

І.С. Шпонька, П.О. Гриценко, О.В. Пославська, В.І. Шпонька

## Плоскоклетинні раки орофарингеальної області: залежність клінічного перебігу від імунофенотипу пухлини

Дніпропетровська державна медична академія

**Ключові слова:** плоскоклетинний рак орофарингеальної області, ВПЛ, пухлинні супресори, прогностичні маркери.

Злоякісні пухлини орофарингеальної області займають четверте місце серед пухлин голови та шиї, і посідають 10 сходинку в структурі смертності чоловіків України. Особливо насторожує, що на I-II стадії (згідно TNM класифікації) діагностується лише 40,5% нових випадків раку ротової порожнини та 29,4% раку глотки, і тому близько 50% пацієнтів не проживає й року з моменту встановлення діагнозу. Більше 90% неоплазій ротової порожнини та глотки за морфологією є плоскоклетинними раками (ПР), домінуючими причинами виникнення яких раніше вважалися паління/жування тютюну та зловживання алкоголем. Сучасні дослідження доводять, що виникнення 40% ПР орофарингеальної області асоційований з вірусом папіломи людини (ВПЛ) високого онкогенного ризику, який проявляє найбільшу тропність до епітелію глотки і мигдаликів. Різний канцерогенний вплив тютюну/алкоголю, які викликають мутації в пухлинних супресорах (частіше p53) та ВПЛ, наслідком інтеграції якого є блокування функції p53 та pRb, викликає необхідність окремого дослідження імунного статусу ВПЛ-позитивних та ВПЛ-негативних ПР орофарингеальної ділянки для прогнозування ризику виникнення рецидивного/метастатичного росту та передбачення чутливості пухлини до хіміо- чи променевої терапії. Розробка прогностично-передбачувальної панелі антитіл для ПР ротоглотки повинна покращити діагностичну ситуацію через стратифікацію ризику для прийняття рішення онкологом про проведення органозберігаючої операції та вибір доцільної ад'ювантної терапії в кожному окремому випадку.

### Плоскоклеточные раки орофарингеальной области: зависимость клинического течения от иммунофенотипа опухоли

И.С. Шпонька, П.А. Гриценко, А.В. Пославская, В.И. Шпонька

Злокачественные опухоли орофарингеальной области занимают четвертое место среди опухолей головы и шеи, и находятся на 10 ступени в структуре смертности мужчин Украины. Особенно настораживает, что на I-II стадии (согласно классификации TNM) диагностируется только 40,5% новых случаев рака ротовой полости и 29,4% рака глотки, поэтому около 50% пациентов не проживает и года с момента постановки диагноза. Более 90% новообразований ротоглотки морфологически представлены плоскоклеточными раками (ПР), доминирующими причинами возникновения которых ранее считались курение/жевание табака и злоупотребление алкоголем. Современные исследования доказывают, что возникновение 40% ПР орофарингеальной области ассоциировано с вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска, который проявляет наибольшую тропность к эпителию глотки и миндалин. Различное канцерогенное влияние табака/алкоголя, которые вызывают мутации в опухолевых супрессорах (чаще p53) и ВПЧ, следствием интеграции которого становится блокирование функции p53 и pRb, вызывает необходимость отдельного исследования иммунного статуса ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных ПР орофарингеальной области для прогнозирования риска возникновения рецидивного/метастатического роста и предсказания чувствительности опухоли к химио- или лучевой терапии. Разработка прогностически-предсказательной панели антител для ПР ротоглотки должна улучшить диагностическую ситуацию через стратификацию риска для принятия решения онкологом о проведении органосохраняющей операции и выборе рациональной адъювантной терапии в каждом конкретном случае.

**Ключевые слова:** плоскоклеточный рак орофарингеальной области, ВПЧ, опухолевые супрессоры, прогностические маркеры.

*Патология. – 2009. – Т.6., №3. – С. 4-10*

### Squamous cell carcinoma of the oropharynx: dependency of the clinical course on tumor immunophenotype

I.S. Shpon'ka, P.O. Grytsenko, O.V. Poslavs'ka, V.I. Shpon'ka

The malignancies of the oropharynx take the fourth place amongst head and neck tumors, and are found on the 10th step in a structure of male death-rate in Ukraine. It is even more disturbingly because only 40,5% of new cases of oral cavity cancer are diagnosed on I-II stage (according to TNM categorizations) and 29,4% of gulp cancer, consequently less than 50% of patients do not live a year since the moment of the diagnosis. More than 90% of malignant tumours of oropharynx are morphologically presented by squamous cell carcinomas (SCC), and the dominant reasons of origin of which had earlier been considered as tobacco smoking/chewing and alcohol abuse. Modern researches prove that the origin of 40% SCC oropharynx are associated with human papillomavirus (HPV) of high oncogenic potential, which shows high sensitivity to gulp and tonsils epithelium. The different carcinogenic influence of the tobacco/alcohol, which causes the mutations in tumor suppressors (more often r53) and HPV, integrations of which result to blocking of functions p53 and pRb and causes necessity of separate study of immune status HPV-positive and HPV-negative SCC oropharynx for prognostication of the metastases development and tumors recurrence risk and predictions of tumors sensitivity to chemistry- or beam therapy. The development of prognosis and predictions panel for SCC oropharynx antibodies is to improve the diagnostic situation through risk stratification for oncologists' decision making on conducting organ-saving operations and choosing rational adjuvant therapy in each particular case.

**Key words:** oropharyngeal squamous cell carcinomas, HPV, tumor suppressors, prognostic markers.

*Pathologia. 2009; 6(3): 4-10*

**Актуальність та епідеміологія**

Злоякісні пухлини орофарингеальної області займають четверте місце серед пухлин голови та шиї [1], і залишаються поширеною причиною захворюваності та смертності у всьому світі [34]. США, Японія та більшість країн Європи стурбовані підвищенням показників захворюваності на злоякісні пухлини голови та шиї і вкладають багато коштів в програми покращення діагностики та лікування неоплазій цієї локалізації (WHO Global Oral Health Action Programme) [27]. Але якщо впровадження використання ад'ювантної післяопераційної променевої терапії та передопераційної хіміотерапії привело до покращення показників 5-річного виживання для раків гортані, то, попри всі зусилля, за останні десятиріччя не спостерігається аналогічних тенденцій для раків ротової порожнини та глотки [24,26]. Це спонукає до більш ретельного вивчення біологічних властивостей злоякісних пухлин орофарингеальної області.

Рак ротової порожнини складає 3,0% смертності від всіх злоякісних пухлин і посідає 10 місце в структурі смертності чоловіків України [6]. Останнім часом намітилася небезпечна тенденція збільшення випадків раку ротоглотки серед жінок та молоді [17,27]. По Україні показники захворюваності для раку ротової порожнини складають 5,1 (8,8 чоловіки і 1,9 жінки), для раку глотки - 3,8 (7,3 чоловіки і 0,7 жінки) на 100 000 населення. До областей з найвищими показниками захворюваності відносяться: серед чоловіків - Чернігівська, Сумська, Черкаська, серед жінок - м. Севастополь. Нових випадків захворюваності по Україні зареєстровано за 2007 рік 1881 з раком ротової порожнини і 1750 з раком глотки, з них в Дніпропетровську - 125 та 126 нових випадків, що складає 6,6% та 7,2% відповідно. Особливо насторожує, що згідно TNM класифікації на I-II стадії діагностовано лише 40,5% нових випадків раку ротової порожнини та 29,4% раку глотки, III - 25,5% та 26,9%, IV - 18,3% та 36,1% відповідно. Це призводить до того, що близько 50% пацієнтів не проживає і року з моменту встановлення діагнозу [6]. Тому першочерговим завданням є покращення якості своєчасної діагностики.

Епідеміологічні дослідження, проведені зарубіжними та вітчизняними онкологами, знайшли суттєву різницю захворюваності в популяції раком ротової порожнини та глотки в різних регіонах. В число регіонів з високою захворюваністю ввійшли Індія, південна частина Африканського континенту, Таїланд, Пакистан, Шрі-Ланка, країни Близького Сходу (місцеві традиційні тютюнові вироби, змішані з двовуглекислим натрієм, містять дуже високі рівні канцерогенних нітрозамінів, що обумовлює розвиток раку ротової порожнини у цих регіонах), та середньоазіатські країни колишнього СРСР - Таджикистан, Узбекистан, Киргизія [7,27]. Причину високої захворюваності раком ротової порожнини та глотки у цих країнах пов'язують з широким розповсюдженням серед населення шкідливої звички вживання насу, бетелі, які чинять пошкоджуючу дію на слизову оболонку ротової порожнини [24]. В Індії рак орофарингеальної локалізації

взагалі посідає 1-е місце серед всіх злоякісних пухлин (50% у чоловіків та більше 90% у жінок), завдяки жуванню тютюну [7,34]. За даними ВОЗ у чоловіків, країнами з найвищими показниками захворюваності в західному світі є Франція, Данія, Германия, Швейцарія, Північна Італія, Центральна і Східна Європа (особливо Угорщина) та частина Латинської Америки [27,34].

**Морфологічні особливості**

Більше 90% неоплазій ротової порожнини та глотки за морфологією є плоскоклітинними раками (ПР) слизової оболонки. Інші, порівняно рідкі, пухлини виникають в малих або додаткових слинних залозах (аденокистозний рак, циліндрома) та в м'яких тканинах [1,24]. Важливо відзначити, що 75% ПР ротової порожнини виникає в ділянці, яка включає дно ротової порожнини та межуючу з ним слизову язика, під'язикову протоку та ретро-малярний регіон (основа язика, мигдалики з нижньою поверхнею м'якого піднебіння та язичок). Ця ділянка формує тільки 20% всієї слизової оболонки, але, як зона підвищеної сприйнятливості, стає накопичувачем всіх канцерогенів перед ковтанням [34]. Макроскопічно пухлина може мати вигляд виразки з твердими піднятими краями, або форму бородавчастих розростань з дуже щільною основою, чи плоских щільних бляшок. На передній частині язика переважають зроговілі форми ПР, ближче до кореню та на нижній поверхні - незроговілі й низькодиференційовані. Мають місце випадки виникнення веретинноклітинного раку, який складно відрізнити від саркоми [4]. Виникненню інвазивного ПР можуть передувати передракові стани покривного або залозистого епітелію - папіліт, папіломатоз, хронічний глосит з гіпертрофією або атрофією слизової оболонки, лейкоплакія, еритроплакія, червоний плоский лишай, підслизовий фіброз та інтраепітеліальний рак (carcinoma in situ) [1,4].

**Етіологічні чинники**

Значна частина досліджень останніх років присвячено пошуку етіологічних чинників та обтяжуючих факторів виникнення ПР ротової порожнини та глотки, з метою вивчення всіх ланок канцерогенезу та можливості впливу на них. Паління/жування тютюну та зловживання алкоголю - домінуючі фактори ризику, які при сумісній дії беруть на себе до 75% випадків неоплазій орофарингеальної області в розвинутих країнах [34,13]. Тому дорослі чоловіки (40-60 років) опиняються у зоні ризику завдяки частому вживанню тютюну та алкоголю в більшості країн. З іншого боку, виникнення 40% ПР орофарингеальної області асоційовано з вірусом папіломи людини (ВПЛ) високого онкогенного потенціалу [34]. Більшість авторів акцентують увагу на різниці між ротовою порожниною та глоткою тому, що більшу тропність ВПЛ проявляє до епітелію орофарингеальної ділянки [18,21,24], особливо до мигдаликів [13,15,22]. За даними літератури в пухлинах кореня язика, піднебіння та мигдаликів розповсюдження ВПЛ складає від 45% до 67%, менше в порожнині рота - 12-18%, передній частині язика - 12%, hypopharynx - 13-25 % [26], що

підтверджується методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР дозволяє знайти одну єдину унікальну нуклеотидну послідовність в нативних, заморожених або фіксованих формаліном і залитих в парафін тканинах. Після глобальних клінічних досліджень з ПЛР в 1996 році ВОЗ прийняла положення, що ВПЛ високого онкогенного ризику (тип 16,18,31,33,45,56) є чинником виникнення ПР шийки матки [5]. Морфологічна схожість епітелію орофарингеальної області та шийки матки дала підставу Surtanen із співав. поєднати і шляхи канцерогенезу [18]. Поширення ВПЛ-позитивних раків серед когорт народження останніх десятиріч пов'язують зі зміною сексуальної поведінки і особливу роль в інфікуванні відводять оральному сексу [13,21,22]. Дослідження по визначенню ролі ДНК ВПЛ в розвитку епітеліальних пухлин виявило його зв'язок з пухлинами орофарингеальної області, гортані, стравоходу, сечового міхура. У той же час, для діагностики та прогнозу передракових змін важливо не тільки знайти ДНК ВПЛ якогось типу, але й об'єднати локалізацію ДНК з морфологічними змінами в епітелії [5]. ВПЛ-позитивні пухлини формують групу з клінічними особливостями та «базальною морфологією», і це ілюструє роль генетичної характеристики, як потенційного фактору прогнозу [13,26].

Вірус папіломи людини (ВПЛ, особливо високого онкогенного ризику, типи 16, 18) інфікує епітеліальні тканини, що підтверджується наявністю епісомального вірусного геному у клітинах базального шару епітелію. Неінтегрована вірусна ДНК існує в циркулярній плазміді, в якій два трансформуючих гени (Е6 і Е7) локалізуються безпосередньо нижче верхнього регуляторного центру. У неінтегрованій стадії продукти Е2 гену плазміді пригнічують експресію Е6 и Е7 генів. Якщо ураження стає інвазивним, циркулярний геном плазміді розколюється майже посередині Е2-гена, відтворюючи лінійний фрагмент вірусної хромосоми. Блокуюча дія Е2-гена втрачається, що приводить до надекспресії онкогенних білків Е6 та Е7. Білок, який визначається ВПЛ-Е6-геном, блокує wt p53, а протеїн, який детермінується ВПЛ-Е7-геном зупиняє дію ретинобластомного антионкогену (pRb) [2,18]. Генетично ушкоджені клітини піддаються мітогічному поділу, з часом ці помилки можуть поширюватись (ампліфікуватись) до утворення великих хромосомних ушкоджень. Будь-які антивірусні препарати безсилі зупинити процес пухлинної трансформації, оскільки інфіковані клітини не утримують вірус в традиційному розумінні, й усі лікувальні заходи повинні направлятися на елімінацію клітин з інтегрованою формою геному ВПЛ. Генетичне підтвердження допомогло усвідомити причину появи рецидивного росту після, на перший погляд, повної резекції пухлини. Рецидив відображає розмноження генетично ушкоджених клітин в клінічно та мікроскопічно «чистих» тканинах.

Аналізуючи матеріали різних досліджень, багато непорозумінь викликає сумісна дія канцерогенних чинників – тютюну/алкоголю, які викликають мутації

в пухлинних супресорах (частіше p53) [12,20,23] та інфекції ВПЛ, результатом інтеграції якої є порушення регуляції клітинного циклу шляхом блокування p53 та pRb. Не зрозуміло, якою є частка кожного чинника у розвитку злякисних трансформацій. Furniss із співавт. [19], дослідивши 3,5 мільйона людей, дійшли висновків, що курці і ті, що зловживають алкоголем, мають більшу сприйнятливості до інфекції ВПЛ, можливо, внаслідок локальної імуносупресії. Крім того, інфекція ВПЛ у них протікає довше і з більшими показниками сероконверсії. До того ж інтенсивне паління та зловживання алкоголем можуть бути маркером більшої кількості сексуальних партнерів і корелює з показниками інфікованості ВПЛ 16 типу. Серопозитивність на ВПЛ16 підвищує можливість розвитку раку глотки, а серопозитивність на ВПЛ 6 типу (хоча його вважають типом низького онкогенного ризику) стає ризиком для виникнення ПР ротової порожнини та глотки, незалежно від наявності ВПЛ 16. Інші дослідники [12] доводять, що ризик розвитку ПР ротової порожнини, пов'язаний з ВПЛ 16, більш високий у молодих чоловіків (вік до 56 років), які не палять та не зловживають алкоголем.

Неможливість поєднаної дії тютюну/алкоголю разом з ВПЛ-інфекцією для виникнення ПР ротоглотки здається логічною, якщо відокремити два шляхи дії на p53 та pRb – мутацію та блокування. Розглядаються різні можливі пояснення: підвищена кератинізація епітелію внаслідок зловживання тютюну та алкоголю дає резистентність до вірусу, або вірус сам інактивується під дією спирту, чи не може ефективно діяти в клітинах сильно модифікованих палінням/спиртом [19]. Тож, вимальовується зворотна кореляція між мутаціями p53 та ВПЛ-інфекцією, оскільки мутації p53 частіше зустрічаються в ПР орофарингеальної області у курців, а ВПЛ 16 типу – серед тих, хто не палить, та має більше двох сексуальних партнерів [20,21,24]. В теперішній час на практиці зустрічається парадоксальне поєднання p53-мутацій з присутністю ДНК ВПЛ у 42% ПР орофарингеальної області [17,23], показуючи хибність цієї теорії.

З інших факторів ризику для раків ротової порожнини в літературі описані жування насу, бетелі, яка складається з горіха Агеса (відомого канцерогену) й гідроксиду кальцію, ультрафіолетове випромінювання (для раку губи), постійна травматизація слизової ротової порожнини, зниження імунітету та погане харчування [1,24,27,34].

#### Особливості канцерогенезу

Всі названі канцерогенні впливи порушують регуляцію клітинного циклу й призводять до необмеженого поділу клітин. Рух по клітинному циклу G0-G1-S-G2-Мітоз-G0 відтворюється завдяки послідовній активації різних комплексів циклін – кіназа (Cdk). При порушенні ДНК настає експресія wt p53(дикого), який блокує гени, сприяючи росту/поділу клітини, та активує онкосупресори з сімейства Cip/Kip: p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, p27<sup>KIP1a</sup>, p57<sup>KIP2</sup>. Ці протеїни зв'язують та інактивують вже сформовані комплекси циклін D – Cdk4(6), циклін E – Cdk2, циклін

A – Cdk2, що зупиняє пересування по фазі G1 клітинного циклу, перехід з G1 у фазу S та активацію реплікації ДНК відповідно. Також окремо p21<sup>WAF1/CIP1</sup> здатен блокувати комплекс циклін В – Cdk2, відповідальний за проходження G2 фази й перехід в мітоз. Особливість p21<sup>WAF1/CIP1</sup> полягає ще в можливості активуватися завдяки p53-незалежним механізмам при ушкодженні останнього [3,16]. Підвищення експресії цикліну D1 прискорює проходження через фазу G1 клітинного циклу без позаклітинних мітогенних сигналів. Надекспресія гену циклін D1 знайдена в 25-70% ПР ротової порожнини та пов'язана з більш агресивним ростом пухлин та поганим прогнозом для пацієнта [11].

Білки сімейства Ink4 (p16<sup>INK4a</sup>, p15<sup>INK4b</sup>, p18<sup>INK4c</sup>, p19<sup>INK4d</sup>) безпосередньо взаємодіють з кіназою Cdk4(6). При цьому, зв'язуючи кіназу Cdk4(6), що знаходиться в комплексі з цикліном D та протеїнами Cip/Kip, вони витісняють протеїни Cip/Kip, штовхаючи їх на зв'язок з кіназою Cdk2. Тому підвищення активності білків Ink4, а саме пухлинного супресора p16<sup>INK4a</sup>, викликає як пряме блокування пересування по фазі G1 клітинного циклу, так и непряме утримання клітини від переходу з G1 у фазу S й зупинку реплікації ДНК [3,16]. За даними літератури зниження експресії гену пухлинного супресора p16<sup>INK4a</sup> визначено у 54,45% - 83% ПР орофарингеальної області [11,14]. Licitra із співавт. [17] при дослідженні ПР ротоглотки, враховували наявність ВПЛ, мутації p53 і p16<sup>INK4a</sup> та експресію протеїну p16. Після молекулярного аналізу мутацій p16<sup>INK4a</sup> і поєднання цих даних з білковим вираженням p16, вони дійшли висновків, що p16- імунний статус може вводити в оману, оскільки не є дзеркальним відображенням молекулярних змін (пацієнтів без експресії p16 чисельно більше пацієнтів з делецією p16<sup>INK4a</sup>, і це підтверджує інший механізм інактивації). Також, не дивлячись на значущу кореляцію між позитивним p16 вираженням й інтеграцією ВПЛ, значна частина p16-позитивних пацієнтів були негативні на ВПЛ.

Bradley із співавт. [10] взагалі спростовують значення p16, як надійного біомаркера для діагностики дисплазій та ПР орофарингеальної ділянки, без уточнення ВПЛ-статусу пухлини, після отримання різномірного вираження p16: частини надекспресії й частини інактивації, як шляхів різного плину канцерогенезу. На їх думку, можливість різних результатів експресії знижує надійність правильної трактовки дослідження, що призводить до некоректних висновків. Використання групи маркерів більш надійне. Angiero із співавт. [14] доводять, що зниження експресії p16<sup>INK4a</sup> та надекспресія mt p53 разом з високим Ki-67 значущі фактори трансформації дисплазії в ПР ротоглотки.

Виникнення мутантного mt p53, призводить до синтезу білка, який втратив свою функцію, але отримав високу стабільність та можливість накопичуватися у ядрі клітини [5]. Канцерогени в тютюні збільшують спектр мутацій p53, в порівнянні з пацієнтами які ніколи не курили [11,20,34]. В багатьох працях підтверджується

роль мутантного p53, як фактора поганого прогнозу й неефективності ад'ювантної терапії при пухлинах різних локалізацій [5], в тому числі і орофарингеальної області [11].

Montebugnoli із співавт. [29] отримали суперечливі дані, щодо p53. Аналіз показав різницю між потенційно злоякісними ушкодженнями й нормальною слизовою: біля 40% випадків дисплазій та 15% лейкоплакій без дисплазії показували підвищення p53 вище ніж максимальне значення в нормальному епітелії. Але в зразках ПР орофарингеальної області експресія p53 розподілилася на 2 підгрупи: з високою експресією 57%, та низькою – 43% випадків, що навело дослідників на висновки про ненадійність прогностичного значення p53, як самостійного маркера, й потребу розробки панелі антитіл з обов'язковим урахуванням індексу проліферації.

Маркери проліферації (Ki-67 та PCNA) часто використовують для імуногістохімічного аналізу пухлин. Ki-67 виявляє проліферуючі клітини на різних фазах циклу, відображаючи весь пул клітин у стані поділу, і, таким чином, є найбільш надійним та чітким маркером проліферації [5]. При поєднанні даних експресії p53 та Ki-67 в ПР орофарингеальної області Montebugnoli із співавт. [29] в більшості випадків отримали стабільно високий коефіцієнт Ki-67/p53: 93% зразків раків з надекспресією p53 і 83% зразків зі зниженням експресії p53 мали високий коефіцієнт Ki-67/p53, що показує незалежність цього відношення від експресії p53. Також високий коефіцієнт Ki-67/p53 показали 89% зразків непухлинної тканини в краях резекції, тоді як нормальний епітелій такої відповіді не давав.

Зупинка проліферації при встановленні контактів з оточуючими клітинами пов'язують з підвищенням експресії пухлинних супресорів p16<sup>INK4a</sup> та p27<sup>KIP1</sup>, через E-кадгерин, який відіграє значну роль в підтримці щільності клітин в нормальному епітелії ротової порожнини. Підвищення в епітеліальних пухлинах експресії E-кадгерину призводить до накопичення p27<sup>KIP1</sup> й зупинці клітинного росту [3,8]. Утворення епітеліального пласту викликає накопичення p53, тоді як мутації E-кадгерину і/або порушення міжклітинних контактів, навпаки викликає дестабілізацію p53 та, як наслідок, зупинку супресивної дії p21<sup>WAF1</sup> на комплекси циклін - Cdk. Таким чином, нормальна експресія E-кадгерину пригнічує розповсюдження клітин пухлини, інвазивний ріст та метастазування. Diniz-Freitas із співавт. [31] в своїх дослідженнях ПР ротової порожнини та глотки пов'язують зменшення чи повну відсутність експресії E-кадгерину у випадках пухлин з метастазами в лімфатичні вузли та поганим прогнозом для виживання.

Ключову роль в регуляції входження клітини в S-фазу відіграє пухлинний супресор pRb та його гомологи білки p105, p130 [3,16]. В ранній G1-фазі вони зв'язують транскрипційні комплекси E2F-DP, а під дією мітогенних сигналів цей зв'язок руйнується й відбувається реплікація ДНК. Блокування функції чи мутації pRb призводять до пухлинної прогресії. Мутації pRb менш

поширені ніж p53 в пухлинах орофарингеальної області, і різні дослідники дають різні значення зниження експресії. За даними літератури відзначається зниження експресії pRb до 66% в ПР ротоглотки та приблизно в 64% передракових ушкоджень [11]. Tanaka зі співавт. [28] вивели зворотну кореляцію виявлення експресії pRb2/p130 з наявністю метастазів у лімфатичних вузлах ший, зниженням ступеня диференціювання пухлини та стадією пухлинної прогресії ПР ротоглотки (коефіцієнт позитивного забарвлення pRb2/p130 в T4 набагато нижчий порівняно з T1-3). При порівнянні 5-річного показника виживання в групах із різними клінічними характеристиками за TNM виявилось, що у пацієнтів в кожній підгрупі з pRb2/p130-позитивними пухлинами показник виживання значно вищий, порівняно з тими, чий pRb2/p130-статус був негативним.

MDM2 вважають кандидатом на універсальний пухлинний антиген. Він є протоонкогеном, продукт якого підтримує на низькому рівні p53 і викликає інактивацію pRb. Гіперекспресія MDM2 важливий чинник розвитку епітеліальних пухлин [8,11]. Kodani зі співавт. [25] відзначають підвищення експресії MDM2 в ПР середнього ступеня диференціації порівняно з високодиференційованими карциномами. При прогнозуванні подальшого плину захворювання також важливо враховувати позитивну кореляцію надекспресії MDM2 з інвазивним ростом пухлини.

Родина Bcl-2, Bcl-XL (мітохондріальні стабілізатори мембран) керують транспортом іонів, утворюють іонні пори, зупиняють вихід деяких активаторів апоптозу, але у комплексі з Вах вони втрачають цю інактивуючу функцію. Вах, Bad, Bid (цитоплазматичні фактори) підвищують проникливість мембран мітохондрій для виходу в цитоплазму цитохрома C та ALF (апоптоз індуючого фактора) [3,16]. Останні, в свою чергу, активують каспази, відповідальні за фрагментацію ушкодженого ДНК. Цей процес також є p53 залежним, оскільки останній блокує Bcl-2 та активує Вах. Багато досліджень показують високу кореляцію між підвищенням рівня експресії Bcl-2 або зниженням експресії Вах і посиленням пухлинної прогресії, більш частим рецидивним та метастатичним ростом, скороченням терміну життя пацієнтів [5,11]. Xin Xie зі співавт. [33], при дослідженні ПР ротоглотки, виявили низький показник виживання у пацієнтів з низькою експресією Вах та високою Bcl-2, і звертають увагу на коефіцієнт Bcl-2/Вах, як незалежний показник ризику розвитку пухлин цієї локалізації. Pena із співавт. [9] відмічають надекспресію Bcl-2 або Bcl-XL у 70% досліджених ПР голови та ший порівняно з нормальним епітелієм. При цьому покращення виживання поєднувалося з надекспресією саме Bcl-2, а не Bcl-XL. Також Bcl-2-позитивні пухлини виявляли кращі результати при комбінованих методах лікування та допускали використання менш токсичного протоколу терапії. Індукований (медикаментозний, гормональний, променевий) апоптоз є важливим механізмом дії різних схем протиракового лікування та по-

казником його ефективності. Кількісна оцінка факторів генетичної програми клітинної смерті стає невід'ємним етапом в діагностиці пухлин [5].

Необхідною умовою для росту пухлинного комплексу діаметром 1-2 мм<sup>3</sup> є формування мережі новостворених капілярів. Неопластичні клітини стимулюють проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин завдяки збільшенню продукції факторів росту – цитокінів: VEGF, FGF, EGF, TGF- $\alpha$ , та зменшенню синтезу інгібіторів ангіогенезу (інтерферону, ангіостатину, ендостатину, тромбоспондину). Наслідком цих двох впливів є активація протеаз, які руйнують позаклітинний матрикс та забезпечують інвазію ендотеліоцитів в пухлинну тканину [3,16]. VEGF – плацентарний фактор росту включає - VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, які здатні зв'язуватися з рецепторами VEGF: VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/Flk-1/KDR, и VEGFR-3/Flt-4. Активація VEGFR-1 ініціює міграцію ендотеліальних клітин, крім того, може діяти як рецептор-приманка і регулює загальну концентрацію VEGF. VEGFR-2 – головний чинник поділу, розповсюдження та виживання ендотеліальних клітин. VEGFR-3 (або Flt-4) більше виявляється в лімфатичних судинах [11], і оскільки ПР ротової порожнини та глотки метастазують в лімфатичні вузли ший, VEGF-C/VEGFR-3 може стати важливою діагностичною мішенню, оскільки збільшення лімфатичних судин знаходить відображення в активації VEGF-C та VEGF-D. Дані досліджень VEGF в ПР голови та ший досить суперечливі: одні автори повідомляють про відсутність кореляції між VEGF й загальним показником виживання [11], інші, навпаки говорять про підвищення експресії VEGF-C, як фактора поганого прогнозу, але порівняно високе визначення показників ангіогенезу в тканинах пухлин (VEGF-C виявляється до 100% ПР ротоглотки) [31], передбачає привабливу ланку канцерогенезу для таргетного впливу на ПР цієї локалізації.

Гени тромбоспондинів 1 і 2 є мішенню трансактиваційної дії p53, а транскрипцію гена VEGF p53, навпаки, блокує. До того ж гіпоксія, що виникає в центрі неплас-тичного комплексу, індукує p53, і як наслідок – апоптоз або зупинку клітинного циклу, що супроводжується підвищенням тромбоспондинів та зниженням експресії VEGF. Тому зрозуміла роль інактивації функції p53 для неоваскуляризації пухлинного вузла. Подальший ангіогенез може стимулювати експресія онкогенів RAS, через активацію транскрипційного комплексу AP-1, який підвищує секрецію VEGF, або експресія матриксних металопротеїназ (ММР-9/колагеназа IV, ММР-1 и др.), гени яких також регулюють AP-1 [3,11]. Nishizawa зі співавт. [32] доводить, що підвищення продукції ММР-1 є ключовим фактором розвитку плоскоклітинного раку орофарингеальної області, особливо язика (86,2% досліджених пухлин). Можливо в цій ділянці це обумовлено специфічним плинном канцерогенезу і потребує подальшого уточнення.

#### **Висновки**

Таким чином, за останні роки зроблено великий

крок в розумінні молекулярного патогенезу злоякісних пухлин ротової порожнини та глотки. Виявлені генетичні ушкодження, що виникають під впливом тютюну, алкоголю, ВПЛ та інших канцерогенів. Але нез'ясованим залишається їх трактування й практичне використання для передбачення рецидивного росту та метастатичного розповсюдження пухлини, вибору доцільної ад'ювантної терапії при комбінованому методі лікування та загального прогнозу виживання пацієнтів. Проведені дослідження використовують здебільшого окремі маркери, або оцінюють невелику кількість зразків, що призводить до суперечливих висновків. До того ж, багато дослідників говорять про різний прогноз для ВПЛ-позитивних та ВПЛ-негативних пухлин: Gillison зі співавт. [13] поганий прогноз при ПР орофарингеальної області пов'язують з ВПЛ-негативним статусом, віком понад 60 років, зловживанням алкоголю, наявністю метастазів в лімфатичних вузлах та місцевим розповсюдженням пухлини T<sub>3,4</sub>. Крайній прогноз виживання у пацієнтів з виявленням ВПЛ відмічають й інші автори, поєднуючи його з кращою відповіддю на променеву терапію [15,17]. Тісний зв'язок з позитивним ВПЛ-статусом мають прогностичне значення p16, p53, pRb, правильна інтерпретація яких неможлива без уточнення шляху канцерогенезу. Розробка прогностично-передбачувальної панелі антитіл для ПР ротоглотки повинна покращити діагностичну ситуацію через стратифікацію ризику для прийняття важливих клінічних рішень про можливість проведення органозберігаючої операції та вибір доцільної ад'ювантної терапії в кожному окремому випадку.

#### Література

1. Гладиліна І.А., Шабанов М.А., Нечушкин М.І. Современные подходы к терапии рака ротоглотки // Практическая онкология – 2003. Т.4, №1. – С. 45-50.
2. Запорожан В.М., Цегельський М.Р. Гінекологічна патологія: Атлас: Навч. посібник. – Одеса. Одес. держ. мед. ун-т, 2002. – 308с.
3. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия. - 2000. - Т.65. - С.5-33.
4. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Руководство в 2 т. / Под ред. Н.А. Краевского, А.В. Смольникова, Д.С. Саркисова. - М.: Медицина, 1993. - Т.1. - 560 с.
5. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека: 3-е изд., доп. и перераб. - Казань: Титул, 2004. - 456 с.
6. Рак в Україні, 2006 – 2007. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / під ред. проф. І.Б. Щепотіна // Бюлетень національного канцер-реєстру України. - Видання № 9, К. – 2008. – 100 с.
7. Соловьев М.М. Рак слизистой оболочки полости рта и языка (резервы улучшения результатов лечения) // Практическая онкология – 2003. Т.4, №1. – С. 31-37.
8. Тюреева И.И. Опухолевые антигены // Цитология. – 2008. Т.50, №3. – С. 189-209.
9. Bcl-XL and bcl-2 expression in squamous cell carcinoma of the head and neck / J.C. Rena, C.B. Thompson, W. Recant et al. // Cancer. – 1999. Vol.85, №1. - P. 164-170.
10. Bradley K.T., Budnick S.D., Logani S. Immunohistochemical detection of p16INK4a in dysplastic lesions of the oral cavity // Modern Pathology. – 2006. Vol.19. – P. 1310–1316.
11. Choi S., Myers J.N. Molecular pathogenesis of oral squamous

cell carcinoma: implications for therapy // J. Dent Res. – 2008. Vol.87, №1. – P. 14-32.

12. Combined effects of the p53 codon 72 and p73 G4C14-to-A4T14 polymorphisms on the risk of HPV16-associated oral cancer in never-smokers / X. Chen, E.M. Sturgis, A.K. El-Naggar // Carcinogenesis. – 2008. Vol.29, №11. P. 2120-2125.

13. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers / M.L. Gillison, W.M. Koch, R.B. Capone et al // J. of the National Cancer Institute. – 2000. Vol.92, №9. – P. 709-720.

14. Expression of p16, p53 and Ki-67 proteins in the progression of epithelial dysplasia of the oral cavity / F. Angiero, A. Berenzi, A. Benetti et al // Anticancer Res. – 2008. Vol.28, №5A. – P. 2535-2539.

15. Gillison M.L. Human papillomavirus and prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma: implications for clinical research in head and neck cancers // Journal of Clinical Oncology. – 2006. Vol.24, №36. - P. 5623-5625.

16. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // Cell. – 2000. Vol.100. – P. 57–70.

17. High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma / L. Licitra, F. Perrone, P. Bossi et al. // Journal of Clinical Oncology. – 2006. Vol.24, №36. – P. 5630-5636.

18. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988–2007) / N. Terminei, V. Panzarella, S. Falaschini et al. // Annals of Oncology. – 2008. Vol.19. – P. 1681–1690.

19. Human 6 seropositivity papillomavirus are bound by risk of the head and scaly cell to necks carcinoma, independent tobacco and alcohol use / C.S. Furniss, M. D. McClean, J.F. Smith et al. // Annals of Oncology. – 2009. Vol.20, №3. - P. 534-541.

20. Human papillomavirus type 16 and TP53 mutation in oral cancer / M. Dai, G.M. Clifford, F. le Calvez et al. // J Cancer Res. - 2004. Vol.64. – P. 468-471.

21. Human papillomavirus and oral cancer: the international agency for research on cancer multicenter study / R. Herrero, X. Castellsagué, M. Pawlita et al / Journal of the National Cancer Institute. - 2003. Vol.95, №23. – P. 1772-1783.

22. Incidence trends for human papillomavirus-related and unrelated oral squamous cell carcinomas in the united states / A.K. Chaturvedi, E.A. Engels, W.F. Anderson, M.L. Gillison // Journal of Clinical Oncology. – 2008. Vol.26, №4. - P. 612-619.

23. Inverse relationship between human papillomavirus-16 infection and disruptive p53 gene mutations in squamous cell carcinoma of the head and neck / W.H. Westra, J.M. Taube, M.L. Poeta, et al. // Clin. Cancer Res. – 2008. Vol.14, №2. - P. 366-369.

24. Marur S., Forastiere A.A. Head and neck cancer: changing epidemiology, diagnosis, and treatment // N Eng. J Med. – 2008. Vol.83, №4. – P. 489-501.

25. Minichromosome maintenance 2 expression is correlated with mode of invasion and prognosis in oral squamous cell carcinomas / I. Kodani, M. Osaki, K. Shomori et al. // J Oral Pathol. Med. – 2003. Vol.32, №8. – P. 468-474

26. Perez-Ordóñez B., Beauchemin M., Jordan R.C. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck // J. Clin. Pathol. – 2006. Vol.59. - P. 445–453.

27. Petersen P.E. Global policy for improvement of oral health in the 21st century - implications to oral health research of World Health Assembly 2007, World Health Organization // Community Dentistry and Oral Epidemiology. – 2009. Vol.37, №1. – P. 1-8.

28. pRb2/p130 protein expression correlated with clinicopathologic findings in patients with oral squamous cell carcinoma / N. Tanaka, K. Ogi, T. Odaajima et al. // Cancer. 2001, vol. 92, №8. - P. 2117-2125.

29. Predictive role of p53 protein as a single marker or associated to Ki67 antigen in oral carcinogenesis / L. Montebugnoli, L.

*Felicetti, D.B. Gissi et al. // Open Dent J. – 2008. Vol.2. –P. 24–29.*

30. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma / *M. Diniz-Freitas; T. García-Caballero; J. Antúnez-López et al. // Oral oncology. – 2006. Vol.42, №2. – P. 190-200.*

31. Simultaneous expression of furin and vascular endothelial growth factor in human oral tongue squamous cell carcinoma progression / *R. López de Cicco, J.C. Watson, D.E. Bassi et al. // Clin Cancer Res. – 2004. Vol.10, №13. – P. 4480-4488.*

32. The 2G allele of promoter region of matrix metalloproteinase-1

as an essential pre-condition for the early onset of oral squamous cell carcinoma / *R. Nishizawa, M. Nagata, A.A. Noman et al. // BMC Cancer. – 2007. Vol.7. – P. 187 - 196.*

33. The prognostic value of spontaneous apoptosis, Bax, bcl-2, and p53 in oral squamous cell carcinoma of the tongue / *X. Xie, O.P.F. Clausen, P.D. Angels, M. Boysen // Cancer. – 1999. Vol.86, №6. - P. 913-920.*

34. World Health Organization of Tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours / *L. Barnes, J. Eveson, P. Richard, D. Sidransky (Eds.). - Lyon, France: IARC Press, 2005. - 430p.*

***Відомості про авторів:***

Шпонька Ігор Станіславович, д.мед.н., професор, завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини Дніпропетровської державної медичної академії.

Гриценко Петро Олексійович, к.мед.н., асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини Дніпропетровської державної медичної академії.

Пославська Олександра Володимирівна, лікар-патологоанатом міської клінічної лікарні №9, м. Дніпропетровськ.

Шпонька Володимир Ігорович, лікар-інтерн обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечнікова, м. Дніпропетровськ.

***Адреса для листування:***

Шпонька Ігор Станіславович, Дніпропетровська державна медична академія, вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, 49000. Тел.: (056) 744-14-30.