

Е.С. ЛЕОНТЬЕВА, М.А. ЕГОРОВ, Р.Г. КУЗНЕЦОВА

УДК 616.311-006-07

Казанский государственный медицинский университет
Республиканская клиническая больница МЗ РТ, г. Казань

Имуногистохимические маркеры в диагностике предраковых поражений слизистой оболочки рта и красной каймы губ

Кузнецова Роза Гилевнастарший научный сотрудник научно-исследовательского отдела
420097, г. Казань, ул. Товарищеская, д. 33, кв. 24, тел. 8-917-264-85-29, e-mail: rokuz@mail.ru

В обзоре рассматривается диагностическая значимость иммуногистохимических маркеров в прогнозировании течения предраковых заболеваний слизистой оболочки полости рта (СОПР) и красной каймы губ. Внедрение в практику современных морфологических методов верификации опухолей позволило значительно улучшить качество диагностики злокачественных новообразований. В данном аналитическом обзоре рассматривается диагностическая значимость иммуногистохимических маркеров p53, p63, подопланина, Ki-67, Fas/FasL, ABCG2, MMP-9. Определение иммуногистохимических маркеров имеет высокую диагностическую ценность в сочетании с другими методами прогнозирования течения предраковых заболеваний.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, красная кайма губ, предраковые заболевания, онкомаркеры.

E.S. LEONTYEVA, M.A. EGOROV, R.G. KUZNETSOVAKazan State Medical University
Republican Clinical Hospital of Ministry of Health Care of the Republic of Tatarstan, Kazan

Immunohistochemical markers in the diagnostics of precancerous lesions of the oral mucosa and lips red border

The diagnostic significance of immunohistochemical markers in predicting the course of pre-cancerous diseases of the oral mucosa and the red border of lips is considered in this review of the literature. The introduction into the daily practice of modern methods of morphological verification of tumors, including immunohistochemical studies, thus significantly improved the quality of diagnosis and treatment of malignant neoplasms. This analytical report examines the diagnostic value of immunohistochemical markers such as p53, p63, podoplanin, Ki-67, Fas / FasL, ABCG2, MMP-9, etc. The identification of immunohistochemical markers has a high diagnostic value when combined with other methods of predicting the course of pre-cancerous diseases.

Keywords: oral mucosa, lips red border, premalignant disease, tumor markers.

Своевременная и эффективная диагностика неопластических поражений слизистой оболочки полости рта (СОПР) и красной каймы губ (ККГ) по-прежнему остается серьезной проблемой онкостоматологии. Плоскоклеточный рак полости рта занимает шестое место в мире по частоте среди злокачественных опухолей всех локализаций. В Российской Федерации заболеваемость злокачественными новообразованиями полости рта составляет 2-4% от общего числа злокачественных опухолей человека [6].

В последние годы в структуре заболеваний СОПР произошли существенные изменения, в частности, увеличение доли предраковых заболеваний [5]. В связи с этим эффективное неинвазивное выявление признаков малигнизации остается актуальной задачей стоматологии.

Несмотря на кажущуюся простоту клинической визуализации предикторных изменений СОПР и ККГ в связи с наружной локализацией, определение нозологической формы предрака, основанное только на впечатлении от осмотра и пальпации,



нередко ведет к диагностическим ошибкам, так как различная степень ороговения или изъязвления даже маркерных элементов поражения делает их труднодифференцируемыми [4]. Особенно затруднительна ранняя диагностика озлокащивания, поскольку его клинические признаки появляются немного позднее реально возникшей злокачественной трансформации [5].

Так, исследованиями В.П. Харченко и соавт. показано, что более 2/3 больных к моменту обращения в лечебное учреждение и установления диагноза имеют III–IV стадии заболевания [8]. Одной из причин позднего обращения является «смазанность» клинической картины на начальных стадиях заболевания. Кроме того, доказана необходимость проведения организационно-методической работы и повышения уровня знаний стоматологов о ранних клинических проявлениях предраковых заболеваний СОПР. Проведенное тестирование показало, что только 42,8% врачей-стоматологов дифференцируют ранние проявления рака слизистой полости рта, 4,2% респондентов могут правильно провести первичные диагностические мероприятия по выявлению рака данной локализации.

Процент инкурабельных форм рака СОПР из-за диагностических ошибок, по данным разных авторов, достигает 58,4–70%. Ситуацию осложняют нерешенные вопросы клинической диагностики предрака, особенно трудности дифференциации начала озлокащивания, а также проблема выбора метода лечения предопухолевого заболевания [1, 2]. Отсутствуют абсолютные и относительные показания к проведению биопсии, особенно на этапах консервативного лечения. На сегодняшний день в литературе нет ни одного примера диагностического критерия клинического уровня, на который мог бы сослаться врач-стоматолог при выборе адекватного способа лечения того или иного предопухолевого заболевания.

Разрешение диагностических трудностей большинство авторов видят во вспомогательных методах диагностики (цитологическое исследование, хейлостоматоскопия, биомикроскопия, оптическая когерентная томография) [7]. Однако эти методы достаточно субъективны, так как несут лишь описательный характер качественных изменений в пораженных тканях. Одним из способов количественной оценки морфологических изменений является определение иммуногистохимических маркеров.

Внедрение в повседневную практику современных морфологических методов верификации опухолей позволило значительно улучшить качество диагностики и лечения злокачественных новообразований. Методические возможности современной молекулярной онкологии расширились, в настоящее время с помощью иммуногистохимического исследования можно установить не только гистологический диагноз опухоли, но и дать ее морфофункциональную характеристику с точки зрения агрессивности и прогноза в отношении предракового поражения и уже развившегося онкологического заболевания [3].

По современным представлениям, в основе злокачественной трансформации клеток лежит активация единичных или множественных клеточных онкогенов или генов-супрессоров. Она наблюдается в 30% раковых опухолей человека и во многих случаях может быть выявлена иммуногистохимически. Изучены онкогены *ras* p21, *HER2/neu*, *bcl-2* и гены-супрессоры *p53* и *Rb* в разнообразных опухолях. Некоторые из перечисленных онкогенов (и генов-супрессоров) являются независимыми прогностическими и предсказательными признаками [10, 11].

Эпителий слизистой оболочки полости рта является *locus praedilectionis* формирования раковых опухолей. Внешние факторы (травматические узлы окклюзии, острые края реставраций, несостоятельные ортопедические конструкции, нерациональная индивидуальная гигиена полости рта, воспалительно-

деструктивные поражения пародонта) наряду с генетическими (наследственными) факторами могут играть определяющую роль в возникновении рака данной локализации. В развитие плоскоклеточного рака СОПР могут быть вовлечены повреждения в механизмах контроля процессов гиперплазии эпителия и плоскоклеточной метаплазии.

Морфологические особенности эпителия СОПР в процессе малигнизации связаны с изменением в наборе маркеров дифференцировки (прежде всего цитокератинового фенотипа эпителиального пласта), экспрессии РЭА, а также маркеров пролиферации Ki - 67.

p53 — опухолевый ген — супрессор, белковый продукт которого представляет собой ядерный транскрипционный фактор со многими функциями, включая блокирование прохождения клеток по клеточному циклу и индукцию апоптоза [9]. Белок *p53* экспрессируется во всех клетках организма. При отсутствии повреждений генетического аппарата белок *p53* находится в неактивном состоянии, а при появлении поврежденной ДНК активируется. Активация состоит в приобретении способности связываться с ДНК и активировать транскрипцию генов, которые содержат в регуляторной области нуклеотидную последовательность, которая обозначается *p53-response element*. Мутация *p53*, встречающаяся в клетках около 50% раковых опухолей, приводит к синтезу белка с потерей его функций, но обладающего высокой стабильностью и накапливающегося в ядре, что иммуногистохимически выражается в отчетливом ядерном окрашивании.

Центральную роль в развитии апоптоза играет «дикий» тип гена-онкосупрессора *wt-53* и кодируемый им протеин *p53*. При повреждении ДНК происходит экспрессия гена *wt53* и соответствующего протеина. Последний блокирует клеточный цикл в G1-S фазе и тем самым ингибирует дальнейшую репликацию поврежденной ДНК, которая синтезируется именно в S фазе, и создает условия для удаления поврежденного места и репарации её измененного участка. Если репарация наступает, то клетка продолжает делиться и давать генерацию здоровых клеток. Однако если репарация не наступает, то включаются другие механизмы, обеспечивающие уничтожение такой клетки с поврежденной (мутагенной) ДНК, т.е. развивается генетическая программа клеточной смерти – апоптоз [12].

В работах последних лет [14, 15] высказывается предположение о том, что *p53*-статус может быть решающим фактором, определяющим чувствительность опухоли к химио- и лучевой терапии. Подтверждением этого предположения служат многочисленные исследования, доказывающие, что мутированный *p53* является фактором плохого прогноза и неэффективности адъювантной терапии при разнообразных новообразованиях слизистой полости рта [12].

Высокоинформативным диагностическим значением при прогнозировании течения злокачественных опухолей обладают также и маркеры пролиферации [3]. Пролиферативная активность является ведущим фактором как в механизме злокачественной трансформации клеток, так и в биологическом поведении уже возникших опухолей. Перспективным маркером пролиферативной активности является антиген Ki-67, экспрессирующийся практически во всех фазах клеточного цикла и, соответственно, отражающий величину пролиферативного пула. Ген, кодирующий Ki-67, расположен на длинном плече 10 хромосомы. Ki-67 относится к регуляторным белкам. Его появление совпадает с вступлением клетки в митоз, что позволяет использовать его в качестве универсального маркера пролиферации при оценке роста злокачественных опухолей [9].

Проведен ряд исследований, изучающих диагностическое значение иммуногистохимических маркеров при прогнозировании течения предраковых поражений слизистой оболочки

рта и красной каймы губ. Murti PR и соавт. изучали экспрессию p53 при красном плоском лишае СОПР [14]. При определении иммуногистохимическим методом экспрессии p53 не удалось выявить злокачественный статус предрака СОПР. Авторы предположили, что пик гиперэкспрессии p53 по времени близок к моменту трансформации предрака в рак, и не может быть использован в качестве раннего маркера прогнозирования малигнизации предрака СОПР. Другими исследователями [13] выявлено, что человеческий ген TP53 кодирует как минимум 9 различных изоформ. Другой член семейства p53, p63 включает в себя 6 различных изоформ и играет ключевую роль в развитии СОПР, слюнных желез, зубов и кожи. Было высказано предположение, что p63 связан с развитием плоскоклеточного рака головы и шеи [13]. Однако статистически значимых изменений экспрессии новых изоформ p53 и p63 при предраке СОПР по сравнению с неизменённой тканью не было выявлено. Исследованиями De Sousa FA [15] подтверждена прогностическая значимость маркера p53 при определении потенциала злокачественной трансформации предрака СОПР. В то же время, некоторые авторы считают, что p53 не может быть использован как единственный маркер для прогнозирования развития рака [9].

Не менее перспективным в прогностическом плане представляется иммуногистохимическое выявление в образцах исследуемых тканей подоплатина — интегрального мембранного мукопротеина, экспрессируемого как неизменённым, так и воспалительно-изменённым и неопластическим эндотелием лимфатических капилляров [10]. Исследователями [13] была выявлена статистически значимая взаимосвязь экспрессии подоплатина и ABCG2 (АТФ-связывающего белка, подгруппы G2) с риском злокачественной трансформации красного плоского лишая (риск был значительно выше с коэкспрессией подоплатина и ABCG2, чем без коэкспрессии подоплатина и ABCG2) и сделан вывод, что подоплатин и ABCG2 могут быть использованы в качестве биомаркеров для оценки риска злокачественной трансформации при предраковых поражениях СОПР.

Исследования зарубежных учёных подтвердили диагностическую значимость экспрессии Fas/FasL в качестве биомаркеров развития рака СОПР. Fas является трансмембранным гликопротеином I типа (синонимы APO-I, CD95) и индуцирует апоптоз в клетке после взаимодействия с Fas-лигандом (FasL) или агонистическими моноклональными антителами против Fas.

Вместе с тем известно, что Fas экспрессирован практически во всех типах тканей. Повышенная экспрессия Fas наблюдается в почках, печени, сердце и тимусе. Кроме этого, этот рецептор экспрессирован на многих опухолях, а также вирус-инфицированных клетках. Причиной устойчивости различных типов клеток к Fas-зависимому апоптозу может быть повышенная продукция растворимого Fas этими клетками. Растворимый Fas является продуктом альтернативного сплайсинга и способен ингибировать апоптоз, индуцированный агонистическими моноклональными антителами против Fas или FasL.

Таким образом, неоднозначная трактовка результатов проведённых исследований различными авторами позволяет сделать заключение о том, что на современном этапе развития молекулярной онкологии использование иммуногистохимических маркеров перспективно в сочетании с другими методами диагностики и прогнозирования течения предраковых поражений СОПР.

Особую актуальность имеет проблема ранжирования иммуногистохимических маркеров по диагностической значимости. Полагаем, что в порядке убывания значимости они могут быть расположены в следующем порядке:

1) Иммуногистохимические маркеры высокой степени диагностической значимости: подоплатин, ABCG2, bcl-2;

2) Иммуногистохимические маркеры средней степени диагностической значимости: Вах, MMP-9;

3) Перспективные иммуногистохимические маркеры, диагностическая значимость которых требует дальнейшего изучения: MMP-2, MT1-MMP, Fas/FasL;

4) Иммуногистохимические маркеры, диагностическая значимость которых для прогнозирования течения предраковых заболеваний не доказана: p53, p63.

Основываясь на проведенном анализе литературных данных можно сделать вывод, что определение иммуногистохимических маркеров не должно рассматриваться как единственный метод прогнозирования течения предраковых заболеваний СОПР и выявления степени риска злокачественной трансформации, но, тем не менее, метод имеет высокую диагностическую ценность при сочетании с другими методами прогнозирования течения предраковых заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белева Н.С. Совершенствование диагностики и комплексного лечения в системе диспансеризации больных красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Пермь, 2010. — 26 с.
2. Белёва Н.С., Либик Т.В. Факторы системного риска у больных с проявлениями красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта // Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. — Пермь, 2009. — С. 191-194.
3. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. — Казань, 2004. — 452 с.
4. Соловьев М.М. Рак слизистой оболочки полости рта и языка (резервы улучшения результатов лечения) // Практическая онкология. — 2003. — Т. 4, №1. — С. 42.
5. Филюрин М.Д. Комплексная диагностика предрака красной каймы губ и слизистой оболочки рта и ее значение для клинической практики: автореф. дис. ... докт. мед. наук. — Омск, 1994. — 28 с.
6. Фомина Ю.В. Диагностика доброкачественных и неопластических заболеваний слизистой оболочки полости рта с использованием оптических методов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Н. Новгород, 2003. — 24 с.
7. Фомина Ю.В., Гажва С.И. Оптическая когерентная томография в диагностике заболеваний слизистой оболочки полости рта // Приложение к НМЖ. Стоматология. — 2003. — С. 122.
8. Харченко В.П. Малоинвазивные вмешательства под УЗИ контролем в клинике внутренних болезней. — Смоленск, 2005. — 192 с.
9. Acay R.R., Felizzola C.R. Evaluation of proliferative potential in oral lichen planus and oral lichenoid lesions using immunohistochemical expression of p53 and Ki67 // Oral Oncol. — 2006. — Vol. 42, № 5. — P. 475-480.
10. Breiteneder Gelef S. et al. Angiosarcomas Express Mixed Endothelial Phenotypes of Blood and Lymphatic Capillaries // Am. J. Pathol. — 1999. — Vol. 154. — P. 385-394.
11. Doerschuk C., Allard M., Martin B. et. al. Marginated Pool of Neutrophils in Rabbit Lungs // J. Appl. Physiol. — 1987. — № 63. — P. 1806-1815.
12. Ebrahimi M., Boldrup L. Expression of novel p53 isoforms in oral lichen planus // Oral Oncol. — 2008. — Vol. 44, № 2. — P. 156-61.
13. Ebrahimi M., Boldrup L., Wahlin Y.B. Decreased expression of the p63 related proteins beta-catenin, E-cadherin and EGFR in oral lichen planus // Oral. Oncol. — 2008. — Vol. 44, № 7. — P. 634-638.
14. Murti P.R. P53 expression in oral precancer as a marker for malignant potential // J. of Oral Pathology & Medicine. — 1998. — Vol. 27, № 5. — P. 191-196.
15. De Sousa F.A., Paradella T.C., Carvalho Y.R. Comparative analysis of the expression of proliferating cell nuclear antigen, p53, bax, and bcl-2 in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma // Annals of Diagnostic Pathology. — 2009. — Vol. 13, № 5. — P. 308-312.