

*Е.В. ЛУКАЧ, А.Ф. КАРАСЬ, Ю.В. СЕРЕЖКО, С.П. ЧАЙКА,
П.А. ВІРИЧ, Г.А. КАРАСЬ, П.А. ВІРИЧ*

РІВЕНЬ ЦИНКУ, АКТИВНІСТЬ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ЗВ'ЯЗУВАННЯ ІНСУЛІНУ ТКАНИНАМИ ХВОРИХ НА ПЛОСКОКЛІТИННИЙ РАК ГОРТАНІ

*Державна установа «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка
Національної академії медичних наук України»
(дир. – акад. НАМН України, проф. Д.І. Заболотний)*

Плоскоклітинний рак гортані (ПКРГ) та гіпофарингеальної області є складною діагностичною та терапевтичною проблемою. Гортань відіграє центральну роль у фізіології верхнього відділу аеродигестивного тракту, регулюючи ковтання, дихання та фонацію. У зв'язку з цим, будь-які порушення функціонального стану гортані впливатимуть на мовлення, харчування, кардіореспіраторну функцію та психосоціальну діяльність [1].

Рання діагностика ПКРГ є важливим фактором для успішного лікування захворювання. За останні десятиліття дослідження ПКРГ змістилося з традиційних клініко-патологічних факторів на нові біомаркери для більш точного прогнозу канцерогенезу та визначення цільових терапевтичних стратегій [2, 3]. На сьогодні вважається, що виникнення і розвиток ПКРГ є результатом комбінованого впливу декількох факторів: тривале тютюнопаління, вживання алкоголю, інфекція вірусом папіломи людини, забруднення повітря (поліциклічні ароматичні вуглеводні, пил, азбест тощо), незбалансований раціон харчування, гастроезофагальний рефлюкс, порушення рівня статевих гормонів та генетичні фактори.

Нещодавня пандемія COVID-19 (SARS-CoV-2) призвела до глобальної кризи охорони здоров'я та має довгострокові наслідки. Потенційно вразливими категоріями громадян були пацієнти з різними за-

хворюваннями, в тому числі онкологічними. Крім того, довгострокові побічні ефекти вакцин наразі широко досліджуються [4].

Інфекція COVID-19 викликає глибокі зміни імунної системи, які зберігаються певний час після одужання. Важкість перебігу захворювання корелює з лімфопенією CD4⁺/CD8⁺ Т-клітин, підвищеними маркерами виснаження (PD-1, TIM-3) та цитокіновим штормом, що сприяє пошкодженню тканин [5]. Важливо, що ці зміни зберігаються значно довше, ніж персистенція вірусу в організмі. Протягом 8 місяців після захворювання зберігаються виснаження Т-клітин, зниження популяції клітин пам'яті, сигнатура інтерферонів (IFN- β/λ) [6]. Також знижується популяція наївних Т-клітин (T_h0) та дисфункція тимуса, що вказує на порушення імунної реконституції. Пацієнти з легким та помірним перебігом COVID-19 демонструють присутність IgG до нуклеокапсиду через 3 міс. після інфікування та високу нейтралізуючу здатність вірусу – до 8 міс. Підвищена присутність шипоспецифічних CD4⁺ Т-клітин, PD-1 та TIM-3 на CD4⁺ та CD8⁺ Т-клітинах спостерігалася через 3 та 8 міс., але ці ефекти не зберігалися через 24 міс. За цей період відбувається відновлення популяції T_h0-клітин, функціонального стану тимуса, та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів [6]. Інфекція COVID-19 може збільшити ризик розвитку раку та прискорити його прогресування через складний

ланцюжок механізмів, що включають цитокіновий шторм, гіпоксію тканин, порушення Т-клітинної відповіді, аутофагію, активацію нейтрофілів та оксидативний стрес. В комплексі ці фактори сприяють інгібуванню імунної відповіді, перешкоджають ініціації апоптозу та змінюють сигнальні механізми в пухлинному мікрооточенні, створюючи умови для росту пухлин, метастазування та рецидиву [7].

Злоякісна трансформація клітин супроводжується перепрограмуванням метаболізму відповідно до поточних потреб. Ракові клітини мають підвищену потребу в енергії та пластичних речовинах для свого швидкого росту та проліферації. Глюкоза є основним джерелом енергії. Регуляція поглинання цієї сполуки відбувається через інсулін-залежний шлях. Інсулінові рецептори (IR) та рецептори інсуліноподібних факторів росту (IGF-1R) опосередковують молекулярні шляхи злоякісної трансформації при плоскоклітинному раку голови і шиї [8]. Гіперекспресію IGF-1R пов'язують з підвищеним ризиком рецидивів та змінами чутливості до цисплатину [9, 10]. Гіперекспресія IR сприяє росту та виживанню ракових клітин [11].

Анаеробний гліколіз є переважаючим шляхом отримання енергії та розщеплення глюкози у ракових клітинах, навіть за наявності достатньої кількості кисню [12]. Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) є ключовим ензимом, що каталізує перетворення пірувату в лактат. Ензим та лактат є онкомаркерами та прогностичними індикаторами при розвитку та терапії плоскоклітинного раку (ПКР) голови та шиї [13].

Цинк є одним з найважливіших мікроелементів, що бере участь у численних клітинних процесах. Внутрішньоклітинний гомеостаз цинку регулюється мережею протеїнів родин ZIP, ZnT та MTs. Цей елемент підтримує енергетичні та біосинтетичні потреби злоякісних клітин [14]. Рівень цинку у крові корелює з активністю антиоксидантної системи та виживанням пацієнтів з ПКР голови та шиї [15]. Показник знижується в міру прогресування цього типу раку [16].

В зв'язку з викладеним вище, метою досліджень було визначити зміни маркерів

розвитку ПКРГ: активність лактатдегідрогенази, кількість інсулінових рецепторів та зміни рівнів цинку залежно від перенесеної COVID-19 інфекції та морфологічних підтипів ПКРГ.

Матеріали та методи

Було проведено морфофункціональні дослідження зразків операційного матеріалу, отриманого після планової ларингектомії у 52 пацієнтів чоловічої статі, медіанний вік яких дорівнював 63 рокам. Всі пацієнти мали діагноз плоскоклітинний рак гортані. У пацієнтів не було супутніх метаболічних чи фізіологічних розладів, не пов'язаних з ПКРГ. Гістологічно підтверджений плоскоклітинний зроговілий рак (ПЗР) встановлено у 36 хворих, незроговілий плоскоклітинний рак (ПНР) – у 16. Зразки здорової тканини гортані були вилучені у 25 хворих, прооперованих з приводу інших захворювань (контрольна група).

Всі хворі надали інформацію щодо раніше проведеної вакцинації або перенесеного Covid-19. 12 пацієнтів перенесли захворювання на Covid-19 (були інфіковані щонайменше один раз COVID-19 у період 2020-2025), 14 – вакцинувались одно- чи дворазово вакциною проти COVID-19.

Дослідження проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації і погоджені Етичною комісією Державної установи «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка Національної академії медичних наук України» (протокол № 5/23-9 від 9 листопада 2023 р.). Перед хірургічним втручанням та лікувальними заходами було отримано інформовану згоду пацієнтів.

Гістологічні зразки

Зразки видаленого операційного матеріалу з оточуючою сполучною тканиною були відібрані відразу після хірургічної резекції пухлини та поміщені у фізіологічний розчин для короткочасного транспортування. Пухлина була розрізана навпіл та заморожена при -18°C . Гістологічні зрізи товщиною 10 мкм готували на мікротомі кріостаті Microm HM525 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Для порівняльного аналізу було використано зразки епітелію гортані з прилеглою сполучною

тканиною пацієнтів без онкологічної патології. Всі маніпуляції з контрольними зразками було проведено аналогічно. Подальші дослідження тканини проведено відразу після приготування гістологічних зрізів. Для всіх зразків не проводили етап фіксації.

Рівень цинку у тканинах

Зрізи тканин фарбували 30 мкМ N-(6-метокси-8-хінолініл)-4-метилбензолсульфонамідом (TSQ, Sigma-Aldrich, Burlington, Massachusetts, USA) у фосфатно-сольовому буфері (PBS, pH=7.3, Biowest, Nuaille, France) протягом 40 хв при 37 °С. Барвник не відмивали. Флуоресценцію реєстрували на мікроскопі Olympus BX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) з люмінесцентним блоком XCite Series 120 Q та камерою Olympus DP72. Збудження флуоресценції проводили ультрафіолетовим світлофільтром (365 нм), емісію реєстрували при 470 нм. Експозиція фотографування становила 20 мс. Для кожного зразка тканини аналізували щонайменше 50 окремих ділянок однакової площі. Результати представлено у вигляді медіани та міжквартильного діапазону (Me, 25-75%).

Активність лактатдегідрогенази

Для контрастування ензиматичної реакції перетворення лактату в піруват використано нітротетразолій синій (Merck, Munich, Germany) [17]. Реакційна суміш містила 10 мл фосфатно-сольового буферу (pH = 7,4), 20 мл дистильованої води, 5 мг нікотинамідаденіндинуклеотиду, 5 мг нітротетразолію синього хлориду, 10 мкл 50% лактату натрію. Зразки тканин інкубували в суміші протягом 1 год при 37° С. Тканини промивали фізіологічним розчином, зневоднювали етиленовим спиртом, просвітлювали та заключали у канадський бальзам за стандартною методикою. Зразки досліджували на мікроскопі Olympus BX53 з камерою Olympus DP72. Гістологічні зрізи фотографували за однакових умов освітлення та експозиції. Для кожного зразка реєстрували щонайменше 20 полів зору. Різницю у забарвленні оцінювали за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.52. Дані представлено у вигляді медіани та міжквартильного діапазону (Me, 25-75%).

Зв'язування інсуліну

Було приготовано розчин 3 мкг/мл розчин FITC-інсулін людини (Sigma-Aldrich) у фосфатно-сольовому буфері (pH = 7,3, Biowest). Зрізи інкубували 90 хв при 37° С. Зразки відмивались фізіологічним розчином 30 с. Флуоресценція досліджувалась на мікроскопі Olympus BX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) з люмінесцентним блоком XCite Series 120 Q та камерою Olympus DP72. Збудження проводили синім світлофільтром (490 нм), емісію реєстрували при 520 нм (зелений світлофільтр). Експозиція фотографування становила 20 мс. Обробку зображень проводили за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.52. Для кожного зразка тканини аналізували щонайменше 50 ділянок однакової площі. Результати представлено у вигляді медіани та міжквартильного діапазону (Me, 25-75%).

Обробка зображень

Зображення гістологічних зрізів, після відповідного фарбування, були отримані за однакових умов для кожного варіанту. Програмне забезпечення ImageJ 1.52 було відкалібровано відповідно до масштабної шкали серії зображень. Для вимірювання активності ЛДГ була використана кругла область площею 3120 мкм², цинку та інсуліну – 1440 мкм². Вимірювали інтегральну щільність яскравості щонайменше 50 різних ділянок тканин для кожного варіанту. Була оцінена інтенсивність забарвлення як безпосередньо ракового епітелію та пухлиноасоційованої сполучної тканини (строми). Контрольні зразки епітелію та сполучної тканини гортані контрольної групи оцінювались аналогічно. Для нормування яскравості фонові люмінесценції та трансмісійного освітлення зразків вимірювали порожні ділянки предметного скла. Розраховували медіанну яскравість фону. Яскравість люмінесценції відповідала показникам рівня цинку та кількості зв'язаного інсуліну по принципу: вищі значення інтегральної щільності – вищі рівні відповідного індикатора. Від показників медіани яскравості віднімали фонові значення. Для уніфікації отриманих значень розраховували відношення між яскравістю ракового епітелію та строною пухлини, а також яскравістю не-

злоякісного епітелію і незапаленої сполучної тканини під ним. Така техніка дозволяє уніфікувати показники, нівелювати індивідуальні особливості пацієнтів та незначні відмінності техніки фарбування.

Рівні активності ЛДГ мали зворотну залежність: вищі показники інтегральної щільності – нижча активність ЛДГ. Враховуючи ці особливості, від медіанних значень фонові яскравості віднімали медіанні показники забарвлення тканин нітротетразолієм синім. Проводили розрахунки відношення медіани забарвлення зразків епітелію та стромі пухлини основної групи, а також епітелію і сполучної тканини під ним контрольної групи.

Статистична обробка даних

Статистичну обробку даних проведено тестами Краскела-Уолліса та Данна для порівняння непараметричних даних. Результати представлено у вигляді медіани та міжквартильного інтервалу (Me, 25-75%). Статистично достовірною різницю вважали при показниках $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Рівень цинку у тканинах

Дослідження демонструють взаємозв'язок між дефіцитом цинку, виникненням раку та прогнозом деяких типів раку голови та шиї. Виявлено негативну кореляцію між прогресуванням езофагеальної плоскоклітинної карциноми та дефіцитом цинку [18]. Порівняння рівнів цинку у сироватці крові у регіонах з високим та низьким рівнем захворюваності на езофагеальний рак виявлено нижчі рівні цинку у регіонах з підвищеним ризиком виникнення цього типу раку. Дослідження вмісту мікроелементів безпосередньо в пухлині плоскоклітинної карциноми голови і шиї показали підвищений вміст цинку, купруму, феруму, кобальту та ін. [19]. Проте така техніка не показує розподілу мікроелементу між строною та раковим епітелієм. Модифікація мікрооточення ракового епітелію забезпечується секрецією біологічно активних сполук, деградацією тканин, окисним стресом тощо. Активну участь у цих процесах приймають цинк-залежні регуляторні протеїни та ензими, в тому числі металопротеїна-

зи, цинкові пальці, глікопротеїни, папіломавірус-асоційовані протеїни тощо.

Проведено дослідження оцінки відносного рівня цинку у епітелії ПКР гортані, стромі пухлини основної групи та епітелію гортані та сполучної тканини гортані під ним контрольної групи. Вміст цинку у епітеліальній тканині основної та контрольної груп був значно вищим, ніж у сполучній тканині, що пов'язано з високим рівнем метаболізму, вищою щільністю клітин епітелію порівняно з фібробластами сполучної тканини та значною кількістю сполучнотканинних волокон (колагену). Статистично достовірної різниці між показниками основної та контрольної груп не виявлено (рис. 1).

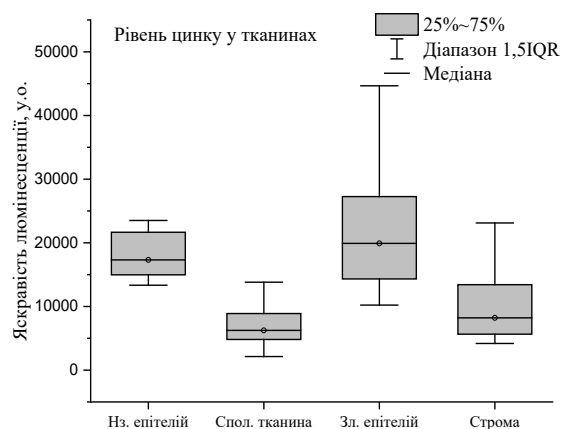


Рис. 1. Рівень цинку у незлоякісному епітелії (Нз. епітелій), прилягаючій сполучній тканині (спол. тканина), злоякісному епітелії плоскоклітинної карциноми гортані (Зл. епітелій) та стромі пухлини (строма). Тест Краскела-Уолліса, $*p < 0,05$ при порівнянні основна група – контрольна група, сполучна тканина – строма; Медіана, 25%-75%, $n = 35$.

Варто відмітити, що дисперсія яскравості люмінесценції злоякісного епітелію значно вища, що вказує на вищу гетерогенність тканини за вмістом цинку. Відмінностей рівнів цинку у сполучній тканині та стромі пухлини не виявлено. Як і для злоякісного епітелію, виявлено значну гетерогенність люмінесценції стромі, хоча медіанна яскравість флуоресценції залишається на одному рівні зі здоровою сполучною тканиною. Таким чином, узагальнені дані рівнів цинку у злоякісному епітелії ПКР

гортані та стромі пухлини не відрізняються від незлоякісного епітелію гортані та здорової сполучної тканини.

Флуоресцентні зображення здорових тканин та пухлини ПКР гортані представлено на рис. 2.

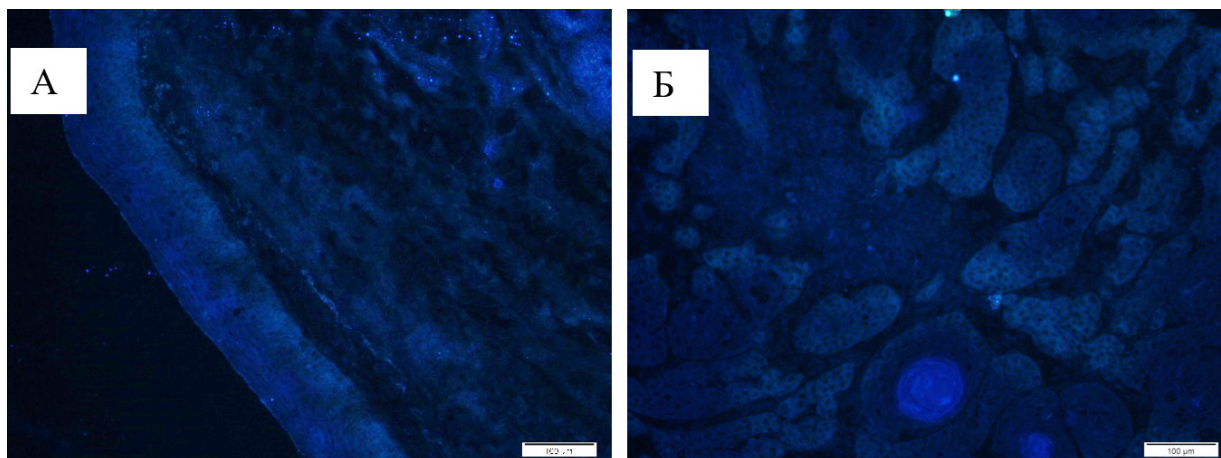


Рис. 2. Рівень цинку в здорових тканинах (А) і ПКР гортані (Б). Фарбування 30 мкМ N-(6-метокси-8-хінолініл)-4-метилбензолсульфонамідом. Масштабна шкала 100 мкм.

Рівень цинку по висоті незлоякісного епітелію відрізняється. Базальний та прилягаючий до нього проміжний шар епітелію містить більше цинку ніж проміжний та поверхневий (плоский) шар. Це пов'язано з вищою метаболічною активністю базального шару, і відповідно, вищими потребами у цинку. Сполучна тканина під епітелієм має певну гетерогенність люмінесценції порівняно з епітелієм, що, ймовірно, пов'язано з меншою присутністю клітин та великою кількістю міжклітинного матриксу. Зважаючи, що цинк в переважній більшості не перебуває у вільній катіонній формі, а зв'язаний з протеїнами, можна припустити, що гетерогенність пов'язана з невпорядкованістю пухкої сполучної тканини.

Злоякісний епітелій має нерівномірний розподіл цинку. Рівень цинку у центральній його частині менший порівняно з периферичною. По аналогії з незлоякісним епітелієм, клітини периферичної частини злоякісного епітелію мають підвищену потреби у цинку через активні метаболічні та ростові процеси, а також механізми, пов'язані з секрецією ензимів та біологічно активних молекул [20]. Строма ПКРГ має рівень люмінесценції аналогічний здоровій сполучної тканини, проте цей показник є

індивідуальним та відрізняється для різних пацієнтів та від розвитку запалення навколо пухлини. Для нівеляції індивідуальних особливостей, дієти, метаболічних відхилень для кожного пацієнта було розраховано відношення яскравості люмінесценції незлоякісний епітелій/здорова сполучна тканина та злоякісний епітелій/строма.

Для визначення залежності цього показника від захворюваності COVID-19 пацієнтів було розподілено на 3 групи: контрольну (не хворіли на COVID-19), вакцинація (були вакциновані щонайменше 1 дозою вакцини проти COVID-19), COVID-19 (були інфіковані щонайменше 1 раз COVID-19 у період 2020-2025). Не виявлено статистично достовірної різниці вмісту цинку у тканинах ПКРГ у пацієнтів після вакцинації проти COVID-19 та перенесеного захворювання (рис. 3).

Плоскоклітинний рак гортані поділяють на зроговілу та незроговілу форму. Класифікація базується на формуванні раковим епітелієм кератинових «перлин», які ідентифікуються на гістологічних зрізах. Зроговілий підтип пов'язують з тютюнопалінням та вживанням алкоголю, а незроговілий – з вірусом папіломи людини [21]. Виявлено статистично достовірні відмінно-

сті вмісту цинку у пухлинах незроговілою формою ПКРГ відносно контрольних зразків тканин (рис. 4).

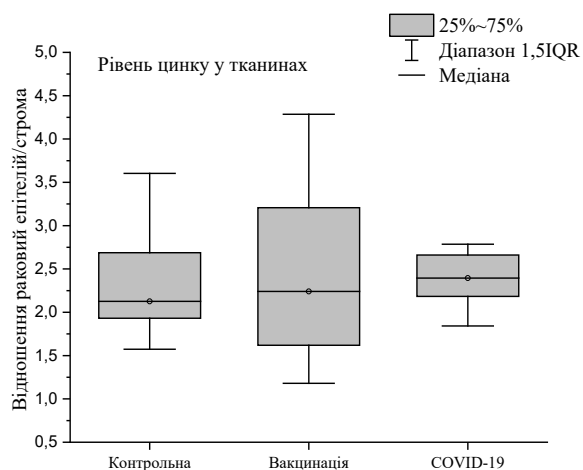


Рис. 3. Відношення рівнів цинку злоякісний епітелій/строма у пацієнтів з ПКР гортані, що не хворіли COVID-19 (контрольна), отримали вакцинацію (вакцинація) та хворіли COVID-19 (COVID-19). Тест Краскела-Уолліса, $*p < 0,05$ відносно контролю; Медіана $\pm$ 25%-75%, $n = 27$.

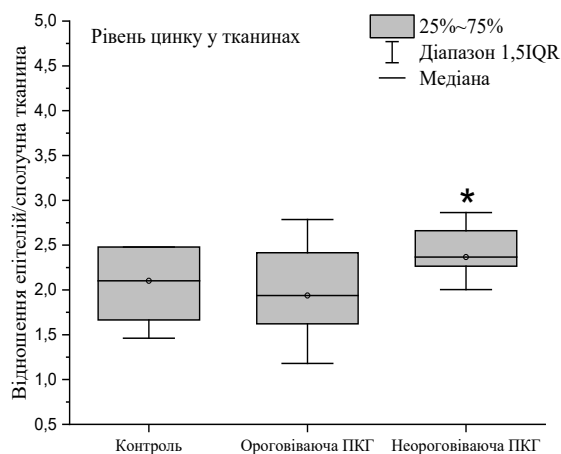


Рис. 4. Відношення рівнів цинку епітелій/сполучна тканина у пацієнтів з ПЗР та ПНР гортані. Контроль: відношення епітелій/сполучна тканина. Тест Краскела-Уолліса, $*p < 0,05$ відносно контролю; Медіана $\pm$ 25%-75%, $n = 27$.

Зважаючи, що медіанна яскравість епітелію пацієнтів контрольної групи і епітелію плоскоклітинного зроговілого та незроговілого раку гортані однакова, відношення збільшується за рахунок зниження

вмісту цинку у стромі пухлини. Проте цей показник потребує підтвердження після збільшення розмірів вибірки.

Отже, рівень цинку у пухлинах ПКРГ не залежить від вакцинації та перенесеного COVID-19. Показники вмісту цинку у епітелії хворих на ПКРГ статистично не відрізняються від епітелію осіб контрольної групи, але у сполучній тканині незроговілого ПКРГ мають тенденцію до зниження, що потребує додаткового підтвердження.

Активність лактатдегідрогенази

Лактатдегідрогеназа відіграє важливу роль у прогресуванні раку. Для ПКРГ голови і шиї ідентифіковано дві ізоформи цього ензиму – А і В, які є одними з маркерів побудови прогностичних моделей та виживаності пацієнтів [22, 23]. При руйнуванні ракових клітин, їх вміст потрапляє у міжклітинний простір, строму, кров та слину. У зв'язку з цим, рівень ЛДГ у слині та крові також слугує індикатором злоякісної трансформації клітин [24].

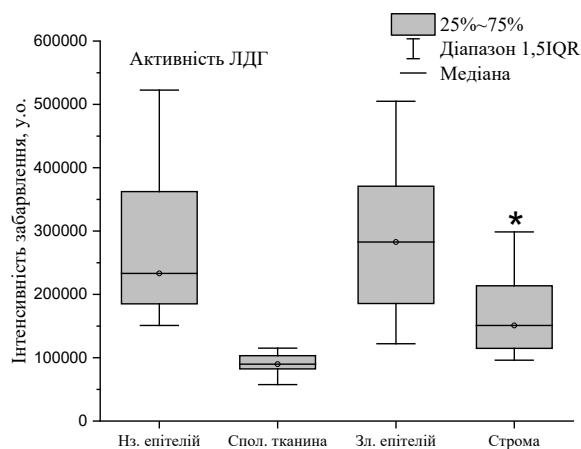


Рис. 5. Рівень активності лактатдегідрогенази у незлоякісному епітелії (Нз. епітелій), прилягаючій сполучній тканині (спол. тканина), злоякісному епітелії плоскоклітинної карциноми гортані (Зл. епітелій) та стромі пухлини (строма). Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ при порівнянні злоякісний епітелій – незлоякісний епітелій, сполучна тканина – строма; Медіана, 25%-75%, $n = 35$.

Проведено дослідження рівнів активності ЛДГ у тканинах епітелію хворих на ПКРГ, стромі пухлини, а також епітелію

гортані та сполучної тканини під ним осіб контрольної групи. Оцінку проводили за окисно-відновною реакцією ензиматичного перетворення лактату у піруват за присутності НАД⁺ та нітротетразолію синього. Тривалість та умови інкубації всіх зразків тканини були однаковими. Інтенсивність забарвлення розраховувалась з урахуванням фонового освітлення гістологічних препаратів. Медіанна інтенсивність забарвлення злоякісного епітелію та незлоякісного епітелію не відрізнялася (рис. 5).

Виявлено статистично достовірне збільшення активності ЛДГ у стромі пухлини ПКРГ відносно здорової сполучної тканини. На гістологічних зображеннях контрольних зразків можна ідентифікувати інтенсивно забарвлений епітелій та практично незабарвлену сполучну тканину з поодинокими клітинами веретеноподібної морфології (фібробласти) та неправильної форми (рис. 6). Активність ЛДГ у міжклітинному матриксі здорової сполучної тканини не виявляється.

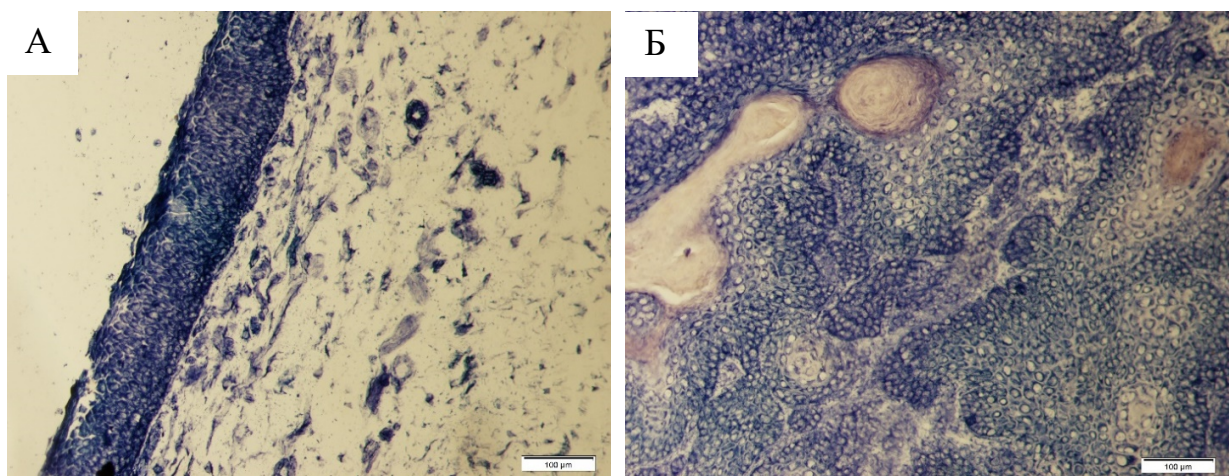


Рис. 6. Рівень активності лактатдегідрогенази в здорових тканинах (А) і ПКРГ гортані (Б). Фарбування нітротетразолій синій. Масштабна шкала 100 мкм.

Епітелій хворих на ПКРГ має незначну гетерогенність активності ЛДГ. Клітини периферичної частини мають дещо вищу активність цього ензиму порівняно з центральними областями. Сполучна тканина стромі пухлин ПКРГ також показує високу активність ЛДГ, хоча вона дещо нижча порівняно зі злоякісним епітелієм, але значно перевищує показники здорової сполучної тканини. Враховуючи результати, активність ЛДГ злоякісного та незлоякісного епітелію не відрізняється, але за рахунок екскреції та руйнування клітин ПКРГ, відбувається збільшення активності ензиму у сполучній тканині стромі. Звідси ЛДГ може дифундувати у оточуючі пухлину тканини, потрапляти у кров та слину, що забезпечує її ідентифікацію у цих рідинах як маркера онкогенезу [13].

Не виявлено статистично достовірних відмінностей активності ЛДГ у пацієнтів, що отримали вакцинацію проти COVID-19, та тих, що перенесли захворювання (рис. 7).

Виявлено статистично достовірне зниження відношення активності ЛДГ епітелій/строма у пацієнтів зі зроговілою та незроговілою формами ПКРГ (рис. 8).

Відношення знижується за рахунок підвищення активності ЛДГ у стромі пухлини, яке було описано раніше. Відмінностей цього показника між ороговілим та незроговілим ПКРГ не виявлено.

Отже, активність ЛДГ у пухлинах ПКРГ не залежить від вакцинації та перенесеного COVID-19. Показники активності ЛДГ у злоякісному епітелії ПКРГ статистично не відрізняються від незлоякісного епітелію, але у стромі активність ЛДГ значно

вища порівняно із здоровою сполучною тканиною. Суттєвих відмінностей активності ЛДГ у епітелії хворих на ПКРГ (зроговілого та незроговілого), а також стромі цих підтипів пухлин не виявлено.

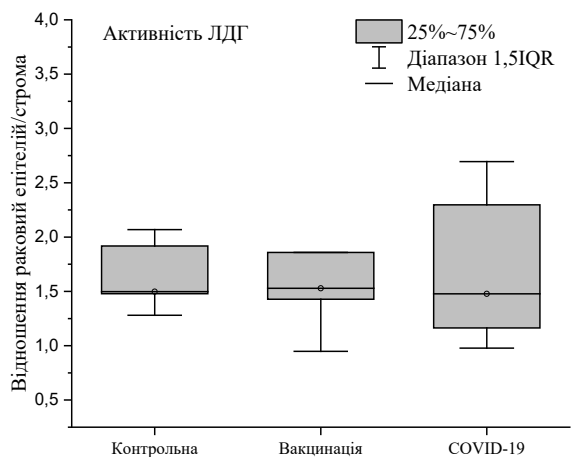


Рис. 7. Відношення активності лактатдегідрогенази злоякісний епітелій/строма у пацієнтів з плоскоклітинною карциномою гортані, що не хворіли COVID-19 (контрольна), отримали вакцинацію (вакцинація) та хворіли COVID-19 (COVID-19). Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ відносно контролю; Медіана, 25%-75%, $n = 27$.

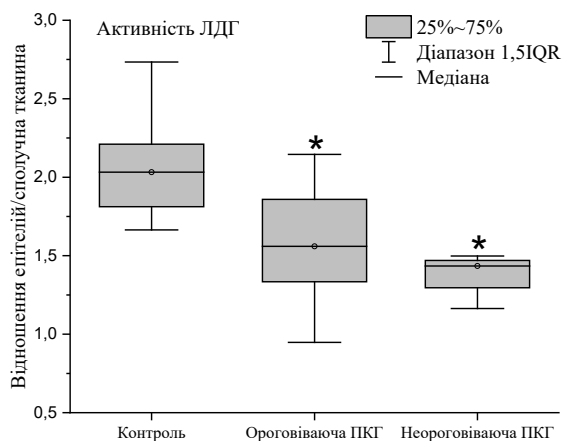


Рис. 8. Відношення активності ЛДГ епітелій/сполучна тканина у пацієнтів з ороговілим та незроговілим ПКРГ. Контроль: відношення епітелій/сполучна тканина. Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ відносно контролю; Медіана, 25%-75%, $n = 27$.

Зв'язування інсуліну

Інсулін та інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) – це два пов'язані гормони, що регулюють різні аспекти росту та мета-

болізму. Інсулін секретується β -клітинами підшлункової залози пропорційно рівню глюкози в крові. Пептид сприяє поглинанню глюкози інсулін-чутливими клітинами [25]. IGF-1 продукують переважно клітини печінки у відповідь на сигнали гормону росту. Крім основної функції, IGF-1 може регулювати апоптоз, клітинний метаболізм, старіння та запалення [26]. Як і гормони, їх рецептори мають структурну подібність та здатні зв'язувати ліганди один одного, хоча і з меншою афінністю. Крім того, їх протеїнові ланцюги можуть гетеродимеризуватися, утворюючи гібридний рецептор, з яким обидва гормони можуть зв'язуватися, хоча IGF-1 має вищу спорідненість. Відмінності у внутрішньоклітинних шляхах сигналіngu цих рецепторів забезпечують формування унікальної клітинної відповіді [26]. Обидва рецептори та їх ліганди залучені у розвиток, прогресію злоякісних новоутворень та перепрограмування метаболізму клітин [27, 28].

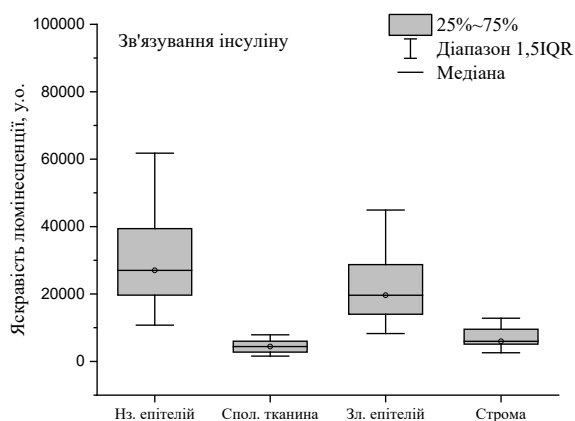


Рис. 9. Зв'язування інсуліну незлоякісним епітелієм (Нз. епітелій), прилягаючою сполучною тканиною (спол. тканина), злоякісним епітелієм ПКРГ (Зл. епітелій) та стромою пухлини (строма). Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ при порівнянні злоякісний епітелій – незлоякісний епітелій, сполучна тканина – строма; Медіана, 25%-75%, $n = 16$.

Кількість інсулінових рецепторів на поверхні клітин залежить від поточних потреб клітин у глюкозі. Одночасно спостерігається гіперекспресія транспортерів глюкози (GLUT-1)]. Зважаючи на такі особливості, зв'язування інсуліну тканинами є індикато-

ром рівня присутності головним чином інсулінових рецепторів, та меншою мірою IGF-1R, які є індикаторами метаболічної активності клітин.

Ідентифіковано значну різницю у зв'язуванні інсуліну епітелієм та прилягаючою здоровою сполучною тканиною контрольних зразків (рис. 9).

Медіанна флуоресценція злоякісного епітелію ПКРГ не відрізнялася від показни-

ків незлоякісного епітелію. Статистично достовірної різниці у зв'язуванні інсуліну тканинами строми пухлин та здоровою сполучною тканиною не виявлено. Зв'язування інсуліну незлоякісним епітелієм було однаковим по всій висоті. Не ідентифіковано значної гетерогенності чи ділянок з відмінними показниками флуоресценції (рис. 10А).

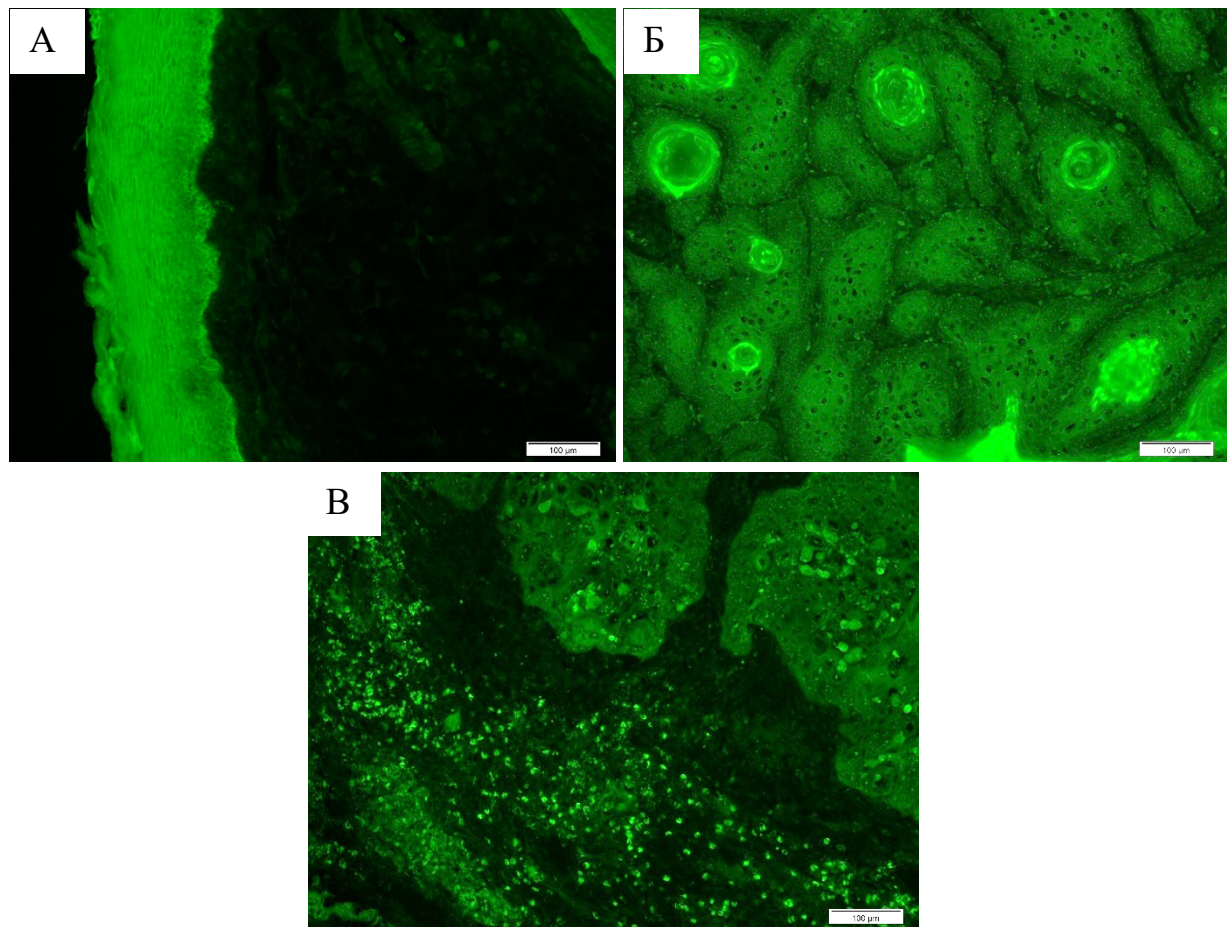


Рис. 10. Зв'язування інсуліну здоровими тканинами (А), тканинами ПКРГ (Б) та оточуючими пухлину тканинами (В). Фарбування 3 мкг/мл FITC-інсулін. Масштабна шкала 100 мкм.

У прилягаючій сполучній тканині не виявлено метаболічно активних клітин порівняно з епітелієм. Раковий епітелій демонстрував рівномірне зв'язування інсуліну. Проте деякі зразки демонстрували гетерогенність флуоресценції та підвищену афінність до інсуліну окремими раковими клітинами (рис. 10Б, В). Строма містила поодинокі клітини неправильної форми з

яскравою люмінесценцією. Сполучна тканина, яка оточує пухлину, мала велику кількість клітин із значною присутністю рецепторів зв'язування інсуліну (рис. 10В).

Не виявлено статистично достовірних відмінностей зв'язування інсуліну тканинами ПКРГ у пацієнтів, що отримали вакцинацію проти COVID-19 чи перенесли захворювання (рис. 11).

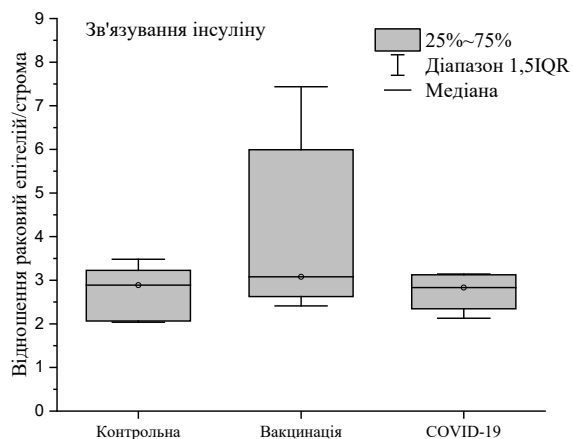


Рис. 11. Відношення зв'язування інсуліну злоякісним епітелієм/стромою у пацієнтів з плоскоклітинною карциномою гортані, що не хворіли COVID-19 (контрольна), отримали вакцинацію (вакцинація) та хворіли COVID-19 (COVID-19). Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ відносно контролю; Медіана, 25%-75%, $n = 16$.

Не виявлено статистично достовірних відмінностей відношення зв'язування інсуліну злоякісним епітелієм/стромою у пацієнтів з ПЗР та ПНР гортані (рис. 12).

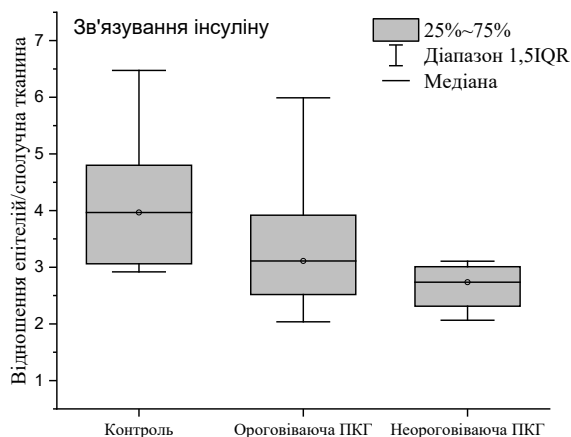


Рис. 12. Відношення зв'язування інсуліну у пацієнтів з ПЗР та ПНР гортані (злоякісний епітелій/строма). Контроль: відношення незлоякісний епітелій/сполучна тканина. Тест Краскела-Уолліса, $p < 0,05$ відносно контролю; Медіана, 25%-75%, $n = 16$.

Зареєстровано тенденцію зниження цього показника для незроговілого ПКРГ, але для підтвердження результатів необхідно збільшити вибірку пацієнтів.

Таким чином, рівень зв'язування інсуліну незлоякісним та злоякісним епітелієм не відрізняється, а отже метаболічні шляхи, пов'язані з цим лігандом, працюють на однаковому рівні. У стромі та в тканинах навколо пухлини виявлено поодинокі або скупчення клітин, які мають значну присутність на своїй поверхні інсулін-зв'язуючих рецепторів, що свідчить про їх високий рівень метаболізму. Захворювання та вакцинація COVID-19 не впливають на показники афінності ракових тканин до інсуліну.

Висновки

Рівень цинку, активність лактатдегідрогенази та зв'язування інсуліну у пухлинах плоскоклітинного раку гортані не залежать від вакцинації та перенесеного COVID-19. Показники вмісту цинку у злоякісному епітелії ПКРГ статистично не відрізняються від незлоякісного епітелію, але у сполучній тканині незроговілого ПКРГ мають тенденцію до зниження, що потребує додаткового підтвердження. Показники активності ЛДГ у злоякісному епітелії ПКРГ не відрізняються від незлоякісного епітелію, але у стромі ПКРГ активність ЛДГ значно вища порівняно зі здоровою сполучною тканиною. Суттєвих відмінностей активності ЛДГ у злоякісному епітелії зроговілого та незроговілого ПКРГ, а також стромі цих підтипів пухлин не виявлено. Рівень зв'язування інсуліну незлоякісним та злоякісним епітелієм не відрізняється, а отже метаболічні шляхи, пов'язані з цим лігандом, працюють на однаковому рівні. У стромі та в тканинах навколо пухлини виявлено поодинокі або скупчення клітин, які мають значну присутність на своїй поверхні інсулін-зв'язуючих рецепторів, що свідчить про їх високий рівень метаболізму.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Усі обстежені пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні та оприлюднення його результатів.

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використо-

ували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані дані обстежень. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Інформація про фінансування

Це дослідження не отримувало зовнішнього фінансування.

References

1. Dirix P, Abbeel S, Vanstraelen B, Hermans R, Nuyts S. Dysphagia after chemoradiotherapy for head-and-neck squamous cell carcinoma: dose-effect relationships for the swallowing structures. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;75(2):385-392. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.11.041.
2. Perisanidis C, Kornek G, Pöschl PW, Holzinger D, Pirklbauer K, Schopper C, Ewers R. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent marker of poor disease-specific survival in patients with oral cancer. *Med Oncol.* 2013;30(1):334. doi: 10.1007/s12032-012-0334-5.
3. Marioni G, Ottaviano G, Lovato A, Franz L, Bandolin L, Contro G, Giacomelli L, Alessandrini L, Stramare R, de Filippis C, Blandamura S. Expression of maspin tumor suppressor and mTOR in laryngeal carcinoma. *Am J Otolaryngol.* 2020;41(1):102322. doi: 10.1016/j.amjoto.2019.102322.
4. Scholkmann F, May CA. COVID-19, post-acute COVID-19 syndrome (PACS, "long COVID") and post-COVID-19 vaccination syndrome (PCVS, "post-COVIDvac-syndrome"): Similarities and differences. *Pathol Res Pract.* 2023;246:154497. doi: 10.1016/j.prp.2023.154497.
5. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Möller R, Jordan TX, Oishi K, Panis M, Sachs D, Wang TT, Schwartz RE, Lim JK, Albrecht RA, tenOever BR. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell.* 2020;181(5):1036-1045.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026.
6. Phetsouphanh C, Jacka B, Ballouz S, et al. Improvement of immune dysregulation in individuals with long COVID at 24-months following SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2024;15(1):3315. Published 2024 Apr 17. doi: 10.1038/s41467-024-47720-8.
7. Tyagi S, Tyagi N, Singh A, Gautam A, Singh A, Jindal S, Singh RP, Chaturvedi R, Kushwaha HR. Linking COVID-19 and cancer: Underlying mech-

- anism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2025;1871(1):167563. doi: 10.1016/j.bbadis.2024.167563.
8. Meyer F, Samson E, Douville P, Duchesne T, Liu G, Bairati I. Serum prognostic markers in head and neck cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(3):1008-1015. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2014.
9. Mountzios G, Kostopoulos I, Kotoula V, Sfakianaki I, Fountzilias E, Markou K, Karasmanis I, Leva S, Angouridakis N, Vlachtsis K, Nikolaou A, Konstantinidis I, Fountzilias G. Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) expression and survival in operable squamous-cell laryngeal cancer. *PLoS One*. 2013;8(1):e54048. doi: 10.1371/journal.pone.0054048.
10. Khalil A, Jameson MJ. Downregulation of IGF1R Expression Inhibits Growth and Enhances Cisplatin Sensitivity of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cells In Vitro. *Horm Cancer*. 2019;10(1):11-23. doi: 10.1007/s12672-018-0352-7.
11. Vigneri R, Goldfine ID, Frittitta L. Insulin, insulin receptors, and cancer. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(12):1365-1376. doi: 10.1007/s40618-016-0508-7.
12. Zhou D, Duan Z, Li Z, Ge F, Wei R, Kong L. The significance of glycolysis in tumor progression and its relationship with the tumor microenvironment. *Front Pharmacol*. 2022;13:1091779. Published 2022 Dec 14. doi: 10.3389/fphar.2022.1091779.
13. Abedi N, Maleki L, Tarrahi MJ, Khalesi S. Evaluation of changes in Salivary Lactate Dehydrogenase Level for detection of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis Study. *Int J Prev Med*. 2023;14:50. Published 2023 Apr 26. doi: 10.4103/ijpvm.ijpvm_452_21.
14. Chen B, Yu P, Chan WN, Xie F, Zhang Y, Liang L, Leung KT, Lo KW, Yu J, Tse GMK, Kang W, To KF. Cellular zinc metabolism and zinc signaling: from biological functions to diseases and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):6. Published 2024 Jan 3. doi: 10.1038/s41392-023-01679-y.
15. Lubiński J, Jaworowska E, Derkacz R, Marciniak W, Białkowska K, Baszuk P, Scott RJ, Lubiński JA. Survival of Laryngeal Cancer Patients Depending on Zinc Serum Level and Oxidative Stress Genotypes. *Biomolecules*. 2021;11(6):865. Published 2021 Jun 10. doi:10.3390/biom11060865
16. Büntzel J, Bruns F, Glatzel M, Garayev A, Mücke R, Kisters K, Schäfer U, Schönekaes K, Micke O. Zinc concentrations in serum during head and neck cancer progression. *Anticancer Res*. 2007;27(4A):1941-1943.
17. Jelinek D, Flores A, Uebelhoer M, Pasque V, Plath K, Iruela-Arispe ML, Christofk HR, Lowry WE, Collier HA. Mapping Metabolism: Monitoring Lactate Dehydrogenase Activity Directly in Tissue. *J Vis Exp*. 2018;(136):57760. Published 2018 Jun 21. doi: 10.3791/57760.
18. Hashemian M, Poustchi H, Abnet CC, Boffetta P, Dawsey SM, Brennan PJ, Pharoah P, Etemadi A, Kamangar F, Sharafkhah M, Hekmatdoost A, Malekzadeh R. Dietary intake of minerals and risk of esophageal squamous cell carcinoma: results from the Golestan Cohort Study. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(1):102-108. doi: 10.3945/ajcn.115.107847.
19. Dobrowolski R, Klatka J, Brodnjak-Voncina D, Trojanowska A, Myśliwiec D, Ostrowski J, Remer M. Chemometric methods for studying the relationships between trace elements in laryngeal cancer and healthy tissues. *Biol Trace Elem Res*. 2014;159(1-3):107-114. doi: 10.1007/s12011-014-0013-9.
20. Yao G, Wang Z, Xie R, Zhanghuang C, Yan B. Trace element zinc metabolism and its relation to tumors. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024;15:1457943. doi: 10.3389/fendo.2024.1457943.
21. Chernock RD. Morphologic features of conventional squamous cell carcinoma of the oropharynx: 'keratinizing' and 'nonkeratinizing' histologic types as the basis for a consistent classification system. *Head Neck Pathol*. 2012;6 Suppl 1(Suppl 1):S41-S47. doi: 10.1007/s12105-012-0373-4.
22. Xu X, Pan X, Fan Z, Xia J, Ren X. Lactate dehydrogenase B as a metabolism-related marker for immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Cell Signal*. 2024;120:111200. doi: 10.1016/j.cellsig.2024.111200.
23. Bagué S, León X, Terra X, Lejeune M, Camacho M, Avilés-Jurado FX. Prognostic capacity of the transcriptional expression of lactate dehydrogenase A in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2022;44(11):2505-2512. doi: 10.1002/hed.27161.
24. López-Pintor RM, González-Serrano J, Vallina C, Ivaylova Serkedzhieva K, Virto L, Nuevo P, Caponio VCA, Iniesta M, Rodríguez Santamarta T, Lequerica Fernández P, Iglesias Velázquez Ó, Hernández G, de Vicente JC. Factors influencing salivary lactate dehydrogenase levels in oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. *Front Oral Health*. 2025;5:1525936. Published 2025 Jan 7. doi: 10.3389/froh.2024.1525936.
25. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*. 2018;98(4):2133-2223. doi: 10.1152/physrev.00063.2017.
26. Kiernan K, Alwarawrah Y, Nichols AG, Danzaki K, MacIver NJ. Insulin and IGF-1 have both overlapping and distinct effects on CD4⁺ T cell mitochondria, metabolism, and function. *Sci Rep*. 2024;14(1):4331. doi: 10.1038/s41598-024-54836-w.
27. Fanti M, Longo VD. Nutrition, GH/IGF-1 signaling, and cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2024;31(11):e230048. Published 2024 Oct 7. doi: 10.1530/ERC-23-0048.

28. Le TKC, Dao XD, Nguyen DV, Luu DH, Bui TMH, Le TH, Nguyen HT, Le TN, Hosaka T, Nguyen TTT. Insulin signaling and its applica-

tion. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1226655. Published 2023 Aug 17. doi: 10.3389/fendo.2023.1226655.

Надійшла до редакції 20.02.2026

© Е.В. Лукач, А.Ф. Карась, Ю.В. Серезко, С.П. Чайка, П.А. Вірич, Г.А. Карась, П.А. Вірич, 2026

РІВЕНЬ ЦИНКУ, АКТИВНІСТЬ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ЗВ'ЯЗУВАННЯ ІНСУЛІНУ ТКАНИНАМИ ХВОРИХ НА ПЛОСКОКЛІТИННИЙ РАК ГОРТАНІ

Лукач ЕВ, Карась АФ, Серезко ЮВ, Чайка СП, Вірич ПА, Карась ГА, Вірич ПА

Державна установа «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка

Національної академії медичних наук України»

Email: erwin@lukach.org

А н о т а ц і я

Актуальність: Плоскоклітинний рак гортані (ПКРГ) та гіпофарингеальної області є складною діагностичною та терапевтичною проблемою. Рання діагностика ПКРГ та виявлення механізмів його розвитку є важливими факторами для успішного лікування захворювання. Нещодавня COVID-19 (SARS-CoV-2) пандемія призвела до глобальної кризи охорони здоров'я та має довгострокові наслідки. Потенційно вразливими категоріями громадян були пацієнти з різними захворюваннями, в тому числі онкологічними.

Мета: Визначити зміни маркерів розвитку ПКРГ: активність лактатдегідрогенази, кількість інсулінових рецепторів та зміни рівнів цинку залежно від перенесеної COVID-19 інфекції та морфологічних підтипів ПКРГ.

Матеріали та методи: Досліджено зразки тканини гортані 52 пацієнтів з діагнозом плоскоклітинний рак гортані. Тканини відібрано відразу після хірургічної резекції пухлини. Готували гістологічні зрізи (товщиною 10 мкм) на мікротомі-кріостаті та фарбували N-(6-метокси-8-хінолініл)-4-метилбензолсульфонамідом для визначення рівнів цинку, FITC-інсулін для оцінки зв'язування інсуліну та проводили каталітичну ідентифікацію лактатдегідрогеназної (ЛДГ) активності у середовищі лактату, НАД⁺ та нітротетразолію синього для контрастування ензиматичної реакції. Контролем слугували 25 зразків гортані пацієнтів, прооперованих з приводу інших захворювань.

Результати та обговорення: Узагальнені дані рівнів цинку у злоякісному епітелії ПКРГ та стромі пухлини не відрізняються від незлоякісного епітелію гортані та здорової сполучної тканини. Виявлено збільшення вмісту цинку та активності ЛДГ у пухлинах незроговілого ПКРГ відносно незлоякісного епітелію гортані та сполучної тканини під ним. Виявлено збільшення активності ЛДГ у стромі пухлини ПКРГ відносно здорової сполучної тканини. Виявлено зниження відношення активності ЛДГ злоякісний епітелій/строма у пацієнтів зі зроговілим та незроговілим ПКРГ. Зв'язування інсуліну тканинами злоякісного епітелію ПКРГ не відрізнялося від показників незлоякісного епітелію. Статистично достовірної різниці у зв'язуванні інсуліну тканинами стромі пухлин та здоровою сполучною тканиною не виявлено. Сполучна тканина, яка оточує пухлину, мала велику кількість клітин із значною присутністю рецепторів зв'язування інсуліну. Вплив перенесеного COVID-19 та вакцинації на рівень цинку, активність ЛДГ та кількість інсулінових рецепторів у пухлинах ПКРГ не виявлено.

Висновки: Показники вмісту цинку у злоякісному епітелії ПКРГ статистично не відрізняються від незлоякісного епітелію, але у сполучній тканині незроговілого ПКРГ мають тенденцію до зниження. У стромі ПКРГ активність ЛДГ значно вища порівняно з здоровою сполучною тканиною. Рівень зв'язування інсуліну незлоякісним та злоякісним епітелієм не відрізняється, а отже метаболічні шляхи, пов'язані з цим лігандом, працюють на однаковому рівні. У стромі та в тканинах навколо пухлини виявлено поодинокі або скупчення клітин, які мають значну присутність на своїй поверхні інсулін-зв'язуючих рецепторів. Захворювання та вакцинація COVID-19 не впливали на показники рівнів цинку, активності ЛДГ та зв'язування інсуліну тканинами ПКРГ.

Ключові слова: плоскоклітинний рак гортані, цинк, лактатдегідрогеназа, інсулін.

ZINC LEVELS, LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY, AND INSULIN BINDING IN LARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA TISSUES

Lukach EV, Karas AF, Serezhko YuV, Chaika SP, Virych PA, Karas GA, Virych PA
State Institution "O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine"
Email: erwin@lukach.org

Abstract

Introduction: Laryngeal squamous cell carcinoma of the larynx (LSCC) and hypopharyngeal region is the significant diagnostic and therapeutic problem in the world. Early diagnosis of LSCC and the mechanisms of its development are the important factors for the successful treatment of disease. The recent COVID-19 (SARS-CoV-2) pandemic has created a global health crisis that has long-lasting consequences. Potentially affecting categories of the population were patients with other diseases, including cancer.

Aim: Determination of the changes in markers of LSCC development: the activity of lactate dehydrogenase, the strength of insulin receptors and changes in zinc levels due to COVID-19 infection and morphological subtypes of LSCC.

Materials and methods: Tissue samples from 52 patients diagnosed with laryngeal squamous carcinoma were studied. The tissue was selected directly after surgical resection of the tumor. Histological sections were prepared on a microtome-cryostat (10 μm) and stained with N-(6-methoxy-8-quinolinyl)-4-methylenebenzenesulfonamide. They used for determination of zinc levels and FITC-insulin to assess insulin binding. Besides, the catalytic identification of lactate dehydrogenase (LDH) activity was performed in a medium of lactate, NAD^+ , and nitrotriazolium blue to contrast the enzymatic reaction.

Results and discussion: The generalized data of zinc levels in malignant LSCC epithelium and tumor stroma do not differ from non-malignant laryngeal epithelium and healthy connective tissue. An increase in zinc content and LDH activity was found in non-keratinizing LSCC tumors relative to non-malignant laryngeal epithelium and connective tissue underneath. An increase in LDH activity was found in the stroma of LSCC tumors relative to healthy connective tissue. A decrease in the ratio of LDH activity of malignant epithelium/stroma was found in patients with keratinizing and non-keratinizing LSCC. Insulin binding by malignant LSCC epithelial tissues did not differ from that of non-malignant epithelium. No statistically significant difference in insulin binding by tumor stromal tissues and healthy connective tissue was found. The connective tissue surrounding the tumor had a large number of cells with a significant presence of insulin binding receptors. The influence of COVID-19 and vaccination on zinc levels, LDH activity, and the number of insulin receptors in LSCC tumors was not found.

Conclusions: Indicators of zinc content in malignant LSCC epithelium do not statistically differ from non-malignant epithelium, but in the connective tissue of non-keratinizing LSCC it tends to decrease. In the stroma of LSCC, LDH activity is significantly higher compared to healthy connective tissue. The level of insulin binding by non-malignant and malignant epithelium does not differ, and therefore the metabolic pathways associated with this ligand operate at the same level. In the stroma and in the tissues around the tumor, single or clusters of cells were found that have a significant presence of insulin-binding receptors on their surface. COVID-19 disease and vaccination do not affect the indicators of zinc levels, LDH activity and insulin binding by LSCC tissues.

Key words: laryngeal squamous cells carcinoma, zinc, lactate dehydrogenase, insulin.