

На правах рукописи

**Хабазова Анна Михайловна**

**ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В РАННЕЙ  
ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ГОРТАНИ**

3.1.3. – Оториноларингология

3.1.6. – Онкология, лучевая терапия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2022

Работа выполнена на кафедре оториноларингологии ФДПО Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный медицинский исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России)

**Научные руководители:**

**Ким Ирина Анатольевна** – д.м.н., профессор кафедры Оториноларингологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

**Виноградов Вячеслав Вячеславович** – д.м.н., профессор кафедры Оториноларингологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

**Официальные оппоненты:**

**Азизян Рубен Ильич** – д.м.н., ведущий научный сотрудник хирургического отделения опухолей головы и шеи НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезниковой ФГБУ "НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина" Минздрава России

**Кирасирова Елена Анатольевна** – д.м.н., заведующий научно-исследовательским отделом реконструктивной хирургии полых органов шеи ГБУЗ "Научно-исследовательский институт оториноларингологии имени Л.И. Свержевского" Департамента здравоохранения города Москвы

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО МГМСУ имени А.И. Евдокимова Минздрава России

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_\_ г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного совета 68.1.006.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства» (123182, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 30/2, 6 этаж, конференц-зал).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ оториноларингологии» ФМБА России по адресу 123182, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 30/2 и на сайте [www.otolar-centre.ru](http://www.otolar-centre.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_\_ года.

Ученый секретарь

диссертационного совета 68.1.006.01

кандидат медицинских наук

Коробкин Артём Сергеевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

По данным официальной статистики в 2018 году в России впервые было выявлено 6896 случаев злокачественных новообразований гортани, из которых на I стадии заболевания - 15,9%, на II стадии - 24,2%, на III стадии - 37,1%, на IV стадии - 21,4% [Каприн А.Д., Старинский В.В., 2019].

Ошибочная диагностическая тактика приводит к длительному (от 2 до 8 мес.) ведению больных с предраковыми заболеваниями и раком гортани [Бабанов С., 2017]. Также следует отметить, что метаплазия эпителия не происходит в здоровом органе и развивается на фоне длительного воздействия повреждающих факторов: курения, профессиональных вредностей (асбест, цементная пыль, полициклические углеводороды и др.), физических воздействий (ионизирующая радиация, сухой жар), а также вирусных инфекций (папилломавирусы), гастроэзофагеальный рефлюкс [Dietz A. 2004; Dreyer T., Glanz H., 2004; Klusmann J.P., Dinh S., 2004; Lewin J.S., Gillenwater A.M., 2003].

Диагностический поиск предполагает оценку жалоб пациента, данных анамнеза, результатов объективного осмотра ЛОР-органов и дополнительных более информативных методов исследования [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2021]. В качестве последних на современном этапе применяют непрямую ларингоскопию, фиброларингоскопию, контактную эндоскопию, NBI-эндоскопию, NBI-эндоскопия с аутофлуоресценцией (AFE), эндоскопию с применением световых фильтров системы SPIES [Аванесов А.А., Алиева С.Б., 2020; Нажмудинов И.И., 2018; Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2017; Чучуева Н.Д., Решетов И.В., 2017; Kraft M., Fostiropoulos K., 2015]. Важным аспектом диагностики является экспрессность [Александров М.Т., 2008].

Внедрение дополнительных методов исследования позволило улучшить качество диагностики, так в 2008 году впервые было выявлено 6440 случаев злокачественных новообразований гортани, из которых на I и II стадии – 34,9% (в 2018 году – 40,1%), на III стадии – 47,5%, на IV стадии – 16,7% [Каприн А.Д., Старинский В.В., 2009], но этого все равно недостаточно.

Следует также отметить, что во многом качество диагностики зависит от опыта специалиста, в связи с чем необходимым и обоснованным является поиск тех методов, которые позволят исключить человеческий фактор и обеспечить объективизацию данных при проведении исследования и при этом будут сочетать в себе доступность, малоинвазивность, высокую информативность, достоверность, специфичность, быстроту получения результатов.

Поиск, экспериментально-теоретическое и клиническое обоснование применения новых высокочувствительных, высокоспецифичных, неинвазивных, экспрессных медицинских диагностических технологий и методов является актуальным для практического здравоохранения [Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., 2013].

В связи с вышеизложенным, актуальность исследования, а именно: изучение возможности применения метода флуоресцентной диагностики в дифференциальной диагностике опухолевой патологии гортани, не вызывает сомнений.

**Цель исследования:** повышение эффективности диагностики и лечения опухолей гортани путем применения метода флуоресцентной диагностики.

### **Задачи исследования**

1. Провести сравнительную характеристику существующих методов ранней диагностики опухолей гортани.
2. Оценить возможность применения флуоресцентных методов для ранней диагностики опухолей гортани.
3. Разработать методику и алгоритм проведения флуоресцентной диагностики для опухолей гортани.
4. Дать сравнительную характеристику метода диагностики с применением флуоресцентных технологий и стандартного эндоскопического исследования с использованием фиброскопа с последующим морфологическим исследованием; оценить чувствительность и специфичность разработанного метода.

### **Научная новизна работы**

Впервые получены и изучены флуоресцентные спектры слизистой оболочки гортани с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» у пациентов без опухолевой патологии гортани и у пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями гортани.

Проведена оценка информативности флуоресцентных спектров тканей гортани при предраковых заболеваниях и злокачественных опухолях.

Изучены возможность и эффективность применения флуоресцентных технологий в дифференциальной диагностике предраковых заболеваний и злокачественных опухолей.

На основании проведенного исследования разработан и внедрен в практику «Способ проведения биопсии у больных с подозрением на рак гортани (патент

RU2729503), 07.08.2020», авторы: Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Прикулс В.Ф., Ким И.А., Карнеева О.В., Трофимов Е.И., Сивкович О.О., Хабазова А.М.

### **Научно-практическая значимость работы**

Разработан метод диагностики опухолевой патологии гортани с использованием метода флуоресцентной диагностики, позволяющий неинвазивно, в экспресс-режиме, с высокой чувствительностью и специфичностью проводить исследование состояния и составление характеристик слизистой оболочки гортани в норме, при предраковых заболеваниях и злокачественных опухолях гортани.

### **Методология и методы исследования**

В период с 2018 по 2021 гг. на кафедре оториноларингологии факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, расположенной на базе ФГБУ НМИЦО ФМБА России, в онкологическом (головы и шеи) отделении проведено проспективное одноцентровое открытое сравнительное исследование. Из исследования исключались пациенты с ранее установленным и гистологически подтвержденным диагнозом предракового заболевания (папиллома, дисплазия эпителия 1-2 степени, хронический гиперпластический ларингит) или злокачественной (плоскоклеточный рак).

Первая часть работы посвящена исследованию клинико-морфологических особенностей слизистой оболочки гортани в норме и при опухолевой патологии, данные о которых получены с использованием метода флуоресцентной диагностики. Во второй части исследования проведена оценка эффективности разработанного собственного способа дифференциальной диагностики предраковых заболеваний гортани и злокачественных опухолей.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Диссертация соответствует формуле специальности 3.1.3 – Оториноларингология (медицинские науки), а именно пункту 2 – «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний», пункту 3 – «Экспериментальная и клиническая разработка методов ЛОР-заболеваний и внедрение их в клиническую практику» и формуле специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия (медицинские науки), а именно пункту 3 – «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики».

### **Личный вклад автора**

Автором был подготовлен обзор данных отечественных и зарубежных источников литературы по теме исследования, сформулированы цель и задачи исследования. Научные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно на базе отделения опухолей головы и шеи ФГБУ НМИЦО ФМБА России. Автору принадлежит ведущая роль в организации исследования, разработке алгоритма экспресс-диагностики опухолевых заболеваний гортани с применением флуоресцентной диагностики, анализе и обобщении полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии в исследовании на всех его этапах: от постановки задач и обсуждения результатов в научных публикациях и докладах до внедрения метода в лечебную практику.

### **Степень достоверности и обработки результатов работы**

Достоверность результатов проспективного одноцентрового открытого сравнительного исследования обеспечена достаточным количеством пациентов и формированием групп сравнения, использованием апробированных лабораторных и инструментальных методов, единых критериев оценки результатов. Научные положения, выводы и рекомендации основаны на фактических данных, представленных в таблицах и рисунках. Накопление, систематизация информации осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel. Статистическая обработка выполнена с использованием программы Статистическая обработка данных выполнялась с помощью компьютерных программ Microsoft Office «Excel» и «STATISTICA 8.0», StatSoftInc. Степень достоверности результатов исследования соответствуют коэффициенту  $p \leq 0,05$ .

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования, касающиеся применения метода флуоресцентной диагностики для ранней диагностики опухолей гортани, внедрены в учебный процесс кафедры оториноларингологии ФДПО ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры оториноларингологии имени академика РАН И.Б. Солдатова ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Разработанный метод флуоресцентной диагностики в ранней диагностике опухолей гортани используется в практике ГБУЗ «Самарского областного клинического онкологического диспансера», отделения онкологии головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии медико-биологического агентства России».

### **Апробация результатов исследования**

Основные положения научной работы доложены и обсуждены на: IV Всероссийском форуме оториноларингологов России с международным участием (Москва, 2018); 67-я научно-практической конференции «Молодые ученые российской оториноларингологии» (Санкт-Петербург, 2020); VIII Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи (Москва, 2020); Третьем международном форуме онкологии и радиологии, (Москва, 2020); VII Ежегодном Конгрессе Российского общества специалистов по опухолям головы и шеи с международным участием (Москва, 2021); IX Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи (Москва, 2021); Четвертом международном форуме онкологии и радиотерапии, (Москва, 2021); Конференции «Лазеры в медицине 2021», (Москва, 2021); VI Всероссийском конгрессе онкопациентов (Москва, 2021); X Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2021), Научно-практическая конференция оториноларингологов Центрального Федерального округа «Актуальные вопросы оториноларингологии и аллергологии» (Воронеж, 2021). Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры оториноларингологии факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова и кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, протокол №1/2022 от 24 января 2022.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 10 научных работы, из них 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук, – в том числе 3 – в базе Scopus, 3 – в виде тезисов на международных конференциях, а также получен патент (RU2729503) на изобретение и методические рекомендации.

## **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Список литературы представлен 168 источниками, из которых 97- в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы 32 рисунками и 12 таблицами.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Флуоресцентная диагностика с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» является информативной при дифференциальной диагностике предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани.
2. Метод диагностики с применением флуоресцентных технологий обладает высокой чувствительностью и специфичностью при дифференциальной диагностике предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани.
3. Разработанный алгоритм диагностики опухолевых заболеваний гортани на основе флуоресцентной диагностики позволяет неинвазивно в экспресс-режиме проводить дифференциальную диагностику предраковых заболеваний гортани от злокачественных опухолей гортани.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования.**

В работе использованы данные обследования и лечения 102 пациентов, проходивших лечение в отделении онкологии головы и шеи ФГБУ НМИЦО ФМБА России, г. Москва. Все пациенты были разделены на 2 группы. Основная группа состояла из 68 пациентов (66,7% от общего числа пациентов) и была разделена на 2 подгруппы: 1 – с предраковыми заболеваниями – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов), 2 – со злокачественными опухолями гортани – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов). В группу сравнения были включены пациенты без опухолевой патологии гортани (с паралитическим стенозом гортани) – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов). Выбор пациентов в группу сравнения был обусловлен тем, что для подтверждения данных, полученных при проведении флуоресцентной диагностики, необходимо было выполнить биопсию с последующим гистологическим исследованием, а пациентам с паралитическими стенозами гортани выполнялась задняя хордрезекция (удаление задней трети одной из голосовых складок CO<sub>2</sub> лазером для расширения просвета дыхательной щели) и полученный фрагмент



интактной голосовой складки направлялся на гистологическое исследование.

Всем пациентам исследования проведено обследование:

1. Стандартный осмотр врачом-оториноларингологом, с эндоскопией гортани. Для эндоскопии гортани использовались фиброларингоскоп фирмы «Olympus» (Система OlympusVISERAEliteIIOTV-S200) диаметром 4 мм.

2. Флуоресцентная диагностика с применением спектрометра медицинского «ИнСпектр-М» по ТУ 26.60.12-001-92730628-2019, состоящего из оптического модуля со светодиодным (LED) источником белого света и лазерного модуля с источником лазерного излучения 350 нм.

3. Гистологическое исследование выполнялось по стандартной методике: фиксация полученного при биопсии материала нейтральным забуференным 10% раствором формалина, заливка препаратов с изготовлением парафиновых блоков и дальнейшим изготовлением срезов толщиной 7-8мкр, окрашивание срезов гематоксилином и эозином, с последующим определением морфологического типа опухоли гортани.

Флуоресцентная диагностика осуществлялась по разработанной методике: после предварительной обработки слизистой оболочки полости носа, глотки, гортани 10,0% раствором лидокаина через общий носовой ход вводился фиброскоп и производился осмотр гортани. Далее через дополнительный канал фиброскопа вводился диагностический зонд аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М», который испускает излучение с длиной волны 350 нм и плотностью мощности  $25 \text{ мВт/см}^2$ , в течение времени, достаточного для возбуждения собственной флуоресценции тканей и составляющего от  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$ мс, и содержащий систему, регистрирующую собственную флуоресценцию от исследуемых тканей. Диагностический зонд диаметром 1 мм устанавливается перпендикулярно на слизистую оболочку гортани в следующей последовательности: сначала на три произвольные точки в области интактной слизистой оболочки, затем в области видимой границы измененной слизистой оболочки или новообразования, далее в пределах измененной слизистой оболочки или новообразования, при этом расстояние между исследуемыми точками не менее 1 мм. В каждой точке регистрируют интенсивность флуоресценции в диапазоне длины волны от 450 до 700 нм. Последовательность проведения исследования представлена на рис. 1.



Рисунок 1. Дизайн исследования.

Пациенты основной группы – с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями гортани – изначально не были ранжированы и были объединены в одну основную группу. Разделение пациентов на 1 и 2 подгруппы происходило после проведения биопсии на основании результатов гистологического исследования, однако существовало условное разделение на основании результатов разработанной нами шкалы оценки эндоскопии, которая включала в себя следующие критерии: конфигурация голосовых складок (утолщены/не утолщены), наличие признаков воспаления (гиперемия, гиперсекреция мокроты), наличие патологически извитых сосудов (оценивались по шкале от 0 до 3, где 0 – отсутствие данного критерия, 1 – слабо выражен, 2- выражен умеренно, 3 – выражен сильно); вибраторные края (ровные/неровные), наличие новообразований, наличие изъязвлений (оценивались по шкале от 0 до 1, где 0 – отсутствие данного критерия, 1 – наличие его). Оценивалась сумма баллов за каждый из выше перечисленных критериев.

Те пациенты, которым при осмотре был выставлен балл 0 – оценивались как пациенты с интактными голосовыми складками; 1-5 – хронический воспалительный процесс; 6-7 – были условно отнесены в группу пациентов с предраковыми заболеваниями; 8 и более – условно отнесены в группу пациентов со злокачественными опухолями гортани.

Далее пациентам основной группы проводился анализ интенсивности флуоресценции в интактной точке, на границе и в центре опухоли. Также в соответствующих точках (интактная точка, видимая граница опухоли, несколько точек

в пределах опухоли, из которых далее выбирали одну точку с наибольшими индексами) оценивались индекс пролиферативной активности и индекс фотолюминесценции протопорфина IX.

Для подтверждения разделения пациентов основной группы на 1-ую (пациенты с предраковыми заболеваниями) и 2-ую (пациенты со злокачественными опухолями гортани) подгруппы всем пациентам выполнялась биопсия в точке с наиболее выраженными изменениями с последующим гистологическим исследованием по описанной выше стандартной методике.

Пациентам группы сравнения выполнялось хирургическое лечение в объеме задней хордрезекции, удаленный фрагмент голосовой складки направлялся на гистологическое исследование.

### Характеристика исследуемых групп

В 1 подгруппу основной группы (n = 34) вошли пациенты в возрасте от 20 до 74 лет, средний возраст  $54,4 \pm 7,3$ , во 2-ую подгруппу основной группы (n = 34) – пациенты от 24 до 82 лет, средний возраст –  $54,1 \pm 6,8$  лет. В контрольной группе (n = 34) наблюдались пациенты в возрасте от 22 до 74 лет, средний возраст –  $54,4 \pm 7,1$  лет.

Распределение пациентов, включенных в исследование, по полу представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов, включенных в исследование, по полу.

| Исследуемые группы пациентов |                         | Распределение пациентов по полу |      |         |      |
|------------------------------|-------------------------|---------------------------------|------|---------|------|
|                              |                         | Женщины                         |      | Мужчины |      |
|                              |                         | Абс.                            | %    | Абс.    | %    |
| Группа сравнения (n = 34)    |                         | 13                              | 38,2 | 21      | 61,8 |
| Основная группа              | 1-ая подгруппа (n = 34) | 13                              | 38,2 | 21      | 61,8 |
|                              | 2-ая подгруппа (n = 34) | 8                               | 23,5 | 26      | 76,5 |

В исследовании приняли участие 102 пациента, из которых 34 (33,3%) женщины, 68 (66,7%) – мужчины. В группе сравнения 13 (38,2%) женщин и 21 (61,8%) мужчина, в основной группе в 1-ой подгруппе 13 (38,2%) женщин и 21 (61,8%) мужчина, во 2-ой подгруппе 8 (23,5%) женщин и 26 (76,5%) мужчин.

В 1-ую подгруппу основной группы было включено 34 (33,3%) пациента с

предраковыми заболеваниями (плоскоклеточные папилломы, хронический гиперпластический ларингит, дисплазия 1-2 степени). Во 2-ю подгруппу основной группы вошли 34 (33,3%) пациента с 0 (insitu), I и II стадией рака гортани, что соответствует Tis-2N0M0 (в соответствии с международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM). В группу сравнения вошли 34 (33,3%) пациента с паралитическими стенозами гортани.

Встречаемость опухолей гортани у пациентов 1-ой и 2-ой подгруппы была сопоставимой (таблица 2).

Таблица 2– Сравнительная характеристика встречаемости предраковых заболеваний и опухолей в 1-ой и 2-ой подгруппах основной группы.

| Группы исследования |  | Распределение пациентов в группах |      |
|---------------------|--|-----------------------------------|------|
|                     |  | Абс. число                        | %    |
| 1-ая подгруппа      | Плоскоклеточная папиллома                      | 14                                | 41,2 |
|                     | Дисплазия 1-2 ст.                              | 12                                | 35,3 |
|                     | Хронический ларингит                           | 8                                 | 23,5 |
| 2-ая подгруппа      | Высокодифференцированный плоскоклеточный рак   | 12                                | 35,3 |
|                     | Умереннодифференцированный плоскоклеточный рак | 11                                | 32,4 |
|                     | Низкодифференцированный плоскоклеточный рак    | 11                                | 32,4 |

В 1-ой подгруппе основной группы всего было выявлено 14 (41,2%) пациентов с плоскоклеточными папилломами, 12 (35,3%) – с дисплазией 1-2 степени, 8 (23,5%) – с хроническим ларингитом. Во 2-ой подгруппе основной группы - 12 (35,3%) пациентов с высокодифференцированным раком, 11 (32,4%) пациентов с умереннодифференцированным раком, 11 (32,4%) пациентов с низкодифференцированным плоскоклеточным раком, то есть гистологические формы плоскоклеточного рака встречались с практически равной вероятностью.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основная группа и группа сравнения сопоставимы по полу и возрасту, что позволяет сравнивать результаты обследования данных пациентов.

При проведении флуоресцентной диагностики одновременно проводилось

измерение в диапазоне частот от 450 до 700 нм. Регистрировались такие показатели, как интенсивность флуоресценции в диапазоне длины волны от 500 до 550 нм, которая была условно обозначена как «индекс пролиферативной активности эпителия», и уровня сигнала фотолюминесценции протопорфирина IX в диапазоне частот 600-650 нм с пиком на 635 нм.

Полученные при исследовании данные представлены на рисунках 2, 3, 4 и 5.

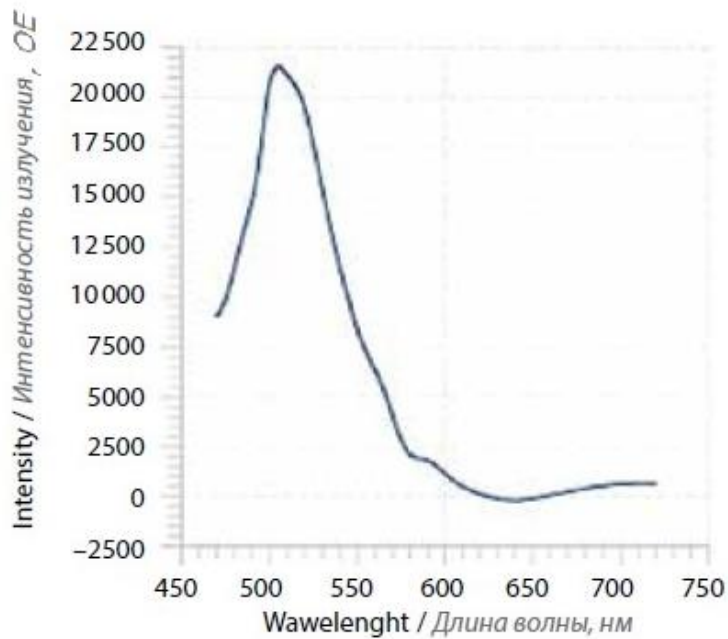


Рисунок 2. Параметры, снятые с интактной слизистой оболочки гортани. Спектры получены *in vivo*. По оси абсцисс – длина волны в нм, по оси ординат – интенсивность флуоресценции в OE – относительных единицах.

На рисунке 2 представлен динамический график спектра интактной слизистой оболочки (у пациентов с паралитическим стенозом гортани), виден пик в виде скачка по оси ординат на диапазоне частот от 450 нм до 550 нм с максимальными значениями на 500 нм. Среднее значение индекса пролиферативной активности в точке 525 нм у пациентов с паралитическим стенозом гортани составило 13801. Также следует отметить, что дополнительные пики флуоресценции не регистрировались.

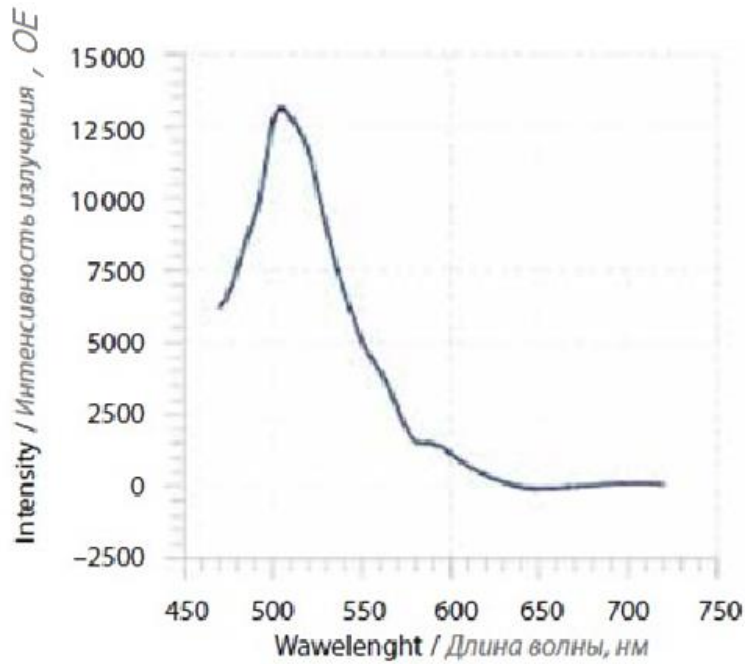


Рисунок 3. Спектры ткани предракового заболевания гортани. Спектры получены *in vivo*. По оси абсцисс – длина волны в нм, по оси ординат – интенсивность флюоресценции в ОЕ – относительных единицах.

На рисунке 3 виден пик в виде скачка по оси ординат на диапазоне частот от 450 нм до 550 нм с максимальными значениями на 500 нм, однако цифровые значения (в ОЕ) данного пика ниже, чем при исследовании интактной слизистой оболочки.

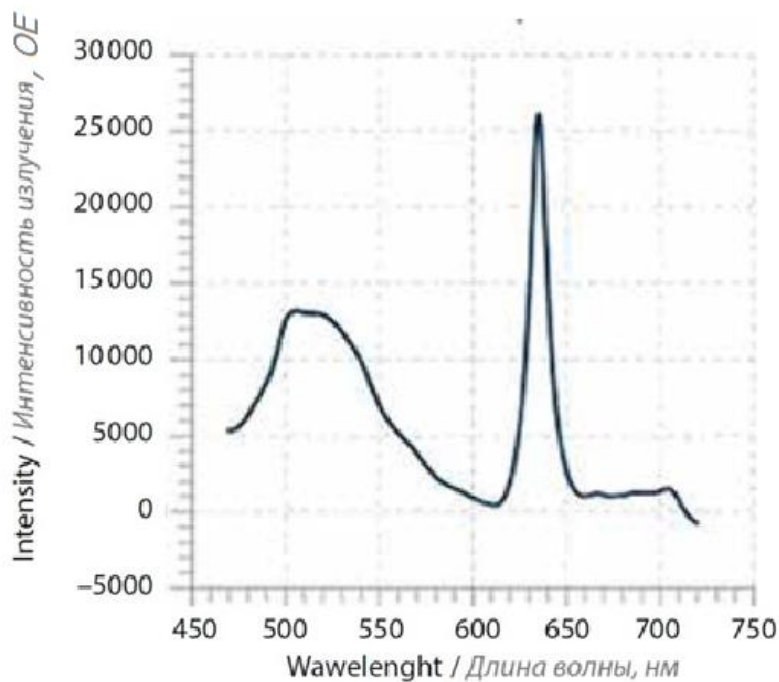


Рисунок 4. Параметры, снятые со слизистой оболочки злокачественной опухоли

гортани. . Спектры получены *in vivo*. По оси абсцисс – длина волны в нм, по оси ординат – интенсивность флюоресценции в ОЕ – относительных единицах.

На рисунке 4 виден пик в виде скачка по оси ординат на диапазоне частот от 450 нм до 550 нм с максимальными значениями на 500 нм, а также дополнительный пик на диапазоне частот от 625 нм до 650 нм с максимальными значениями на 635 нм.

В таблице 3 представлены средние значения, максимум, минимум и медиана значения по данным проведенных исследований.

Таблица 3–Описательная статистика данных исследования.

| Исследуемые параметры         |   | Показатели, полученные при обследовании пациентов   |   |   |
|-------------------------------|---|---|---|---|
|                               |   | Группа сравнения<br>(ПСГ)<br>n = 34                 | Основная группа                                   |   |
|                               |   |   | 1-ая подгруппа<br>(ПЗ) n = 34                     | 2-ая подгруппа<br>(ЗНО) n = 34                      |
| Флуоресцентная<br>диагностика | Значение<br>флуоресценции в<br>точке 525 нм, ОЕ | 13801<br>(min 8000,<br>max 20000,<br>mediana 13000) | 4093<br>(min 1500,<br>max 10000,<br>mediana 3750) | 11128<br>(min 2500,<br>max 21000,<br>mediana 11000) |
|                               | Значение<br>флуоресценции в<br>точке 635 нм, ОЕ | 3<br>(min 0,<br>max 50,<br>mediana 0)               | 75<br>(min 0,<br>max 250, mediana<br>50)          | 2831<br>(min 0,<br>max 26000,<br>mediana 1000)      |
| Эндоскопия, баллы             |   | 0<br>(min 0,<br>max 1,<br>mediana 0)                | 7<br>(min 2,<br>max 10,<br>mediana 7)             | 9<br>(min 7,<br>max 11,<br>mediana 9)               |

В таблице 3 отражено, что среднее значение индекса пролиферативной активности варьирует в разных группах пациентов: в точке 525 нм среднее значение 13801 ОЕ у пациентов с паралитическим стенозом гортани, 4093 ОЕ – у пациентов с предраковыми заболеваниями, 11128 ОЕ – у пациентов со злокачественными образованиями гортани; среднее значение в точке 635 нм у здоровых добровольцев составило 3 ОЕ, у пациентов с предраковыми заболеваниями – 75 ОЕ, а у пациентов с злокачественными новообразованиями – 2831 ОЕ. При оценке баллов эндоскопии среднее значение у пациентов с паралитическим стенозом гортани составило 0 баллов, 7 баллов – у пациентов с предраковыми заболеваниями, 9 баллов – у пациентов со злокачественными образованиями гортани

Был проведен графический анализ полученных данных, результаты представлены рисунках 5, 6 и 7.

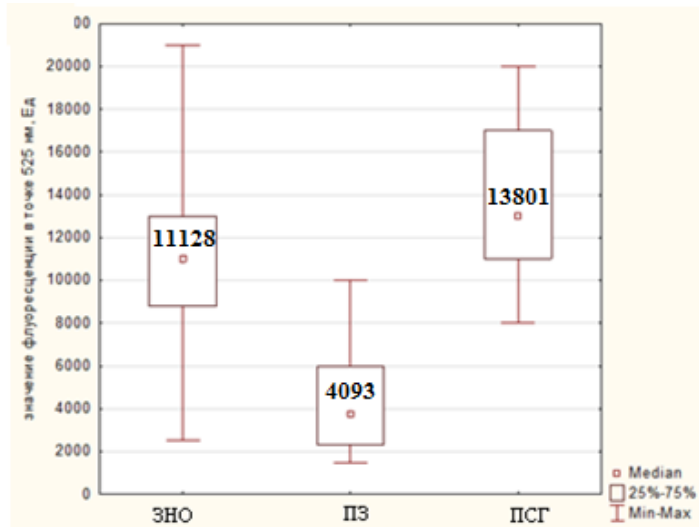


Рисунок 5. Гистограммы распределения флуоресценции в точке 525 нм.

На рисунке 5 отражено, что при злокачественных новообразованиях среднее значение интенсивности флуоресценции в точке 525 составляет 11000 ОЕ, при предраковых заболеваниях – 4000 ОЕ, для интактной слизистой оболочки голосовой складки при паралитическом стенозе гортани – 13000 ОЕ.

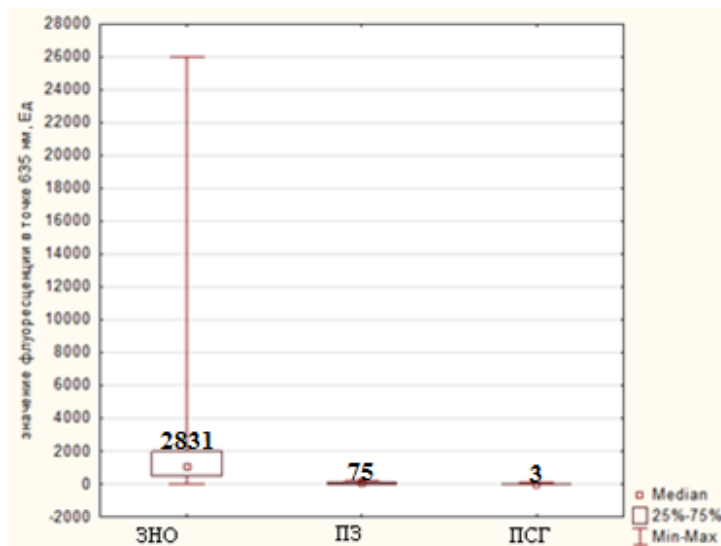


Рисунок 6. Гистограммы распределения флуоресценции в точке 635 нм.

При злокачественных новообразованиях среднее значение интенсивности флуоресценции в точке 635 составляет 1500 ОЕ, при предраковых заболеваниях и для интактной слизистой оболочки голосовой складки при паралитическом стенозе гортани среднее значение стремится к 0 ОЕ.



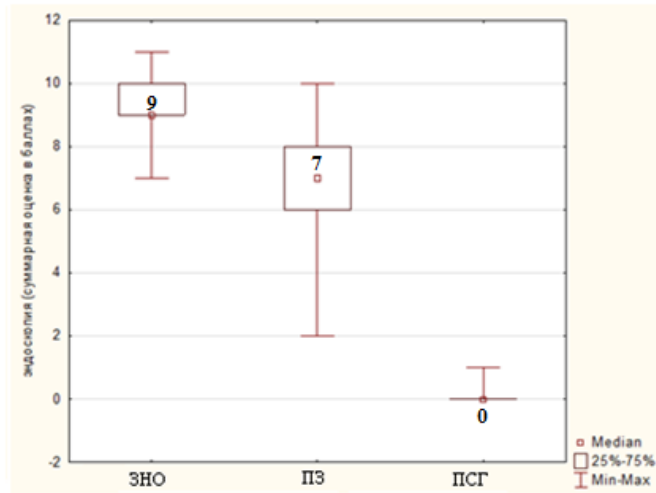


Рисунок 7. Гистограммы распределения оценок по эндоскопии.

Полученные при эндоскопии баллы оценивались следующим образом: 0 – пациенты с интактными голосовыми складками; 1-5 – хронический воспалительный процесс; 6-7 – предраковые заболевания; 8 и более – злокачественное новообразование.

На данных графиках прослеживается отсутствие нормального распределения данных, а также наличие межгрупповых различий по всем трем метрикам.

Дополнительная проверка с применением критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилки позволила отвергнуть нормальность распределений на уровне значимости  $p=0,01$  (таблица 4).

Таблица 4– Критерии нормального распределения изучаемых переменных.

| Исследуемые показатели                    | Критерии нормального распределения |             |            |              |             |            |
|---|------------------------------------|-------------|------------|--------------|-------------|------------|
|   | Колмогорова-Смирнова               |             |            | Шапиро-Уилка |             |            |
|   | Статистика                         | Ст. свободы | Значимость | Статистика   | Ст. свободы | Значимость |
| Значение флуоресценции в точке 525 нм, ОЕ | 0,117                              | 102         | 0,001      | 0,949        | 102         | 0,001      |
| Значение флуоресценции в точке 635 нм, ОЕ | 0,386                              | 102         | 0,000      | 0,304        | 102         | 0,000      |
| Эндоскопия, баллы                         | 0,203                              | 102         | 0,000      | 0,814        | 102         | 0,000      |

В таблице 4 отражено, что степень достоверности результатов исследования соответствуют коэффициенту  $p \leq 0,05$ .

Наиболее достоверно различия между группами выявляются при использовании значения флуоресценции в точке 635 нм (отсечка между группами = 325 ед.) (таблица5).

Таблица 5 – Показатели ROC-анализа разграничения групп пациентов с предраковыми заболеваниями от пациентов со злокачественными новообразованиями.

| Исследуемые параметры                     | Показатели ROC-анализа |   |  |                        |
|---|------------------------|---|--|------------------------|
|   | Оптимальная отсечка    | Чувствительность при оптимальной отсечке* | Специфичность при оптимальной отсечке* | Площадь под ROC-кривой |
| Значение флуоресценции в точке 525 нм, ОЕ | 7750                   | 94%                                       | 100%                                   | 99%                    |
| Значение флуоресценции в точке 635 нм, ОЕ | 25                     | 62%                                       | 94%                                    | 79%                    |
| Эндоскопия, баллы                         | 1,5                    | 100%                                      | 100%                                   | 100%                   |

При анализе результатов, отображенных в таблице 5, выявлено, что чувствительность и специфичность метода флуоресцентной диагностики при использовании степени эндоскопии с отсечкой 8,5 и значения флуоресценции в точке 525 нм с отсечкой 7750 составляют 86,5 и 97% соответственно.

Различия, полученные в ходе проведения сравнительной характеристики интенсивности флуоресценции интактной слизистой оболочки, предраковых заболеваний гортани и злокачественных опухолей гортани, можно использовать при проведении дифференциальной диагностики вышеперечисленных нозологий.

По результатам проведенной статистической обработки полученных данных было установлено, что при проведении флуоресцентной диагностики выявляются достоверные различия спектральных характеристик интактной слизистой оболочки гортани, предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани, обладающие дифференциально-диагностическими возможностями, и позволяющие выявлять различия между предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями гортани с чувствительностью 86,5 % и специфичностью 97%.

Сопоставив результаты гистологического исследования с результатами проведенной флуоресцентной диагностики был разработан алгоритм диагностики

опухолевых заболеваний гортани с использованием метода флуоресцентной диагностики (рис. 9).



Рисунок 9. Алгоритм проведения диагностики опухолей гортани с применением флуоресцентных технологий.

После проведения флуоресцентной диагностики, согласно приведенному на рисунке 9 алгоритму, пациенты разделяются на 3 группы: пациенты без какой-либо патологии гортани, пациенты с предраковыми заболеваниями гортани и пациенты со злокачественными новообразованиями гортани.

Пациенты с предраковыми заболеваниями получают направление на проведение хирургического лечения в условиях стационара, решение о дальнейшем динамическом наблюдении принимается после получения результатов биопсии или послеоперационного гистологического исследования.

Пациенты со злокачественными новообразованиями гортани получают направление на проведение хирургического лечения в условиях стационара (по данным клинических рекомендации пациентам с верифицированным плоскоклеточным раком гортани Tis-2N0M0 предпочтительнее проведение хирургического лечения на 1 этапе с решением вопроса о дальнейшей тактике лечения после получения результатов послеоперационного гистологического исследования и оценкой краев резекции). После реализации онкологического плана лечения согласно стандартам оказания медицинской помощи динамическое наблюдение онкологических больных осуществляется осмотрами 1 раз в 3 месяца в течение 1-го года после окончания лечения, 1 раз в 6 месяцев – в течение 2-го года после окончания лечения, и затем 1 раз в год – в течение 3-го, 4-го, 5-го годов после окончания лечения, далее пациент снимается с наблюдения.

Применение метода флуоресцентной диагностики в соответствии с предлагаемым алгоритмом, разработанным в ходе проведения исследования, позволяет повысить точность диагностики на 8%, сократить период постановки диагноза, что улучшает эффективность ранней диагностики опухолевой патологии гортани и позволяет быстрее начать лечение.

Результат предлагаемого способа состоит в повышении качества диагностики опухолевой патологии гортани за счет включения в алгоритм обследования метода флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

Основным преимуществом метода флуоресцентной диагностики является возможность неинвазивно, в экспресс-режиме с высокой чувствительностью и специфичностью проводить исследование характеристик слизистой оболочки гортани в норме, при предраковых заболеваниях и при злокачественных новообразованиях. Однако разработанная методика является эффективной в условиях специализированного стационара, так как методология проведения данного

исследования достаточно сложна для использования в амбулаторных условиях ввиду того, что гортань является высокой рефлексогенной зоной, а также существует риск развития ларингоспазма, стеноза, травмы или кровотечения при проведении исследования.

Исходя из вышеизложенного, следует отметить, что метод флуоресцентной диагностики опухолевой патологии гортани с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» может быть использован в дополнение к существующим методам диагностики, с чувствительностью и специфичностью 86,5 и 97% соответственно.

Таким образом, применение метода флуоресцентной диагностики, как дополнения к имеющемуся арсеналу способов обследования пациента, в соответствии с предлагаемым алгоритмом диагностики опухолевой патологии гортани позволит повысить точность диагностики на 8%.

## **ВЫВОДЫ**

1. Существующие в настоящее время методы улучшенной визуализации при проведении эндоскопического исследования позволяют повысить качество диагностики злокачественных новообразований гортани, однако его результат зависит от опыта специалиста, в связи с чем необходимым и обоснованным является поиск тех методов, которые позволят исключить человеческий фактор и обеспечить объективизацию данных при проведении исследования, и при этом будут доступными, малоинвазивными, высокоинформативными, достоверными, специфичными.

2. Способ флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» может быть использован для диагностики предраковых заболеваний от злокачественных опухолей гортани, так как результаты исследования показали, что при злокачественных опухолях гортани, в отличие от предраковых заболеваний, кроме повышения интенсивности флуоресценции появляется дополнительный пик с максимальными значениями в точке 635 нм (среднее значение индекса пролиферативной активности в точке 635 нм у пациентов с паралитическим стенозом гортани составило 3 ОЕ, у пациентов с предраковыми заболеваниями гортани – 75 ОЕ, у пациентов с злокачественными опухолями гортани – 2831 ОЕ,  $p \leq 0,05$ ).

3. «Способ проведения биопсии у больных с подозрением на рак гортани» с применением флуоресцентных технологий является эффективным в условиях специализированного стационара и позволяет повысить точность диагностики

опухолевой патологии гортанина 8%, что сокращаетсроки диагностики заболевания и улучшает эффективность ранней диагностики.

4. Способ диагностики с применением флуоресцентных технологий выявляет достоверные различия спектральных характеристик тканей интактной слизистой оболочки гортани, предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани, обладая дифференциально-диагностическими возможностями, и выявляет различия между предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями гортани с чувствительностью 86,5 % и специфичностью 97%.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Флуоресцентная диагностика может быть использована в качестве неинвазивного, высокочувствительного и высокоспецифичного диагностического метода у пациентов с опухолевой патологией гортани.

2. Метод флуоресцентной диагностики реализуется с использованием аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» по ТУ 26.60.12-001-92730628-2019, сертифицированного для клинического применения, работающего на основе длины волн 350 нм.

3. Проведение диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» заключается в регистрации изменений спектральных характеристик слизистой оболочки гортани при предраковых заболеваниях и злокачественных опухолях гортани в отличие от интактной слизистой оболочки контактным способом, путем установки диагностического зонда под углом 90 °с предварительной установкой на оптоволоконный зонд одноразовой защитной насадки.

4. Дифференциальная диагностика между нормой, предраковыми заболеваниями и опухолевой патологией методом флуоресцентной диагностики возможна с высокой чувствительностью и специфичностью.

5. Диагностика с применением флуоресцентных технологий может быть использована в клинической практике в соответствие с разработанным алгоритмом в дополнение к существующим методам диагностики опухолевой патологии ЛОР-органов в условиях специализированных стационаров, однако рекомендовать его для применения в условиях амбулаторного звена не представляется возможным в виду технических сложностей его реализации.

**Список научных работ, опубликованных по теме диссертации.**

1. Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Гафурова А.И., Решульский С.С., Коробкин А.С., Хабазова А.М. Случай ранней диагностики рецидива рака гортани и гортаноглотки. Российская оториноларингология. 2019;6(103):97-103.
2. Хабазова А.М., Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Ким И.А., Карнеева О.В. Методы ранней эндоскопической диагностики опухолей гортани. Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. 2020;8:25-26.
3. Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Ким И.А., Решульский С.С., Прикулс В.Ф., Карнеева О.В., Хабазова А.М., Прикуле Д.В. Возможности флуоресцентной спектроскопии в диагностике опухолей ЛОР-органов. Опухоли головы и шеи. 2021;11(1):86-95.
4. Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Ким И.А., Карнеева О.В., Решульский С.С., Хабазова А.М. Современные методы ранней диагностики опухолей гортани и глотки. Вестник оториноларингологии. 2021;86(3):46-51.
5. Хабазова А.М., Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Ким И.А., Федорова Е.Б. Возможности и перспективы использования флуоресцентных технологий в ранней диагностике опухолей гортани. Оториноларингология. Восточная Европа. 2021;11(4):431-441.
6. Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Ким И.А., Карнеева О.В., Прикулс В.Ф., Решульский С.С., Трофимов Е.И., Хабазова А.М. Применение флуоресцентных технологий в ранней диагностике опухолей. Методические рекомендации, НМИЦО ФМБА, 2021.
7. Патент RU2729503 Российская Федерация, СПК А61В 6/00 (2020.02), В82В 1/00 (2020.2). Способ проведения биопсии у больных с подозрением на рак гортани [Текст] / Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Прикулс В.Ф., Ким И.А., Карнеева О.В., Трофимов Е.И., Сивкович О.О., Хабазова А.М.; заявитель и патентообладатель ФГБУ НМИЦО ФМБА России — № 20200111476; заявл. 19.03.2020; опубл. 07.08.2020, Бюл. № 22.
8. Хабазова А.М. Современные методы эндоскопической и молекулярной диагностики рака гортани и глотки. Российская оториноларингология. Материалы 67-ой научно-практической конференции «Молодые ученые российской оториноларингологии», 2020.

9. **Хабазова А.М.,** Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Ким И.А. Применение флуоресцентных технологий в ранней диагностике опухолей гортани. Материалы IX Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи. Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. 2021;9(S2):91.

10. **Хабазова А.М.,** Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., Ким И.А., Карнеева О.В. Применение флуоресцентных технологий в ранней диагностике опухолей гортани. Опухоли головы и шеи. Материалы VII Ежегодного Конгресса Российского общества специалистов по опухолям головы и шеи с международным участием, г. Москва, 26-27 марта 2021, с. 39.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

AFE – autofluorescence endoscopy

NBI – narrow band imaging

SPICE – Storz Professional Imaging Enhancement System

TNM – tumor, nodus, metastasis

ВДПР – высокодифференцированный плоскоклеточный рак

НДПР – низкодифференцированный плоскоклеточный рак

ПП – плоскоклеточная папиллома

ПСГ – паралитические стенозы гортани

УДПР – умереннодифференцированный плоскоклеточный рак