

ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ, АПОПТОЗА И КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПРИ ПРЕДРАКЕ И РАКЕ ГОРТАНИ

О.В. Черемисина¹, О.В. Панкова¹, К.Ю. Меньшиков¹, Е.Л. Чойнзон^{1,2}

Томский НИИ онкологии, г. Томск¹

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск²
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru¹

Аннотация

Цель исследования: определение информативности экспрессии маркеров p53, CD138, Ki67 в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки гортани при предопухолевых заболеваниях и раке гортани. **Материал и методы.** В работу были включены результаты анализа экспрессии указанных маркеров у 80 пациентов с хроническими заболеваниями и у 37 больных раком гортани. **Результаты.** Показано, что уровень пролиферативной активности прямо пропорционален нарастанию степени тяжести диспластических и неопластических изменений в слизистой оболочке гортани. Выявленная закономерность свидетельствует об усилении процессов пролиферации при предопухолевых процессах и при их дальнейшей злокачественной трансформации. Полученные нами данные наглядно подтверждают, что в основе одного из механизмов злокачественного перерождения эпителия лежит подавление функции апоптоза. В сложных дифференциальных случаях резкое увеличение уровня p53 и Ki67 при дисплазии III степени может рассматриваться как дополнительный оценочный критерий риска злокачественной трансформации. На основании полученных результатов маркер клеточной дифференцировки CD138 рекомендуется рассматривать в качестве дополнительного критерия для отбора пациентов с диспластическими изменениями II степени в группу риска по раку гортани. **Выводы.** Стойкое повышение уровня маркера Ki67 выше 52,6 служит дополнительным критерием для включения больных с предраком в группу онкологического риска. Изменение уровня экспрессии маркера p53 в дисплазированном эпителии гортани при ДIII является признаком возможного прогрессирования предопухолевых изменений в рак.

Ключевые слова: предопухолевые изменения, рак гортани, маркерная диагностика, маркеры апоптоза, клеточная дифференцировка и пролиферативная активность.

Среди злокачественных опухолей верхних дыхательных путей рак гортани (РГ) продолжает занимать лидирующие позиции, составляя 65–70 %, при этом в общей структуре онкологической заболеваемости на его долю приходится 1,4 % [2, 11]. Гортань по-прежнему остается достаточно трудной локализацией для своевременной диагностики опухолевого процесса на ранних стадиях, несмотря на доступность органа для визуального осмотра и инструментального исследования [3, 5, 10]. Неспецифические симптомы неопластических процессов, отсутствие онкологической настороженности у специалистов общей клинической сети, высокий уровень диагностических ошибок приводят к высокому уровню запущенности – до 60–70 % больных поступают в специализированные учреждения с распространенным опухолевым процессом [7, 8], а ранний рак гортани, при котором возможно выполнение органосохраняющего лечения, составляет всего 2,3–6 % случаев [6, 10].

Эпидемиологические исследования, проведенные в различных странах мира, показали, что практически в 60 % случаев РГ развивается на основе различных хронических заболеваний, составляющих группу облигатного предрака, к ним, в

первую очередь, относятся хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ) и папилломатоз гортани (ПГ). Известно, что папилломы гортани обладают высоким риском злокачественной трансформации [3, 8, 13, 15].

Однако один лишь факт наличия очагов дисплазии (предопухолевых изменений) в эпителии гортани совершенно недостаточен для определения пациента в группу онкологического риска, необходимы более определенные критерии прогноза развития предраковых изменений [3, 14, 17, 20]. Заслуживает внимания ряд исследований, в которых показана информативность экспрессии маркеров p53 и Ki67 в качестве критериев риска развития злокачественного процесса при различной хронической воспалительной патологии гортани [1, 4, 12, 18, 19, 21]. По сравнению с нормальной слизистой оболочкой гортани нарастание степени тяжести дисплазии эпителия влекло за собой увеличение экспрессии маркера p53, с максимальными значениями при РГ [16]. При наблюдении 114 больных с дисплазией эпителия гортани различной степени тяжести в 24 % случаев реализовалась злокачественная трансформация. Прогрессирование дисплазии в рак напрямую зависело от исходной

степени тяжести диспластических изменений, большинство (75 %) злокачественных новообразований гортани было обнаружено в течение 12 мес после выявления дисплазии в слизистой оболочке [3, 9]. Несмотря на актуальность проблемы, в доступной литературе имеются немногочисленные публикации об экспрессии различных маркеров на этапах злокачественной трансформации в слизистой оболочке у пациентов с хроническими заболеваниями гортани, ассоциированными с предопухолевыми изменениями.

Цель исследования: определение информативности экспрессии маркеров p53, CD138, Ki67 в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки гортани при предопухолевых заболеваниях и раке гортани.

Материал и методы

В исследование было включено 80 человек с диагнозом хронический гиперпластический ларингит или папиллома гортани и 37 больных с диагнозом плоскоклеточный рак гортани различной степени дифференцировки, не имеющих в анамнезе специального лечения на момент обследования. В группе хронических воспалительных заболеваний гортани было 49 (61,3 %) мужчин и 31 (38,8 %) женщина, в возрасте от 38 до 69 лет, средний возраст – $57,9 \pm 6,2$ года. Из них у 34 (42,5 %) пациентов выявлены папилломы гортани, у 46 (57,5 %) – хронический гиперпластический ларингит. Из 37 пациентов с опухолью гортани было 33 (81,2 %) мужчины и 4 (10,8 %) женщины, в возрасте от 41 до 69 лет, средний возраст – $59,2 \pm 5,2$ года. Рак гортани I стадии был диагностирован у 19 (51,4 %), из них 17 (45,9 %) мужчин, 2 (5,4 %) женщины, РГ III стадии – у 18 (48,6 %) пациентов, из которых было 16 (43,2 %) мужчин и 2 (5,4 %) женщины.

Видеоларингоскопия (ВЛС) проводилась на эндоскопических комплексах фирмы OLYMPUS EXERA-I и EXERA-II. Забор биопсийного материала производился из патологически измененных участков слизистой гортани при хронических и неопластических процессах. Фрагменты ткани, взятые при ФЛС, фиксировались в нейтральном формалине, проводились по стандартной методике и заливались в парафин. Срезы для гистологического исследования окрашивались гематоксилином и эозином. Мазки-отпечатки с биопсийного материала для цитологического исследования окрашивали азур-эозином. Цитологические и гистологические препараты изучались с помощью светового микроскопа «AxioStar plus» фирмы «K. Zeiss» – Германия.

Иммуногистохимическое исследование проводилось по общепринятой методике. Демаскировку антигенов осуществляли с помощью аппарата «PT Link» (Daco) в буфере с высоким pH. Для визуализации реакции антиген – антитело использовали систему «Super Sensitive Polymer – HRP Detection

System» (Bio Genex, США). Использовались моноклональные антитела к белкам p53 (clon DO-7, RTU, «Daco»), выявляющие «дикий» и «мутантный» варианты протеина; Ki67 (clon MIB – 1, RTU, «Daco»), CD138 (clon MI 15, RTU, «Daco»). Результаты иммуногистохимической реакции оценивали по процентному содержанию окрашенных клеток при любой степени положительной экспрессии маркера.

Обработка статистических данных проводилась при помощи пакета программы «STATISTICA-7», были применены непараметрические методы обработки данных. Анализ дисперсии данных проводился по группам показателей: тест Левина, LSD-тест для определения статистической значимости изменения показателя в зависимости от морфологических изменений ткани, Т-тест для связанных выборок показателей.

Результаты исследования и обсуждение

Предопухолевые изменения различной степени тяжести были обнаружены у 57 (71,3 %) из 80 больных с хронической патологией гортани. Из них дисплазия (Д) эпителия гортани I степени обнаружена у 17 (21,3 %), дисплазия II степени – у 26 (32,5 %), дисплазия III степени – у 14 (17,5 %) пациентов. В 23 (28,8 %) наблюдениях у больных с ХГЛ и ПГ диспластических изменений эпителия гортани не зарегистрировано, при морфологическом исследовании подтвержден первоначальный клиничко-эндоскопический диагноз. Для оценки предсказательной значимости маркеров пролиферации, апоптоза и клеточной дифференцировки как факторов прогноза злокачественного прогрессирования в группах риска была изучена их экспрессия в зависимости от выраженности предопухолевых изменений в слизистой оболочке гортани – от Д I (легкой) степени до Д III (тяжелой) степени. Кроме того, для оценки влияния распространенности опухолевого процесса на экспрессию указанных маркеров их уровень был определен у больных раком гортани I и III стадий.

На первом этапе исследования был проведен анализ экспрессии онкобелка p53 у больных с хроническими воспалительными заболеваниями гортани без диспластических изменений эпителия гортани и у пациентов с дисплазией различной степени тяжести. Выявлено значимое, более чем в 2 раза, увеличение этого маркера при диспластических изменениях I–III степени по сравнению с группой D0 (рис. 1). Следует отметить, что при дисплазии I и II степени уровень экспрессии p53 составил $2,5 \pm 1,61$ и $2,1 \pm 1,08$, при III степени – $4,5 \pm 0,21$ соответственно, тогда как при отсутствии предопухолевых изменений этот показатель был равен $0,17 \pm 1,12$. При статистическом анализе полученных данных оказалось, что значимых отличий между группами пациентов с ДI и ДIII не было ($p > 0,05$). При этом обращает на себя внимание значимое увеличение этого маркера в эпителии

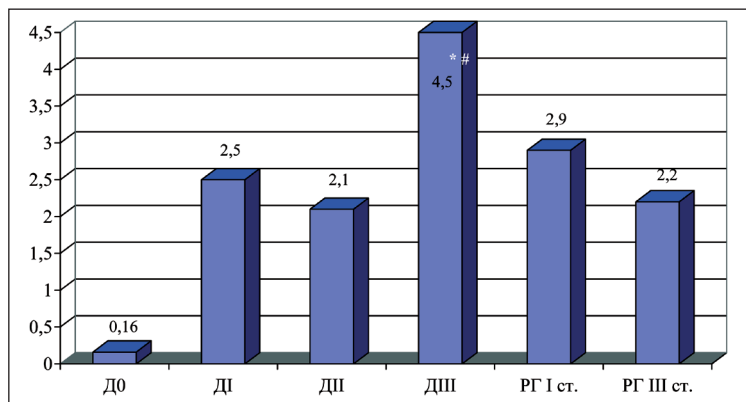


Рис. 1. Динамика показателей маркера апоптоза p53 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: * – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ($p < 0,05$); # – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия III ст. ($p < 0,05$)

слизистой оболочки гортани при диспластическом процессе III степени по сравнению с уровнем экспрессии при ДI и ДII ($p < 0,05$). Вероятнее всего, низкий уровень экспрессии p53 при диспластических изменениях I и II степеней обусловлен не полностью реализованными процессами малигнизации в эпителии гортани при начальных этапах канцерогенеза. Полученные нами данные наглядно подтверждают, что в основе одного из механизмов злокачественного перерождения эпителия лежит подавление функции апоптоза. В сложных дифференциальных случаях резкое увеличение уровня p53 при дисплазии слизистой оболочки гортани III степени может рассматриваться как дополнительный оценочный критерий. В процессе мониторинга за пациентами группы риска снижение показателя данного маркера может свидетельствовать о переходе предопухолевых изменений при ХГЛ и папилломах гортани в злокачественную опухоль гортани. Как известно, диспластический процесс III степени обратным изменениям не подвергается, тогда как при дисплазии II степени возможны два варианта развития событий – либо переход в легкую дисплазию I степени, либо прогрессирование тяжести предопухолевых изменений эпителия до дисплазии III степени. Исходя из этого, на этапах

динамического наблюдения более пристальное внимание должно уделяться пациентам с дисплазией эпителия II степени. При значимом нарастании уровня маркера p53 и стабильной клинической ситуации эта категория больных должна подвергаться тщательному мониторингу.

Следующим этапом исследования явилось изучение динамики экспрессии маркера пролиферации Ki67. При его анализе в группе пациентов с ХГЛ и папилломами гортани без предопухолевой патологии, а также у больных с хроническими заболеваниями, ассоциированными с диспластическими процессами I–III степени, выявлена закономерность, аналогичная изменениям экспрессии p53 (рис. 2). Низкий уровень экспрессии Ki67 отмечался при наличии хронических заболеваний гортани без дисплазии – $13,97 \pm 1,71$. По мере нарастания тяжести диспластических изменений наблюдалось его равномерное увеличение. Так, у пациентов с ХГЛ и папилломами гортани на фоне дисплазии слизистой оболочки I и II степени уровень экспрессии Ki67 был более чем в 2 раза выше, чем при Д0, составляя $30,2 \pm 9,9$ и $37,5 \pm 3,3$ соответственно. При диспластических изменениях ларингиального эпителия III степени наблюдались уже значимые различия уровня Ki67 ($52,6 \pm 9,9$)

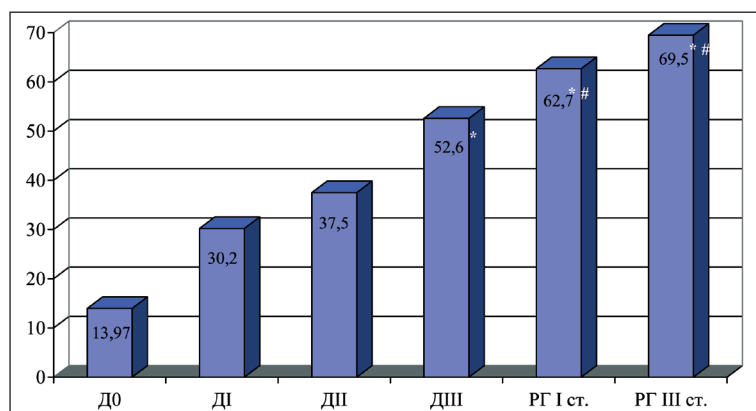


Рис. 2. Динамика показателей маркера пролиферации Ki67 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: * – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ($p < 0,05$); # – различия значимы по сравнению с показателями с больных у дисплазией эпителия III ст. ($p < 0,05$)

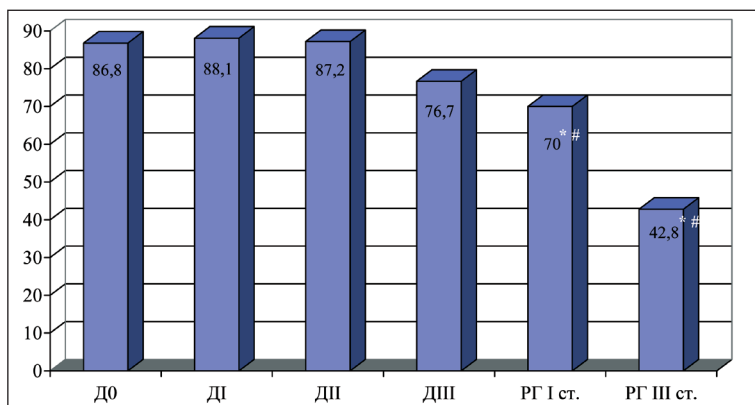


Рис. 3. Динамика показателей маркера клеточной дифференцировки CD138 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: * – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ($p < 0,05$); # – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия III ст. ($p < 0,05$)

по сравнению с пациентами группы Д0 и больными с ХГЛ и папилломами, ассоциированными с предопухолевыми процессами I и II степени ($p < 0,05$). При дальнейшем анализе установлено нарастание уровня экспрессии данного маркера. У больных со злокачественными изменениями в гортани показатель пролиферативной активности достоверно превышал значения Ki67 у пациентов с дисплазиями любой степени. Так, при раке гортани I стадии уровень маркера составил $62,7 \pm 12,1$, при РГ III стадии – $69,5 \pm 7,5$ ($p < 0,05$).

Таким образом, уровень пролиферативной активности, отражением которой, безусловно, является выраженность экспрессии маркера Ki67, прямо пропорционален нарастанию степени тяжести диспластических и неопластических изменений в слизистой оболочке гортани. Этот факт свидетельствует об усилении процессов пролиферации при предопухолевых процессах и при их дальнейшей злокачественной трансформации. На основании полученных данных стойкое повышение маркера Ki67 выше уровня 52,6 следует рассматривать в качестве дополнительного критерия для включения больных с предраком гортани в группу риска.

Еще одним процессом, характеризующим онкогенез, является нарушение клеточной дифференцировки. В качестве маркера, отражающего степень выраженности этих изменений, был выбран и в динамике исследован CD138. При анализе его экспрессии выявлена обратная закономерность по сравнению с изменениями уровней маркеров Ki67 и p53. Во всех группах больных с хронической воспалительной патологией гортани как при наличии диспластических изменений I и II степени слизистой оболочки, так и без таковых зарегистрированы высокие показатели экспрессии маркера CD138 (рис. 3). Значимых различий в подгруппах больных без дисплазии и с Д I и Д II не выявлено ($p > 0,05$). При отсутствии дисплазии эпителия уровень данного маркера составил $86,8 \pm 9,2$, при дисплазии I степени – $88,1 \pm 42,3$, при диспластических изменениях II степени – $87,2 \pm 2,06$.

Значимое снижение уровня CD138 отмечается при диспластических изменениях эпителия III степени по сравнению с группой больных без дисплазии, а также с Д I и Д II ($p < 0,05$). Дальнейший анализ данных убедительно показал, что наиболее низкие значения экспрессии CD138 наблюдаются у больных с выраженной деградацией дифференцировки клеток эпителия гортани, т.е. при реализовавшемся раке гортани. Так, у больных РГ I стадии этот показатель равнялся $70,0 \pm 8,5$, при РГ III стадии – $42,8 \pm 13,8$. Указанные параметры были значимо ниже по отношению к уровню CD138 как в группах больных без предопухолевых изменений, так и у пациентов с диспластическими изменениями всех степеней.

На основании полученных результатов маркер клеточной дифференцировки CD138 рекомендуется рассматривать в качестве дополнительного критерия для отбора пациентов с диспластическими изменениями II степени в группу риска по раку гортани. Показатели уровня маркера у пациентов с дисплазией III степени могут являться основанием для тщательного мониторинга как кандидатов для развития плоскоклеточного рака гортани.

Таким образом, оценка динамики маркеров Ki67, p53 и CD138 у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, ассоциированными с предопухолевыми изменениями I–III степени слизистой оболочки, а также раком гортани I и III стадий, показала разнонаправленные значимые различия этих параметров на этапах злокачественного прогрессирования. Полученные результаты дают возможность использовать эти маркеры в качестве дополнительных критериев для отбора больных в группы риска, а также для прогноза течения предраковых изменений слизистой оболочки гортани на этапах мониторинга у данного контингента пациентов. Стойкое повышение уровня маркера Ki67 выше 52,6 служит дополнительным критерием для включения больных с предраком в группу риска. Изменение уровня экспрессии маркера p53 в дисплазированном эпителии гортани при ДIII является признаком возможного прогрессирования предопухолевых изменений в рак.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбань Н.А., Кудайбергенова А.Г., Панкратов В.А. Прогностическое значение маркеров пролиферативной активности и регуляции апоптоза при плоскоклеточном раке гортани // Архив патологии. 2013. Т. 75, № 1. С. 3–9.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). М., 2015. 250 с.
3. Коваленко С.Н., Лапченко А.С., Муратов Д.Л. Проблемы диагностики хронического гиперпластического ларингита // Вестник оториноларингологии. 2006. № 4. С. 27–30.
4. Кулагин Р.Н. Экспрессия p53 как прогностический маркер в плоскоклеточном раке гортани? // Российская оториноларингология. 2012. № 6 (61). С. 92–95.
5. Мухамедов М.Р., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кульбакин Д.Е., Балацкая Л.Н., Васильев Н.В., Гонтер В.Э. Современный взгляд на комплексный подход к диагностике, лечению и реабилитации больных раком гортани // Российская оториноларингология. 2012. № 3. С. 78–84.
6. Мухамедов М.Р., Чойнзонов Е.Л., Гонтер В.Э., Черемисина О.В., Лукьянов В.Д., Мядель А.А., Шинкарев С.А., Корнев А.А., Васильев Н.В., Цветаев В.А., Кульбакин Д.Е. Использование биоадаптированных имплантатов на основе никелида титана в хирургической реабилитации больных раком гортани (результаты десятилетнего кооперированного исследования) // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2010. Т. 21, № 1. С. 65–70.
7. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. М., 2013. 478 с.
8. Поддубный Б.К., Белоусова Н.В., Унгуадзе Г.В. Диагностическая и лечебная эндоскопия верхних дыхательных путей. М., 2006. 256 с.
9. Соколов В.В., Телегина Л.В., Гладышев А.А., Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Белоус Т.А. Современные методы диагностики облатного предрака и раннего рака гортани // Опухоли головы и шеи. 2013. № 3. С. 44–48.
10. Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л. Возможности эндоскопической диагностики предопухолевых заболеваний и рака гортани в современной онкологии // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 3. С. 5–9.
11. Чойнзонов Е.Л. Рак верхних отделов дыхательного и пищеварительного тракта (эпидемиологические и иммуновирологические аспекты, оценка эффективности лечения): Автореф. ... дис. д-ра мед. наук. Томск, 1995. 46 с.
12. Ashraf M.J., Maghbul M., Azarpira N., Khademi B. Expression of Ki67 and P53 in primary squamous cell carcinoma of the larynx // Indian. J. Pathol. Microbiol. 2010. Vol. 53 (4). P. 661–665. doi: 10.4103/0377-4929.72019.
13. Nunes R.B., Behlau M., Nunes M.B., Paulino J.G. Clinical diagnosis and histological analysis of vocal nodules and polyps // Braz. J. Otorhinolaryngol. 2013. Vol. 79 (4). P. 434–440. doi: 10.5935/1808-8694.2013007.
14. Cosway B., Paleri V. Laryngeal dysplasia: an evidence-based flowchart to guide management and follow up // J. Laryngol. Otol. 2015. Vol. 129 (6). P. 598–599. doi: 10.1017/S0022215115000833.
15. Hu Y., Liu H. Histopathological variability and the prognosis of laryngeal premalignant lesions // Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2014. Vol. 49 (12). P. 979–985.
16. Hussein M.R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia // Cancer Biol. Ther. 2005. Vol. 4 (2). P. 213–217.
17. Ioachim E., Peschos D., Goussia A., Mittari E., Charalabopoulos K., Michael M., Salmas M., Vougiouklakis T., Assimakopoulos D., Agnantis N.J. Expression patterns of cyclins D1, E in laryngeal epithelial lesions: correlation with other cell cycle regulators (p53, pRb, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features // J. Exp. Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 23 (2). P. 277–283.
18. Micozkadioğlu D., Unal M., Pata Y.S., Baştürk M., Cinel L. Prognostic value of expression of p53, proliferating cell nuclear antigen, and c-erbB-2 in laryngeal carcinoma // Med. Sci. Monit. 2008. Vol. 14 (6). P. 299–304.
19. Pastuszewski W., Dziegiel P., Krecicki T., Podhorska-Okolow M., Ciesielska U., Gorzynska E., Zabel M. Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer // Anticancer Res. 2007. Vol. 27 (1A). P. 335–342.
20. Rodrigo J.P., García-Pedrero J.M., Suárez C., Takes R.P., Thompson L.D., Slootweg P.J., Woolgar J.A., Westra W.H., Brakenhoff R.H., Rinaldo A., Devaney K.O., Williams M.D., Gnepp D.R., Ferlito A. Biomarkers predicting malignant progression of laryngeal epithelial precursor lesions: a systematic review // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 2012. Vol. 269 (4). P. 1073–1083. doi: 10.1007/s00405-011-1831-4.
21. Şimşek H., Han Ü., Önal B., Şimşek G. The expression of EGFR, cerbB2, p16, and p53 and their relationship with conventional parameters in squamous cell carcinoma of the larynx // Turk. J. Med. Sci. 2014. Vol. 44 (3). P. 411–416.

Поступила 15.05.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9579-2691

Панкова Ольга Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник патологической анатомии и цитологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: pankovaov1903@yandex.ru. SPIN-код: 3355-7118

Меньшиков Кирилл Юрьевич, врач-ординатор эндоскопического отделения, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: kiri_78@mail.ru

Чойнзонов Евгений Лхаматренович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: nii@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 2240-8730

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

EXPRESSION CHARACTERISTICS OF MARKERS OF PROLIFERATIVE ACTIVITY, APOPTOSIS AND CELL DIFFERENTIATION IN PATIENTS WITH PREMALIGNANT LESIONS AND CANCER OF THE LARYNX

O.V. Cheremisina¹, O.V. Pankova¹, K.Yu. Menshikov¹, E.L. Choinzonov^{1,2}

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk¹
 Siberian State Medical University, Tomsk²
 5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru¹

Abstract

The purpose of the study was to determine the informative value of p53, CD 138 and Ki 67 markers in mucosal stratified squamous epithelium of patients with precancerous laryngeal lesions and laryngeal cancer. **Material and methods.** Expression of the above markers was analyzed in 80 patients with chronic laryngeal diseases and in 37 patients with laryngeal cancer. **Results.** The level of proliferative activity was shown to be directly proportional to more severe dysplastic and neoplastic lesions of the laryngeal mucosa, thus indicating the increased proliferative activity in precancerous lesions and their subsequent malignant transformation. Our data clearly show that suppression of apoptosis is one of the mechanisms of malignant epithelial transformation of epithelial cells. In difficult cases, a sharp increase in the levels of p53 and Ki 67 in patients with grade III dysplasia can be considered as an additional criterion for evaluation of risk of malignant transformation. Based on the results obtained, CD138, a cell differentiation marker, is recommended to be considered as an additional criterion for selecting patients with grade II dysplasia into the group being at high risk for laryngeal cancer development. **Conclusion.** Persistently increased Ki67 expression level serves as an additional criterion for inclusion of patients with precancerous lesions to the group at increased risk of cancer. Alterations in the expression levels of p53 in patients with grade III laryngeal dysplasia are the signs of possible progression of premalignant lesions.

Key words: premalignant lesions, laryngeal cancer, diagnostic markers, markers of apoptosis, cell differentiation and proliferative activity.

REFERENCES

1. Gorban' N.A., Kudaibergenova A.G., Pankratov V.A. Prognostic value of markers for proliferative activity and apoptotic regulation in laryngeal squamous cell carcinoma // *Arhiv patologii*. Vol. 75 (1). P. 3–9. [in Russian]
2. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. Cancer incidence in Russia in 2013 (morbidity and mortality). M., 2015. P. 250. [in Russian]
3. Kovalenko S.N., Lapchenko A.S., Muratov D.L. Problems of diagnosis of chronic hyperplastic laryngitis // *Vestnik otorinolaringologii*. 2006. № 4. P. 27–30. [in Russian]
4. Kulagin R.N. Is p53 a prognostic factor in patients with laryngeal carcinoma? // *Rossijskaja otorinolaringologija*. 2012. № 6 (61). P. 92–95. [in Russian]
5. Muhamedov M.R., Cheremisinina O.V., Choinzonov E.L., Kulbakin D.E., Balatskaya L.N., Vasiliev N.V., Gunther V.E. The modern view on complex approach when diagnosing, treating and aftercaring in larynx cancer patients // *Rossijskaja otorinolaringologija*. 2012. № 3. P. 78–84. [in Russian]
6. Muhamedov M.R., Choinzonov E.L., Gunter V.E., Cheremisinina O.V., Lukyanov V.D., Myadzel A.A., Shinkarev S.A., Korenev A.A., Vasiliev N.V., Tsvetayev V.A., Kulbakin D.E. Titanium nikcevide-based bioadapted implants in surgical rehabilitation of patients with laryngeal cancer (results of a ten-year cooperative study) // *Vestnik RONC im. N. N. Blohina RAMN*. 2010. Vol. 21 (1). P. 65–70. [in Russian]
7. Paches A.I. Tumors of the head and neck. M., 2013. 478 p. [in Russian]
8. Poddubnyj B.K., Belousova N.V., Ungiadze G.V. Diagnostic and therapeutic endoscopy of the upper respiratory tract. M., 2006. 256 p. [in Russian]
9. Sokolov V.V., Telegina L.V., Gladyshev A.A., Frank G.A., Zavalishina L.E., Belov T.A. Modern methods of diagnostics of obligate premalignancy and early laryngeal cancer // *Opuholi golovy i shei*. 2013. № 3. P. 44–48. [in Russian]
10. Cheremisinina O.V., Choinzonov E.L. Potentials of endoscopic diagnosis of precancer diseases and cancer of the larynx // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2007. № 3. P. 5–9. [in Russian]
11. Choinzonov E.L. Cancer of the upper respiratory and digestive tract (epidemiological and immunovirological aspects, assessment of treatment effectiveness): Author's thesis. Tomsk, 1995. 46 p. [in Russian]
12. Ashraf M.J., Maghbul M., Azarpira N., Khademi B. Expression of Ki67 and P53 in primary squamous cell carcinoma of the larynx // *Indian. J. Pathol. Microbiol*. 2010. Vol. 53 (4). P. 661–665. doi: 10.4103/0377-4929.72019.
13. Nunes R.B., Behlau M., Nunes M.B., Paulino J.G. Clinical diagnosis and histological analysis of vocal nodules and polyps // *Braz. J. Otorhinolaryngol*. 2013. Vol. 79 (4). P. 434–440. doi: 10.5935/1808-8694.2013007.
14. Cosway B., Paleri V. Laryngeal dysplasia: an evidence-based flowchart to guide management and follow up // *J. Laryngol. Otol*. 2015. Vol. 129 (6). P. 598–599. doi: 10.1017/S0022215115000833.
15. Hu Y., Liu H. Histopathological variability and the prognosis of laryngeal premalignant lesions // *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2014. Vol. 49 (12). P. 979–985.
16. Hussein M.R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia // *Cancer Biol. Ther*. 2005. Vol. 4 (2). P. 213–217.
17. Ioachim E., Peschos D., Goussia A., Mittari E., Charalabopoulos K., Michael M., Salmas M., Vougiouklakis T., Assimakopoulos D., Agnantis N.J. Expression patterns of cyclins D1, E in laryngeal epithelial lesions: correlation with other cell cycle regulators (p53, pRb, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features // *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2004. Vol. 23 (2). P. 277–283.
18. Micozkadioglu D., Unal M., Pata Y.S., Bastürk M., Cinel L. Prognostic value of expression of p53, proliferating cell nuclear antigen, and c-erbB-2 in laryngeal carcinoma // *Med. Sci. Monit*. 2008. Vol. 14 (6). P. 299–304.
19. Pastuszewski W., Dziegiel P., Krecicki T., Podhorska-Okolow M., Ciesielska U., Gorzyska E., Zabel M. Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer // *Anticancer Res*. 2007. Vol. 27 (1A). P. 335–342.
20. Rodrigo J.P., Garcia-Pedrero J.M., Suárez C., Takes R.P., Thompson L.D., Slootweg P.J., Woolgar J.A., Westra W.H., Brakenhoff R.H., Rinaldo A., Devaney K.O., Williams M.D., Gnepp D.R., Ferlito A. Biomarkers predicting malignant progression of laryngeal epithelial precursor lesions: a systematic review // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*. 2012. Vol. 269 (4). P. 1073–1083. doi: 10.1007/s00405-011-1831-4.
21. Şimşek H., Han Ü., Önal B., Şimşek G. The expression of EGFR, cerbB2, p16, and p53 and their relationship with conventional parameters in squamous cell carcinoma of the larynx // *Turk. J. Med. Sci*. 2014. Vol. 44 (3). P. 411–416.

ABOUT THE AUTHORS

Cheremisinina Olga Vladimirovna, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: CheremisininaOV@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9579-2691.

Pankova Olga Vladimirovna, PhD, Senior Researcher, Department of Pathological Anatomy and Cytology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: pankovaov1903@yandex.ru. SPIN-code: 3355-7118.

Menshikov Kirill Yurievich, physician, Endoscopy Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: kiri_78@mail.ru

Choinzonov Evgeny Lhamatsirenovich, MD, DSc, Professor, Academician of RAS, Director of the Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: nii@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 2240-8730