

*О.В. КОВТУНЕНКО***АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ЦИТОКЕРАТИНІВ
В ПЛОСКОКЛІТИННОМУ РАКУ ГОРТАНІ***Каф. оториноларингології (зав. – проф. В.В. Березнюк)
Дніпропетров. держ. мед. академії*

Необхідність глибокого вивчення молекулярних маркерів пояснюється їх високою інформативністю для прогнозування перебігу захворювання, призначення ефективної терапії, її індивідуалізації, розробки профілактичних рекомендацій. Останнім часом у зв'язку з розвитком генної інженерії впроваджуються нові, перспективні підходи до лікування хворих на рак, що полягають у введенні гена, який або заміняє ушкоджений ген, або конвертує введені препарати в антипухлинні ліки, або індукують інший механізм, що приводить до загибелі пухлинних клітин – таргетна терапія [2-5, 7, 8, 13].

Одним з морфологічних показників, що найчастіше визначається в пухлинах, є ступінь диференціювання. Відмічений традиційно на підставі вираженості морфологічного атипізму гістологічний ступінь диференціювання не завжди точно відповідає функціональному атипізму новоутворення, а значить, не повною мірою відбиває його біологічні властивості. Одним із способів, який дозволяє уточнити цей аспект, є вивчення спектру синтезованих раковою клітиною білків, зокрема цитокератинів, з наступним порівнянням його з характерним для нормальної епітеліальної клітини набором. Цитоскелет всіх типів клітин визначається набором проміжних філаментів, мікротрубочок і мікрофіламентів. Цитокератини відносяться до групи проміжних філаментів, до яких також включають віментин, десмін, нейрофіламенти, ламінін і гліальний фібрилярний протеїн. Вони є характерними філаментами як для епітеліальних клітин, так і для відповідних епітеліальних пухлин і у зв'язку з високою специфічністю й чутливістю застосовуються для діагнос-

тики останніх. Кератини являють собою білки з молекулярною вагою від 40 до 67 кД. У клітинах вони, як правило, перебувають попарно і представлені кислим (тип I) і основним (тип II) кератинами. На сьогоднішній день відомо 20 різних їх видів, при цьому низькомолекулярні кератини зустрічаються в одношаровому епітелії, високомолекулярні – в багатошаровому плоскому [6].

Кератини простого епітелію, насамперед СК₈ і СК₁₈, експресуються практично у всіх видах одношарового епітелію, інші – характерні для певного типу або локалізації епітелію. Так, СК₇ зустрічається в епітелії більшості слинних залоз, легень, молочної залози, яєчників, ендометрію, тимуса, жовчного міхура, печінки, шлунку і, відповідно, в пухлинах цих локалізацій. Крім того, експресія СК₇ спостерігається у плоскоклітинному раку шийки матки, в 27% випадків плоскоклітинного раку голови й шиї, в 21% – при раку стравоходу. СК₂₀ виявляється в колоректальному раку, раку жовчного міхура, муцинозних пухлинах яєчників, у перехідноклітинному раку. СК₁₉ – цитокертин з найменшою молекулярною масою, який також експресується в більшості випадків в одношаровому епітелії, поряд з СК₈ і СК₁₈, а також у базальних шарах багатошарового плоского епітелію. Його експресія відмічається в значній кількості епітеліальних пухлин, включаючи частину випадків плоскоклітинного раку і гепатоми [9, 12].

У багатошаровому епітелії експресуються цитокератини 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 15, 16. Цитокератини 5 і 14 виявляються в базальному шарі, а іноді супрабазально; СК₄ і СК₁₃ – у супрабазальному шарі, тому

вони відносяться до кератинів стратифікації; СК₁, 10 і 11 – у поверхневих шарах епідермісу, тому відносяться до маркерів кератинизації. Цитокератини 6, 16 і 17 є характерними для процесів проліферації в багатошаровому епітелії, що дозволяє вважати їх маркерами гіперпроліферації. Практично всі випадки плоскоклітинного раку, половина – перехідноклітинного раку, а також більша частина недиференційованих крупноклітинних епітеліальних пухлин експресують СК₅ [1].

Для виявлення цитокератинів використовують специфічні моноклональні антитіла до кожного виду. Однак існують і комбіновані антитіла із суміші декількох антикератинових антитіл. Зокрема, для визначення гістогенезу пухлини, її епітеліальної природи, застосовується коктейль з цитокератинів до всіх видів епітелію – панцитокератин або антитіло АЕ₁/АЕ₃ [12].

Епітелій гортані представлений декількома типами, в зв'язку з чим у них визначається експресія різних цитокератинів. Так, неороговілий багатошаровий плоский епітелій глоткової частини надгортанника й голосових складок експресує цитокератини 4, 5, 6, 13, 14, 15, а також у ряді випадків (близько 40%) – СК₁₉ у базальних клітинах. Іноді також можуть виявлятися СК₁₆ і СК₁₇. Багаторядний призматичний епітелій слизової оболонки іншої частини гортані містить кератини 5, 13, 14, 15 і 17, характерні для багатошарового епітелію, і в той же час цитокератини 7, 8, 18 і 19, які властиві для простого епітелію. В епітелії гортанної поверхні надгортанника виявляються цитокератини 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 17, 18 і 19 [11, 15].

Плоскоклітинний рак голови та шиї експресує спектр цитокератинів, аналогічний нормальній тканині. Однак у деяких типах плоскоклітинного раку гортані (ПРГ) він може змінюватися, особливо в низькодиференційованих. У ПРГ виявляються цитокератини базального типу (СК₅ і СК₁₄) і гіперпроліферації (СК₆, СК₁₆). Епідермальні маркери (цитокератини 1, 10, 11) визначаються в ракових перлинах та окремих клітинах плоскоклітинного ороговілого раку і є характерними для високодиференційованих пухлин. У низькодиференційованому раку часто експресуються цитокератини

простого епітелію (СК₈, СК₁₈ і СК₁₉), а також СК₅ і СК₁₇. Рівень і спектр експресії фракцій цитокератинів може використовуватися для уточнення ступеня гістологічного диференціювання раку гортані [1, 14]. При порівняльному дослідженні СК₁₇ у клітинах ПРГ, ділянках тяжкої дисплазії та у нормальному епітелії були отримані значущі розходження в рівнях експресії, що, на думку ряду авторів, дозволяє використовувати його як високочутливий і специфічний маркер передпухлинних процесів і злаякісної трансформації в клітинах епітелію гортані [10, 11].

Метою роботи було вивчення експресії високомолекулярних цитокератинів в плоскоклітинному раку гортані з різним клінічним перебігом захворювання для його подальшого прогнозування та визначення найбільш оптимальних сучасних методів діагностики, а також дослідження біологічних властивостей пухлин.

Матеріали та методи

Проведено ретроспективний аналіз клініко-анатомічного матеріалу, який отримано у 458 хворих під час хірургічного втручання і діагностичних біопсій з приводу раку гортані III-IV стадій (T₃₋₄N₀₋₃M₀) в ЛОР-онкологічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова в період з 2001 по 2007р. З них неоад'ювантно отримали курс ПХТ 296 пацієнтів (схема РВМФ, ТР), а 103 – передопераційний курс променевої терапії, яка проводилась на гамма-терапевтичних апаратах типу «Агат-С» і «Рокус-М» в статичному режимі з 2 протилежних полів розмірами 6x8 і 8x10 см, ритм опромінення – 5 фракцій в тиждень, по 2 Гр щодня до сумарної осередкової дози (СОД) – 40 Гр. Вік пацієнтів коливався від 30 до 74 років, середній вік складав 55,7±5,3 роки.

Для виконання морфологічного дослідження операційний і біопсійний матеріал, взятий у хворих, фіксувався в 10% нейтральному формаліні. Виготовлялись парафінові блоки операційного та біопсійного матеріалу у випадках раку гортані та його метастазів у лімфатичні вузли. Для отримання зрізів застосовувався мікромом зі станцією прийому зрізів (Microm HM-340),

що дозволило робити серійні зрізи та оцінювати тотожні ділянки пухлинної тканини при подальшому проведенні імуногістохімічних (ІГХ) реакцій. Мікроскопія проводилась за допомогою світлового мікроскопа Leica DMLS з використанням об'єктивів $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

В нашому дослідженні в якості первинних застосовувались моноклональні антитіла до цитокератину 19 (клон BA₁₇, DakoCytomation), високомолекулярного цитокератину (клон 34 β E₁₂, DakoCytomation), цитокератини 1, 5, 10 та 14. Для кожного маркера здійснювались контрольні дослідження з метою виключення помилково-позитивних або помилковонегативних результатів. Титр антитіл підбирався індивідуально для кожного маркера з використанням у якості розчинника спеціального розчину antibody diluent (DakoCytomation). Відповідно до рекомендацій та за нашим досвідом, застосовувались наступні розведення моноклональних антитіл: цитокератин 19 – 1:100 та високомолекулярний цитокератин – готові до використання розчини RTU (Ready-To-Use). Наступний етап імуногістохімічного дослідження виконувався за допомогою візуальної системи останнього покоління EnVision (DakoCytomation). В залежності від кількості та інтенсивності забарвлення клітин експресія маркера оцінювалась як негативна, слабка, помірна та виражена. Було проведено визначення експресії цитокератинів як у пухлинній тканині, так і в нормальному епітелії гортані.

Статистична обробка матеріалу проводилась з використанням варіаційних статистичних методів. Достовірність відмінностей ознак визначалась за допомогою параметричних методів та виявлення причинно-наслідкових і кореляційних зв'язків між досліджуваними параметрами об'єкту. Показники розраховувались із застосуванням електронних таблиць, оброблених програмою «Microsoft Office Excel» версія 2007.

Результати досліджень

У багат шаровому плоскому неороговілому епітелії голосових складок у всіх випадках відмічена інтенсивна реакція всіх шарів з СК₃₄ β E₁₂. У більшості спостережень (59,0%) мало місце виражене забарвлення

практично всіх клітин раку. Інтенсивність реакції в клітинах варіювала в різних зонах новоутворення. Позитивний статус за СК₁₉ визначався в 41,5% випадків від усіх пухлин.

У високодиференційованих ПРГ в абсолютній більшості спостережень виявлена інтенсивна цитоплазматична реакція з СК₃₄ β E₁₂, співвідношення раку зі слабкою реакцією до пухлин з помірною й високою інтенсивністю складало 1:2,4:8,7. Виражена експресія СК₁₉ була відсутня, тільки у чверті випадків визначена позитивна реакція, у більшості з них у вигляді слабого та помірного забарвлення. Експресія СК₁₉ в цій групі зустрічалась на 17% рідше, ніж серед усіх випадків ПРГ взагалі. Співвідношення спостережень з негативною, слабкою, помірною та вираженою реакцією в цій групі становило 1:0,2:0,1:0,0. Статистична значуща закономірність виявлена при порівнянні груп різного ступеня диференціювання обох цитокератинів (табл. 1).

Серед пухлин помірного ступеня диференціювання кількість випадків раку з високою експресією СК₃₄ β E₁₂ була на 13,6% менше, ніж серед високодиференційованих, і в цілому приблизно відповідала середнім показникам. Співвідношення ПРГ з різною експресією СК₃₄ β E₁₂ у цій групі дорівнювало 1:2,5:4,8, що відповідало середньому розподілу (1:2,4:4,8). Експресія СК₁₉ відмічена в 42,8% випадків, що на 1,2% вище, ніж серед всіх пухлин, і на 18,0% – ніж серед високодиференційованих. Співвідношення реакцій різної інтенсивності в помірнодиференційованому раку складало 1:0,4:0,3:0,01, що приблизно відповідало загальному розподілу експресії СК₁₉ – 1:0,4:0,3:0,03. В цілому показники цієї групи раків приблизно дорівнювали середнім показникам у вибірці.

У групі низькодиференційованого ПРГ більша частина пухлин продемонструвала низьку й помірну експресію СК₃₄ β E₁₂, а виражена реакція спостерігалась в 1,6 рази рідше, ніж серед високодиференційованих пухлин, і в 1,3 рази рідше, ніж серед всіх новоутворень. Співвідношення пухлин з різною інтенсивністю експресії СК₃₄ β E₁₂ у цій групі раку складало 1:2,1:2,5. Співвідношення експресії СК₁₉ різної інтенсивності становило 1:0,8:0,6:0,2.

Експресія цитокератинів в ПРГ різного ступеня диференціювання

Гістологічний діагноз	Експресія СК ₁₉				
	всього (n)	відсутня	слабка	помірна	висока
1. Високодиференційований ПРГ	109	82	18	9	0
М±m (%)		75,2±4,1	16,5±3,6	8,3±2,6	0,0
2. Помірnodиференційований ПРГ	276	158*	67	49*	2
М±m (%)		57,2±3,0	24,3±2,6	17,8±2,3	0,7±0,5
3. Низькодиференційований ПРГ	73	29**	22	16	6
М±m (%)		39,7±5,7	30,1±5,4	21,9±4,8	8,2±3,2
Всього	458	269	107	74	8
М±m (%)		58,7±2,3	23,4±2,0	16,2±1,7	1,7±0,6
Гістологічний діагноз	Експресія СК ₃₄ βЕ ₁₂				
	всього (n)	відсутня	слабка	помірна	висока
1. Високодиференційований ПРГ	109	0	9	22	78
М±m (%)		0,0	8,3±2,6	20,2±3,8	71,6±4,3
2. Помірnodиференційований ПРГ	276	0*	33	83*	160*
М±m (%)		0,0	12,0±2,0	30,1±2,8	58,0±3,0
3. Низькодиференційований ПРГ	73	0**	13	27	33**
М±m (%)		0,0	17,8±4,5	37,0±5,7	45,2±5,8
Всього	458	0	55	132	271
М±m (%)		0,0	12,0±1,5	28,8±2,1	59,2±2,3

Примітки: * p<0,001-0,05 при порівнянні показників груп 1 та 2-ї;

** p<0,001-0,05 при порівнянні показників груп 2 та 3-ї.

Кількість спостережень раку з вираженою експресією СК₃₄βЕ₁₂ зменшувалася зі зниженням ступеня диференціювання при відповідному зростанні частки пухлин з низькою й помірною інтенсивністю реакцій. Визначено прямий кореляційний зв'язок між рівнем експресії СК₃₄βЕ₁₂ та ступенем гістологічного диференціювання ($r=+0,63$). Таким чином, можна зробити висновок про діагностичне значення цього маркера в ПРГ та можливість використання його для уточнення ступеня диференціювання. Рівень та інтенсивність експресії СК₁₉ збільшувались зі зменшенням ступеня диференціювання. Нами визначено зворотний кореляційний зв'язок між експресією СК₁₉ та ступенем гістологічного диференціювання ($r=-0,78$). Існуюча залежність між цими параметрами дозволяє використовувати СК₁₉ для визначення й уточнення ступеня диференціювання ПРГ і вважати його діагностично значущим.

Проведено дослідження експресії цитокератинів плоского епітелію у метастазах раку гортані в лімфатичні вузли. Характер реакції в клітинах метастазів відповідав такому в первинній пухлині. У ряді випадків були виявлені відмінності, що полягали в меншій гетерогенності й інтенсивності забарвлення в тканині метастазів. ІГХ реакція з СК₃₄βЕ₁₂ дозволяла чітко ідентифікувати пухлинні клітини серед лімфоїдної тканини, що в сумнівних випадках сприяло точній діагностиці мікрореметастазів.

У нашому дослідженні був виконаний порівняльний аналіз експресії високомолекулярного цитокератину СК₃₄βЕ₁₂ в групах ПРГ з наявністю метастазів у лімфатичні вузли та без них. В метастатичному раку на відміну від пухлин з відсутнім метастатичним ураженням лімфатичних вузлів інтенсивна реакція спостерігалась на 3,6% частіше, помірна – на 4,5% рідше, а слабка – на 0,9% частіше. Співвідношення реакцій різ-

ної інтенсивності при раку з метастазами складало: 1:2,2:4,9, а при раку без метастазів – 1:2,7:5,0. Виявлені відмінності не мали статистичної значущості (табл. 2). При аналізі експресії СК₁₉ в ПРГ з наявністю метастазів у лімфовузлі позитивний статус визначений в 43,6% спостережень, що на 5,1% більше, ніж серед пухлин без метастазів,

при цьому виражена реакція превалювала в неметастатичних пухлинах. Співвідношення випадків з різною інтенсивністю експресії СК₁₉ в першій групі становило 1:0,4:0,3:0,01, в 2-й – 1:0,4:0,2:0,05. Визначені відмінності не мали статистичної значущості, кореляційного зв'язку між цими параметрами також не виявлено.

Таблиця 2

Експресія цитокератинів в ПРГ в залежності від наявності метастазів

Гістологічний діагноз	Експресія СК ₁₉				
	Всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з метастазами (n)	250	141	60	47	2
M±m (%)		56,4±3,1	24,0±2,7	18,8±2,5	0,8±0,6
ПРГ без метастазів (n)	208	128	47	27	6
M±m (%)		61,5±3,4	22,6±2,9	13,0±2,3	2,9±1,2
Всього (n)	458	269	107	74	8
M±m (%)		58,7±2,3	23,4±2,0	16,2±1,7	1,7±0,6
Гістологічний діагноз	Експресія СК ₃₄ βE ₁₂				
	Всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з метастазами (n)	250	0	31	67	152
M±m (%)		0,0	12,4±2,1	26,8±2,8	60,8±3,1
ПРГ без метастазів (n)	208	0	24	65	119
M±m (%)		0,0	11,5±2,2	31,3±3,2	57,2±3,4
Всього (n)	458	0	55	132	271
M±m (%)		0,0	12,0±1,5	28,8±2,1	59,2±2,3

При дослідженні експресії СК₃₄βE₁₂ в пухлинах з розвитком рецидивів та з безрецидивним перебігом отримані наступні дані (табл. 3). Експресія СК₃₄βE₁₂ з вираженою інтенсивністю забарвлення в ПРГ з розвитком рецидивів протягом першого року спостерігалась на 10,4% рідше, ніж в пухлинах без рецидивів, помірної інтенсивності – на 3,5% частіше, слабкої – на 6,8% частіше.

Співвідношення реакцій слабкої, помірної та вираженої інтенсивності в групі ПРГ з рецидивами становило – 1:1,8:2,9, а в групі без рецидивів – 1:2,7:5,8. При статистичній обробці зазначені відмінності не були значущими та не виявили кореляційного зв'язку з розвитком рецидивів в ПРГ. При аналізі експресії СК₁₉ в ПРГ, в якому виникли рецидиви, та у випадках без рецидивів визначено, що в 1-й групі реакція з СК₁₉ зустрічалась на 4,6% частіше, ніж в 2-й, при цьому виражений варіант забарвлення відмічено на 1,7%, помірний – на 6,7% частіше, а слабка реакція

– рідше на 3,8%. Співвідношення реакцій різної інтенсивності в цих групах, відповідно, складало: 1:0,4:0,4:0,06 та 1:0,4:0,3:0,01. Не знайдено статистично значущих закономірностей між визначеними показниками та зв'язку експресії СК₁₉ з розвитком рецидивів ПРГ (p>0,05).

Таким чином, експресія СК₃₄βE₁₂ може бути використана для підтвердження плоскоклітинної природи раку у випадках недиференційованих пухлин і метастазів, для виявлення й підтвердження прихованих метастазів у лімфатичні вузли, а також для уточнення ступеня диференціювання новоутворення, що визначає важливе діагностичне її значення.

Нами проведено ретроспективний аналіз експресії молекулярних маркерів в ПРГ з різним ефектом від неoad'ювантної терапії. Позитивний ефект від лікування визначався при наявності візуального регресу та II-VI ступенях морфологічного лікуваль-

ного патоморфозу пухлини. Серед 458 хворих на рак гортані, відібраних для дослідження, у 296 був проведений курс передопераційної поліхіміотерапії та у 103 – пере-

доопераційний курс променевої терапії. Чутливість до хіміотерапії виявлена у 240 (81,1%) пацієнтів, до променевої терапії – у 48 (46,6%).

Таблиця 3

Експресія цитокератинів в ПРГ в залежності від розвитку рецидивів

Гістологічний діагноз	Експресія СК ₁₉				
	всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з рецидивами (n)	98	54	20	21	3
M±m (%)		55,1±5,0	20,4±4,1	21,4±4,1	3,1±1,7
ПРГ без рецидивів (n)	360	215	87	53	5
M±m (%)		59,7±2,6	24,2±2,3	14,7±1,9	1,4±0,6
Всього (n)	458	269	107	74	8
M±m (%)		58,7±2,3	23,4±2,0	16,2±1,7	1,7±0,6
Гістологічний діагноз	Експресія СК _{34βE12}				
	всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з рецидивами (n)	98	0	17	31	50
M±m (%)		0,0	17,3±3,8	31,6±4,7	51,0±5,0
ПРГ без рецидивів (n)	360	0	38	101	221
M±m (%)		0,0	10,6±1,6	28,1±2,4	61,4±2,6
Всього (n)	458	0	55	132	271
M±m (%)		0,0	12,0±1,5	28,8±2,1	59,2±2,3

При порівнянні ступеня експресії СК_{34βE12} у випадках раку з різною ефективністю терапії (табл. 4) визначено, що пухлини з позитивним ефектом від хіміотерапії на 4,2% частіше, ніж нечутливі до хіміотерапії, мали високу експресію СК_{34βE12}, але на 4,7% рідше – помірну та на 0,6% частіше – низьку. Співвідношення різних ступенів експресії в 1-й групі становило 1:2,6:5,3, а в 2-й – 1:3,2:5,2. При порівнянні експресії СК_{34βE12} в новоутвореннях з позитивним ефектом від променевої терапії виражена реакція в 1-й групі спостерігалась на 5,9% частіше, помірна – на 5,3% рідше, слабка – на 0,5% рідше. Співвідношення різних ступенів експресії склали в 1-й групі 1:2,8:5,8, а в 2-й – 1:3,2:5,0. Серед спостережень, що мали позитивний ефект від проведеної хіміотерапії, експресія СК₁₉ зустрічалась на 5,4% рідше, ніж серед пухлин без ефекту від такого лікування. При цьому реакції помірної інтенсивності частіше мали місце в 1-й групі (на 1,4%), в той час як слабкої та вираженої (на 4,6% та 2,3%, відпові-

дно) – в 2-й. Співвідношення реакцій різної інтенсивності в цих групах становило, відповідно, 1:0,3:0,3:0,02 та 1:0,5:0,3:0,06, а в групах, що отримували променевоу терапію, склали 1:0,5:0,1:0,0 та 1:0,5:0,3:0,06, відповідно.

При аналізі показників експресії СК_{34βE12} та СК₁₉ не було виявлено значних відмінностей між хворими на ПРГ з різним ефектом терапії (p>0,05) та кореляційних зв'язків між цими показниками.

Таким чином, на основі отриманих даних щодо відсутності відмінностей експресії цитокератину СК_{34βE12} при раку з метастазами та без них і в пухлинах з розвитком рецидивів та без них був зроблений висновок, що цей маркер не має прогностичного значення щодо подальшого перебігу ПРГ. Відсутність відмінностей експресії в новоутвореннях з різним ефектом від проведеної терапії також не підтвердила його значення як передбачувального у відношенні можливої чутливості ПРГ до хіміотерапевтичного або променевого лікування.

Таблиця 4

Експресія цитокератинів в ПРГ у хворих, що мали різний ефект від проведеного лікування

Гістологічний діагноз	Експресія СК ₁₉				
	всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з ефектом від ПХТ (n)	240	146	49	42	3
M±m (%)		60,8±3,2	20,4±2,6	17,5±2,5	1,3±0,7
ПРГ без ефекту від ПХТ (n)	56	31	14	9	2
M±m (%)		55,4±6,6	25,0±5,8	16,1±4,9	3,6±2,5
ПРГ з ефектом від променевої терапії (n)	48	28	15	5	0
M±m (%)		58,3±7,1	31,3±6,7	10,4±4,4	0,0
ПРГ без ефекту від променевої терапії (n)	55	30	14	9	2
M±m (%)		54,5±6,7	25,5±5,9	16,4±5,0	3,6±2,5
ПРГ без неoad'ювантного лікування (n)	59	34	15	9	1
M±m (%)		57,6±6,4	25,4±5,7	15,3±4,7	1,7±1,7
Всього (n)	458	269	107	74	8
M±m (%)		58,7±2,3	23,4±2,0	16,2±1,7	1,7±0,6
Гістологічний діагноз	Експресія СК ₃₄ βE ₁₂				
	всього	відсутня	слабка	помірна	висока
ПРГ з ефектом від ПХТ (n)	240	0	27	70	143
M±m (%)			11,3±2,0	29,2±2,9	59,6±3,2
ПРГ без ефекту від ПХТ (n)	56	0	6	19	31
M±m (%)		0,0	10,7±4,1	33,9±6,3	55,4±6,6
ПРГ з ефектом від променевої терапії (n)	48	0	5	14	29
M±m (%)		0,0	10,4±4,4	29,2±6,6	60,4±7,1
ПРГ без ефекту від променевої терапії (n)	55	0	6	19	30
M±m (%)		0,0	10,9±4,2	34,5±6,4	54,5±6,7
ПРГ без неoad'ювантного лікування (n)	59	0	11	10	38
M±m (%)		0,0	18,6±5,1	16,9±4,9	64,4±6,2
Всього (n)	458	0	55	132	271
M±m (%)		0,0	12,0±1,5	28,8±2,1	59,2±2,3

Виходячи з представлених матеріалів, ми бачимо, що відсутність відмінностей в експресії цитокератину 19 в пухлинах з різним ефектом від проведеного лікування включає його передбачувальне значення щодо чутливості ПРГ до променевої та хіміотерапії.

При аналізі показників експресії цитокератинів в ПРГ відмічено поступове зменшення інтенсивності реакції з високомолекулярними цитокератинами відповідно до зниження гістологічного ступеня диференціювання та одночасне збільшення рівня експресії цитокератину 19. Враховуючи зазначене, можна зробити висновок

про зміну спектру цитокератинів, що виявляються в клітинах ПРГ, зі зниженням ступеня диференціювання. При цьому зменшується експресія фракцій, властивих нормальній клітині, та з'являються нові, не характерні для тканини, види цитокератинів, як прояв прогресуючої катаплазії пухлинних клітин. Важливо зазначити, що визначення СК₃₄βE₁₂ в усіх випадках ПРГ свідчить про можливість використання даного маркера для підтвердження плоскоклітинної природи раку в складних діагностичних випадках. А, отже, експресія цитокератинів СК₃₄βE₁₂ та СК₁₉ має важливе діагностичне значення в ПРГ.

1. Грищенко П.А. Плоскоклеточный рак гортани: иммуногистохимический профиль цитокератинов и значение их в диагностике // Патология. – 2006. – Т.3, №3. – С.37-40.
2. Заболотний Д.І. Новоутворення гортані: клініка, діагностика, лікування (аналітично-синтетичний огляд авторефератів дисертацій) // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 1997. – №5. – С.1-24.
3. Лукач Е.В. Проблеми ЛОР-онкології в Україні // IX з'їзд оториноларингологів України: Тези доповідей. – Київ, 2000. – С. 272-273.
4. Мельник М.М., Биковська Н.П., Галахін К.О. та співавт. Імуногістохімічні критерії стійкості до хіміопрепаратів солідних пухлин у дітей // Патология. – 2006. – Т.3, №3. – С.44-50.
5. Паламарчук В.В. Застосування таргетного препарату у хворих на рак ротової частини глотки // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2008. – №6. – С.68-71.
6. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. – Казань, 2004. – 456 с.
7. Туманський В.О., Марговицька Ю.В. Імунофрологічна характеристика щитовидної залози при поєднанні карциноми щитовидної залози з аутоімунним тиреоїдитом і при аутоімунному тиреоїдиті // Запорозький медичний журнал. – 2004. – Т.2, №4. – С.5-8.
8. Anastasios S.N., Kevin C.J. Molecular markers predictive of response and prognosis in the patient with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: evolution of a model beyond TNM staging // Current Opinion in Oncology. – 2000. – Vol.12, N3. – P.229-239.
9. Chu P., Wu E., Weiss L. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: A survey of 435 cases // Mod. Pathology. – 2000. – Vol.13. – P.962-972.
10. Cohen-Kerem R., Lahat N., Elmalah I. et al. Detection of cytokeratins in normal and malignant laryngeal epithelia by means of reverse transcriptase-polymerase chain reaction // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. – 2002. – Vol.111, N2. – P.149-54.
11. Cohen-Kerem R., Madah W., Sabo E. et al. Cytokeratin-17 as a potential marker for squamous cell carcinoma of the larynx // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. – 2004. – Vol.113, N10. – P.821-827.
12. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. – Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
13. Gleich L.L., Salamone F.N. Molecular genetics of head and neck cancer // Cancer Control. – 2002. – Vol.9, N5. – P.369-378.
14. Klatka J. Syndecan-1 expression in laryngeal cancer // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2002. – Vol.259, N3. – P.115-118.
15. Nagle R., Moll R., Weidauer H. et al. Different patterns of cytokeratin expression in the normal epithelia of the upper respiratory tract // Differentiation. – 1985. – Vol.30, N2. – P.130-140.

Надійшла до редакції 06.04.09.

© О.В. Ковтуненко, 2009

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЦИТОКЕРАТИНОВ В ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ГОРТАНИ

Ковтуненко А.В. (Днепропетровск)

Резюме

Работа посвящена изучению экспрессии высокомолекулярных цитокератинов в плоскоклеточном раке гортани с разным клиническим течением заболевания для его дальнейшего прогнозирования и определения наиболее оптимальных современных методов диагностики биологических свойств опухолей. В исследовании проведен анализ экспрессии цитокератинов при раке гортани в зависимости от степени гистологической дифференцировки, наличия метастазов, развития рецидивов, эффекта от проведенной лучевой и химиотерапии. Полученные в этих группах данные свидетельствуют о важном диагностическом значении экспрессии цитокератинов. При анализе прогностического и предсказательного значения экспрессии цитокератинов рака гортани не выявлено достоверных корреляционных связей, что свидетельствует о невозможности их использования для определения вероятности метастазирования, рецидивирования и определения чувствительности к химиолучевой терапии.

ANALYSIS OF EXPRESSION HIGH MOLECULAR CYTOKERATIN IN PLANOCELLULAR CANCER OF LARYNX

Kovtunenکو A.V. (Dnepropetrovsk)

Summary

The work is devoted the study of expression of high molecular cytokeratin in the planocellular cancer of larynx with the different clinical flow of disease for his further prognostication and determination of the most optimum modern methods of diagnostics of biological properties of tumours. In research the analysis of expression of cytokeratin is conducted at the cancer of larynx depending on the degree of histological embryonization, presence of metastases, development of relapses, effect from the conducted chemotherapy and radial therapy. Findings in these groups testify to the important diagnostic value of expression of cytokeratin. At the analysis of prognostic and predict value of expression of cytokeratin shrine of larynx it is not exposed reliable cross-correlation connections, that testifies to impossibility of their use for determination of probability of innidiation, relapse and determination of sensitiveness to chemotherapy and radial therapy.