

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им.
Н.И. ПИРОГОВА

На правах рукописи

ХАБАЗОВА АННА МИХАЙЛОВНА

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

3.1.3. Оториноларингология

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Диссертация на соискание ученой степени

Кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук,
доцент Ким Ирина Анатольевна

Научный руководитель: доктор медицинских наук,
Виноградов Вячеслав Вячеславович

Москва – 2022

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ГОРТАНИ	1
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1: Современное состояние проблемы выявления опухолей гортани на ранней стадии	15
1.1 Эпидемиология рака гортани	15
1.2. Дифференциальная диагностика различных патоморфологических состояний слизистой оболочки гортани	19
1.3. Ларингеальная интраэпителиальная неоплазия (карцинома in situ)	26
1.4. Современные методы диагностики рака гортани	30
1.4.1. Непрямая ларингоскопия	30
1.4.2. Эндоскопические методы диагностики	30
1.4.3. Эндоскопические методы диагностики с применением дополнительных опций.....	31
1.4.4. Прямая опорная микроларингоскопия.....	37
1.4.5. Молекулярные методы диагностики.....	38
1.5. Лучевые методы диагностики	42
1.5.1. Компьютерная томография.....	42
1.5.2. Магнитно-резонансная томография	43
1.5.3. Позитронно-эмиссионная томография с	44
18F-фтордезоксиглюкозой (ФДГ)	44
1.5.4. Ультразвуковые методы диагностики.....	45
1.5.5. Интервенционная диагностика новообразований гортани	46
1.5.6. Оптическая когерентная томография (ОКТ)	46
1.6. Флуоресцентная диагностика с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М»	48
1.7. Заключение	51
ГЛАВА 2: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	53

2.1	Общая характеристика больных.....	53
2.1.1.	Характеристика пациентов группы сравнения	58
2.1.2.	Характеристика пациентов основной группы	58
2.2.	Характеристика эндоскопии с применением гибкой эндоскопической системы Olympus.....	61
2.3.	Характеристика аппаратно-программного комплекса	63
	«ИнСпектр-М»	63
2.3.	Методика проведения исследования.....	67
2.4.	Показатели, используемые при оценке полученных при проведении диагностического исследования с применением флуоресцентных технологий.....	72
2.5.	Статистическая обработка полученных результатов	74
2.6.	Резюме.....	75
ГЛАВА 3: ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП.....		77
3.1.	Спектральные характеристики слизистой оболочки гортани у пациентов группы сравнения	77
3.2.	Спектральные характеристики слизистой оболочки гортани у пациентов группы сравнения пациентов основной группы	85
ГЛАВА 4: ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ		95
4.1	Флуоресцентные характеристики тканей гортани в норме, при предраковых заболеваниях и злокачественных опухолях	95
4.2.	Расчет чувствительности и специфичности метода флуоресцентной диагностики	96
4.3.	Результаты статистической обработки данных, полученных при исследовании интактной слизистой оболочки гортани, предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани	97
4.4.	Применение результатов исследования метода флуоресцентной диагностики в оториноларингологии и онкологии	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		113
ВЫВОДЫ		120

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AFE - autofluorescence endoscopy

HPV - human papillomavirus

NBI - narrow band imaging

NGS - next generation sequencing

SCCA - squamous cell carcinoma

TNM - tumor, nodus, metastasis

ВДПР – высокодифференцированный плоскоклеточный рак

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ЗКО - зернисто-клеточная опухоль

КТ – компьютерная томография

ЛГ - ларингеальные гемангиомы

ЛП - ларингеальные параганглиомы

МРТ - магнитно-резонансная томография

НДПР- низкодифференцированный плоскоклеточный рак

ОКТ - оптическая когерентная томография

ПСГ – паралитические стенозы гортани

ПП – плоскоклеточная папиллома

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

РПГ – рецидивирующий папилломатоз гортани

УДПР – умереннодифференцированный плоскоклеточный рак

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФДГ – фтордезоксиглюкоза

ФЛС – фиброларингоскопия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным официальной статистики в 2018 году в России злокачественные новообразования гортани впервые были выявлены у 6896 пациентов, 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].

Одна из причин поздней выявляемости – отсутствие условий для проведения детального осмотра на уровне амбулаторного звена, так как рутинным методом осмотра ЛОР-органов на сегодняшний день остается осмотр с помощью зеркал (передняя и задняя риноскопия, непрямая ларингоскопия), с помощью данных методов провести исследование качественно не всегда представляется возможным из-за анатомических особенностей гортани и глотки, повышенного глоточного рефлекса, а также эмоциональной лабильности пациента.

Ошибочная диагностическая тактика приводит к длительному (от 2 до 8 месяцев) 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; Lindeberg H., Krogdahl A., 1997; Ramroth H., Dietz A., Becher H., 2008; Risch A., Ramroth H., 2003].

Обследование пациента с подозрением на предраковые заболевания и

рак гортани включает в себя сбор жалоб, данных анамнеза, объективный осмотр ЛОР-органов и дополнительные более информативные методы исследования [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2021]. Более информативными методами исследования – это: непрямая эндоскопия, фиброларингоскопия, контактная эндоскопия, NBI-эндоскопия, NBI-эндоскопия с аутофлуоресценцией (AFE), эндоскопия с применением световых фильтров системы SPIES [Аванесов А.А., Алиева С.Б., 2020; Нажмуудинов И.И., 2018; Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2015; Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2017; Суровцев И.Ю., Королев В.Н., 2008; Унгиадзе Г.В., Вакурова Е.С., 2010; Чучуева Н.Д., Решетов И.В., 2017; Шахсуварян С.Б., Поляков Б.И., 2015; Cikojevic D., Gluncic I., 2008; Kraft M., Fostiropoulos K., 2015; Warnecke A., Averbeck T., 2009; Watanabe A., Taniguchi M., 2008]. Также важной составляющей диагностики является экспрессность [Александров М.Т., 2008].

Внедрение этих систем позволило улучшить качество диагностики, так в сравнении с 2008 годом: впервые было выявлено 6440 пациентов с злокачественными новообразованиями 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 доступных малоинвазивных достоверных специфичных высокоинформативных методов, которые позволят исключить человеческий фактор и обеспечить объективизацию данных при проведении исследования.

Для практического здравоохранения актуален поиск, теоретическое и клиническое обоснование применения новых малоинвазивных высокочувствительных экспрессных медицинских технологий [Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., 2013]. Определенный интерес в этой области представляет

метод флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

Аппарат «ИнСпектр-М» производит анализ флуоресцентного спектра исследуемого объекта, определяет спектральное положение и относительные интенсивности флуоресцентных спектральных линий в течение нескольких секунд, что позволяет визуализировать изменение слизистой оболочки гортани в ранние сроки.

Методики эндоскопического осмотра, стандартные и усовершенствованные, помогают визуализировать уже сформировавшуюся опухоль, но перспективным и новым направлением является диагностика злокачественных новообразований на доклинической стадии.

Преимуществами метода флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» являются возможность использования в условиях как *in vivo*, так и *in vitro*; высокие специфичность и аналитическая и диагностическая чувствительность; получение результатов в максимально короткие сроки (секунды); высокая производительность, простота выполнения и доступность [Kraft M., Betz C.S., 2011]. Объективизация при проведении исследования достигается путем обработки полученных данных программным обеспечением.

В настоящее время флуоресцентная диагностика широко применяется в стоматологии, нефрологии, акушерстве и гинекологии, маммологии и других специальностях [Александров Н.С., 2019; Александров М.Т., 2008; Вакуловская Е. Г., Летягин В. П., 2003; Bhat S., Patil A., 2012].

Применение метода флуоресцентной диагностики в оториноларингологии не описано.

Учитывая все вышеперечисленное, изучение возможностей применения флуоресцентных технологий в дифференциальной диагностике опухолей гортани является актуальным и не вызывает сомнений.

Целью исследования является 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.

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 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. Всего были обследованы 102 пациента, 68 из которых с подозрением на опухоли и предраковые заболевания гортани, 34 – пациенты без опухолевой патологии гортани. Работа посвящена исследованию возможности применения метода с применением флуоресцентных технологий при дифференциальной диагностике опухолевой патологии гортани, оценке его эффективности.

Степень достоверности и обработки результатов работы

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью компьютерных программ Microsoft Office «Excel» и «STATISTICA 8.0», StatSoftInc. Степень достоверности результатов исследования соответствуют коэффициенту $p \leq 0,05$.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Флуоресцентная диагностика с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» является информативной при

дифференциальной диагностике предраковых заболеваний и опухолевой патологии гортани.

2. Метод диагностики с применением флуоресцентных технологий обладает высокой чувствительностью и специфичностью при дифференциальной диагностике предраковых заболеваний и опухолевой патологии 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.

Реализация и использование метода

Метод флуоресцентной диагностики внедрен в практику ГБУЗ «Самарского областного клинического онкологического диспансера», отделения онкологии головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии медико-биологического агентства России», учебную работу 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, учебную работу кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Апробация научных результатов

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

• IV Всероссийский форум оториноларингологов России с международным участием, г. Москва, 20-21 сентября 2018);

- 67-я научно-практической конференции «Молодые ученые российской оториноларингологии», г. Санкт-Петербург, 30-31 января 2020;
- VIII Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи, г. Москва, 28-31 мая 2020;
- Третьем международном форуме онкологии и радиологии, г. Москва, 21-25 сентября 2020;
- VII Ежегодном Конгрессе Российского общества специалистов по опухолям головы и шеи с международным участием, г. Москва, 26-27 марта 2021;
- Четвертом международном форуме онкологии и радиотерапии, г. Москва, 20-24 сентября 2021;
- Конференции «Лазеры в медицине 2021», г. Москва, 15 октября 2021;
- VI Всероссийском конгрессе онкопациентов, г. Москва, 26-28 октября 2021;
- X Петербургском форуме оториноларингологов России, г. Санкт-Петербург, 27-29 октября 2021.

• Научно-практическая конференция оториноларингологов Центрального Федерального округа «Актуальные вопросы оториноларингологии и аллергологии», Воронеж, 18 ноября 2021

Диссертация апробирована на заседании кафедры оториноларингологии факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ 24.01.2022 (протокол №1/2022).

Личный вклад автора

Автором был проведен анализ данных отечественных и зарубежных источников литературы, сформулированы цель и задачи исследования, организовано и проведено исследование на базе отделения опухолей головы и шеи ФГБУ НМИЦО ФМБА России, разработан алгоритм диагностики опухолевых заболеваний гортани с применением флуоресцентных

технологий, проанализированы полученные данные.

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 патент (RU2729503) на изобретение и методические рекомендации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует шифрам специальностей: 3.1.3.– Оториноларингология, 3.1.6.– Онкология, лучевая терапия. Совершенствование методов ранней диагностики, профилактики и лечения онкопатологии в оториноларингологии будет способствовать сохранению здоровья населения, сокращению сроков временной нетрудоспособности и восстановлению трудоспособности. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследования специальностей, а именно паспорту специальности «Оториноларингология» - разработка и совершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний (пункт 2); паспорту специальности «Онкология» - разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики (пункт 3).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, изложена на 144страницах машинописного текста, проиллюстрирована 32 рисунками, 12 таблицами. Библиографический список литературы содержит 168 источников, из них – 71 отечественный и 97 – иностранные.

Положения, выносимые назащиту

1. Метод флуоресцентной диагностики может быть использован для дифференциации предраковых заболеваний гортани от злокачественных опухолей.

2. Разработанная методика является эффективной, а использование метода диагностики с применением флуоресцентных технологий в соответствие с предлагаемым разработанным алгоритмом при опухолевой патологии гортани повышает точность диагностики на 8% и сокращает сроки верификации опухолевой патологии гортани, что улучшает эффективность ранней диагностики.

3. Метод флуоресцентной диагностики выявляет достоверные различия спектральных характеристик тканей у лиц без опухолевой патологии гортани, с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями гортани, обладая дифференциально-диагностическими возможностями и выявляя различия между предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями гортани с чувствительностью 86,5 % и специфичностью 97%.

ГЛАВА 1: Современное состояние проблемы выявления опухолей гортани на ранней стадии

1.1 Эпидемиология рака гортани

Хронические воспалительные процессы в гортани составляют 8,4% всех заболеваний ЛОР-органов. Доброкачественные новообразования гортани встречаются в 55-70% случаев среди всех продуктивных процессов верхних дыхательных путей, а при отсутствии своевременного лечения в 3-8% случаев могут озлокачиваться. Из всех доброкачественных новообразований гортани, по данным различных авторов, полипы составляют 39-68%, папилломы – 34-59%, отек Рейнке – 5,5%, кисты – 5%, неспецифические гранулемы – 3% [Нажмудинов И.И., 2018; Какурина Г.В., Кондакова И.В., 2013; Dietz A., 2004; Friedrich G., Remacle M., 2007].

Понятие «опухолеподобные поражения» отражает явления разной природы и употребляется в двойной интерпретации. В первом случае подразумевается внешнее макроскопическое сходство образования с опухолью, хотя при клиническом и гистологическом исследовании выясняется его неопухолеватая природа (например, голосовые узелки и полипы голосовых складок, кисты, ларингоцеле, гетеротопии, амилоидоз и пр.). Во втором случае речь идет о собственно опухолеподобном процессе (псевдоопухоли), который гистологически проявляется реактивной клеточной пролиферацией, весьма похожей на опухолевый рост (например, так называемая воспалительная миофибробластическая опухоль). Подобные образования зачастую ведут себя непредсказуемо и могут трансформироваться в истинную опухоль. Они требуют тщательного клинического мониторинга, всестороннего морфологического изучения и глубокого клинико-морфологического анализа для того, чтобы провести

дифференциальный диагноз между реактивной пролиферацией (псевдоопухолью) и истинной опухолью [Степанова Ю. Е., Готовяхина Т.В., 2016]. В гортани сравнительно часто встречаются доброкачественные новообразования различного гистологического строения, что чаще всего связано с постоянным механическим раздражением гортани [Ахмедов И.Н., 2011; Федорова Е.Б., Дайхес Н.А., 2021].

Изучение предраковых заболеваний заслуживает большего внимания, оставаясь крайне важной проблемой в оториноларингологии. Своевременное выявление предракового процесса может предрешать развитие злокачественного образования и, в некоторой степени, объясняет причины, условия возникновения и роста опухоли гортани [Дайхес Н.А., Романенко С.Г., 2014].

Решение вопросов малигнизации предраковых заболеваний гортани и диагностики раннего рака гортани вызывает определенные сложности. По данным О.В. Черемисиной и Е.Л. Чойнзонова диагностические ошибки на догоспитальном уровне составляют 30-35% случаев, а у госпитализированных пациентов - 22,4-35% случаев. Рак *in situ* выявляется только в 2,3-6% от первично выявленных опухолей гортани. Ошибочная диагностическая тактика приводит к длительному (от 2 до 8 мес.) неадекватному ведению больных с предраком и ранним раком гортани [Бабанов С., Будащ Д., 2017; Черемисина, О.В., Чойнзонов Е.Л., 2007].

Рак гортани является одним из самых распространенных заболеваний головы и шеи. Среди всех злокачественных новообразований в мире на его долю приходится 1%, в то же время среди онкологических заболеваний головы и шеи по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на долю рака ЛОР-органов приходится 20-25% от числа всех злокачественных

новообразований, при этом 55% от всех случаев рака ЛОР-органов – это рак гортани. Его раннее обнаружение и диагностика необходимы для достижения максимальной эффективности лечения и сохранения голосовой функции [Всемирная Организация Здравоохранения, 2014; Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2019; Chu E.A., Kim Y.J., 2008; Siegel R.L., Miller K.D., 2017]. Подавляющее большинство злокачественных новообразований гортани (95–98%) представляют собой плоскоклеточный рак. С точки зрения локализации 60–65% всех опухолей гортани возникают в голосовом отделе, 30–35% - в вестибулярном, а остальные – в подскладочном отделе [Пачес А. И., 2013; Jemal A., Bray F., 2011; Kumar V., Abbas A.K., 2005].

В структуре заболеваемости рак гортани встречается у мужчин в 2,6% случаев, у женщин в 0,16% случаев. Мужчины заболевают в 19,3 раза чаще, чем женщины. Возрастной интервал составляет по данным разных авторов от 40 до 69 лет, средний возраст у мужчин – 61,8 года, у женщин – 63,1 года. Так 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% [Давыдов, М.И., Аксель Е.М, 2014; Каприн А.Д., Старинский В.В., 2019; Пачес А.И., 2013; Мудунов А. М., Танеева А.Ш., 2014; Черемисина, О.В., Чойнзонов Е.Л, 2007].

В связи с тем, что рак ЛОР-органов длительно протекает бессимптомно на фоне облигатного и факультативного предраков, высока запущенность этого заболевания. Основой ранней диагностики является знание симптомов предраковых заболеваний гортани, ранних форм злокачественных новообразований, а также тщательное обследование пациентов для выявления возможного опухолевого заболевания, в связи с этим возрастает необходимость поиска и активного применения различных методов ранней

диагностики злокачественных новообразований гортани [Виноградов В.В., Решульский С.С., 2016; Нажмудинов И.И., 2016, Дайхес Н.А., 2019]. Важно отметить, что диагностированное и пролеченное на ранних стадиях заболевание характеризуется благоприятным прогнозом и высокими показателями безрецидивного течения и общей выживаемости. Ранняя диагностика позволяет выполнить органосохраняющее лечение с полноценной комплексной реабилитацией пациента, что значительно улучшает качество жизни, а также снижает процент инвалидизации больных [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2017; Трофимов Е.И., Сивкович О.О., 2018; Cardesa A., Slootweg P. J., 2006].

Одной из причин поздней выявляемости злокачественных новообразований гортани является отсутствие условий для проведения детального осмотра на уровне амбулаторного звена, так как рутинным методом осмотра ЛОР-органов на сегодняшний день остается осмотр с помощью зеркал (передняя и задняя риноскопия, зеркальная ларингоскопия), при котором провести исследование качественно не всегда представляется возможным из-за анатомических особенностей гортани и глотки, повышенного глоточного рефлекса, а также эмоциональной лабильности пациента [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2021; Зыкова Л.Д., Мирошникова Е.З., 2000; Arens C., 2004].

В последние десятилетия широкое распространение получили эндоскопические методы осмотра, в том числе усовершенствованные, так как при их применении возможно получить более детальный обзор гортани и глотки, молекулярные методы диагностики, позволяющие диагностировать злокачественные новообразования в более ранние сроки, а также дополнительные методы диагностики – интервенционная диагностика, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-

эмиссионная томография [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2021; Мухамедов М.Р., Черемисина О.В., 2010; Подвязников С.О., Чойнзонов Е.Л., 2014;GräfeL., BögerD., 2017].

1.2. Дифференциальная диагностика различных патоморфологических состояний слизистой оболочки гортани

По классификации ВОЗ от 2003 г. предраковые заболевания гортани делятся на две большие группы: облигатный и факультативный предрак. Облигатные предраковые заболевания гортани –заболевания, с течением времени обязательно переходящие в злокачественное заболевание гортани. К ним относятся: хронический гиперпластический ларингит, дискератозы (лейкоплакия, лейкокератоз, пахидермия и т.д.), папилломатоз гортани (в зависимости от типа вируса). Факультативные предраковые заболевания гортани – заболевания, малигнизация которых возможна, но не является обязательной. К ним относятся: гранулема, рубцовые изменения гортани. Особое внимание следует обратить на случаи, когда заболевание сопровождается дисплазией слизистой оболочки (то есть цитологическими и структурными изменениями эпителия) [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2021; Doll R., Peto R., 1981; Rosai J., 2004].

Важно различать доброкачественные и опухолеподобные заболевания гортани. К первым относятся: эпителиальные опухоли (аденомы, аденолимфомы), соединительнотканые опухоли (фиброма, ангиома, хондрома, липома, фибропапиллома), невrogenные опухоли (невринома и нейрофиброма), миогенные опухоли. Ко вторым наиболее часто относят: голосовые узелки и полипы (встречается менее чем у 1% населения, соотношение мужчин и женщин 2:1), отек Рейнке (2,5 – 3,0% от всех доброкачественных заболеваний гортани), кисты и гранулемы (контактные и

интубационные) [Алиева С.Б., Азизян Р.И., 2021;DevaneyК. О., RinaldoA., 2004;JobrackA. D., GoelS., 2018].

Частыми причинами предраковых заболеваний гортани являются: голосовая травма, нисходящее воспаление из носоглотки, гастроэзофагофарингеальный рефлюкс, сигаретный дым, нервно-психические нарушения, факторы диеты и др. [Дайхес Н.А., 2009; Белякова Е. Н., 2021;RamrothН., DietzA., 2008;RischA., RamrothН., 2003].

Особый интерес с точки зрения малигнизации представляют следующие патологические изменения:

Хронический ларингит. Среди наиболее частых причин заболевания необходимо выделить длительные голосовые нагрузки, неправильное пользование голосом, фаринголарингеальный рефлюкс, профессиональные вредности, вредные привычки, хронические заболевания лёгких и инфекционные факторы. [Карпищенко С.А., 2004;LewinJ. S., GillenwaterA.M., 2003], в результате продолжительного воздействия которых нарушается трофика тканей, изменяется их реактивность, развивается дистрофический процесс. В зависимости от глубины этого процесса хронический ларингит подразделяют на катаральный, гиперпластический (гипертрофический) и атрофический. У больных катаральным ларингитом на первый план выступают расстройства местного кровообращения и изменения со стороны покровного эпителия, который на отдельных участках может метаплазироваться из цилиндрического в плоский, разрыхляется и слущивается. В подэпителиальном слое обнаруживают круглоклеточную инфильтрацию [Дайхес Н.А., Быкова В.П., 2009; Быкова В.П., 1993; Шевчук И.В., 2000].

Морфологическая сущность гиперпластического ларингита характеризуется разрастанием соединительной ткани в собственном слое слизистой оболочки за счёт появления экссудата, что обуславливает утолщение мягких тканей. Хронический гиперпластический ларингит может быть диффузным и ограниченным. Клинически невозможно отличить хронический гиперпластический ларингит от эпителиальной дисплазии или интраэпителиальной неоплазии [Дайхес Н.А., Быкова В.П., 2009; Eckel H.E., 2008; Kleinsasser O., 1963; Lindeberg H., Krogdahl A., 1997].

Особое анатомическое и гистологическое строение пространства Рейнке предопределяет возможность развития здесь группы так называемых доброкачественных экссудативных поражений голосовых складок, включающих отек Рейнке, голосовые узелки и полипы голосовых складок. Отек Рейнке представляет собой хроническое, диффузное, в основном двустороннее отечное набухание мембранозной части голосовых складок. В развитии отека определенную роль играют четкие морфологические границы пространства и недостаточный лимфатический дренаж, связанный со слабым развитием лимфатических сосудов. [Бабияк В.И., Накатис Я.А., 2005; Heyes R., Lott D. G., 2017; Thompson L.D.R., 2006].

Микроскопическая картина определяется избыточным скоплением жидкости в интерстиции, утолщением стенок кровеносных сосудов и их расширением в виде телеангиоэктазий, а также отеком и утолщением базальной мембраны покровного эпителия. Изменения покровного многослойного плоского эпителия носят реактивный характер типа базальной и парабазальной гиперплазии. В редких случаях (1,7%) отмечаются явления дисплазии эпителия I и II степени [Быкова В.П., 1993; Dreyer T, Glanz H. 2004; Eckel H.E., 2008].

Узелки голосовых складок – опухолеподобные образования на медиальной поверхности истинных голосовых складок, возникающие вследствие голосовой травмы. Имеют вид отечных желатинозных, иногда геморрагических, возвышений слизистой оболочки веретенообразной формы, противостоящих друг другу, размерами до нескольких миллиметров. В отличие от узелков полип голосовой складки располагается на желудочковой поверхности одной из голосовых складок в виде мягкого, просвечивающего, эластичного образования иногда ярко-красного цвета размерами более сантиметра, может быть на широком основании, позднее формируется тонкая ножка; полип свободно смещается во время вдоха и выдоха, западая в голосовую щель. Электронно-микроскопически узелки отличаются утолщением эпителия, разрывом межклеточных контактов и местами отсутствием базальной пластинки [Бабияк В.И., Накатис Я.А., 2005;Heyes R., LottD. G., 2017].

Микроскопически выделяют отечный, или миксоидный, полип и ангиоматозный полип, для которого характерно наличие расширенных тонкостенных сосудов капиллярного и синусоидного типов, обычно с выраженными расстройствами кровообращения: стазами, тромбозом, плазморрагиями, диапедезными кровоизлияниями. Со временем нарастает фиброз стромы, могут выявляться отложения гемосидерина с сидерофагами в составе клеточной инфильтрации (фиброзный полип). Часто строма полипа подвергается гиалинозу (гиалинизированный полип). Многослойный плоский эпителий, покрывающий эти образования, как правило, подвергается атрофии с резким уменьшением количества слоев. Иногда голосовые узелки и полипы голосовых складок сочетаются с воспалительными изменениями слизистой оболочки голосовых складок, что и приводит к малигнизации. Сами по себе узелки не малигнизируются [Бабанов С., Будащ Д., 2017].

Кисты гортани – полостные опухолеподобные образования, выстланные эпителием. Слизистая оболочка кисты может быть истончена, выстлана кубическим или цилиндрическим эпителием, иногда многослойным плоским эпителием вследствие эпидермизации железистого протока. Иногда цилиндрический эпителий кисты подвергается онкоцитарной трансформации (онкоцитарная киста). На сегодняшний день требуется количественная оценка связи между кистами гортани и сопутствующим злокачественным новообразованием, и риском малигнизации кист [Зыкова Л.Д., Мирошникова Е.З., 2000; Heyes R., Lott D. G., 2017].

Контактные язвы и гранулемы гортани – доброкачественные воспалительные изменения голосовых складок, возникающие при повреждении слизистой оболочки голосовых отростков черпаловидных хрящей, а иногда и ткани самого хряща [Высоцкая И.В., Летягин В.П., 2019].

Микроскопически выявляется избыточная грануляционная ткань с выраженным воспалительным инфильтратом из полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов, макрофагов. Эпителий может быть с участками некроза, характерно наличие акантотических погружений по краям изъязвления, иногда появление псевдопапилломатозных разрастаний многослойного плоского эпителия [Краевский Н.А, Смольяникова А.В., 1993].

Гранулемы встречаются чаще у мужчин 40–50 лет, не имеют тенденции к малигнизации. Частота рецидивов составляет 92%, в т. ч. после удаления образования с обнажением перихондрия голосового отростка черпаловидного хряща [Storck C., Brockmann M., 2009; Devaney K.O., Rinaldo A., 2005].

Плоскоклеточная папиллома (ПП) гортани — доброкачественная опухоль сосочкового строения, исходящая из многослойного плоского эпителия. Это доброкачественное образование является одним из самых неблагоприятных поражений среди близких ему сосочковых образований плоского эпителия. ПП гортани отличается множественностью поражения, склонностью к возникновению рецидивов и распространению на соседние области после хирургического удаления, в силу чего данное заболевание рекомендуют называть рецидивирующим папилломатозом гортани (РПП), что более правильно отражает особенности клинического поведения этого новообразования, ассоциированного с вирусом папилломы человека (HPV) [Беякова Е.Н., 2021; Klusmann J.P., Dinh S., 2004].

ПП гортани взрослых могут трансформироваться в злокачественную опухоль, что нередко отмечается у злостных курильщиков или лиц, получавших радиационную терапию. Первое место по склонности к малигнизации занимают ПП гортани, вызванные HPV с генотипом 11, далее следуют генотипы 16 и 18. Характерны выраженные субэпителиальные воспалительные изменения с лимфоидно-плазмоцитарной инфильтрацией [Захарова М.Л., Павлов П.В., 2017; Orita Y., Gion Y., 2018].

Ларингеальные гемангиомы (ЛГ) — относительно редкие доброкачественные опухоли сосудистого происхождения, подразделяются на капиллярные и кавернозные [Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2005]. В литературе встречаются редкие указания на возможность малигнизации гемангиом [Haight J.S.J., Novik A.M., 1979].

Ларингеальные параганглиомы (ЛП), более известные как хемодектомы гортани, — редко встречающиеся доброкачественные опухоли, происходящие из нехромоаффинных параганглиев — анатомических

образований рассеянной нейроэндокринной системы, клетки которой происходят из невральных гребешков (APUD-система). Малигнизация параганглиом гортани, в отличие от параганглиом другой локализации, исключительно редкое явление [Бежанова С.Д., Хасанов Р.А., 2017]. Редкие наблюдения отдаленных метастазов в легкие и печень сомнительны, так как нельзя исключить возможности наличия первично множественной параганглиомы [Соколов В.Н., Бондарь А.В., 2021].

Зернистоклеточная опухоль (ЗКО), или опухоль Абрикосова, – относительно частая доброкачественная медленно растущая опухоль спорного гистогенеза. Покровный эпителий этих опухолей нередко обнаруживает признаки псевдоэпителиоматозной гиперплазии, имитируя рост плоскоклеточного рака [Thompson L.D.R., 2006]. Частота озлокачествления ЗКО составляет 2–3%, трехлетняя смертность – 60% [Jobrack A. D., Goel S., 2018].

Хондромы гортани – весьма редкие, хорошо отграниченные, небольшие (менее 2 см) хрящевые опухоли, которые чаще всего растут из печатки перстневидного и пластинок щитовидного хряща, исключительно редко происходят из хряща надгортанника [Evans H.I., Ayala A.G., 1977]. Вероятность злокачественности хрящевых опухолей гортани увеличивается с возрастом, но процент малигнизации в литературе не описан [Baatenburg de Jong R.J., van Lent S., 2004].

Рабдомиома гортани — доброкачественная опухоль из поперечнополосатой мышечной ткани, — в отличие от рабдомиосаркомы гортани исключительно редкая опухоль. Несмотря на то, что рабдомиома – доброкачественное образование, оно имеет тенденцию к перерождению в злокачественное [Захарова М.Л., Павлов П.В., 2017].

Фиброма — редкая опухоль гортани, не дает рецидивов и не требует радикального вмешательства. В редких случаях опухоли подобной гистологической структуры обнаруживают признаки инвазивного роста и метастазируют [Thompson L.D.R., Gannon F.H., 2002].

Клинический опыт показывает, что рак гортани редко развивается в здоровом органе. Обычно ему предшествует длительно текущий хронический воспалительный процесс (хронический ларингит, пахидермия), нарушения ороговения (кератозы, лейкоплакия), некоторые опухолеподобные процессы, которые сопровождаются реактивными изменениями эпителия. Эти изменения, в основе которых лежит пролиферация клеток эпителия, имеют ряд последовательных градаций с определенной морфологической картиной, отражающей постепенные нарушения нормального роста и дифференцировки эпителиальных тканей, получивших название дисплазии. На каком-то этапе они могут стать необратимыми, из-за чего они рассматриваются как потенциально злокачественные поражения. Прогностическая оценка таких поражений, представляющая очень сложную задачу, получила отражение в концепции ларингеальных интраэпителиальных нарушений многослойного плоского эпителия [Дайхес Н.А., Быкова В.П., 2009; Dreyer T, Glanz H., 2004; Lindeberg H., Krogdahl A., 1997].

1.3. Ларингеальная интраэпителиальная неоплазия (карцинома *in situ*)

Внутриэпителиальные неоплазии гортани развиваются в результате длительного курения, вирусных инфекций (папилломавирусы), профессиональных вредностей (асбест, цементная пыль, полициклические углеводороды и др.), физических воздействий (ионизирующая радиация, сухой жар), гастроэзофагеальный рефлюкс [Dietz A. 2004, Dreyer T., Glanz H.,

2004; Klussmann J.P., Dinh S., 2004; Lewin J.S., Gillenwater A.M., 2003; Lindeberg H., Krogdahl A., 1997; Ramroth H., Dietz A., 2008; Riede U.-N., Walch A., 2004; Risch A., Ramroth H., 2003].

Концепция интраэпителиальной неоплазии основана на автономном опухолевом росте. Напротив, выявление дисплазии основано на объективной гистологической диагностике Карцинома *insitu* представляет собой крайне нетипичное изменение эпителия без микроскопической инфильтрации стромы. Атипичный эпителий демонстрирует выраженное нарушение последовательности слоев эпителия, но лежит на неизменной базальной мембране. Дисплазия отражает гистологически определенные предраковые изменения слизистой оболочки. Они характеризуются микроскопическими клеточными и тканевыми изменениями: ядрами гиперхроматических клеток, выраженными ядрышками, измененным ядерно-плазматическим отношением, ядерным полиморфизмом, повышенным числом митозов, митозом в поверхностных слоях клеток, аномальными митозами [Riede U.N., Walch A., 2004].

В ротовой полости, глотке и гортани большая площадь слизистой оболочки часто подвергается воздействию канцерогенных агентов. Часто эти участки повреждаются в результате генетических поломок, способствующих развитию предраковые заболеваний [Farah C. S., Shearston K., 2019].

Гиперплазия (утолщение плоского эпителия) может развиваться вследствие увеличения количества шиповатых клеток эпидермиса в его ростовом слое (акантоз) или расширения слоя базальных/парабазальных клеток (гиперплазия базальных клеток). В случае диффузно растущей ларингеальной интраэпителиальной неоплазии часто наблюдается гиперемия утолщенной слизистой оболочки, которая выглядит как воспалительный

процесс. Такое состояние называется эритроплакией. Тенденция к ороговению физиологически некератинизированного плоского эпителия в связи с акантозом называется кератоз (гиперкератоз, пахидермия). Беловатые утолщения слизистой оболочки, которые невозможно снять, называются лейкоплакией. Причиной могут быть воспалительные, реактивные, а также предраковые или опухолевые поражения слизистой оболочки [Arens C., Glanz H., 2007; Arens C., Isenberg J.S., 2004; Crozier D.L., 2008].

Под метаплазией понимают перерождение дифференцированных тканей определенного типа в дифференцированную ткань другого типа. В гортани чаще наблюдается плоскоклеточная метаплазия: дыхательный мерцательной эпителий переходит в плоскоклеточный. Развитие дисплазии и инфильтрирующего плоскоклеточного рака гортани следует понимать как многоступенчатую последовательность накопления генетических изменений. Генетическая нестабильность, связанная с развитием карциномы, коррелирует с неправильной регуляцией клеточного цикла и последовательными мутациями онкогенов и опухолевых супрессантов [Kleinsasser O., 1963; O'Shaughnessy J.A., Kelloff G.J., 2002].

Развитие карциномы проходит через несколько предварительных стадий, некоторые из которых известны в форме морфологически определенных дисплазий. Поэтому не все дисплазии развиваются в инфильтрирующие карциномы, но и не все инфильтрирующие карциномы развиваются из интраэпителиальной неоплазии. Прогностически благоприятной считается микроинвазивная карцинома, прорастающая на 3-5 мм в нижележащую строму. Инвазивность ограничивается слизистой оболочкой [Kleinsasser O., 1963; O'Shaughnessy J.A., Kelloff G.J., 2002]. Таким образом, только гистологическая диагностика биоптата слизистой оболочки

позволяет четко разграничить патологические процессы [Степанов С.О., Ратушная В.В., 2005; Eckel H.E., 2008].

1.4. Современные методы диагностики рака гортани

1.4.1. Непрямая ларингоскопия

Наиболее распространенным, простым и доступным методом диагностики является зеркальный осмотр, который не всегда позволяет полноценно визуализировать все отделы гортани. Диагностические ошибки при использовании данного метода исследования могут достигать 30–50 % [Унгиадзе Г.В., Вакурова Е.С., 2010; Ni X.-G., He S., 2011].

1.4.2. Эндоскопические методы диагностики

1.4.2.1. Непрямая видеоларингоскопия с применением ригидной оптики

Непрямая ларингоскопия с применением ригидной оптики позволяет оценить состояние слизистой оболочки и структур гортани в целом, однако осмотр гортани и глотки может быть затруднен в связи с некоторыми анатомическими особенностями (короткая шея, крупный язык, гипертрофированные небные миндалины, резко выраженный глоточный рефлекс, ригидный надгортанник), в связи с чем в 20,9% случаев происходят диагностические ошибки [Дайхес Н.А., 2017; Унгиадзе Г.В., Вакурова Е.С., 2010; Шахсуварян С.Б., Поляков Б.И., 2015; Schröck A., Stuhmann N., 2008].

1.4.2.2. Фиброларингоскопия

Из всех методов ранней диагностики опухолей гортани одним из главных остается фиброларингоскопия (ФЛС), как метод уточняющей диагностики злокачественного процесса, а также используется для динамического наблюдения за больными после органосохраняющих операций и радикального курса лучевой терапии, когда на фоне измененных тканей гортани трудно осмотреть и адекватно оценить состояние всех ее

отделов [Клинические рекомендации. Рак ротоглотки, 2018; Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2018; Renner G., 2007;].

ФЛС имеет больше преимуществ в сравнении с непрямой ларингоскопией: легкость и безопасность введения эндоскопа в гортань, улучшенная разрешительная способность оптики, исключающая наличие слепых зон; дополнительный канал фиброскопа позволяет выполнять биопсию непосредственно во время осмотра. Количество диагностических ошибок при применении этого метода сокращается до 3,1% [Подвизников С.О., Чойнзонов Е.Л., 2014; Суровцев И.Ю., Королев В.Н., 2008].

Морфологическое исследование материала, полученного при ФЛС из «подозрительных» участков гортани после проведенного органосохраняющего лечения, позволяет диагностировать первичные опухоли и рецидивы в более ранние сроки и выполнить радикальное лечение, что повышает общую выживаемость больных [Мухамедов М.Р., Черемисина О.В., 2010].

Однако и данный метод не лишен недостатков: ФЛС невозможно провести при стенозе гортани, который часто развивается у пациентов с распространенным опухолевым процессом. К другим недостаткам метода относят низкую информативность при определении распространенности в подслизистом слое опухолей эндофитного и смешанного типа, в том числе нарушающих целостность хрящей гортани [Чесноков А.А., 2011; Narumi T., Kozawa E., 2005].

1.4.3. Эндоскопические методы диагностики с применением дополнительных опций

Одним из эндоскопических признаков злокачественных новообразований является несовершенный ангиогенез, однако не прямая

ларингоскопия и фиброларингоскопия не позволяют детально оценить состояние слизистой оболочки гортани. Для оценки тканевой архитектоники и сосудистого рисунка слизистой оболочки применяют усовершенствованные методы эндоскопической визуализации - NBI-эндоскопию (стандартную и с аутофлуоресценцией), эндоскопию с применением световых фильтров системы SPIES, контактную эндоскопию.

1.4.3.1. Изображение в узком спектре света. Narrow Band Imaging (NBI-эндоскопия)

Применение NBI-эндоскопии (narrow band imaging – изображение в узком спектре света) улучшает визуализацию в сравнении со стандартной эндоскопией путем селективного улучшения контрастности кровеносных сосудов, что достигается путем изменения стандартного светового спектра за счет фильтра, который встроен в источник света и поглощает все длины волн кроме 415 и 540 нм [Bertino G., Cacciola S., 2013; Imaizumi M., Okano W., 2013; Piazza C., Cocco D., 2010; Tjon Pian Gi R.E., Halmos G.B., 2012; Watanabe A., Taniguchi M., 2009].

Световые волны определенного спектра поглощаются исключительно гемоглобином, таким образом, сеть капилляров на поверхности слизистой оболочки окрашена в коричневый цвет, а венозная сеть подслизистого слоя окрашена в голубой цвет, что дает возможность четко визуализировать их на фоне однородно окрашенной слизистой оболочки. Повреждение интраэпителиальных папиллярных капиллярных петель лучше всего дифференцируется с помощью эндоскопической узкополосной визуализации [Piazza C., Del Bon F., 2012].

Результаты ряда исследований показали, что патологический процесс может быть диагностирован путем оценки морфологических изменений

внутриэпителиальной папиллярной капиллярной петли; эти изменения помогают предсказать глубину поверхностной инвазии пищевода. В режиме NBI оптический фильтр пропускает узкополосный синий свет на 415 нм (диапазон 400-430 нм), который в свою очередь проникает в неповрежденную слизистую оболочку и достигает субэпителиальной ткани. Также применяется узкополосный зеленый свет на 540 нм (диапазон 525-555 нм), который проникает глубже в ткани и помогает визуализировать сосуды в подслизистой оболочке. Таким образом, данный метод диагностики играет важную роль в диагностике опухолеспецифического неоангиогенеза [Bertino G., Cacciola S., 2013; Piazza C., Cocco D., 2010; Watanabe A., Taniguchi M., 2009].

Критерии злокачественности хорошо очерчены коричневым цветом с нерегулярными темными пятнами, соответствующими сосудистым атипиям. Наличие одного или нескольких афферентных гипертрофированных сосудов, разветвляющихся на небольшие сосудистые петли или внезапное обрывание в непосредственной близости от очага поражения, указывают на злокачественное или предраковое поражение. Вышеупомянутые критерии не могут быть соблюдены при низкодифференцированной дисплазии (т.е. простая гиперплазия и/или легкая дисплазия) и доброкачественных поражениях (за исключением респираторной папилломы) [Tjon Pian Gi R.E., Halmos G.B., 2012; Imaizumi M., Okano W., 2013].

Диагностическая точность узкополосной визуализации и непрямой ларингоскопии составляет 90,4% и 76,9%, соответственно. Чувствительность узкополосной визуализации при обнаружении злокачественного поражения (карцинома *insitu* или инвазивная карцинома) составляет 88,9 %, что значительно больше, чем у непрямой ларингоскопии (68,9%). Количество ложноотрицательных ответов при проведении узкополосной эндоскопии

(91,7 %) также заметно больше, чем при стандартной визуализации (79,1%). Специфичность и положительная прогностическая ценность узкополосной визуализации составили 93,2 и 90,9 %, соответственно; результаты для визуализация белого света существенно не отличались. Таким образом, узкополосная эндоскопия имеет большую точность в диагностике злокачественных заболеваний гортани, чем непрямая ларингоскопия [Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2017; Tjon Pian Gi R.E., Halmos G.B., 2012].

Значимым положительным эффектом применения узкополосной эндоскопии служит отсутствие необходимости введения лекарственных средств (за исключением местных анестетиков). В связи с этим снижается риск побочных эффектов или осложнений. Другими преимуществами NBI являются удобство в обращении с оборудованием и отличное качество изображения. При проведении NBI очень важно, чтобы видеоэндоскоп был расположен близко к пораженному участку, чтобы можно было надежно оценить состояние сосудистого русла. В большинстве случаев это можно сделать под местной аппликационной анестезией гортани и небольшим давлением на середину подбородка [Свистушкин В.М., Решетов И.В., 2019; Masaki T., Katada C., 2009; Ni X.G., He S., 2011].

Не смотря на перечисленные достоинства метода NBI, у пациентов с выраженным рвотным рефлексом достоверная оценка состояния гортани невозможна, поэтому манипуляцию следует проводить под общим наркозом. Также недостатком проведения узкополосной спектроскопии является высокая стоимость необходимого оборудования [PiazzaC., DelBonF., 2012; WatanabeA., TaniguchiM., 2009].

По данным Kraft M. и др. NBI имеет значительно более высокую чувствительность, чем эндоскопия (89% против 69%) и точность (91% против

81%), специфичность же этих методов сопоставима (93% против 90). [Чучуева Н.Д., Решетов И.В., 2017; Watanabe A., Taniguchi M., 2008; Kraft M., Fostiropoulos K., 2015].

1.4.3.2. NBI-эндоскопия с аутофлуоресценцией (autofluorescence endoscopy (AFE))

NBI ориентирована на выявление раннего рака гортани и дисплазии высокой степени, в то время как NBI-эндоскопия с аутофлуоресценцией обладает способностью выявлять дисплазию слабой степени. При проведении AFE легкая дисплазия демонстрирует легкую потерю аутофлуоресценции, в то время как дисплазия высокой степени и рак гортани имеют выраженную потерю аутофлуоресценции, в то время как при NBI патологические сосуды выявляются только при дисплазии высокой степени [Kraft M., Betz C.S., 2011; Ni X.G., He S., 2011; Watanabe A., Taniguchi M., 2009].

Исследования показали, что AFE, применяемая в сочетании с непрямой ларингоскопией, может улучшить качество диагностики предраковых и злокачественных новообразований гортани. Чувствительность этой комбинации методов сходна с узкополосной визуализацией. Однако AFE имеет низкую специфичность, так как некоторые доброкачественные заболевания (в том числе грануляционная ткань, папилломы и полипы голосовых связок) также показывают снижение уровня аутофлуоресценции. Кроме того, рубцы на слизистой оболочке и воспаление нередко дают ложноположительный результат [Piazza C., Cocco D., 2011; Shinozaki T., Hayashi R., 2012].

Совместное использование этих методов необходимо для более точной диагностики предраковых заболеваний и коррекции способов лечения (например, эксцизионная биопсия при простой гиперплазии и/или дисплазии

слабой степени, вместо хордэктомии). Недостатком АФЕ является необходимость введения специализированных препаратов в гортань (с возможным развитием аллергических реакций).

1.4.3.3. Эндоскопия с применением световых фильтров

Большое диагностическое значение имеет изучение сосудистого рисунка слизистой оболочки гортани с применением световых фильтров системы Storz Professional Imaging Enhancement System, KarlStorz. Режим CLARA гарантирует равномерное освещение всех участков эндоскопического изображения за счет увеличения яркости темных областей, что способствует оптимальной визуализации темных областей и глубоко расположенных структур. Режимы SPECTRA А и SPECTRA В улучшают видимость определенных участков цветового спектра за счет повышения контрастности и сдвига и замены цветового спектра [Нажмудинов И.И., 2018].

1.4.3.4. Контактная эндоскопия

Контактная эндоскопия позволяет визуализировать сосудистую структуру и клеточную архитектуру поверхностных слоев слизистой оболочки, так как по причине высокой митотической активности неопластические клетки окрашиваются более интенсивно. По данным литературы чувствительность метода составляет от 80% до 90%, специфичность от 93.75% до 100%. Преимуществами контактной эндоскопии являются неинвазивность, быстрота и возможность проведения *in vivo*. Недостатком – возможность ее применения исключительно в условиях наркоза [Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2015; Cikojevic D., Gluncic I., 2008; Warnecke A., 2009].

1.4.4. Прямая опорная микроларингоскопия

Прямая опорная микроларингоскопия – один из способов доступа при операциях на гортани с использованием специального инструментария (гортанный клинок с грудной опорой) и хирургического микроскопа или эндоскопа, проводится под наркозом [Нажмудинов И.И, 2018; Jako G.J., 1970; MullerA., VergesL., 2002; Orosco R.K., Lin H.W., 2015; RosenC.A., AndradeFilhoP.A., 2005; TessemaB., SulicaL., 2006]. Микроларингоскопия носит диагностический характер, позволяет оценить подозрительные «находки» в гортани и может быть дополнена биопсией, а также является частью трансоральной хирургии [BenjaminB., LindholmC.E., 2003; FriedrichG., RemacleM., 2007].

Ларингоскопы, используемые при микроларингоскопии, обладают тремя преимуществами, а именно: матово-черной отделкой для предотвращения бликов и отражений от микроскопа, более широким просветом и быстрой стабилизацией изображения, что позволяет оператору освободить обе руки для манипуляций на гортани.

Минусы метода – не всем пациентам возможно провести данный доступ (например, если у пациента короткая шея, выдающийся фронт зубов, оценка III-IV по шкале Маллампати, оценка III-IV по шкале Cormack R.S. и Lehane J.R). [Чучуева Н.Д., Свистушкин В.М., 2018; MullerA., VergesL., 2002; OroscoR.K., LinH.W., 2015; RosenC.A., AndradeFilhoP.A., 2005; TessemaB., SulicaL., 2006; RosenC.A., AndradeFilhoP.A., 2005; KlussmannJ.P., KnoedgenR., 2002; QuanteG., KnoedgenR., 2005; GräfeL., BögerD., 2017].

Также по сравнению с обычной ларингоскопией данный метод имеет еще два основных недостатка: высокая стоимость и большие временные затраты. Проспективный анализ 100 прямых ларингоскопических процедур

показал, что диагностическая точность метода составила 61%. А в сравнении с прямой микроларингоскопией и гистологическим исследованием диагностическая точность увеличилась до 87% [AliA. MuttalibS. Mohammad, QahtanA. Radwan, 2003]

1.4.5. Молекулярные методы диагностики

Рак является гетерогенным заболеванием, включающим сложное взаимодействие различных внутренних факторов и факторов окружающей среды, что приводит к изменениям ДНК, РНК, белков, метаболитов и молекулярной сети. Изменения в выражении и взаимодействии множества молекул приводит к нарушению регуляции клеточных программ, которые способствуют росту раковых клеток и приводят к генетическому нарушению клеточной популяции [DollR., PetoR., 1981].

Поэтому наряду с эндоскопическими методами для диагностики и контроля локорегионарных рецидивов рака гортани применяют молекулярные методы диагностики - определение уровня SCCA и микроРНК [Дайхес н.А., Виноградов В.В., 2021; BestM.G., VancuraA., 2017; SchruppD. S., 2012; SmithA., LangJ., 2012].

1.4.5.1. Определение уровня антигена плоскоклеточных карцином (squamouscellcarcinomaantigen (SCCA))

SCCA –опухоль-ассоциированный антиген плоскоклеточных карцином. Концентрация SCCA отражает степень гистологической дифференцировки опухоли, являясь важным независимым прогностическим маркером. Однако этот маркер является недостаточно чувствительным и обладает низкой специфичностью, кроме того, он обнаруживается при диагностике плоскоклеточных карцином различных локализаций [Артюх С.В., Сухина

Е.Н., 2018; Дайхес Н.А., Трофимов Е.И., 2012; Kandiloros D., Eleftheriadou A., 2006; Kopfstein L., Christofori G, 2006].

1.4.5.2. Определение уровня микроРНК

МикроРНК – малые некодирующие молекулы РНК длиной в среднем 21 нуклеотид, обнаруженные у растений, животных и некоторых вирусов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путем РНК-интерференции. Злокачественные опухоли характеризуются неконтролируемым делением клеток, фенотип которых определяется нарушением экспрессии различных генов, поэтому образование микроРНК часто нарушено в клетках различных опухолей, в связи с чем повышается уровень циркулирующих микроРНК [Салеева Д.В., Михайлов В.Ф., 2018; Smith A., Lang J., 2012].

1.4.5.3. Multi-omics стратегии

Интуитивная, профилактическая и персонализированная медицина является новым многообещающим подходом, способствующим более точному прогнозированию, диагностике, а также эффективному лечению, опирается на идентификацию и валидацию биологических маркеров, биохимических или молекулярных изменений тканей, клеток или жидкостей. Последние разработки в области OMICS-технологий привели к выявлению различных прогностических и диагностических биомаркеров рака [Golubnitschaja O., Baban B., 2016; Kinkorová J., 2016].

Опухолевая ткань, полученная на биопсии, используется для поиска биомаркеров. Свежие, замороженные и фиксированные формалином ткани предоставили в исследованиях ценную информацию для клинической диагностики и лечения с применением геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики [Overman M.J., Modak J., 2013]. Анализ крови

позволяет выявить не только типичные биомаркеры (ДНК, РНК, белки и метаболиты), но другие материалы, такие как РНК тромбоцитов, циркулирующие опухолевые клетки и циркулирующие опухолевые ДНК применяемые в диагностике рака [Best M.G., Vancura A., 2017; Bielikova Z., Jakabova A., 2017; Kanikarla-Marie P., Lam M., 2017].

Опухолевая ДНК является перспективным неинвазивным биомаркером рака и представляет большой интерес. Она имеет преимущество в доступности и используется для диагностики рака, прогнозирования течения заболевания, а также в качестве руководства для лечения больных раком различных гистологических типов. Исследования по обнаружению опухолевой ДНК накапливаются, поскольку ДНК может быть связана с генетической предрасположенностью к опухолевым заболеваниям [Han X., Wang J., 2017; Schrupp D.S., 2017]. Опухолевая ДНК как новый биомаркер для контроля локорегионарных рецидивов опухоли обнаруживалась и у пациентов с раком головы и шеи во время наблюдения после лечения [Van Ginkel J.H., Huibers M.M.H., 2017]. OMICS исследования слюны наравне с исследованием крови также привели к выявлению предполагаемых биомаркеров рака головы и шеи [Lacombe J., Brooks C., 2017].

Геномика выявляет инфраструктуру генома с помощью ДНК-секвенирования и анализа генетического полиморфизма. Системный геномный подход с использованием технологий секвенирования нового поколения (next generation sequencing [NGS]) может объяснить ассоциации генотип-фенотип. Изучение генома расширило понимание развития рака, в частности, роль мутаций ДНК в развитии различных типов рака, и помогает в разработке и прогнозировании эффективности новой терапии. Транскриптомика используется для изучения транскриптома, который является предшественником протеома, полного набора белков,

экспрессируемых геном. Профилирование экспрессии мРНК с недавними достижениями в РНК интерференционном (RNAi) скрининге и секвенировании РНК (RNA-seq) с использованием NGS-технологии привели к открытию прогностических биомаркеров. Таким образом, исследование биомаркера на основе протеома является важным аспектом в диагностике опухолевых заболеваний [Xue Y., Lameijer E.W., 2016].

Все виды рака содержат мутации в своем геноме, некоторые из которых имеют глубокое влияние на биологию раковой клетки, вызывая опухолевый рост. С развитием NGS стала доступна транскриптомная информация о геноме опухоли, которая предоставила возможности для геномной и транскриптомной профилактической и персонализированной медицины, которая повлияла на клиническую практику в онкологии с помощью целого генома, целого экзона и целого транскриптома. Исследования генома рака на основе NGS ускорили исследования этиологии рака и позволили определить индивидуальные методы лечения, основанные на профилях мутаций, характерных для данной опухоли [Dong L., Wang W., 2015; Lehmann-Che J., Poirot B., 2017; Mardis E.R., 2013; Meyerson M., Gabriel S., 2010].

Транскриптомика — это изучение транскриптома; то есть полного набора транскриптов РНК. Транскриптомика позволяет сравнивать экспрессию генов в различных условиях и сборку транскриптома, включая обнаружение новых генов, некодирующих РНК и новые варианты сплайсинга известных генов в качестве альтернативы для секвенирования генома [Goodwin S., McPherson J.D., 2016].

Протеомика, в отличие от геномики, оценивает белки и обеспечивает понимание биологических процессов развития рака, включая сложное взаимодействие генетических факторов и факторов окружающей среды.

Чтобы понять роли белков у больных раком, исследовались различные сложные биологические образцы — включая ткани, кровь и слюну. Протеомные технологии также позволяют оценить динамику экспрессии белка, его локализацию и новые биомаркеры. Высокопроизводительный скрининг ускорил идентификацию и количественную оценку биомаркеров и предоставил функциональную информацию о биологии и молекулярных особенностях рака. Профилирование и сравнительная протеомика образцов рака способствовала раннему обнаружению и новым терапевтическим стратегиям лечения рака [Di Meo A., Pasic M.D., 2016; Zhou L., Wang K., 2016].

Рак — это метаболическое заболевание, которое включает онкогены, которые кодируют метаболические ферменты и метаболический дисбаланс. Ожирение увеличивает риск развития рака. Метаболом является наиболее фундаментальным биохимическим индикатором биологических систем. В отличие от транскриптомики и протеомики, профилирование метаболома, который является суммой низкомолекулярных метаболитов в качестве конечных продуктов клеточных процессов, может дать представление о воздействии окружающей среды или состояния здоровья на клетки [DiPoto C., Ferrarini A., 2017].

Таким образом, OMICS-технологии являются многообещающим исследованием для диагностики опухолевых заболеваний, однако находятся в стадии научных разработок без практических рекомендаций.

1.5. Лучевые методы диагностики

1.5.1. Компьютерная томография

Компьютерная томография является ведущим методом в рентгенодиагностике новообразований гортани, наиболее информативна при

диагностике первичных опухолей гортани. Для уточнения границ новообразования и определения состояния крупных сосудов шеи целесообразно использовать внутривенное контрастирование. Во всех случаях исследование выполняется в двух проекциях (аксиальной и фронтальной), с толщиной томографического среза 2-3 мм, в нативном режиме и с внутривенным контрастированием в объеме 50-100 мл, при этом послойное исследование предпочтительнее спирального, так как обеспечивает более четкую визуализацию мелких костных структур. Однако во всех этих областях нельзя с достаточной точностью отличить опухоль от полипа или аденоидов от злокачественной опухоли даже при внутривенном контрастировании до появления признаков инвазии окружающих тканей. Также недостатком этого метода является то, что возможности дифференцирования мягких тканей ограничены [Дюнебир Э., 2013; Рябова М.А., Улупов М.Ю., 2014; Сорокин И.В., Коробкин А.С., 2018; Серова Н.С., Шебунина А.Б., 2019; Becker M., Zbären P., 1995].

1.5.2. Магнитно-резонансная томография

Диагностические преимущества МРТ (по сравнению с другими методами получения изображения) основаны на возможности построения анатомических изображений с учетом нескольких физических параметров, особенно если применяются методики внутривенного введения специальных, парамагнитных контрастных препаратов, изменяющих физические параметры исследуемых органов и тканей. МРТ позволяет четче дифференцировать мягкие ткани, судить о границах инвазии. Однако в ряде случаев возникают трудности в определении точных границ опухоли даже при применении контрастного препарата из-за наличия зоны перифокального воспаления, способной накапливать контрастный препарат [Дюнебир Э.,

2013; Сдвижков А.М., Васильев П.В., 2007; Сорокин И.В., Коробкин А.С., 2018].

1.5.3. Позитронно-эмиссионная томография с

18F-фтордезоксиглюкозой (ФДГ)

Ряд исследований при раке гортани показал, что для оценки распространенности патологического процесса и, в частности, метастазирования в регионарные лимфатические узлы, важную роль играет позитронно-эмиссионная томография, которая, по данным исследований, в 13,7% случаев может изменить стадию TNM и план лечения [Lonpeux M., Namoir M., 2010]. Точность ПЭТ/КТ составляет 88,8%, превосходя МРТ (точность 66,6%). Чувствительность и специфичность для выявления регионарных метастазов составила 100% и 84,6% для ПЭТ/КТ по сравнению со 100% и 50% для МРТ/КТ соответственно [Yoshida K., Suzuki A., 2009; Rodrigues R.S., Bozza F.A., 2009].

Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что контрастирование усиливает двухфазную ПЭТ/КТ и способствует более детальной диагностике по сравнению с другими методами первичной оценки опухолей гортани.

Анатомические методы визуализации (КТ и МРТ с внутривенным контрастированием) играют неоспоримую роль в определении первичной опухоли. В свою очередь ПЭТ/КТ обладает более высокой чувствительностью в выявлении первичных опухолей. Однако некоторые исследования показали, что МРТ и КТ не способны определить первичные опухоли, локализованные в слизистой оболочке. Эти поражения слизистой оболочки были точно обнаружены при ПЭТ/КТ с 18F-FDG. Таким образом, чувствительность 18F-FDG ПЭТ/КТ при выявлении первичных опухолей

составила 100% по сравнению с чувствительностью 93,3% для МРТ/КТ [BielcikovaZ., JakobovaA.,2011].

1.5.4. Ультразвуковые методы диагностики

В литературе описаны исследования, в которых показана высокая диагностическая ценность ультразвукового исследования (УЗИ) как неинвазивного метода оценки подвижности голосовых связок. Основной целью применения метода УЗИ с использованием высокочастотных датчиков при опухолях гортани служит выявление первичной опухоли, деформации и деструкции гортани, инвазии опухоли в окружающие ткани, пищевод, магистральные кровеносные сосуды шеи, а также обнаружение метастазов в регионарных шейных лимфатических узлах и печени [Долгушин Б.И., Тюрин И.Е, 2016;Hu Q., Zhu S.Y., 2011; Tsai C.G., Chen J.H., 2009; Xia C.X., Zhu Q., 2013].

Высокая разрешающая способность датчиков (14 МГц) позволяет детально изучить строение хрящей гортани и дифференцировать участки деструкции, а также определить признаки опухолевой инвазии в хрящи [Hu Q., Zhu S.Y., 2011; Tsai C.G., Chen J.H., 2009; Xia C.X., Zhu Q., 2013]. Улучшение визуализации за счет контрастирования позволяет повысить диагностическую ценность метода для различения опухолевых и фиброзных изменений, выявления распространения опухоли на хрящи гортани [Аллахвердиева Г.Ф., Синюкова Г.Т., 2019]. Метод имеет возрастные ограничения, так как с возрастом слой собственно хряща истончается, а в надхрящнице откладываются соли кальция [Hu Q., Zhu S.Y., 2011; Tsai C.G., Chen J.H., 2009; Xia C.X., Zhu Q., 2013].

При сравнении данных УЗИ с результатами гистологического исследования у пациентов с раком гортани и гортаноглотки совпадение

выявлено 91,9 % случаев – несовпадение – в 8,1%. Таким образом, чувствительность УЗИ в обнаружении опухоли гортани и гортаноглотки составила 94,1 %, точность 91,9 %, эффективность 47,0 %, прогностическая ценность положительного результата - 97,5 %. При оценке подвижности голосовых связок данные УЗИ совпадают с результатами фиброскопии у 95,5% пациентов и не совпадают у 4,5 % пациентов. Высокие показатели информативности при УЗИ получены при оценке распространения опухоли на щитовидный, перстневидный и черпаловидный хрящи гортани: чувствительность метода составила 95,7; 77,8 и 91,7 % соответственно, специфичность – 98,4; 100,0 и 97,3 %, точность – 97,7; 97,7 и 96,5 % [Аллахвердиева Г.Ф., Синюкова Г.Т., 2019].

1.5.5. Интервенционная диагностика новообразований гортани

Одним из методов диагностики рака гортани является чрескожная гарпунная биопсия под контролем УЗИ с последующим гистологическим исследованием. [Гафурова А.И., Виноградов В.В., 2019].

Исследования по этой методике в 95% случаев подтвердили злокачественное поражение гортани, особенно в отношении плоскоклеточного рака различной степени дифференцировки.

К осложнениям данного метода диагностики относят умеренно выраженный болевой синдром (до 10% случаев) и гематому в области биопсии (до 2% случаев), которые купируются локальной гипотермией и однократным назначением анальгетиков [Дайхес Н.А., Виноградов В.В., 2018].

1.5.6. Оптическая когерентная томография (ОКТ)

Оптическая когерентная томография – метод, который сочетает в себе широкополосный, низкокогерентный источник света с интерферометрией, в

результате чего получают изображения высокого разрешения, что позволяет получить больше информации о характере поражения гортани [Burns J. A., 2012].

В отоларингологии ОКТ применяется для изучения хронических воспалений слизистой оболочки гортани, опухолеподобных образований слизистой оболочки гортани и злокачественных опухолей гортани. ОКТ опирается на анализ разностей фаз и интенсивности в рассеянном свете, чтобы выявить различия в структуре ткани. Современные устройства ОКТ, используемые в клинических исследованиях имеют разрешение около 10 мкм и глубину проникновения до 2 мм в большинство мягких тканей. По аналогии с ультразвуковой диагностикой, ОКТ использует световые волны ближнего света для получения изображений в поперечном сечении. В последнее время возможности ОКТ расширились и теперь включают визуализацию твердых тканей для оценки эпителиальных и субэпителиальных структур по всему телу. [Hanna N., Saltzman D., 2005; Wong B.J., Jackson R.P., 2005].

Томографический сигнал на изображениях нормальной слизистой оболочки, постепенно угасая, сохраняется до конца изображения, что связано с рыхлым строением соединительной ткани. Наличие и характер включений зависят от присутствия в подслизистом слое кровеносных сосудов, скоплений слизистых желёз и лимфоидных элементов, визуализирующихся по-разному. При инвазивном плоскоклеточном раке гортани были выделены такие характерные томографические признаки, как бесструктурность изображения (горизонтально ориентированные зоны на томограмме не визуализируются), быстрое угасание полезного сигнала и оптическая однородность изображения [Гришанов В.Н., 2015; Narumi T., Kozawa E., 2005].

Ряд исследований показал, что ОКТ может использоваться для четкой идентификации базальной мембраны внутри голосовой складки, что позволяет наиболее точно выделить пациентов с ЗНО T1, карциномой *in situ* и доброкачественными опухолями [Armstrong W. B., Ridgway J. M., 2006; Luerssen K., Lubatschowski H., 2005; Torkian B.A., Guo S., 2006; Wong B.J., Jackson R.P., 2005]. Достоинством данного метода является его неинвазивность, применение безопасного маломощного ближнего инфракрасного света для окрашивания тканей. ОКТ позволяет избегать прямого контакта с тканями (как это делает ультразвук), поэтому есть потенциал для разработки бесконтактных устройств, устанавливаемых на хирургические микроскопы, а также на жесткие или гибкие эндоскопы [Shen B., Zuccaro G., 2004].

1.6. Флуоресцентная диагностика с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М»

Перспективным и интересным, но неизученным в области головы и шеи является метод флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М». Аппарат «ИнСпектр-М» в течение нескольких секунд производит измерение флуоресцентного спектра исследуемого объекта, определяет спектральное положение и относительные интенсивности флуоресцентных спектральных линий, что позволяет визуализировать изменение слизистой оболочки гортани в ранние сроки.

Структураспектровфлуоресценцииикомбинационнорассеянияизучаемого биообъекта служит информативной характеристикой определенного вида ткани, как в норме, так и при патологии. Метод флуоресцентной диагностики отличается высокой скоростью получения информации об изучаемом биологическом объекте, отсутствием дополнительных расходных реагентов, простотой применения и высокой точностью измерений, что

позволяет использовать метод в клинической медицине для экспресс-диагностики природы патологического процесса, оценки его в динамике и др.[Александров Н.С., 2019; Александров М.Т., 2017; Kraft M., Betz C.S., 2011; Bhat S., 2012].

Лазерно-спектрофотометрические данные исследуемой ткани интерпретируются с использованием методов математического анализа, что позволяет получить объективные количественные параметры в реальном времени[Александров М.Т., 2008].

Метод флуоресцентной диагностики зарекомендовал себя, по данным литературы, как малоинвазивный, высокочувствительный, быстрый метод диагностики [Александров Н.С., 2019; Александров М.Т., 2008; Kraft M., Betz C.S., 2011; Bhat S., 2012].

На сегодняшний день диагностика с применением флуоресцентных технологий широко применяется в различных направлениях медицины, таких как урология, маммология, акушерство и гинекология и др.[Александров Н.С., 2019; Александров М.Т., 2008; Вакуловская Е. Г., Летагин В. П., 2003; Bhat S., 2012].

Метод флуоресцентной диагностики был апробирован в стоматологической практике для оценки состояния гигиены полости рта и твердых тканей зуба при лечении кариеса [Александров М.Т., 2008; Попов С.Н., 2011], а также для проведения онлайн-мониторинга эффективности механической и медикаментозной обработки корневых каналов зубов, проведения коррекции применяемого антисептика. В научной литературе описан успешный опыт спектрального анализа тканей зуба при различных заболеваниях и обоснована необходимость повышения эффективности патогенетической диагностики и лечения кариеса зубов с использованием экспресс-метода лазерно-флюоресцентной диагностики [Александров М.Т.,

2008], а также в области челюстно-лицевой хирургии при воспалительных заболеваниях одонтогенной природы [Александров М.Т., 2008].

Флуоресцентная спектроскопия является эффективным методом диагностики почечноклеточного рака, позволяющим идентифицировать как опухоль, так и неизмененную ткань почки с точностью разделения до 95,3%, при этом чувствительность и специфичность метода составляют 89,2% и 100%, соответственно, открывая перспективу его использования не только в лабораторных условиях, но и на до- и интраоперационном этапах диагностики [Александров Н.С., 2019].

Метод флуоресцентной диагностики был использован в маммологии при оценке распространенности опухолей молочной железы, в 71,3% случаев зона изменений при проведении данного метода превышала клинически определяемую [Вакуловская Е. Г., Летягин В. П., 2003].

Преимуществами метода флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» являются возможность использования в условиях как *in vivo*, так и *in vitro*; высокие специфичность и аналитическая и диагностическая чувствительность; получение результатов в максимально короткие сроки (секунды); высокая производительность, простота выполнения и доступность [Kraft M., Betz C.S., 2011]. Объективизация при проведении исследования достигается путем обработки полученных данных программным обеспечением.

Оценить адекватность лечения *in vivo* - намного более сложная задача, выполняемая при соблюдении определенного алгоритма диагностики и оценки динамики проводимой терапии.

Метод диагностики с применением флуоресцентных технологий при

опухолях гортани ранее не применялся, в связи с чем представляет интерес для изучения.

1.7. Заключение

Несмотря на большое число существующих методов оптической визуализации опухолей гортани - непрямая ларингоскопия, непрямая видеоларингоскопия с применением ригидной оптики, фиброларингоскопия, NBI-эндоскопия, NBI-эндоскопия с аутофлуоресценцией (AFE), эндоскопия с применением световых фильтров системы SPIES, контактная эндоскопия, оптическая когерентная томография (ОКТ), диагностика рака *in situ* составляет только 2,3-6% от первично выявленных опухолей гортани. Интервенционная диагностика новообразований гортани, молекулярные методы диагностики - определение уровня SCCA, определение уровня микроРНК, применимы только при местнораспространенных опухолевых процессах. Multi-omics стратегия — это современное, перспективное направление, находящееся, в настоящее время, на стадии разработки, без четких рекомендаций для возможного применения в практическом здравоохранении. Лучевые методы диагностики - компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой (ФДГ), ультразвуковые методы диагностики не дают окончательного подтверждения диагноза, так как заключение по-прежнему дается на основе гистологического исследования. Несмотря на обилие методов визуализации не решена проблема прецизионности выполнения биопсии.

Существующие различные способы не решают проблему сложности выбора участка для биопсии, который по-прежнему является конечным пунктом в постановке диагноза. В связи с этим поиск универсального

малоинвазивного метода ранней диагностики опухолей гортани остается актуальным.

Экспериментальные данные, полученные в области стоматологии, урологии и онкомамологии говорят о высокой информативности метода с применением флуоресцентных технологий, в связи с чем необходимым и обоснованным является определение возможности применения данного метода в оториноларингологии для ранней диагностики опухолей гортани.

ГЛАВА 2: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика больных

Исследование основано на анализе результатов обследования 102 пациентов в возрасте от 24 до 85 лет (средний возраст $55,4 \pm 7,6$), 68 (66,7%) из которых с подозрением на опухоли и предраковые заболевания гортани и 34 (33,3%) с паралитическими стенозами гортани, находившихся на лечении в онкологическом (головы и шеи) отделении ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России (клиническая база кафедры оториноларингологии факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России) с 2018 по 2021 год.

Так как для подтверждения данных, полученных при проведении флуоресцентной диагностики, было необходимо выполнение биопсии с последующим гистологическим исследованием, было принято решение о наборе группы сравнения из числа пациентов с паралитическими стенозами гортани, госпитализированных в отделение онкологии головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России для проведения хирургического лечения в объеме задней хордрезекции.

Пациенты с злокачественными опухолями и предраковыми заболеваниями гортани включались в исследование методом сплошной выборки из числа пациентов, осмотренных амбулаторно в поликлинике и впоследствии госпитализированных в онкологическое (головы и шеи) отделение ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России, в соответствии с критериями включения и невключения в период с сентября 2018 года по декабрь 2021 года. Набор пациентов в группы проводился до момента формирования

достаточного для получения достоверных результатов объема. (Герасимов А.Н., 2007).

Распределение пациентов, включенных в исследование, по полу и возрасту представлено в таблицах 1 и 2.

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.

Таблица 2 – Распределение пациентов, включенных в исследование, по возрасту.

Исследуемые группы пациентов		Распределение пациентов по возрасту, годы
Группа сравнения (n = 34)		54,4±7,3 (min 20, max 74)
Основная группа	1-ая подгруппа (n = 34)	54,1 ±6,8 (min 24, max 82)
	2-ая подгруппа (n = 34)	54,1 ±7,1 (min 31, max 84)

Средний возраст пациентов в 1-ой подгруппе основной группы составил 54,1 ±6,8 года, во 2-ой подгруппе основной группы 54,1 ±6,8 года, в группе сравнения – 54,1 ±7,1 года.

Таким образом, опираясь на вышеперечисленное, можно сделать вывод, что основная группа и группа сравнения сопоставимы по основным показателям (полу, возрасту), что позволяет проводить сравнительный анализ результатов обследования пациентов этих групп.

В соответствии с целью и задачами исследования работа была разделена на 4 этапа:

1. Изучение диагностических возможностей метода диагностики с применением флуоресцентных технологий (аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М»);

2. Регистрация данных, полученных при обследовании здоровых добровольцев, - для получения показателей, регистрируемых на интактной слизистой оболочке, с последующим проведением сравнительного анализа полученных результатов);

3. Определение чувствительности и специфичности метода диагностики с применением флуоресцентных технологий;

4. Обоснование возможности и перспектив применения метода диагностики с применением флуоресцентных технологий для экспресс-диагностики опухолевых заболеваний гортани.

После определения диагностических возможностей разработанного метода с применением флуоресцентных технологий выполнялся набор пациентов в основную группу и группу сравнения, далее всем больным, поступившим в стационар, проводилась эндоскопическое обследование с применением гибкой оптической системы Olympus, пациентам основной

группы выполнялась диагностика с применением флуоресцентных технологий, в ходе которой выполнялась прицельная биопсия с последующим гистологическим исследованием, пациентам группы сравнения выполнялась флуоресцентная диагностика, гистологическое исследование выполнялось после проведения задней хордрезекции. Последовательность проведения исследования представлена на рисунке 1.

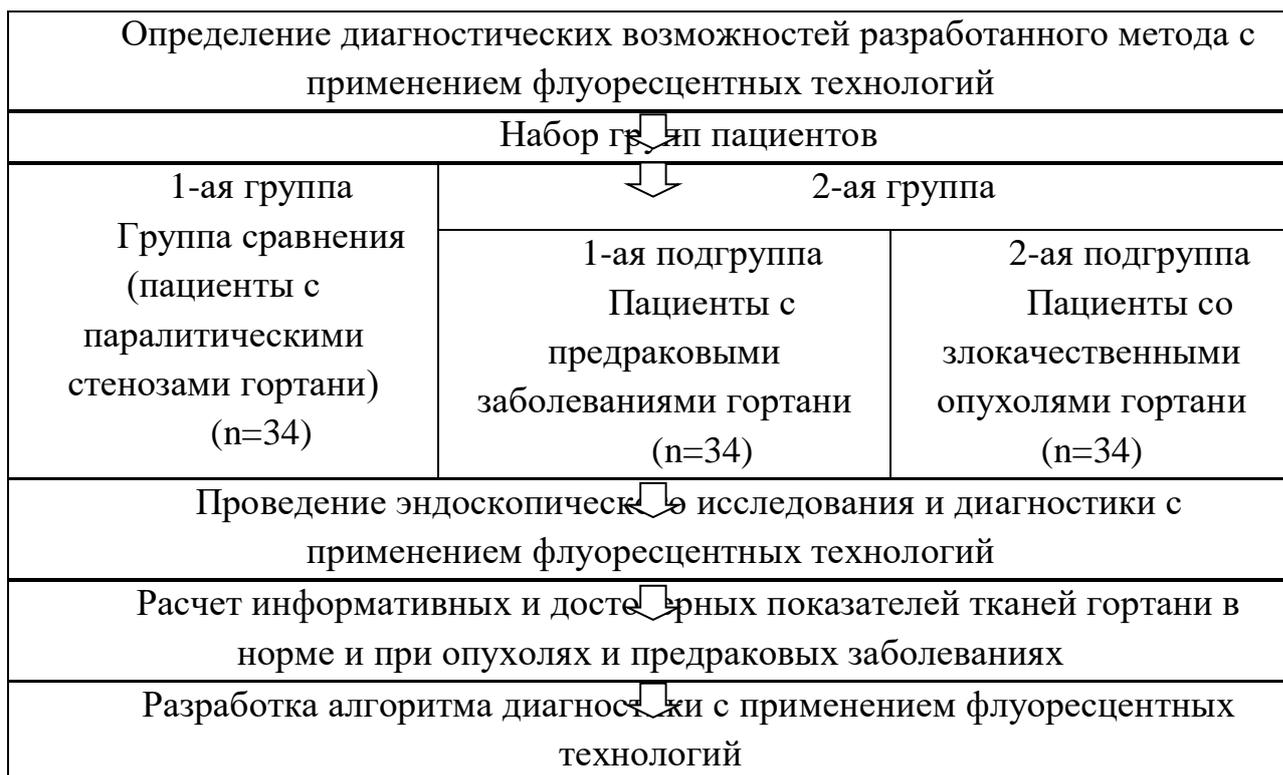


Рисунок 1. Дизайн исследования (N – количество обследованных пациентов).

В подгруппу 1 основной группы было включено 34 (33,3%) пациента с предраковыми заболеваниями (папилломы, хронический гиперпластический ларингит, дисплазия 1-2 степени), в подгруппу 2 – 34 (33,3%) пациента с 0 (in situ), I и II стадией рака гортани, что соответствует $T_{is-2}N_0M_0$ (в соответствии с международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM). В группу сравнения вошли 34 (33,3%) пациента с паралитическими

стенозами гортани.

Всем пациентам основной группы диагноз был подтвержден гистологическим исследованием биопсийного материала. Биопсию выполняли, как правило, под местной анестезией. По гистологической структуре у пациентов с предраковыми заболеваниями преобладали папилломы – у 14 пациентов (41,2%), у 12 пациентов была выявлена дисплазия эпителия 1-2 степени (35,3%), у 8 – хронический гиперпластический ларингит (23,5%). У пациентов со злокачественными опухолями практически в равном соотношении встречались плоскоклеточный ороговевающий (высокодифференцированный) рак – у 12 пациентов, умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак и плоскоклеточный неороговевающий (низкодифференцированный) – по 11 пациентов (32,3%).

Пациентам группы сравнения гистологическое исследование выполнялось после проведения задней хордрезекции.

Критерии включения в исследование:

Для группы сравнения (пациенты с паралитическими стенозами гортани):

1. Возраст от 18 до 80 лет;
2. Отсутствие опухолевых заболеваний гортани;
3. Согласие на участие в исследовании.

Для основной группы – подгруппы 1 и 2 (пациенты):

1. Возраст от 18 до 80 лет;
2. Наличие предракового заболевания (папиллома, дисплазия

эпителия 1-2 степени, хронический гиперпластический ларингит) или злокачественной опухоли (плоскоклеточный рак);

3. Согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование:

Для группы сравнения (пациенты с паралитическими стенозами гортани):

1. Возраст менее 18 и более 90 лет;
2. Наличие в анамнезе хронических заболеваний гортани;
3. Отказ от участия в исследовании.

Для основной группы – 1 и 2 подгруппы (пациенты):

1. Возраст менее 18 и более 90 лет;
4. Наличие ранее установленного и гистологически подтвержденного диагноза предракового заболевания (папиллома, дисплазия эпителия 1-2 степени, хронический гиперпластический ларингит) или злокачественной опухоли (плоскоклеточный рак);
2. Отказ от участия в исследовании.

2.1.1. Характеристика пациентов группы сравнения

В зависимости от проводимых методов диагностики все больные были разделены на две группы. Группу сравнения составили 34 пациента с паралитическими стенозами гортани (средний возраст $54,4 \pm 7,3$ лет).

2.1.2. Характеристика пациентов основной группы

Основную группу исследования составили 68 пациентов, которые были разделены на 2 подгруппы, в первую подгруппу вошли пациенты с предраковыми заболеваниями – 34 (33,3% от общего числа пациентов, включенных в исследование) пациента, во вторую подгруппу – 34 (33,3% от

общего числа пациентов, включенных в исследование) пациента со злокачественными опухолями гортани.

Следует отметить, что клинически и клинико-эндоскопически плоскоклеточные папилломы, хронический гиперпластический ларингит с гиперкератозом и паракератозом, дисплазию 1-2 степени сложно дифференцировать от злокачественных опухолей гортани.

Всем пациентам, включенным в исследование, выполнялся сбор жалоб, данных анамнеза, стандартный осмотр ЛОР-органов, эндоскопический осмотр с применением гибкой эндоскопической системы Olympus.

Среди пациентов 1-ой подгруппы (пациенты предраковыми заболеваниями) наиболее частой жалобой явилось ощущение инородного тела в горле при глотании, меньшее количество больных предъявляло жалобы на охриплость и боль в горле (таблица 3).

Таблица 3– Жалобы пациентов 1-ой подгруппы основной группы (с предраковыми заболеваниями).

Жалобы	Частота встречаемости жалоб	
	Абс. число	%
Ощущение инородного тела при глотании	26	76,5
Охриплость	21	61,8
Боль в горле	17	50

Жалобы на ощущение инородного тела при глотании отмечали 26 (76,5%) пациентов, охриплость – 21 (61,8%) пациентов, боль в горле – 17 (50%) пациентов с предраковыми заболеваниями.

Во 2-й подгруппе (пациенты с злокачественными новообразованиями гортани) наиболее частой жалобой было появление охриплости. Такие жалобы как боль в горле и ощущение инородного тела в горле при глотании

встречались значительно реже (таблица 4).

Таблица 4 – Жалобы пациентов 2-й подгруппы основной группы (с злокачественными опухолями гортани).

Жалобы	Частота встречаемости жалоб	
	Абс. число	%
Охриплость	27	79,4
Ощущение инородного тела при глотании	19	55,9
Боль в горле	12	35,3

Жалобы на ощущение инородного тела при глотании отмечали 27 (79,4%) пациентов, охриплость – 19 (55,9%) пациентов, боль в горле – 12 (35,3%) пациентов со злокачественными опухолями.

У всех пациентов опухоль располагалась изолированно на голосовой складке (без перехода на переднюю комиссуру, вестибулярную складку).

Среди пациентов 1-ой подгруппы с предраковыми заболеваниями у 14 пациентов по данным гистологического исследования были выявлены папилломы (41,2%), у 12 пациентов была выявлена дисплазия эпителия 1-2 степени (35,3%), у 8 – хронический гиперпластический ларингит (23,5%)

Среди пациентов 2-й подгруппы со злокачественными опухолями индексу T_{is} соответствовало 11 больных (32,4%), T₁ – 12 (35,3%), T₂ – 11 больных (32,4%). Гистологически у пациентов со злокачественными опухолями практически в равном соотношении встречались плоскоклеточный ороговевающий (высокодифференцированный) рак – у 12 пациентов, умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак и плоскоклеточный неороговевающий (низкодифференцированный) – по 11 пациентов (32,3%).

Встречаемость опухолей гортани у пациентов 1-ой и 2-ой подгруппы

была сопоставимой (таблица 5).

Таблица 5–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 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 12 (35,3%) пациентов с высокодифференцированным раком, 11 (32,4%) – с умереннодифференцированным раком, 11 (32,4%) – низкодифференцированным плоскоклеточным раком, то есть гистологические формы плоскоклеточного рака встречались с практически равной вероятностью.

2.2. Характеристика эндоскопии с применением гибкой эндоскопической системы Olympus.

В работе был использован фиброскоп системы Olympus VISERA Elite II

OTV-S200 (рис. 2).



Рисунок2. Система Olympus VISERA Elite II OTV-S200.

В связи с тем, что оценка эндоскопического исследования носит субъективный характер и во многом зависит от качества эндоскопа, для объективизации полученных при эндоскопическом исследовании данных нами была разработана шкала оценки эндоскопии. В качестве критериев оценки были выбраны следующие: 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 значительно); вибраторные края (ровные/неровные), наличие новообразований, наличие изъязвлений (оценивались по шкале от 0 до 1, где 0 – отсутствие данного критерия, 1 – наличие его).

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.

2.3. Характеристика аппаратно-программного комплекса

«ИнСпектр-М»

Использование аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» при опухолях гортани и предраковых заболеваниях было обосновано необходимостью повышения уровня ранней диагностики, ее чувствительности и специфичности. Флуоресцентная диагностика позволяет оценить пролиферативную активность тканей, в данном случае слизистую гортани при минимальных патологических изменениях

В работе был использован спектрометр медицинский «ИнСпектр-М» по ТУ 26.60.12-001-92730628-2019., состоящий из оптического модуля со светодиодным (LED) источником белого света и лазерного модуля с источником лазерного излучения 350 нм (рис. 5).



Рисунок 3. Спектрометр медицинский «ИнСпектр-М» по ТУ 26.60.12-001-92730628-2019

На рисунке 3 представлен спектрометра медицинский «ИнСпектр-М»: прибор и диагностический зонд.

С помощью данного прибора исследуемый объект подвергается последовательному точечному (регионарному) воздействию непрерывного излучения от источника белого света и лазерного излучения, после чего происходит сбор отклика от исследуемых тканей и спектральный анализ. На рисунке 4 схематично представлено строение прибора: источник белого света, лазерный источник излучения, спектрометр типа Czerny-Turner, система сбора, фильтрации и анализа флуоресценции. Доступ к аппаратным средствам прибора и получаемым данным осуществляется посредством встроенного микроконтроллера с USB-интерфейсом. Доставка лазерного излучения и излучения от источника белого света до исследуемых тканей осуществляется через инструмент световодный оптический с предварительно

надетым защитным колпачком. Инструмент световодный оптический имеет три световодные жилы – через один канал подается лазерное излучение, через второй канал подается свет от источника белого света, а через третий канал сигналы оптических откликов от исследуемых тканей поступают в спектрометр. Широкий спектральный диапазон спектрометра позволяет по спектрам оптического отклика исследуемых тканей регистрировать амплитудные характеристики их метаболитов, определять химический состав веществ, участвующих в метаболизме, оценивать степень насыщения тканей кислородом, пролиферативную активность клеток тканей, состояние микроциркуляции тканей и морфологическую однородность эпителиальных и стромальных компонентов тканей. Запись спектральных данных производится при непосредственном контакте инструмента световодного оптического с предварительно надетым на него защитным колпачком с поверхностью исследуемой ткани.



Рисунок 4. Спектрометр медицинский «ИнСпектр-М» по ТУ 26.60.12-

001-92730628-2019 (схема).

Спектральный диапазон аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» перекрывает область молекулярных колебаний органических веществ и позволяет в течение нескольких секунд измерять флуоресцентный спектр исследуемых тканей, определять спектральное положение и относительные интенсивности флуоресцентных спектральных линий [Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г., 2017].

Для того, чтобы определить референсные значения при использовании метода диагностики с применением флуоресцентных технологий, было проведено исследование слизистой оболочки пациентов с паралитическим стенозом гортани.

Объективизация получаемых при исследовании данных достигается путем обработки программным обеспечением спектрометра медицинского «ИнСпектр-М» (рис. 5).



Рисунок 5. Графические данные, получаемые при проведении

исследования с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

На рисунке 5 представлено визуальное отображение данных, получаемые при проведении исследования с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

2.3. Методика проведения исследования

Для проведения ранней диагностики с применением флуоресцентных технологий был разработан алгоритм выполнения исследования «Способ проведения биопсии у больных с подозрением на рак гортани (патент RU2729503), 07.08.2020».

Способ осуществлялся следующим образом: после предварительной обработки слизистой оболочки полости носа, глотки, гортани 10,0% раствором лидокаина через общий носовой ход вводился фиброскоп и производился осмотр гортани (рис. 6). 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 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.



Рисунок 6. Методика проведения исследования с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

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 новообразовании, 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, точка в диапазоне от 600 до 650 нм с пиком в области 635 нм была условно обозначена как «индекс пролиферативной активности эпителия».

На рисунке 7 представлен алгоритм проведения исследования.

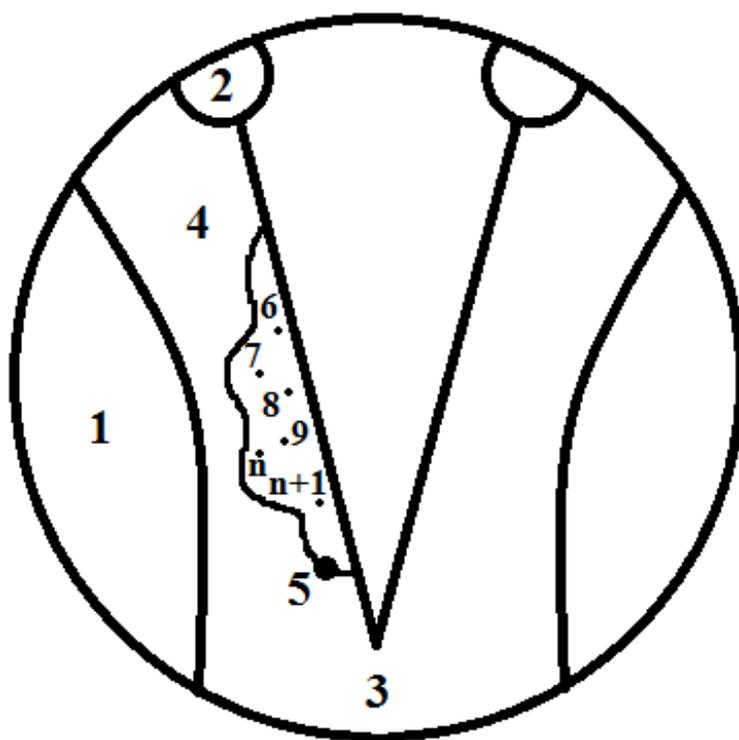


Рисунок 7. Алгоритм проведения диагностики с использованием аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

Если рассматривать случай, когда измененный участок слизистой оболочки локализуется в области голосовой складки, то алгоритм диагностики будет выглядеть следующим образом: диагностический зонд устанавливается перпендикулярно на интактный участок слизистой оболочки вестибулярной складки (рис. 7, точка 1) и производится анализ флуоресценции участка слизистой оболочки, находящегося в контакте с зондом, далее происходит установка диагностического зонда и исследование по аналогичной методике в области интактной слизистой оболочки черпало-налгортанного хряща (рис. 7 точка 2), интактной слизистой оболочки в области комиссуры (рис. 7 точка 3), интактной слизистой оболочки

голосовой складки на расстоянии 2 мм от видимой границы новообразования (рис. 7 точка 4), участка слизистой в области границы видоизмененной слизистой оболочки (рис. 7 точка 5), в пределах измененной слизистой оболочки голосовой складки (рис. 7 точки 6, 7, 8,9,..., n, n+1), где точки проведения исследования находятся на расстоянии не менее 1 друг от друга, а их количество зависит от площади измененной слизистой оболочки; после чего в одной из точек (6, 7, 8,9,..., n, n+1) с наиболее выраженными изменениями проводится прицельная биопсия.

Этапы проведения исследования представлены на рисунках 8 и 9.



Рисунок 8. Установка диагностического зонда аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» на интактную слизистую оболочку надгортанника.

На рисунке 8 указан этап установки диагностического зонда аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» на интактную слизистую оболочку надгортанника.



Рисунок 9. Установка диагностического зонда аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» на измененную слизистую оболочку левой голосовой складки.

На рисунке 9 указан этап установки диагностического зонда аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» на измененную слизистую оболочку левой голосовой складки.

При проводимом спектрометрическом анализе регистрируются следующие данные: при проведении спектроскопии в интактных точках определяется показатель нормы индекса пролиферативной активности эпителия для конкретного пациента (рис. 8); проведение спектроскопии на участках измененной слизистой оболочки (рис. 9) позволяет выделить участок с наибольшим увеличением индекса пролиферативной активности эпителия, после чего на этом участке проводят прицельную биопсию с использованием биопсийных щипцов, введенных через дополнительный канал фиброскопа.

Следует отметить, что выполнение данного исследования является технически сложным ввиду необходимости подведения диагностического зонда под углом 90° , что достаточно трудно воспроизводимо ввиду неровной поверхности опухоли, вне зависимости от степени ее злокачественности.

2.4. Показатели, используемые при оценке полученных при проведении диагностического исследования с применением флуоресцентных технологий

В предварительных исследованиях, во время проведения отработки методики, описанной в пункте 2.3, было выполнено сравнение характеристик интактной слизистой оболочки гортани и злокачественной опухоли (рис. 10 и 11).

Одномоментно 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 уровень сигнала фотолюминесценции протопорфирина IX в диапазоне частот 600-650 нм с пиком на 635 нм.

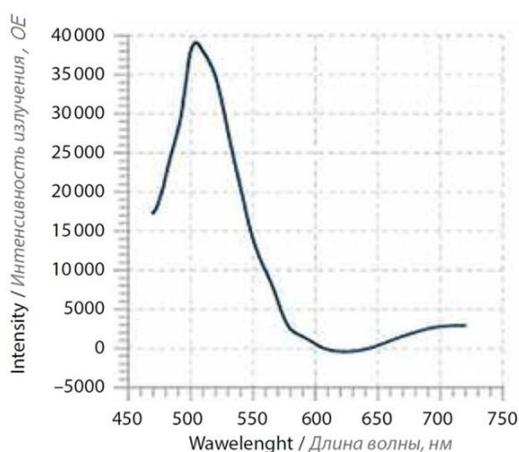


Рисунок 10. Параметры, снятые с интактной слизистой оболочки

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

На рисунке 10 представлен динамический график, полученный при проведении флуоресцентной диагностики интактной слизистой оболочки гортани, на котором виден пик в виде скачка по оси ординат на диапазоне частот от 450 нм до 550 нм с максимальными значениями на 500 нм.

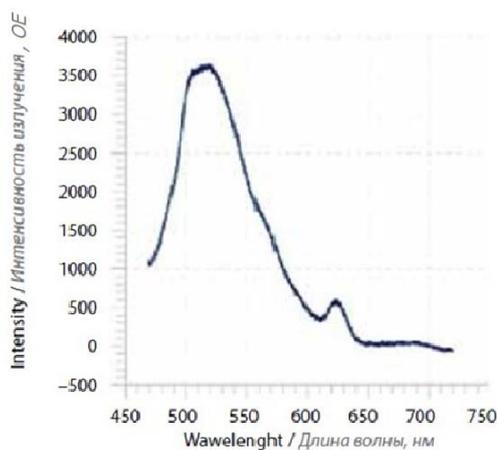


Рисунок 11. Параметры, снятые со слизистой оболочки злокачественной опухоли гортани. Спектры получены *in vivo*. По оси абсцисс –длина волны в нм, по оси ординат – интенсивность флюоресценции в ОЕ –относительных единицах.

На рисунке 11 представлен динамический график, полученный при проведении флуоресцентной диагностики слизистой оболочки злокачественной опухоли гортани, на котором 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 в диапазоне часто от 625 до 650 нм с максимальными значениями на 635 нм.

Индекс пролиферативной активности эпителия и сигнал фотолюминесценции протопорфирина IX отображают показатели интегральные флуоресценции.

Под «индексом пролиферативной активности тканей» следует понимать степень ее неоднородности и вовлеченности в патологический процесс. В норме и при опухолях гортани и предраковых заболеваниях данный индекс отличается качественным и количественным составом ткани, что также можно рассчитать на основе представленного программного обеспечения.

Данный индекс впервые введен в ЛОР-практику в настоящем исследовании и позволяет судить о физиологических, морфометрических, метаболических изменениях ткани в норме и при опухолевой патологии.

2.5. Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка полученных результатов проводилась по стандартному методу вариационной статистики (Урбах В.Ю., 1975), с вычислением средней арифметической (M), среднеквадратичного отклонения (σ), средней арифметической ошибки (m). Сравнение непараметрических вариантов после предварительной оценки правильности распределения выборок проводилось на основе критерий Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (p), степень достоверности результатов проведенного исследования соответствует коэффициенту $p \leq 0,05$.

При проведении диагностики с применением флуоресцентных технологий воспроизводимость полученных при исследовании результатов подтверждали путем регистрации 5-10 спектров, записываемых

последовательно с интервалом в 3 секунды. Ошибка измерений интенсивности флуоресценции не превышала 2%.

Анализ всех регистрируемых данных был проведен после предварительной обработки в онлайн программном обеспечении TP^T cloud^{beta}. После регистрации спектров проводилась статистическая обработка полученных данных с использованием программы STATISTICA® for Windows, Release 10.0 компании StatSoft®Inc., США.

2.6. Резюме

Проведённое исследование основано на результатах обследования 102 пациентов (100%), 34 (33,3%) из которых были с паралитическими стенозами гортани без опухолевой патологии гортани, 34 (33,3%) – с предраковыми заболеваниями гортани и 34 (33,3%)– со злокачественными опухолями гортани, подтвержденными гистологически. Все наблюдения включали лиц женского и мужского пола в возрасте от 24 до 85 лет. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Всем больным проводилась эндоскопическое обследование с применением гибкой оптической системы, далее пациентам основной группы выполнялось исследование с применением флуоресцентных технологий, в ходе которого проводилась прицельная биопсия с последующим гистологическим исследованием. В зависимости от полученных результатов гистологического исследования пациенты основной группы были разделены на две подгруппы. В группу сравнения вошли 34 (33,3% от общего числа пациентов) с паралитическими стенозами гортани, так как для подтверждения данных, полученных при проведении флуоресцентной диагностике, было необходимо выполнение биопсии с последующим гистологическим исследованием, а получить данный объем интактной слизистой оболочки голосовой складки возможно только при проведении

задней хордрезекции. В 1-ую подгруппу основной группы вошло 34 (33,3% от общего числа пациентов) пациента с предраковыми заболеваниями, во вторую – 34 (33,3% от общего числа пациентов) пациента со злокачественными опухолями гортани.

Сравнение основных параметров (возраста и пола) пациентов позволяет сделать заключение о том, что обе группы сопоставимы и не имеют статистически значимых различий и могут быть сопоставлены для получения объективных выводов.

Эффективность предложенного метода диагностики с применением флуоресцентных технологий оценивалась путем проведения гистологического исследования, которое позволяет дать объективную оценку тканей опухолей гортани. Статистическая обработка материала в совокупности с репрезентативностью клинических наблюдений дают основание считать, что результаты диссертационного исследования являются достоверными и корректными в научном и клиническом плане.

ГЛАВА 3: ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

3.1. Спектральные характеристики слизистой оболочки гортани у пациентов группы сравнения

Пациенты группы сравнения были выбраны из числа пациентов с паралитическими стенозами гортани, госпитализированных в отделение онкологии головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России для проведения хирургического лечения в объеме задней хордрезекции, в соответствии с критериями включения и невключения в период с сентября 2018 года по декабрь 2021 года. Набор пациентов в группы проводился до момента формирования достаточного для получения достоверных результатов объема. (Герасимов А.Н., 2007).

Данный выбор пациентов в группу сравнения был обоснован тем, что для подтверждения данных, полученных при проведении флуоресцентной диагностике, необходимо было выполнить биопсию с последующим гистологическим исследованием, а пациентам с паралитическими стенозами гортани выполнялась задняя хордрезекция (удаление задней трети одной из голосовых складок CO₂ лазером для расширения просвета дыхательной щели). Полученный фрагмент интактной голосовой складки направлялся на гистологическое исследование.

При проведении эндоскопического осмотра гортани для объективизации полученных данных нами была разработана шкала оценки эндоскопии. В качестве критериев оценки были выбраны следующие: 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);

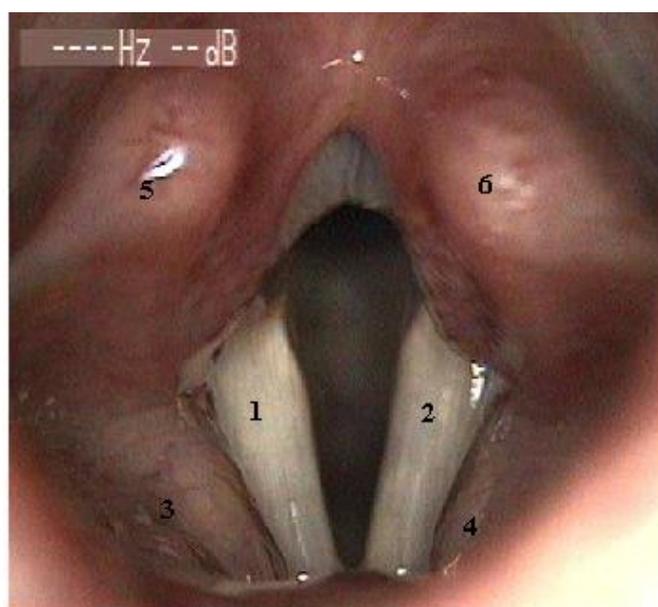
вибраторные края (ровные/неровные), наличие новообразований, наличие изъязвлений (оценивались по шкале от 0 до 1, где 0 – отсутствие данного критерия, 1 – наличие его).

Полученные при эндоскопии баллы оценивались следующим образом: 0 – норма; 1-5 – хронический воспалительный процесс; 6-9 – предраковые заболевания; 10 и более – злокачественное новообразование.

Также при амбулаторном осмотре в поликлинике выполнялась фиброскопия с одномоментной флуоресцентной диагностикой с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М».

Методика проведения флуоресцентной диагностики с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М» описана в главе 2, однако проведение данного исследования достаточно сложно в амбулаторных условиях ввиду того, что гортань является высокой рефлексогенной зоной, а также существует риск развития стеноза или кровотечения при проведении исследования. В связи с этими факторами, а также по данным приказа Министерства здравоохранения РФ от 12 ноября 2012 г. № 905н “Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю “оториноларингология”” (при невозможности оказания медицинской помощи в оториноларингологическом кабинете и(или) амбулаторном оториноларингологическом отделении, дневном стационаре медицинской организации, а также при необходимости проведения диагностических и(или) лечебных мероприятий с применением общей анестезии больные направляются в стационарное оториноларингологическое отделение для дальнейшего обследования и лечения) пациенты госпитализируются в стационарное отделение (онкологическое (головы и шеи)) ФГБУ НМИЦО ФМБА России для проведения дообследования и решения вопроса о дальнейшей тактике лечения.

Пациентам группы сравнения проводился анализ интенсивности флюоресценции слизистой оболочки в области задней трети той голосовой складки, которая впоследствии удалялась при проведении хордрезекции. Также в этой точке оценивались индексы пролиферативной активности и индекс фотолюминесценции протопорфирина IX (ИПА и ИФП) (см. главу II). Результаты эндоскопического обследования и соответствующих спектральных данных тканей гортани пациента с паралитическим стенозом гортани представлены на рисунках 12 и 13.



1. Правая голосовая складка
2. Левая голосовая складка
3. Правая вестибулярная складка
4. Левая вестибулярная складка
5. Правый черпаловидный хрящ
6. Левый черпаловидный хрящ

Рисунок 12. Эндоскопическая картина гортани здорового добровольца

На рисунке 12 представлена фотография гортани при проведении эндоскопии, точками 1 и 2 обозначены правая и левая голосовая складка соответственно, 3 и 4 – правая и левая вестибулярная складка соответственно, 5 и 6 – правый и левый черпаловидный хрящ соответственно.

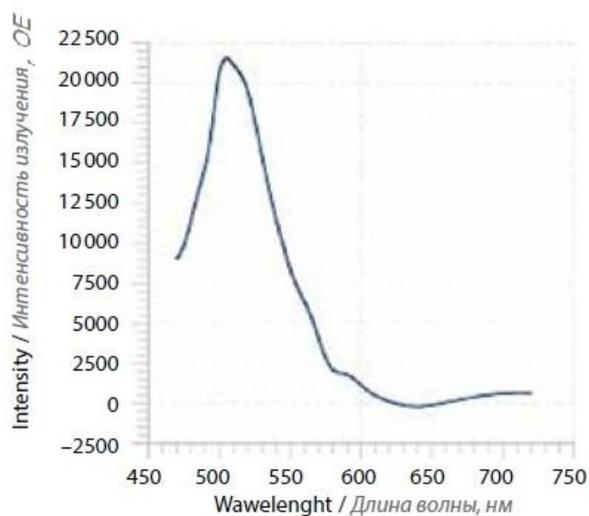


Рисунок 13. Спектр слизистой оболочки гортани у пациента с паралитическим стенозом гортани. По оси абсцисс – длина волны в нм, по оси ординат – интенсивность флюоресценции в ОЕ – относительных единицах.

На рисунке 13 представлен 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 флюоресценции не регистрировались.

После проведения эндоскопического исследования и флуоресцентной диагностики пациенты госпитализировались в отделение онкологии головы и шеи.

Согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 12 ноября 2012 г. № 905н “Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю “оториноларингология”” в случае подозрения или выявления у больного заболевания голосового аппарата, больной

направляется в оториноларингологический кабинет, оказывающий медицинскую помощь в том числе, при заболеваниях голосового аппарата, для уточнения диагноза и определения последующей тактики лечения, проведения необходимых лечебных мероприятий и диспансерного наблюдения.

При обращении пациента в поликлиническое отделение ФГБУ НМИЦО ФМБА России на первом этапе производится сбор жалоб, а также их выраженность и давность появления. Основными из жалоб пациентов являются: ощущение инородного тела при глотании, охриплость и боль в горле. Далее собирается подробный анамнез: наличие хронических заболеваний ЛОР-органов, в частности хронические заболевания гортани, проводимое ранее консервативное и хирургическое лечение, хронических заболеваний других органов и систем (в том числе хронические заболевания ЖКТ, в особенности гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, гастриты, гастродуодениты), наличие или отсутствие вредных привычек (курение, злоупотребление алкоголем), работа на вредных производствах (химические факторы – аллергены, канцерогены, аэрозоли, в том числе металлов, и другие; биологические – токсины, яды, вирусы, пыль животного и растительного происхождения и другие; физические – ионизирующее и неионизирующее излучение, электромагнитные поля и другие).

После сбора жалоб и анамнеза всем пациентам проводится рутинный осмотр ЛОР-органов, который включает в себя следующее:

1. Осмотр полости носа зеркалами.
2. Осмотр носоглотки торцевым эндоскопом Karl Storz 0° или 30°
3. Осмотр преддверия рта, полости рта и ротоглотки
4. Эндоскопический осмотр гортани фиброскопом Olympus
5. Осмотр наружного слухового прохода
6. Пальпация зон регионарного лимфооттока

Во время проведения осмотра ЛОР-органов особое внимание обращается на любые морфологические изменения слизистой оболочки (гиперемия, наличие новообразований или изъязвлений).

Госпитализация пациентов в ФГБУ НМИЦО ФМБА России осуществляется в соответствии с: Федеральным законом от 21.11.2011 года № 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"); Федеральным законом от 29 ноября 2010 г. N 326-ФЗ "Об обязательном медицинском страховании (далее ОМС) в РФ"; Федеральным законом от 27.07.2006 № 152-ФЗ «О персональных данных»; Приказом МЗ РФ от 23.12.2020 № 1363н "Об утверждении Порядка направления застрахованных лиц в медицинские организации, функции и полномочия учредителей, в отношении которых осуществляют Правительство РФ или федеральные органы исполнительной власти, для оказания медицинской помощи в соответствии с едиными требованиями базовой программы ОМС"; Приказом МЗ РФ от 2 октября 2019 г. N 824н "Об утверждении Порядка организации оказания ВМП с применением единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения"; Приказом МЗ РФ от 30 ноября 2017 г. N 965н "Об утверждении порядка организации и оказания медицинской помощи с применением телемедицинских технологий"; Уставом НМИЦО, локальными нормативными актами, приказами и распоряжениями директора НМИЦО, а также другими действующими нормативными правовыми документами, принятыми в установленном законодательством порядке.

Госпитализация пациента проводится в случае наличия следующего перечня обязательных лабораторных и инструментальных анализов: общий анализ крови (включая СОЭ, лейкоцитарную формулу, тромбоциты); общий анализ мочи; анализы на инфекции: сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С - заключение инфекциониста с допуском к плановому хирургическому лечению (в случае положительного результата одного из анализов); группа

крови, резус фактор, Kell; биохимический анализ крови (общий белок, мочеви́на, креатинин, глюкоза, общий + прямой билирубин, АЛТ, АСТ, К, Na, Cl, холестерин); коагулограмма (фибриноген, ПТИ + МНО, тромбиновое время, АЧТВ); рентгенография органов грудной клетки или флюорография; электрокардиограмма (ЭКГ) – пленка с описанием; УЗДГ сосудов нижних конечностей; заключение стоматолога о санации полости рта; заключение терапевта об отсутствии противопоказаний к плановому хирургическому лечению с указанием краткого анамнеза, полного диагноза, хронических соматических заболеваний, а также необходимых рекомендаций. В случае наличия у пациента соматических заболеваний пациенты также должны предоставить заключение соответствующего специалиста.

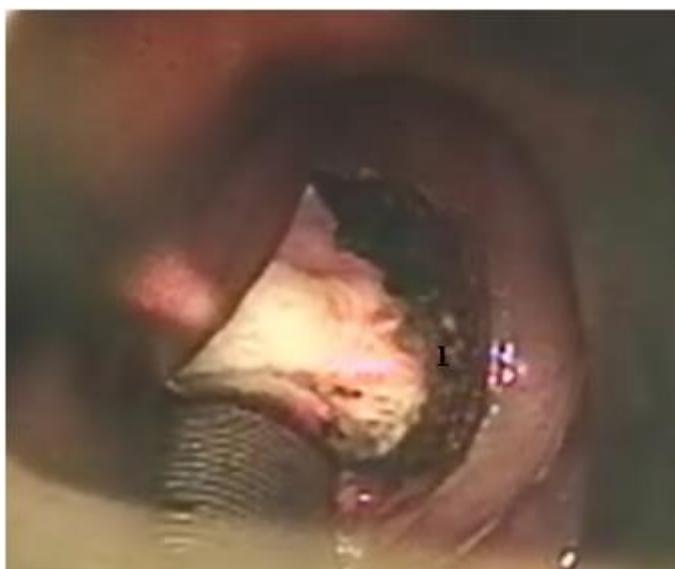
После госпитализации в отделении онкологии головы и шеи пациентам с паралитическим стенозам гортани выполнялось хирургическое лечение в объеме задней хордрезекции, смысл которой заключался в удалении задней трети одной из голосовых складок (рис. 14) СО₂ лазером для расширения просвета дыхательной щели (рис. 15), в результате получали фрагмент неизменной голосовой складки.



**1 - фрагмент
резецируемой
правой голосовой
складки
2 - граница
резекции
фрагмента
голосовой складки
3 - интактная левая
голосовая складка**

Рисунок 14. Эндоскопическая картина в процессе проведения хирургического лечения в объеме правосторонней задней хордрезекции.

На рисунке 15 изображен начальный этап резекции задней трети правой голосовой складки у пациента с паралитическим стенозом гортани после проведенной тиреоидэктомии, где 1 – фрагмент резецируемой правой голосовой складки, 2 – граница резекции, 3 – интактная левая голосовая складка.



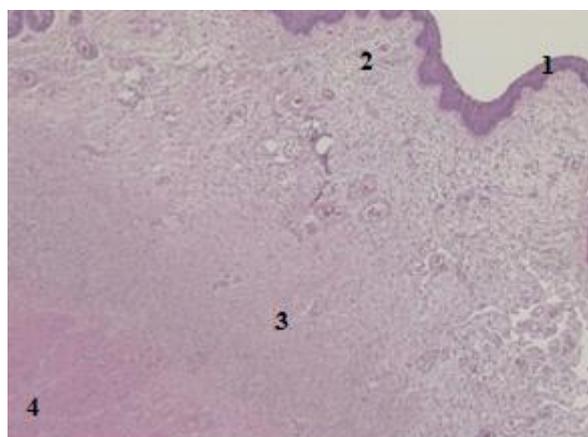
**1 -
послеоперационная
рана после резекции
фрагмента правой
голосовой складки**

Рисунок 15. Эндоскопическая картина после проведения хирургического лечения в объеме правосторонней задней хордрезекции.

На рисунке 15 визуализируется послеоперационная рана в области удаленной задней трети правой голосовой складки (обозначена цифрой 1) у пациента с паралитическим стенозом гортани.

Удаленный фрагмент голосовой складки направлялся на гистологическое исследование, которое выполнялось по стандартной методике: фиксация полученного при биопсии материала нейтральным забуференным 10% раствором формалина, заливка препаратов с последующим изготовлением парафиновых блоков и дальнейшим

изготовлением срезов толщиной 7-8 мкр, окрашивание срезов гематоксилином и эозином, с последующим определением морфологического типа опухоли гортани. Результаты гистологического исследования представлены на рисунке 18.



1. многослойный плоский неороговевающий эпителий
2. собственная пластинка слизистой оболочки (пространство Рейнке)
3. голосовая связка (ligamentum)
4. голосовая мышца

Рисунок 16. гематоксилин-эозин. Ув.х5. Морфологическое строение нормальной голосовой складки.

На рисунке 16 представлено типичное гистологическое строение голосовой складки: поверхность слизистой оболочки покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием; собственная пластинка слизистой оболочки (пространство Рейнке) содержит тонкие кровеносные сосуды; в глубине препарата располагаются голосовая связка и фрагмент голосовой мышцы.

3.2. Спектральные характеристики слизистой оболочки гортани у пациентов группы сравнения пациентов основной группы

Пациенты с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями гортани включались в исследование методом сплошной выборки из числа пациентов, осмотренных амбулаторно в поликлинике и впоследствии госпитализированных в отделение онкологии головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр

оториноларингологии» ФМБА России, в соответствии с критериями включения и невключения, в период с сентября 2018 года по декабрь 2021 года. Набор пациентов в группы проводился до момента формирования достаточного для получения достоверных результатов объема (Герасимов А.Н., 2007).

Пациенты изначально не были ранжированы на пациентов с предраковыми заболеваниями и пациентов со злокачественными опухолями и были объединены в одну основную группу. Разделение пациентов на 1-ую и 2-ую подгруппы происходило после проведения биопсии на основании результатов гистологического исследования, однако существовало условное разделение на основании результатов шкалы оценки эндоскопии.

Те пациенты, которым при осмотре был выставлен балл от 1 до 9 по результатам шкалы оценки эндоскопии (рис. 17), были условно отнесены к группе пациентов с предраковыми заболеваниями, те, у которых был выставлен балл 10 и более – условно отнесены к группе пациентов с злокачественными опухолями гортани (рис. 18).



1 - предопухоловое заболевание левой голосовой складки (хронический ларингит)
2 - интактная правая голосовая складка

Рисунок 17. Эндоскопическая картина пациента с предраковым заболеванием гортани (хронический ларингит).

На рисунке 17 представлена эндоскопическая картина пациента с

предраковым заболеванием гортани, визуализируются следующие изменения: на левой голосовой складке в средней трети визуализируется участок неровной, бугристой слизистой оболочки, покрытой фибрином, до 3,0 мм в диаметре (обозначен цифрой 1).



Рисунок 18. Эндоскопическая картина пациента со злокачественной опухолью гортани.

На рисунке 18 представлена эндоскопическая картина пациента со злокачественной опухолью, визуализируются следующие изменения: на правой голосовой складке в средней и задней трети визуализируется опухоль смешанной формы роста серо-розового цвета, с бугристой поверхностью (обозначена цифрой 1).

Далее пациентам основной группы проводился анализ интенсивности флуоресценции в интактной точке, а также в точках 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 индексы пролиферативной активности и индекс фотолюминесценции протопорфирина IX (см. главу II).

При предраковых заболеваниях отмечаются следующие спектральные

особенности(рис.19):

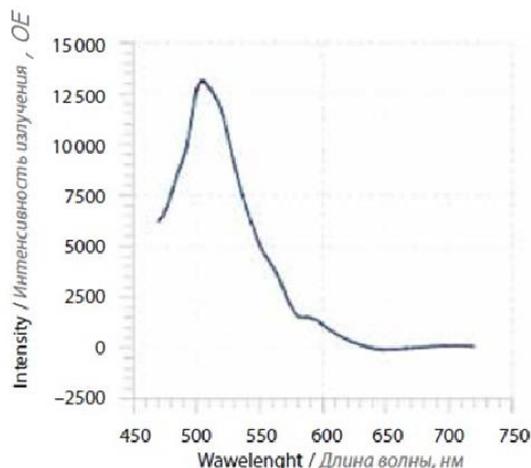


Рисунок19. Спектры ткани предракового заболевания. По оси абсцисс – длины волн в нм; по оси ординат – показатели интенсивности флюоресценции в относительных единицах (ОЕ).

На рисунке 19 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.

При злокачественных опухолях гортани отмечаются следующие спектральные особенности(рисунок20):

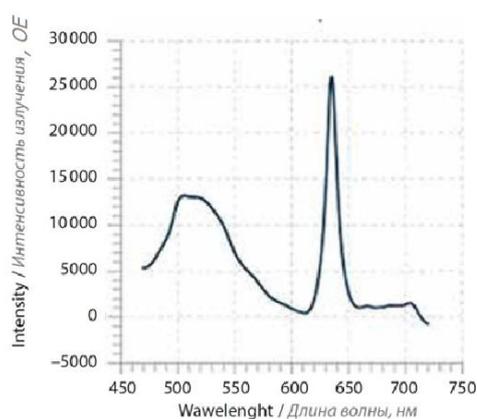


Рисунок 20.Спектры ткани злокачественной опухоли гортани. По оси абсцисс – длины волн в нм; по оси ординат – показатели интенсивности

флюоресценции в относительных единицах(ОЕ).

На рисунке 20 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.

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

По данным морфологического исследования в 1-ой подгруппе основной группы (пациенты с предраковыми заболеваниями) были пациенты с плоскоклеточными папилломами (рис. 21), хроническим ларингитом (рис. 22) и дисплазией 1-2 ст.

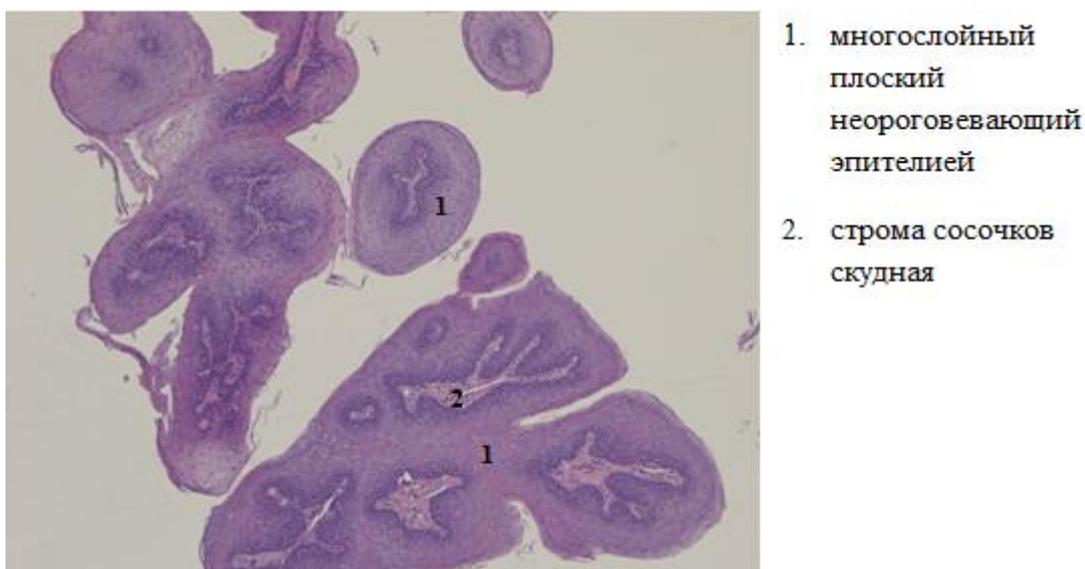
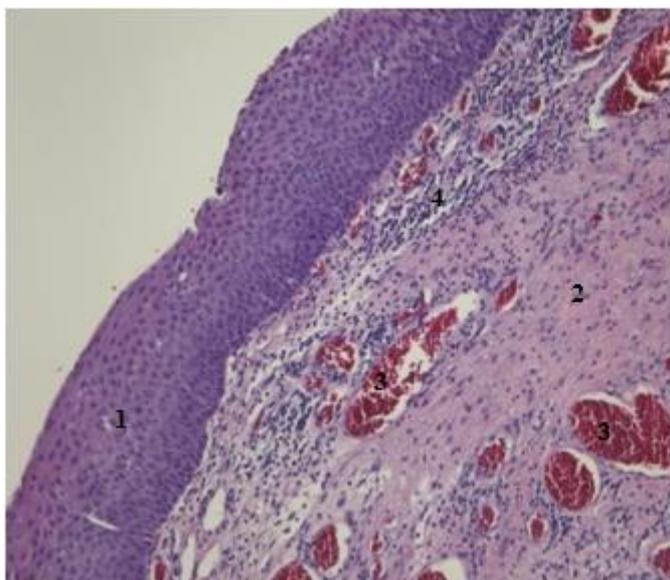


Рисунок 21. Гематоксилин-эозин. Ув.х5. Морфологическая картина при плоскоклеточной папилломе.

На рисунке 21 представлено сосочковое образование, покрытое дифференцированным многослойным плоским неороговевающим эпителием;

строма сосочков скудная, отечная с тонкостенными кровеносными сосудами.

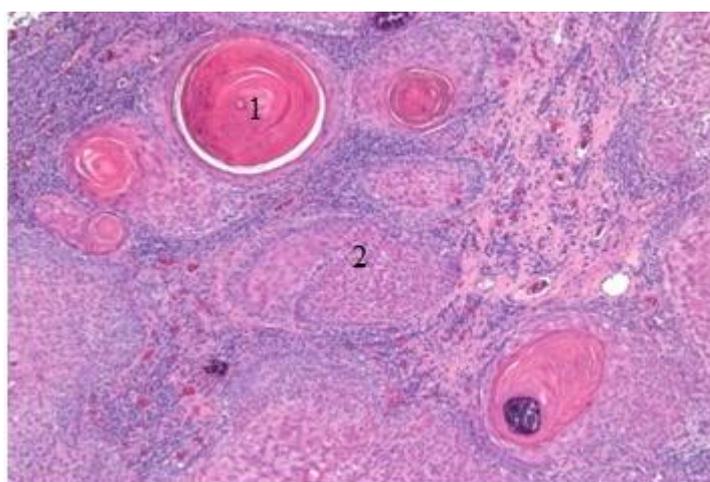


1. многослойный плоский неороговевающий эпителией
2. собственная пластинка слизистой оболочки
3. сосуды
4. диффузная инфильтрация лимфоцитами

Рисунок 21. Ув. x10. Морфологическая картина при хроническом ларингите.

На рисунке 22 представлен участок голосовой складки с картиной умеренно выраженного хронического воспаления: поверхность слизистой оболочки покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием неравномерной толщины с очаговым лимфопедезом. В умеренно склерозированной собственной пластинке слизистой оболочки отмечается густой лимфоцитарный инфильтрат и полнокровие сосудов.

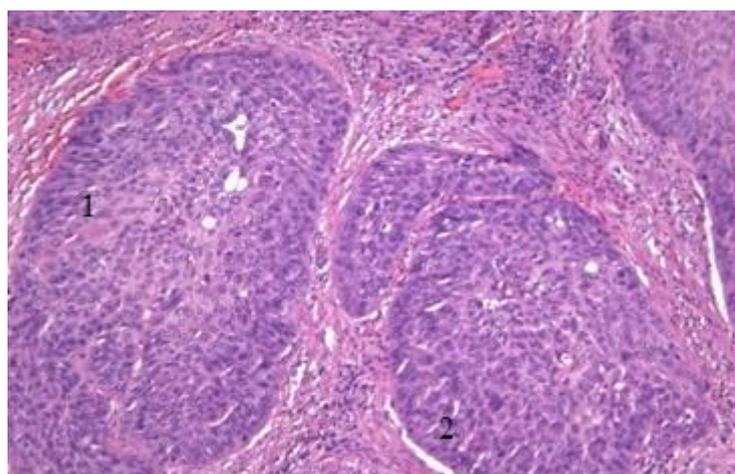
Среди пациентов 2-й подгруппы основной группы (пациенты с злокачественными опухолями гортани) по данным морфологического исследования были пациенты с высокодифференцированным плоскоклеточным раком (рис. 23), умереннодифференцированным плоскоклеточным раком (рис. 24) и низкодифференцированным плоскоклеточным раком (рис. 25).



1. роговые жемчужины
2. атипичный эпителий

Рисунок 25. Ув. х5. Морфологическая картина при плоскоклеточном Зраке гортани G1.

На рисунке 23 визуализируется инвазивный рост опухолевых комплексов, представленных пластами атипичного эпителия, близкого по гистологическому строению к нормальному многослойному плоскому эпителию, отмечается дифференцировка на более мелкие клетки базального типа, располагающиеся по периферии опухолевых островков, и более крупные клетки с обильной цитоплазмой, содержащие кератин. В центре опухолевых островков располагаются роговые жемчужины. Митозы редки. Клеточный и ядерный полиморфизм не выражен.

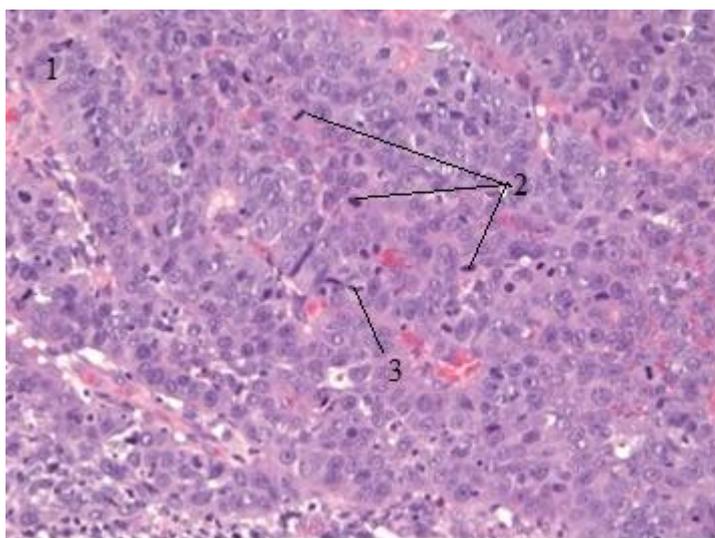


1. атипичный эпителий с нарастанием ядерного полиморфизма
2. митозы

Рисунок 24. Ув. х10. Морфологическая картина при плоскоклеточном

раке гортани G2.

На рисунке 24 представлен инвазивный рост умеренно дифференцированного плоскоклеточного рака: отмечается нарастание клеточного и ядерного полиморфизма, увеличение количества митозов. На отдельных участках выявляется ороговение.



1. резко полиморфный атипичный эпителий с выраженным ядерным полиморфизмом
2. многочисленные фигуры митозов
3. атипичические формы митозов

Рисунок 25. Ув. х20. Морфологическая картина при плоскоклеточном раке гортани G3.

На рисунке 25 представлен инвазивный рост низкодифференцированного плоскоклеточного рака: в опухоли преобладают клетки базалоидного типа, ороговение представлено минимально или не выявляется вовсе. Отмечается большое количество фигур митозов, в т.ч. атипичических.

После получения результатов гистологического исследования происходило разделение пациентов на 1-ую и 2-ую подгруппы.

Сопоставив результаты гистологического исследования с результатами проведенной флуоресцентной диагностики, был разработан алгоритм диагностики опухолевых заболеваний гортани с использованием метода

флуоресцентной диагностики (рис. 28).



Рисунок 26. Алгоритм проведения диагностики опухолей гортани с

применением флуоресцентных технологий.

Согласно приведенному на рисунке 26 алгоритму после проведения флуоресцентной диагностики пациенты разделяются нами на 3 группы, пациенты без какой-либо патологии гортани, пациенты с предраковыми заболеваниями 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 года после окончания лечения, 1 раз в 6 месяцев – в течение 2 года, и затем 1 раз в год – в течение 3, 4, 5 лет, далее пациент снимается с наблюдения.

ГЛАВА 4: ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Флуоресцентные характеристики тканей гортани в норме, при предраковых заболеваниях и злокачественных опухолях

При анализе полученных спектров флуоресценции тканей интактной голосовой складки (у пациентов с паралитическими стенозами гортани) было выявлено, 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.

Так, при изучении спектров тканей злокачественных опухолей гортани были получены следующие результаты: кроме максимального пика флюоресценциинауровнеоколо500-550нм появляется дополнительный пик, регистрируемый на длине волны от 625 нм до 650 нм с максимальными значениями на 635 нм, который свидетельствует об изменении структуры тканей при злокачественных новообразованиях, что не регистрировалось у пациентов с предраковыми заболеваниями.

Данное наблюдениебылоподтвержденорезультатамиранеепроведенныхэкспериментальныхисследований у пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями ЛОР-органов различной локализации.

По результатам проведенного исследования было выявлено, что интенсивность флуоресценции интактной слизистой оболочки невысока (в данном случае не более 10000 ОЕ), интенсивность флуоресценции при предраковых заболеваниях гортани значительно увеличивается (до 46000

ОЕ), а при злокачественных опухолях гортани кроме повышения интенсивности флуоресценции появляется дополнительный пик в диапазоне частот от 625 до 650 нм с максимальными значениями в точке 635 нм.

4.2. Расчет чувствительности и специфичности метода флуоресцентной диагностики

Исследование включало всебя анализ флуоресцентных спектральных характеристик тканей предраковых заболеваний и злокачественных опухолей.

Всего было проанализировано 102 (100%) исследования слизистой оболочки гортани, из которых 34 (33,3%) у пациентов с неизменной слизистой оболочкой, 34 – у пациентов с предраковыми заболеваниями, 34 – у пациентов со злокачественными опухолями гортани.

Таблица 6 – Результаты эндоскопии и флуоресцентной диагностики, полученные при проведении исследования.

Метод	Истинно положительный результат		Ложно-положительный результат		Ложно-отрицательный результат		Истинно отрицательный результат	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Стандартная эндоскопия	31	30,4	15	14,7	0	0	0	0
Эндоскопия с применением флуоресцентных технологий	28	27,5	3	2,9	1	1,0	14	13,7

На основании полученных данных, представленных в таблице 6, были рассчитаны чувствительность и специфичность метода. Таким образом, с использованием флуоресцентной диагностики можно дифференцировать предраковые заболевания от злокачественных опухолей с

чувствительностью 86,5% и специфичностью 97%.

Результаты проведенного исследования показали, что при злокачественных опухолях гортани спектральная кривая, полученная со слизистой оболочки опухоли, в отличие от нормы, приобретает дополнительный пик в области 635 нм, а также амплитуда пиков флуоресценции в норме, при предраковых заболеваниях и при опухолях гортани отличаются. Появление дополнительного пика в области 635 нм свидетельствует об изменении структуры тканей, оксигенации, количественного содержания метаболитов (белков, липидов, углеводов (в том числе флуорохромов)), возникающих при малигнизации тканей. Интенсивность флуоресценции в области 525 нм также отличается у пациентов с интактной слизистой оболочкой гортани и у пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями, однако наиболее информативным остается появление дополнительного пика на длине волны 635 нм при злокачественных опухолях, его амплитуда. Результаты, полученные в ходе проведения исследования, необходимо анализировать не только качественно, но и производить более точный расчёт вышеуказанных величин, в том числе с использованием метода попарных сравнений групп с применением критерия Манна-Уитни, а также анализа с применением ROC-кривых, что продемонстрировано в данном исследовании.

4.3. Результаты статистической обработки данных, полученных при исследовании интактной слизистой оболочки гортани, предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани

Математическая обработка данных проводилась с использованием статистического пакета IBMSPSS Statistics 25. Первым шагом были выведены описательные статистики по изучаемым переменным и проведен графический анализ.

В таблице 7 представлены средние значения, максимум, минимум и медиана значения по данным проведенных исследований.

Таблица 7–Описательная статистика данных исследования.

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

В таблице 7 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

значению у пациентов с паралитическим стенозом гортани составило 0 баллов, 7 баллов – у пациентов с предраковыми заболеваниями, 9 баллов – у пациентов со злокачественными образованиями гортани

Далее был проведен графический анализ полученных данных, результаты представлены на рисунках 27, 28 и 29.

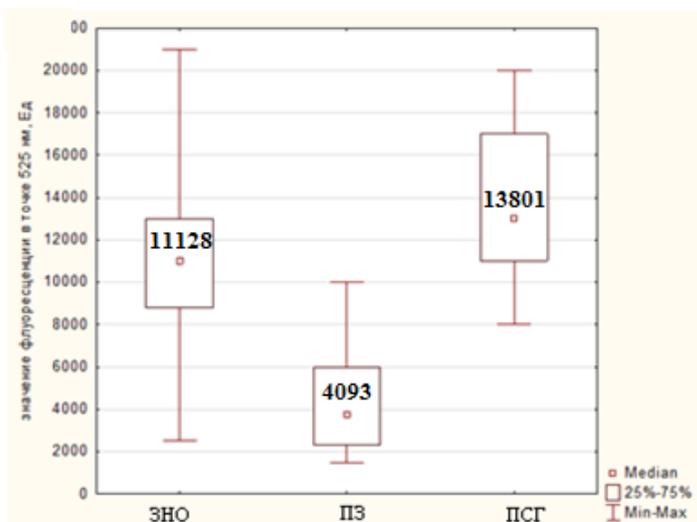


Рисунок 27. Гистограммы распределения флуоресценции в точке 525 нм.

На рисунке 27 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.

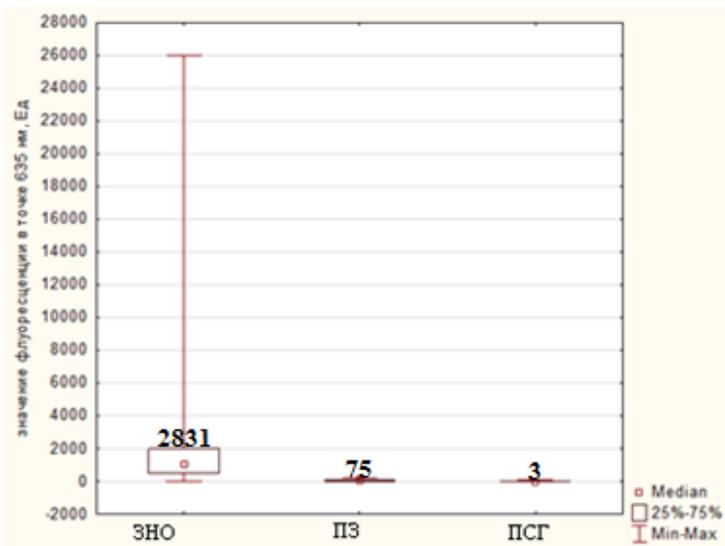


Рисунок 28. Гистограммы распределения флуоресценции в точке 635 нм.

На рисунке 28 отражено, что 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.

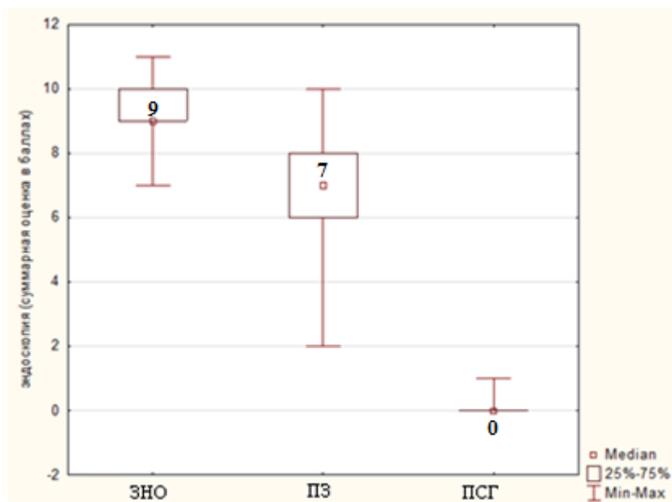


Рисунок 29. Гистограммы распределения баллов эндоскопии.

На рисунке 29 отражено, что при злокачественных новообразованиях среднее значение суммарной оценки эндоскопии составило 9 баллов, при предраковых заболеваниях – 7 баллов, в норме – 0 баллов. На данных графиках (рис. 27, 28 и 29) 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 $p=0,01$. В таблице 8 представлены критерии нормального распределения значений индекса флуоресценции в точках 525 и 635 нм, а также эндоскопического исследования.

Таблица 8– Критерии нормального распределения изучаемых переменных.

Критерии нормального распределения						
Исследуемые показатели	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 8 отражено, что степень достоверности результатов исследования соответствуют коэффициенту $p \leq 0,05$.

Далее была проведена проверка межгрупповых различий, которая проводилась с применением критерия Краскела-Уоллиса. Для всех трех зависимых переменных (уровни флуоресценции + степень оценки эндоскопии) удалось утвердить наличие значимых межгрупповых различий на уровне $p=0,01$. Однако, не все попарные различия подтвердились при апостериорном сравнении (результаты представлены в таблице 9).

Таблица 9– Значимость попарных сравнений групп с применением критерия Манна-Уитни (полу-жирным шрифтом отмечены статистически значимые различия (с учетом поправки Бонферрони)).

Исследуемые показатели	Статистические показатели в сравниваемых группах		
	Пациенты с ПСГ против пациентов с ПЗ	Пациенты с ПСГ против пациентов с ЗНО	Пациенты с ПЗ против пациентов с ЗНО
Значение флуоресценции в точке 525 нм, ОЕ	0,000	0,038	0,000
Значение флуоресценции в точке 635 нм, ОЕ	0,003	0,000	0,000
Эндоскопия, баллы	0,000	0,000	0,000

Данные в таблице 9 позволяют сделать вывод, что оценка по итогам эндоскопии и уровень флуоресценции в точке 635 нм позволяют значимо

разграничить все группы пациентов между собой. Значение флуоресценции в точке 525 нм позволяет значимо разграничить пациентов с предраковыми заболеваниями и опухолями гортани, а также пациентов без новообразований с пациентами с предраковыми заболеваниями; но не пациентов со злокачественными новообразованиями против пациентов без новообразований.

Таким образом, при использовании только одной методики для разграничения пациентов предпочтительными будут степень эндоскопии и значение флуоресценции в точке 635 нм, как позволяющие дифференцировать все 3 группы пациентов. Данный анализ, однако, не дает ответ на вопрос, какая методика позволяет наиболее четко (выраженно) разграничить группы. С этой целью был проведен анализ с применением ROC-кривых (рис. 30, 31 и 32).

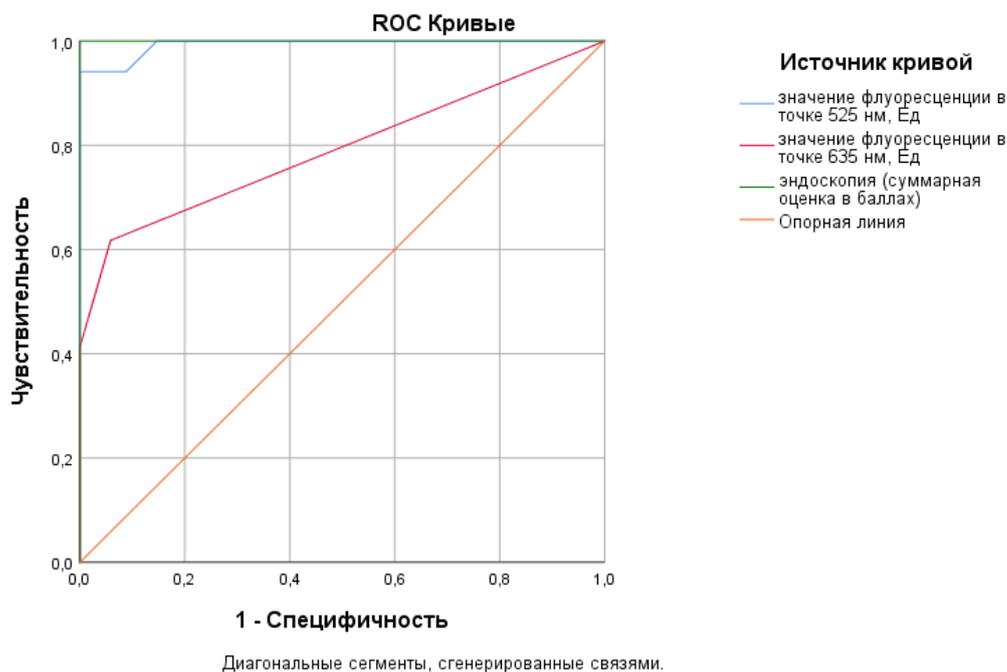


Рисунок 30. Сравнение 3 подходов в разграничении пациентов без новообразований от пациентов с предраковыми заболеваниями.

Данные на рисунке 30 отражают, что значение интенсивности флуоресценции в точке 525 нм позволяет более достоверно дифференцировать пациентов с предраковыми заболеваниями от нормы, в отличие от значения интенсивности флуоресценции в точке 635 нм.

Все 3 подхода показали хорошую точность (площадь под кривой > 0,75). Однако, наиболее достоверно различия между группами выявляются при использовании степени эндоскопии (отсечка 1,5) и значения флуоресценции в точке 525 нм (отсечка 7750 ОЕ) (таблица 10).

Таблица 10– Показатели ROC-анализа разграничения групп пациентов без новообразований от пациентов с предраковыми заболеваниями гортани.

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%

* Здесь и далее: чувствительность – отсутствие ложно отрицательных (пропущенных пациентов с худшим прогнозом), специфичность – отсутствие ложно положительных (пациентов без худшего диагноза, классифицированных как «с диагнозом»).

При анализе результатов, отображенных в таблице 10, выявлено, что при использовании степени эндоскопии с отсечкой 1,5 и значения флуоресценции

в точке 525 нм с отсечкой 7750 ОЕ чувствительность и специфичность метода флуоресцентной диагностики при оптимальной отсечке составляют 86,5 и 97% соответственно.

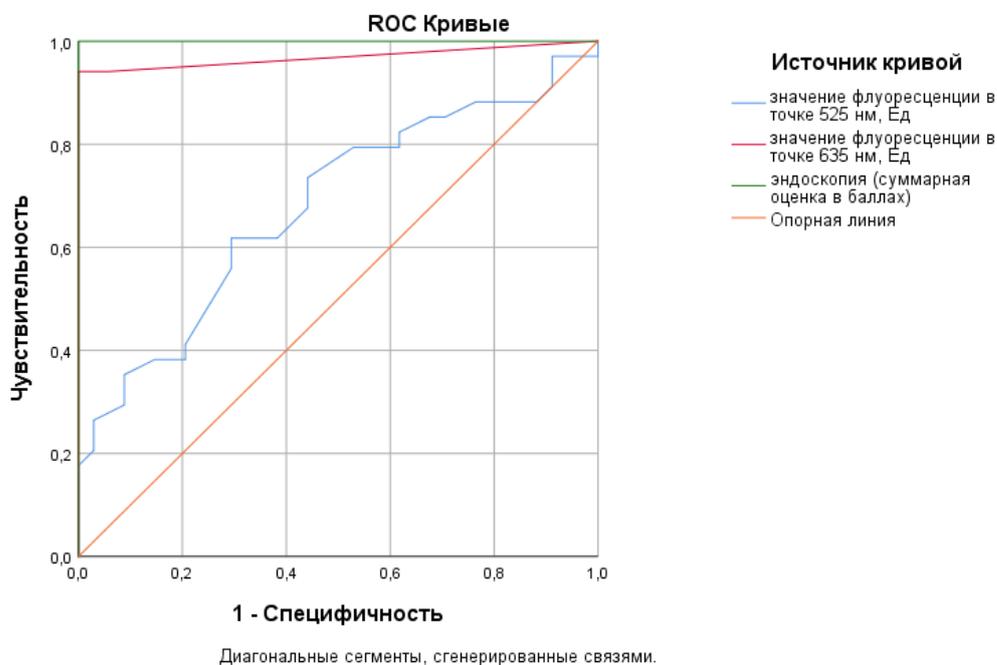


Рисунок 31. Сравнение 3 подходов в разграничении пациентов без новообразований от пациентов со злокачественными новообразованиями.

По результатам анализа рисунка 31 можно сказать, что значение интенсивности флуоресценции в точке 635 нм позволяет более достоверно отличать пациентов со злокачественными новообразованиями от нормы, в отличие от значения интенсивности флуоресценции в точке 525 нм.

Как и ожидалось, с учетом анализа рангов (таблица 11), разграничения на основе степени эндоскопии и уровня флуоресценции в точке 635 нм имели отличную прогностическую точность, разграничение на основе уровня флуоресценции в точке 525 нм – среднюю.

Таблица 11 –Показатели ROC-анализа разграничения групп пациентов без новообразований от пациентов со злокачественными новообразованиями.

Исследуемые параметры	Оптимальная отсечка	Чувствительность при оптимальной отсечке	Специфичность при оптимальной отсечке	Площадь под ROC-кривой
Значение флуоресценции в точке 525 нм, ОЕ	11 350	62%	71%	68%
Значение флуоресценции в точке 635 нм, ОЕ	125	94%	100%	97%
Эндоскопия, баллы	4	100%	100%	100%

При анализе результатов, отображенных в таблице 10, выявлено, что при использовании степени эндоскопии с отсечкой 4 и значения флуоресценции в точке 525 нм с отсечкой 11350 ОЕ чувствительность и специфичность метода флуоресцентной диагностики при оптимальной отсечке составляют 78 и 85,5% соответственно.

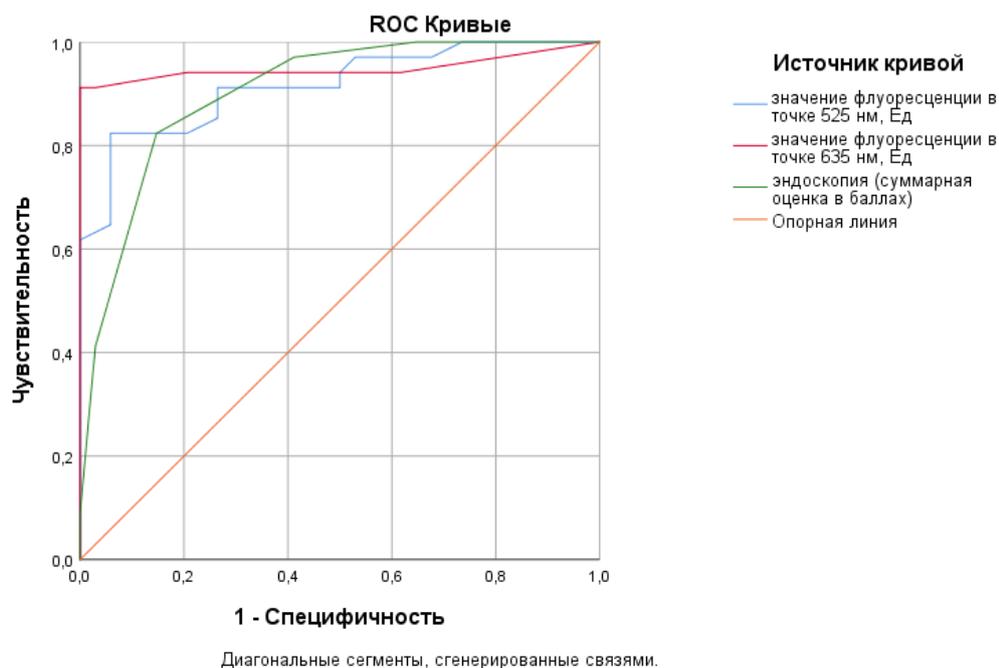


Рисунок 32. Сравнение 3 подходов в разграничении пациентов с предраковыми заболеваниями от пациентов со злокачественными новообразованиями.

По результатам анализа рисунка 32 можно сделать вывод, что при сравнении интенсивности флуоресценции в точках 525 и 635 нм, а также суммарной оценки эндоскопии в баллах, наиболее значимой для различия предраковых заболеваний от злокачественных опухолей является оценка интенсивности флуоресценции в точке 635 нм.

Все 3 подхода показали отличную точность (площадь под кривой $> 0,9$). Однако, наиболее достоверно различия между группами выявляются при использовании значения флуоресценции в точке 635 нм (отсечка между группами = 325ОЕ) (таблица 12).

Таблица 12 – Показатели ROC-анализа разграничения групп пациентов с предраковыми заболеваниями от пациентов со злокачественными новообразованиями.

Исследуемые параметры	Оптимальная отсечка	Чувствительность при оптимальной отсечке	Специфичность при оптимальной отсечке	Площадь под ROC-кривой
Значение флуоресценции в точке 525 нм, ОЕ	7750	82%	94%	92%
Значение флуоресценции в точке 635 нм, ОЕ	325	91%	100%	95%
Эндоскопия, баллы	8,5	82%	85%	90%

При анализе результатов, отображенных в таблице 12, 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.

Выводы:

При анализе спектров тканей предраковых заболеваний и злокачественных опухолей гортани и сравнении их между собой было выявлено, что максимальные значения интенсивности флуоресценции при исследовании тканей предраковых заболеваний приходятся на величину 525 нм, что может свидетельствовать о пролиферативной активности клеток, структурной организации тканей, степени оксигенации тканей, интенсивности метаболизма и других показателей; при изучении спектров

тканей злокачественных опухолей гортани были получены следующие результаты: помимо максимального пика флуоресценции в области 525 нм, который регистрировался и при предраковых заболеваниях, появляется дополнительный пик, регистрируемый на длине волны от 625 нм до 650 нм с максимальными значениями на 635 нм, свидетельствующий об изменении структуры ткани при злокачественном новообразовании, что не регистрировалось у пациентов с предраковыми заболеваниями.

Вышеуказанные данные были подтверждены результатами проводимых ранее экспериментальных исследований у пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями ЛОР-органов различной локализации.

По результатам проведенного исследования было выявлено, что интенсивность флуоресценции интактной слизистой оболочки невысока (в данном случае не более 10000 ОЕ) (рис. 15), интенсивность флуоресценции при предраковых заболеваниях гортани значительно увеличивается (до 46000 ОЕ) (рис. 16), а при злокачественных опухолях гортани кроме повышения интенсивности флуоресценции появляется дополнительный пик в диапазоне частот от 625 до 650 нм с максимальными значениями в точке 635 нм.

На основании полученных в ходе проведения исследования данных были рассчитаны чувствительность (86,5%) и специфичность (97%) метода флуоресцентной диагностики.

При проведении попарных сравнений групп с применением критерия Манна-Уитни был сделан вывод, что оценка по итогам эндоскопии и уровень флуоресценции в точке 635 нм позволяют значимо разграничить все группы пациентов между собой. Значение флуоресценции в точке 525 нм позволяет значимо разграничить пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными опухолями, а также пациентов без новообразований с пациентами с предраковыми заболеваниями; но не пациентов со

злокачественными новообразованиями против пациентов без новообразований.

Таким образом, при использовании только одной методики для разграничения пациентов предпочтительными будут степень эндоскопии и значение флуоресценции в точке 635 нм, как опорные критерии, позволяющие разделить все 3 группы пациентов.

Для оценки наиболее выраженного разграничения групп при использовании эндоскопии и флуоресцентной диагностики нами был проведен анализ с использованием ROC-кривых, который показал, что при доступности только одного метода диагностики – эндоскопический оказался достоверным в диагностике опухолевого процесса в исследуемых группах (здоровые добровольцы, пациенты с предраковыми заболеваниями, пациенты со злокачественными опухолями гортани). При этом при разграничении пациентов со злокачественными новообразованиями от пациентов с предраковыми заболеваниями более эффективным является использование флуоресценции в точке 635 нм.

4.4. Применение результатов исследования метода флуоресцентной диагностики в оториноларингологии и онкологии

По результатам проведенной флуоресцентной диагностики всего за время проведения исследования нами было обследовано 172 пациента, 168 госпитализировано для проведения хирургического лечения (1 пациент от госпитализации отказался, 3 – в связи с наличием в анамнезе тяжелой сопутствующей патологии были направлены в многопрофильный стационар с наличием кардиореанимации и нейрореанимации), 144 было выполнено хирургическое лечение в объеме эндоларингеального удаления новообразования гортани под ЭТН, 24 – в условиях местной анестезии; из 168 пациентов у 97 выявлен рак гортани (T_{is} – 24 пациента, T_1 – 42 пациента,

T₂ – 31 пациент), из них продолженный рост после проведенного хирургического лечения у 4 пациентов, рецидив – у 6 пациентов.

Применение метода в целом повысило диагностическую способность и выявление на ранних стадиях рака гортани, а также ранних рецидивов гортани в 8%.

Для оценки информативности применения флуоресцентных технологий в отношении опухолей гортани нами в серии экспериментов были проведены исследования опухолей ЛОР-органов различной локализации. Результаты показали, что интенсивность флуоресценции в интактной точке может изменяться в зависимости от локализации, однако данные, полученные при исследовании опухолей, были сопоставимы – также отмечалось образование пика флуоресценции в интервале от 625 до 650 нм с наивысшим пиком в области 635 нм.

Таким образом возможности флуоресцентной диагностики универсальны, данный метод является перспективным для исследования и интересно его применение в отношении опухолей ЛОР-органов других локализации для экспресс-гистологической верификации данных заболеваний, однако при проведении данного исследования есть определенные сложности: гортань является высокой рефлексогенной зоной, а также существует риск развития стеноза или кровотечения при проведении исследования.

Флуоресцентная диагностика в целом зарекомендовала себя в качестве перспективного малоизученного метода диагностики опухолевых заболеваний ЛОР-органов, и, возможно, станет одним из этапов комплексной диагностики опухолевых заболеваний не только гортани, но и ЛОР-органов в целом, после проведения расширенной теоретической, экспериментальной и клинической проработки алгоритмов.

Полученные результаты о перспективах применения флуоресцентной

диагностики для диагностики опухолевой патологии ЛОР-органов в данное исследование не вошли, однако планируется дальнейшая работа в этом направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ литературы показал, что, несмотря на появление новых усовершенствованных методов проведения эндоскопического исследования (непрямой эндоскопии с применением гибкой и ригидной оптики, фиброларингоскопии, контактной эндоскопии, NBI-эндоскопии, NBI-эндоскопии с аутофлуоресценцией (AFE), эндоскопии с применением световых фильтров системы SPIES), 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 всебедоступность, малоинвазивность, высокую информативность, достоверность, специфичность, быстроту получения результатов [Аванесов А.А., Алиева С.Б., 2020, Каприн А.Д., Старинский В.В., 2009, Нажмудинов И.И., 2018, Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2015, Свистушкин В.М., Чучуева Н.Д., 2017, Суровцев И.Ю., Королев В.Н., 2008, Унгиадзе Г.В., Вакурова Е.С., 2010, Чучуева Н.Д., Решетов И.В., 2017, Шахсуварян С.Б., Поляков Б.И., 2015, Cikojevic D., Gluncic I., 2008, Kraft M., Fostiropoulos K., 2015, Warnecke A., Averbeck T., 2009, Watanabe A., Taniguchi M., 2008].

Интервенционная диагностика новообразований гортани, молекулярные методы диагностики - определение уровня SCCA, определение уровня микроРНК, применимы только при местнораспространенных опухолевых процессах, а multi-omics стратегия находится в настоящее время на стадии разработки, без четких рекомендаций для возможного применения в практическом здравоохранении. Лучевые методы диагностики - компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой (ФДГ), ультразвуковые

методы диагностики не дают окончательного подтверждения диагноза, так как заключение дается на основе гистологического исследования.

Существующие различные способы не решают проблему сложности выбора участка для биопсии, который по-прежнему является конечным пунктом в постановке диагноза. В связи с этим поиск универсального малоинвазивного метода ранней диагностики опухолей гортани остается актуальным.

Вышеуказанным требованиям, по данным литературы, отвечают оптические методы диагностики [Клинические рекомендации. Рак ротоглотки, 2018, Renner G., 2007; Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С., 2018, Friedrich G., Remacle M., 2007, Benjamin B., Lindholm C.E., 2003, Dr. Nafi M. Shehab].

Решение данной проблемы состоит в поиске новых объективных высокочувствительных специфичных малоинвазивных способов диагностики опухолевой патологии гортани, а также разработке и внедрении в практику метода флуоресцентной диагностики опухолей гортани.

Клиническим объектом исследования явились 102 пациента, обратившихся в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА России. На первом этапе пациентам проводилось эндоскопическое обследование с применением гибкой оптики для выявления патологических изменений гортани. Были сформированы 2 группы: пациенты без опухолевой патологии гортани, в число которых вошли пациенты с паралитическим стенозом гортани – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов), и пациенты с патологией гортани – которые были разделены на две подгруппы, 1-ая – с предраковыми заболеваниями – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов), 2-ая – с злокачественными опухолями гортани – 34 пациента (33,3% от общего числа пациентов).

Данный выбор пациентов в группу сравнения был обоснован тем, что для подтверждения данных, полученных при проведении флуоресцентной диагностики, было необходимо выполнение биопсии с последующим гистологическим исследованием, а пациентам с паралитическими стенозами гортани выполнялась задняя хордрезекция, смысл которой заключался в удалении задней трети одной из голосовых складок CO₂ лазером для расширения просвета дыхательной щели; в результате получали фрагмент неизменной голосовой складки.

Далее при амбулаторном осмотре в поликлинике выполнялась фиброскопия с одномоментной флуоресцентной диагностикой с применением аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр-М»: после предварительной обработки слизистой оболочки полости носа, глотки, гортани 10,0% раствором лидокаина через 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 мВт/см², 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

регистрировалась интенсивность флуоресценции в диапазоне длины волны от 450 до 700 нм, точка в диапазоне от 600 до 650 нм с пиком в области 635 нм была условно обозначена как «индекс пролиферативной активности эпителия».

Далее пациентам группы сравнения выполнялось хирургическое лечение в объеме задней хордрезекции, удаленный фрагмент голосовой складки направлялся на гистологическое исследование, которое выполнялось по стандартной методике

Пациенты основной группы изначально не были ранжированы на пациентов с предраковыми заболеваниями и пациентов с злокачественными опухолями и были объединены в одну основную группу. Разделение пациентов на 1-ую и 2-ую подгруппы происходило после проведения биопсии на основании результатов гистологического исследования, однако существовало условное разделение на основании результатов шкалы оценки эндоскопии.

Те пациенты, которым при осмотре был выставлен балл от 1 до 9 по результатам шкалы оценки эндоскопии, были условно отнесены к группе пациентов с предраковыми заболеваниями, те, у которых был выставлен балл 10 и более – условно отнесены к группе пациентов с злокачественными опухолями гортани.

Далее пациентам основной группы проводился анализ интенсивности флуоресценции в интактной точке, а также в точках 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 индексы пролиферативной активности и индекс фотолюминесценции

протопорфирина IX.

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

По гистологической структуре у пациентов 1-ой подгруппы основной группы преобладали папилломы, которые имели место у 14 пациентов (41,2%), у 12 пациентов была выявлена дисплазия эпителия 1-2 степени (35,3%), у 8 – хронический гиперпластический ларингит (23,5%). У пациентов со злокачественными опухолями практически в равном соотношении встречались плоскоклеточный ороговевающий (высокодифференцированный) рак – у 12 пациентов, умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак и плоскоклеточный неороговевающий (низкодифференцированный) – по 11 пациентов (32,3%).

При анализе полученных спектров флуоресценции интактной слизистой оболочки гортани было выявлено, что среднее значение индекса пролиферативной активности в точке 525 нм среднее значение составило 13801 ОЕ; среднее значение в точке 635 нм составило 3 ОЕ. Далее нами были получены и проанализированы показатели, полученные методом флуоресцентной диагностики у пациентов с опухолями гортани: у пациентов с предраковыми заболеваниями среднее значение индекса пролиферативной активности в точке 525 нм составило 4093 ОЕ, 11128 ОЕ – у пациентов со злокачественными образованиями гортани; среднее значение в точке 635 нм у пациентов с предраковыми заболеваниями – 75 ОЕ, а у пациентов с злокачественными новообразованиями – 2831 ОЕ, после чего произведено сравнение интенсивности флуоресценции в точке 525 и 635 нм во всех

исследуемых группах. 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 опухолевой патологии гортани.

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

Применение метода флуоресцентной диагностики в соответствие с предлагаемым алгоритмом, разработанным в ходе проведения исследования, позволяет повысить точность диагностики на 8% и сократить сроки диагностики заболевания, что улучшает эффективность ранней диагностики опухолевой патологии гортани.

Результат предлагаемого нами способа (патент RU2729503) 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 сложно 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.

Результаты, полученные в ходе данного исследования, соответствуют поставленным целям и задачам, а также подтверждают данные отечественных и зарубежных авторов, применявших метод флуоресцентной диагностики в других отраслях медицины [Александров М.Т., Кукушкин В.И., 2017, Юденфер С., 1965, Kraft M., Betz C.S., 2011].

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 паралистическим 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 гортани на 8%, что сокращает сроки 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

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

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 волны 350 нм.

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.

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

Диагностика с применением флуоресцентных технологий может быть использована в клинической практике в соответствии 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 ввиду технических сложностей его реализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия / М.Т. Александров. – М.: Техносфера, 2008. – 553 с.
2. Александров М.Т. Раман-флуоресцентная диагностика состояния тканей человека в норме и при патологии и ее аппаратно-программное решение / М.Т. Александров, В.И. Кукушкин, Э.Г. Маргарян // Российский стоматологический журнал. – 2017. – № 21(5). – С. 228–232. <https://doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-5-228-232>.
3. Александров Н.С. Сравнительная иммуноморфологическая и спектроскопическая характеристика опухолей почек: дисс. ... кандидата мед. наук: 14.03.02 / Александров Николай Сергеевич. – М., 2019. – 99 с.
4. Алиева С.Б. Принципы лучевой терапии рака гортани / С.Б. Алиева, Р.И. Азизян, А.М. Мудунов и др. // Опухоли головы и шеи. – 2021. – № 11(1). – С. 24–33.
5. Аллахвердиева Г.Ф. Ультразвуковое исследование с контрастным усилением в диагностике плоскоклеточных опухолей головы и шеи / Г.Ф. Аллахвердиева, Г.Т. Синюкова, Т.Ю. Данзанова и др. // Опухоли головы и шеи. – 2019. – № 9(1). – С. 12–9.
6. Артюх С.В. Роль онкомаркера SCCA в мониторинге химиолучевого лечения рака головы и шеи / С.В. Артюх, Е.Н. Сухина, В.П. Старенький // Онкология и радиология Казахстана. – 2018. – № 2(48). – С. 18-21.
7. Ахмедов Идрак Назим оглы. Эндоларингеальная холодноплазменная микрохирургия доброкачественных новообразований гортани: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.03. / Ахмедов Идрак Назим оглы. – М., 2011. – 122 с.
8. Бабанов С. Заболевания голосового аппарата при функциональном перенапряжении / С. Бабанов, Д. Будащ, А. Байкова А. //

Врач. – 2017. - № 11. – С. 20-24.

9. Бабияк В.И. Клиническая оториноларингология / В.И. Бабияк, Я.Ф. Накатис. – СПб: Гиппократ, 2005. – 800с. Часть «Гортань» - с. 607-705.

10. Белякова Е.Н. Факторы риска развития злокачественных новообразований головы и шеи / Е.Н. Белякова // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2021. - № 20(1). - С. 92–99. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-1-92-99>.

11. Бежанова С.Д. Параганглиома гортани / С.Д. Бежанова, Р.А. Хасанов, А.И. Павловская, Е.А. Смирнова // АРХИВ ПАТОЛОГИИ. - 2017. - № 5. - С. 34-37. <https://doi.org/10.17116/patol201779534-37>.

12. Быкова В.П. Опухоли гортани / В.П. Быкова // Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Руководство для врачей в 2-х томах. [Под ред. Н.А.Краевского, А.В.Смоляникова, Д.С.Саркисова]. - Издание 4-е, перераб. и доп. - М.: Медицина, 1993. – 1248 с. – Т.1. – С. 443-457.

13. Вакуловская Е.Г. Фотодинамическая терапия и флюоресцентная диагностика у больных раком молочной железы / Е.Г. Вакуловская, В.П.Летягин, Е.М. Погодина // Российский биотерапевтический журнал. - 2003. - № 4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fotodinamicheskaya-terapiya-i-flyuorestantsnaya-diagnostika-u-bolnyh-rakom-molochnoy-zhelezy> (дата обращения: 29.11.2021).

14. Виноградов В.В. Возможности выполнения функционально-щадящих операций у пациентов с метастатическим раком гортани и гортаноглотки III-IV стадий / В.В. Виноградов, С.С. Решульский // Head And Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи». – М.: Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и

шей». – 2016. - № 3. – С.42.

15. Высоцкая И.В. Актуальные вопросы канцерогенеза /И.В. Высоцкая, В.П. Летягин, М.А. Шабанов и др. // Клиническая онкогематология. – 2019. - № 12(1). – С. 101–106.

16. Гафурова А.И. Диагностика рецидива рака гортани с применением гарпунной биопсии под ультразвуковым контролем (клинический случай) / А.И. Гафурова, В.В. Виноградов, А.С. Коробкин, С.С. Решульский // Опухоли головы и шеи. – 2019. - № 9(3). – С. 97–101.

17. Герасимов А.Н. Медицинская статистика / А.Н. Герасимов. - М.: Медицинское информационное агентство, 2015. - 477 с.

18. Давыдов М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г: сборник / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель. - М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. – С. 22-68.

19. Дайхес Н.А. Клиническая патология гортани: Руководство-атлас для последиplomного обучения специалистов научных, лечебных и учебных медицинских учреждений / Н.А. Дайхес, В.П. Быкова, А.Б. Пономарева, Х.Ш. Давудов. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 160 с.

20. Дайхес Н.А. Возможности флуоресцентной спектроскопии в диагностике опухолей лор-органов / Н.А.Дайхес, В.В.Виноградов, И.А.Ким, С.С. Решульский и др. // Опухоли головы и шеи.– 2021. - № 11(1). – С. 86–95.<https://doi.org/10.17650/2222-1468-2021-11-1-86-95>.

21. Дайхес Н.А. Интервенционная диагностика новообразований гортани в ЛОР-онкологии / Н.А.Дайхес, В.В.Виноградов, С.С. Решульский и др. // Материалы Первого Международного Форума онкологии и радиологии. – Москва, 23-28 сентября 2018. – С. 173. <https://cyberleninka.ru/article/n/interventsionnaya-diagnostika-novoobrazovaniy-gortani-v-lor-onkologii/viewer>.

22. Дайхес Н.А. Онкологические результаты лечения метастатического рака гортани и гортаноглотки III-IV стадий / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, С.С. Решульский, О.О. Сивкович // Опухоли головы и шеи. – 2017. - № 2. – С. 25

23. Дайхес Н.А. Лечение первичного местнораспространенного рака гортани с использованием неoadьювантной таргетной терапии / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, О.О. Сивкович, С.С. Решульский., А.М. Хабазова, И.А. Ким // Оториноларингология. Восточная Европа. – 2019. - № 4(9). – С. 394-399.

24. Дайхес Н.А. Возможности флуоресцентной спектроскопии в диагностике опухолей лор-органов / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, И.А. Ким, С.С. Решульский, В.Ф. Прикулс, О.В. Карнеева, А.М. Хабазова, Прикуле Д.В. // Опухоли головы и шеи. – 2021. - № 11(1). – С. 86-95. <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2021-11-1-86-95>.

25. Дайхес Н.А. Современные методы ранней диагностики опухолей гортани и глотки / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, И.А. Ким, О.В. Карнеева, С.С. Решульский, А.М. Хабазова // Вестник оториноларингологии. – 2021. - № 86(3). С. 46-51. <https://doi.org/10.17116/otorino20218603146>.

26. Дайхес Н.А. Применение флуоресцентных технологий в ранней диагностике опухолей. Методические рекомендации / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, И.А. Ким, О.В. Карнеева, В.Ф. Прикулс, С.С. Решульский, Е.И. Трофимов, А.М. Хабазова. – М.: НМИЦО ФМБА, 2021. – 29 с.

27. Дайхес Н.А. Доброкачественные и предраковые заболевания гортани. Клинические рекомендации / Н.А. Дайхес, С.Г. Романенко, И.И. Нажмудинов, И.Г. Гусейнов // Рекомендации рассмотрены и утверждены на заседании Национальной медицинской ассоциации оториноларингологов от 3 октября 2014 года.

28. Дайхес Н.А. Комбинированное противоопухолевое лечение

местно-распространенного рака гортани с использованием таргетной терапии / Н.А. Дайхес, Е.И. Трофимов, О.О. Сивкович, Е.М. Фуки // Вестник Медицинского стоматологического института. - М.: НОЧУ ДПО «Медицинский Стоматологический Институт». - 2012. - № 4(21). - С. 66-69.

29. Данные ВОЗ по заболеваемости раком, 2014 год. <https://www.who.int/cancer/country-profiles/ru/>.

30. Долгушин Б.И. Стандарты УЗИ, РКТ, МРТ и ПЭТ/КТ исследований в онкологии / Б.И. Долгушин, И.Е. Тюрин. - 5-е изд. - М.: ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 2016. - С. 42-44.

31. Дюннебир Эрвин А. Лучевая диагностика. Оториноларингология. / Эрвин А. Дюннебир. - М.: МЕДпресс-информ, 2013. - 475 с.

32. Захарова М. Л. Врожденные пороки развития гортани у детей / М.Л. Захарова, П.В. Павлов // Российская оториноларингология. - 2017. - № 1(86). - С. 31-35.

33. Зыкова Л.Д. Заболевания гортани / Л.Д. Зыкова, Е.З. Мирошникова, Л.А. Черкасский. - Красноярск, 2000. - 110 с.

34. Какурина Г.В. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточный и карцинома и головы и шеи / Г.В. Какурина, И.В. Кондакова, Е.Л. Чойнзонов, Д.А. Шишкин, О.В. Черемисина // Сибирский онкологический журнал. - 2013. - № 2. - С. 62-66.

35. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 г. (заболеваемость и смертность) [под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой]. - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2019. - 250 с.

36. Карпищенко С.А. Воспалительные заболевания голосовых складок / С.А. Карпищенко // Consilium Medicum. - 2004. - № 10. - С. 792-796.

37. Кукушкин В.И. Взаимосвязь гигантского усиления сигналов рамановского рассеяния люминесценции наноструктурированных металлических поверхностях / В. И. Кукушкин, А. Б. Ваньков, И. В. Кукушкин // Письма в ЖЭТФ. – 2013. – Т. 98, Вып. 6. – С.383–388. doi:10.7868/S0370274X13180082.

38. Краевский Н.А. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Руководство / Н.А. Краевский, А.В. Смольянинова, Д.А. Саркисова. - Т.1-2. - изд. 4, перераб. и доп. - М.: Медицина, 1993. – 1248с. – Т.1. – 560 с.

39. Мухамедов М.Р. Фиброларингоскопия на этапах диагностики и лечения злокачественных новообразований гортани / М.Р. Мухамедов, О.В. Черемисина, Д.Е. Кульбакин // Сибирский Онкологический Журнал. - 2010. - № 2. – С. 36-37.

40. Нажмудинов И.И. Совершенствование методов обследования, лечения и наблюдения больных с предраковыми заболеваниями гортани Дисс....доктора медицинских наук:14.01.03/ Нажмудинов Ибрагим Исмаилович. - М., 2018. – 204 с.

[https://www.dissercat.com/content/sovershenstvovanie-metodov-obsledovaniya-lecheniya-i-nablyudeniya-bolnykh-s-predrakovymi-zab.](https://www.dissercat.com/content/sovershenstvovanie-metodov-obsledovaniya-lecheniya-i-nablyudeniya-bolnykh-s-predrakovymi-zab)

41. Нажмудинов И.И. Предраковые Заболевания Гортани, Современные Аспекты Диагностики / И.И. Нажмудинов, М.З. Саидов, И.Ю. Серебрякова, Н.А. Дайхес, К.М. Магомедова, И.Г. Гусейнов // Вестник Дагестанской Государственной Медицинской Академии. – 2016. - № 2(19). – С. 96-101.

42. Оптическая когерентная томография в медицинской диагностике [Электронный ресурс]: электрон. метод. указания / сост. В.Н. Гришанов. – Электрон. текстовые и граф. данные (1,24 Мб). – Самара: Изд-во СГАУ, 2015. – 37 с. <http://repo.ssau.ru/handle/Methodicheskie-ukazaniya/Opticheskaya-kogerentnaya-tomografiya-v-medicinskoi-diagnostike-Elektronnyi-resurs-metod->

ukazaniya-53426.

43. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. — М.: Медицина, 2005. — 424 с.

44. Пат. 2729503 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 [Pat. 2729503 Rossijskaya Federaciya, SPKA61V 6/00 (2020.02), V82V 1/00 (2020.2). Sposob provedeniya biopsiiu bol'nyh s podozreniem na rak gortani [Tekst] / Dajhes N.A., Vinogradov V.V., Reshul'ski jS.S., Prikuls V.F., Kim I.A., Karneeva O.V., Trofimov E.I., Sivkovich O.O., Khabazova A.M.; zayavitel' i patentoobladatel' FGBU NMICO FMBA Rossii — № 20200111476; zayavl. 19.03.2020 ; opubl. 07.08.2020, Vyul. № 22 (InRuss.).]

45. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи: клинические рекомендации / А.И. Пачес, В.Ж. Бржезовский, Л.В. Демидов, В.Б. Карахан и др. - 5-е изд., доп. и перераб. - М.: Практическая медицина, 2013. - 478 с.

46. Подвязников С.О. Диагностика и лечение рака гортаноглотки. Клинические рекомендации / С.О. Подвязников, Е.Л. Чойнзонов, М.А. Кропотов, Л.Г. Кожанов, И.Н.Пустынский, В.И.Письменный, С.Б.Алиева, Т.А.Акетова, Т.Д. Таболиновская // Сибирский онкологический журнал. - 2014. - № 6. – С. 71-75.

47. Рак ротоглотки. Клинические рекомендации. [http:// oncology-association.ru/files/clinicalguidelines_adults%С2%A0-%20 projects2018/rak_rotoglotki_pr2018.pdf](http://oncology-association.ru/files/clinicalguidelines_adults%С2%A0-%20projects2018/rak_rotoglotki_pr2018.pdf).

48. Рябова М.А. Ограничения компьютерной томографии в диагностике рака гортани / М.А. Рябова, М.Ю. Улупов, Г.В. Портнов, Е.Е.

Пособило // Лучевая диагностика и терапия. – 2014. - № 4. – С. 92-99. <https://doi.org/10.22328/2079-5343-2014-4-92-99>.

49. Салеева Д.В. Функционирование регуляторных РНК, влияющих на развитие опухолевых клеток, у больных раком гортани / Д.В. Салеева, В.Ф. Михайлов, Л.В. Шуленина, В.В. Виноградов, А.А. Бахтин, К.В. Акопян, М.В. Незнанова, Г.Д. Засухина//Патологическая физиология экспериментальная терапия. – 2018. - № 4(Том 62). - С. 67-74.

50. Свистушкин В.М. Применение контактной эндоскопии в диагностике заболеваний гортани / В.М. Свистушкин, Н.Д. Чучуева // Российский медицинский журнал. – 2015. - № 23. – С. 1406–1408.

51. Свистушкин В.М. Применение метода узкоспектральной эндоскопии в диагностике злокачественных заболеваний гортани. Обзор литературы и клинические наблюдения / В.М. Свистушкин, Н.Д. Чучуева // Медицинский Совет. – 2017. - № 8. – С. 104-107.

52. Свистушкин В.М. Комбинированное применение современных эндоскопических методов в диагностике предрака и рака гортани / В.М. Свистушкин, И.В. Решетов, Н.Д. Чучуева, Б.Б. Салтыков//Вестник оториноларингологии. – 2019. – Т.84. - № 3. - С. 32-36.

53. Сдвижков А.М. Томографические методы лучевой диагностики рака гортани и гортаноглотки / А.М. Сдвижков, П.В. Васильев, А.Л. Юдин, Л.Г. Кожанов // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2007. - № 6. – С. 18-21.

54. Серова Н.С., Шебунина А.Б., Аветисян Э.Е. Роль КТ и МРТ в диагностике плоскоклеточной карциномы гортани / Н.С. Серова, А.Б. Шебунина, Э.Е. Аветисян // Russian Electronic Journal of Radiology. - 2019. - № 9(2). – С. 197-204. DOI:10.21569/2222-7415-2019-9-2-119-129.

55. Соколов В.Н. Мультидисциплинарный подход к лечению параганглиом шеи / Н.В. Соколов, А.В. Бондарь, И.В. Белоцерковский, Д.Г.

Янева // German International Journal of Modern Science. – 2012. - № 4. - С.22-31.

56. Сорокин И.В. Возможности КТ, МРТ в диагностике рака гортани /И.В. Сорокин, А.С. Коробкин, Ю.С. Куян //HeadAndNeck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи». – М.: Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи». – 2018. – № 2. – С. 12-13.

57. Степанов С.О. Предоперационная доплерометрия ветвей наружной сонной артерии у онкологических больных, нуждающихся в микрохирургической реконструкции / С.О. Степанов, В.В. Ратушная // Сибирский онкологический журнал. – 2005. - № 3. - С. 122-123.

58. Степанова Ю. Е. Особенности клинических проявлений амилоидоза гортани / Ю.Е. Степанова, Т.В. Готовяхина, А.Н. Савин, Н.Н. Антонов // Российская оториноларингология. – 2016. № 5 (84). – С. 80-87. <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-klinicheskikh-proyavleniy-amiloidoza-gortani/viewer>.

59. Суровцев И.Ю. Оптимизация алгоритма комплексной диагностики рака гортани с использованием сочетания лучевых и эндоскопических методов / И.Ю. Суровцев, В.Н. Королев, К.И. Кулаев. - В сб.: Материалы XIII Российского онкологического конгресса. М., 2008.

60. Танеева А.Ш. Спорные вопросы в лечении больных раком складчатого отдела гортани Т3N0-2M0 / А.Ш. Танеева, А.М. Мудунов, С.Б. Алиева // Опухоли головы и шеи. – 2014. - № 2. – С.10-13. doi: 10.17650/2222-1468-2014-0-2-10-13.

61. Трофимов Е.И. Оптимизация диагностики и хирургического лечения метастатического рака гортани и гортаноглотки /Е.И. Трофимов, О.О. Сивкович, Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, С.С. Решульский //Опухоли

головы и шеи. – 2018. – Том 9. - № 2. – С. 29-34.
<https://cyberleninka.ru/article/n/optimizatsiya-diagnostiki-i-hirurgicheskogo-lecheniya-metastaticheskogo-raka-gortani-i-gortanoglotki/viewer>.

62. Унгиадзе Г.В. Эндоскопическая диагностика раннего рака гортани /Г.В. Унгиадзе, Е.С. Вакурова // Сибирский онкологический журнал. – 2010. - № 2. – С. 49–50.

63. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю. Урбах. - М: Медицина - 1975 г. - 297 с.

64. Федорова Е.Б. Совершенствование хирургического этапа комплексной реабилитации пациентов при раке гортани /Е.Б. Федорова, Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, С.С. Решульский, А.М. Хабазова // Оториноларингология. Восточная Европа. – 2021. - Т.11. - № 3. С. 258-264.DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.014>

65. Черемисина, О.В. Возможности эндоскопической диагностики предопухолевых заболеваний и рака гортани в современной онкологии / О.В. Черемисина, Е.Л. Чойнзонов // Сибирский онкологический журнал. – 2007. - № 3. – С. 5–9.

66. Чесноков А.А. Чресщитовидные субтотальные резекции гортани первичной ларингопластикой при раке гортани III и IV стадии /А.А. Чесноков. — Сургут.: Издательско-печатный Дом «Дефис», 2011. — 72 с.

67. Чучуева Н.Д. Современные методы эндоскопической визуализации в диагностике патологии гортани, полости рта и ротоглотки: систематический обзор /Н.Д. Чучуева, И.В. Решетов, В.М. Свистушкин // HeadAndNeck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи». – М.: Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи».- 2017. - № 4. – С. 43–52.

68. Чучуева Н.Д. Возможности контактной эндоскопии в определении очагов неоангиогенеза при злокачественных новообразованиях гортани / Н.Д. Чучуева, В.М. Свистушкин, И.В. Решетов, Р. Пужеду // Российская оториноларингология. – 2018. - № 2 (93). – С. 89-96.

69. Шахсуварян С.Б. Прогностическая роль клинических, морфологических и молекулярно- генетических характеристик рака гортани, медицинская реабилитация, количественная оценка степени функциональных нарушений при осуществлении экспертно-реабилитационной диагностики /С.Б. Шахсуварян, Б.И. Поляков, М.А. Ломая // Опухоли головы и шеи. – 2015. - № 4 (5). - С. 28-40.

70. Шевчук И.В. Морфологическая характеристика железистого аппарата гортани людей разного возраста / И.В. Шевчук // Морфология. — 2000. Том 117. - № 4. - С. 84-85.

71. Юденферд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине /С. Юденферд. - М.:Мир, 1965. – 484 с.

72. Muttalib Mohammad A. A. Malignant Laryngeal Tumours: A case study from the North of Iraq / Ali A. Muttalib Mohammad, Qahtan A. Radwan. - 2003.<https://www.researchgate.net/publication/329339613>.

73. Arens C. Histologic assessment of epithelial thickness in early laryngeal cancer or precursor lesions and its impact on endoscopic imaging / C. Arens, H.Glanz, J.Woenckhaus, K.Hersemeyer, M.Kraft // European Archives of Otorhinolaryngology. – 2007. - № 264.- P. 645–649.

74. Arens C. Early Diagnosis of Laryngeal Cancer / C. Arens // Laryngo-Rhino-Otologie. – 2004. - Vol. 83. - № 11. – P. 768–770. DOI:10.1055/s-2004-825996.

75. Armstrong W.B. Optical Coherence Tomography of Laryngeal Cancer. / W. B.Armstrong, J.M.Ridgway, D. E.Vokes, S.Guo, J.Perez, R. P.Jackson, B. J. F. Wong // TheLaryngoscope.- 2006. – Vol.116. - № 7. – P.

1107–1113.

76. Baatenburg de Jong R.J. Chondroma and chondrosarcoma of the larynx / R.J. Baatenburg de Jong, S. van Lent, P.C.Hogendoorn // *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*. – 2004. - № 12. – P. 98–105.

77. Becker M. Neoplastic invasion of the laryngeal cartilage: Comparison of MR imaging and CT with histopathologic correlation / M. Becker, P.Zbären, H.Laeng, C. Stoupis, B. Porcellini, P. Vock // *Radiology*. – 1995. - № 194(3). – P. 661–669. doi:10.1148/radiology.194.3.7862960.

78. Benjamin B. Systematic direct laryngoscopy: the Lindholm laryngoscopes / Bruce Benjamin, Carl-Eric Lindholm// *Annals of Otolaryngology & Laryngology*. – 2003. - № 112(9 Pt 1). P. 787–797. doi:10.1177/000348940311200908.

79. Bertino G. Effectiveness of narrow band imaging in the detection of premalignant and malignant lesions of the larynx: Validation of a new endoscopic clinical classification / Giulia Bertino, Salvatore Cacciola, Wladir Bastos Fernandes Jr, Carolina Muniz Fernandes, Antonio Occhini, Carmine Tinelli, Marco Benazzo// *Head & Neck*. – 2014. - № 37(2). - P. 215–222.

80. Best M.G., Vancura A., Wurdinger T. Platelet RNA as a circulating biomarker trove for cancer diagnostics / M. G. Best, A. Vancura, T. Wurdinger // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2017. - № 15. – P. 1295–1306. doi: 10.1111/jth.13720.

81. Cashman E.C. Role of positron emission tomography-computed tomography in head and neck cancer / E.C. Cashman, P.J. MacMahon, M.J. Shelly, E.C. Kavanagh // *The Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*. – 2011. - № 120 (9). – P. 593–602. doi: 10.1177/000348941112000907.

82. Bhat S. Application of HPLC combined with laser induced fluorescence for protein profile analysis of tissue homogenates in cervical cancer / Sujatha Bhat, Ajeetkumar Patil, Lavanya Rai, V. B. Kartha, Santhosh Chidangil //

The Scientific World Journal.- 2012.- Article ID 976421.
<https://doi.org/10.1100/2012/976421>.

83. Burns J.A. Optical coherence tomography: imaging the larynx / J.A. Burns // *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*. – 2012. - № 20(6). P. 477–481. doi: 10.1097/MOO.0b013e3283582d7d.

84. Chu E.A. Laryngeal cancer: diagnosis and preoperative work-up / Eugene A. Chu, Young J. Kim// *Otolaryngology Clinics of North America*. 2008. -№ 41(4). – P. 673–695.doi: 10.1016/j.otc.2008.01.016.

85. Cikojevic D. Comparison of contact endoscopy and frozen section histopathology in the intra-operative diagnosis of laryngeal pathology / D. Cikojevic, I.Gluncic, V.Pesutic-Pisac // *The Journal of Laryngology & Otology*. – 2008. –Vol. 122, Issue 8. – P. 836–839.<https://doi.org/10.1017/S0022215107000539>.

86. Devaney K.O. Vocal process granuloma of the larynx-recognition, differential diagnosis and treatment / K.O. Devaney, A. Rinaldo, A.Ferlito // *Oral Oncol*. – 2005. - № 41(7). – P. 666-6699.
doi:10.1016/j.oraloncology.2004.11.002

87. Di Meo A. Proteomics and peptidomics: moving toward precision medicine in urological malignancies / Ashley Di Meo, Maria D. Pasic, George M. Yousef // *Oncotarget*. – 2016. - № 7(32). – P. 52460–52474. doi: 10.18632/oncotarget.8931.

88. Di Poto C. Metabolomic characterization of hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis for biomarker discovery / C.Di Poto, A.Ferrarini, Y.Zhao, R.S.Varghese, C.Tu, Y.Zuo, M.Wang, M.R.Nezami Ranjbar, Y.Luo, C.Zhang, C.S.Desai, K.Shetty, M.G.Tadesse, H.W. Resson // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. – 2017. -№ 26(5). – P.675–683.

89. Dietz A. Epidemiology of laryngeal cancer / A. Dietz // *Laryngo-Rhino-Otology*.– 2004. - № 83. – P. 771–772.

90. Doll R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today / R. Doll, R. Peto // *The Journal of the National Cancer Institute*. – 1981. - № 66(6). – P. 1191–1308.

91. Dong L. Clinical next generation sequencing for precision medicine in cancer. / L. Dong, W. Wang, A. Li, R. Kansal, Y. Chen, H. Chen, X. Li // *Current Genomics*. – 2015. – № 16(4). – P. 253–263. doi: 10.2174/1389202915666150511205313.

92. Dreyer T. Laryngeal epithelial dysplasia vs. laryngeal intraepithelial neoplasia / T. Dreyer, H. Glanz // *Pathologie*. – 2004. - № 25(1). – P. 9–13. doi: 10.1007/s00292-003-0667-0.

93. Eckel H.E. Laryngeal intraepithelial neoplasia / H.E. Eckel, W. Raunik, H. Rogatsch // *Laryngorhinootologie*. – 2008. - № 87(6). - P. 439-443. doi: 10.1055/s-2008-1077288.

94. Evans H.I. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone: a clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading / Harry L. Evans MD, Alberto G. Ayala MD, Marvin M. Romsdahl MD, PhD // *Cancer*. — 1977. – V. 40. № 2. – P. 818-831. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197708\)40:2<818::AID-CNCR2820400234>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197708)40:2<818::AID-CNCR2820400234>3.0.CO;2-B).

95. Farah C. S. Oral Carcinogenesis and Malignant Transformation / C. S. Farah, K. Shearston, A. P. Nguyen, O. Kujan // *Premalignant Conditions of the Oral Cavity*. – 2019. - № 1. - P. 27–66. doi:10.1007/978-981-13-2931-9_3.

96. Friedrich G. Defining phonosurgery: a proposal for classification and nomenclature by the Phonosurgery Committee of the European Laryngological Society (ELS) / G. Friedrich, M. Rémacle, M. Birchall, J.P. Marie, C. Arens // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. - 2007. - № 264. – P. 1191–1200. doi: 10.1007/s00405-007-0333-x.

97. Golubnitschaja O., *Medicine in the early twenty-first century: paradigm and anticipation* - EPMA position paper 2016 / O. Golubnitschaja,

B.Baban, G.Boniolo, W.Wang, R.Bubnov, M.Kapalla, Krapfenbauer K., M.S.Mozaffari, V. Costigliola // EPMA Journal. – 2016. - № 7(1). – Article number: 23.doi: 10.1186/s13167-016-0072-4.

98. Goodwin S. Coming of age: ten years of nextgeneration sequencing technologies / S.Goodwin, J.D.McPherson, W.R.McCombie // Nature Reviews Genetics. -2016. - № 17. – P. 333–351.

99. Gräfe L. Mikrolaryngoskopie: Eine populationsbezogene Analyse zu Outcome, Komplikationen und Operationsraten / L.Gräfe,D. Böger, J. Büntzel, D.Eßer, K.Hoffmann, P.Jecker, O. Guntinas-Lichius // Laryngorhinootologie. – 2017. - № 96(07). – P.467–472. doi:10.1055/s-0043-100765.

100. Fredrickson J.V. Radiation-Induced Carcinoma in a Hemangioma / J.V. Fredrickson,J.S.J.Haight, A.M. Noyek // Otolaryngology – Head and Neck Surgery. - 1979. - September 1. <https://doi.org/10.1177/019459987908700507>.

101. Han X.Circulating tumor DNA as biomarkers as biomarkers for cancer detection / X.Han, J.Wang, Y.Sun // Genomics, Proteomics & Bioinformatics. – 2017. - № 15. – P. 59-72. doi:10.1016/j.gpb.2016.12.004.

102. Hanna N. Two-dimensional and 3-dimensional optical coherence tomographic imaging of the airway, lung, and pleura / N. Hanna, D. Saltzman, D. Mukai, Z. Chen, S. Sasse, J. Milliken, S. Guo, W. Jung, H. Colt, M. Brenner // TheJournalofThoracicandCardiovascularSurgery. - 2005. - № 129(3). – P. 615–622. doi: 10.1016/j.jtcvs.2004.10.022.

103. Heyes R., & Lott D. G. (2017). Laryngeal Cysts in Adults: Simplifying Classification and Management / R.Heyes, D. G. Lott // Otolaryngology-Head and Neck Surgery. – 2017. - № 157(6). - P. 928 - 939. doi:10.1177/0194599817715613.

104. Hu Q. Assessment of glottic squamous cell carcinoma: comparison of sonography and non-contrast-enhanced magnetic resonance imaging / Q. Hu , S. Y.

Zhu, Z. Zhang, F. Luo, Y.P. Mao, X.H. Guan // Journal of Ultrasound in Medicine. – 2011. - № 30 (11). – P. 1467–1474. doi: 10.7863/jum.2011.30.11.1467.

105. Imaizumi M. Surgical treatment of laryngeal papillomatosis using narrow band imaging / M.Imaizumi, W.Okano, Y. Tada, K. Omori //Otolaryngology - Head and Neck Surgery. - 2012. - № 147(3). – P. 522-524. <https://doi.org/10.1177/0194599812448162>.

106. Isenberg J.S.Institutional and comprehensive review of laryngeal leukoplakia / J.S.Isenberg, D.L.Crozier, S.H. Dailey // Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology. – 2008. - № 117(1). – P. 74–79.doi: 10.1177/000348940811700114.

107. Jako GJ. Laryngoscope for microscopic observation, surgery, and photography. The development of an instrument / GJ. Jako //Arch Otolaryngol Head Neck Surg. - 1970. - № 91(2). – P.196–199. doi: 10.1001/archotol.1970.00770040266019.

108. Jemal A. Global cancer statistics / A. Jemal, F. Bray, M.M. Center, J. Ferlay, E. Ward, D. Forman // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2011. – V.61, issue 2. - P. 61-69. doi: 10.3322/caac.20107.

109. Jobrack A.D. Granular Cell Tumor: Report of 13 Cases in a Veterans Administration Hospital / A.D.Jobrack, S.Goel, A.M. Cotlar // Military Medicine. – 2018. - Vol.183, issue 9-10. – P. e589-e593. doi:10.1093/milmed/usx237.

110. Kandiloros D. Prospective study of a panel of tumor markers as prognostic factors in patients with squamous Cell Carcinoma of head and neck / D.Kandiloros, A.Eleftheriadou, T.Chalastras, et al // Medicl Oncology. – 2006. - № 23(4). – P. 463–470.doi:10.1385/MO:23:4:463.

111. Kanikarla-Marie P.Platelets, circulating tumor cells, and the circulome / P.Kanikarla-Marie, M.Lam, D.G.Menter, S. Kopetz // Cancer and Metastasis Reviews. – 2017. - № 36(2). – P. 235–248. doi: 10.1007/s10555-017-9681-1.

112. Kinkorová J. Biobanks in the era of personalized medicine: objectives,

challenges, and innovation / J.Kinkorová // EPMA Journal. – 2016. - № 7(1). - Article number: 4. doi: 10.1186/s13167-016-0053-7.

113. Kleinsasser O. The classification and differential diagnosis of epithelial hyperplasia of the laryngeal mucosa on the basis of histomorphological features / O.Kleinsasser // Laryngology, Rhinology and Otology. - 1963. -№ 42. – P. 339–362.

114. Klussmann J.P. HPV-associated tonsillar cancer. Anupdate / J.P.Klussmann, S.Dinh, O. Guntinas-Lichius, etal // HNO. – 2004. - № 52(3). – P. 208–218. doi: 10.1007/s00106-004-1069-1.

115. Klussmann J.P.Complications of suspension laryngoscopy / J.P.Klussmann, R.Knoedgen, C.Wittekindt, M.Damm, H.E. Eckel //The Annals of otology, rhinology, and laryngology.- 2002. - № 111. – P. 972–976. doi: 10.1177/000348940211101104.

116. Kopfstein L. Metastasis: cell-autonomous mechanisms versus contributions by the tumor microenvironment / L. Kopfstein, G. Christofori // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2006. - № 63(4). – P. 449–468.doi:10.1007/s00018-005-5296-8.

117. Kraft M. Value of fluorescence endoscopy for the early diagnosis of laryngeal cancer and its precursor lesions / M.Kraft, C.S.Betz, A.Leunig, C.Arens // Head&Neck. – 2011. - № 33(7). – P. 941-948.doi: 10.1002/hed.21565.

118. Kraft M. Value of narrow band imaging in the early diagnosis of laryngeal cancer / M.Kraft, K.Fostiropoulos, N.Gürtler, A.Arnoux, N.Davaris, C. Arens//Head&Neck. – 2016. № 38(1). – P. 15–20. <https://doi.org/10.1002/hed.23838>.

119. Kumar V. Pathologic basis of disease, 7th ed. / V.Kumar, A.K.Abbas, N. Fausto. - Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. – P. 786–787.

120. Lacombe J. Analysis of saliva gene expression during head and neck cancer radiotherapy: a pilot study / J.Lacombe, C.Brooks, C.Hu, E.Menashi,

R.Korn, F.Yang, F.Zenhausen // Journal of Radiation Research. – 2017. - № 188(1). – P. 75–81. doi: 10.1667/RR14707.1.

121. Lehmann-Che J. Cancer genomics guide clinical practice in personalized medicine / J.Lehmann-Che, B.Poirot, J.C.Boyer, A.Evrard // Therapie. - 2017. - № 72(4). – P. 439-451. doi: 10.1016/j.therap.2016.09.015.

122. Lewin J.S. Characterization of laryngopharyngeal reflux in patients with premalignant or early carcinomas of the larynx / J.S.Lewin, A.M. Gillenwater, J.D. Garrett, et al // Cancer. – 2003. - № 97(4). – P. 1010–1014. doi: 10.1002/cncr.11158.

123. Lindeberg H. Laryngeal dysplasia and the human papillomavirus / H. Lindeberg, A.Krogdahl // Clinical otolaryngology and allied sciences.– 2003. - № 22(4), - P. 382–386. doi: 10.1046/j.1365-2273.1997.00005.x.

124. Lonneux M. Positron emission tomography with 18F fluorodeoxyglucose improves staging and patient management in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a multicenter prospective study / M.Lonneux, M.Hamoir, H.Reychler, P.Maingon, C.Duvillard, G.Calais, et al // Journal of Clinical Oncology. – 2010. № 28(7). – P. 1190–1195. doi: 10.1200/JCO.2009.24.6298.

125. Luerssen K. Optical characterization of vocal folds with optical coherence tomography / K.Luerssen, H.Lubatschowski, H.Gasse, et al // Photonic Therapeutics and Diagnostics. – 2006. – Vol.6078. – P.280-286. doi: 10.1117/12.645144.

126. Mardis E.R. Next-generation sequencing platforms / E.R. Mardis // Annual Review of Analytical Chemistry. - 2013. - № 6. – P. 287–303. doi: 10.1146/annurev-anchem-062012-092628.

127. Masaki T. Narrow band imaging in the diagnosis of intraepithelial and invasive laryngeal squamous cell carcinoma: a preliminary report of two cases / T.Masaki, C. Katada, M. Nakayama, et al // Auris Nasus Larynx. – 2009. -

№ 36(6). – P. 712-716. doi: 10.1016/j.anl.2009.01.008.

128. Meyerson M. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing / M. Meyerson, S.Gabriel, G. Getz // *Nature Review Genetics*. – 2010. № 11(10). – P. 685–696. doi: 10.1038/nrg2841.

129. Muller A. The incidence of microlaryngoscopy associated complications / A. Muller, L. Verges, P. Schleier, M. Wohlfarth, R. Gottschall // *HNO*. –2002. -№ 50(12). – P. 1057–1061. doi: 10.1007/s00106-002-0640-x.

130. Nafi M. Shehab, Ali A. Muttalib S. Mohammad. Malignant Laryngeal Tumours: A case study from the North of Iraq.

131. Narumi T., Kozawa E., Heshiki A., et al. CT and MRI findings of a solitary extramedullary plasmocytoma of the oropharynx: case report. *Radiation Medicine*. 2005;23(8):574–7.

132. Ni X.-G. Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging / X.-G. Ni, S. He, Z.-G. Xu, L. Gao, N. Lu, Z. Yuan, S.-Q. Lai, Y.-M. Zhang, J.-L. Yi, X.-L. Wang, L. Zhang, X.-Y. Li, G.-Q. Wang // *The Journal of Laryngology and Otology*. – 2011. - № 125(3). – P. 288-296. doi: 10.1017/S0022215110002033.

133. Orita Y. Laryngeal squamous cell papilloma is highly associated with human papillomavirus / Y.Orita, Y.Gion, T.Tachibana, K.Ikegami, H.Marunaka, S.Makihara, et al// *Japanese Journal of Clinical Oncology*. – 2018. – Vol. 48, issue 4. – P. 350–355. doi:10.1093/jjco/hyy009.

134. Orosco R.K. Safety of adult ambulatory direct laryngoscopy: revisits and complications / R.K.Orosco, H.W.Lin, N. Bhattacharyya // *Journal of the American Medical Association otolaryngology, head & neck surgery*. - 2015. - № 141(8). – P. 685–689. doi: 10.1001/jamaoto.2015.1172.

135. Overman M.J. Use of research biopsies in clinical trials: are risks and benefits adequately discussed? / M.J.Overman, J.Modak, S.Kopetz, R.Murthy, J.C. Yao, M.E.Hicks, J.L.Abbuzzese, A.L.Tam // *Journal of Clinical Oncology*. –

2013. - № 31(1). – P. 17–22. doi: 10.1200/JCO.2012.43.1718.

136. O’Shaughnessy J.A. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: an important target for accelerated new agent development / J.A. O’Shaughnessy, G.J. Kelloff, G.B. Gordon, et al // *Clinical cancer research*. – 2002. - № 8(2). – P. 314–346.

137. Piazza C. Narrow band imaging and high definition television in the assessment of laryngeal cancer: a prospective study on 279 patients / C. Piazza, D.Cocco, L.De Benedetto, F.Del Bon, P.Nicolai, G. Peretti // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. – 2010. - № 267(3). – P. 409–414. doi: 10.1007/s00405-009-1121-6.

138. Piazza C. Narrow band imaging in endoscopic evaluation of the larynx / C. Piazza, F.Del Bon, G.Peretti, P.Nicolai // *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*. – 2012. - № 20(6). – P. 472–476. doi: 10.1097/MOO.0b013e32835908ac.

139. Quante G. Easy and safe dental protection in rigid endoscopy / G.Quante, R. Knoedgen, H.E.Eckel, J.P. Klussmann // *Otolaryngology--head and neck surgery*. – 2005. - № 132(2). – P. 247–248. doi: 10.1016/j.otohns.2004.09.061.

140. Ramroth H. Environmental tobacco smoke and laryngeal cancer: results from a population-based case-control study / H.Ramroth, A.Dietz, H. Becher // *European Archives of Otorhinolaryngology*. – 2008. - № 265(11). – P. 1367-1371. doi: 10.1007/s00405-008-0651-7.

141. Renner G. Small cell carcinoma of the head and neck: a review / G.Renner // *Seminars in Oncology*. – 2007. - № 34(1). - P. 3–14. doi: 10.1053/j.seminoncol.2006.10.024.

142. Riede U.-N., Walch A., Wiestler O.D. Störungendes Spezielle und allgemeine Pathologie. Zellwachstums. In: Riede U-N, Werner M,

Schaefer H-E (Hrsg). Stuttgart: Thieme. 2004:329 – 384.

143. Risch A. Laryngeal cancer risk in Caucasians associated with alcohol and tobacco consumption but not modified by genetic polymorphisms in class I alcoholdehydrogenases ADH1B and ADH1C, and glutathione-S-transferases GSTM1 and GSTT1 / A.Risch, H.Ramroth, V.Raedts, et al // *Pharmacogenetics*. – 2003. - № 13(4). – P. 225–230. doi: 10.1097/00008571-200304000-00007.

144. Rodrigues R.S. Comparison of whole-body PET/CT, dedicated high-resolution head and neck PET/CT, and contrast-enhanced CT in preoperative staging of clinically M0 squamous cell carcinoma of the head and neck / R.S. Rodrigues, F.A.Bozza, P.E.Christian, J.M.Hoffman, R.I.Butterfield, C.R.Christensen, et al // *Journal of Nuclear Medicine*. – 2009. -№ 50(8). – P. 1205–1213. doi: 10.2967/jnumed.109.062075.

145. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology, 9th ed / J.Rosai // *Diagnostic Cytopathology*. - 2004. – Vol. 34, Issue 5. -P. 335–348.

146. Rosen C.A. Oropharyngeal complications of suspension laryngoscopy: a prospective study / C.A.Rosen, P.A.Andrade Filho, L.Scheffel, R. Buckmire // *Laryngoscope*. – 2005. - № 115(9). – P. 1681–1684. doi: 10.1097/01.MLG.0000175538.89627.0D.

147. Schröck A. Flexible 'chip-on-the tip' endoscopy for larynx diagnostics / A. Schröck, N.Stuhrmann, G.Schade // *HNO*. – 2008. - № 56(12). – P. 1239–1242. doi: 10.1007/s00106-008-1783-1.

148. Schrump D. S. Circulating tumor DNA: Solid data from liquid biopsies / D.S. Schrump // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2017. - № 154(3). P. 1132–1133. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2017.05.059>.

149. Shinozaki T. Narrow band imaging endoscopy for unknown primary tumor sites of the neck / T.Shinozaki, R.Hayashi, M.Ebihara, M.Miyazaki, H. Daiko, M.Saikawa, S. Ebihara // *Head and neck* – 2012. - № 34(6). – P. 826–9. doi:10.1002/hed.21825.

150. Shen B. Optical coherence tomography in the gastrointestinal tract / B.Shen, G. Zuccaro // *Gastrointestinal Endoscopy Clinic of North America*. 2004. - № 14(3). – P. 555–571. doi: 10.1016/j.giec.2004.03.007.

151. Siegel R.L. Cancer statistics, 2017 / R.L.Siegel, K.D.Miller, A. Jemal // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2017. - № 67(1). – P. 7–30. doi: 10.3322/caac.21387.

152. Smith A. MicroRNA-107 functions as candidate tumors-suppressor gene in head and neck squamous cell carcinoma by downregulation of protein kinase C ϵ / J. Datta, A.Smith, J.C. Lang, M.Islam, D.Dutt, T.Teknos, Q. Pan // *Oncogene*. – 2012. - № 31(36). – P. 4045–4053. doi: 10.1038/onc.2011.565.

153. Storck C. Laryngeal granuloma. Aetiology, clinical signs, diagnostic procedures, and treatment / C.Storck, M. Brockmann, E.Zimmermann, D. Nekahm-Heis, P.G. Zorowka // *HNO*. – 2009. - № 57(10). P. 1075-1080. doi: 10.1007/s00106-008-1778-y.

154. Tessema B. Tongue paresthesia and dysgeusia following operative microlaryngoscopy / B.Tessema, L.Sulica, G.-P.Yu, R.B. Sessions // *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. – 2006. - № 115(1). – P. 18–22. doi: 10.1177/000348940611500103.

155. Thompson L.D.R. *Head and Neck Pathology: A volume in the foundations in pathology series*. 1stedditin. - Churchill Livingstone Elsevier. 2006. - 632 p.

156. Thompson L.D.R. Chondrosarcoma of the larynx: A clinicopathologic study of 111 cases with review of the literature / L.D.R. Thompson, F.H. Gannon // *Am. J. Surg. Path.* – 2002. - № 26(7). – P. 836-851. doi: 10.1097/00000478-200207000-00002.

157. Tjon Pian Gi R.E.A. Narrow band imaging is a new technique in visualization of recurrent respiratory papillomatosis / R.E.A.Tjon Pian, G.B.Halmos, B.M. van Hemel, et al// *The Laryngoscope*. – 2012. - № 122(8). –

P. 1826-1830. doi: 10.1002/lary.23344.

158. Torkian B.A. Noninvasive measurement of ablation crater size and thermal injury after CO₂ laser in the vocal cord with optical coherence tomography / B.A.Torkian, S.Guo, A.W.Jahng, et al // *Otolaryngology –Headand NeckSurgery*. – 2006/ - № 134(1). – P. 86 –91. doi: 10.1016/j.otohns.2005.09.016.

159. Tsai C.-G. Dynamic B-mode ultrasound imaging of vocal fold vibration during phonation / C.-G.Tsai, J.-H.Chen, Y.-W.Shau, T.-Y.Hsiao // *Ultrasound in Medicine and Biology*. – 2009. -№ 35(11). – P. 1812–1818. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.06.002.

160. Van Ginkel J.H. Droplet digital PCR for detection and quantification of circulating tumor DNA in plasma of head and neck cancer patients / J.H. van Ginkel, M.M.H.Huibers, R.J.J.van Es, R.de Bree, S.M. Willems // *BMC Cancer*. – 2017. - № 17(1). - P. 428. doi: 10.1186/s12885-017-3424-0.

161. Warnecke A. Contact endoscopy for the evaluation of the pharyngeal and laryngeal mucosa / A. Warnecke, et al // *The Laryngoscope*. – 2009. - № 120(2). – P. 253–258. <https://doi.org/10.1002/lary.20732>.

162. Watanabe A. The value of narrow band imaging for early detection of laryngeal cancer / A.Watanabe, M.Taniguchi, H.Tsujie, M.Hosokawa, M. Fujita, S. Sasaki // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. – 2009/ - № 266(7). – P. 1017–1023. doi: 10.1007/s00405-008-0835-1.

163. Watanabe A., The value of narrow band imaging endoscope for early head and neck cancers / A.Watanabe, M.Taniguchi, H.Tsujie, M.Hosokawa, M. Fujita, S. Sasaki // *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. -2008. - № 138(4). – P. 446–451. doi: 10.1016/j.otohns.2007.12.034.

164. Wong B.J. In vivo optical coherence tomography of the human larynx: normative and benign pathology in 82 patients / B.J.Wong, R.P.Jackson, S. Guo, et al // *The Laryngoscope*. – 2005. - № 115(11). - P. 1904 –1911. doi: 10.1097/01.MLG.0000181465.17744.BE.

165. Xia C.-X. Usefulness of ultrasonography in assessment of laryngeal carcinoma / C.-X.Xia, Q.Zhu, H.-X. Zhao, et al // *The British Journal of Radiology*. – 2013. -№ 86(1030). P. 20130343. doi: 10.1259/bjr.20130343.
166. Xue Y. Precision medicine: what challenges are we facing? / Y.Xue, E.W. Lameijer, K.Ye, K.Zhang, et al // *Genomics Proteomics & Bioinformatics*. – 2016. -№ 14(5). – P. 253–261. doi:10.1016/j.gpb.2016.10.001.
167. Yoshida K. Staging primary head and neck cancers with 18F-FDG PET/CT: is intravenous contrast administration really necessary? / K.Yoshida, A. Suzuki, T.Nagashima, J.Lee, C.Horiuchi, M.Tsukuda, T. Inoue // *European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging*. – 2009. - № 36(9). – P. 1417–1424.
168. Zhou L. Clinical proteomics-driven precision medicine for targeted cancer therapy: current overview and future perspectives / L.Zhou, K.Wang, Q.Li, E.C.Nice, H.Zhang, C. Huang // *Expert Rev Proteomics*. – 2016. - № 13(4). – P. 367–381. doi: 10.1586/14789450.2016.1159959.