

О. О. Ковальов, А. М. Рябошапка, Ф. Шах

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

ПРЕДИКТОРИ ХІРУРГІЧНОЇ ТАКТИКИ У ПАЦІЄНТІВ З МІСЦЕВОПОШИРЕНИМИ КАРЦИНОМАМИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ І РОТОГЛОТКИ: РОЛЬ МАРКЕРІВ ВІРУСУ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ

Мета роботи: визначити предикативне та прогностичне значення маркерів ВПЛ (білок Е6 ВПЛ 16/18 типів, р16INK4а, койлоцитоз) і білка р53 в залежності від рівня їх експресії у пацієнтів з ВПЛ-асоційованими місцевопоширеними плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і ротоглотки.

Об'єкт і методи дослідження: у біопсійних зразках плоскоклітинного раку ротової порожнини та ротоглотки 60 пацієнтів проведено визначення койлоцитозу, експресії білків Е6 ВПЛ 16/18 типів, р16INK4а і р53, досліджено їх предикативне та прогностичне значення.

Результати: виявлено кореляційні зв'язки між ефектом комбінованого лікування та експресією р16INK4а ($\rho=0,3$, $p=0,024$) і експресією р53 ($\rho=-0,3$, $p=0,019$). Частота койлоцитозу корелювала з медіаною загальної виживаності, $\rho=0,5$, $p<0,001$. Експресія Е6 ВПЛ 16/18, р16INK4а і р53 корелювала з медіанами загальної виживаності (відповідно: $\rho=0,9$, $p<0,001$; $\rho=0,9$, $p=0,037$; $\rho=-0,9$; $p<0,001$). Експресія р53 була незалежним предиктором низької виживаності (ВР 1,3, 95% ДІ 1,1–1,7, $p=0,016$) у моделі Кокса пропорційних ризиків.

Висновки: високі рівні експресії р16INK4а асоційовані з високою, а високі рівні експресії р53 – з низькою ефективністю лікування. Пацієнтам з експресією р16INK4а на рівні 2 балів і з експресією р53 4«+» доцільно виконувати хірургічне втручання на першому етапі лікування. Експресія р53 є незалежним фактором негативного прогнозу загальної виживаності. Частота койлоцитозу, експресія Е6 ВПЛ 16/18 і р16INK4а мають обмежене прогностичне значення і потребують подальшого вивчення.

Ключові слова: плоскоклітинний рак, ротова порожнина, ротоглотка, прогноз, предикативні фактори, вірус папіломи людини, діагностика, лікування.

В Україні захворюваність на рак ротової порожнини і ротоглотки протягом останніх 20 років зросла на 11,3% [1] і становить 10,5 на 100 тис. населення [4]. Близько 60% пацієнтів мають місцевопоширені пухлини (III, IVA, IVB стадії). Смертність становить 3,9 на 100 тис. населення [4]. У світі рак ротової порожнини і ротоглотки займає шосте місце серед найпоширеніших злоякісних пухлин. Загальне п'ятирічне виживання не перевищує 50%. Більше 90% пухлин цих локалізацій мають будову плоскоклітинного раку [29].

Протягом останнього часу відмічається зростання частоти раку порожнини рота і ротоглотки, асоційованого з вірусом папіломи людини (ВПЛ) [8, 9]. Найчастіше у пухлинах порожнини рота і ротоглотки виявляють 16 та 18 типи ВПЛ [15, 18]. Дослідження ВПЛ-зумовленого канцерогенезу дозволило виділити прямі (вірусні ДНК, РНК, білки) і сурогатні (койлоцитоз, р16INK4а) маркери вірусної присутності [5, 6, 21, 23, 31]. Предикативна та прогностична роль маркерів ВПЛ у пацієнтів з місцево поширеними плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і

ротоглотки вивчена недостатньо, у більшості досліджень береться до уваги лише наявність/відсутність маркера без урахування його експресії.

Згідно з Клінічними настановами EHSN–ESMO–ESTRO, рекомендованим підходом до лікування пацієнтів з місцевопоширеними карциномами ротової порожнини і ротоглотки є хірургічна операція з наступною променевою терапією, а за наявності факторів високого ризику – постопераційна хіміопроменева терапія [13]. В Україні загальноприйнятим підходом є індукційна хімотерапія з наступною променевою терапією з/без хірургічної операції [3, 2]. Хворі з ВПЛ-асоційованими пухлинами мають вищий рівень об'єктивних відповідей на хіміо- та променевою терапію і кращий прогноз. Однак, серед цих пацієнтів також спостерігаються значні відмінності лікувального ефекту [8, 18, 20, 24], що зумовлює необхідність пошуку факторів вибору оптимальної тактики лікування.

Мета роботи – визначити предикативне та прогностичне значення прямих (білок Е6 ВПЛ 16/18 типів) та сурогатних (р16INK4а, койлоци-

тоз) маркерів ВПЛ і білка p53 в залежності від рівня їх експресії у пацієнтів з ВПЛ-асоційованими місцевопоширеними плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і ротоглотки.

Об'єкт і методи дослідження

У дослідження було включено 60 пацієнтів віком від 34 до 68 років з місцево поширеними (Т3-4N1-2M0) карциномами ротової порожнини і ротоглотки без віддалених метастазів. 53,3% пацієнтів мали III стадію захворювання, 36,7% пацієнтів – IVA стадію, 10,0% пацієнтів – IVB стадію. Пухлини категорії Т3 діагностовано у 53,3% випадків, Т4а – у 30,0%, Т4б – у 10,0%, Т2 – у 6,7%. Метастази в регіонарних лімфатичних вузлах були виявлені у 60,0% пацієнтів. Плоскоклітинний рак ротової порожнини діагностовано в 43,3% випадків, ротоглотки – у 56,7% випадків. Пухлини частіше мали середній (G2) і високий (G1) ступінь диференціювання (відповідно, 33,3% і 45,0%), рідше виявлялися низькодиференційовані (G3) пухлини (21,7%). Всі пацієнти отримували комбіноване та комплексне лікування. *На першому етапі* проводилася індукційна хіміотерапія (2 цикли за схемою Цисплатин 100 мг/м² в/в у перший день, 5-фторурацил 1000 мг/м²/добу в/в з 1 по 4 день). *На другому етапі* проводили курс гамма-опромінення до сумарної осередкової дози 60–70 Гр. Оцінка безпосереднього ефекту комбінованого лікування проводилася після вщухання постпроменевої реакції із застосуванням критеріїв відповіді солідних пухлин (RECIST). *Подальше лікування*, в залежності від клінічної ситуації, включало хірургічне втручання, хіміотерапію, симптоматичну терапію.

У всіх пацієнтів було встановлено наявність ВПЛ 16/18 типів у пухлинах за допомогою комплексу діагностичних тестів [5], що включав визначення частоти койлоцитозу, імуногістохімічне визначення вірусного білка Е6 ВПЛ 16/18 типів, сурогатного маркера ВПЛ – білка p16 у парафінізованих біопсійних зразках пухлинної тканини, отриманих до початку лікування.

Койлоцитоз у гістологічних препаратах із забарвленням гематоксиліном-еозином визначали шляхом підрахунку відсотка койлоцитів. Поріг відсічення було встановлено на рівні 5% за допомогою аналізу ROC-кривої. Градація вираженості койлоцитозу проводилася за напівкількісною шкалою: ≤5% позитивних клітин = 0, 6–25% = 1 «+», 26–50% = 2 «+», 51–75% = 3 «+» і 76–100% = 4 «+».

Для виявлення онкобілка Е6 ВПЛ 16 та 18 типів застосовували первинне мишає моноклональне (клон С1Р5) антитіло (МКАТ) «HPV16 Е6 / HPV18 Е6» (Santa Cruz Biotechnology, Inc., № sc-460, США). Виявлення білка p16INK4a проводили з використанням первинного мишачого МКАТ (клон 2D9A12) «CDKN2A/p16INK4a

antibody [2D9A12]» (AbCam, № ab54210, Великобританія). Для виявлення білка p53 використовували первинне мишає МКАТ (клон DO-7) «Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein» (ДакосСytomation, № М 7001, Данія). Для диференціації структури зрізи дофарбовували гематоксиліном.

Для оцінки експресії онкобілка Е6 ВПЛ 16/18 типів застосовували напівкількісну шкалу з урахуванням відсотка позитивних клітин (0–4% = 0; 5–25% = 1 «+»; 26–50% = 2 «+»; >50% = 3 «+» – 4 «+») [32]. Для оцінки експресії білка p16INK4a застосовували напівкількісну шкалу, що враховувала інтенсивність забарвлення (відсутнє – «0», слабе – «1», помірне – «2», сильне – «3») та відсоток позитивних клітин (0% = «0»; 1–10% = «1»; 11–50% = «2»; 51–80% = «3»; 81–100% = «4»). Загальна оцінка визначалася множенням показника інтенсивності на показник відсотка забарвлених клітин. 2 бали і вище вважалися ознакою експресії p16 (поріг відсічення встановлено за допомогою аналізу ROC-кривої) [14]. Експресію p53 оцінювали на основі підрахунку відсотка специфічно забарвлених ядер [16] із градацією за напівкількісною шкалою [19]: 0–9% позитивних клітин = 0, 10–25% = 1 «+», 26–50% = 2 «+», 51–75% = 3 «+» і 76–100% = 4 «+».

Під час статистичного аналізу для встановлення зв'язку між номінальними і порядковими показниками застосовували критерій χ^2 Пірсона. Кореляція між перемінними оцінювалася за допомогою коефіцієнта рангової кореляції ρ Спірмена. Показники виживаності оцінювали методом Каплана-Мейєра. Модель Кокса пропорційних ризиків застосовували для визначення незалежних предикторів виживаності. У всіх випадках показники вважали статистично значущими, якщо рівень значущості був менше 0,05 ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення

При гістологічному дослідженні койлоцитоз (рис. 1а) було виявлено у зразках пухлинної тканини 50 пацієнтів (83,3%). При імуногістохімічному дослідженні у всіх 60 пацієнтів було виявлено одночасну експресію Е6 ВПЛ 16/18 типів (рис. 1б) і p16INK4a (рис. 1в). У 37 пацієнтів (61,7%) було виявлено експресію білка p53 (рис. 1г).

Після завершення етапу променевої терапії у 11 пацієнтів (18,3%) було зафіксовано стабілізацію захворювання (СЗ), у 25 (41,7%) – часткову відповідь (ЧВ), у 24 (40,0%) – повну відповідь. Прогресії захворювання не було відмічено в жодному випадку.

Під час аналізу було виявлено прямий кореляційний зв'язок експресії p16INK4a з безпосереднім ефектом комбінованого лікування ($\rho = 0,3$, $p = 0,024$): при зростанні експресії p16 відбувається збільшення частоти повних відповідей з

одночасним зменшенням частоти стабілізації захворювання (рис. 2а). Між експресією p53 і безпосереднім ефектом комбінованого лікування було встановлено наявність оберненого кореляційного зв'язку ($\rho = -0,3$, $p = 0,019$): зі зростанням експресії p53 відбувається зменшення частоти повних відповідей (рис. 2б).

Кореляційні зв'язки ефекту комбінованого лікування з експресією E6 ВПЛ 16/18 типів і койлоцитозом були слабкими ($\rho = 0,1$ в обох випадках) і не були статистично значущими ($p = 0,314$ і $p = 0,345$, відповідно).

Середня тривалість спостереження склала 22 міс. Для всіх пацієнтів загалом медіана загальної виживаності становила 17 міс., 1-річна кумулятивна виживаність склала 66,7%, 2-річна кумулятивна виживаність – 35%.

Криві загального виживання пацієнтів з різ-

ною частотою койлоцитозу в пухлинах достовірно відрізнялися ($p = 0,034$): вища виживаність асоціювалася з більшою частотою койлоцитозу в пухлинах (рис. 3а). Частота койлоцитозу корелювала з медіаною загальної виживаності, $\rho = 0,5$, $p < 0,001$ (рис. 3б).

Криві загальної виживаності пацієнтів з різною експресією E6 ВПЛ 16/18 типів та p16INK4a достовірно не відрізнялися ($p = 0,734$ та $p = 0,755$, відповідно). Вищі рівні експресії E6 ВПЛ 16/18 типів асоціювалися з більшими медіанами загальної виживаності, $\rho = 0,9$, $p < 0,001$ (рис. 4а). Кореляційний зв'язок також було виявлено між експресією p16INK4a в пухлині і медіаною загальної виживаності пацієнтів, $\rho = 0,9$, $p = 0,037$ (рис. 4б).

При порівнянні кривих виживаності пацієнтів з різною експресією p53 в пухлинах відмін-

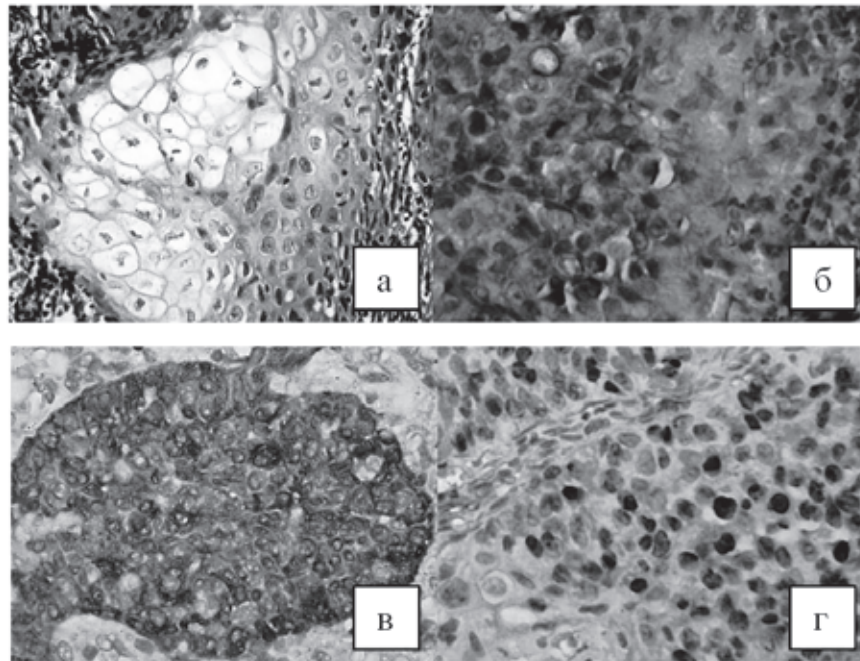


Рис. 1. Плоскоклітинний рак ротоглотки: а) койлоцитоз в пухлині; б) експресія E6 ВПЧ 16/18 типів; в) експресія p16INK4a; г) експресія p53. Гематоксилін-еозин (а), імуногістохімічний метод (б, в, г). Збільшення x400

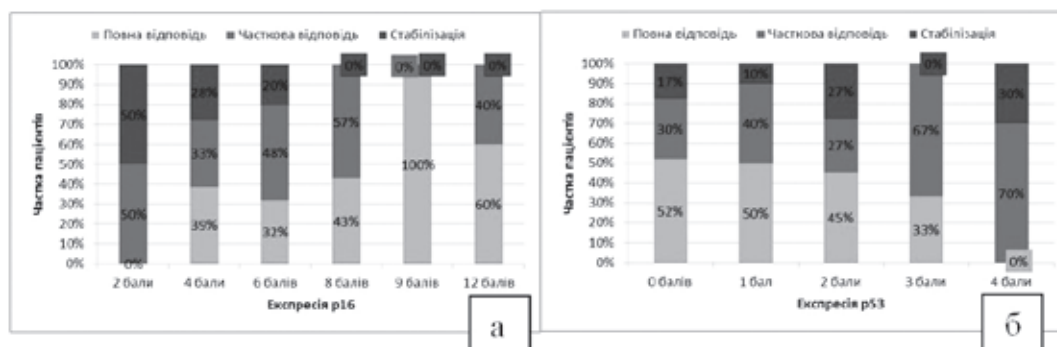


Рис. 2. Ефект комбінованого лікування в залежності від експресії p16INK4a (а) і p53 (б)

ності не були статистично значущими, $p=0,068$. Однак, чітко простежувалося зменшення загальної виживаності зі зростанням експресії p53 у пухлинах – пацієнти з нижчими рівнями експресії p53 мали помітно більші медіани загальної виживаності (рис. 5). Було встановлено наявність оберненого кореляційного зв'язку між експресією p53 в пухлині і медіаною загальної виживаності ($\rho=-0,9$; $p < 0,001$).

Серед пацієнтів, які мали найнижчу експресію p53 (0 і 1«+») спостерігалася найвища як 1-річна (87% і 90%, відповідно; $p < 0,001$) так і 2-річна (52% і 80%, відповідно; $p=0,015$) виживаність. У цьому ж напрямку (від найнижчої

експресії p53 до найвищої) відбувається занепад трендів кумулятивної 1- та 2-річної виживаності (рис. 6).

Для визначення значимих прогностичних факторів до моделі Кокса пропорційних ризиків було включено показники категорій T та N класифікації TNM, ступінь диференціювання пухлини, експресії p16INK4a, E6 ВПЛ 16/18 типів та p53, частоту койлоцитозу (табл. 1).

Серед факторів, включених до моделі, найсильнішими і статистично значущими виявилися поширеність первинної пухлини (BP 2,2, 95% ДІ 1,3–3,5, $p=0,003$) та експресія p53 (BP 1,3, 95% ДІ 1,1–1,7, $p=0,016$).

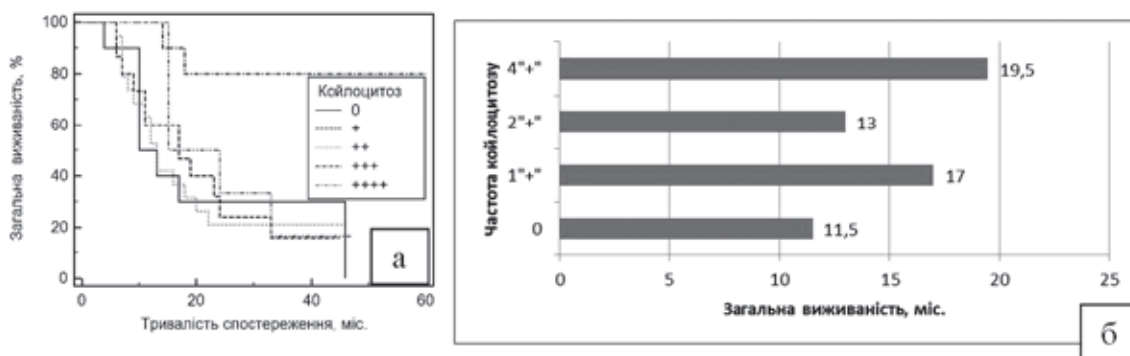


Рис. 3. Криві загальної виживаності (а) та медіани загальної виживаності (б) в залежності від частоти койлоцитозу в пухлині. Примітка: серед пацієнтів з частотою койлоцитозу на рівні 3«+» медіана не досягнута

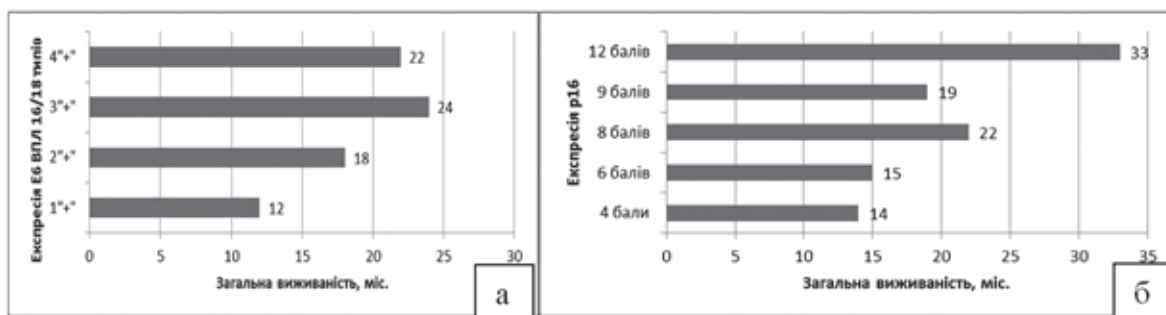


Рис. 4. Медіани загального виживання пацієнтів у залежності від експресії E6 ВПЛ 16/18 типів (а) та p16INK4a (б) у пухлині

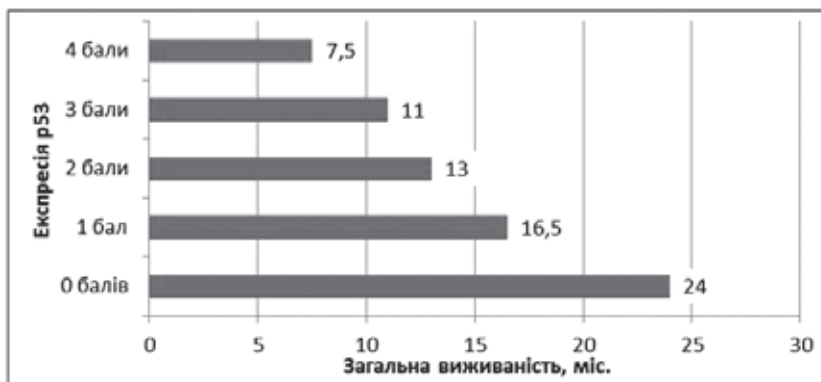


Рис. 5. Медіани загального виживання пацієнтів у залежності від експресії p53 у пухлині

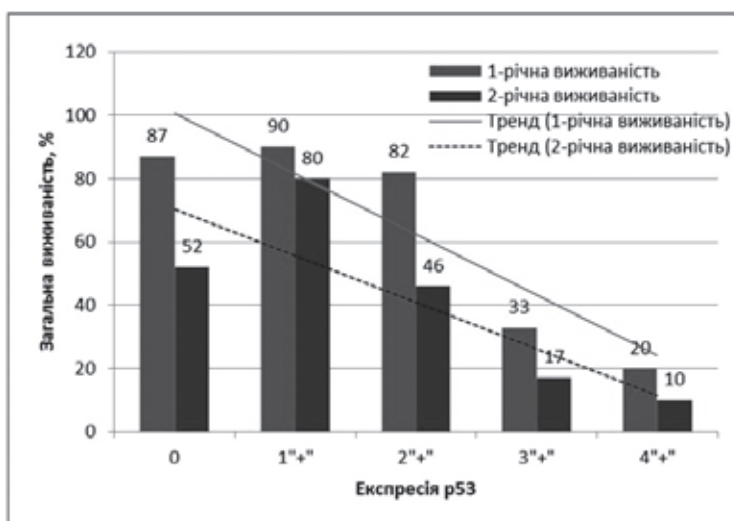


Рис. 6. Кумулятивна 1- і 2-річна виживаність пацієнтів з різними рівнями експресії p53 у пухлині

Таблиця 1

Багатофакторна модель Кокса пропорційних ризиків факторів прогнозу загальної виживаності

Показник	Відношення ризиків (ВР)	95% довірчий інтервал (ДІ)	p
Поширеність первинної пухлини (категорія Т)	2,2	1,3–3,5	0,003
Метастази в лімфатичних вузлах (категорія N)	1,2	0,8–1,8	0,414
Ступінь диференціювання, G	1,2	0,8–1,9	0,373
Експресія p16	1,0	0,9–1,2	0,967
Експресія E6 ВПЛ	0,9	0,6–1,3	0,502
Експресія p53	1,3	1,1–1,7	0,016
Койлоцитоз	0,8	0,6–1,1	0,244

Обговорення

На даний час, для пацієнтів з місцево поширеними карциномами ротової порожнини і ротоглотки вибір хірургічної тактики лікування зумовлюється операбельністю пухлини та прийнятими стандартами лікування [13, 3, 2]. Для ВПЛ-асоційованого раку ротової порожнини і ротоглотки існують обґрунтовані рекомендації щодо застосування неoad'ювантних консервативних методів лікування, що пов'язано з особливостями вірус-асоційованого канцерогенезу, які зумовлюють високу чутливість до цитотоксичної хіміотерапії і променевої терапії [17, 30].

Незважаючи на високу ефективність неoad'ювантного лікування, частина пацієнтів у нашому дослідженні (18,3%) у якості найкращої відповіді на лікування мала стабілізацію захворювання. Відсутність повних відповідей на лікування і високий рівень стабілізацій захворювання у пацієнтів з експресією p16INK4a на рівні 2 балів і у пацієнтів з експресією p53 на рівні 4«+» вказують на низьку ефективність індукційної хіміотерапії з наступною променевою терапією. В плані лікування для таких пацієнтів в якості першого етапу потрібно розглядати

хірургічне втручання. Такий підхід має сприяти підвищенню ефективності лікування пацієнтів з місцево поширеними ВПЛ-асоційованими плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і ротоглотки.

У моделі Кокса пропорційних ризиків експресія p53 була незалежним достовірним предиктором низької виживаності (ВР 1,3, 95% ДІ 1,1–1,7, $p=0,016$), що узгоджується з даними інших дослідників [29]. Дані літератури щодо прогностичного значення p16INK4a у пухлинах ротової порожнини і ротоглотки контроверсійні [10, 27]. Наші дані (кореляційний зв'язок експресії p16INK4a і медіани загальної виживаності пацієнтів) вказують на певну прогностичну цінність експресії p16INK4a, незважаючи на те, що модель Кокса пропорційних ризиків не показала незалежного прогностичного значення цього маркера.

Проведений аналіз не показав предикативного значення маркерів ВПЛ (койлоцитозу та E6 ВПЛ 16/18 типів) щодо ефективності комбінованого лікування. Водночас, більша частота койлоцитозу і вищі рівні експресії E6 ВПЛ 16/18 типів в пухлинах асоціювалися з вищою загальною виживаністю.

Висновки

1. Вищі рівні експресії p16INK4a в пухлинах достовірно асоційовані з кращим безпосереднім ефектом комбінованого лікування у пацієнтів з місцево поширеним ВПЛ-асоційованим плоскоклітинним раком ротової порожнини і ротоглотки ($p=0,3$, $p=0,024$). Високі показники експресії p53 пов'язані з низькою ефективністю комбінованого лікування ($p=-0,3$, $p=0,019$).

2. Пацієнти з місцевопоширеними ВПЛ-асоційованими плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і ротоглотки за низької експресії p16INK4a (2 бали) і високої експресії p53 (4«+») мають розглядатися як кандидати на хірургічне втручання на першому етапі лікування.

3. Експресія p53 є незалежним прогностичним фактором (ВР 1,3, 95% ДІ 1,1–1,7, $p=0,0163$), що пов'язаний з негативним прогнозом щодо загальної виживаності пацієнтів.

4. Маркери ВПЛ (частота койлоцитозу, експресія E6 ВПЛ 16/18 типів, p16 INK4a) мають обмежене прогностичне значення у пацієнтів з місцевопоширеними ВПЛ-асоційованими плоскоклітинними карциномами ротової порожнини і ротоглотки та потребують подальшого вивчення.

Список літератури

1. Грищенко С. В., Нагорный И. М., Чистяков А. А. и др. Тенденции заболеваемости злокачественными новообразованиями ротовой полости, глотки и губы среди населения Украины. *Онкохирургия* 2009; 1(2): 42.
2. Кравець О. В., Процик В. С. Комплексне лікування хворих на резектабельний рак порожнини рота III–IV стадії. Сучасний стан проблеми. *Клиническая онкология* 2013; 4 (12): 62–66.
3. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія». (Із змінами, внесеними згідно з Наказами Міністерства охорони здоров'я № 645 від 30.07.2010, № 247 від 29.04.2011 р.) [Текст]: наказ від 17.09.2007 р. № 554 (Витяг). *нормат.-директивних док. з охорони здоров'я: Виробничо-практичний журнал* 2011; 7: 44–57.
4. Рак в Україні, 2010–2011. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. *Бюл. Нац. канцер-реєстру України* 2012; 13: 31–34.
5. Рябошапка А. М., Ковальов О. О., Волошина Н. М. Діагностика раку ротової порожнини і ротоглотки, асоційованого з вірусом папіломи людини. *Онкологія* 2013; 2 (56): 113–119.
6. Aggarwal S., Arora V.K., Gupta S. et al. Koilocytosis: correlations with high-risk HPV and its comparison on tissue sections and cytology, urothelial carcinoma. *Diagnostic Cytopathology* 2009; 37 (3): 174–177.
7. Al-Qahtani K., Brousseau V., Paczesny D. et al. Koilocytosis in oral squamous cell carcinoma: what does it mean? *J. Otolaryngol.* 2007; 36 (1): 26–31.
8. Chaturvedi A. K., Engels E. A., Anderson W. F., Gillison M. L. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 612–619.
9. Chaudhary A. K., Singh M., Sundaram S., Mehrotra R. Role of human papillomavirus and its detection in potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. *Head Neck Oncol.* 2009; 1 (1): 22–33.
10. Dunkel J., Vaittinen S., Grénman R. et al. Prognostic markers in stage I oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2013; 123 (10): 2435–2441.
11. El-Naggar A.K., Westra W.H. p16 expression as a surrogate marker for HPV-related oropharyngeal carcinoma: a guide for interpretative relevance and consistency. *Head Neck* 2012; 34 (4): 459–461.
12. Gillison M. L., Koch W. M., Capone R. B. et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 709–20.
13. Gregoire V., Lefebvre J.-L., Licitra L. et al. Squamous cell carcinoma of the head and neck: EHNS–ESMO–ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2010; 21 (Suppl. 5): v184–v186.
14. Koo Ch-L., Kok L-F., Lee M-Y. Scoring mechanisms of p16INK4a immunohistochemistry based on either independent nucleic stain or mixed cytoplasmic with nucleic expression can significantly signal to distinguish between endocervical and endometrial adenocarcinomas in a tissue microarray study. *Journal of Translational Medicine* 2009; 7(25): 1–10.
15. Kreimer A. R., Clifford G. M., Boyle P. et al. Human Papillomavirus Types in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas Worldwide: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005; 14: 467–475.
16. Kyzas P. A., Loizou K. T., Ioannidis J. P. A. Selective Reporting Biases in Cancer Prognostic Factor Studies. *Journal of the National Cancer Institute* 2005; 97 (14): 1043–1055.
17. Ma J., Liu Y., Yang X. et al. Induction chemotherapy in patients with resectable head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *World J. Surg. Oncol.* 2013; 11 (67): 1–7.
18. Marur S., D'Souza G., Westra W., Forastiere A. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncology* 2010; 11: 781–89.
19. McDonald J. W., Pilgram T. K. Nuclear expression of p 53, p 21 and cyclin D1 is increased in bronchioloalveolar carcinoma. *Histopathology* 1999; 34 (5): 439–46.
20. Pannone G., Santoro A., Papagerakis S. et al. The role of human papillomavirus in the pathogenesis of head & neck squamous cell carcinoma: an overview. *Infectious Agents and Cancer* 2011; 6: 4–14.
21. Peltonen J. K., Helppi H. M., Pääkkö P. et al. p53 in head and neck cancer: Functional consequences and environmental implications of TP53 mutations. *Head & Neck Oncology* 2010; 2: 36–45.
22. Penhallow J., Steingrimsdottir H., Elamin F. et al. p53 alterations and HPV infections are common in oral SCC: p53 gene mutations correlate with the absence of HPV 16-E6 DNA. *Int. J. Oncol.* 1998; 12 (1): 59–68.
23. Ragin C. C. R., Modugno F., Gollin S. M. The epidemiology and risk factors of Head and Neck Cancer: a focus on Human Papillomavirus. *J. Dent. Res.* 2007; 86: 104–114.
24. Rischin D., Young R. J., Fisher R. et al. Prognostic significance of p16INK4a and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28 (27): 4142–8.

25. Roncaglia M. T., Fregnani J. H., Tacla M. et al. Characterization of p16 and E6 HPV-related proteins in uterine cervix high-grade lesions of patients treated by conization with large loop excision. *Oncology Letters* 2013; 6 (1): 63–68.
26. Saito Y., Yoshida M., Ushiku T. et al. Prognostic Value of p16 Expression and Alcohol Consumption in Japanese Patients With Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer* 2013; 119 (11): 2005–2011.
27. Salazar C. R., Anayannis N., Smith R. V. et al. Combined P16 and human papillomavirus testing predicts head and neck cancer survival. *Int. J. Cancer* 2014; 135 (10): 2404–12.
28. Saman M. D. A review of the epidemiology of oral and pharyngeal carcinoma: update. *Head & Neck Oncology* 2012; 4: 1–7.
29. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncology* 2009; 45: 309–316.
30. Worden F. P., Kumar B., Lee J. S. et al. Chemoselection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: response and survival positively associated with HPV16 copy number. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26 (19): 3138–3146.
31. Yamamoto L., Alves V., Maeda M. et al. A morphological protocol and guide-list on uterine cervix cytology associated to Papillomavirus infection. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo [online]* 2004; 46 (4): 189–193.
32. Yao P. F., Li G. C., Li J. et al. Evidence of human papilloma virus infection and its epidemiology in esophageal squamous cell carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12 (9): 1352–1355.

Стаття надійшла до редакції 14.11.2015.

А. А. Ковалев, А. М. Рябошапка, Шах Ф.

ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины»

ПРЕДИКТОРЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕСТНОРАСПРОСТРАНЁННЫМИ КАРЦИНОМАМИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И РОТОГЛОТКИ: РОЛЬ МАРКЕРОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Цель работы: определить предикативное и прогностическое значение маркеров ВПЧ (белок Е6 ВПЧ 16/18 типов, p16INK4a, койлоцитоз) и белка p53 в зависимости от уровня их экспрессии у пациентов с ВПЧ-ассоциированными местнораспространёнными плоскоклеточными карциномами ротовой полости и ротоглотки.

Объект и методы исследования: в биопсийных образцах плоскоклеточного рака ротовой полости и ротоглотки 60 пациентов проведено определение койлоцитоза, экспрессии белков Е6 ВПЧ 16/18 типов, p16INK4a и p53, исследованы их предикативное и прогностическое значения.

Результаты: выявлены корреляционные связи между эффектом комбинированного лечения и экспрессией p16INK4a ($\rho=0,3$, $p=0,024$) и экспрессией p53 ($\rho=-0,3$, $p=0,019$). Частота койлоцитоза коррелировала с медианой общей выживаемости, $\rho=0,5$, $p<0,001$. Экспрессия Е6 ВПЧ 16/18, p16INK4a и p53 коррелировала с медианой общей выживаемости (соответственно: $\rho=0,9$, $p<0,001$; $\rho=0,9$, $p=0,037$; $\rho=-0,9$, $p<0,001$). Экспрессия p53 была независимым предиктором низкой выживаемости (ВР 1,3, 95% ДИ 1,1–1,7, $p=0,016$) в модели Кокса пропорциональных рисков.

Выводы: высокие уровни экспрессии p16INK4a ассоциированы с высокой, а высокие уровни экспрессии p53 – с низкой эффективностью лечения. Пациентам с экспрессией p16INK4a на уровне 2 баллов и с экспрессией p53 4 «+» целесообразно выполнять хирургическое вмешательство на первом этапе лечения. Экспрессия p53 является независимым фактором негативного прогноза общей выживаемости. Частота койлоцитоза, экспрессия Е6 ВПЧ 16/18 и p16 INK4a имеют ограниченное прогностическое значение и требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак, ротовая полость, ротоглотка, прогноз, предикативные факторы, вирус папилломы человека, диагностика, лечение.

O. Kovalyov, A. Riaboshapka, F Shakh

SI «Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health of Ukraine»

PREDICTORS OF SURGICAL TREATMENT IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED ORAL AND OROPHARYNGEAL CARCINOMAS: THE ROLE OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS MARKERS.

Objective: to determine the predictive and prognostic value of HPV markers (HPV 16/18 E6, p16INK4a, koilocytosis) and p53 protein depending on their level of expression in patients with HPV-

associated locally advanced oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas.

Object and methods: in biopsy samples of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma of 60 patients performed definition of koilocytosis, expression of HPV 16/18 E6, p16INK4a and p53, studied their predictive and prognostic value.

Results: was found correlation between the effect of combined treatment and expression p16INK4a ($\rho=0,3$, $p=0,024$) and p53 expression ($\rho=-0,3$, $p=0,019$). Frequency of koilocytosis correlated with median of overall survival, $\rho=0,5$, $p<0,001$. HPV 16/18 E6, p16INK4a and p53 expression correlated with median of overall survival (respectively: $\rho=0,9$, $p<0,001$; $\rho=0,9$, $p=0,037$; $\rho=-0,9$; $p<0,001$). P53 expression was an independent predictor of poor survival (RR 1,3, 95% CI 1,1–1,7, $p=0,016$) in the Cox proportional hazards model.

Conclusions: p16INK4a high expression levels are associated with high efficiency and p53 high expression levels – with low efficiency of treatment. Patients with p16INK4a expression at 2 points and p53 expressing «4+» appropriate to perform surgery in the first stage of treatment. P53 expression is an independent factor of poor prognosis of overall survival. Koilocytosis frequency, HPV16/18 E6 and p16INK4a expression have limited prognostic value and need further study.

Keywords: squamous-cell carcinoma, oral cavity, oropharynx, human papilloma virus, diagnostics, treatment.