

СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ С МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТЬЮ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ ОПУХОЛИ И ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ ГОРТАНИ

О.В. Савенкова¹, М.В. Завьялова^{1,2,3}, В.А. Бычков¹, Е.Л. Чойнзонов^{1,2},
В.М. Перельмутер^{1,2}

Томский НИИ онкологии¹

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск²

Томский государственный университет³

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: pvm@ngs.ru¹

В исследование были включены 58 больных плоскоклеточным раком гортани T₁₋₃N₀₋₃M₀₋₁ стадии в возрасте от 31 до 77 лет, которым до операции не проводилась противоопухолевая терапия. Иммуногистохимическим методом отдельно в опухолях, расположенных преимущественно в области голосовых связок или надскладочной области, определялись наличие и выраженность экспрессии металлопротеиназ (ММП-1, -2, -9), их ингибиторов (ТИМП-1, -2) и индуктора экспрессии металлопротеиназ (CD147) в опухолевых клетках разных структур плоскоклеточной карциномы. Результаты сопоставлялись с наличием лимфогенных метастазов. **Результаты.** В плоскоклеточных карциномах предложено изучать 5 морфологических структур: с ороговением (1-й тип), с клетками базалоидного и шиповатого типа без ороговения (2-й тип), с клетками базалоидного типа (3-й тип), с выраженным клеточным полиморфизмом (4-й тип) и одиночные опухолевые клетки (5-й тип). В зависимости от сочетания этих структур опухоли разделены на высоко-, низкодифференцированные и смешанного типа. В опухолях без лимфогенных метастазов повышенная экспрессия ММП-1, ММП-2 и ММП-9 обнаружена только в дискретных опухолевых клетках. При наличии лимфогенных метастазов отмечено усиление экспрессии ММП-9 в более дифференцированных структурах 1, 2 и 3-го типов. Менее частое лимфогенное метастазирование карцином голосовых складок связано только с опухолями смешанного строения, в которых снижена экспрессия ТИМП-1. **Заключение.** При оценке степени дифференцировки плоскоклеточных карцином гортани следует учитывать вариант сочетания высоко- и низкодифференцированных структур опухоли. Экспрессию металлопротеиназ нужно изучать только с учетом морфологической гетерогенности плоскоклеточных карцином. Вероятность лимфогенного метастазирования плоскоклеточных карцином голосовых связок, образованных только высоко- или низкодифференцированными структурами, не отличается от подобных показателей опухолей надскладочной области. При смешанном строении опухолей голосовых связок частота лимфогенного метастазирования значительно ниже, чем при подобных опухолях надскладочной области.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак гортани, гетерогенность морфологического строения, экспрессия металлопротеиназ, лимфогенное метастазирование.

RELATIONSHIP BETWEEN EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND MORPHOLOGICAL HETEROGENEITY, TUMOR DIFFERENTIATION AND LYMPHOGENOUS METASTASIS OF SQUAMOUS CELL LARYNGEAL CARCINOMA

O.V. Savenkova¹, M.V. Zavyalova^{1,2,3}, V.A. Bychkov¹, E.L. Choinzonov^{1,2}, V.M. Perelmutter^{1,2}

Tomsk Cancer Research Institute¹,

Siberian State Medical University, Tomsk²,

Tomsk State University³

5, Kooperativny str., 634009-Tomsk, Russia, e-mail: pvm@ngs.ru¹

The study included 58 patients with stage T₁₋₃N₀₋₃M₀₋₁ squamous cell laryngeal carcinoma. The age range was from 31 to 77 years. Patients received no cancer treatment before surgery. The expression of metalloproteinases (MMP-1, -2, -9), their inhibitors (TIMP-1, -2) and inductor of metalloproteinase expression (CD147) were determined in tumor cells of different structures of squamous cell carcinoma using immunohistochemical method. Results were compared with the presence of lymphogenous metastases. **Results.** Five morphological structures of squamous cell carcinomas were studied: with keratinization (type 1), with cells of basaloid and acanthocyte types without keratinization (type 2), with cells of basaloid type (type 3), with pronounced cellular polymorphism (type 4) and single tumor cells (type 5). With regard to combination of these structures, tumors were divided into high-grade, low-grade and mixed tumor structures. In tumors without lymphogenous metastases, the increased expression of MMP-1, -2, and -9 was only revealed in discrete cells. In tumors with lymphogenous metastases, the increased MMP-9 expression was observed in more differentiated structures of 1, 2 and 3 types. Less frequent lymphogenous metastasis of vocal cord carcinomas was associated only with tumors of mixed structure, in which the expression of TIMP1 was reduced.

Conclusion. To assess the histological differentiation of squamous cell carcinoma of the larynx, it should be considered a combination of high- and low-grade tumor structures. The expression of metalloproteinases should be studied considering morphological heterogeneity of squamous cell carcinomas. The frequency of lymphogenous metastasis of high-or low-grade squamous cell carcinoma of the vocal cords did not differ from that of squamous cell carcinoma of the supra-glottal area. The frequency of lymphogenous metastasis was significantly lower in mixed squamous cell carcinomas of the vocal cords than in similar carcinomas of the supra-glottal area.

Key words: laryngeal squamous cell carcinoma, heterogeneity of morphological structure, metalloproteinase expression, lymphogenous metastasis.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) представляют собой семейство кальцийзависимых цинксодержащих эндопротеаз. Субстратами для металлопротеиназ являются коллагены разных типов, эластины, желатин, гликопротеины межклеточного матрикса и протеогликаны [1, 11]. Матриксные металлопротеиназы играют ключевую роль в протеолитической деградации внеклеточного матрикса, в межклеточном и клеточно-стромальном взаимодействии. Эти функции определяют значение ММП в инвазивном росте и метастазировании злокачественных опухолей [5].

В соответствии с рекомендациями ВОЗ (2005) плоскоклеточный рак гортани делят на высоко-, умеренно- и низкодифференцированные опухоли. Высокодифференцированный рак цитологически напоминает нормальный эпителий. Опухоли с умеренной дифференцировкой отличаются отчетливым ядерным полиморфизмом и менее выраженной кератинизацией. При низкой степени дифференцировки преобладают незрелые атипичные клетки, много нормальных и атипических митозов. Считается, что степень кератинизации, как и уровень дифференцировки опухоли, не имеет существенного прогностического значения. В противоположность этому полагают, что большее значение для прогноза имеет оценка инвазивного фронта опухоли [3]. Поскольку инвазивность плоскоклеточной карциномы связана с уровнем дифференцировки опухоли, степенью ее гетерогенности и активностью металлопротеиназ, секретируемых опухолевыми элементами, представляет интерес изучение характера взаимосвязи этих параметров и их значения в лимфогенной диссеминации плоскоклеточных карцином.

Материал и методы

В исследование были включены 58 больных (57 мужчин и 1 женщина) с раком гортани стадии T₁₋₃N₀₋₃M₀₋₁, в возрасте от 31 до 77 лет, которым до операции не проводилась дополнительная противоопухолевая терапия. Во всех случаях осуществ-

лялась ларингэктомия с фасциально-фулярным иссечением клетчатки шеи. В послеоперационном периоде больным назначалась лучевая терапия на гамма-аппарате «Рокус» в стандартном режиме (5 раз в нед, разовая очаговая доза 2,0 Гр) до СОД 40,0 Гр.

Материалом для морфологического исследования послужили образцы опухолевой ткани. Все опухоли имели гистологическое строение плоскоклеточного рака разной степени дифференцировки. Иммуногистохимическое исследование экспрессии ММП-1, -2, -9, ТИМП-1, -2 и ЕММРIN было проведено с использованием антител фирмы «Новокастра» ММП-2 (NCL-MMP2-507, для парафиновых блоков, высокотемпературная демаскировка антигена в 1 мМ ЭДТА pH=8,0, рабочее разведение 1:40 – 1:80); ММП-9 (NCL-MMP9, для парафиновых блоков, рабочее разведение 1:40); ТИМП-1 (NCL-TIMP1-485, для замороженной ткани и парафиновых блоков, рабочее разведение 1:200); ТИМП-2 (NCL-TIMP2-487, для парафиновых блоков, высокотемпературная демаскировка антигена в 1 мМ ЭДТА, pH=8,0, рабочее разведение 1:20); ЕММРIN (CD 147) (NCL-CD147, для парафиновых блоков, высокотемпературная демаскировка антигена в 0,01 М цитратном буфере pH=6,0, рабочее разведение 1:20 – 1:40). Инкубацию с первыми антителами проводили 60 мин, при температуре 25 °С. Использовали полимерную систему визуализации фирмы «BioGenex», в качестве хромогена – диаминобензидин, препараты докрашивали гематоксилином. Экспрессия маркеров определялась полуколичественным способом, оценивалась как слабая, средняя (умеренная) и выраженная и представлена в баллах. Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ Statistica 6.0. Использовали дисперсионный анализ и критерий χ^2 .

Результаты

Для оценки гетерогенности в плоскоклеточных карциномах гортани в зависимости от морфоло-

Таблица 1

Степень дифференцировки опухолевых структур в зависимости от локализации опухоли у больных с плоскоклеточным раком гортани

Локализация опухоли		Степень дифференцировки опухолевых структур		
		Высокая	Низкая	Высокая и низкая
Надскладочное пространство	1	5/32 (15 %)	10/32 (32 %) $p_2=0,068$	17/32 (53 %) $p_2=0,14$
Голосовые складки	2	4/22 (18 %)	3/22 (14 %)	15/22 (68 %)

гического строения учитывалось наличие разных структур: структуры с ороговением (1-й тип); с клетками базалоидного и шиповатого типа без ороговения (2-й тип); с клетками базалоидного типа (3-й тип); структуры с выраженным клеточным полиморфизмом (4-й тип) и одиночные опухолевые клетки (5-й тип). Структуры 1-го и 2-го типа являлись высокодифференцированными, в то время как структуры 3, 4 и 5-го типов рассматривались как низкодифференцированные. Причем уменьшение степени дифференцировки нарастало от 3-й к 5-й структуре. В каждой опухоли возможно сочетание структур разной степени дифференцировки. В зависимости от сочетающихся структур плоскоклеточные карциномы гортани разделены нами на три типа. Опухоли со структурами 1-го и/или 2-го

типов являлись высокодифференцированными, с сочетанием структур 3-го и/или 4-го, и/или 5-го типов – низкодифференцированными, с 1, и/или 2, и 3 и/или, 4 и/или 5-м – высоко- и низкодифференцированными смешанного типа дифференцировки. Изучаемые параметры оценивались отдельно в опухолях, локализовавшихся в надскладочной области и на голосовых складках. Независимо от локализации опухоли чаще встречались случаи с сочетанием структур низкой и высокой дифференцировки. На уровне тенденций в надскладочном пространстве чаще, чем в области голосовых связок, обнаруживались опухоли с низкой степенью дифференцировки и несколько реже – случаи с наличием высоко- и низкодифференцированных структур (табл. 1).

Таблица 2

Особенности экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов в разных структурах опухоли при раке гортани

Тип структуры		ММП-1	ТИМП-1	ММП-2	ТИМП-2	ММП-9	CD 147
Поверхностный эпителий	1	1,6 ± 0,5 (n=10)	2,4 ± 1,1 (n=11)	1,0 ± 0,0 (n=9)	1,1 ± 0,3 (n=11)	1,3 ± 0,4 (n=11)	1,7 ± 0,7 (n=9)
1-й тип	2	1,4 ± 0,5 (n=42)	2,5 ± 0,9 (n=41)	1,2 ± 0,3 (n=42)	1,0 ± 0,1 (n=42)	1,3 ± 0,6 (n=42)	1,9 ± 0,8 (n=42)
2-й тип	3	1,4 ± 0,5 (n=43)	2,3 ± 0,8 (n=43)	1,1 ± 0,2 (n=45)	1,0 ± 0,1 (n=44)	1,2 ± 0,5 (n=44)	1,7 ± 0,8 (n=43)
3-й тип	4	1,5 ± 0,6 (n=37)	1,6 ± 0,7 (n=37)	1,4 ± 0,7 (n=38)	1,0 ± 0,2 (n=37)	1,3 ± 0,6 (n=38)	1,9 ± 0,8 (n=38)
4-й тип	5	1,6 ± 0,9 (n=17)	2,5 ± 1,1 (n=17)	1,3 ± 0,5 (n=17)	1,1 ± 0,3 (n=17)	1,6 ± 1,0 (n=17) $p_{5,3}=0,02$	2,0 ± 0,9 (n=14)
5-й тип	6	2,2 ± 0,9 (n=9) $p_{6,1}=0,04$ $p_{6,2}=0,0003$ $p_{6,3}=0,0002$ $p_{6,4}=0,003$ $p_{6,5}=0,05$	1,9 ± 1,1 (n=8) $p_{6,2}=0,05$	2,1 ± 1,3 (n=8) $p_{6,1}=0,03$ $p_{6,2}=0,0001$ $p_{6,3}=0,0000$ $p_{6,4}=0,017$ $p_{6,5}=0,017$	1,4 ± 0,7 (n=8) $p_{6,2}=0,0003$ $p_{6,3}=0,0002$ $p_{6,4}=0,002$	1,9 ± 0,9 (n=9) $p_{6,1}=0,03$ $p_{6,2}=0,008$ $p_{6,3}=0,0009$ $p_{6,4}=0,009$	1,7 ± 0,7 (n=8)

Примечание: p – показатель значимости различий между группами.

Таблица 3

Выраженность экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов в разных структурах новообразования с учетом сочетания структур степени дифференцировки опухоли при раке гортани

Дифференцировка опухоли	Тип структуры	ММП-1	ТИМП-1	ММП-2	ТИМП-2	ММП-9	CD 147 в цитоплазме
Высокая	1-й тип (n=8)	1,6 ± 0,5	3,3 ± 0,8	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,0	1,3 ± 0,4	2,1 ± 0,9
	2-й тип (n=8)	1,4 ± 0,5	3,0 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,4	2,1 ± 1,1
Низкая	3-й тип (n=3)	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,7 ± 0,5	1,0 ± 0,0	1,7 ± 0,5	2,3 ± 1,1
	4-й тип (n=12)	1,6 ± 0,9	2,6 ± 1,2	1,2 ± 0,6	1,1 ± 0,2	1,7 ± 1,1	2,0 ± 1,0
	5-й тип (n=2)	1,5 ± 0,7	3,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,5 ± 0,7	2,0 ± 1,4
Высокая и низкая	1-й тип (n=31)	1,4 ± 0,6	2,3 ± 0,8	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,7	1,8 ± 0,8
	2-й тип (n=33)	1,4 ± 0,6	2,1 ± 0,7	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,5	1,6 ± 0,7
	3-й тип (n=33)	1,6 ± 0,7	1,6 ± 0,7	1,4 ± 0,7	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,6	1,8 ± 0,8
	4-й тип (n=2)	2,0 ± 1,4	1,5 ± 0,7	2,0 ± 0,0	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	2,0 ± 1,4
	5-й тип (n=6)	2,5 ± 1,0	1,7 ± 1,2	1,8 ± 1,3	1,0 ± 0,0	1,5 ± 0,8	1,6 ± 0,5

Нами обнаружено, что выраженность экспрессии ММП и их ингибиторов зависит от степени дифференцировки структур. Она минимальна и неотличима существенно от нормального эпителия в структурах 1–4-го типов. Максимальная экспрессия металлопротеиназ ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ТИМП-2 выявлена в наименее дифференцированных структурах 5-го типа (табл. 2).

Представляло интерес выяснить, зависит ли экспрессия металлопротеиназ и их ингибиторов от варианта сочетания в опухоли структур разной степени дифференцировки. Анализ результатов показал, что уровень экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов в большей степени зависит от того, какие гистологические структуры образуют клетки плоскоклеточной карциномы, и практически не зависит от того, в каком варианте опухоли по сочетанию высоко- и низкодифференцированных структур они находятся (табл. 3).

Частота развития лимфогенных метастазов почти в 5 раз выше в опухолях надскладочного

пространства по сравнению с раком гортани в области голосовых складок (табл. 4).

В первичных опухолях с регионарными лимфогенными метастазами обнаружена более выраженная экспрессия ММП9 в опухолевых структурах с ороговением (1-го типа), построенных клетками типа шиповатых (2-го типа) и образованных базалоидными клетками (3-го типа). Индуктор синтеза металлопротеиназ CD147 экспрессировался более интенсивно только в опухолевых структурах 1-го типа. В структурах менее дифференцированных (4-го и 5-го типов) подобных различий не обнаружено. Более того, экспрессия ММП1 в них была даже ниже, чем в группе без лимфогенных метастазов. Не обнаружено различий экспрессии ММП-2, ТИМП-1 и ТИМП-2 в опухолях с наличием и отсутствием лимфогенных метастазов (табл. 5).

В случаях локализации плоскоклеточных карцином в надскладочной области гортани лимфогенное метастазирование возникало при любой степени дифференцировки опухоли, однако чаще

Таблица 4

Лимфогенное метастазирование в зависимости от локализации опухоли у больных раком гортани

Локализация опухоли	Лимфогенные метастазы	
	Нет (N-)	Есть (N+)
Надскладочное пространство	9/36 (25 %)	27/36 (75 %) p ₅ =0,0000
Голосовые складки	19/22 (86 %)	3/22 (14 %) χ ² =20,3; p=0,00003

Таблица 5

Выраженность экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов в разных структурах новообразования при раке гортани в зависимости от наличия регионарных метастазов

Тип структуры	Наличие регионарных метастазов	ММП-1	ТИМП-1	ММП-2	ТИМП-2	ММП-9	CD 147
1-й тип	N ₀ (n=25)	1,4 ± 0,6	2,6 ± 0,8	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,3	1,6 ± 0,8
	N ₊ (n=17)	1,5 ± 0,5	2,5 ± 1,2	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,6 ± 0,9	2,2 ± 0,8
		F=0,8; p=0,37	F=0,03; p=0,85	F=0,5; p=0,49	F=1,5; p=0,23	F=5,3; p=0,02	F=3,5; p=0,06
2-й тип	N ₀ (n=26)	1,4 ± 0,6	2,3 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,6 ± 0,8
	N ₊ (n=19)	1,5 ± 0,5	2,4 ± 0,9	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,7	1,9 ± 0,9
		F=0,6; p=0,45	F=0,3; p=0,58	F=0,5; p=0,48	F=1,5; p=0,23	F=8,3; p=0,006	F=1,3; p=0,26
3-й тип	N ₀ (n=21)	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,8	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,0	1,8 ± 0,8
	N ₊ (n=16)	1,4 ± 0,5	1,6 ± 0,9	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,2	1,6 ± 0,8	2,0 ± 0,9
		F=0,3; p=0,57	F=0,04; p=0,83	F=0,6; p=0,44	F=0,01; p=0,91	F=9,7; p=0,003	F=0,4; p=0,51
4-й тип	N ₀ (n = 2)	2,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0
	N ₊ (n = 15)	1,5 ± 0,9	2,6 ± 1,1	1,3 ± 0,5	1,1 ± 0,2	1,7 ± 1,0	2,2 ± 0,9
		F=2,3; p=0,15	F=1,8; p=0,20	F=0,3; p=0,61	F=3,5; p=0,08	F=0,8; p=0,39	F=2,8; p=0,11
Комплексы опухолевых клеток	N ₀ (n=5)	2,8 ± 0,8	2,0 ± 1,2	2,6 ± 1,5	1,4 ± 0,8	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,5
	N ₊ (n=4)	1,5 ± 0,5	1,7 ± 1,1	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5	2,2 ± 0,9	2,0 ± 1,0
		F=6,9; p=0,03	F=0,1; p=0,72	F=1,8; p=0,22	F=0,01; p=0,91	F=1,1; p=0,33	F=0,5; p=0,48

Примечание: F – значения критерия Фишера; p – показатель значимости различий между группами с N₀ и N₊.

оно регистрировалось, когда опухоль образована исключительно структурами низкой степени дифференцировки (90 %). Частота лимфогенного метастазирования опухолей, представленных сочетанием высоко- и низкодифференцированных структур, достаточно высока (70,5 %), однако значимо не отличается от частоты метастазирования высокодифференцированных опухолей (40 %).

Иная картина наблюдалась при локализации опухолей в области голосовых связок. Несмотря на то, что общая частота лимфогенного метастазирования при этой локализации ниже, чем при плоскоклеточных карциномах надскладочной области, не обнаружено каких-либо различий в случаях, когда опухоли построены высокодифференцированными или низкодифференцированными структурами. Различия в частоте развития лимфогенных метастазов опухолей с разной локализацией связаны исключительно с плоскоклеточными карциномами голосовых связок, в которых есть высоко- и низкодифференцированные структуры.

Если сравнить частоту лимфогенных метастазов, развивающихся при плоскоклеточном раке голосовых связок в зависимости от строения опухолей, то, в отличие от рака надскладочной области гортани, нет различий между опухолями, построенными только высокодифференцированными или только низкодифференцированными структурами. В то же время частота метастазирования этих опухолей значимо выше, чем при карциномах, построенных высоко- и низкодифференцированными структурами (табл. 6).

В связи с существенными различиями в частоте лимфогенного метастазирования плоскоклеточного рака смешанного строения при локализации в надскладочной области и в области голосовых связок представляло интерес выяснить, обусловлено ли это особенностями экспрессии металлопротеиназ, их индуктора и ингибиторов. Исследуемые параметры сравнивались в подгруппах опухолей с локализацией в надскладочной области и в области голосовых связок в группах без лимфогенных ме-

Таблица 6

Лимфогенное метастазирование в зависимости от локализации опухоли и степени дифференцировки опухолевых структур

Локализация опухоли		Надскладочная область гортани		Область голосовых связок	
Метастазы в лимфоузлы		N-	N+	N-	N+
1		2	3	4	5
Высокая степень дифференцировки	a	3/5	2/5	3/4	1/4 $p_3=0,63$ $\chi^2=0,22$
	b	1/10	9/10 $p_{b-a}=0,04$ $\chi^2=4,26$	1/3	2/3 $p_3=0,33$ $\chi^2=0,97$ $p_b=0,27$ $\chi^2=1,97$
Низкая степень дифференцировки	c	5/17	12/17 $p_{c-a}=0,21$ $\chi^2=1,26$ $p_{c-b}=0,24$ $\chi^2=1,37$	15/15	0/15 $p_3=0,0000$ $\chi^2=16,94$ $p_{c-a}=0,046$ $\chi^2=3,96$ $p_{c-b}=0,0008$ $\chi^2=11,25$

Примечание: p – показатель значимости различий между группами.

тастазов. Экспрессия ММП, CD147 и ингибиторов металлопротеиназ в разных структурах плоскоклеточной карциномы значимо не отличалась от соответствующих параметров в карциномах надскладочной области без лимфогенных метастазов. Однако в опухолях голосовых связок отмечена тенденция к более выраженной экспрессии

ТИМП1 – ингибитора металлопротеиназ 1 и 9. Не исключено, что ингибция активности ММП9, которая в наших исследованиях сопряжена с лимфогенным метастазированием, является одним из существенных факторов, уменьшающих частоту лимфогенного метастазирования плоскоклеточных карцином голосовых связок (табл. 7).

Таблица 7

Выраженность экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов в разных структурах новообразования с сочетанием структур высокой и низкой степени дифференцировки в опухолях разной локализации

Локализация	Тип структур	ММП-1	ТИМП-1	ММП-2	ТИМП-2	ММП-9	CD 147
Надскладочная область	1-й тип	1,5 ± 1,0	2,0 ± 1,1	1,2 ± 0,5	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,5	2,0 ± 0,8
	2-й тип	1,6 ± 0,8	2,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,4
	3-й тип	1,8 ± 0,8	1,6 ± 0,5	1,8 ± 1,3	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,6 ± 0,5
	4-й тип	–	–	–	–	–	–
	5-й тип	–	–	–	–	–	–
Голосовые складки	1-й тип	1,3 ± 0,6	2,6 ± 0,6 $p_H=0,08$	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,6 $p_H=0,09$
	2-й тип	1,3 ± 0,6	2,1 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,5 ± 0,6
	3-й тип	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,6	1,4 ± 0,7	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,0	2,0 ± 0,8
	4-й тип	3,0	2,0	2,0	2,0	1,0	1,0
	5-й тип	3,0 ± 0,8	2,0 ± 1,4	2,2 ± 1,5	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,5	1,5 ± 0,5

Примечание: p_H – показатель значимости различий в сравнении со значениями параметров 1-го типа структур в опухолях надскладочной области.

Обсуждение

Плоскоклеточная карцинома гортани гетерогенна по морфологическому строению. Целесообразно отдельно оценивать наличие в опухоли пяти типов структур, различающихся по степени дифференцировки клеток: структуры с ороговением (1-й тип); с клетками базалоидного и шиповатого типа без ороговения (2-й тип); с клетками базалоидного типа (3-й тип); структуры с выраженным клеточным полиморфизмом (4-й тип) и одиночные опухолевые клетки (5-й тип). Потенциальная способность опухолевых клеток к инвазивному росту, оцениваемая по экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов, оказалась, в соответствии с ожиданием, минимальной в дифференцированных структурах и максимально выраженной по экспрессии ММП-1, ММП-2 и ММП-9 в наименее дифференцированных – дискретных опухолевых клетках.

Однако такая закономерность распределения активности металлопротеиназ в структурах плоскоклеточного рака разной степени дифференцировки была характерна в большей степени для случаев без лимфогенных метастазов, но не для группы с лимфогенной диссеминацией карциномы. С лимфогенным метастазированием оказалась связанной только более выраженная в опухолевых клетках экспрессия ММП-9. Имеющиеся наблюдения о роли металлопротеиназ и их ингибиторов в лимфогенном метастазировании противоречивы. Многие авторы отмечают, что при наличии регионарных лимфогенных метастазов выявляется снижение уровня экспрессии ТИМП-2 в опухолевых клетках и ТИМП-1 в строме [2]. Существуют данные о связи экспрессии ММП-9 и ММП-2 с инвазией и лимфогенным метастазированием плоскоклеточного рака [6]. ММП-9 даже предлагают в качестве прогностического фактора лимфогенного метастазирования при плоскоклеточной карциноме головы и шеи [4, 10]. С другой стороны, существуют данные о том, что экспрессия ММП-9 не связана ни с размером опухоли, ни с клинической стадией, ни со степенью дифференцировки, ни с состоянием лимфатических узлов [7].

Особенностью наших наблюдений было усиление экспрессии ММП-9 у больных с лимфогенными метастазами только в более дифференцированных структурах плоскоклеточной карциномы (1, 2 и 3-го типа). Кроме этого, в наиболее дифференцированных структурах 1-го типа наблюдалось и

усиление экспрессии CD147 – индуктора синтеза металлопротеиназ. Повышение синтеза ММП в высокодифференцированных опухолевых структурах может свидетельствовать о том, что их способность к коллективному инвазивному росту усилена в опухолях, метастазирующих в лимфатические узлы. Это соответствует представлениям о том, что лимфогенное метастазирование может осуществляться кластерами опухолевых клеток. В основе способности кластера опухолевых клеток к инвазивному росту лежит эпителиально-мезенхимальный переход. Именно металлопротеиназы, увеличивая экспрессию фактора транскрипции Snail, индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход, в результате которого трансформированные клетки не только теряют адгезивные молекулы, но и приобретают способность быть подвижными [8, 9].

Заключение

Предложенное нами разделение плоскоклеточных карцином на три типа в зависимости от сочетающихся структур показало, что опухоли смешанного строения (со структурами 1, и/или 2, и 3 и/или 4, и/или 5-го типов) не идентичны ни высокодифференцированным (со структурами 1 и/или 2 типов), ни низкодифференцированным (с сочетанием структур 3, и/или 4, и/или 5-го типов) карциномам. Лимфогенное метастазирование сопряжено с усилением экспрессии ММП-9 в структурах опухоли высокой степени дифференцировки. Меньшая частота метастазирования плоскоклеточных карцином голосовых связок, в сравнении с опухолями надскладочной области, наблюдается только в группах с сочетанием высоко- и низкодифференцированных структур опухоли. По-видимому, это в определенной степени связано с несколько более высокой экспрессией в опухолях голосовых связок ТИМП-1 – ингибитора ММП-1 и ММП-9. Представляет интерес изучить вклад в инвазивный рост и лимфогенное метастазирование синтеза металлопротеиназ клетками воспалительного инфильтрата стромы плоскоклеточного рака гортани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л., Черемисина О.В., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А. Прогностическая значимость определения металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи // Онкохирургия. 2011. Т. 3, № 1. С. 20–25.
2. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л., Шишкин Д.А., Черемисина О.В., Чижевская С.Ю. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии и прогнозе плоскоклеточных карцином головы и

шен // Сибирский онкологический журнал. онкологический журнал. 2009. № 6. С. 48–53.

3. Barnes L., Tse L.L.Y., Hunt J.L., Brandwein-Gensler M., Urken M., Slootweg P., Gale N., Cardesa A., Zidar N., Boffetta P. Tumours of the hypopharynx, larynx and trachea: Introduction // Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours / Eds. L. Barnes, J.W. Eveson, P. Reichart, D. Sidransky. Lyon: IARCPress, 2005. P. 111–112.

4. Dunne A.A., Grobe A., Sesterhenn A.M., Barth P., Dalchow C., Werner J.A. Influence of Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) on the Metastatic Behavior of Oropharyngeal Cancer // Anticancer Res. 2005. Vol. 25 (6B). P. 4129–4134.

5. Gialeli C., Theocharis A.D., Karamanos N.K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting // FEBS J. 2011. Vol. 278 (1). P. 16–27. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07919.x.

6. Patel B.P., Shah S.V., Shukla S.N., Shah P.M., Patel P.S. Clinical significance of MMP-2 and MMP-9 in patients with oral cancer // Head Neck. 2007. Vol. 29 (6). P. 564–572.

7. Peschos D., Damala C., Stefanou D., Tsanou E., Assimakopoulos D., Vougiouklakis T., Charalabopoulos K., Agnantis N.J. Expression of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) in benign, premalignant and malignant laryngeal lesions // Histol. Histopathol. 2006. Vol. 21 (6). P. 603–608.

8. Przybylo J.A., Radisky D.C. Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition: tumor progression at Snail's pace // Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2007. Vol. 39 (6). P. 1082–1088.

9. Radisky E.S., Radisky D.C. Matrix Metalloproteinase-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer // J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 2010. Vol. 15 (2). P. 201–212. doi: 10.1007/s10911-010-9177-x.

10. Ruokolainen H., Paakko P., Turpeenniemi-Hujanen T. Expression of matrix metalloproteinase-9 in head and neck squamous cell carcinoma: a potential marker for prognosis // Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 10 (9). P. 3110–3116.

11. Verma R.P., Hansch C. Review Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs // Bioorg. Med. Chem. 2007. Vol. 15 (6). P. 2223–2268.

Поступила 10.12.14

REFERENCES

1. Klisho E.V., Kondakova I.V., Choinzonov E.L., Cheremisina O.V., Chizhevskaya S.Yu., Shishkin D.A. Prognostic significance of determination

of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors of patients with head and neck squamous cell carcinoma // Onkologiya. 2011. Vol. 3 (1). P. 20–25. [in Russian]

2. Klisho E.V., Kondakova I.V., Choinzonov E.L., Shishkin D.A., Cheremisina O.V., Chizhevskaya S.Yu. Role of MMP-2 and MMP-9 in the development and prognosis of squamous cell head and neck carcinoma // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2009. № 6. P. 48–53. [in Russian]

3. Barnes L., Tse L.L.Y., Hunt J.L., Brandwein-Gensler M., Urken M., Slootweg P., Gale N., Cardesa A., Zidar N., Boffetta P. Tumours of the hypopharynx, larynx and trachea: Introduction // Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours / Eds. L. Barnes, J.W. Eveson, P. Reichart, D. Sidransky. Lyon: IARCPress, 2005. P. 111–112.

4. Dunne A.A., Grobe A., Sesterhenn A.M., Barth P., Dalchow C., Werner J.A. Influence of Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) on the Metastatic Behavior of Oropharyngeal Cancer // Anticancer Res. 2005. Vol. 25 (6B). P. 4129–4134.

5. Gialeli C., Theocharis A.D., Karamanos N.K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting // FEBS J. 2011. Vol. 278 (1). P. 16–27. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07919.x.

6. Patel B.P., Shah S.V., Shukla S.N., Shah P.M., Patel P.S. Clinical significance of MMP-2 and MMP-9 in patients with oral cancer // Head Neck. 2007. Vol. 29 (6). P. 564–572.

7. Peschos D., Damala C., Stefanou D., Tsanou E., Assimakopoulos D., Vougiouklakis T., Charalabopoulos K., Agnantis N.J. Expression of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) in benign, premalignant and malignant laryngeal lesions // Histol. Histopathol. 2006. Vol. 21 (6). P. 603–608.

8. Przybylo J.A., Radisky D.C. Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition: tumor progression at Snail's pace // Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2007. Vol. 39 (6). P. 1082–1088.

9. Radisky E.S., Radisky D.C. Matrix Metalloproteinase-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer // J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 2010. Vol. 15 (2). P. 201–212. doi: 10.1007/s10911-010-9177-x.

10. Ruokolainen H., Paakko P., Turpeenniemi-Hujanen T. Expression of matrix metalloproteinase-9 in head and neck squamous cell carcinoma: a potential marker for prognosis // Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 10 (9). P. 3110–3116.

11. Verma R.P., Hansch C. Review Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs // Bioorg. Med. Chem. 2007. Vol. 15 (6). P. 2223–2268.