О.В. КОВТУНЕНКО¹, С.М. ТИМЧУК², Б.В. ШПОРТЬКО²

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРУ КІ-67 У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЙОГО ЗВ'ЯЗКУ З МЕТАСТАЗУВАННЯМ ТА РЕЦИДИВАМИ

*¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України»*

*²Комунальний заклад «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня
ім. І.І. Мечникова»*

Рак гортані є частою локалізацією плоскоклітинного раку голови та шиї [5, 13]. Прогностичними факторами плоскоклітинного раку гортані є розмір пухлини, чистий край резекції, глибина інвазії розмір та місце розташування пухлини [15]. Не дивлячись на прогрес у хірургічному, променевому та інших радикальних способах лікування плоскоклітинного раку голови та шиї, виживаність хворих з цією патологією залишається незмінною. Основним фактором що впливає на виживаність хворих є наявність регіонарних метастазів [11].

Такі фундаментальні принципи прогнозування перебігу пухлинного процесу, зокрема метастазування, як класифікація TNM або ступінь диференціювання, розмір пухлини, чистий край резекції, глибина інвазії розмір та місце розташування пухлини використовуються тривалий час [15]. Однак ці показники не є надійними прогностичними факторами.

Існує два протилежних підходи до ведення пацієнтів хворих на рак гортані з клінічно негативними лімфатичними вузлами – стратегія «чекай та спостерігай», та превентивне втручання на лімфатичній системі шиї, та обидва мають свої недоліки та немає визначеності в тактиці в залежності від проліферативної активності пухлини [8, 10, 16].

З урахуванням нових знань, дослідження молекулярних властивостей пухли-

ни дозволяє прогнозувати агресивний пухлинний ріст і вірогідність метастазування пухлини. Визначення пухлинної агресії та прогноз метастазування може бути використане для вирішення дискусійного питання об'єму оперативного втручання на лімфатичній системі шиї [6].

Злоякісне переродження клітини завжди супроводжується порушенням клітинного циклу, зокрема різким підвищенням проліферативної активності. Для дослідження проліферативної активності пухлинних клітин використовується молекулярний маркер Кі-67 [14]. Вибір Кі-67 обумовлений тим що експресія цього білка присутня у всіх фазах клітинного циклу крім G0 і якнайкраще може бути використана для визначення проліферації [4].

Згідно даних літератури, деякі дослідження підтверджують зв'язок високої експресії Кі-67 з порушенням диференціації пухлини та наявністю регіонарних метастазів [1, 7]. В той же час інші опубліковані дослідження не підтверджують наявності зв'язку високої проліферативної активності та метастазування [2, 12].

Дослідження з великою кількістю пацієнтів демонструє зв'язок підвищеної експресії Кі-67 з поганим прогнозом захворювання [14]. Систематичний огляд літератури, проведений Gioacchini та співавторами підтверджує пряму кореляцію експресії Кі-67 з прогнозом захворювання [9].

Мета дослідження – вивчити інформативність імуногістохімічного дослідження та визначення експресії молекулярного маркеру Ki-67 у хворих на рак гортані та визначити можливість прогнозу регіонарного метастазування та рецидивів.

Матеріали та методи дослідження

Для виконання завдань дослідження під спостереженням знаходилося 70 хворих на рак гортані III-IV стадій ($T_{3-4}N_{0-3}M_0$) II-ї клінічної групи, які проходили обстеження, лікування та спостереження в ЛОР-онкологічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова в період з 2011 по 2014 рр. З них 39 хворих основної групи мали регіонарні метастази раку гортані, у 31 пацієнта групи порівняння регіонарні метастази не були виявлені. Вік пацієнтів коливався від 33 до 74 років, середній вік склав 61,9 років. Чоловіки складали абсолютну більшість (99%; No=69). У всіх хворих гістологічно було діагностовано плоскоклітинний рак. Розподіл хворих за ступенем диференціації виявив перевагу помірно диференційованого раку в основній (66,7%) та контрольній (61,3%) групах.

Всім пацієнтам проведено хірургічне лікування – ларингектомія та варіанти лімфодисекції. Гістологічне дослідження та оцінка експресії імуногістохімічних маркерів Р гортані виконувались двома незалежними патоморфологами згідно рекомендації гістологічної класифікації пухлин гортані BOOЗ [3].

Імуногістохімічне дослідження. В якості первинних молекулярних маркерів використовувались моноклональні антитіла до Ki67 (Termo Scientific, США). Мікропрепарати фарбувались за допомогою гематоксиліну Маєра та фіксувались.

Однією з основних ознак пухлинної клітини є швидке проходження через клітинний цикл й новий початок поділу без відповідного дозрівання, що є показником проліферативної активності. Проліферативну активність плоскоклітинного раку гортані ми оцінювали за ядерною експресією маркеру Ki-67, який дає позитивну інтрануклеарну реакцію у всіх фазах мітотичного циклу, окрім G₀, і забарвлює клітини навіть в стані

підготовки до поділу або патологічні мітози із злипанням або розсіюванням хромосом, що є більш інформативним, порівняно із стандартним забарвленням гематоксилін-еозин (рис. 1). Індекс проліферації (ІП) визначався як відсоток забарвлених клітин.

Індекс проліферації (ІП) оцінювався як низький в діапазоні 0-30% та як високий при більш ніж 30% позитивних клітин з інтрануклеарною міткою.

Дослідження було погоджено комісією з медичної етики ДЗ «ДМА» та КЗ «ОКЛІМ». Гістологічний матеріал для дослідження взятий з архіву КЗ «Обласне патологоанатомічне бюро». Всі пацієнти дали згоду на обробку персональних даних та участь у дослідженні.

Статистичний аналіз. Статистична обробка матеріалів дослідження проводилася за допомогою персонального комп'ютера з використанням пакетів програм Libre Office (<https://www.libreoffice.org/>) та R (R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>).

Для статистичної обробки матеріалів дослідження використовувались методи описової та аналітичної біостатистики: перевірка нормальності розподілу кількісних ознак за критерієм Шапіро-Уїлка (SW-W). Кількісні показники з нормальним типом розподілу були представлені у вигляді середнього арифметичного (стандартне відхилення), та їх порівняння проводили за допомогою t-критерію для незалежних вибірок. Кількісні показники з розподілом, відмінним від параметричного, були представлені у вигляді медіани та міжквартильного розмаху (25%;75%), їх порівняння проводили за допомогою тесту Мана-Уїтні, при множинному порівнянні – за допомогою критерію Краскела-Уолліса. Визначення достовірності тренду кількісних показників між групами проводили за допомогою критерію Джонкхіра-Терпстри. Для визначення сили взаємозв'язку між ступенем диференціації пухлини та рівнем Ki-67 проводили обчислення коефіцієнта кореляції Кендала (τ), ступінь диференціації пухлини було трансформовано як «високий» – 1, «помірний» – 2, «низький» – 3. Якісні показники було

представлено у вигляді n (%), а їх порівняння проводили за допомогою критерію Хі-

квадрат (χ^2) Пірсона без поправки Йейтса на безперервність.

Рис 1. А. Внутрішній контроль – багатошаровий плоский епітелій без ознак тканинної або клітинної атипії, $\times 200$. Б. Високодиференційований ПРГ з великими кератиновими «перлами» та легкою клітинною атипією, $\times 200$. В. Помірnodиференційований ПРГ з чисельними мітотичними фігурами та острівцями кератину в клітинах із помірною атипією, $\times 400$. Г. Низькодиференційований ПРГ із незрілих клітин з крупними гіперхромними ядрами і великими ядерно-цитоплазматичними індексами, $\times 400$. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Оцінка можливості прогнозування метастазування або рецидиву захворювання проводилась за допомогою логістичної регресії з обчисленням відношення шансів з 95% довірчим інтервалом (95% ДІ). Для оцінки дискримінаційної здатності моделей щодо прогнозування результату захворювання проводився ROC (receiver operating characteristic) – аналіз з обчисленням площі під кривою (AUC – area under ROC curve) з 95% ДІ.

Результати

Імуногістохімічне дослідження та визначення експресії молекулярного маркеру Ki-67 виконано всім хворим. При аналізі не

було виявлено статистично значущої відмінності за віком та гендерним розподілом між групами (табл. 1). Було виявлено достовірно нижчу експресію Ki-67 у пацієнтів без метастазування у порівнянні з пацієнтами з наявністю метастазів ($p < 0,001$). Структура пухлин за ступенем диференціації у пацієнтів з метастазами та без метастазування суттєво не відрізнялась ($p = 0,52$).

Експресія Ki-67 дозволяла достовірно прогнозувати метастазування пухлини (табл. 2). Зростання експресії Ki-67 на 1% призводило до зростання шансів метастазування пухлини на 8,3% (95% ДІ – 1,043-1,142). Урахування віку при прогнозуванні вірогідності метастазування суттєво не

впливало на модель. Визначення експресії Ki-67 не дозволяло прогнозувати рецидив захворювання ($p=0.27$, AUC (95% ДІ) –

0,588 (0,414-0,763)), урахування віку не позначилося на прогностичній здатності моделі.

Таблиця 1

Гендерний розподіл, вік, експресія Ki-67 та ступінь диференціації пухлини в групах в залежності від наявності метастазів

Параметр		Усі пацієнти (n=70)	Без метастазів (n=31)	З метастазами (n=39)	P
Чоловіча стать, n (%)		61,9 (9,5)	63 (10,7)	61 (8,5)	0.40
Вік, роки		69 (98,6)	31 (100,0)	38 (97,4)	0.37
Ki-67, %		69 [60,2; 77,5]	60 [29; 70,5]	72 [67; 80]	<0.001
Ступінь диференціації пухлини	високий	14 (20,0)	8 (25,8)	6 (15,4)	0.52
	помірний	45 (64,3)	19 (61,3)	26 (66,7)	
	низький	11 (15,7)	4 (12,9)	7 (17,9)	

Таблиця 2

Прогнозування метастазування та рецидиву пухлини на підставі рівня Ki-67

Модель	Відношення шансів (95% ДІ)	P	AUC (95% ДІ)
Метастазування раку гортані			
Ki-67	1,083 (1,043-1,141)	<0,001	0,782 (0,668-0,895)
Вік	0,975 (0,909-1,041)	0,457	
Рецидиви раку гортані			
Ki-67	1,022 (0,989-1,066)	0,232	0,638 (0,484-0,792)
Вік	1,045 (0,977-1,128)	0,223

Рис. 2. Оцінка можливості прогнозування метастазування (а) та рецидиву (б) на підставі вивчення рівня Ki-67.

Виявлено слабкий кореляційний зв'язок між ступенем диференціації пухлини та експресією Ki-67 ($\tau=0.16$, $p<0.001$). У більшості пацієнтів спостерігалася експресія Ki-67 вище 30%, навіть у пацієнтів з високим ступенем диференціації пухлини.

Рис. 3. Взаємозв'язок ступеню диференціації пухлини та експресії Ki-67.

Обговорення

Отримані нами дані щодо статистично значущого підвищення експресії Ki-67 при наявності метастазів у регіонарні лімфатичні вузли шийї підтверджуються дослідженнями деяких авторів. Так, у публікації Vukelic та співавторів виявлено кореляційний зв'язок Ki-67 з регіонарними метастазами, в той же час не виявлено зв'язку експресії маркеру зі ступенем диференціювання пухлини [17].

Підвищення проліферативної активності грає дуже велику роль у функціонуванні багатоклітинних організмів. Тому Ki-67 був обраний як маркер процесів проліферації, порушення яких може призводити до підвищення рівня метастазування та прискореного росту пухлини. Дослідження молекулярних маркерів Ki-67 показало його експресію на рівні 69 [60,2; 77,5]% (Me [25%; 75%]) для групи плоскоклітинного раку гортані, без метастазів – 60 [29; 70,5]%, для групи з метастазами – 72 [67; 80]% ($P<0,001$).

При статистичній обробці даних, отриманих в результаті дослідження молекулярного маркеру Ki-67 та його зв'язку з

метастазуванням, величина AUC становила 0,777. Таким чином, показник експресії Ki-67 має добру діагностичну цінність та може бути використаний як додатковий метод прогнозування регіонарних метастазів раку гортані. Однак практичне використання цього маркеру в якості прогностичного показника для вибору об'єму хірургічного втручання на лімфатичних структурах шийї, потребує подальшого дослідження.

Окремо треба відмітити, що дане дослідження не виявило зв'язку Ki-67 (AUC 0,588) зі ступенем диференціювання раку гортані та його рецидивами, однак більш поглиблене дослідження молекулярних маркерів в майбутньому може виявити інші закономірності пухлинного росту та бути використаним в прогнозуванні та персоналізації лікування.

Висновки

Дослідження молекулярного маркеру Ki-67 показало його експресію на рівні 69% [60,2; 77,5] (Me [25%; 75%]) для групи плоскоклітинного раку гортані, без метастазів – 60% [29; 70,5], для групи з метастазами – 72 % [67; 80] ($P<0,001$).

При статистичній обробці даних, отриманих в результаті дослідження молекулярного маркеру Ki-67 та його зв'язку з метастазуванням, AUC становило 0,777. Таким чином Ki-67 має добру діагностичну цінність та може бути використаний як додатковий метод прогнозування регіонарних метастазів раку гортані. Отримані дані дозволяють зробити висновки про наявність зв'язків між рівнем експресії маркеру та наявністю метастазів.

2. Встановлено прямий кореляційний зв'язок експресії молекулярного маркеру Ki-67 з метастазуванням в лімфатичні вузли ($\tau=0,35$; $p<0,001$), що дозволяє рекомендувати дослідження даного маркеру в якості діагностичного фактору наявності метастазів плоскоклітинного раку гортані в регіонарні лімфатичні вузли шийї.

3. Експресія Ki-67 дозволяла достовірно прогнозувати метастазування пухлини. Зростання експресії Ki-67 на 1% призводило до зростання шансів метастазування пухлини на 8,3% (95% ДІ – 1,043-1,142), при цьому залежності метастазування від віку не виявлено.

4. Визначення експресії Ki-67 не дозволяє достовірно прогнозувати можливість рецидивів раку гортані ($p=0,27$; AUC (95%

ДІ) – 0,588 (0,414-0,763)), при цьому залежності вірогідності рецидиву від віку не виявлено.

Література

1. Bai Y, Shao Y, Li H, Xue W, Quan F, Wu S. Ki-67 is over expressed in human laryngeal carcinoma and contributes to the proliferation of HEP2 cells. *Oncology Letters*. 2016; 12(4): 2641-2647. doi: 10.3892/ol.2016.4980
2. Barutçu O, Kara M, Muratlı A, Güçlü O, Dereköy S. Clinical significance of Ki-67, c-erbB-2 and E-cadherin expressions in open partial laryngectomy patients. *Kulak Burun Bogaz Ihtisas Dergisi*. 2016; 26(5): 283-292. doi:10.5606/kbbihtisas.2016.66592.
3. Barnes L, Eveson J W, Richard P, Sidransky D. *World Health Organization Classification of Tumours: pathology and genetics of head and neck tumours*. Lyon, France: IARC Press; 2005. 430 p
4. Bonhin RG, de Carvalho GM, Guimarães AC, Chone CT, Crespo AN, de Almeida Milani Altemani AM, et al. Histologic correlation of expression of Ki-67 in squamous cell carcinoma of the glottis according to the degree of cell differentiation. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2014; 80(4): 290-295. doi: 10.1016/j.bjorl.2014.05.016
5. Bradford CR, Kumar B, Bellile E, Lee J, Taylor J, D'Silva N et al. Biomarkers in Advanced Larynx Cancer. *Laryngoscope*. 2014 Jan; 124(1): 179-87. doi: 10.1002/lary.24245.
6. De Bree R, Takes RP, Castelijns JA, Medina JE, Stoeckli SJ, Mancuso AA, et al. Advances in diagnostic modalities to detect occult lymph node metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2015 Dec; 37(12): 1829-39. doi: 10.1002/hed.23814.
7. De Vincentiis M, Di Cello P, Censi F, Leopizzi M, Natalizi S, Sardella B, et al. Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx. *The International Journal of Biological Markers*. 2008; 23(3): 176-81. doi: 10.1177/172460080802300307.
8. Ferlito A, Rinaldo A, Robbins KT, Leemans CR, Shah JP, Shaha AR, et al. Changing concepts in the surgical management of the cervical node metastasis. *Oral Oncol*. 2003 Jul; 39(5): 429-35. doi: 10.1016/s1368-8375(03)00010-1.
9. Gioacchini FM, Alicandri-Ciufelli M, Magliulo G, Rubini C, Presutti L, Re M. The clinical relevance of Ki-67 expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015 Jul; 272(7): 1569-76. doi: 10.1007/s00405-014-3117-0.
10. Hamoir M, Ferlito A, Schmitz S, Hanin FX, Thariat J, Weynand B, et al. The role of neck dissection in the setting of chemoradiation therapy for head and neck squamous cell carcinoma with advanced neck disease. *Oral Oncol*. 2012; 48(3): 203-10. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.10.015.
11. Koontongkaew S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. *J. Cancer*. 2013; 4: 66-83. doi: 10.7150/jca.5112
12. Kulagin RN. [Molecular prognostic markers of lymphogenous metastasis of squamous cell carcinoma of the larynx (an immuno-histochemical study)]. *Vestn Otorinolaringol*. 2011;(5):11-4. [Article in Russian].
13. Li DW, Sun YJ, Sun ZF, Dong P. Involvement of focal adhesion kinase in cellular proliferation, apoptosis and prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma. *J Laryngol Otol*. 2012 Nov; 126(11): 1127-33. doi: 10.1017/S0022215112001971.
14. Pich A, Chiusa L, Navone R. Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. *Annals of Oncology*. 2004; 15(9): 1319-29. doi: 10.1093/annonc/mdh299.
15. Re M, Zizzi A, Ferrante L, Stramazzotti D, Goteri G, Gioacchini FM, et al. p63 and Ki-67 immunostainings in laryngeal squamous cell carcinoma are related to survival. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014 Jun; 271(6): 1641-51. doi: 10.1007/s00405-013-2833-1.
16. Robbins KT, Ferlito A, Shah JP, Hamoir M, Takes RP, Stojan P, et al. The evolving role of selective neck dissection for head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2013 Mar; 270(4): 1195-202. doi: 10.1007/s00405-012-2153-x.
17. Vukelic J, Dobrila-Dintinjana R, Dekanic A, Marijic B, Cubranic A, Braut T. The relevance of assessing the cell proliferation factor ki-67 in squamous cell carcinoma of the larynx. *Biomed. Res. Int*. 2019; 2019: 8142572. doi: 10.1155/2019/8142572.

Надійшла до редакції 20.03.2020

© О.В. Ковтуненко, С.М. Тимчук, Б.В. Шпортько, 2020

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРУ Ki-67 У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЙОГО ЗВ'ЯЗКУ З МЕТАСТАЗУВАННЯМ ТА РЕЦИДИВАМИ

¹Ковтуненко ОВ, ²Тимчук СМ, ²Шпортко БВ

¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

²Комунальний заклад «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І.І. Мечникова»
e-mail: lor@dsma.dp.ua

А н о т а ц і я

Актуальність: Рак гортані є частою локалізацією плоскоклітинного раку голови та ший. Основним фактором що впливає на виживаність хворих є наявність регіонарних метастазів. Злоякісне переродження клітини завжди супроводжується порушенням клітинного циклу, зокрема різким підвищенням проліферативної активності. Для дослідження проліферативної активності пухлинних клітин використовується молекулярний маркер Ki-67.

Мета дослідження: вивчити інформативність імуногістохімічного дослідження та визначення експресії молекулярного маркеру Ki-67 у хворих на рак гортані та визначити можливість прогнозу регіонарного метастазування та рецидивів.

Матеріали та методи: Для виконання завдань дослідження під спостереженням знаходилось 70 хворих на рак гортані III-IV стадій ($T_{3-4}N_{0-3}M_0$) II-ї клінічної групи. З них 39 хворих з основної групи були з регіонарними метастазами раку гортані, у 31 хворих групи порівняння регіонарні метастази не були виявлені. Вік пацієнтів коливався від 33 до 74 років. Середній вік хворих склав 61,9 років. Чоловіки склали абсолютну більшість 99% $N_0=69$. У всіх хворих гістологічно діагностувався плоскоклітинний рак. В якості первинних молекулярних маркерів використовувалися моноклональні антитіла до Ki67 (Termo Scientific, США). Індекс проліферації (ІП) оцінювався як низький, в діапазоні 0-30% та як високий, при більш ніж 30% позитивних клітин з інтрануклеарною міткою.

Результати: Дослідження молекулярних маркерів Ki-67 показало його експресію на рівні 69 [60,2; 77,5]% (Me [25%; 75%]) для групи плоскоклітинного раку гортані, без метастазів – 60 [29; 70,5]%, для групи з метастазами – 72 [67; 80]% ($P<0,001$).

При статистичній обробці даних значення AUC (0,777) встановлено для Ki-67 щодо метастазування та показало підвищений ступінь експресії при метастазуванні раку гортані. Ki-67 має добру діагностичну цінність та може бути використаний як додатковий метод прогнозування регіонарних метастазів раку гортані. Однак практичне використання цього маркеру в якості прогностичного, для вибору об'єму оперативного втручання на лімфатичних структурах ший, потребує подальшого дослідження.

Окремо треба відмітити, що дане дослідження не виявило зв'язку Ki-67 AUC (0,588) зі ступенем диференціювання раку гортані та його рецидивами, однак більш поглиблене дослідження молекулярних маркерів в майбутньому може виявити інші закономірності пухлинного росту та бути використане в прогнозуванні та персоналізації лікування.

Висновки: Експресія Ki-67 дозволяла достовірно прогнозувати метастазування пухлини. Зростання експресії Ki-67 на 1% призводило до зростання шансів метастазування пухлини на 8,3% (95% ДІ – 1,043-1,142), при цьому залежності вірогідності рецидиву від віку не виявлено.

Визначення експресії Ki-67 не дозволяє достовірно прогнозувати можливість рецидивів раку гортані ($p=0,27$; AUC (95% ДІ) – 0,588 (0,414-0,763)), при цьому залежності вірогідності рецидиву від віку не виявлено.

Ключові слова: рак гортані, метастази, імуногістохімічне дослідження, Ki-67.

ANALYSIS OF EXPRESSION OF MOLECULAR MARKER KI-67 IN PATIENTS WITH LARYNGEAL CANCER FOR REGIONAL METASTASES AND RECCURENCES

¹Kovtunenکو OV, ²Tymchuk SM, ²Shportko BV

¹State Establishment «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine», Dnipro, Ukraine

²Municipal Institution «I.I. Mechnikov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital» Dnipro, Ukraine
e-mail: lor@dsma.dp.ua

Abstract

Background: Laryngeal cancer is a common localization of squamous cell carcinoma of the head and neck. The main factor influencing the survival of patients is the presence of regional metastases. The malignant degeneration of a cell is always accompanied by disruption of the cell cycle, in particular a sharp increase in proliferative activity. The molecular marker Ki-67 is used to investigate the proliferative activity of tumor cells.

Aim of the study: To study the informative content of immunohistochemical investigation and to determine the expression of the molecular marker Ki-67 in patients with laryngeal cancer, prior to the prediction of regional metastasis and relapse.

Materials and Methods: 70 patients with cancer, stage III-IV (T₃₋₄N₀₋₃M₀) clinical group II were under observation. Of these, 39 patients from the main group were with regional laryngeal cancer metastases, and 31 patients in the comparison group – without revealed regional metastases. Patients' age ranged from 33 to 74 years. The average age was 61.9 years. Male patients made up the absolute majority of 99% No = 69. All patients were histologically diagnosed with squamous cell carcinoma. Monoclonal antibodies to Ki67 (TermoScientific, USA) were used as the primary molecular markers. The proliferation index (PI) was rated as low in the range of 0-30% and as high in more than 30% of positive cells with an intranuclear label.

Results: The study of molecular markers Ki-67 showed its expression at 69 [60.2; 77.5]% (Me [25%; 75%]) for the squamous cell laryngeal cancer group, without metastases – 60 [29; 70.5]%, for the group with metastases – 72 [67; 80]% (P < 0.001).

In statistical data processing, the AUC value (0.777) was set for Ki-67 for metastasis and showed an increased degree of expression for laryngeal cancer metastasis. Ki-67 has a good diagnostic value and can be used as an additional method for predicting regional laryngeal cancer metastases. However the practical use of this marker as a prognostic one for determining the volume of surgery on the lymphatic structures of the neck requires further investigation.

It should be noted that this study did not reveal the link of Ki-67 AUC (0.588) with the degree of differentiation of laryngeal cancer and its recurrence, but more in-depth study of molecular markers in the future may reveal other patterns of tumor growth and be used in the prognosis and personalization of treatment.

Conclusion: Expression of Ki-67 allowed to accurately predict tumor metastasis. A 1% increase in Ki-67 expression resulted in an 8.3% increase in the chance of tumor metastasis (95% CI - 1.043-1.142), and the age dependence on metastasis is not reliable.

Determination of expression of Ki-67 does not accurately predict the possibility of recurrence of laryngeal cancer (p=0.27; AUC (95% CI) – 0.588 (0.414-0.763)) herewith age dependence of chance of a recurrence was not revealed.

Key words: laryngeal cancer, metastases, immunohistochemical study, Ki-67.