

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
DIN CRAIOVA**

Teza de doctorat

- REZUMAT -

**STUDIUL FACTORILOR PROGNOSTICI ÎN
AMELOBLASTOAME**

**Conducător Științific:
Prof. Univ. Dr. SIMIONESCU CRISTIANA EUGENIA**

Doctorand: ALMA MARIA FLORESCU

CRAIOVA 2013



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
CERCETĂRII
TINERETULUI
ȘI SPORTULUI
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI
FARMACIE CRAIOVA

Investește în oameni!

FONDUL SOCIAL EUROPEAN

Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013

Axa Prioritară: 1. Educația și formarea profesională în sprijinul creșterii economice și dezvoltării societății

Domeniul Major de Intervenție: 1.5. Programe doctorale și postdoctorale în sprijinul cercetării

Titlu proiect: "Sprijinirea tinerilor doctoranzi cu frecvență prin acordarea de burse doctorale"

Cod Proiect: POSDRU/6/1.5/S/8

Beneficiar: Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova

DISCIPLINE FUNDAMENTALE – DAM 01

MORFOPATOLOGIE – DASc 22

CUPRINS

INTRODUCERE	1
STADIUL CUNOAȘTERII	
CAPITOLUL I. TERMINOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA ȘI ETIOPATOGENIA AMELOBLASTOAMELOR	4
I.A. TERMINOLOGIA AMELOBLASTOAMELOR	4
I.B. EPIDEMIOLOGIA AMELOBLASTOAMELOR	6
I.C. ETIOPATOGENIA AMELOBLASTOAMELOR	11
CAPITOLUL II. ASPECTE CLINICE ȘI IMAGISTICE ÎN AMELOBLASTOAME	17
II.A. ASPECTE CLINICE ÎN AMELOBLASTOAME	17
II.B. ASPECTE IMAGISTICE ÎN AMELOBLASTOAME	19
CAPITOLUL III. FACTORI DE PROGNOSTIC ÎN AMELOBLASTOAME	21
CAPITOLUL IV. TRATAMENTUL AMELOBLASTOAMELOR	28
CERCETĂRI PERSONALE	
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI	32
CAPITOLUL V. MATERIAL ȘI METODE	33
V.A. MATERIALUL STUDIAT	33
V.B. METODE UTILIZATE ÎN CERCETARE	34
CAPITOLUL VI. REZULTATE	41
VI.A. STUDIUL CLINICO-EPIDEMIOLOGIC ȘI IMAGISTIC AL AMELOBLASTOAMELOR	41
VI.A.1. Studiul clinico-epidemiologic ameloblastoamelor	41
VI.A.2. Studiul imagistic al ameloblastoamelor	44
VI.B. STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL AMELOBLASTOAMELOR	48
VI.B.1. Ameloblastomul solid	48
VI.B.2. Ameloblastomul unichistic	63
VI.B.3. Ameloblastomul desmoplazic	68
VI.B.4. Analiza extensiei tumorale în ameloblastoame	69
VI.C. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL AMELOBLASTOAMELOR	73
VI.C.1 STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL POTENTIALULUI TUMORIGEN AL AMELOBLASTOAMELOR	73
VI.C.1.1. Analiza imunoexpresiei oncoproteinei p53 în ameloblastoame	73
VI.C.1.2. Analiza imunoexpresiei oncoproteinei bcl-2 în ameloblastoame	78
VI.C.1.2. Analiza imunoexpresiei proteinei p16 în ameloblastoame	83
VI.C.2. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL AGRESIVITĂȚII TUMORALE ÎN AMELOBLASTOAME	88
VI.C.2.1 Investigarea ratei de proliferare în ameloblastoame cu markerul Ki67	88
VI.C.2.2. Investigarea potențialului invaziv al ameloblastoamelor prin expresia MMP-9	93
VI.C.2.3. Investigarea potențialului invaziv al ameloblastoamelor prin expresia TIMP-2	98
VI.C.2.4. Investigarea potențialului invaziv al ameloblastoamelor prin expresia E-Caderinei	103
VI.C.2.5 Investigarea potențialului invaziv al ameloblastoamelor prin expresia vimentinei	110
CAPITOLUL VII. DISCUȚII	114
VII.A. ANALIZA CARACTERISTICILOR CLINICO-EPIDEMIOLOGICE ȘI IMAGISTICE ALE AMELOBLASTOAMELOR	114
VII.B. ANALIZA CARACTERISTICILOR HISTOPATOLOGICE ALE AMELOBLASTOAMELOR	118
VII.C. ANALIZA CARACTERISTICILOR IMUNOHISTOCHIMICE ALE AMELOBLASTOAMELOR	124
CAPITOLUL VIII. CONCLUZII	141
BIBLIOGRAFIE	144

SCOPUL SI OBIECTIVELE STUDIULUI

Scopul acestui studiu derivat din variabilitatea marcată a factorilor etio-patogenici și de risc implicați în dezvoltarea tumorilor odontogene și în mod deosebit al ameloblastoamelor este acela de a stabili particularitățile clinico-epidemiologice, histologice și imunohistochimice ale acestor tumori și identificarea factorilor implicați în tumorigeneză sau cu valoare prognostică.

În acest sens se va urmări îndeplinirea următoarelor obiective:

- identificarea originii neoplaziilor;
- evaluarea implicării factorilor de risc în apariția tumorilor;
- stabilirea diferitelor patternuri histologice și gradul de extensie tumorală;
- stabilirea profilului imunohistochimic al neoplaziilor;
- stabilirea relațiilor dintre anumiți parametrii clinico-morfologici și imunohistochimici și gradul de agresivitate ameloblastoamelor, cu identificarea markerilor cu valoare prognostică.

CUVINTE CHEIE: AMELOBLASTOM, FACTORI PROGNOSTICI, STUDIU CLINICO-IMAGISTIC, HISTOPATOLOGIC SI IMUNOHISTOCHEMIC

STADIUL CUNOAȘTERII

Tumorile derivate din țesuturile odontogene sunt relativ rare, reprezentând doar aproximativ 1-3% din toate tumorile maxilarelor [10, 88, 122]. Ameloblastomul deși este cea mai frecventă neoplazie odontogenă [93], constituie aproximativ jumătate din tumorile maxilarelor [65, 122, 184].

Ameloblastomul este o tumoră epitelială odontogenă benignă, asemănătoare morfologic cu organul smalțului. Conform definiției OMS (1992), ameloblastomul este un neoplasm polimorf benign, dar invaziv local, constând din proliferarea epiteliului odontogen, de obicei cu aspect folicular sau plexiform, la care se asociază o stromă fibroasă. [101].

Actual, cea mai utilizată clasificare, bazată pe criteriile clinice, radiologice și morfologice, împarte ameloblastoamele în următoarele categorii [122, 184]: ameloblastomul solid, ameloblastomul unichistic, ameloblastomul desmoplazic, ameloblastomul periferic, ameloblastomul malign. Ca urmare a diversității aspectelor clinico-patologice și a caracteristicilor radiologice, diagnosticul și tratamentul corect al ameloblastoamelor continuă să constituie o adevărată provocare.

Ameloblastoamele constituie un grup de tumori considerate „enigmatice” [98], deoarece etiologia lor este încă necunoscută [157]. Există o serie de modificări genetice și moleculare care par să promoveze dezvoltarea și progresia multistadială a tumorilor odontogene [122]. Unele dintre acestea includ oncogene cum este receptorul factorului de creștere fibroblastic, factori de transcriere (myc), gene supresoare tumorale (gena retinoblastomului, oncovirusuri) [115]. Mecanismele prin care ameloblastoamele cresc și evoluează invazia includ supraexpresia proteinelor anti-apoptice (Bcl-2, Bcl-xL) și a proteinelor de interfață (factorul de creștere fibroblastic FGF și metaloproteinazele matriceale MMPs). Factorii de prognostic histopatologici și moleculari sunt destul de puțin investigați atât în ameloblastom cât și în carcinomul ameloblastic. Se apreciază că transformarea neoplazică, constând dintr-o acumulare multistadială de evenimente genetice adverse, apare într-o mare varietate de tumori umane pe regiuni ale genomului uman [59]. Un rol important în aprecierea prognosticului neoplaziilor îl are stabilirea tipului și subtipului histopatologic de ameloblastom. Cele mai multe studii s-au concentrat totuși pe legătura indirectă dintre proteinele exprimate de tumoră și comportamentul biologic.

CERCETĂRI PERSONALE

CAPITOLUL V. MATERIAL ȘI METODE

Studiul efectuat a fost de tip analitic retrospectiv și prospectiv, în care am comparat trasăturile clinice, morfologice și biomoleculare ale ameloblastoamelor, diagnosticate în cadrul Laboratorului de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova (1996-2012). Lotul de studiu a inclus un număr de 211 de tumori odontogene, 42 dintre acestea fiind ameloblastoame.

Metodele utilizate în prezentul studiu au cuprins studiul clinic, morfologic și imunohistochimic. Pentru fiecare caz în parte s-a întocmit o fișe de urmărire (anexa 1).

- Pentru studiul clinico-epidemiologic, investigația foilor de observație retrospective și actuale, a furnizat date privind: anul diagnosticului, sexul și vârsta pacienților, simptomatologia, modificările obicetive, precum și aspectele imagistice.

- Studiul morfologic al ameloblastoamelor a urmărit identificarea principalilor parametri microscopici ai tumorilor. Piesele de exereza chirurgicală au fost fixate în formol 10% tamponat, prelucrate prin tehnica uzuală de includere la parafină, urmată de colorarea standard cu Hemalaum-Eozină și în colorații speciale (colorația Gomory și colorația Acid Periodic Schiff). Analiza histopatologică a inclus următoarele criterii de apreciere: tipul și subtipul arhitectural și/sau citologic, precum și invazia tumorală în structurile adiacente.

- Studiul imunohistochimic a fost unul de tip cu detecție enzimatică folosind ca metodă de lucru tehnica LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin2 System). Anticorpii folosiți în acest studiu s-au adresat:

- aprecierii agresivității tumorale prin: investigarea ratei de proliferare a celulelor tumorale cu markerul Ki67; investigarea potențialului invaziv urmărind expresia de către celulele tumorale a markerilor MMP-9 și TIMP-2; investigarea potențialului de tranziție epitelio-mezenchimală a celulelor tumorale cu ajutorul markerilor E-caderină și vimentină.

- aprecierea potențialului tumorigen prin investigarea expresiei la nivelul celulelor tumorale a markerilor bcl2, p16 și p53.

- Pentru analiza statistică au fost utilizate valori medii, deviații standard și intervale de încredere, precum și teste de comparație (Anova unifactorială, Chi pătrat, Pearson) pentru loturile constituite, realizate cu ajutorul softului SPSS10.

CAPITOLUL VI. REZULTATE

VI.A. STUDIUL CLINICO-EPIDEMIOLOGIC ȘI IMAGISTIC AL AMELOBLASTOAMELOR

- Cele 42 ameloblastoame analizate clinic, au fost selectate într-o perioadă de timp de 18 ani, cuprinsă între anii 1998-2012. Numărul cazurilor diagnosticate pentru un an calendaristic a variat între 1 și 5 cazuri/an. Analiza cazurilor selectate în funcție de grupa de vârstă a indicat faptul că cea mai mare parte a acestora au fost diagnosticate în decadele a IV-a și a V-a de viață. Am observat că ameloblastoamele au prezentat o ușoară predominanță la sexul masculin față de sexul feminin. Un alt parametru investigat a fost reprezentat de topografia ameloblastoamelor. Localizarea tumorilor a fost predominant la nivelul mandibulei cu un raport mandibulă / maxilar de 6/1. Analiza semnelor obiective în urma examenului clinic local a evidențiat în majoritatea cazurilor prezența unei tumefacții endoorale, cu dimensiuni variabile, dură, care a deformează planul osos.

- Din cele 42 de ameloblastoame, 34 au fost investigate imagistic, prin radiografie simplă în diferite incidente în toate cele 34 de cazuri, la care în 18 cazuri s-a adăugat și tomografia

computerizata. Investigațiile radiologice de rutină au evidențiat aspecte variate. Cel mai frecvent aspectul a corespuns unei radiotransparențe rotunde, multiloculare, asemănătoare chisturilor, cu margini bine delimitate. La examenul CT s-au observat de asemenea formațiuni tumorale cu aspect chistic uneori voluminoase, la nivelul ramului ascendent mandibular drept care determină deformarea importantă a conturilor gonionului și ramului ascendent mandibular.

VI.B. STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL AMELOBLASTOAMELOR

Analiza histopatologică a celor 42 de ameloblastoame luate în studiu au urmărit: stabilirea tipul și subtipului histologic al neoplaziilor și afectarea structurilor adiacente de către acestea. Am remarcat faptul că ameloblastoamele solide au reprezentat cea mai mare parte a cazuisticii investigate (28 cazuri), urmate în ordinea frecvenței de ameloblastoamele unichistice (13 cazuri) și ameloblastomul desmoplazic (2 cazuri).

► Ameloblastomul solid a fost prezent în 28 cazuri, care au constituit 66,7% dintre toate ameloblastoamele și 19,9% dintre tumorile investigate, diagnosticate la pacienți cu vârsta cuprinsă în decadele a IIIa și a VIIIa de viață, predominant de sex masculin. Neoplaziile au îmbrăcat două patternuri distincte histopatologice, folicular tipic în 23 cazuri și plexiform în 7 cazuri, alături de care am găsit în asociere și o serie subtipuri tumorale.

► Ameloblastomul unichistic a fost prezent în 13 cazuri, care au reprezentat 31% dintre ameloblastoamele studiate. Toate tumorile au avut localizare mandibulară posterioară, diagnosticate la pacienți mai tineri comparativ cu varianta solidă sau desmoplazică (decadele III-VI de viață), predominant la sexul masculin. Histopatologic am constatat că în 6 cazuri tumorile au fost luminale, în 2 cazuri de tip intraluminal și în alte 3 cazuri de tip mural.

► Ameloblastomul desmoplazic a fost prezent într-un singur caz care a aparținut unui pacient de sex masculin, în vârsta de 53 de ani, cu localizare mandibulară, care s-a caracterizat prin absența capsulei fibroase, tumora infiltrând osul spongios.

Un alt aspect urmărit a fost legat de extinderea ameloblastoamelor în țesuturile adiacente. Pentru cazuistica investigată extensia ameloblastoamelor s-a făcut în 6 cazuri către țesutul osos, dintre care în 2 cazuri tumorile s-au asociat și cu extensie către mucoasa orală.

VI.C. STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC AL AMELOBLASTOAMELOR

V.C.1 STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC AL POTENTIALULUI TUMORIGEN AL AMELOBLASTOAMELOR

• Imunoreacția pentru p53 a fost prezentă în 11 din cele 19 cazuri de ameloblastom investigate (57,9%). Din cele 8 cazuri care nu au prezentat reactivitate 5 au fost ameloblastoame foliculare, 2 ameloblastoame acantomatoase și un caz de ameloblastom cu celule granulare. Analiza statistică a indicat reactivitatea specifică a p53 pentru celulele columnare periferice ($p < 0,001$, Anova), distribuția marcajului fiind caracteristică (index Pearson $< 0,3$). Testul de comparare a mediilor indicilor de pozitivitate au indicat absența unei diferențe semnificative a expresiei p53 în raport cu alți markeri la nivelul reticulului stelat ($p > 0,05$, Anova).

• Analiza imunoexpresiei proteinei bcl-2 a indicat prezența acesteia în 15 dintre ameloblastoamele investigate (89,5%), exprimată citoplasmatic, constant și intens, la nivelul celulelor columnare din periferia insulelor tumorale. Analiza statistică a indicat reactivitatea specifică bcl-2 pentru celulele columnare periferice ($p < 0,001$, Anova), distribuția marcajului fiind caracteristică (index Pearson $< 0,3$). Testul de comparare a mediilor indicilor de pozitivitate au indicat absența unei diferențe semnificative a expresiei bcl-2 în raport cu alți markeri la nivelul reticulului stelat ($p > 0,05$, Anova).

- Analiza imunoexpresiei proteinei p16 a indicat prezența acesteia în 18 dintre ameloblastoame. Patternul imunocolorării a fost mixt, citoplasmatic și nuclear, maximum de reactivitate fiind observat în celulele reticulului stelat. Analiza statistică a indicat reactivitate specifică p16 pentru celulele reticulului stelat ($p < 0,001$, Anova). Am evidențiat relații ale indexului de pozitivitate cu tipul histologic de ameloblastom.

V.C.2 STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC AL AGRESIVITĂȚII TUMORALE ÎN AMELOBLASTOAME

- Investigarea indexului Ki-67 a indicat pozitivitate în 17 cazuri (89,5%). Celulele au prezentat marcaj nuclear și au fost localizate predominant în zona periferică a insulelor tumorale, dar și în celulele reticulului stelat din zona centrală. Reactivitatea cea mai mare au avut-o îndeosebi celulele bazale de la periferia insulelor neoplazice. Analiza statistică a indicat reactivitatea specifică Ki-67 pentru celulele columnare periferice ($p < 0,001$, Anova).

- Imunoexpresia lui MMP-9 a fost constatată în 15 din cele 19 cazuri investigate (78,95%). În tabelul de mai jos sunt redate scorurile de reactivitate în funcție de varianta histologică de ameloblastom investigat.

- Imunoexpresia TIMP-2 a fost constatată în toate cazurile investigate atât la nivelul componentei epiteliale cât și la nivelul celei stromale. Analiza statistică nu identificat diferențe semnificative ale scorurilor TIMP-2 în raport cu tipul histologic.

- Imunoexpresia E-caderinei a fost constatată în toate cazurile investigate fiind limitată numai la nivelul componentei epiteliale. Analiza statistică a arătat faptul că între scorurile de imunoreactivitate pentru E-caderină și MMP-9 a existat o relație de variație inversă ($p = 0,019$), iar între scorurile imunoreactivității pentru E-caderină și vimentină s-a constatat de asemenea o relație invers proporțională ($p = 0,043$).

- În general, imunoexpresia vimentinei a fost constatată în toate cazurile investigate la nivel stromal, în timp ce în parenchimul tumoral reacția a fost absentă sau a fost prezentă cu intensitate redusă la nivelul celulelor periferice cubico-cilindrice. Testul chi pătrat a indicat existența unei relații de variație inversă între scorurile imunoreactivității la vimentină și TIMP-2 ($p = 0,279$) și respectiv între scorurile la vimentină și E-caderină ($p = 0,043$).

CAPITOLUL VII. DISCUȚII

Ameloblastoamele sunt tumori odontogene cu comportament ambiguu datorită caracteristicilor clinice și histologice contradictorii, paradoxale și incongruente. Astfel, dacă aspectul histologic al tumorilor este benign, comportamentul clinic este invaziv și distructiv, fiind raportate și rare cazuri de metastaze pulmonare.

Termenul de ameloblastom include mai multe tipuri clinico-radiologice și histologice. Pe baza comportamentului clinic și prognostic, se disting trei tipuri de ameloblastoame [161]: ameloblastomul convențional sau clasic, ameloblastomul intraosos, solid sau multichistic; ameloblastomul unichistic; ameloblastomul periferic. Studii recente indică ameloblastomul desmoplastice datorită comportamentului său biologic, aspectului radiografic, și histologic, ar putea fi de asemenea considerat ca al patrulea subtip de ameloblastom [174].

Aspectul biologic major al ameloblastomului îl constituie comportamentul său invaziv local, fapt responsabil și de rata înaltă de recidive postoperatorii, chiar și în condițiile unei terapii chirurgicale radicale. Totuși unele aspecte privind atât patogeneza cât și creșterea sa invazivă continuă să rămână neelucidate.

Kumamoto și colab. (2004) găsesc că aberațiile căii p53 din cadrul sistemului de reglare a ciclului celular, sunt corelate cu transformarea neoplazică. Deși ameloblastoamele clasice și cele metastazante au expresie nucleară foarte asemănătoare ale genei p53, carcinoamele ameloblastice prezintă o reactivitate p53 crescută care sugerează transformarea malignă a epiteliului odontogen.

Soluk și colab. au arătat că 20-50% din celulele stromale ale ameloblastoamelor au prezentat reactivitate pentru bcl-2, fapt ce ar justifica paternul lor de creștere agresiv [225]. Referitor la variantele ameloblastomului solid, Luo și colab. au arătat că tipul plexiform a prezentat reactivitate în 58,3% din cazuri, față de numai 48,1% cât a fost înregistrat pentru ameloblastomul folicular [132].

Kumamoto și colab. au evidențiat supraexpresia p16 în marea majoritatea a celulelor neoplazice din ameloblastom concluzionând că epiteliul odontogen s-ar găsi sub controlul acestei oncoproteine [105]. Artese și colab sugerează pe de o parte că p16 ar controla epiteliul odontogen, iar pe de altă parte expresia și localizarea acesteia ar influența comportamentul biologic, explicând în parte creșterea infiltrativă a unora din ele [15].

Raportat strict la compartimentele celulare parenchimotoase ale ameloblastomului majoritatea autorilor au arătat prevalența expresiei lui Ki-67 îndeosebi în celulele bazale, indexul de proliferare fiind semnificativ mai mare în compartimentul celular periferic decât în cel central [58, 118, 125, 139, 166, 193, 201].

Expresia MMP-9 în corelație cu cea a MMP-2 la nivelul celulelor neoplazice reflectă în fapt potențialul de diferențiere al acestora, celulele cubice și columnare de la periferia proliferărilor ameloblastice rememorându-și funcția de celulă ameloblastică, dar fără să atingă maturitatea deplină pentru a produce smalț [192, 247]. În studiul imunohistochimic realizat de Kumamoto și colab. s-a observat creșterea expresiei TIMP-1 și TIMP-2 în celulele neoplazice din ameloblastom, în timp ce reactivitatea pentru MMP-9 a fost scăzută [117], autorii sugerând că aceste proteine contribuie la suprimarea progresiei ameloblastoamelor prin inhibarea activității MMP-9.

Foarte puține studii s-au ocupat de investigarea reactivității celulelor tumorale pentru vimentină în ameloblastoame. Astfel, Kumamoto și Ooya investigând apoptoza în ameloblastoamele cu celulele granulare au constatat absența reacției pentru vimentină în celulele tumorale granulare [113]. În studiul întreprins de către Wang și colab. s-a evidențiat o slabă reactivitate pentru vimentină din partea celulelor de ameloblastom cultivate in vitro [262].

CAPITOLUL VIII. CONCLUZII

Studiul efectuat, care a cuprins un număr de 42 de ameloblastoame selectate în decursul a 18 ani (1998-2012), a relevat următoarele:

- analiza *clinico-epidemiologica* a indicat o distribuție aleatorie a leziunilor pe ani calendaristici; distribuția pe grupa de vârstă a evidențiat o incidență maximă în decadele IV și V de viață, cu ușoară predominanță la sexul masculin (M/F=1,21/1) și topografie preferențială la nivelul mandibulei posterioare;

- analiza semnelor obiective în urma examenului clinic local a indicat în majoritatea cazurilor prezența unei tumefacții endoorale; iar investigațiile radiologice de rutină au evidențiat cel mai frecvent aspect de radiotransparență rotundă, multiloculară, în timp examenul CT a indicat formațiuni tumorale cu aspect chistic uneori voluminoase;

- studiul *histopatologic* în colorații uzuale și speciale a evidențiat faptul că ameloblastoamele solide au reprezentat cea mai mare parte a cazuisticii investigate (66,7%), urmate în ordinea frecvenței de ameloblastoamele unichistice (31%) și ameloblastomul desmoplazic (2,3%); ameloblastomul solid a îmbrăcat două patternuri distincte: folicular tipic în 23 cazuri și plexiform în 7 cazuri; ameloblastomul unichistic a corespuns în 6 cazuri tumorilor luminale, în 2 cazuri celor intraluminale și în alte 3 cazuri celor de tip mural; ameloblastomul desmoplazic a fost prezent într-un singur caz caracterizat prin absența capsulei fibroase și infiltrarea osului spongios;

- extensia ameloblastoamelor s-a făcut în 6 cazuri către țesutul osos, dintre care în 2 cazuri tumorile s-au asociat și cu extensie către mucoasa orală;

- studiul *imunohistochimic* a urmărit evidențierea imunofenotipul tumorigen al ameloblastoamelor (p53, bcl-2 și p16), a potențialul proliferativ al tumorilor și al agresivității tumorale prin evaluarea imunoexpresiei (MMP9, TIMP2 și E-Caderina);

- imunofenotipul tumorigen al ameloblastoamelor a arătat că toate cele 3 proteine implicate în controlul ciclului celular și al apoptozei (p53, bcl-2 și p16) au fost intens exprimate în varianta solidă foliculară, un astfel de fenotip ar fi sugestiv pentru un comportament mult mai puțin agresiv și un fenotip diferențiat terminal al ultimelor două variante de ameloblastom față de forma tipică foliculară.

- indiferent de tipul histologic, reactivitatea mai crescută la p53 și bcl-2 din partea celulelor cubico-cilindrice periferice ale insulelor proliferative neoplazice și respectiv a celulelor reticulului stelat pentru proteina p16 sugerează existența la nivelul ameloblastoamelor a două compartimente celulare cu proprietăți diferite, unul central pro-apoptotic diferențiat și altul periferic anti-apoptotic proliferativ.

- potențialul proliferativ cel mai mare l-a avut varianta solidă foliculară de ameloblastom, celulele periferice bazale fiind cele mai reactive la markerul Ki-67.

- investigarea imunoreactivității pentru MMP-9 și TIMP-2 în ameloblastoame a arătat că pe de o parte la nivel parenchimos există o reactivitate mai mare din partea celulelor periferice comparativ cu cele centrale, iar pe de altă parte această reactivitate a fost net superioară în stroma adiacentă frontului de invazie tumoral. Așadar ameloblastomul își dovedește potențialul său de invaziv în țesuturile adiacente prin capacitatea sa dublă parenchimosă și stromală de a secreta matrix metaloproteinaze și inhibitori ai acestora.

- analiza calitativă și semicantitativă a expresiei E-caderinei a evidențiat o expresie mai ridicată la nivelul joncțiunilor intercelulare ale reticulului stelat și o scădere a reactivității la nivelul compartimentului celular periferic în varianta foliculară de ameloblastom, precum și la nivelul ariilor keratinizate din ameloblastomul acantomatos și a agregatelor de celule granulare din varianta corespondentă de ameloblastom. Un astfel de profil ar fi sugestiv pe de o parte pentru diferențierea de tip terminal al celulelor din compartimentul central în variantele acantomatoasă și cea cu celule granulare, iar pe de altă parte scăderea reactivității în compartimentul periferic ar fi responsabil în parte de promovarea invaziei din aceste tumori.

- investigarea imunoreactivității pentru vimentină a evidențiat un maximum de reactivitate în celulele stromale adiacente frontului de invazie, un astfel de imunoprofil fiind sugestiv pentru potențialul local invaziv al variantei solide foliculare de ameloblastom.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [10] Ajagbe HA, Daramola JO. Ameloblastoma: A survey of 199 cases in the University College Hospital, Ibadan, Nigeria. *J Nat Med Assoc* 1987, 79(3):324-7.
- [15] Artese L, Piattelli A, Rubini C, Goteri G, Perrotti V, Iezzi G, Piccirilli M, Carinci F. P16 expression in odontogenic tumors. *Tumori* 2008, 94(5):718-23.
- [58] Funaoka K, Arisue M, Kobayashi I, Iizuka T, Kohgo T, Amemiya A, Totsuka Y. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 23 cases of ameloblastoma. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996, 32B(5):328-32.
- [59] Furihata M, Sonobe H, Ohtsuki Y, Yamashita M, Morioka M, Yamamoto A, Terao N, Kuwahara M, Fujisaki N. Detection of p53 and bcl-2 protein in carcinoma of the renal pelvis and ureter including dysplasia. *J Pathol* 1996, 178(2):133-9.
- [65] Gardner DG. Some current concepts on the pathology of ameloblastomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996, 82(6):660-9.
- [88] Jackson IT, Callan PP, Forte RA. An anatomical classification of maxillary ameloblastoma as an aid to surgical treatment. *J Craniomaxillofac Surg* 1996, 24(4): 230-6.
- [93] Kahn MA. Ameloblastoma in young persons: a clinicopathologic analysis and etiologic investigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989, 67(6):706-15.
- [98] Kim J, Yook JI. Immunohistochemical study on proliferating cell nuclear antigen expression in ameloblastomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1994, 30B(2):126-31.
- [166] Ong'uti MN, Cruchley AT, Howells GL, Williams DM. Ki-67 antigen in ameloblastomas: correlation with clinical and histological parameters in 54 cases from Kenya. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997, 26(5):376-9.
- [101] Kramar IR, Pindborg JJ, Shear M. WHO international classification of tumours: histological typing of odontogenic tumours. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
- [105] Kumamoto H, Kimi K, Ooya K. Detection of cell cycle-related factors in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2001, 30(5):309-15.
- [113] Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical and ultrastructural investigation of apoptotic cell death in granular cell ameloblastoma. *J Oral Pathol Med* 2001, 30(4):245-50.
- [115] Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical detection of retinoblastoma protein and E2 promoter-binding factor-1 in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2006, 35(3):183-9.
- [117] Kumamoto H, Yamauchi K, Yoshida M, Ooya K. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2003, 32(2):114-20.
- [118] Kumamoto H. Detection of apoptosis-related factors and apoptotic cells in ameloblastomas: analysis by immunohistochemistry and an in situ DNA nick end-labelling method. *J Oral Pathol Med* 1997, 26(9):419-25.
- [122] Laxmidevi BL, Kokila G, Jyothi M. Ameloblastoma. Adding perspectives, *J Dent Sci Res* 2010, 1(2):11-22.
- [125] Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in unicystic ameloblastoma. *Histopathology* 1995, 26(3):219-28.
- [132] Luo HY, Yu SF, Li TJ. Differential expression of apoptosis-related proteins in various cellular components of ameloblastomas. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006, 35(8):750-5.
- [139] Meer S, Galpin JS, Altini M, Coleman H, Ali H. Proliferating cell nuclear antigen and Ki67 immunoreactivity in ameloblastomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003, 95(2):213-21.

- [157] Namin AK, Azad TM, Eslami B, Sarkarat F, Shahrokhi M, Kashanian F. A study of the relationship between ameloblastoma and human papilloma virus. *J Oral Maxillofac Surg* 2003, 61(4):467-70.
- [161] Neville BW, Damm, DD, Alien CM, Bouquot JE. *Patología Oral Maxilofacial*. 2a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.
- [174] Philipsen HP, Reichart PA, Takata T. Desmoplastic ameloblastoma (including "hybrid" lesion of ameloblastoma). Biological profile based on 100 cases from the literature and own files. *Oral Oncol* 2001, 37(5):455-60.
- [184] Rastogi S, Nijhawan S. Radiolucent-Radiopaque Lesion In The Mandible- A Nobel Diagnostic Approach, *J Clin Diag Res* 2010, 4:2300-7.
- [192] Ribeiro BF, Iglesias DP, Nascimento GJ, Galvão HC, Medeiros AM, Freitas RA. Immunoexpression of MMPs-1, -2, and -9 in ameloblastoma and odontogenic adenomatoid tumor. *Oral Dis* 2009, 15(7):472-7.
- [193] Rizzardi C, Leocata P, Ventura L, Zweyer M, Brollo A, Schneider M, Melato M. Apoptosis-related factors (TRAIL, DR4, DR5, DcR1, DcR2, apoptotic cells) and proliferative activity in ameloblastomas. *Anticancer Res* 2009, 29(4):1137-42.
- [201] Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Ohishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncol* 2001, 37(2):193-8.
- [225] Soluk Tekkeşin M, Mutlu S, Olgaç V. Expressions of bax, bcl-2 and Ki-67 in odontogenic keratocysts (Keratocystic Odontogenic Tumor) in comparison with ameloblastomas and radicular cysts. *Turk Patoloji Derg* 2012, 28(1):49-55.
- [247] Tsujigiwa H, Nagatsuka H, Han PP, Gunduz M, Siar CH, Oida S, Nagai N. Analysis of amelogenin gene (AMGX, AMGY) expression in ameloblastoma. *Oral Oncol* 2005, 41(8):843-50.
- [262] Wang A, Zhang B, Huang H, Zhang L, Zeng D, Tao Q, Wang J, Pan C. Suppression of local invasion of ameloblastoma by inhibition of matrix metalloproteinase-2 in vitro. *BMC Cancer* 2008, 8:182.