

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 1995
УДК 618.19-006.6-037

Т. Г. Николаева, Я. В. Добрынин, В. С. Алферов,
А. И. Павловская, Т. Т. Кондратьева, Е. Г. Матякин

ПЛОИДНОСТЬ ДНК ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И ПРОГНОЗ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей,
НИИ клинической диагностики

Для выбора адекватного метода лечения рака гортани необходимо правильно и своевременно оценить прогноз заболевания [1]. Прогностическая значимость клинических факторов (распространенность опухолевого процесса, локализация, форма роста опухоли) и морфологических критериев дифференцировки плоскоклеточного рака хорошо изучены. Биологические особенности плоскоклеточного рака гортани, которые, несомненно, играют роль в прогнозе заболевания, остаются малоисследованными.

Использование проточной цитометрии в анализе солидных опухолей позволяет быстро и объективно оценить количественное содержание ДНК в клетках опухоли. Изменение в содержании ДНК (анеуплоидия) является отражением изменений в геноме, хорошо распознается и, по-видимому, является интегральным показателем, коррелирующим с характером опухолевого процесса [2, 6, 7, 17, 18, 20, 23]. Изучение популяционного состава (ploidy) опухолей, в том числе опухолей гортани, может помочь найти новые параметры в общепринятой клинко-патологической классификации злокачественных новообразований.

Цель работы — изучение популяционной структуры (ploidy) на основании изучения содержания ДНК у больных плоскоклеточным раком гортани и оценка роли ploidy в прогнозе заболевания.

Материалы и методы. Содержание ДНК определяли в клетках опухолей 81 больного раком гортани. Все пациенты — мужчины в возрасте от 36 до 72 лет, им проведено комбинированное лечение с операцией показанного объема (резекция гортани или ларингэктомия) на I этапе и послеоперационной лучевой терапией на II этапе. Кусочек опухолевой ткани брали во время хирургического вмешательства, производили отпечатки с каждого образца для цитологического исследования. Срок наблюдения за больными 4 года. Содержание ДНК определяли на проточном цитометре ICP-22 («Phywe», FRG). Приготовление материала для цитометрии и обработку результатов проводили по методикам, описанным ранее [2, 3].

Результаты. Для оценки значимости показателя ploidy ДНК в прогнозе рака гортани проведено сопоставление ploidy ДНК с клиническими и морфологическими прогностическими факторами и результатами лечения.

Плоидность ДНК и степень распространенности опухолевого процесса. По содержанию ДНК раковые опухоли гортани распределились следующим образом: 38 (46,9%) из 81 — диплоидные и 43 (53,1%) из 81 — анеуплоидные опухоли. Среди последних гипердиплоидных было 4 (9,3%), тетраплоидных — 31 (72%), гипертетраплоидных — 3 (6,9%) и поликлоновых — 5 (11,6%) (рис. 1).

CLINICAL INVESTIGATIONS

T.G.Nikolaeva, Ya.V.Dobrynin, V.S.Alferov,
A.I.Pavlovskaya, T.T.Kondratieva, E.G.Matyakin

TUMOR CELL DNA PLOIDY AND PROGNOSIS IN LARYNGEAL CANCER

Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, Research Institute of Clinical Diagnostics

In order to choose adequate treatment for laryngeal cancer it is necessary to make a correct and timely disease prognosis [1]. Prognostic value of clinical factors (disease advance, lesion site, tumor growth form) and morphological criteria of differentiation of squamous cell carcinoma are well known. However, biological peculiarities of squamous cell laryngeal carcinoma which are undoubtedly of importance for disease prognosis have been studied insufficiently.

Employment of flow cytometry in analysis of solid tumors allows a fast objective evaluation of DNA quantitative content in tumor cells. Alteration in DNA content (aneuploidy) is a reflection of changes in the genome, can be easily recognized and seems to be an integral characteristic of the tumor disease [2,6,7,17,18,20,23]. Study of tumor populational composition (ploidy), in particular in laryngeal carcinoma, may help to find new parameters to be used in common clinical pathological classification of malignant neoplasms.

The purpose of this investigation was to study the populational structure (ploidy) of squamous cell laryngeal carcinoma basing on DNA content and to evaluate the role of ploidy in disease prognosis.

Materials and Methods. Evaluation of tumor cell DNA content was performed in 81 patients with laryngeal cancer. All the patients were males of age ranging from 36 to 72 years undergoing combined treatment including surgery (laryngeal resection or laryngectomy) supplemented with postoperative radiotherapy. Intraoperative tumor tissue specimens were imprinted for cytological investigation. The patients were followed up for 4 years. DNA content was determined using an ICP-22 (Phywe, FRG) flow cytometer. Methodologies of cytometric specimen preparation and analysis of results were described elsewhere [2,3].

Results. In order to evaluate significance of DNA ploidy in prognosis of laryngeal cancer we compared the DNA ploidy with clinical and morphological factors and treatment outcomes.

DNA Ploidy and Tumor Disease Advance. Distribution of laryngeal cancers with respect to DNA content was as follows: of the 81 tumors 38 (46.9%) were diploid and 43 (53.1%) were aneuploid. Among the aneuploid tumors there were 4 (9.3%) hyperdiploid, 31 (72%) tetraploid, 3 (6.9%) hypertetraploid and 5 (11.6%) polyclonal (fig.1) cancers.

Case distribution with respect to disease advance was as follows: 25 T1N0M0 (stage I), 12 T2N0M0 (stage II), 29 T3N0M0 (stage III) and 15 T4N0M0 (stage IV).

Table 1 summarizes data on relationship of ploidy and disease advance.

Таблица 1

Table 1

Связь плоидности ДНК, стадии и возвратов заболевания
Relationship of DNA ploidy, disease advance and recurrence

Стадия заболевания	Число больных	В том числе	
		с диплоидными опухолями	с анеуплоидными опухолями
I (T1N0M0)	25	16	9
II (T2N0M0)	12(2)	4	8(2)
III (T3N0M0)	29(12)	10	19(12)
IV (T4N0M0)	15(7)	8(2)	7(5)
Всего.../Total	81(21)	38(2)	43(19)
Disease stage	No. of cases	diploid cancers	aneuploid cancers
		Including	

Примечание. Здесь и в табл. 2—4 в скобках — возврат заболевания.

Note. Here and in tables 2—4 numbers in parentheses are related to disease recurrence.

У 25 пациентов распространенность процесса соответствовала T1N0M0 (I стадия), у 12 — T2N0M0 (II стадия), у 29 — T3N0M0 (III стадия) и у 15 больных — T4N0M0 (IV стадия).

В табл. 1 представлены данные о связи плоидности и стадии заболевания.

В I стадии заболевания преобладали больные с диплоидными опухолями гортани, во II и III — с анеуплоидными опухолями, в IV стадии число больных с диплоидными и анеуплоидными опухолями было примерно одинаковым.

Общая частота возникновения возвратов заболевания составила для всех групп опухолей 25,9%. У больных с анеуплоидными опухолями гортани возвраты возникали в 8 раз чаще (44,1%), чем у больных с диплоидными опухолями (5,2%). С развитием заболевания (стадии) увеличивалось количество возвратов заболевания среди больных с анеуплоидными опухолями. Если в I стадии возвратов вообще не было выявлено, то во II стадии они составили 16,6%, а в III и IV — 44,8 и 40,1% соответственно. Возвраты заболевания чаще обнаруживались среди анеуплоидных (тетраплоидных) опухолей с индексом плоидности от 1,56 до 1,94, и их частота нарастала по мере развития заболевания. Для II, III и IV стадий заболевания они составили 33, 62,5 и 83,1% соответственно. Из 5 поликлоновых опухолей генерализовалось 3. Сроки возникновения возвратов были длиннее (6—10 мес) для II стадии, более короткими ($5,9 \pm 2,2$ и $5,4 \pm 0,5$ мес) для III и IV стадий заболевания. В первый год от возвратов заболевания погибли 8 (66,6%) из 12 больных в III стадии и в IV стадии 2 (40%) из 5. Большая частота гибели больных в III стадии, вероятно, связана с большей численностью группы.

Плоидность ДНК и гистологические формы роста опухолей гортани. В табл. 2 представлены данные по плоидности ДНК и формам роста рака гортани. Группа с инфильтративной формой роста была наиболее многочисленной — 54 случая, большая часть этих опухолей была анеуплоидными — 31 (57,4%). Частота возвратов заболевания среди больных с анеуплоидными опухолями гортани, имеющими инфильтративную форму роста, была в 8,2 раза выше чем у больных с диплоидными опухолями ($p < 0,05$). При смешанной форме роста частота

There was a preponderance of diploid cancers in stage I, aneuploid cancers in stages II and III disease, while among stage IV cases diploid and aneuploid tumors were distributed about equally.

The total rate of disease recurrence for all tumor groups was 25.9%. The patients with aneuploid laryngeal cancer relapsed 8-fold more frequently (44.1%) than the patients with diploid tumors (5.2%). The rate of recurrence of aneuploid cancers correlated with disease advance (stage). There were no recurrence in stage I, while in stage II the rate of recurrence was 16.6% versus 44.8 and 40.1% in stages III and IV, respectively. Aneuploid (tetraploid) cancers with ploidy ratio 1.56 to 1.94 recurred more frequently, the recurrence rate increasing with disease advance. The recurrence rates in stage II, III and IV disease were 33.0%, 62.5% and 83.1%, respectively. Of the 5 polyclonal cancers disease generalization was observed in 3 cases. Disease-free survival time was longer (6-10 mo) in stage II and shorter (5.9 ± 2.2 and 5.4 ± 0.5 mo) in stages III and IV. 8 (66.6%) of the 12 stage III and 2 (40%) of the 5 stage IV cases died from disease recurrence within the first year. The high death rate of stage III patients may be accounted for by the larger number of such cases.

DNA Ploidy and Histological Forms of Laryngeal Cancer. Table 2 presents data on DNA ploidy and laryngeal cancer growth forms.

Cancers with infiltrative form of growth made up the largest group (54), most of them being aneuploid (31, 57.4%). The rate of recurrence of aneuploid infiltrative

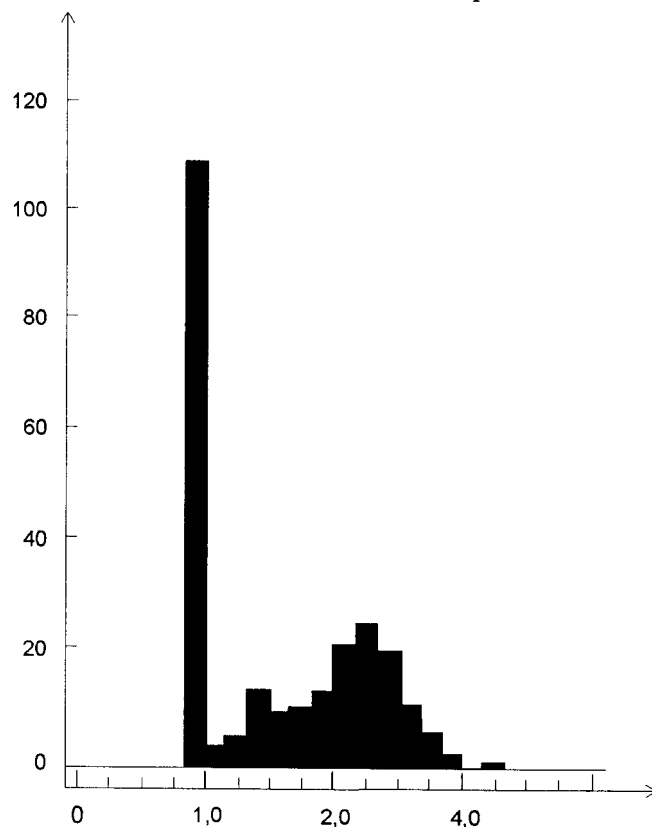


Рис. 1. Распределение ДНК по плоидности в опухолях гортани. По вертикали — частота случаев, %; по горизонтали — плоидность опухолей.

Fig. 1. DNA distribution with respect to ploidy in laryngeal cancer. Numbers on the vertical show percentage of cases; numbers of the horizontal show tumor ploidy.

Таблица 2

Table 2

Взаимосвязь пloidности ДНК и гистологических форм роста рака гортани
Relationship of DNA ploidy and histological forms of laryngeal cancer growth

Стадия заболевания	Инфильтративная форма		Смешанная форма		Экзофитная форма	
	диплоидные	анеуплоидные	диплоидные	анеуплоидные	диплоидные	анеуплоидные
I (T1N0M0)	8	7	4	2	1	—
II (T2N0M0)	2	5(2)	2	1	—	—
III (T3N0M0)	6	14(5)	2(1)	6(5)	1	1
IV (T4N0M0)	7(1)	5(4)	—	2(1)	—	—
Всего.../Total...	23(1)	31(11)	8(1)	11(6)	2	1
Disease stage	diploid	aneuploid	diploid	aneuploid	diploid	aneuploid
	Infiltrative cancer		Mixed cancer		Exophytic cancer	

Таблица 3

Table 3

Связь пloidности ДНК и возвратов заболевания при плоскоклеточном раке гортани с ороговением и без ороговения
Relationship of DNA ploidy and disease recurrence in squamous cell keratinizing and non-keratinizing laryngeal carcinoma

Стадия заболевания	С ороговением		Без ороговения	
	диплоидные	анеуплоидные	диплоидные	анеуплоидные
I (T1N0M0)	8	4	1	1
II (T2N0M0)	3	7(2)	—	1(1)
III (T3N0M0)	7	16(10)	1	1
IV (T4N0M0)	7(1)	3(3)	—	2(1)
Всего.../Total...	25(1)	30(15)	2(0)	5(2)
Disease stage	diploid	aneuploid	diploid	aneuploid
	Keratinization		No keratinization	

возвратов у больных с анеуплоидными опухолями гортани также была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у больных с диплоидными опухолями. Группа больных с экзофитной формой роста опухолей гортани ввиду малочисленности не рассматривалась.

Пloidность ДНК и морфологическая степень дифференцировки рака гортани. Среди 55 случаев плоскоклеточного рака гортани с ороговением было 25 (45,4%) диплоидных и 30 (54,6%) анеуплоидных опухолей. Частота возвратов заболевания у больных с анеуплоидным раком гортани с ороговением была в 12,5 раза выше, чем среди больных с диплоидными опухолями. При плоскоклеточном раке без ороговения число больных с диплоидным и анеуплоидным раком гортани было малообразованным. Для анеуплоидных неороговяющих новообразований частота возникновения возвратов также была выше, чем для диплоидных опухолей (табл. 3).

В последнее время пристальное внимание уделяется морфологическим особенностям плоскоклеточного рака гортани, так как показано, что степень дифференцировки опухоли имеет значение для прогноза заболевания [4, 10]. Морфологически изучали структуру опухоли, степень выраженности кератинизации, ядерный полиморфизм, митотическую активность, лимфоплазматическую инфильтрацию стромы опухоли. Цифровая значимость всех признаков складывалась, и на основании суммы баллов давалось заключение о степени злокачественности. При сумме баллов от 8 до 16 устанавливалась I степень злокачественности (высокодифференцированный рак), 17—13 — II степень (умеренно дифференциро-

laryngeal cancer was 8.2-fold greater than that of diploid tumors ($p < 0.05$). Among mixed cancers the rate of recurrence of aneuploid tumors was also significantly higher ($p < 0.05$) as compared to diploid cancers. The group of exophytic laryngeal cancers was not taken into account due to small number of the cases.

DNA Ploidy and Morphological Degree of Differentiation of Laryngeal Cancer. Among the 55 squamous cell carcinomas with keratinization there were 25 (45.4%) diploid and 30 (54.6%) aneuploid tumors. The rate of recurrence of aneuploid laryngeal cancer with keratinization was 12.5-fold greater than that of diploid cancers. There were few diploid and aneuploid tumors among squamous cell carcinomas without keratinization. The rate of recurrence of aneuploid non-keratinizing cancers was also higher than that of diploid cancers (table 3).

Morphological characteristics of squamous cell laryngeal carcinoma have recently been in the focus of attention because degree of tumor differentiation is of significance for disease prognosis [4, 10]. We studied tumor morphological structure, keratinization degree, mitotic activity, lymphoplasmocytic infiltration of tumor stroma. Numeric values of all the parameters were summed up, and a conclusion about the tumor malignancy was drawn basing on the resultant value. Cancers with a score 8 to 16 were assigned malignancy grade I (highly differentiated cancer), cancers with 17 to 23 were assessed as grade II (moderately differentiated) and 24 to 32 as grade III (poorly differentiated). Differentiation of squamous cell carcinoma was determined with respect to the malignancy grade evaluated.

Таблица 4

Table 4

Плоидность опухолей гортани и ее связь со степенью дифференцировки
Laryngeal cancer ploidy and its relation to differentiation degree

Степень дифференцировки	Диплоидные опухоли	Анеуплоидные опухоли
I	2	2
II	13(1)	22(7)
III	3(1)	6(4)
Всего.../Total	18(2)	30(11)
Differentiation degree	Diploid tumors	Aneuploid tumors

ванный рак), 24—32 — III степень (слабодифференцированный рак). На основании оценки степени злокачественности определялась дифференцировка плоскоклеточного рака.

Степень дифференцировки плоскоклеточного рака гортани определяли в 48 случаях (табл. 4).

Высокодифференцированные опухоли гортани обнаруживались редко (4). Наиболее часто встречались умеренно дифференцированные опухоли (35). Слабодифференцированных опухолей было 9. Анеуплоидные опухоли преобладали во всех группах, различающихся по степени дифференцировки. Среди умеренно дифференцированных анеуплоидных опухолей гортани возвраты заболевания возникали в 4 раза чаще, чем среди аналогичных диплоидных (32,8 и 7,7% случаев соответственно). При слабо дифференцированных анеуплоидных опухолях возвраты заболевания обнаруживались вдвое чаще, чем среди диплоидных (66,6 и 33,3% случаев соответственно).

Таким образом, среди карцином гортани анеуплоидные опухоли встречались чаще, чем диплоидные. Независимо от стадии заболевания частота послеоперационных возвратов опухолевого процесса для анеуплоидных опухолей была значительно (в 8 раз) большей. Относительная частота возвратов заболевания среди анеуплоидных опухолей нарастала по мере прогрессирования опухолевого процесса.

Во всех изученных гистологических формах роста рака гортани (инфильтративная, смешанная) преобладали анеуплоидные опухоли. При этом частота возвратов заболевания в пределах изученных гистологических форм главным образом была связана с анеуплоидией.

При плоскоклеточном (ороговевающем и неороговевающем) раке гортани частота возвратов заболевания была выше среди анеуплоидных опухолей, чем диплоидных, и в большей степени была связана с анеуплоидией, чем со степенью дифференцировки. Как видно, возникновение возвратов заболевания и длительность безрецидивного периода в большей степени были связаны со значением плоидности ДНК опухолевых клеток, чем с гистологической формой роста опухоли и морфологической степенью дифференцировки опухоли. Поэтому анеуплоидию ДНК опухолевых клеток, по-видимому, следует рассматривать как независимый обобщенный неблагоприятный фактор в прогнозе рака гортани.

Обсуждение. Результаты проведенного исследования подтверждают роль плоидности ДНК в прогнозе рака гортани. Для ряда злокачественных новообразований уже имеются доказательства того, что плоидность ДНК является независимым прогностическим фактором. Для солидных раков яичника и молочной железы на большом

Differentiation degree of squamous cell laryngeal carcinoma was determined in 48 cases (table 4).

Highly differentiated laryngeal cancers were rare (4). The most frequent were moderately differentiated cancers (35). There were 9 poorly differentiated carcinomas. Aneuploid tumors were encountered in all degrees of differentiation. Moderately differentiated aneuploid laryngeal cancers recurred 4-fold more frequently than similar diploid tumors (32.8% vs 7.7%, respectively). The rate of recurrence of poorly differentiated aneuploid cancers was twice as great as that of diploid tumors (66.6% vs 33.3%, respectively).

Thus, aneuploid laryngeal carcinomas were encountered more frequently than diploid tumors. The rate of postoperative recurrence of aneuploid cancers was significantly (8-fold) greater. The relative rate of recurrence of aneuploid cancers was increasing with disease advance.

There was a preponderance of aneuploid tumors in all histological forms of growth studied (infiltrative, mixed). The rate of recurrence within the histological forms under study was mainly associated with aneuploidy.

Among squamous cell carcinomas the rate of recurrence of aneuploid cancers was higher than that of diploid tumors and was associated with aneuploidy rather than with differentiation grade. As is seen disease recurrence and time of disease-free survival were associated with tumor cell DNA ploidy to a greater degree than with histological form of tumor growth or morphological grade of tumor differentiation. So, aneuploidy of tumor cell DNA may be considered an independent factor of poor prognosis in laryngeal cancer.

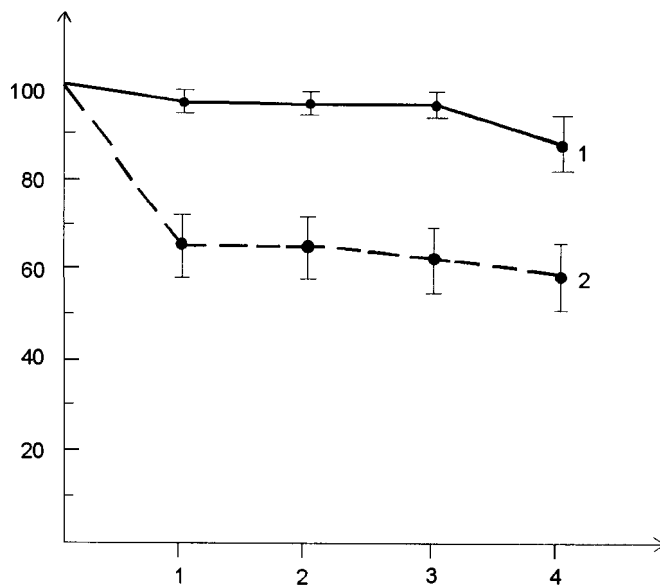


Рис. 2. Продолжительность жизни больных раком гортани в зависимости от плоидности ДНК.

1 — больные с диплоидными опухолями (n=38), 2 — с анеуплоидными опухолями (n=43).

По оси абсцисс — время наблюдения, годы; по оси ординат — частота случаев, %.

Fig. 2. Survival time in laryngeal cancer with respect to DNA ploidy.

1, diploid cancer cases (n=38); 2, aneuploid cancer cases (n=43). Numbers on the x axis show years of follow up, numbers on the y axis show percentage of cases.

материале показана зависимость между увеличением пloidности и ухудшением прогноза [2, 6, 7, 23].

Процент анеуплоидных опухолей при плоскоклеточном раке головы и шеи, по данным разных авторов, колеблется между 41—86% [9, 10, 12—15, 17, 19, 21, 22]. По нашим данным, для плоскоклеточных раков гортани он составляет 53,1%. Указанный разброс связан, по-видимому, с различными методическими приемами приготовления архивного или свежего материала, а также с использованием различной техники и способом математической обработки данных.

В литературных источниках нет единого мнения относительно значимости пloidности для исхода заболевания. Опубликованы отдельные сообщения о благоприятном прогнозе у больных, имеющих анеуплоидные опухоли при плоскоклеточном раке гортани [14, 19]. Однако в большинстве работ сообщается о плохом прогнозе при анеуплоидном плоскоклеточном раке гортани [9, 12—17, 22]. J. Kearsley и соавт. [17] наблюдали 172 больных плоскоклеточным раком головы и шеи. На основании анализа 5-летней выживаемости больных в связи с клинико-морфологическими характеристиками заболевания авторы пришли к заключению, что пloidность ДНК является независимым прогностическим фактором течения опухолевого процесса. W. Kokal и соавт. [18] на 76 случаях первичного плоскоклеточного рака головы и шеи обнаружили, что анеуплоидные формы имели очень короткие безрецидивный период и срок выживания по сравнению с диплоидными опухолями ($p=0,001$). По данным авторов [20], общая выживаемость больных с диплоидным и анеуплоидным плоскоклеточным раком гортани не различалась, но в случаях без вовлечения лимфоузлов в анеуплоидные опухоли имелся худший прогноз: 48 мес прожили 81,8% больных с диплоидным раком гортани и лишь 49,2% больных с анеуплоидными опухолями. По нашим данным, 4 года прожили 97,4% больных с диплоидными опухолями и 62,5% — с анеуплоидными (рис. 2).

Известные клинические и морфологические факторы прогноза при раке гортани коррелировали с нашими данными о пloidности изученных опухолей. Количество анеуплоидных опухолей и индекс пloidности ДНК нарастали по мере развития заболевания (степени распространенности процесса) [8, 13, 21]. Частота возвратов заболевания и гибель больных чаще преобладали среди больных с высокой степенью анеуплоидии опухоли. Анеуплоидные опухоли, дающие рецидивы и метастазы, были чаще умеренно- и слабодифференцированными [17, 24]. Гибель больных с метастазами, развившимися из анеуплоидных опухолей, происходила в течение 6—12 мес, что видно на кривой выживаемости (см. рис. 2). По данным R. Fietkau и соавт. [13], рецидивы возникали раньше (медиана 5 мес) в анеуплоидных опухолях, чем в диплоидных (медиана 11 мес). Региональные метастазы в основном наблюдали при анеуплоидных опухолях, местные рецидивы — при диплоидных опухолях гортани. По нашим данным, у больных с диплоидным раком гортани при I, II и III стадиях заболевания метастазы отсутствовали и обнаруживались в более поздние сроки — при IV стадии. В противоположность диплоидным опухолям анеуплоидные опухоли метастазировали уже во II стадии. Этот факт указывает на повышенный риск возникновения возвратов заболевания среди анеуплоидных опухолей ранних стадий. Согласно нашим результатам,

Discussion. Results of our investigation confirm the role of DNA ploidy in prognosis of laryngeal cancer. There is sufficient evidence of DNA ploidy being an independent prognostic factor for several malignant neoplasms. Correlation of increase in ploidy and worsening of disease prognosis has been established for ovarian and breast solid tumors basing on a large number of cases considered [2,6,7,23].

Percentage of aneuploid tumors among squamous cell head and neck carcinomas ranges from 41 to 86 by data of different authors [9,10,12-15,17,19,21,22]. By our studies the rate for squamous cell laryngeal carcinoma is 53.1%. The scatter of the data seems to be due to employment of different techniques for preparation of archive and fresh materials as well as to different methodologies of statistical analysis of the data.

The opinion about significance of ploidy for disease outcome as reported in the literature is equivocal. There are several reports of favorable course of disease in squamous cell laryngeal cancer with DNA aneuploidy [14,19]. However, most reports prove poor prognosis in aneuploid squamous cell laryngeal carcinoma [9,12-17,22]. J.Kearsley et al. [17] analyzed 172 cases of squamous cell carcinoma of the head and neck. Basing on analysis of the 5-year survival with respect to clinical and morphological disease characteristics the authors made the conclusion that DNA ploidy was an independent prognostic factor of tumor disease course. W.Kokal et al. [18] studied 76 primary squamous cell head and neck cancers to discover that aneuploid head and neck cancers had very short disease-free and overall survival time as compared to diploid ones ($p=0.001$). According to [20] overall survival in diploid and aneuploid squamous cell laryngeal carcinoma was similar, but among the cases without lymph node involvement aneuploid cancers had poorer prognosis: 81.8% of diploid and 49.2% of patients with aneuploid laryngeal cancers survived 48 months. According to our findings the 4-year survival in diploid cancer is 97.4% versus 62.5% in aneuploid cancer (fig.2).

Clinical and morphological prognostic factors for laryngeal cancer correlated with our data on ploidy of tumors under study. The number of aneuploid cancers and the DNA ploidy ratio were increasing with disease advance [8,13,21]. The rates of disease recurrence and mortality were greater in cases with high degree of tumor aneuploidy. Recurrent and metastatic aneuploid cancers mainly had moderate and poor differentiation [17,24]. Patients developing metastases of aneuploid cancer died within 6-12 months as is seen in the survival curve (see fig.2). According to R.Fietkau et al. [13] time of disease-free survival was shorter (median 5 mo) in aneuploid cancers than in diploid ones (median 11 mo). Regional metastases mainly developed in aneuploid cancer cases, local disease recurrence was mostly found in cases with diploid laryngeal cancers. Our findings show that there were no metastases of diploid laryngeal cancers of stages I, II and III, and in stage IV metastases developed at longer terms. While aneuploid cancers metastasized already in stage II. This is evidence of the high risk of disease recurrence in cases with early stage aneuploid cancers. We have found that DNA aneuploidy is associated with about 8-fold increase in the risk of death and disease recurrence in comparison with diploid laryngeal cancer as assessed during 4 years of follow up. These results coincide with the corresponding estimates for aneuploid breast cancer of O.-

наличие ДНК-анеуплоидии связано с почти 8-кратным риском смерти и возврата заболевания по сравнению с диплоидным раком гортани при 4-летнем сроке наблюдения. Эти результаты совпадают с риском, определенным для анеуплоидных опухолей молочной железы О.-Р. Kallioniemi и соавт. [16]. Наши результаты также подтверждают положение, что классификация пloidности соответственно значению индекса ДНК может улучшить корреляцию между пloidностью и прогнозом для некоторых групп больных [2]. По нашим данным, наибольшее число (51,6%) возвратов обнаружено среди тетраплоидных опухолей. Прогрессивное увеличение риска смерти и рецидивов у больных с тетраплоидными опухолями гортани отмечали и другие авторы [17, 19]. В случае опухолей молочной железы и легких также показано, что гипертетраплоидные и многокლოновые опухоли имели худший прогноз, чем диплоидные [8, 16]. В нашем исследовании число больных с гипертетраплоидными и многокლოновыми опухолями было недостаточным, чтобы сделать однозначное заключение. В литературе также имеются сведения о связи пloidности и чувствительности больных раком головы и шеи к химио- и лучевой терапии [11, 13]. Отмечено, что лучевая терапия может изменять популяционную структуру анеуплоидных опухолей [5]. Результаты химио- и лучевого лечения говорят о большей чувствительности анеуплоидных опухолей к терапии по сравнению с диплоидными [11, 13].

На основании наших данных не представляется возможным оценить сравнительную результативность одной лучевой или лекарственной терапии диплоидного и анеуплоидного рака гортани. Однако можно отметить, что послеоперационная лучевая терапия, направленная на предупреждение возвратов заболевания, ни существенно, ни избирательно не улучшала послеоперационного течения диплоидных и анеуплоидных новообразований. При этом для анеуплоидных опухолей сохранялся худший прогноз. Вероятно, изучение сравнительной чувствительности диплоидных и анеуплоидных опухолей к разным видам терапии следует продолжить.

В заключение необходимо еще раз подчеркнуть информативность определения пloidности ДНК в карциномах гортани для оценки прогноза заболевания и возможной индивидуализации последующего лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Двойрин В. В., Аксель Е. М., Герасименко В. Н. Сравнительный анализ состояния онкологической помощи населению России и некоторых других стран СНГ. — М., 1992. — С. 294.
2. Николаева Т. Г., Добрынин Я. В., Басов Б. Н. и др. // Вестн. ОНЦ РАМН. — 1994, № 1. С. 30—37.
3. Басов Б. Н., Добрынин Я. И., Николаева Т. Г. ГосФАП № 50890001111 от 29.09.89.
4. Матякин Е. Г., Ольховская И. Г. // Журн. ушн., нос. и горл. бол. — 1991. — № 3. — С. 36—39.
5. Ahonen A., Minn H., Joensuu H. et al // Nucl. Med. (Stuttg.). — 1987. — N 26. — P. 41.
6. Beerman H., Kluin M., Hermans J. et al // Int. J. Cancer. — 1990. — N 45. — P. 34—39.
7. Britton L., Wilson T., Gaffey T. et al // Mayo Clin. Proc. — 1990. — N 65. — P. 643—650.
8. Carey F., Lamb D., Bird C. // J. clin. Pat. — 1990. — N 43. — P. 820—823.
9. Cooke L., Cooke T., Bootz F. et al. // Brit. J. Cancer. — 1990. — Vol. 61, N 5. — P. 759—762.

P. Kallioniemi *et al.* [16]. Our results also support the supposition that ploid classification based on the DNA ratio may improve correlation of ploid and prognosis for some categories of patients [2]. We have found that the rate of recurrence is the greatest (51.6%) for tetraploid cancers. Progressive increase in the risk of death and relapse in patients with tetraploid laryngeal cancer was also demonstrated by other authors [17, 19]. Poorer prognosis for hypertetraploid and polyclonal tumors as compared with diploid ones was also proven for breast and lung cancers [8, 16]. We could not come to a certain conclusion concerning hypertetraploid and polyclonal cancers due to small number of cases considered. There are reports about relation of ploid and response to chemo- and radiotherapy in patients with head and neck cancers [11, 13]. It has been found that radiotherapy can change populational structure of aneuploid tumors [5]. Results of chemo- and radiotherapy for head and neck cancer support the supposition of greater response of aneuploid tumors as compared with diploid ones [11, 13].

Our findings do not allow us to compare results of radio- or chemotherapy alone for diploid and aneuploid laryngeal cancers. However, we may state that postoperative radiotherapy aimed to prevent disease recurrence fails to improve considerably or selectively postoperative course in cases with diploid and aneuploid neoplasms, the aneuploid cancers still having poorer prognosis. We believe that comparative study of diploid and aneuploid cancers for response to different therapeutic modalities should be continued.

In conclusion let us emphasize once more the high informative value of DNA ploid in laryngeal carcinoma for prognosis of disease course and for working out individual approach to further treatment.

10. Crissman J., Zabro P. // Arch. Otolaringol. Head Neck Surg. — 1991. — Vol. 117, N 2. — P. 182—184.
11. Ensley G., Maciorowski Z., Hassan M. et al // Proc. Ann. Meet. Amer. Ass. Cancer Res. — 1988. — N 29. — P. A105.
12. Ensley G., Maciorowski Z., Hassan M. et al. // Cytometry. — 1989. — Vol. 10, N 3. — P. 334—338.
13. Fietkau R., Langer E., Jro H. et al. // Strahlenther. Onkol. — 1989. — Vol. 165, N 1. — P. 34—42.
14. Goldsmith M., Cresson D., Arnold L. et al // Otolaringol. Head Neck. — 1987. — Vol. 96, N 4. — P. 307—317.
15. Johnson T., Williamson K., Cramer M. et al // Cytometry. — 1985. — Vol. 6, N 5. — P. 461—470.
16. Kallioniemi O.-P., Blanco G., Alaiikko M. et al. // Cancer (Philad.). — 1988. — N 62. — P. 2183—2190.
17. Kearsley J., Bryson G., Battistutta D. et al // Int. J. Cancer. — 1991. — Vol. 47, N 1. — P. 31—37.
18. Kokal W., Gardine R., Khalil S. et al. // Amer. J. Surg. — 1988. — Vol. 156, N 4. — P. 276—280.
19. Nielsen T., Caldarelli D., Hutchinson J., et al. // Second Int. Conf. Head Neck Cancer. — Boston, 1988. — P. 102.
20. Rua S., Comino A., Fruttero A. et al // Cancer (Philad.). — 1991. — Vol. 76, N 1. — P. 141—149.
21. Sakr W., Hussan M., Zarbo R. et al. // Arch. path. Lab. Med. — 1989. — Vol. 113, N 9. — P. 1009—1014.
22. Tytor M., Wingren S., Olofsson J. // Path. Res. Pract. — 1991. — Vol. 187, N 1. — P. 30—35.
23. Volm H. // Tumor diagnostic Therapie. — 1989. — N 10. — P. 229—232.
24. Zatterstrom U., Vennerberg J., Ewers S. et al // Head Neck. — 1991. — Vol. 13, N 6. — P. 477—487.