

Иммунногистохимические показатели агрессивности клинического течения амелобластомы

И.И.Бабиченко¹, В.Ф.Рыбальская¹,
Н.С.Цимбалист¹, В.А.Сёмкин²

¹Российский университет дружбы народов,
Москва

²Центральный НИИ стоматологии и
челюстно-лицевой хирургии Минздрава
России, Москва

Амелобластома является одонтогенной опухолью с местнодеструктурирующим типом роста с локализацией в большинстве случаев в области угла и ветви нижней челюсти. Для оценки агрессивности роста амелобластомы были количественно оценены обширность поражения костной ткани и пролиферативная активность клеток периферического слоя по белку Ki-67. Изучено 74 случая биопсийного и операционного материала амелобластомы следующих гистологических вариантов: плексиформного, фолликулярного, зернистоклеточного, акантомотозного, базальноклеточного, монокистозного, десмопластического и периферической амелобластомы. Показано, что гистологический вариант амелобластомы и пролиферативную активность клеток периферического ее слоя по показателю Ki-67 можно считать прогностическими показателями агрессивности роста амелобластомы. Базальноклеточный вариант амелобластомы по обширности поражения и высокой пролиферативной активности клеток является наиболее агрессивным, требующим радикальных методов хирургического лечения. Плексиформный вариант амелобластомы можно рассматривать как агрессивный по показателю обширности поражения по сравнению с фолликулярным и по пролиферативной активности по сравнению с монокистозным.

Ключевые слова: белок Ki-67, амелобластома.

Immunohistochemical Indicators of Aggressiveness of the Clinical Course of Ameloblastoma

I.I.Babichenko¹, V.F. Rybalskaya¹,
N.S.Tsimbalist¹, V.A. Semkin²

RUDN University, Moscow
Central Research Institute of Dentistry and
Maxillofacial Surgery, Moscow

Ameloblastoma is an odontogenic tumor with the type of growth, which is characterized by destruction in the zone of its most frequent localization in the angle and the ramus of the lower jaw. To assess the

aggressiveness of the ameloblastoma growth, the extent of destruction of bone tissue and proliferative activity of cells of the peripheral layer Ki-67 protein were quantitatively assessed. The article presents the study of 74 cases of biopsy and surgical material of ameloblastoma of the following histological types: plexiform, follicular, granular cell, acanthomatous ameloblastoma, basal cell, unicystic, desmoplastic and peripheral ameloblastoma. It is shown that histological type of ameloblastoma and proliferative activity of the cells of its peripheral layer at index Ki-67 can be considered prognostic indicators of aggressiveness of growth of ameloblastoma. Basal cell type of ameloblastoma on the vastness of damage and high cell proliferative activity is the most aggressive, requiring radical surgical treatment. Plexiform type of ameloblastoma can be seen as aggressive in terms of the extensiveness of the lesion compared to the follicular and in terms of proliferative activity compared to the unicystic.

Keywords: ameloblastoma, Ki-67 protein.

Введение

Среди новообразований головы и шеи частота выявления амелобластомы составляет 1%. Амелобластома является одонтогенной опухолью с местнодеструктурирующим типом роста и в 80% случаев локализацией в области угла и ветви нижней челюсти [1]. Амелобластома – доброкачественная опухоль, однако обладает инфильтративным ростом и нередко дает рецидивы, в связи с чем вопрос о выборе объема хирургического вмешательства остается актуальным. Клиническое течение амелобластомы может быть весьма вариабельным: от бессимптомного, и быть случайной находкой при рентгенологическом исследовании, до агрессивного – с болевыми симптомами, появлением асимметрии в челюстно-лицевой области и снижением общего качества жизни. В таком случае, при возникновении деформации лица требуется применение современных высокотехнологичных медицинских технологий. Учитывая подобное течение заболевания, актуальным является оценить злокачественный потенциал амелобластомы при проведении первичной диагностической биопсии [2].

При доброкачественных опухолях чаще, чем при других поражениях челюстных костей, происходит разрушение кортикальных пластинок челюсти и прорастание образования в мягкие ткани. Амелобластома, как правило, имеет вид многополостного образования крупно-, средне- или мелкоячеистого строения с наличием перегородок между полостями.

Длительное латентное течение, приводящее к разрушению обширного участка челюстной кости, высокие показатели рецидивов заболевания после хирургического лечения, которое сопряжено с риском развития внутри- и послеоперационных осложнений, делают актуальными вопросы современной диагностики и адекватного лечения обширных полостных образований челюстных костей.

До настоящего времени в отечественной и зарубежной литературе нет четко сформулированных критериев выбора метода лечения данной патологии. Вопрос об объеме и условиях проведения хирургического лечения остается открытым.

Морфологически амелобластома представлена эпителиальными островками и тяжами, по периферии которых «палисадообразно» расположены клетки цилиндрической формы с круглыми или

овальными ядрами. Клетки внутренней зоны схожи со звездчатыми ретикулярными клетками зубного зачатка. Разнообразие микроскопической структуры амелобластомы объясняет наличие нескольких классификаций гистологических вариантов в литературе. Одна из них – классификация ВОЗ, которая включает всего 4 типа амелобластом: солидная/мультикистозная, десмопластическая, монокистозная и внекостная/периферическая [3].

Классификация, предложенная американскими стоматологами включает следующие гистологические варианты амелобластом: плексиформный, фолликулярный, зернистоклеточный, акантоматозный, базальноклеточный, монокистозный, десмопластический и периферическую амелобластому [4]. Для некоторых гистологических вариантов амелобластомы характерна большая агрессивность и склонность к злокачественному течению, чем у других.

Иммуногистохимическое исследование опухолевой ткани, полученной в результате расширенной биопсии, позволяет оценить экспрессию белковых маркеров опухолевой прогрессии и спрогнозировать рост опухоли, что обеспечивает выбор объема и методики хирургического вмешательства с учетом особенностей новообразования [5].

В связи с этим, целью настоящей работы было выявление среди различных вариантов амелобластомы, гистологического типа с наиболее агрессивным течением, по пролиферативной активности и объему поражения костной ткани.

Материал и методы

Работа проводилась в лаборатории патологической анатомии отдела общей патологии и отделе хирургической стоматологии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздрава РФ. Было отобрано 74 случая из операционного и биопсийного материала, поступившего в лабораторию с 1997 по 2016 гг. Варианты амелобластом были гистологически верифицированы и систематизированы в соответствии с гистологической классификацией [4]. Для оценки агрессивного роста амелобластомы мы применяли маркер клеточной пролиферации Ki-67, выявляемый в конце G1, S, G2 и M фаз клеточного цикла, исключая фазу G0. Иммуногистохимическое исследование срезов проводилось в соответствии со стандартным протоколом. Депарафинизацию и высокотемпературную демаскировку антигена осуществляли при помощи РТ-модуля. Дальнейшие процедуры осуществлялись в автоматическом режиме на Autostainer 360 Thermo scientific с использованием системы визуализации QUANTO HRP DAB. Готовые срезы докрашивались гематоксилином Майера. Для подсчета индекса Ki-67 в 10 полях зрения с увеличением 200 выявляли ядра Ki-67-положительных клеток на каждые 300 клеток амелобластомы. Результат оценивался в процентах. Взаимосвязь объема опухоли с ее гистологическим вариантом оценивали опираясь на подсчете данных, полученных из историй болезни пациентов, основанных на относительном размере пораженной челюстной кости, выраженном в единицах: за одну единицу измерения был принят размер зубочелюстного сегмента, соответствующий двум молярам. При расположении опухоли в области челюстной кости, ограниченной двумя молярами, размер был принят за 1 единицу, при локализации опухолевого процесса в теле нижней челюсти размером от 3 до 4 см – за 2 единицы, при переходе на угол челюсти – соответствовал 3 единицам, при прорастании ветви челюсти – 4 единицам и при переходе на венечные

отростки весь размер опухолевого узла был равен 5 единицам.

Статистический анализ осуществляли при помощи программы STATISTICA 10.0 в среде Windows 7, после оценки нормальности распределения данных по W-критерию Шапиро–Улка, достоверность различий для количественных признаков с ненормальным распределением осуществляли с помощью U-критерия Манна–Уитни, при этом указаны медианы, 25-й и 75-й процентиля признаков, отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционные взаимоотношения между индексом пролиферации клеток и размером поражения костной ткани оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Из 74 выявленных случаев амелобластомы 32 и 24% составляли, соответственно, плексиформный и фолликулярный гистологические варианты. На остальные 6 гистологических типов (зернистоклеточный, акантоматозный, базальноклеточный, монокистозный, десмопластический и периферическую амелобластому) приходилось 44% случаев.

Плексиформный вариант амелобластомы представлен анастомозирующими между собой полосами и тяжами амелобластического эпителия. В центральной части полос и тяжей находятся периферические базальные клетки с обратной поляризацией ядер и вакуолями в цитоплазме. Для фолликулярного варианта характерны островки – фолликулы из амелобластического эпителия, напоминающие развивающийся эмалевый орган. По периферии островков находятся высокие столбчатые клетки с обратной поляризацией ядер, которые схожи с амелобластами, в центральной зоне – звездчатый ретикулум и микрокисты. Зернистоклеточный вариант опухоли представлен комплексами гранулярных клеток с эозинофильной обильной цитоплазмой со скоплением лизосом. Акантоматозный вариант опухоли отличается тем, что в центральной части выявляются клетки, похожие на звездчатый ретикулум и клетки шиповатого слоя многослойного плоского эпителия, с чешуйчатой метаплазией. Базальноклеточный вариант опухоли состоит из базалиоидных клеток, формирующих гнезда, соединенные между собой сетчатой структурой, по периферии которых встречаются кубовидные и клетки с обратной ядерной поляризацией. Гистологически монокистозный вариант представлен кистозным новообразованием, выстланным по периферии одонтогенным эпителием с характерным палисадным расположением клеток с обратной ядерной полярированностью за счет периферического расположения в цитоплазме вакуолей. За базальным клеточным слоем располагаются слои звездчатого ретикулума. В десмопластическом варианте амелобластомы выявляется десмопластическая фиброзная соединительная ткань, с пронизывающими ее тонкими полосками и гнездами одонтогенного эпителия, и почти полное отсутствие видимых базальных клеток с типичной «палисадностью», обратной поляризацией ядер и вакуолизированной цитоплазмой. Периферическая амелобластома – внекостная, т.е. на рентгеновском снимке отсутствуют признаки опухолевого роста, затрагивающего костную ткань. Опухоль состоит из амелобластного эпителия, формирующего островки со структурой, характерной для фолликулярной и/или плексиформной амелобластомы.

Для статистического анализа взаимосвязи гистологического варианта амелобластомы с объемом по-

| Распределение размеров амелобластомы, выраженных в относительных единицах, и пролиферативной активности клеток в зависимости от гистологического варианта | | | |
|---|--------------------|--|--|
| Гистологический вариант амелобластомы | Количество случаев | Размер MO (Q ₁ ; Q ₂), у.е. | Ki-67 MO (Q ₁ ; Q ₂), % |
| Плексиформный | 24 | 4 (3; 4) | 6,5 (4,5; 10,0) |
| Фолликулярный | 18 | 3 (1; 4) | 4,5 (1,0; 8,0) |
| Зернистоклеточный | 6 | 3 (2; 3) | 3,0 (1,0; 4,0) |
| Акантоматозный | 9 | 4 (2; 4) | 10,0 (2,0; 15,0) |
| Базальноклеточный | 6 | 5 (5; 6) | 21,0 (12,0; 25,0) |
| Монокистозный | 6 | 3 (1; 4) | 2,0 (1,0; 4,0) |
| Десмопластический | 3 | 3 (1; 3) | 5,0 (2,0; 10,0) |
| Периферическая | 2 | 4 (4; 4) | 5,5 (4,0; 7,0) |

Рис. 1. ОПТГ пациентки О. Визуализируется костная полость с поликистозными очертаниями, занимающая тело и угол нижней челюсти справа. Образование состоит из нескольких «дочерних» полостей, отделенных неизменной костной тканью, размер 3 условные единицы.



Рис. 2. Базальноклеточный вариант амелобластомы. Окраска гематоксилин-эозином (×400).

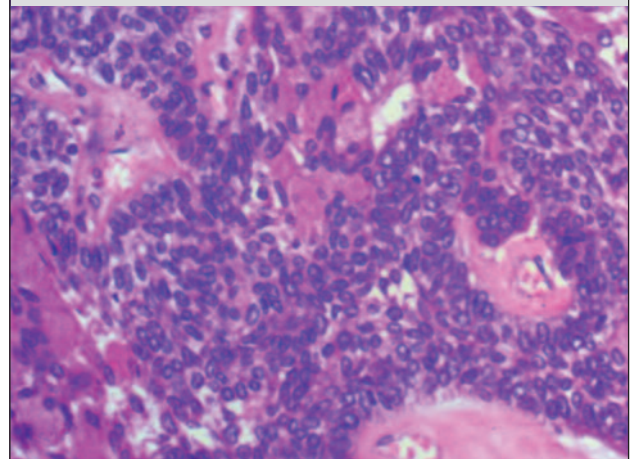
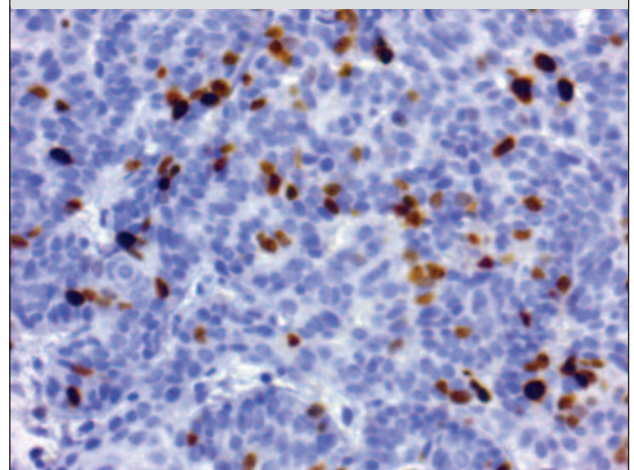


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция при базальноклеточном варианте амелобластомы с антителами к белку Ki-67. Окраска ДАБ-гематоксилин (×400).



ражения костной ткани была составлена сводная таблица, в которой размеры опухоли, определенные рентгенологически по ОПТГ или по КТ-снимкам, были представлены в условных единицах (таблица). На рис. 1. представлена ОПТГ пациентки О., визуализируется костная полость с поликистозными очертаниями занимающая тело и угол нижней челюсти справа. Образование состоит из нескольких «дочерних» полостей, отделенных неизменной костной тканью, размер 3 условные единицы.

Статистический анализ показал, что базальноклеточный вариант амелобластомы характеризуется обширными поражениями костной ткани, размеры этой опухоли достоверно отличаются от плексиформного ($p=0,027$), фолликулярного ($p=0,04$), зернистоклеточного ($p=0,008$), акантоматозного ($p=0,006$), монокистозного ($p=0,028$) и десмопластической амелобластомы ($p=0,020$). Выраженными поражениями костной ткани также характеризуется и плексиформный вариант амелобластомы, его средние размеры достоверно превышают фолликулярный вариант ($p=0,049$).

Для оценки пролиферативной активности клеток различных вариантов амелобластомы был использован индекс пролиферации с белком Ki-67. Известно, что показатели пролиферативной активности клеток на основе выявления белка Ki-67 позволяют различать доброкачественные одонтогенные кисты и одонтогенные опухоли, характеризующиеся агрессивным клиническим течением [6].

Амелобластомы, как правило, характеризовались более высокой пролиферативной активностью периферического клеточного слоя, по сравнению с

клетками составляющими звездчатый ретикулум. По этой причине подсчеты локализации белка Ki-67 проводились в ядрах цилиндрических клеток, расположенных по периферии островков амелобластомы.

Распределение пролиферативной активности клеток амелобластомы в зависимости от гистологического варианта представлено в таблице.

Статистический анализ показал, что в базальноклеточном варианте амелобластомы, характеризующимся обширными поражениями костной ткани, отмечается и достоверно высокая пролиферативная активность клеток по сравнению с другими гистологическими вариантами амелобластомы: от плексиформного ($p=0,0007$), фолликулярного ($p=0,001$), зернистоклеточного ($p=0,0062$), монокистозного

($p=0,004$), десмопластической амелобластомы ($p=0,02$) и периферического варианта ($p=0,045$). На рис. 2. представлен базальноклеточный вариант амелобластомы при окраске гематоксилин-эозином. Рис. 3. иллюстрирует выраженную иммуногистохимическую реакцию при базальноклеточном варианте амелобластомы с антителами к белку Ki-67. Обширными поражениями костной ткани также характеризуется и плексиформный вариант амелобластомы, его пролиферативная активность достоверно выше монокистозного варианта амелобластомы ($p=0,031$).

Исследование коэффициента корреляции во всех нозологических формах амелобластомы между пролиферативной активностью клеток по Ki-67 и размерами поражения костной ткани показало слабую положительную, но достоверную корреляцию ($r=0,267$, $p=0,043$).

Таким образом, вопрос о выборе метода лечения и объеме оперативного вмешательства при доброкачественных одонтогенных опухолях требует дальнейшего рассмотрения с учетом морфологических особенностей их строения и показателей экспрессии маркеров опухолевого роста. Полученные результаты показали, что базальноклеточный вариант амелобластомы характеризуется агрессивностью течения за счет большего объема поражения челюсти и выраженной пролиферативной активностью клеток по сравнению с другими гистологическими вариантами амелобластомы. Плексиформный вариант амелобластомы также характеризуется достоверно более обширными поражениями костной ткани по сравнению с фолликулярным. В свою очередь, объем поражения костной ткани связан с пролиферативной активностью периферического клеточного слоя амелобластомы.

Заключение

Исходя из полученных результатов, следует отметить, что гистологический вариант амелобластомы и пролиферативную активность клеток периферического ее слоя (по показателю Ki-67) можно считать прогностическими показателями агрессивности роста амелобластомы. Базальноклеточный вариант амелобластомы по обширности поражения и высо-

кой пролиферативной активностью клеток является наиболее агрессивным и требует радикальных методов хирургического лечения. Плексиформный вариант амелобластомы также можно рассматривать как агрессивный по показателю обширности поражения по сравнению с фолликулярным, и пролиферативной активности по сравнению с монокистозным.

Литература

1. Кириченко Е.Н. Использование стереолитографического моделирования у пациентов с амелобластомой нижней челюсти. Альманах современной науки и образования. 2014; 5–6 (84): 78–82. / Kirichenko E.N. Ispol'zovanie stereolitograficheskogo modelirovaniya u pacientov s ameloblastomoy nizhnej cheljusti. Al'manah sovremennoj nauki i obrazovaniya. 2014; 5–6 (84): 78–82. [in Russian]
2. Семкин В.А., Бабиченко И.И., Усачев Е.С., Зарецкая А.С. Клинико-морфологическая характеристика амелобластом. Стоматология. 2013; 92: 4: 40–43. / Semkin V.A., Babichenko I.I., Usachev E.S., Zareckaja A.S. Kliniko-morfologicheskaja harakteristika ameloblastom. Stomatologija. 2013; 92: 4: 40–43. [In Russia]
3. Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sidransky D. Odontogenic tumours. In: Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sidransky D. (eds.) World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of head and neck tumors. Lyon: IARC Press; 2005; 306–307.
4. Shaikhi Kh., Neiders N., Chen F., Aguirre A.. Morphological Variants of Ameloblastoma and Their Mimickers. North American Journal of medicine and Science. Jan, 2012; 5: 1: 20–28.
5. Семкин В.А., Григорьян А.С., Бабиченко И.И., Усачев Е.С., Зарецкая А.С. Особенности хирургической тактики при различных формах амелобластических опухолей Стоматология. 2012; 91: 4: 25–27. / Semkin V.A., Grigor'jan A.S., Babichenko I.I., Usachev E.S., Zareckaja A.S. Osobennosti hirurgicheskoy taktiki pri razlichnyh formah ameloblasticheskikh opuholej Stomatologija. 2012; 91: 4: 25–27. [in Russian]
6. Бабиченко И.И., Семкин В.А., Усачев Е.С., Катушкина А.А. Экспрессия Ki-67 и матриксной металлопротеиназы-9 в фолликулярной кисте, кератокистозной одонтогенной опухоли и амелобластоме. Архив патологии. 2013; 75: 1: 10–16. / Babichenko I.I., Semkin V.A., Usachev E.S., Katushkina A.A. Jekspressija Ki-67 i matriksnoj metalloproteiny-9 v follikuljarnoj kiste, keratokistoznoj odontogennoj opuholi i ameloblastome. Arhiv patologii. 2013; 75: 1: 10–16. [in Russian]

Сведения об авторах:

Бабиченко И.И. – д.м.н., профессор, д.м.н., заведующий кафедрой патологической анатомии медицинского института ФГАОУ РУДН, Москва

Рыбальская В.Ф. – ассистент кафедры патологической анатомии ФГАОУ РУДН, Москва

Цимбалист Н.С. – ассистент кафедры патологической анатомии ФГАОУ РУДН, Москва

В.А. Семкин В.А. – профессор, д.м.н., заведующий отделением хирургической стоматологии, ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздрава России, Москва