. 23-33.
104. Dreux A.C. The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: their putative role in atherogenesis / A.C. Dreux, D.J. Lamb, H. Modjtahedi, GA. Ferns // *Atherosclerosis.* – 2006. – Vol. 186. – № 1. – P. 38–53.
105. Eastman K.L. Eruptive seborrheic keratoses associated with adalimumab use / K.L. Eastman, S.R. Knezevich, G.J. Raugi // *J Dermatol. Case Rep.* – 2013. – Vol. 7. – № 2. – P. 60-63.
106. El-Domyati M.B. Expression of p53 in normal sun-exposed and protected skin (type IV-V) in different decades of age / M.B. El-Domyati, S. Attia, F. Saleh et al. // *Acta Derm Venereol.* – 2003. – Vol. 83. – № 2. – P. 98-104.
107. Elder D. E. *Lever's histopathology of the skin* / D. E. Elder, R. Elenitsas, B. Johnson, G.F. Murphy et al. – 10th ed. – Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009. – 1257p.
108. Ellis D.L. Melanoma growth factors, acanthosis nigricans, the sign of Leser-Trelat and multiple acrochordons. A possible role for alpha-transforming growth

- factor in cutaneous paraneoplastic syndromes / D.L. Ellis, S.P. Kafka, J.C. Chow et al. // *N Engl J Med.* – 1987. – Vol. 317. – № 25. – P.1582-7.
109. Escutia B. Detection of human papilloma virus in normal skin and in superficial and nodular basal cell carcinomas in immunocompetent subjects / B. Escutia, E. Ledesma, C. Serra-Guillen et al.// *J Eur Acad Dermatol Venereol.* – 2011. – Vol. 25. – № 7. – P.832-8.
110. Fernandes K.A.P. Collision tumor: Pigmented Bowen's disease and seborrheic keratosis / K.A.P. Fernandes, D.C.S. Martinez, A.B. Nobre // *An Bras Dermatol.* – 2018. – Vol. 93. – №5. – P.737–9.
111. Fernandez-Flores A. Sebaceoma associated with seborrheic keratosis / A. Fernandez-Flores, J.A. Manjón // *Rom J Morphol Embryol.* – 2017. – Vol. 58. – № 2. – P.599-601.
112. Fleming T.H. Reactive metabolites and AGE/RAGE-mediated cellular dysfunction affect the aging process:a mini-review / T.H. Fleming, P.M. Humpert, P.P. Nawroth A. Bierhaus // *Gerontology.* – 2011. – Vol. 57. – № 5. – P.435-43.
113. Forslund O. High prevalence of cutaneous human Papillomavirus DNA on the top of skin tumors but not in “Stripped” biopsies from the same tumors // O. Forslund, B. Lindelöf, E. Hradil et al. // *J Invest Dermatol.* 2004. – Vol. 123. – №2. – P. 388–94.
114. Gaffney D.C. Malignant change in seborrhoeic keratoses in a region with high solar ultraviolet levels / D.C. Gaffney, J.B. Muir, B. De'Ambros // *Australas J Dermatol.* – 2014. – Vol. 55. – P.142-4.
115. Gallegos J. R. SCFbTrCP1 activates and ubiquitylates TAp63g / J. R. Gallegos, J. Litersky, H.Lee // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – P. 66—75.
116. Genders R. E. p16 immunostaining in keratinocytic neoplasia in organ transplant recipients: Bowen's disease shows a characteristic pattern / R. E. Genders S. Beck, J. N. Bouwes Bavinck // *J. Cutan. Pathol.* –2017. – Vol. 44. – P. 28–33.
117. Georgieva I.A. Low incidence of oncogenic EGFR, HRAS, and KRAS mutations in seborrheic keratosis / I.A. Georgieva, A. Mauerer, L. Groesser // *Am.J.Dermatopathol.* – 2014. – Vol. 36. – № 8. – P. 635-42.

118. Gerber P.A. Mechanisms of skin aging induced by EGFR inhibitors / P.A.Gerber, B.A. Buhren, H. Schruppf // Supportive Care in Cancer. – 2016. – Vol. 24. – №10. – P.4241-48.
119. Gkogkolou P. Advanced glycation end products. Key players in skin aging?/ P. Gkogkolou, M. Bohm // Dermatoendocrinol. – 2012. – Vol. 4. – № 3. – P. 259-70.
120. Gonfloni S. et al. P63 in health and cancer / S. Gonfloni, V. Caputo, V. Iannizzotto // Int. J Dev.Biol. – 2015. – Vol. 59. – P. 87-93.
121. Grimmmler M. Cdk-inhibitory activity and stability of p27Kip1 are directly regulated by oncogenic tyrosine kinases / M. Grimmmler, Y. Wang, T. Mund // Cell. – 2007. – Vol. 128. – №2.– P. 269-280.
122. Grob J.J. The relation between seborrheic keratoses and malignant solid tumours. A case-control study / J.J. Grob, M.C. Rava, J. Gouvernet // Acta Derm Venereol. – 1991. – Vol. 71. – №2. – P. 166–169.
123. Groesser L. FGFR3, PIK3CA and RAS mutations in benign lichenoid keratosis / L. Groesser, E. Herschberger, M. Landthaler, C. Hafner // Br J Dermatol. – 2012. – Vol. 166. – № 4. – P.784-8.
124. Gulias-Cañizo R. Seborrheic keratosis of conjunctiva: a case report / R. Gulias-Cañizo, J. Aranda-Rábago, A.A. Rodríguez-Reyes // Arch Soc Esp Oftalmol. – 2006. – Vol. 81. – № 4. – P.217-9.
125. Guo X. Tap63 induces senescence and suppresses tumorigenesis in vivo / X. Guo, M. Keyes, Papazoglu // Nature Cell Biology. – 2009. – Vol.11 -№12. – P. 1451-1457.
126. Gushi A. Detection and sequences of human papillomavirus DNA in nongenital seborrhoeic keratosis of immunopotent individuals / A. Gushi, T. Kanekura, T. Kanzaki, Y. Eizuru // J Dermatol Sci. – 2003. – Vol. 31. – № 2. – P. 143-9.
127. Hafner C. FGFR3 mutations in seborrheic keratoses are already present in flat lesions and associated with age and localization / C. Hafner, A. Hartmann, J.M. van Oers et al. // Mod Pathol. – 2007 – Vol.20. – №8. – P.895-903.
128. Hafner C. Oncogenic PIK3CA mutations occur in epidermal nevi and seborrheic keratoses with a characteristic mutation pattern / C. Hafner, E. López-Knowles,

- N.M. Luis et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2007. – Vol.104. – № 33. – P. 13450-4.
129. Hafner C. Multiple oncogenic mutations and clonal relationship in spatially distinct benign human epidermal tumors / C. Hafner, A. Toll, A. Fernández-Casado et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2010. – Vol.107. – № 48. – P.20780-5.
130. Hafner C. High Frequency of FGFR3 Mutations in Adenoid Seborrhic Keratoses / C. Hafner, J.M. van Oers, A. Hartmann et al. // Journal of Investigative Dermatology. – 2006. – Vol. 126 . – P. 2404–2407
131. Hafner C. Somatic FGFR3 and PIK3CA mutations are present in familial seborrhoeic keratoses / C. Hafner, T. Vogt, M. Landthaler et al. // Br J Dermatol. – 2008. – Vol. 159. – №1. – P. 214 –7.
132. Hallermann C. No Chromosomal Imbalances in Seborrhic Keratoses Detectable by Comparative Genomic Hybridization / C. Hallermann, B. Gunawan, H.P. Bertsch // Journal of Investigative Dermatology. – 2004. – Vol. 123. – P. 1204–1205.
133. Harrington E. c-Myc-induced apoptosis in fibroblasts is inhibited by specific cytokines / E.Harrington, M.Bennett, A. Fanidi, G.Evan // EMBO J. – 1994. – Vol. 13. – P. 3286-95.
134. Harvey N. T. Immunohistochemical staining for p16 is a useful adjunctive test in the diagnosis of Bowen's disease / N.T. Harvey, T. Leecy, B.A. Wood // Pathology. – 2013. – Vol. 45. – P. 402–407.
135. Heaphy MR Jr. The sign of Leser-Trelat in a case of adenocarcinoma of the lung / MR Jr Heaphy, J.L. Millns, AL. Schroeter // J Am Acad Dermatol. – 2000. – Vol. 43. – № 2 (Pt.2). – P. 386–390.
136. Heffernan M.P. Raindrop seborrhic keratoses: A distinctive pattern on the back of elderly patients / M.P. Heffernan, P.A. Khavari //Arch Dermatol. – 1998. – Vol. 134. – № 3. – P. 382-3.
137. Heidenreich B. Genetic alteration in seborrhic Keratoses / B. Heidenreich, E. Denisova, S. Rachakonda et al. // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8 – № 22. – P. 36639-49.

138. Helm K. Immunohistochemistry of pigmented actinic keratoses, actinic keratoses, melanomas in situ and solar lentigines with Melan-A / K. Helm, J.Findeis-Hosey // *J Cutan Pathol.* – 2008. – Vol.35 – №10. – P. 931-4.
139. Herbst R.S. Review of epidermal growth factor receptor biology / R.S. Herbst // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics.* – 2004. – Vol. 59. – № 2. – P. 21–6.
140. Hernandez S. Fibroblast growth factor receptor 3 mutations in epidermal nevi and associated low grade bladder tumors / S. Hernandez // *J Invest Dermatol.* – 2007. – Vol. 127. – P.1664-66.
141. Herron M.D. Seborrhic keratoses: a study comparing the standard cryosurgery with topical calcipotriene, topical tazarotene, and topical imiquimod / M.D. Herron, A.R. Bowen, G.G. Krueger // *Int J Dermatol.* – 2006. – Vol. 45. – № 9. – P. 1110.
142. Hida Y. Activation of fibroblast growth factor receptor 3 and oncogene-induced senescence in skin tumours / Y. Hida, Y. Kubo, S. Arase // *Br J Dermatol.* – 2009. – Vol.160. – № 6. – P.1258-63.
143. Hillen L.M. Detection of Merkel Cell Polyomavirus in Seborrhic Keratosis/ L.M. Hillen, D. Rennspiess, E.J. Speel et al. // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 2648.
144. Hood A.F. *Primer of Dermatopathology* / A.F. Hood, T.H. Kwan, M.C. Mihm, T.D. Horn. – Little Brown and company, 1993. - 479p.
145. Horn L. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia / L.C. Horn, A. Reichert, A.Oster et al. // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2008. – Vol.32. – №4. – P. 502–512.
146. Hsu C. Sign of Leser-Trélat in a heart transplant recipient / C. Hsu, S Abraham, A . Campanelli et al. // *Br J Dermatol.* – 2005. – Vol. 153. – P. 861–862.
147. Husain Z. Sign and pseudo-sign of Leser-Trélat: case reports and a review of the literature / Z. Husain, J.K. Ho, B.M. Hantash // *J Drugs Dermatol.* – 2013. – Vol. 12. – №5. – P.79 – 87.

148. Iacono M.L. p63 and p73 isoform expression in non-small cell lung cancer and corresponding morphological normal lung tissue / M.L. Iacono, V. Monica, S. Saviozzi et al. // *J of Thoracic Oncology*. – 2011. – Vol 6. – № 3. – P. 473-481.
149. Ibrahim N. The Potential Value of EGFR and P53 Immunostaining in Tumors of the Urinary Bladder / N. Ibrahim, A. Elzagheid, H. El-Hashmi // *Libyan J Med*. – 2009. – Vol. 4. – № 4. – P. 3-5.
150. Inamadar AC. Eruptive seborrheic keratosis in human immunodeficiency virus infection: a coincidence or 'the sign of Leser-Trélat'? / A.C. Inamadar, A. Palit // *Br J Dermatol*. – 2003. – Vol. 149. – P. 435–436.
151. Ishida M. Basal cell carcinoma arising within a seborrheic keratosis with respect to immunohistochemical characteristics / M. Ishida, N. Ohsato, H. Okabe // *Oncol Lett*. – 2011. – Vol.2. – №4. – P.625 – 627.
152. Izikson L. Prevalence of melanoma clinically resembling seborrheic keratosis: analysis of 9204 cases / L. Izikson, A.J. Sober, M.C. Jr. Mihm, A. Zembowicz // *Arch Dermatol*. – 2002. – Vol. 138. – № 12. – P. 1562–1566.
153. Jackson JM. Current Understanding of Seborrheic Keratosis: Prevalence, Etiology, Clinical Presentation, Diagnosis, and Management / J.M. Jackson, A. Alexis, B. Berman et al. // *J Drugs Dermatol*. 2015. – Vol. 14. – № 10. – P. 1119–25.
154. Jee H. Case of seborrheic keratosis with underlying basal cell carcinoma suggesting a collision tumor / H. Jee, N.R. Lee // *Ahn. J Dermatol*. – 2013. – Vol. 40. – № 10. – P. 837 – 9.
155. Kahana M. Skin tags -a cutaneous marker for diabetes mellitus / M. Kahana, E. Grossmal, A. Feinstein et al. // *Acta Derm Venereol*. – 1987. – Vol. 67. – №2. – P.175-7.
156. Kalegowda I.Y. Clonal Seborrheic Keratosis Versus Pagetoid Bowen Disease: Histopathology and Role of Adjunctive Markers / I.Y. Kalegowda, A. Böer-Auer // *Am J Dermatopathol*. – 2017. – Vol. 39. – №6. – P.433–9.
157. Kambiz K.H. Human Papillomavirus Deoxyribonucleic Acid may not be Detected in Nongenital Benign Papillomatous Skin Lesions by Polymerase Chain Reaction /

- K.H. Kambiz , D. Kaveh, D. Maede et al. // *Indian J Dermatol.* – 2014. – Vol. 59. – №4. – P.334–338.
158. Karadag AS. The status of the seborrheic keratosis / A.S. Karadag, L.C. Parish // *Clin Dermatol.* – 2018. – Vol.36. – № 2. – P. 275-277.
159. Karoui M. No evidence of somatic FGFR3 mutation in various types of carcinoma / M. Karoui, H. Hoffman-Radvanyi, U. Zimmermann et al. // *Onkogene.* – 2001. – Vol.20 – № 36. – P.5059-61.
160. Kastan M.B. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage / M.B.Kastan, O.Onyekwere, D.Sidransky // *Cancer Res.* – 1991. – Vol. 51. – №23. – P. 6304-6307.
161. Khavinson V.Kh. Gerontological aspects of genome peptide regulation / V.Kh. Khavinson, V.V. Malinin. – Basel. Karger AG, 2005. – 104p.
162. Kim H.S. Clinical and histopathologic study of benign lichenoid keratosis on the face / H.S. Kim, E.J. Park, I.H. Kwon et al.// *Am. J. Dermatopathol.* – 2013. – Vol. 35. – №7. – P. 738-41.
163. Kim JH. Seborrheic keratosis of the conjunctiva: a case report / J.H. Kim, H.W. Bae, K.K. et al. // *Korean J Ophthalmol.* – 2009. – Vol.23. – №4. – P.306-8.
164. Kiyono T. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells / T. Kiyono, S.A. Foster, J.I. Koop // *Nature.* – 1998. – Vol.396 . – № 6706. – P.84-8.
165. Ko C.J. Comparison of benign keratoses using p53, bcl-1, and bcl-2 / C.J. Ko, P. Shintaku, S.W. Binder // *J Cutan Pathol.* – 2005. – Vol. 32. – № 5. – P.356-9.
166. Krishnamurthy J. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging / J. Krishnamurthy, C. Torrice, M.R. Ramsey et al. // *J. Clin Invest.* – 2004. – Vol. 114. – №9 – P.1299-307.
167. Kurihara Y. Occult Basal Cell Carcinoma Arising in Seborrheic Keratosis / Y. Kurihara, M. Furue // *Case Rep Dermatol.* – 2019. – Vol. 11. – № 1. – P. 48-51.
168. Kwon O.S. Seborrheic keratosis in the Korean males: causative role of sunlight / O.S. Kwon, E.J. Hwang, J.H. Bae et al.// *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* – 2003. – Vol. 19. – № 2. – P.73-80.

169. Kyriakis K.P. Epidemiologic aspects of seborrheic keratoses / K.P. Kyriakis, I. Alexoudi, K. Askoxylaki et al. // *Int. J. Dermatol.* – 2012. – Vol.51. – P. 233–234.
170. Laing M.E. Basal cell carcinoma arising in a seborrhoeic keratosis / M.E. Laing, C. O'Keane, G.M. Murphy // *Clin Exp Dermatol.* – 2009. – Vol. 34. – №7. – P.371-2.
171. Le Boit P.E. World Health Organization Classification of tumors/ Pathology and genetics of skin tumors / P.E. Le Boit, G.Burg, D.Weedon et al. – IARC Press, Lyon, 2006.
172. Lee E.S. Absence of human papillomavirus DNA in non-genital seborrheic keratosis / E.S. Lee, M.R. Whang, W.H.Kang // *J Korean Med Sci.* – 2001. – Vol. 16. – P.619–22.
173. Lee J.Y. Pigmented malignant hidroacanthoma simplex mimicking irritated seborrheic keratosis / J.Y. Lee, M.H. Lin // *J Cutan Pathol.* – 2006. – Vol.33. – №10. – P.705-8.
174. Lévesque M. Inflammation drives wound hyperpigmentation in zebrafish by recruiting 26 pigment cells to sites of tissue damage / M. Lévesque, Y. Feng, R.A. Jones et al. // *Dis Model Mech.* – 2013. – V. 6. – № 2. – P. 508-515.
175. Li J. “Seborrheic keratoses” that contain human papillomavirus are condylomata acuminata / J. Li, A.B.Ackerman // *Am J Dermatopathol.* – 1994. – Vol.16. – P.398–405.
176. Li X. The tissue dependent interactions between p53 and Bcl-2 in vivo / X. Li, X. Miao, H. Nang // *Oncotarget.* – 2015. – Vol.6 – №34. – P.35699-709.
177. Li X. A case of seborrheic keratosis distributed along skin cleavage lines / X. Li, W. Zhu // *J Dermatol.* – 1998. – Vol. 25. – P.272–4.
178. Li Y. Overexpression of Amyloid Precursor Protein Promotes the Onset of Seborrhoeic Keratosis and is Related to Skin Ageing / Y. Li, Y. Wang, W. Zhang // *Acta Derm Venereol.* – 2018. – Vol. 98. – №6. – P.594–600.
179. Lilly E. Chemotherapy-induced inflammatory seborrheic keratoses in a man with acute myeloid leukemia: a variant of Leser-Trélat sign? / E. Lilly, S.R. Granter, H.A. Haynes et al. // *Cutis.* – 2012. – Vol. 90. – P.235-6.

180. Lim C. Seborrhoeic keratoses with associated lesions: a retrospective analysis of 85 Lesions / C.Lim // *Australas J Dermatol.* – 2006. – Vol. 47. – №2. – № 2. – P.109-13.
181. Lin Z. Δ Np63 protein expression in uterine cervical and endometrial cancers / Z. Lin, M. Liu, Z. Li et al. // *J. of Cancer Research and Clinical Oncology.* – 2006. – Vol.132. – № 13. – P.811-816.
182. Liu Y. Expression of p16(INK4a) in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging / Y. Liu, H. K. Sanoff, H. Cho et al. // *Aging Cell.* – 2009. – Vol. 8. – P. 439–448.
183. Ljungman M. Transcription-guarding the genome by sensing DNA damage/ M. Ljungman, P.P. Lane // *Nat.Rev.Cancer.* – 2004. – Vol. 4. – №9. – P.727-737.
184. Logie A. Activating mutations of the tyrosine kinase receptor FGFR3 are associated with benign skin tumors in mice and humans / A. Logie, C. Dunois-Larde, C. Rosty et al. // *Hum Mol. Genet.* – 2005. – Vol. 14. – P.1153-1160.
185. Mabuchi T. Seborrheic keratosis that follows Blaschko's lines / T.Mabuchi, E. Akasaka, A. Kondoh et al. // *J Dermatol.* –2008. – Vol. 35. – №5. – P.301-3.
186. Maize J.C. Nonmelanoma skin cancers in association with seborrheic keratoses. Clinicopathologic correlations / J.C. Maize, R.L. Snider // *Dermatol Surg.* – 1995. – Vol. 21. – № 11. – P. 960-2.
187. Manaka L. The mechanism of hyperpigmentation in seborrhoeic keratosis involves the high expression of endothelin-converting enzyme-1alpha and TNF-alpha, which stimulate secretion of endothelin 1 / L.Manaka, S. Kadono, M. Kawashima et al. // *Br J Dermatol.* – 2001. – Vol. 145. – №6. – P. 895-903.
188. Mandinova A. A positive FGFR3/FOXP1 feedback loop underlies benign skin keratosis versus squamous cell carcinoma formation in humans / A. Mandinova, V. Kolev, V. Neel, et al. // *J Clin Invest.* – 2009. – Vol.119 – № 10. – P. 3127-37.
189. Mansur A.T. A diagnostic challenge: inflamed and pigmented seborrheic keratosis. Clinical, dermoscopic, and histopathological correlation / A.T. Mansur, S. Yildiz // *Dermatol Online J.* – 2019. – Vol. 25. – №3. – P. 1-4

190. Martin B.C. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study / B.C. Martin, J.H. Warram, A.S. Krolewski et al. // *Lancet*. – 1992. – Vol. 340. – P.925-929.
191. Meibodi N.T. No Evidence of Human Papillomaviruses in Non-genital Seborrheic Keratosis / N.T. Meibodi, Y. Nahidi, Z. Meshkat // *Indian J Dermatol*. 2013. – Vol. 58. – №4. – P. 326.
192. Mekni A. Malignancy arising in seborrheic keratosis: two cases report / A. Mekni, S. Bouraoui, N. Kchir et al. // *Tunis Med*. – 2003. – Vol. 81. – № 10. – P. 835-8.
193. Metin S.A. Dermatosi papulosa nigra: a clinically and histopathologically distinct entity / S.A. Metin, B.W. Lee, W. Lambert et al. // *Clin Dermatol*. – 2017. – Vol. 35. – №5. – P.491-496.
194. Mitrea D.M. Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27 / D.M. Mitrea, M.K. Yoon, L. Ou et al. // *Biol. Chem*. – 2012. – Vol. 393. – № 4. – P. 259-74.
195. Mitsuhashi Y. Topical vitamin D3 is effective in treating senile warts possibly by inducing apoptosis / Y. Mitsuhashi, M. Kawaguchi Y. Hozumi et al. // *J Dermatol*. – 2005. – Vol. 32. – № 6. – P. 420-3.
196. Mohamed M. Pigmented keratosis on the face / M. Mohamed, M. Amri, L.Njim et al. // *Ann. Dermatol. Venereol*. – 2013. – Vol. 140. – №5. – P. 390-2.
197. Morgan D.O. The cell cycle. Principles of control. – London: New Science Press LTD, 2007. – 327p.
198. Muller H.K. Ultraviolet Radiation Effects on the Proteome of Skin Cells / H.K. Muller, G.M. Woods // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2013. – Vol.990. – P.11-119.
199. Muller P.A. p53 mutations in cancer / P.A. Muller , K.H.Vousden // *Nat. Cell Biol*. – 2013. – Vol. 15. – P. 2-8.
200. Muzio L.L. p63overexpression associates with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma / L.L. Muzio, A. Santarelli, R. Caltabiano et al. // *Human Pathology*. – 2005. – Vol. 36. – № 2. – P.187–194.

201. Muzumdar S.A. Quantitative comparison between SOX10 and MART-1 immunostaining to detect melanocytic hyperplasia in chronically sun-damaged skin / S. A. Muzumdar, M. Argraves, A. Kristjansson et al. // *J Cutan Pathol.* –2018. – Vol.45. – №4. – P.263-268.
202. Nakamura H. Clonal nature of seborrheic keratosis demonstrated by using the polymorphism of the human androgen receptor locus as a marker / H. Nakamura, S. Hirota, S. Adachi et al. // *J Invest Dermatol.* – 2001. – Vol.116. – №4. – P.506-10.
203. Nakamura S. Enhanced expression of p16 in seborrhoeic keratosis; a lesion of accumulated senescent epidermal cells in G1 arrest / S. Nakamura, K. Nishioka // *Br. J. Dermatol.* –2003. – Vol. 149. – №3. – P.560–565.
204. Nanney L.B. Epidermal growth factor receptors in idiopathic and virally induced skin diseases / L.B.Nanney, D.L. Ellis, J.Levine et al. // *Am. J. Pathol.* – 1992. – Vol.140. – № 4. – P. 915-925.
205. Nanney L.B. Epidermal growth factor receptors in genetically induced hyperproliferative skin disorders / L.B. Nanney, L.E. Jr. King, B.A. Dale // *Pediatr. Dermatol.* – 1990. – Vol.7. – № 4. – P. 256-265.
206. Napoli M. The family that eats together stays together:new p53 family transcriptional targets in autophagy / M. Napoli, E.R. Flores // *Genes.* – 2013. – Vol. 27. – P. 971-4.
207. Napolitano M. Insulin resistance and skin diseases / M. Napolitano, M. Megna, G.Monfrecola // *Scientific World J.* – 2015. – P. 479354.
208. Narala S. Cutaneous T-cell lymphoma-associated Leser-Trélat sign: report and world literature review / S. Narala, P.R. Cohen // *Dermatol Online J.* – 2017. – № 1. – P.15-23.
209. Neel V.A. Sustained Akt Activity Is Required to Maintain Cell Viability in Seborrheic Keratosis, a Benign Epithelial Tumor / V.A. Neel, K. Todorova, J. Wang et al. // *J Invest Dermatol.* – 2016. – Vol. 136. – №3. – P.696–705.
210. Neely E.K. Insulin-like growth factors are mitogenic for human keratinocytes and a squamous cell carcinoma / E.K. Neely, V.B. Morhenn, R.L. Hintz et al. // *J Invest Dermatol.* – 1991. – Vol. 96. – №1. – P. 104-10.

211. Neuhaus I.M. Seborrheic keratosis with basal clear cells: a distinctive microscopic mimic of melanoma in situ / I.M. Neuhaus, P.E. LeBoit, T.M.McCalmont // *J Am Acad Dermatol.* – 2006. – Vol. 54. – №1.- P.132-5.
212. Nilsson K. Retinoblastoma protein function and p16INK4a expression in actinic keratosis, squamous cell carcinoma in situ and invasive squamous cell carcinoma of the skin and links between p16INK4a expression and infiltrative behavior / K. Nilsson, S. Svensson, G. Landberg // *Mod. Pathol.* – 2004. – Vol. 17. - № 12. – P. 1464–1474.
213. Nindl I. Human papillomaviruses and non-melanoma skin cancer: basic virology and clinical manifestations. / I Nindl, M Gottschling, E. Stockfleth // *Dis. Markers.* – 2007. – Vol. 23. – №4. – P.247-59.
214. Nindl M. Simple epithelial cytokeratin-expression in seborrheic keratosis / M. Nindl, H. Nakagawa, M. Furue, Y. Ishibashi // *J Cutan Pathol.* –1992. – Vol.19. - №5. – P. 415-22.
215. Noiles K. Are all seborrheic keratoses benign? Review of the typical lesion and its variants / K. Noiles, R. Vender // *J Cutan Med Surg.* – 2008. – Vol.12. – №5. – P. 203-10.
216. Ohashi N. Pancreatic carcinoma associated with the Leser-Trélat sign / N. Ohashi, N. Hidaka // *Int J Pancreatol.* – 1997. – Vol. 22. – №2. – P.155-60.
217. Omman R.A. Clonal highlights: Clonal seborrheic keratoses often demonstrates p16 expression / R.A. Omman, J. Speiser, S. Robinson et al. // *J Cutan Pathol.* – 2019. – Vol.46. – №6. – P.411-417.
218. Onajin O. Co-occurrence of malignant acanthosis nigricans and the Leser-Trélat sign in a patient with hepatocellular carcinoma / O. Onajin, N. Comfere // *Int J Dermatol.* – 2015. – Vol. 54. – №5. – P.146-8.
219. Orzol P. P63 - an important player in epidermal and tumour development / P. Orzol, M. Nekulova, B. Vojtesek, J. Holcakova // *Klin Onkol.* – 2012. – Vol. 25(suppl 2). – P. 2S11–2S15.
220. Ott C. Role of advanced glycation end products in cellular signaling / C.Ott, K.Jacobs, E. Haucke et al. // *Redox Biol.* – 2014. – Vol. 2. – №1. – P. 411-29.

221. Pages F. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored / F. Pages, J. Galon, M.C. Dien-Nosjean et al. // *Oncogene*. – 2010. – Vol. 29.- № 8. – P. 1093-1102.
222. Pandel R. Skin photoaging and the role of antioxidants in its prevention / R. Pandel, B. Poljsak, A. Godic, R. Dahmane // *ISRN Dermatol*. – 2013. – P. 930164.
223. Park H.R. Expression profiles of p63, p53, surviving, and hTERT in skin tumors / H.R. Park, S.K. Min, H.D. Cho et al. // *J Cutan Pathol*. – 2004. – Vol. 31. – №8. – P. 544-9
224. Park S. ΔNp63 to TAp63 expression ratio as a potential molecular marker for cervical cancer prognosis. Park S, Lee S, Kim J, Kim G. et al. // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14. – №4. – P.e0214867.
225. Park S. Clinical and histopathologic study of seborrheic keratosis / S. Park, H. Park, K. Cho // *Korean J Dermatol*. – 2011. – Vol.49. – P. 12–19.
226. Pariser R.J. Benign neoplasms of the skin / R.J. Pariser // *Med. Clin. North Am*. 1998. – Vol. 82. – № 6. – P.1285–1307.
227. Pavey S. Ultraviolet radiation induces p16CDKN2A expression in human skin / S.Pavey, S.Conroy, T.Russell, B. Gabrielli // *Cancer Res*. – 1999. – Vol. 59. – №17. – P. 4185-9.
228. Pavey S. G2 phase cell cycle arrest in human skin following UV irradiation / S. Pavey, T. Russell, B. Gabrielli // *Oncogene*. – 2001. – Vol. 20. – № 43. – P. 6103–6110.
229. Pellegata N.S. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans / N.S. Pellegata, L. Quintanilla-Martinez, H. Siggelkow et al. // *Proc. Natl. Acad.Sci.U.S.A*. – 2006 – Vol.103. – №42. – P.15558-63.
230. Pesce C. Apoptosis in the areas of squamous differentiation of irritated seborrheic keratosis / C. Pesce, S. Scalora // *J Cutan Pathol*. – 2000. – Vol. 27. – №3. – P.121-3.

231. Pignon J.C. p63-expressing cells are the stem cells of developing prostate, bladder, and colorectal epithelia / J.C. Pignon, C. Grizzani, Y. Geng et al. // Proc Natl. Acad.Sci. USA. – 2013. – Vol. 110. - № 20. – P. 8105-8110.
232. Ponti G. Leser-Trélat syndrome in patients affected by six multiple metachronous primitive cancers / G. Ponti, G. Luppi, L. Losi, A. Giannetti et al.// J Hematology Oncol. – 2010. – Vol. 11. – №3.- P.2.
233. Puizina-Ivić N. An overview of Bcl-2 expression in histopathological variants of basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, actinic keratosis and seborrheic keratosis /N. Puizina-Ivić, D. Sapunar, D. Marasović, L. Mirić //Collegium Antropol. – 2008. – Vol.32 (Suppl 2) . – P.61-5.
234. Qian BZ. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis / B.Z. Qian, JW. Pollard // Cell. –2010. – Vol.141. - № 1.- P.39-51.
235. Rajabi P. Bowenoid transformation in seborrheic keratosis: A retrospective analysis of 429 patients / P. Rajabi, N. Adibi, P. Nematollahi, M. Heidarpour // J Res Med Sci. – 2012. – Vol.17. – №3. – P. 217-21.
236. Rayess H. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16 / H. Rayess, M.B. Wang, E.S. Srivatsan // Int. J. Cancer. – 2012. – Vol. 130. – №8. – P.171-174.
237. Rebecca A. Mason. EGFR pathway polymorphisms and bladder cancer susceptibility and prognosis / Rebecca A. Mason, Elaine V. Morlock, Margaret R.Karagas // Carcinogenesis. – 2009. – Vol.30. – №7. – P.1155—1160.
238. Reis-Filho J.S. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin 14 in 51 normal and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray / J.S. Reis-Filho, P.T. Simpson, A. Martins et al. // Virchows Arch. – 2003. – Vol. 443. –№2. – P. 122-132.
239. Requena L. Seborrheic keratosis with pseudorosettes and adamantinoid seborrheic keratosis: two new histopathologic variants / L. Requena, H. Kutzner // J Cutan Pathol. – 2006. – Vol. 33 (Suppl 2). – P.42-5.
240. Ressler S. p16INK4A is a robust in vivo biomarker of cellular aging in human skin / S. Ressler, J. Bartkova, H. Niederegger et al. //Aging Cell. – 2006. – Vol. 5. – № 5. - P. 379-389.

241. Richert C.A., Flynn K.J. Malignant melanoma simulating a seborrheic keratosis: a case report / C.A. Richert, K.J. Flynn // *Dermatol Online J.* – 1997. – Vol.3. - №1. – P.5.
242. Richey J.D. Distinguishing between irritated seborrheic keratosis and squamous cell carcinoma in situ using BCL-2 and IMP3 immunohistochemistry / J.D. Richey, A.C. Deng, K. Dresser et al. // *J Cutan Pathol.* – 2018. – Vol.45.- №8. – P. 603-609.
243. Rigopoulos D. Seborrhoeic keratosis or occult malignant neoplasm of the skin?/ D. Rigopoulos, E. Rallis, E. Toumbis-Ioannou et al. // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* –2002. – Vol. 16. – №2. – P. 168-70.
244. Roh N.K. Clinical and Histopathological Investigation of Seborrheic Keratosis / N.K. Roh, H.J. Hahn, Y.W. Lee et al. // *Ann Dermatol.* – 2016. – Vol. 28. – №2. – P. 152-8.
245. Rosso A.A. Struktural basis for inhibition of the ciklin-dependent kinase Cdk6 by the tumour suppressor p16/INK4A / A.A.Rosso, L.Tong, J.O. Lee et al. // *Nature.* – 1998 – Vol.395. – P. 237-243.
246. Sablina A.A. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor / A.A. Sablina, A.V. Budanov, G.V. Ilyinskaya et al. // *NatMed.* – 2005. – Vol.11. – №12. – P-1306-1313.
247. Safa G. Leser-Trélat Sign without Internal Malignancy / G. Safa, L. Darrieux // *Case Rep Oncol.* – 2011. – Vol. 4. – № 1. – P. 175–177.
248. Sakiz D. The expression of p63 and p53 in keratoacanthoma and intraepidermal and invasive neoplasms of the skin / D. Sakiz, T.T. Turkmenoglu, F. Kabukcuoglu // *Pathol Res Pract.* – 2009. – Vol. 205. – №9. – P.589–594.
249. Saraiya A. Hyperinsulinemia associated with acanthosis nigricans, finger pebbles, acrochordons, and the sign of Leser-Trélat / A. Saraiya, A. Al-Shoha, R.T. Brodell // *Endocr Pract.* – 2013. – Vol. 19. – № 3. – P.522-5.
250. Sardon C. The Leser- Trelat sign / C. Sardon, T. Dempsey // *Cleve Clin J Med.* – 2017. – Vol. 84. - №12. – P. 918-20.
251. Schwartz RA. Sign of Leser-Trelat / R.A. Schwartz // *J Am Acad.Dermatol.* – 1996. – Vol. 35. –№1. - P.88-95.

252. Schwengle L.E. Eruptive seborrheic keratoses associated with erythrodermic pityriasis rubra pilaris. Possible role of retinoid therapy / L.E. Schwengle, F.H. Rampen // *Acta Derm Venereol.* – 1988. – Vol. 68. – №5. – P. 443–445.
253. Seargent J.M. Expression of matrix metalloproteinase-10 in human bladder transitional cell carcinoma / J.M. Seargent, P.M. Loadman, S.W. Martin et al. // *Urology.* – 2005. – Vol. 65. – № 4. – P.815-20.
254. Seo E.Y. Microarray analysis reveals increased expression of Δ Np63 α in seborrhoeic keratosis / E.Y. Seo, D.H. Lee, Y. Lee et al. // *Br J Dermatol.* –2012. – Vol. 166. – №2. – P.337-42.
255. Serrano M. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4 / M. Serrano, G. J. Hannon, D. Beach // *Nature.* – 1993. – Vol. 366 (6456). – P. 704–707.
256. Shah R. Acrochordons as a cutaneous sign of metabolic syndrome: a case-control study / R. Shah, A. Jindal, N.M. Patel // *Annals of Medical and Health Sciences Research.* – 2014. – Vol. 4. - № 2. – P.202.
257. Shamsadini S. Surrounding ipsilateral eruptive seborrheic keratosis as a warning sign of intraductal breast carcinoma and Paget's disease (Leser Trelat sign) / S. Shamsadini, M.B.,Wadji , A. Shamsadini / *Dermatol Online J.* –2006. – Vol. 12. - № 6. – P. 27.
258. Sharpless N. E. The INK4A/ARF locus and its two gene products / N.E. Sharpless, R.A. DePinho // *Curr. Opin. Genet.* – 1999. – Vol. 9. – №1. – P. 22–30.
259. Shelton J. p16 immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison of antibody clones using patient outcomes and high-risk human papillomavirus RNA status / J. Shelton, B. M. Purgina, N.A. Cipriani et al.// *Mod. Pathol.* – 2017. – Vol. 30 . – № 9. – P. 1194–1203.
260. Siedek V. Leser-Trelat sign in metastasized malignant melanoma / V.Siedek, T. Schuh, A. Wollenberg // *Eur Arch Otorhinolaryngol.* – 2009. – Vol. 266. –№2. – P.297-9.
261. Stanley M.A. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus / M.A.Stanley // *Clin Microbiol Rev.* – 2012. – Vol. 25. –№2. – P. 215–22.

262. Stiewe T. The p53 family in differentiation and tumorigenesis / T. Stiewe // *Nat Rev Cancer*. – 2007. – Vol. 7. – №3. – P.165–8.
263. Strano S. Physical interaction with human tumor-derived p53 mutants inhibits p63 activities / S. Strano, G. Fontemaggi, A. Costanzo et al. // *Journal of Biol.Chemistry*. – 2002. – Vol.277. – №21. – P.18817-26.
264. Su X. Tap63 is a master transcriptional regulator of lipid and glucose metabolism / X. Su, Y.J. Gi, D. Charkravarti et al. // *Cell Metab*. – 2012. – Vol. 16. –№4. – P. 511-25.
265. Suh E. K. p63 protects the female germ line during meiotic arrest / E.K. Suh, A.Yang, A. Kettenbach et al. // *Nature*. – 2006. – Vol. 444 (7119).– P. 624—628.
266. Symonds H. p53-dependent apoptosis suppresses tumor growth and progression in vivo / H. Symonds, L.Krall, L.Remington // *Cell*. – 1994. – Vol.78. - № 4. – P.703-11.
267. Takenaka Y. Paracrine cytokine mechanisms underlying the hyperpigmentation of seborrheic keratosis in covered skin areas / Y. Takenaka, Y. Hoshino, H. Nakajima et al. // *J Dermatol*. – 2013. – Vol.40. – №7. – P.533-42.
268. Tardío J.C. Genital seborrheic keratoses are human papillomavirus-related lesions. A linear array genotyping test study / J.C. Tardío, E. Bancalari, A. Moreno et al. // *APMIS*. – 2012.–Vol. 120. – №6. – P. 477-83.
269. Terada T. Microinvasive squamous cell carcinoma arising within seborrheic keratosis / T. Terada, M. Kamo, Y. Baba, M. Sugiura // *Cutis*. –2012. – Vol.90. – №4. – P.176-8.
270. Thornton MJ. Estrogens and aging skin/ MJ. Thornton // *Dermato-Endocrinology*. – 2013. – Vol.5 – №2. – P.264-270
271. Thomas I. Melanoma within the seborrheic keratosis / I. Thomas, N.I. Kihiczak, J. Rothenberg et al. // *Dermatol Surg*. –2004. – Vol.30. – №4 (Pt 1). – P. 559-61.
272. Thyssen J.P. Successful treatment of multiple seborrheic keratoses using acitretin / J.P. Thyssen, C. Zachariae // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. – 2007. – Vol.21. – №2. – P. 269-70.

273. Tran P.T. Verrucous melanoma masquerading as a seborrheic keratosis / P.T. Tran, A.K. Truong, W. Munday // *Dermatol Online J.* – 2019. – Vol. 25. - №2.
274. Tsambaos D. Detection of human papillomavirus DNA in non-genital seborrhoeic keratoses / D. Tsambaos, A. Monastirli, N. Kapranos et al. // *Arch Dermatol Res.* – 1995. – Vol. 287. – №6. – P. 612–5.
275. Turan E. Leser-Trélat sign: does it really exist? / E. Turan, Y. Yesilova, N. Yurt // *Acta Dermatovenerol Croat.* – 2013. – Vol. 21. - №2. – P.123-7.
276. Vent J. p16 expression in carcinoma of unknown primary: diagnostic indicator and prognostic marker / J. Vent, B. Haidle, I. Wedemeyer et al. // *Head Neck.* – 2013. – Vol. 35. – №11. – P. 1521–1526.
277. Vestergaard M.E. Seborrhoeic keratoses appearing in sites of previous psoriasis plaques during treatment with efalizumab / M.E. Vestergaard, S. Kossard, D.F. Murrell // *Clin Exp Dermatol.* – 2009. – Vol. 34. - №8. P.e564-6.
278. Vousden K.N. p53: death star / KN. Vousden // *Cell.* – 2000. – Vol. 103. - №5. – P. 691-4.
279. Vun Y. Seborrhoeic keratosis and malignancy: collision tumour or malignant transformation? / Y.Vun, B. D e'Ambrosio, L. Spelman et al. // *Australas. J. Dermatol.* – 2006. – Vol. 47. – №2. – P. 106–108.
280. Wei J. p53 Family: Role of Protein Isoforms in Human Cancer / J. Wei, E. Zaika, A. Zaika // *J of Nucleic Acids.* – 2012. – 19p.
281. Weiner L., et al. Dedicated epithelial recipient cells determine pigmentation patterns // L. Weiner, R. Han, BM Scicchitano et al. // *Cell.* – 2007. – Vol. 130. – №5. – P. 932–942.
282. Weinstein D. Diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma / D. Weinstein, J. Leininger, C. Hamby, B. Safai // *J Clin Aesthet Dermatol.* – 2014. – Vol. 7. – №6. – P.13–24.
283. Wieland CN, Kumar N. Sign of Leser-Trélat / C.N. Wieland, N. Kumar // *Int J Dermatol.* – 2008. – Vol. 47. - №6. – P.643-4.
284. Wollina U. Anogenital giant seborrheic keratosis / U. Wollina, A. Chokoeva, G Tchernev et al. // *G Ital Dermatol Venereol.* –2017. – Vol. 152. – № 4. – P. 383-386.

285. Wrone D.A. The expression of p63 in actinic keratoses, seborrheic keratosis, and cutaneous squamous cell carcinomas / D.A. Wrone, S. Yoo, L.K. Chipps, RL. Moy // *Dermatol Surg.* – 2004. – Vol. 30. - №10. – P.1299-302.
286. Wu G. DeltaNp63alpha and TAp63alpha regulate transcription of genes with distinct biological functions in cancer and development. / G. Wu, S. Nomoto, M.O. Hoque et al.// *Cancer Research.* – 2003. – Vol. 63. - № 10. – P. 2351–7.
287. Wu Y.H. Seborrheic keratosis with bowenoid transformation: the immunohistochemical features and its association with human papillomavirus infection / Y.H. Wu, P.F.Hsiao, C.K.Chen // *Am. J. Dermatopathol.* –2015. – Vol. 37. – №6. – P.462-8.
288. Yang A. p63, a p53 homolog at 3q27—29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities / A.Yang, M.Kaghad, Y. Wang et al. // *Mol. Cell.* – 1998. – Vol. 2. – №3. – P. 305—316.
289. Yao J.Y. Roles of p63 in epidermal development and tumorigenesis / J.Y. Yao, J.K. Chen // *Biomed J.* – 2012. – Vol. 35. –№6. – P. 457–463.
290. Yap W.M. Malignancy arising in seborrheic keratosis: a report of two cases / W.M. Yap, P.H. Tan, B.H. Ong // *Ann Acad Med Singapore.* – 1997. – Vol. 26. - №2. – P.235-7.
291. Yamamoto T. Hereditary onset of multiple seborrheic keratoses: a variant of Leser-Trélat sign? / T. Yamamoto, A. Yokoyama // *J Dermatol.* – 1996. – Vol. 23. - № 3. – P. 191-5.
292. Yeatman J. M. The prevalence of seborrhoeic keratoses in an Australian population: does exposure to sunlight play a part in their frequency? / Yeatman J. M., M. Kilkenny, R. Marks // *Br. J. Dermatol.* – 1997. – Vol. 137. –№3. – P. 411–414.
293. Yeh J.S. Coexistence of acanthosis nigricans and the sign of Leser-Trélat in a patient with gastric adenocarcinoma: a case report and literature review / J.S. Yeh, S.E. Munn, T.A. Plunkett et al. // *J Am Acad Dermatol.* – 2000. – Vol.42. - № 2 (Pt 2). – P. 357-62.

294. Yoshimi N. Epithelial keratin and filaggrin expression in seborrheic keratosis: evaluation based on histopathological classification / N. Yoshimi, Y. Imai, A. Kakuno et al. // *International J Dermatol.* – 2014. – Vol. 53. – №6. – P. 707-13.
295. Yu J. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cells / J. Yu, L. Zhang, P.M. Hwang // *Mol. Cell* – 2001. – Vol. 7. – №3. – P. 673-682.
296. Zaravinos A. Viral DNA detection and RAS mutations in actinic keratosis and nonmelanoma skin cancers / A. Zaravinos, P. Kanellou, D.A. Spandidos // *Br J Dermatol.* – 2010. – Vol. 162. – №2. – P.325-31.
297. Zhang N. Acanthosis nigricans, tripe palms, and sign of Leser-Trélat in a patient with gastric adenocarcinoma: case report and literature review in China / N. Zhang, Y. Qian, A.P. Feng // *Int J Dermatol.* – 2015. – Vol.54. – № 3. – P.338-42.
298. Zhang R.Z. Seborrheic keratoses in five elderly patients: an appearance of raindrops and streams / R.Z. Zhang, W.Y. Zhu // *Indian J Dermatol.* – 2011. – Vol. 56. – №4. – P. 432–434.
299. Zhang Y. Expression of endothelins and their receptors in nonmelanoma skin cancers / Y. Zhang, L. Tang, M. Su et al. // *J Cutan Med Surg.* – 2006. – Vol.10. – № 6. – P. 269-76.
300. Zhu W.Y. Detection of human papillomavirus DNA in seborrheic keratosis by polymerase chain reaction / W.Y. Zhu, C. Leonardi, N.S. Penneys // *J Dermatol Sci.* – 1992. – Vol. 4. - № 3. – P.166-71.
301. Zouboulis C.C. Clinical aspect and molecular diagnostics of skin aging / C.C. Zouboulis, E. Makrantonaki // *Clin. Dermatol.* – 2011. – Vol.29. – № 1. – P.3-14.