

Березин К.А., Старцева Е.Ю.

## **Выбор и обоснование возможностей использования иммуногистохимического метода исследований в диагностике ранних проявлений кератотических процессов слизистой оболочки рта (обзор литературы)**

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Казань

Berezin K. A., Startseva E. Y.

### **Selection and justification of possibilities of use of the method of immunohistochemical studies in the diagnosis of early manifestations ceratotheca processes of the oral mucosa (literature review)**

#### **Резюме**

В настоящем обзоре рассматриваются актуальные вопросы значимости использования иммуногистохимических методов исследования в прогнозировании и ранней диагностике патологических процессов слизистой оболочки рта. Определение иммуногистохимических маркеров в данном случае имеет высокую диагностическую ценность в качественной верификации признаков озлокачествления кератотических процессов слизистой оболочки рта.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка рта, общественное здравоохранение, стоматологическое здоровье, иммуногистохимия, предраковые заболевания, иммуногистохимические маркеры

#### **Summary**

In this review, we consider topical issues of the importance of the use of immunohistochemical research methods in the prediction and early diagnosis of pathological processes of the oral mucosa. Determination of immunohistochemical markers in this case has a high diagnostic value in the qualitative verification of signs of malignancy of keratotic processes of the oral mucosa.

**Key words:** oral mucosa, public health, dental health, immunohistochemistry, precancerous diseases, immunohistochemical markers

#### **Введение**

Иммуногистохимия – это высокоточный современный метод диагностики, который позволяет выявить и идентифицировать антигены в клиническом материале, которые присущи патологическим состояниям. Готовые гистологические препараты обрабатываются специальными реактивами, содержащими специфические антитела – специфические белки, меченые определенными веществами к выявляемому веществу, которое в данной ситуации служит антигеном. Антитела имеют специфическую пространственную структуру, которая позволяет им связываться с антигеном – искомым веществом в исследуемом материале. В результате этого между ними образуется комплекс и происходит окрашивание ткани.

Такая химическая реакция называется «антиген-антитело», и указывает на наличие специфических для патологии веществ во взятом образце. В частности, в ходе иммуногистохимического исследования могут ис-

кать некоторые рецепторы к гормонам (например, эстрогену, прогестерону и другим), онкологические маркеры, маркеры усиленного роста раковых клеток и другие антигены. В клинической практике чаще всего применяется метод непрямой иммуногистохимии, когда антигены, полученные из ткани пациента, связывают с первичными антителами. Так получается комплекс «антиген-антитело», к которым прикрепляют вторичные антитела [14].

Существуют также некоторые трудности диагностики патологии слизистой оболочки рта, которые обусловлены многообразием заболеваний, локализующихся в этой области, и сходством их клинических проявлений, динамическим изменением клинической картины под действием неблагоприятных внешних (экологических) и внутренних (соматическая патология) факторов, длительным приемом лекарственных препаратов, преимущественно хроническим рецидивирующим течением многих заболеваний, проявлением на слизистой оболочке

рта и губ симптомов общих заболеваний: болезней крови, нарушений обмена, венерических заболеваний, СПИДа.

Определение нозологической формы заболевания, основанное только на результатах комплексного стоматологического осмотра полости рта, нередко приводит к различным диагностическим ошибкам, так как степень ороговения или изъязвления даже маркерных элементов поражения делает их трудно дифференцируемыми для визуального осмотра. Особенно затруднительна ранняя диагностика признаков озлокачествления патологических состояний на слизистой оболочке рта, поскольку их клинические признаки появляются немного позже уже реально возникшей злокачественной трансформации [12, 13].

*Целью* проведенного анализа доступной нам литературы являлась необходимость аналитической систематизации имеющихся данных, позволяющих получить полное представление об изучении значимости использования иммуногистохимического метода и иммуногистохимических маркеров в ранней диагностике патологических состояний тканей слизистой оболочки рта.

Материалы и методы исследования: литературный обзор.

Среди всех заболеваний слизистой оболочки рта патологические состояния, связанные с нарушением процессов ороговения или эрозирования встречаются в среднем у  $13,5 \pm 1,67\%$  пациентов. При этом сложность ранней диагностики и проведения эффективного лечения требует постоянного совершенствования методик и дальнейшего изучения заболеваний данной группы [2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 24, 25, 28].

В последние годы в структуре заболеваний слизистой оболочки рта произошли существенные изменения, в частности, увеличение доли предраковых заболеваний [5]. При этом предраковые заболевания органов и тканей полости рта составляют в среднем 2-4 % от общего числа злокачественных опухолей человека [4, 6, 7, 9].

Лейкоплакия слизистой оболочки рта относится к факультативным предракам, степень вероятности и частота малигнизации которых четко не определены и, по данным разных отечественных и зарубежных ученых варьируют от 15 до 70% случаев.

По данным разных авторов высокий процент неизлечимых или инкурабельных форм рака слизистой оболочки рта достигает в среднем от 58,4 до 70% случаев, что чаще всего обусловлено различными диагностическими ошибками [1]. В исследованиях В.П. Харченко и соавт. показано, что более 2/3 больных к моменту обращения в лечебные учреждения и на момент установления диагноза уже имеют выраженные стадии заболевания - III - IV [16].

Гипер или кератотические проявления могут встречаться при различной патологии слизистой оболочки рта, при этом в диагностике совершенно недостаточно основываться на наличии элементов поражения, а следует использовать различные дополнительные методики, указывающие на те, или иные патологические процессы. Причем, эти методики должны быть эффективными. К

одной из таких относится иммуногистохимический метод с применением маркеров. В настоящее время иммуногистохимический анализ используется для диагностики и прогнозирования течения предраковых заболеваний слизистой оболочки рта и оценки качества или успешности проводимого лечения. К иммуногистохимическим маркерам относятся рецепторы к эстрогенам, к прогестерону, Ki-67 (маркер активности опухоли), her-2 neu (эпидермальный фактор роста, определяет чувствительность опухоли к химиопрепарату трастузумабу/герцептину), VEGF (сосудистый фактор роста), Bcl-2, p53, p63, Fas/ FasL, ABCG2, MMP-9 и др. В отличие от иммуногистохимического анализа, их невозможно определить при обычном гистологическом исследовании.

Проведен ряд исследований, изучающих диагностическое значение иммуногистохимических маркеров при прогнозировании течения предраковых поражений слизистой оболочки рта. 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 [15, 17, 18, 19].

Исследованиями De Sousa FA подтверждена прогностическая значимость маркера *p53* при определении потенциала злокачественной трансформации предрака СОР. В то же время, некоторые авторы считают, что *p53* не может быть использован как единственный маркер для прогнозирования его развития, а также является фактором плохого прогноза и неэффективности терапии при разнообразных новообразованиях слизистой полости рта [23, 17, 19].

Исследователями была выявлена статистически значимая взаимосвязь экспрессии подоπλαина и ABCG2 (АТФ-связывающего белка, подгруппы G2) у пациентов с риском злокачественной трансформации красного плоского лишая. В данном случае, авторами определен значительно высокий риск развития патологии слизистой оболочки рта на основании анализа данных полученных при исследовании маркеров. Коэкспрессия подоплаина и ABCG2 в данном случае была выше, чем без коэкспрессии подоплаина и ABCG2, и авторами сделан вывод, что подоплаин и ABCG2 могут быть использованы в качестве высокоэффективных биомаркеров в оценке риска злокачественной трансформации при предраковых поражениях слизистой оболочки рта [19, 20, 21, 22, 26].

В исследованиях зарубежных учёных продолжается изучение диагностической значимости экспрессии Fas/ FasL как перспективного биомаркера в диагностике развития рака слизистой оболочки рта.

При иммуногистохимическом исследовании биоптатов неизмененного эпителия пролиферирующие клетки выявлялись только в базальном слое, при этом в 6 случаях

в ядрах клеток всех слоев выявляется белок P16INK4a, а в 2 случаях — белок HPV16. При анализе данных биоптатов полученных со слизистой оболочки рта с лейкоплакией, с гиперплазией и явлениями гиперкератоза экспрессия Ki-67 выявлялась в ядрах эпителиальных клеток базального и парабазального слоев. При данном виде патологии экспрессия белка P16INK4a отмечалась в ядрах многослойного плоскокого эпителия всех исследованных зон в 77% случаев, положительная реакция на вирусные антигены HPV16 — в 34%. При лейкоплакии слизистой оболочки рта с явлениями SIN количество пролиферирующих клеток увеличилось в парабазальной области и зоне шиповатых клеток. В этих же зонах в 75% случаев выявлялась экспрессия белка P16INK4a и в 50% — антигены HPV16 в виде небольших включений в клеточные ядра и цитоплазму [8, 23].

При диагностировании плоскоклеточного рака по результатам иммуногистохимических исследований в периферических и центральных клеточных зонах количество пролиферирующих клеток также значительно увеличилось по сравнению с таковыми при гиперплазии и SIN; в этих же областях в 86% случаев отмечена высокая ядерная экспрессия белка P16INK4a и в 62% случаев — включения антигенов HPV16 в клеточные ядра и цитоплазму [8].

Повышенная экспрессия гена P16INK4a — не прямой маркер HPV, отражающий нарушение механизмов, контролирующих клеточную пролиферацию, и характеризующий персистенцию инфекции с высоким риском развития процесса неоплазии [27]. Неоднозначная трактовка результатов проведенных исследований различными авторами позволяет сделать заключение о том, что на современном этапе развития молекулярной онкологии использование иммуногистохимических маркеров пер-

спективно в сочетании с другими методами диагностики и прогнозирования течения предраковых поражений слизистой оболочки рта обусловленных гиперкератотическими процессами. Некоторые из перечисленных онкогенов (и генов-супрессоров) являются ранними независимыми прогностическими и предсказательными признаками [3, 8, 29].

## Заключение

Таким образом, анализ данных литературы отечественных и зарубежных авторов убедительно показывают, что применение иммуногистохимических исследований с оценкой и анализом иммуногистохимических маркеров могут служить важным дополнительным критерием в оценке здорового состояния тканей слизистой оболочки рта. Внедрение в клиническую практику иммуногистохимических методов исследований позволяет не только существенно повысить качество ранней диагностики нарушений состояния тканей слизистой оболочки рта, но и в зависимости от этого планировать адекватные лечебно-профилактические мероприятия. ■

*Березин Константин Алексеевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Старцева Елена Юрьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань. Автор, ответственный за переписку — Березин Константин Алексеевич, 420012, Россия, Казань, Бутлерова, 49, тел. 8 (987) 207-52-02, e-mail: Zodiakmed@gmail.ru*

## Литература:

1. Белёва Н.С. Клинико-топографические особенности красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта / Н.С. Белёва // *Материалы Всероссийского конгресса «Стоматология Большого Урала»*. — Пермь. - 2009. — С.16-18.
2. Быков, В.Л. Тканевая инженерия слизистой оболочки полости рта / В.Л. Быков // *Морфология*. — 2010. — Т. 137, № 1. — С. 62-70.
3. Глазкова Ю.П. Роль отклонений в цитокиновом статусе при красном плоском лишае слизистой оболочки полости рта и красной каймы губ / Ю.П. Глазкова, А.В. Терещенко, И.М. Корсунская // *Современные проблемы дерматологии, иммунологии и врачебной косметологии*. — 2010. — Т.6, № 6. — С.38—41.
4. Комплексная стоматологическая реабилитация больных с заболеваниями слизистой оболочки полости рта: рациональные подходы к протетическому лечению / О.С. Гилева, Ж.С. Яшина, Т.В. Либик [и др.] // *Стоматология для всех*. — 2013. — № 4. — С. 9-14.
5. Ксембаев С.С. Предраки слизистой оболочки рта, красной каймы губ и кожи лица / С.С. Ксембаев. — Казань, 2011. — 112 с.
6. Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта: классификация, гистопатология, методы диагностики и лечения / Л.О. Скородумова, А.А. Мураев, Е.В. Володина [и др.] // *Вопросы онкологии*. — 2013. — Т. 59, № 5. — С. 548-554.
7. Луцкая И.К. Кератозы слизистой оболочки полости рта / И.К. Луцкая, О.Г. Зиновенко, В.А. Андреева // *Здравоохранение (Минск)*. — 2014. — № 8. — С. 18-25.
8. Методы комплексной диагностики лейкоплакии слизистой оболочки рта / О.Ф. Рабинович, И.И. Бабиченко, И.М. Рабинович, А.А. Тогоидзе // *Стоматология*. — 2014. — № 5. — С.38—41.
9. Михальченко В.Ф. Анализ заболеваний слизистой оболочки полости рта в Волгоградской области / В.Ф. Михальченко, А.В. Михальченко, А.А. Боденкова // *Современные проблемы науки и образования*. — 2016. — № 2. — С. 40.
10. Михальченко, В.Ф. Проблемы ранней диагностики онкологических заболеваний в клинике терапевти-

- ческой стоматологии и пути их решения / В.Ф. Михальченко, И.В. Фирсова, А.Н. Попова // *Волгоградский научномедицинский журнал*. – 2012. – № 2 (34). – С. 39-41.
11. Позднякова, Т.И. Скрининговые методы диагностики онкологических заболеваний слизистой оболочки рта / Т.И. Позднякова, Ю.А. Смирнова // *Dental Forum*. – 2013. – № 1. – С. 34-37.
  12. Проблема ранней диагностики онкопатологии слизистой оболочки рта (социальные аспекты) / С.И. Гажва, А.В. Грехов, Т.П. Горячева, И.В. Сенина Волжская // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 3. – С. 107.
  13. Соловьев М.М. Рак слизистой оболочки полости рта и языка (резервы улучшения результатов лечения) // *Практическая онкология*. – 2003. – Т. 4, №1. – С. 42.
  14. Старцева Е.Ю. Иммуногистохимические показатели эффективности назначения кальцийсодержащих препаратов при лечении апикальных форм периодонтита/ Е.Ю. Старцева, К.А. Березин // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – №3. – С. 42-46.
  15. Усманова И.Н. Способ дифференциальной диагностики кератотических процессов слизистой оболочки рта относящихся к «белым проявлениям» / И.Н.Усманова, Л.П.Герасимова, М.Ф.Кабирова, И.Р.Усманов, и др // *Патент на изобретение № 2544173 от 04.02.2015г.* Бюллетень № 7.
  16. Харченко В.П. Малоинвазивные вмешательства под УЗИ контролем в клинике внутренних болезней. – Смоленск, 2005. – 192 с.
  17. Acay R.R., Felizola 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.
  18. Allen, K. Screening and referral of oral mucosal pathology: a check-up of Australian dentists / K. Allen, C. Farah // *Aust. Dent. J.* – 2015. – Vol. 60. – P. 5258.
  19. Breiteneder Gelef S. et al. Angiosarcomas Express Mixed Endothelial Phenotypes of Blood and Lymphatic Capillaries // *Am. J. Pathol.* – 1999. – Vol. 154. – P. 385-394.
  20. 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.
  21. Doerschuk C., Allard M., Martin B. et al. Marginated Pool of Neutrophils in Rabbit Lungs // *J. Appl. Physiol.* – 1987. – № 63. – P. 1806-1815.
  22. 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.
  23. Interventions for treating oral leukoplakia to prevent oral cancer / G. Lodi, R. Franchini, S. Warnakulasuriya [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2016. – № 7. – CD001829.
  24. McCullough, M.J. Oral mucosal malignancy and potentially malignant lesions: an update on the epidemiology, risk factors, diagnosis and management / M.J. McCullough, G. Prasad, C.S. Farah // *Aust. Dent. J.* – 2010. – Vol. 55 (Suppl. 1). – P. 61-65.
  25. Methodological aspect of forming the system of indicators in medical ecology (SCOPUS) / A. V. Gordeeva, I. D. Sitdikova, E. N. Mingazova, D. V. Lopushov, E. Y. Startseva // *Indo American journal of Pharmaceutical sciences*. – 2018. – Supplement No.5 (10). – P. 10343-10347 – ISSN 2349-7750.
  26. 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.
  27. Nasser W., Flechtenmacher C., Holzinger D., Hofele C., Bosch F.X. Aberrant expression of p53, p16INK4a and Ki-67 as basic biomarker for malignant progression of oral leukoplakias. *J Oral Pathol Med* 2011; 40: 8: 629–635.
  28. Risk assessment as a criterion of environmental stress/ Svetlana A. Fadeeva, Irina D. Sitdikova, Elmira N. Mingazova, Dmitry V. Lopushov, Konstantin A. Berezin. // *Indo American journal of Pharmaceutical sciences*. – 2018. – Vol. 05 (09). – P. 9323-9327 – ISSN 2349-7750
  29. The evaluation of the immunohistochemical changes of the periodontal tissue in the individuals of young ageon Hormonal Metabolism of Blood Serum (SCOPUS) / E.Y. Startseva, K. A. Berezin [et al.] // *Морфология*. – 2018. – Т. 153, Vol. 03. – P. 40-41 – ISSN 0004-1947