

КОРЕЛЯЦІЙНИЙ ЗВ'ЯЗОК ПРОЛІФЕРАТИВНОГО ІНДЕКСУ K167 ТА РІВНЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПУХЛИН ОРОФАРИНГІАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ

Лисак А.В.

Національний військово-медичний клінічний центр «ГВКГ», патологоанатомічна лабораторія, м. Київ, Україна, ORCID ID: 0000-0003-0917-2688, e-mail: Lisak-a@i.ua

Резюме. Метою даного дослідження була порівняльна оцінка даних позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією (ПЕТ-КТ) та гістологічним, імуногістохімічним дослідженням (ІГХД) при плоскоклітинному раку різного ступеню диференціювання (G1-G3), з подальшим визначенням нових критеріїв для встановлення рівня диференціювання пухлин. Аналізуючи результати дослідження, використали методи біостатистики. Для порівняння показників у трьох групах використали критерій Крускала-Волліса, при здійсненні апостеріорних порівнянь – критерій множинних порівнянь Данна. У всіх випадках за критичний рівень значущості прийнято $\alpha_{\text{крит.}}=0,05$. Для аналізу прогностичних характеристик тесту за маркером K167 використали метод побудови та аналізу кривих операційних характеристик (ROC-кривих). Адекватність тесту оцінювали за площею під ROC-кривою (AUC), наведено і її 95 % ВІ. Оптиміальний поріг прийняття рішення для тесту розраховували за показником YoudenInex=Max (чутливість тесту+специфічність тесту – 100 %), оцінювання прогностичних характеристик тесту при вибраному порозі здійснили за показником чутливості (95 % ВІ) та специфічності (95 % ВІ) тесту. Під час аналізу використали статистичний пакет MedCalc v.16.8 (MedCalcSoftWarebvba, 1993–2016). **Результати дослідження.** Плоскоклітинні карциноми орофарингіальної ділянки – епітеліальні пухлини епітеліального походження, з дифузним чи вогнищевим ростом, еозинофільними клітинами, ядерним поліморфізмом, вогнищами концентрично злушеного епітелію. Тканина пухлини може мати різноманітний рівень мітозів та дискератозу. В дослідженні взяли участь 121 пацієнт; поділ здійснювався за групами. Ступінь диференціації плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки є одним з факторів, що визначають проліферативний потенціал раку і п'ятирічне виживання пацієнтів. Головним висновком нашого дослідження є підтвердження ефективності застосування ІГХД з антитілом до K167 і ПЕТ-КТ для діагностики плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки і визначення ступеню його диференціювання з високим рівнем чутливості і специфічності обох методів. Застосування комбінації методів рекомендовано для підвищення достовірності результатів і поглиблення передопераційних даних.

Ключові слова: плоскоклітинні карциноми орофарингіальної ділянки, K167, позитронно-емісійна томографія, кореляційний зв'язок.

Вступ. Незважаючи на суттєві регіональні відмінності, пухлини голови та шиї займають 6-ге місце за частотою виникнення. Щорічно в світі діагностують приблизно 650 000 нових випадків пухлин з даною локалізацією [1]. Щорічна смертність складає від 6 чоловік на 100 000 населення [2, 3]. Найчастішою пухлиною даної локалізації є плоскоклітинна карцинома, на другому місці аденокарциноми. В економічно розвинутих країнах, наприклад, у Німеччині, річна захворюваність складає серед чоловіків 10 500, серед жінок – 3.500. Пік захворю-

ваності припадає у жінок на 60-70 років, у чоловіків – 61-66 [3, 4, 9].

Одною з суттєвих проблем сучасної діагностики є своєчасне виявлення пухлин та визначення рівня їх агресивності з подальшим вибором тактики лікування.

Плоскоклітинні карциноми є найбільш розповсюдженими первинними пухлинами орофарингіальної ділянки та складають понад 90 % від усіх пухлин даної локалізації. Кількість випадків виявлення даних пухлин неухильно рік за роком збільшується. Причини виникнення плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки мультикомпонентні [5, 7, 8, 10, 11, 13, 14].

Початок захворювання частіше всього безсимптомний, що в більшості випадків призводить до виявлення пухлин на більш пізніх стадіях. Частіше всього пацієнти самостійно виявляють утворення ротової порожнини чи звертаються за медичною допомогою уже з порушеннями ковтання, артикуляції, болю. Приєднання вторинної інфекції в таких випадках може призводити до ускладнення діагностики плоскоклітинної карциноми [6, 12, 15, 16, 17].

Роль різноманітних факторів ризику виникнення плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки було досліджено в багатьох працях, було встановлено низку закономірностей онкогенезу. Однак незважаючи на це діагностика плоскоклітинних карцином даної локалізації залишається складним завданням.

Обґрунтування дослідження. Сьогодні верифікація та градування пухлин орофарингіальної ділянки, визначення їх потенціалу злоякісності залишається актуальною проблемою як в діагностиці, так і в прогнозуванні перебігу.

Пухлини даної локалізації, а також їх лікування в більшості випадків призводять до порушення життєво-важливих функцій, ковтання, дихання, важкими косметичними дефектами, що призводить до важкої інвалідації.

Серед причин смерті пухлини даної локалізації складають 13 % усіх випадків смерті від новоутворень, та складають приблизно 315 000 випадків серед 7,6 мільйонів на рік. Розподіл за статтю складає 230 000 – чоловіки та 75 000 – жінки. Серед первинно виявлених новоутворень щороку виявляють 600 000 випадків. Серед них 389 000 – ротова порожнина, 160 000 – гортань, 65 000 – трахея [14; 18; 19; 20; 21; 22]. За інформацією тієї ж міжнародної асоціації до 2030 року смертність збільшиться на 50 % та становитиме 595 000 [6; 13; 14; 23].

Залежність рівня проліферації, кількості мітозів до метаболічної активності пухлини є малодослідженою проблемою. У даний момент існують тільки поодинокі роботи по вивченню даної закономірності, що стосуються окремих видів пухлин.

Мета дослідження. Метою нашої роботи є проведення порівняльної оцінки даних позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією (ПЕТ-КТ) та гістологічним, імуногістохімічним дослідженням (ІГХД) при плоскоклітинному раку різного ступеню диференці-

ювання (G1-G3) з подальшим визначенням нових критеріїв для встановлення рівня диференціювання пухлин.

Це в перспективі дасть змогу: а) верифікувати пухлини безпосередньо під час проведення ПЕТ/СТ діагностики (встановлювати рівень агресивності на доопераційному етапі); б) гістологічно встановлювати злоякісність за допомогою одного маркера в незалежності від наявності в пухлині вторинних змін у вигляді запалення, некрозів, апоптозу.

Матеріали та методи дослідження. У нашій роботі, що виконана на базі патологоанатомічного та діагностичного відділень військового госпіталю Бундесверу (м. Ульм), залучені матеріали 121 пацієнта, які пролікувались у госпіталі з 1 травня 2012 р. до 1 січня 2015 р.

Середній вік пацієнтів (медіанне значення) – 65 років (35–95 років), серед них – 101 чоловік (83,5 %) та 20 жінок (16,5 %).

Критерії відбору пацієнтів були наступні:

- усі пацієнти були прооперовані з приводу раку орофарингіальної ділянки;
- гістологічний діагноз плоскоклітинна карцинома з визначенням рівня диференціювання;
- достатня кількість післяопераційного матеріалу для подальших досліджень;
- передопераційне проведення ПЕТ/КТ з визначенням базального та максимального значення SUV.

За результатами відбору з понад 350 пацієнтів нашим вимогам відповідала 121 особа.

Матеріали дослідження. Світлову мікроскопію виконали на мікроскопі Leica DM 6000 B, Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar з об'єктивами x5, x10, x20, x40, x100. Гістологічні зрізи товщиною 4 мкм виконували на ротаційному мікротомі HM 355S, Section-Transfer-System, Walldorf. Фарбування виконували в автоматі Ventana BenchMark (Ventana Medical Systems, Ventana, USA). Крім того, всім пацієнтам здійснили імуногістохімічне дослідження (ІГХД) із моноклональними антитілами до Ki67 (моноклональний, мишачий анти-Ki67 антиген, готовий до використання Clone MIB-1, ZYTOMED Systems GmbH-Berlin).

Методи дослідження. Реакція з маркером Ki67 визначалась у відсотковому співвідношенні.

Аналізуючи результати дослідження, використали методи біостатистики [24]. Під час перевірки закону розподілу аналізованих показників на нормальність (за критерієм Шапіро-Уїлка) виявили відмінність закону розподілу від нормального ($p < 0,05$), тому для представлення кількісних ознак розраховано медіанне значення показників (Me), значення першого та третього квантилів ($Q_1 \div Q_3$), розраховано також 95 % вірогідний інтервал (95 % ВІ) аналізованих показників [24]. Для порівняння

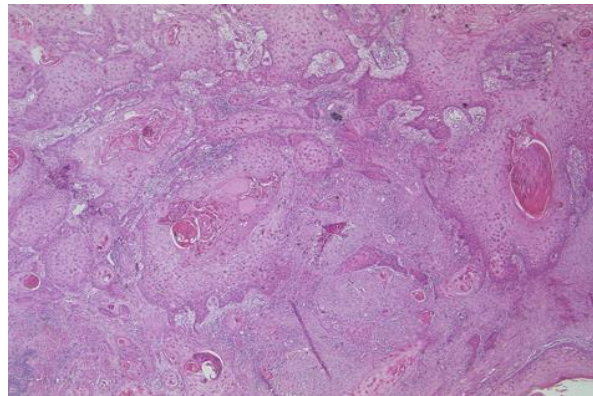


Рис. 1. А. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G1, фарбування гематоксиліном та еозином x200

показників у трьох групах використали критерій Крускала-Волліса, при здійсненні апостеріорних порівнянь – критерій множинних порівнянь Данна [24]. У всіх випадках за критичний рівень значущості прийнято $\alpha_{\text{крит.}} = 0,05$.

Для аналізу прогностичних характеристик тесту за Ki67 використали метод побудови та аналізу кривих операційних характеристик (ROC-кривих) [24]. Адекватність тесту оцінювали за площею під ROC-кривою (AUC), наведено і її 95 % ВІ [24]. Оптимальний поріг прийняття рішення для тесту розраховували за показником YoudenIndex=Max (чутливість тесту+специфічність тесту – 100 %), оцінювання прогностичних характеристик тесту при вибраному порозі здійснили за показником чутливості (95 % ВІ) та специфічності (95 % ВІ) тесту. Під час аналізу використали статистичний пакет MedCalc v.16.8 (MedCalcSoftWarebyba, 1993–2016).

Результати дослідження. Плоскоклітинні карциноми орофарингіальної ділянки гістологічно представляють собою епітеліальні пухлини епітеліального походження, з дифузним чи вогнищевим ростом, еозинофільними клітинами, ядерним поліморфізмом, вогнищами концентрично злушеного епітелію. Тканина пухлини може мати різноманітний рівень мітозів та дискератозу.

У нашому дослідженні взяв участь 121 пацієнт, із них був такий розподіл по групах згідно методики Anneroth et al., 1987 і Bruyne et al., 1992.

Група 1. Плоскоклітинні карциноми з рівнем ороговіння не менше ніж 20 %, слабким чи помірно-вираженим поліморфізмом, не менше ніж 50 % зрілих клітин, із чітким ростом солідними полями. У тканині пухлини спостерігається незначна кількість мітозів – від 0 до 3 у полі зору, можливе виражене чи помірне запалення.

Група 2. Плоскоклітинні карциноми з рівнем ороговіння не менше ніж 5 %, зрілих клітин не менше ніж 25 %, помірно вираженим поліморфізмом ядер, інфільтративний ріст можливий дрібними групами клітин, але не менше ніж 15 клітин у групі. Спостерігається також помірна кількість мітозів і незначна або відсутня запальна реакція.

Група 3. До цієї групи належать пухлини з незначним рівнем ороговіння, вираженим поліморфізмом ядер (зрілих клітин менше ніж 25 %), кількістю мітозів 5 і більше. Інвазія дрібними групами клітин менше ніж 15 клітин або поодинокими клітинами, запалення відсутне.

В усіх випадках матеріал був досліджений за допомогою маркера Ki67. Маркер Ki67 входить до стандартної схеми діагностики та визначення рівня диференціювання пухли, в тому числі і плоскоклітинних орофарингіальних. Ki67 вимірюється у відсотковому співвідношенні позитивних та негативних пухлинних клітин.



Рис. 1. Б. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G1, ІГХД із Ki67 x5

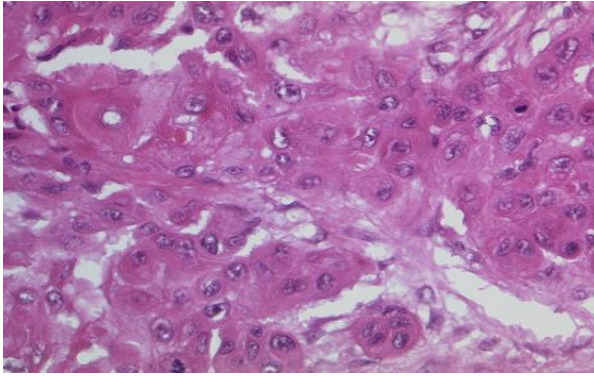


Рис. 1. В. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G2 фарбування гематоксилином та еозином x400

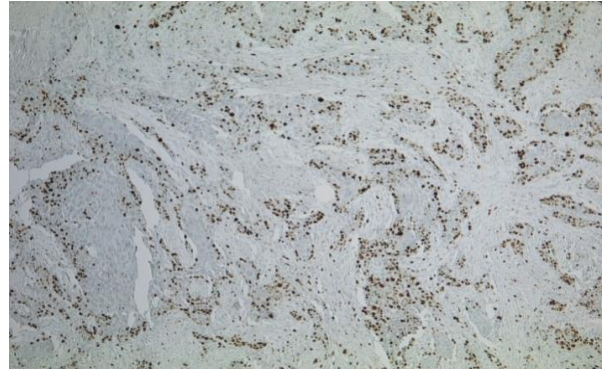


Рис. 1. Г. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G2, ІГХД із Ki67 x400

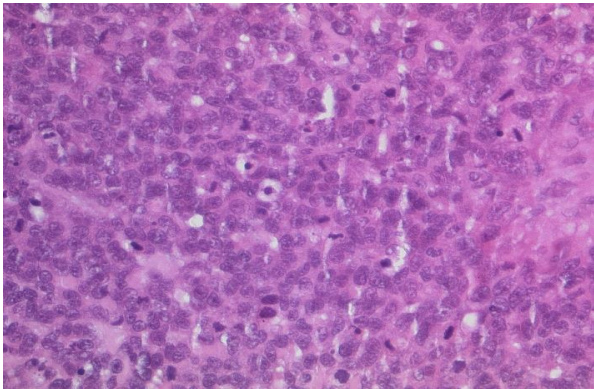


Рис. 1. Д. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G3, фарбування гематоксилином та еозином x400

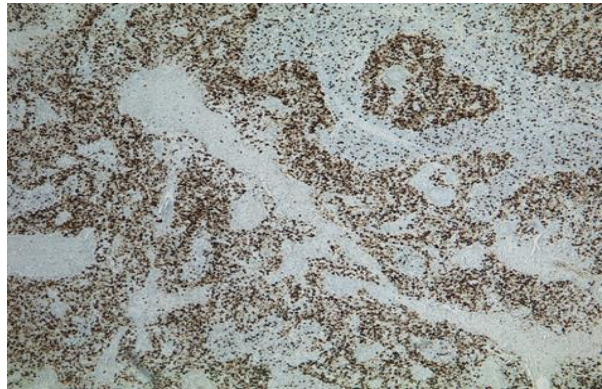


Рис. 1. Ж. Плоскоклітинна карцинома ротової порожнини G3, ІГХД із Ki67 x400

Таким чином, було здійснено поділ на три групи пухлин плоскоклітинної карцинома орофарингіальної ділянки в залежності від кількості набраних балів:

- 4-8 пункти G1- високодиференційована пухлина
- 9-12 пункти G2- помірнодиференційована пухлина
- 13-16 пункти G3- низькодиференційована пухлина

Так, в групі пухлин G1 мінімальна кількість позитивних пухлинних клітин складала 10 %, максимальна кількість – 80 %, середнє значення в групі складало 27,5 %, що наведено в графіку.



Рис. 2. Група пухлин G1

В групі помірно диференційованих карцином G2 кількість позитивних пухлинних клітин складають від 10 % до 95 %. В середньому в групі це значення на рівні 55 %.

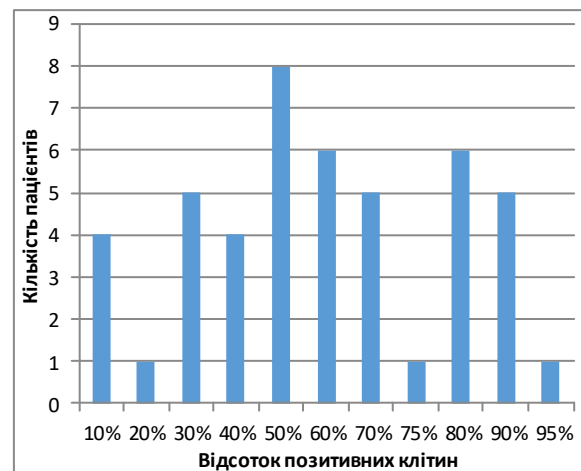


Рис. 3. Група пухлин G2

Остання, третя група, низько диференційованих G3 карцином представлена 54 пацієнтами. Мінімальне значення позитивних клітин складало 10 %, максимальне – 95 %. Середнє значення в групі – 67 % (Рис. 4).

Нами було перевірено однорідність досліджуваних груп.

На рис. 5 представлено поле розсіювання для хворих із різними ступенями диференціювання тканини (G1, G2, G3) в координатах, Ki-67 / SUV max.

Для визначення наявності зв'язку показників Ki-67, SUV max із ступенем диференціювання тканини було проведено кластерний аналіз (з використанням методу побудови нейромереж Кохонена). Усі дані в двовимірному просторі (Ki-67, SUV max) розподілялися у три кластери. В таблиці 1 представлені результати кластерного аналізу.

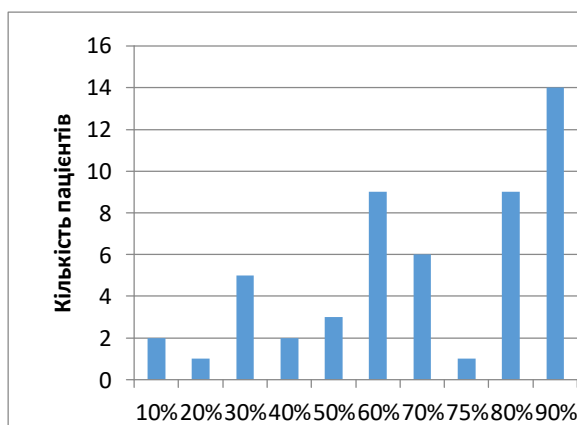


Рис. 4. Група пухлин G3

Таблиця 1

Кластер	Ступінь диференціювання тканини			Рівень значущості відмінності, p
	1	2	3	
Кластер 1 (n=49)	1 (2,0)	16 (32,7)	32 (65,3)	<0,001
Кластер 2 (n=18)	1 (5,6)	8 (44,4)	9 (50,0)	
Кластер 3 (n=54)	20 (37,0)	21 (38,9)	13 (24,1)	

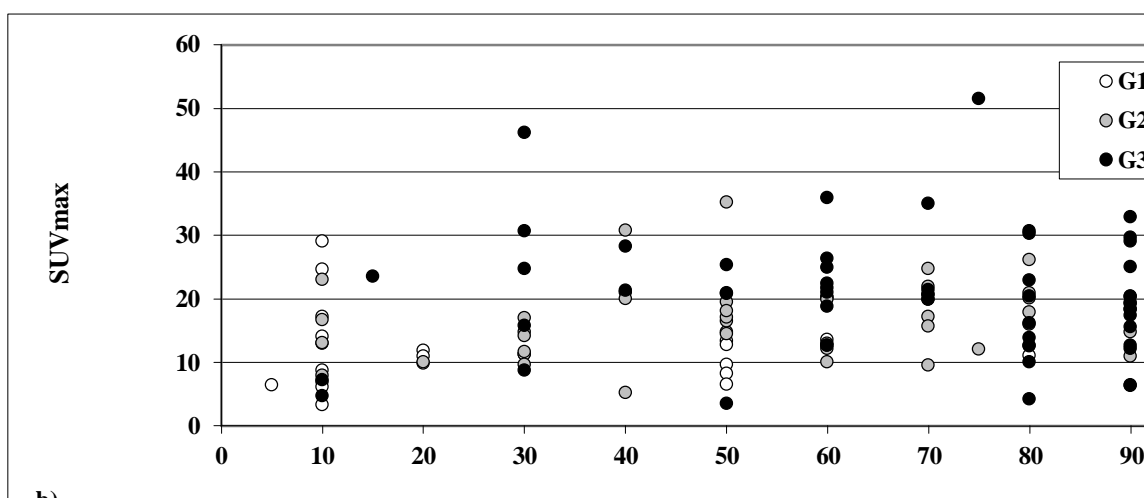


Рис. 5. Значення показників Ki-67, SUVmax для хворих із різними ступенями диференціювання тканини (G1, G2, G3)

Проведений аналіз свідчить про наявність зв'язку ступеню диференціювання тканини з показниками Ki-67, SUV max, виявлено статистично значущу відмінність розподілу пацієнтів, що віднесені до різних кластерів за ступенем диференціювання тканини ($p < 0,001$). При цьому, до кластеру 1 та 2 віднесені (в основному) пацієнти із ступенем диференціювання тканини G2 та G3, а в кластері 3 представлені пацієнти (майже із рівною частотою) з усіма ступенями диференціювання тканини. Тому для подальшого аналізу було використано метод побудови логістичних моделей регресії прогнозування ризику високого ступеню диференціювання тканини (G3, G2 vs G1) для кожного із показників: Ki-67, SUV max.

При порівнянні показників Ki-67 було виявлено зростання його значення із зниженням ступеню диференціювання тканини ($p < 0,001$ за критерієм Крускала-Уолліса). При цьому найменше ($p < 0,05$) значення Ki-67 відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники ж для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення Ki-67, що було статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3 (рис. 6).

Таблиця 2

Показник	Me (Q1 ÷ Q3)			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n=22)	G2 (n=45)	G3 (n=54)	
Ki-67, %	20,0* [#] (10,0 ÷ 50,0)	60,0* [§] (40,0 ÷ 76,3)	70,0* [#] (60,0 ÷ 90,0)	<0,001

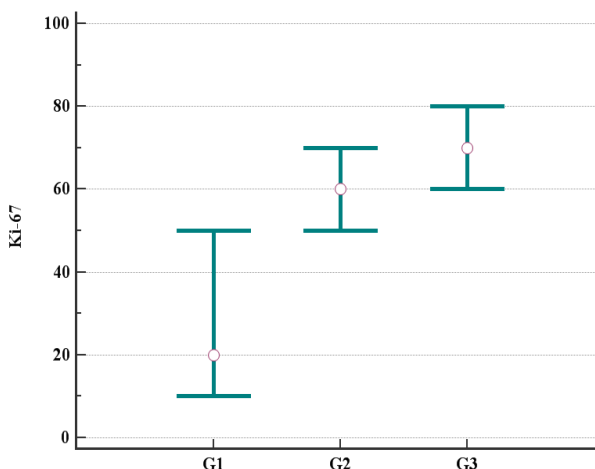


Рис. 6. Значення показника Ki-67 для пацієнтів у трьох групах, представлено медіанне значення і 95 % ВІ

Примітки: 1) При проведенні аналізу використано критерій Крускала-Уолліса, для парного апостеріорного порівняння використано критерій множинних порівнянь Данна. 2) * – відмінність від показника для G1 статистично значуща, $p < 0,05$; [#] – відмінність від показника для G2 статистично значуща, $p < 0,05$; [§] – відмінність від показника для G3 статистично значуща, $p < 0,05$.

Прогнозування високого ступеню диференціювання тканини (G3, G2 vs G1). Для аналізу прогностичних характеристик тестів було використано метод побудови ROC-кривих. При проведенні аналізу випадком вважалася низька або середня ступінь диференціювання для пацієнтів з G2 та G3, для пацієнтів із G1 прогноз вважався сприятливим (не випадок).

При проведенні аналізу тесту за показником Ki-67 встановлено адекватність моделі прогнозування (AUC=0,85 95% ВІ 0,77–0,91, статистично значуще, $p < 0,001$ перевищує 0,5, що свідчить про хороші прогностичні якості показника.

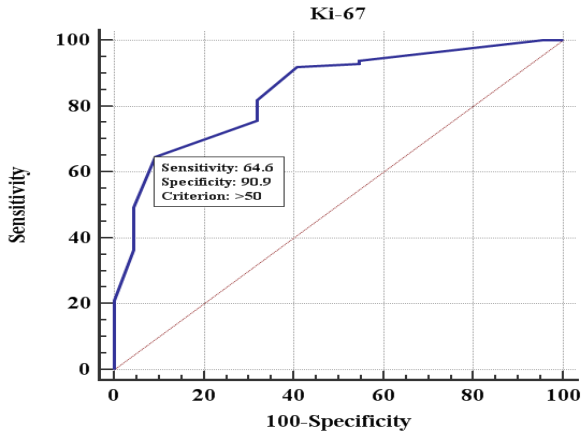


Рис. 7. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання тканини (G3, G2 vs G1) за показником Ki-67. Указано оптимальний (за YoudenIndex) поріг прийняття рішення, чутливість та специфічність тесту

При виборі оптимального порогу (за YoudenIndex) встановлено критичне значення показника $Ki-67_{crit} = 50\%$ (при перевищенні цього значення прогнозується G2, G3). При обраному порозі чутливість тесту складає 64,6% (95% ВІ 54,4%–74,0%), специфічність тесту – 90,9% (95% ВІ 70,8% – 98,9%).

Прогнозування низького ступеню диференціювання тканини (G3 vs G2, G1).

На другому етапі аналізу випадком вважався тільки низький ступінь диференціювання для пацієнтів з G3, для пацієнтів із G1 чи G2 прогноз вважався сприятливим (не випадок).

При проведенні аналізу тесту за показником Ki-67 встановлено адекватність моделі прогнозування (AUC=0,73 95% ВІ 0,64–0,80, статистично значуще, $p < 0,001$ перевищує 0,5 (рис. 8), що свідчить про задовільні прогностичні якості показника.

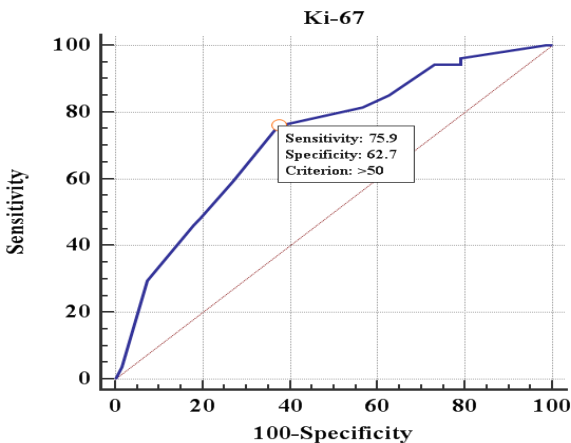


Рис. 8. ROC-крива тесту прогнозування низького ступеню диференціювання тканини (G3 vs G1, G2) за показником Ki-67. Указано оптимальний (за Youden Index) поріг прийняття рішення, чутливість та специфічність тесту

При виборі оптимального порогу (за Youden Index) встановлено критичне значення показника $Ki-67_{crit} = 50\%$ (при перевищенні цього значення прогнозується G3). При обраному порозі чутливість тесту складає 75,9% (95% ВІ 62,4% – 86,5%), специфічність тесту – 62,7% (95% ВІ 50,0% – 74,2%).

Порівнюючи дані гістологічного дослідження та ПЕТ/КТ діагностики, визначено максимальне та мінімальне значення SUV як в усій когорті пацієнтів, так і в групах. Загальне мінімальне значення $SUV_{min} = 3,3$; загальне максимальне значення $SUV_{max} = 51,5$. Розподіл у групах наступний:

- у групі пухлин G1 мінімальне значення $SUV_{min} = 3,3$, максимальне значення $SUV_{max} = 29$, середнє значення 11,1.

- у групі пухлин G2 мінімальне значення $SUV_{min} = 5$, максимальне значення $SUV_{max} = 30,7$, середнє значення 16,2.

- у групі пухлин G3 мінімальне значення $SUV_{min} = 3,5$, максимальне значення $SUV_{max} = 51,5$, середнє значення 21,1.

Графічно дані наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Показник	Me (Q1 ÷ Q3)			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n=22)	G2 (n=45)	G3 (n=54)	
SUV_{max}	11,1 [#] (8,2÷13,3)	16,5 ^{##} (12,5÷20,1)	20,4 ^{##} (13,8÷25,0)	<0,001

Примітки: 1) При проведенні аналізу використано критерій Крускал–Уолліса, для парного апостеріорного порівняння використано критерій множинних порівнянь Данна. 2) * – відмінність від показника для G1 статистично значуща, $p < 0,05$; # – відмінність від показника для G2 статистично значуща, $p < 0,05$; ## – відмінність від показника для G3 статистично значуща, $p < 0,05$

При порівнянні показників SUV_{max} було виявлено зростання його значення із зниженням ступеню диференціювання тканини ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). При цьому найменше ($p < 0,05$) значення SUV_{max} відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники ж для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUV_{max} , що були статистично значущі ($p < 0,05$) вищі, ніж для групи G1, але нижчі ($p < 0,05$), ніж для групи G3 (рис. 9).

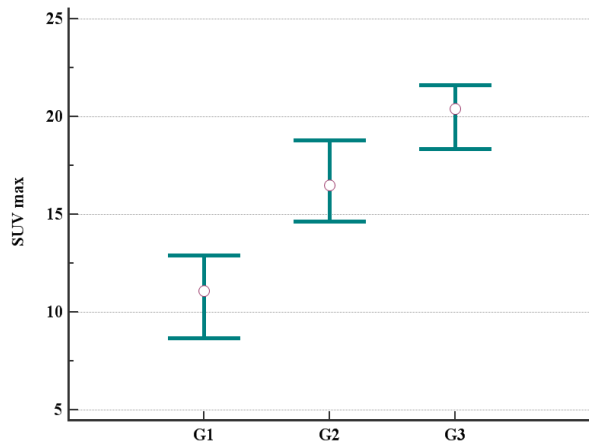


Рис. 9. Значення показника SUV_{max} для пацієнтів у трьох групах, представлено медіанне значення і 95% ВІ

Прогнозування високого ступеню диференціювання тканини (G3, G2 vs G1).

При проведенні аналізу на першому етапі випадком вважалася низька або середня ступінь диференціювання для пацієнтів з G2 та G3, для пацієнтів із G1 прогноз вважався сприятливим (не випадок).

При проведенні аналізу тесту за показником SUV_{max} також встановлено адекватність моделі прогнозування (однак $AUC=0,78$ 95 % BI 0,70–0,85, статистично значуще, $p<0,001$ перевищує 0,5; на рисунку 10 наведено ROC-криву тесту), що свідчить про задовільні прогностичні якості показника.

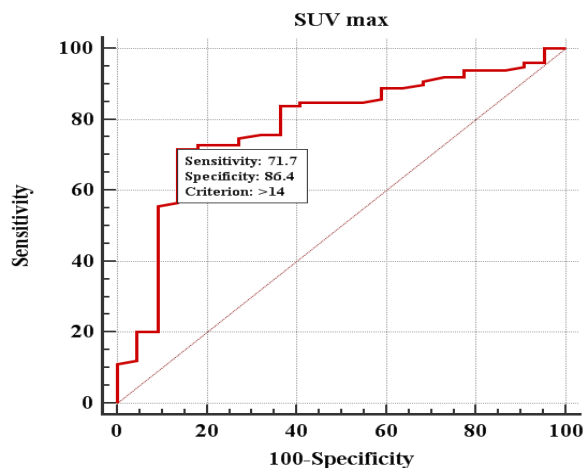


Рис. 10. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання тканини (G3, G2 vs G1) за показником SUV_{max} . Указано оптимальний (за Youden Index) поріг прийняття рішення, чутливість та специфічність тесту

При виборі оптимального порогу (за Youden Index) встановлено критичне значення показника $SUV_{crit}=14$ (при перевищенні цього значення прогнозується G2, G3). При обраному порозі чутливість тесту складає 71,7 % (95 % BI 61,8 % – 80,3 %), специфічність тесту – 86,4 % (95 % BI 65,1 % – 97,1 %).

Прогнозування низького ступеню диференціювання тканини (G3 vs G2, G1).

На другому етапі аналізу випадком вважалася тільки низька ступінь диференціювання для пацієнтів з G3, для пацієнтів із G1 чи G2 прогноз вважався сприятливим (не випадок).

При проведенні аналізу тесту за показником SUV_{max} також встановлено адекватність моделі прогнозування (однак $AUC=0,70$ 95 % BI 0,61–0,78, статистично значуще, $p<0,001$ перевищує 0,5; на рисунку 11 наведено ROC-криву тесту), що свідчить про задовільні прогностичні якості показника.

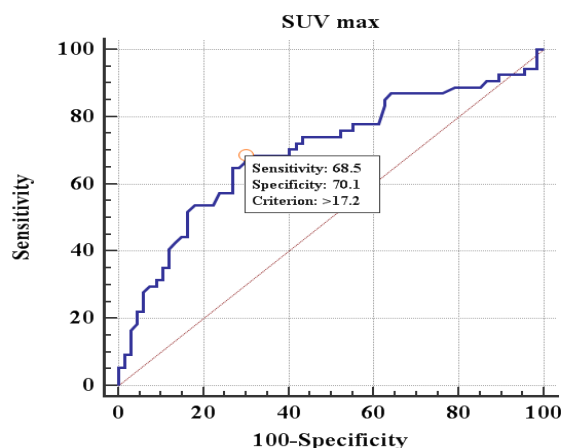


Рис. 11. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання тканини (G3 vs G2, G1) за показником SUV_{max}

Указано оптимальний (за Youden Index) поріг прийняття рішення, чутливість та специфічність тесту.

При виборі оптимального порогу (за Youden Index) встановлено критичне значення показника $SUV_{crit}=17,2$ (при перевищенні цього значення прогнозується G3). При обраному порозі чутливість тесту складає 68,5 % (95 % BI 54,4 % – 80,5 %), специфічність тесту – 70,2 % (95 % BI 57,7 % – 80,7 %).

Обговорення результатів. У дослідженні Stenzinger A. et al. було оглянуто, що низько диференційований рак орофарингеальної ділянки є більш злоякісним і часто інфільтративно проростає в навколишні тканини, що ускладнює як симптоматику хворого, так і терапію [25]. Більш того, у дослідженнях Brinkman J. et al. і YuY. H. et al. було показано, що ступінь диференціації раку і рівень експресії антигену Ki67 мають негативну кореляцію зі загальним п'ятирічним виживанням пацієнта [26, 27]. Зважаючи на те, що на сьогодні методика діагностики плоскоклітинного раку не є остаточною і потребує подальшого вдосконалення, наше дослідження є важливим внеском у наукові знання стосовно поглибленої діагностики плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки.

Згідно з результатами нашого дослідження статистично доведено, що метод ПГХД із використанням моноклональних антитіл до Ki67 може використовуватися для прогнозування ступеню диференціювання плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки. Рекомендується встановлювати критичне значення показника Ki67 на рівні 50 % з метою прогнозування високого або низького ступеню диференціювання пухлини. У випадку, якщо показник Ki67 вище 50 %, специфічність і чутливість тесту для прогнозування низького ступеню диференціювання пухлини становлять 90,9 % і 64,6 % відповідно. Якщо за результатами ПГХД показник Ki67 становить менше 50 %, специфічність і чутливість тесту для прогнозування високого ступеню диференціювання пухлини становить 62,7 % і 75,9 % відповідно. Наші дослідження у поєднанні з дослідженнями YuY. H. et al, Al Nazmi N. et al. підтверджують необхідність визначення ступеню диференціювання плоскоклітинного раку згідно з маркером Ki67 для визначення проліферативного потенціалу раку і п'ятирічного виживання пацієнта [27, 28].

Стосовно прогностичної цінності ПЕТ-КТ для передопераційної діагностики ступеню диференціювання пухлини була встановлена чутливість і специфічність методики на рівні 86,4 % і 71,7 % відповідно для діагностики низького ступеню диференціювання, 68,5 % і 70,1 % відповідно для діагностики високого ступеню. Запропоноване критичне значення показника стандартизованого рівня накопичення радіофармпрепарату було встановлено для діагностики низького і високого ступеню диференціювання пухлини на рівнях 14 і 17,2 одиниць. Сучасний метааналіз підтверджує ефективність ПЕТ-КТ для діагностики плоскоклітинного раку орофарингеальної зони, а наше дослідження розширює її можливості [29]. Більш того, ПЕТ-КТ є ефективним методом динамічного спостереження і контролю нехірургічної терапії плоскоклітинного раку, зважаючи на високу точність диференціювання радіаційного запалення від прогресування раку [30].

Згідно з рекомендаціями National Comprehensive Cancer Network доцільність використання методики ПЕТ-КТ у комплексі з ендоскопічною біопсією для передопераційної діагностики плоскоклітинного раку у 3 і 4 стадіях обумовлена перш за все неінвазивністю, безпечністю для пацієнта і інформативністю [31, 32]. Натомість, для діагностики плоскоклітинного раку у 1 і 2 стадіях рекомендується застосовувати ендоскопію з біопсією без ПЕТ-КТ, зважаючи на матеріальні витрати [31, 32]. Необхідність поглибленої діагностики стадії диференціювання обумовлена перш за все прогнозуванням швидкості подальшого росту раку і розвитком нових імунотера-

пептичних технологій з максимальною селективністю [33].

Висновки. Ступінь диференціації плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки є одним з факторів, що визначають проліферативний потенціал раку і п'ятирічне виживання пацієнтів. Головним висновком нашого дослідження є підтвердження ефективності застосування ІГХД з антитілом до Ki67 і ПЕТ-КТ для діагностики плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки і визначення ступеню його диференціювання з високим рівнем чутливості і специфічності обох методів. Застосування комбінації методів рекомендовано для підвищення достовірності результатів і поглиблення передопераційних даних.

References:

1. Rudas MS, Nasnikova IY, Matyakin GG. Pozitronno-emissionnaya tomografiya v klinicheskoy praktike. Moskva: Tsentralnaya klinicheskaya bolnitsa UDP RF; 2007. 53 s.
2. World Health Statistics 2006. Geneva: World Health Organization Press; 2006. 80 p.
3. Stenzinger A, Krigsmann M, Kraywinkel K, Weichert W. Pathologie der malignen Kopf-Hals-Tumoren. Onkologie. 2014 Feb;20(2):116-29.
4. Wittekind C, Weber A, Weidenbach H. Pathologie und Prognosefaktoren von Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches. Onkologie. 2001;7:498-504.
5. Warnakulasuriya S, Dietrich T, Bornstein MM. Oral health risks of tobacco use and effects of cessation. Intern Dent J. 2010 Feb;60(1):7-30.
6. Garbuglia AR. Human Papillomavirus in Head and Neck Cancer. Cancers (Basel). 2014 Sep;6(3):1705-26.
7. Klussmann JP, Mooren JJ, Lehnen M, Claessen SM, Stenner M, Huebbers CU, et al. Genetic signatures of HPV-related and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications. Clin Cancer Res. 2009 Mar 1;15(5):1779-86.
8. Rasse M. Indikationen zur chirurgischen Therapie von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhlen. Wiener Medizinische Wochenschrift. 2008 Feb;158(9-10):243-248.
9. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Eby YJ, Koch WM, et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. N Engl J Med. 1995 Feb 16;332(7):429-35.
10. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, Lee JJ, Tu ZN, Choi G, et al. p53 expressions: predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinoma. J Nat Cancer Inst. 1996 Apr 17;88(8):519-29.
11. Nemunaitis J, Ganly I, Khuri F, Arseneau J, Kuhn J, et al. Selective replication and oncolysis in p53 mutant tumors with ONYX-015, an E1B-55kD gene-deleted adenovirus, in patients with advanced head and neck cancer: a phase II trial. Cancer Res. 2000 Nov 15;60(22):6359-66.
12. Blons H, Laurent-Puig P. TP53 and head and neck neoplasms. Hum Mutat. 2003 Mar;21(3):252-7.
13. Keßler P, Grabenbauer G, Leher A, Schultze-Mosgau S, Rupprecht S, Neukam FW, et al. Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle. Überlebenswahrscheinlichkeit und Lebensqualität – erste Ergebnisse von zwei Behandlungsstrategien. Mund Kiefer Gesichtschir. 2004;8:302-10.
14. Maschmeyer G, Koch K, Jungehülsing M. Kopf-Hals-Tumoren interdisziplinäre Therapiekonzepte. Best Pract Oncol. 2011;6:4-20.
15. Weber A, Tannapfel A. Prognosefaktoren bei Kopf-Hals-Karzinomen. HNO. 2002;50:35-42.
16. Bychkov VA, Urazova LN, Nikitina EG, Cheremisina OV, Chizhevskaya SY. Papillomavirusnaya infektsiya i progressiya opukholya golovy i shchi. Infektsiya i immunitet. 2014;4(2):162-6.
17. Bamberg M. Wichtigstes Therapieziel: Funktionserhalt und -aufbau. Onkologie №7 471-472. 2001.
18. Rebecca Siegel, Jiemin Ma, Zhaohui Zou, Cancer Statistics 2014
19. CA: Cancer J Clin. 2014; 64:9-29

20. Albers AE, Hoffmann TK, Klussmann JP, Kaufmann AM. Prophylaktische und therapeutische Vakzinen gegen humane Papillomviren. HNO. 2010 Aug;58(8):778-90.
21. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, Stützer H, Preuss SF, Hoffmann TK, et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. Int J Cancer. 2007 Apr 15;120(8):1731-8
22. Paches AI, Pustynskiy IN, Demidov LV. Opukholigolovnyshchi. Moskva: Prakticheskaya meditsina; 2013. 160 s.
23. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J. Clin. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.
24. Broglie MA, Stöckli SJ. Die Rolle des humanen Papillomavirus beim Oropharynxkarzinom. Schweiz Med Forum. 2012;12(01):15-7.
25. Ramroth H, Dietz A, Becher H. Interaction effects and population-attributable risk for smoking and alcohol on laryngeal cancer and its subsites. A case-control study from Germany. Methods Inf Med. 2004;43(5):499-504.
26. Stenzinger A, Krigsmann M, Kraywinkel K, Weichert W. Pathologie der malignen Kopf-Hals-Tumoren. Onkologie. 2014 Feb;20(2):116-29.
27. Brinkman JN, Hajder E, Van der Holt B, et al. The Effect of Differentiation Grade of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma on Excision Margins, Local Recurrence, Metastasis, and Patient Survival: A Retrospective Follow-Up Study. Annals of Plastic Surgery. 2015;75(3):323-6.
28. Yau-Hua Yu DDS, DMSc, Jose Morales DDS, Lei Feng MSdJ, Jack Lee DDS, MS, PhD, Adel K. El-Naggar MD, PhD, Nadarajah Vigneswaran BDS, DMD, Dr Med Denta, et al. CD147 and Ki-67 overexpression confers poor prognosis in squamous cell carcinoma of oral tongue: A tissue microarray study. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. 2015;119(5):553-65.
29. Al-Hazmi N, Alhazzazi T, Williams G, et al. DNA replication licensing factor MCM2, geminin, and Ki67 define proliferative state and are linked with survival in oral squamous cell carcinoma. European Journal of Oral Sciences. 2018;126(3):doi: 10.1111/eos.12420.
30. Rohde M, Dyrvig AK, Johansen J, et al. 18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography in diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. European Journal of Cancer. 2014;50(13):2271-9.
31. Carryn MA, Tangel C, Michael MG, et al. Change of Maximum Standardized Uptake Value Slope in Dynamic Triphasic [18F]-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Distinguishes Malignancy From Postradiation Inflammation in Head-and-Neck Squamous Cell Carcinoma: A Prospective Trial. International Journal of Radiation. 2015;91(3):472-9.
32. Frerich B. Standardtherapie von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle gemäß Leitlinien. Der MKG-Chirurg. 2018;11(1):5-14.
33. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: head and neck cancers. Version 2.2017 – May 8, 2017 (NCCN.org abgerufen am 21.1.2018)
34. Hartmann S, Sayehli CM, Maurus K, et al. Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs. Der MKG-Chirurg. 2018;11(1):30-7.

УДК 616.31/.321-006-008-076-091.8:311.4

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СВЯЗЬ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ИНДЕКСА КИ67 И УРОВНЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕЙ ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫЙ УЧАСТКА

Лысак А.В.

*Национальный военно-медицинский клинический центр «ГВКГ», патологоанатомическая лаборатория, г. Киев, Украина,
ORCID ID: 0000-0003-0917-2688
e-mail: Lisak-a@i.ua*

Резюме. Целью данного исследования была сравнительная оценка данных позитронно-эмиссионной томографии с компьютерной томографией (ПЭТ-КТ) и гистологическим, иммуногистохимическим исследованием (ИГХД) при плоскоклеточном раке различной степени дифференцировки (G1-G3), с последующим определением новых критериев для установления уровня дифференцировки опухолей. *Методы.* Анализируя результаты исследования, использовали методы биostatистики. Для сравнения показателей в трех группах использовали критерий Крускала-Уоллиса, при осуществлении апостериорных сравнений – критерий множественных сравнений Данна. Для анализа прогностических характеристик теста с маркером Ki67 использовали метод построения и анализа кривых операционных характеристик (ROC-кривых). Адекватность теста оценивали по площади под ROC-кривой (AUC), приведены и ее 95 % ВИ. Оптимальный порог принятия решения для теста рассчитали по показателю YoudenInex = Max (чувствительность теста + специфичность теста – 100 %), оценки прогностических характеристик теста при выбранном пороге осуществили по показателю чувствительности (95 % ВИ) и специфичности (95 % ВИ) теста. При анализе использовали статистический пакет MedCalcv.16.8 (MedCalcSoftWarebvba, 1993–2016). *Результаты исследования.* Плоскоклеточные карциномы орофарингеальной участка – эпителиальные опухоли эпителиального происхождения, с диффузным или очаговым ростом, эозинофильными клетками, ядерным полиморфизмом, очагами концентрически спущенного эпителия. Ткань опухоли может иметь широкий уровень митозов и дискератоза. В исследовании приняли участие 121 пациент и разделение осуществлялось по группам. Степень дифференциации плоскоклеточного рака орофарингеальной участка является одним из факторов, определяющих пролиферативный потенциал рака и пятилетняя выживаемость пациентов. Главным выводом нашего исследования является подтверждение эффективности применения ИГХД с антителом к Ki67 и ПЭТ-КТ для диагностики плоскоклеточного рака орофарингеальной участка и определения степени его дифференцировки с высоким уровнем чувствительности и специфичности обоих методов. Применение комбинации методов рекомендуется для повышения достоверности результатов и углубление преоперационных данных.

Ключевые слова: плоскоклеточные карциномы орофарингеальной участка, Ki-67, позитронно-эмиссионная томография, корреляционная связь.

UDC 616.31/.321-006-008-076-091.8:311.4

CORRELATION OF KI67 PROLIFERATION INDEX AND THE LEVEL OF METABOLIC ACTIVITY OF THE OROPHARYNGEAL TUMOURS

A.V. Lysak

*National Military Medical Clinical Center "GVKГ",
pathological Anatomy Laboratory, Kiev, Ukraine,
ORCID ID: 0000-0003-0917-2688
e-mail: Lisak-a@i.ua*

Abstract. The objective of this study was to compare the positron emission tomography with CT (PET-CT) and histological, immunohistochemical tests (IHCT) for squamous-cell carcinoma of differing degrees of differentiation (G1-G3), with the subsequent determination of new criteria for identifying the level of differentiation of tumors. *Methods.* The methods of biostatistics were used when analyzing the results of the study. In order to compare the indicators in three groups, the Kruskal-Wallis criterion was used, in the a posteriori comparisons - the criterion of Dunn's multiple comparisons. In all cases, the critical level of significance is taken as $\alpha_{crit}=0.05$. To analyze the prognostic characteristics of the test for marker Ki67, we used a method of building and analyzing operating characteristic curves (ROC curves). The adequacy of the test was evaluated by the area under the ROC curve (AUC), and its 95% confidence interval is given. The optimal decision threshold for the test was calculated using the YoudenInex = Max (test sensitivity + test specificity - 100%), and the prognostic test characteristics at the selected threshold were evaluated according to the sensitivity index (95% confidence interval) and the specificity (95% confidence interval) of the test. The analysis was based on the MedCalcv.16.8 statistical package (MedCalcSoftWarebvba, 1993-2016). *Research results.* Squamous-cell carcinomas of the oropharyngeal region are epithelial tumors of epithelial origin, with diffuse or spotted growth, eosinophilic cells, nuclear polymorphism, focuses of concentrically cast-off epithelium. The tissue of the tumor can have a wide variety of mitoses and dyskeratosis. The study involved 121 patients divided into groups. Group 1. Squamous-cell carcinomas with a level of keratinization of at least 20%, weak or moderately expressed polymorphism, at least 50% of mature cells, with distinct growth of solid fields. In the tumor tissue, an insignificant number of mitoses - from 0 to 3 - are observed in the field of view, the expressed or moderate inflammation is possible. Group 2. Squamous-cell carcinomas with a level of keratinization of at least 5%, mature cells of at least 25%, moderately expressed nucleus polymorphism, infiltrative growth is possible in small groups of cells, but not less than 15 cells in the group. There is also a moderate number of mitoses and insignificant or no inflammatory reaction is observed. Group 3. This group includes tumors with a slight level of keratinization, expressed polymorphism of nuclei (mature cells represent less than 25%), the number of mitoses - 5 and more. Invasion of small cell groups of less than 15 cells or single cells, no inflammation. According to the results of our study, it has been statistically proved that the IHC test method using monoclonal antibodies to Ki67 can be used to predict the degree of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal region. It is recommended to set the critical value of the Ki67 at 50% level in order to predict the high or low degree of tumor differentiation. In the case when Ki67 score is higher than 50%, the specificity and sensitivity of the test to predict the low degree of tumor differentiation are 90.9% and 64.6% respectively. If, based on the results of the IHC test, the Ki67 score is less than 50%, the specificity and sensitivity of the test to predict the high degree of tumor differentiation is 62.7% and 75.9% respectively. The degree of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal segment is one of the factors that determine the proliferative potential of cancer and the five-year survival of patients. The main conclusion of our study is the confirmation of the effectiveness of the use of IHC test with an antibody to Ki67 and PET-CT for the diagnosis of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area and determination of the degree of its differentiation with a high level of sensitivity and specificity of both methods. The use of a combination of methods is recommended for increasing the reliability of the results and deepening of the preoperative data.

Keywords: squamous carcinoma of the oropharyngeal region, Ki 67, positron emission tomography, correlation bond. Стаття надійшла до редакції 16.07.2018 р.