На правах рукописи

Гехаев Алихан Умарович

ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГОРТАНИ

3.1.3 -Оториноларингология

3.1.6- Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре оториноларингологии с офтальмологией ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Гаппоева Эльвира Татаркановна- доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии с офтальмологией ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Решетов Игорь Владимирович - Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Официальные оппоненты:

Нажмудинов Ибрагим Исмаилович- доктор медицинских наук, руководитель НКО заболеваний верхних дыхательных путей, заведующий отделением заболеваний верхних дыхательных путей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии ФМБА».

Ратушный Михаил Владимирович - доктор медицинских наук, заведующий отделением микрохирургии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена - филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Защита состоится «__» _____2023 г. в ____часов на заседании диссертационного совета 72.1.012.01 при ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ, по адресу: 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д.18А, стр.2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» ДЗМ или на сайте www.nikio.ru

Автореферат разослан «__» _____2023г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук Ю.В. Лучшева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Изучение предраковых заболеваний гортани (ПЗГ) имеет большое значение, оставаясь важной проблемой в оториноларингологии. Своевременное выявление ПЗГ может, в известной степени, предрешать развитие злокачественного образования гортани и, в некоторой степени объясняет этиологию, условия возникновения и роста опухоли гортани.

Плоскоклеточный рак гортани является наиболее частым среди злокачественных заболеваний головы и шеи (Ferlay J. et al., 2015; Siegel R. L. et al., 2018; Baran C. et al., 2019). Рак гортани среди онкологических больных встречается в 2,6 % случаев, при этом занимая 1-е место среди опухолей верхних дыхательных путей (65-70 %) (Литвиненко И.В., 2011; Лужецкий В.А., 2014). Прогноз данного заболевания по-прежнему остается плохим из-за его частого выявления на поздних стадиях заболевания (Liu R.R., 2015; Tribius S. et al., 2016; Ong T.K. et al., 2017; Sundermanny B. V. et al., 2018).

Проведенными эпидемиологическими исследованиями показано, что около 60% случаев рака гортани развивается на основе хронических заболеваний, которые составляют группу облигатного предрака, в первую очередь это хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ), папилломатоз и лейкоплакия гортани (Kuribayashi Y. et al., 2015). Диапазон злокачественной трансформации лейкоплакии гортани в плоскоклеточный рак составляет от 0% до 64,7% (vanHulst A.M. et al., 2016).

При этом в настоящее время отсутствуют объективные и надежные маркеры для оценки риска злокачественной трансформации ПЗГ, помимо определения степени дисплазии (Rivera C. et al., 2017). В качестве рабочей гипотезы Нажмудиновым И.И. в 2019 г. представлена новая научная идея, состоящая в том, что раковая трансформация эпителиоцитов гортани связана с индукцией клеточного стресса, сопровождающегося избыточным выбросом

в системную циркуляцию белков теплового шока, наиболее информативные диапазоны которых связаны с онкомаркерами - РЭА и CYFRA 21-1.

Многообразием клинических проявлений предрака и рака гортани, значительным сходством их ларингоскопической картины, а также сложностями гистологического толкования объясняются трудности дифференциальной диагностики данных заболеваний. Неизвестной остается и клиническая оценка преинвазивного рака и микроинвазии (Катинас Е.Б., 2011; Ahn A. et al., 2016). Такие современные методы диагностики, к которым относят стробоскопию, рентгенологическое исследование, КТ, дают важную дополнительную информацию, характеризующую локализацию и распространенность процесса (Литвиненко И.В., 2011).

Изучению этиологии и патогенеза опухолей гортани посвящено много работ. В них нашло отражение влияние раздражающих факторов внешней среды (курение, профессиональные вредности и др.) на частоту возникновения новообразований гортани. При анализе причин неудач (рецидив рака, регионарные и отдаленные метастазы) становится очевидным, что при прочих равных условиях (стадия заболевания, локализация опухоли в гортани, форма роста опухоли, ее гистологическая характеристика) течение опухолевого процесса неодинаково у разных больных (Atef A. et al., 2019; Verma A. et al., 2020.)

Чтобы выяснить точную причину возникновения рака гортани и изучить доступные методы диагностики этого заболевания, исследователи сосредоточили свое внимание на исследовании молекулярных маркеров (Wong T.S. et al., 2012). В настоящее время признано, что эпигенетические маркеры, включая гиперметилированную ДНК и онкогенную микроРНК, можно использовать в качестве скрининговых маркеров рака человека (Wong T.S. et al., 2012).

Снижение экспрессии Е-кадгерина усиливает миграцию раковых клеток головы и шеи и увеличивает риск метастазирования. Кроме того,

потеря Е-кадгерина может способствовать пролиферации раковых клеток головы и шеи за счет активации путей рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (Wang D. et al., 2011). Потеря Е-кадгерина считается достоверным признаком метастазов в регионарные лимфатические узлы у пациентов с карциномой гортани (Li J.J. et al., 2012). У пациентов при раке головы и шеи часто сообщается о потере Е-кадгерина параллельно с гиперметилированием промотора, и предполагается, что это связано с агрессивным поведением рака (Azarschab P. et al., 2003; Marsit C.J. et al., 2008).

Виментин, основной компонент семейства белков промежуточных филаментов, повсеместно экспрессируется в нормальных мезенхимальных клетках и, как известно, поддерживает клеточную целостность и обеспечивает устойчивость к стрессу (Satelli A. et al., 2011). Избыточная экспрессия виментина при раке хорошо коррелирует с усилением роста опухоли, инвазией и плохим прогнозом, однако роль виментина в прогрессировании рака остается неясной. В последние годы виментин приобрел большое значение как маркер эпителиально-мезенхимального перехода (Satelli A. et al., 2011). Среди отечественных исследований обсуждаемые биомаркеры были изучены только в работе Яковцовой И.И. и соавт. (2019) при злокачественных новообразованиях (ЗНО) мочевого пузыря. В настоящее время Akhtar K. et al. (2016) рекомендуют использовать Е-кадгерин и виментин в качестве биомаркеров для дальнейших исследований микроинвазии рака полости рта, а также для разработки ранней диагностики, улучшения методов лечения и увеличения выживаемости пациентов.

Инактивация гена супрессии опухоли p16 считается основным онкогенным событием в канцерогенезе обсуждаемого заболевания (Hashmi AA. et al., 2020, Wang H et al., 2020, Bryant AK et al., 2018). Избыточная экспрессия p16 считается благоприятным прогностическим маркером при ЗНО головы и шеи, поскольку пациенты с опухолями, экспрессирующими p16, показали лучшую выживаемость без признаков заболевания по сравнению с

обследованными без данного гена (Hashmi AA. et al., 2020, Salazar CR et al., 2014). Согласно международным рекомендациям (NCCN, 2017), пациентам с орофарингеальным раком необходимо проводить рутинное тестирование на p16.

Все вышеуказанное подчеркивает важность дальнейшего установления клинических и молекулярных характеристик ПЗГ для улучшения нашего понимания этих заболеваний и для предотвращения их перехода в злокачественное новообразование.

Цель исследования

Разработать комплексный метод ранней диагностики рака гортани у больных предраковыми заболеваниями гортани с помощью изучения предрасполагающих факторов и новых маркеров малигнизации.

Задачи исследования

1. Изучить особенности клинико-морфологических характеристик предраковых заболеваний и рака гортани.
2. Провести сравнительный анализ частоты эндоскопических признаков изменения слизистой оболочки гортани у больных предраковыми заболеваниями и раком гортани.
3. Выполнить морфометрический анализ клеточных ядер у пациентов с различными предраковыми заболеваниями и раке гортани.
4. Определить и сравнить различные предикторы малигнизации эпителиоцитов гортани (Е-кадгерин, виментин, p16) у пациентов с предраковыми заболеваниями и раком гортани.

Научная новизна

Изучены клинические и морфологические характеристики пациентов с предраковыми заболеваниями гортани и раком гортани.

Выявлены специфические эндоскопические признаки у пациентов с предраковыми заболеваниями и раке гортани.

Впервые доказано, что именно комбинация критериев S (площадь ядра) и F (фактор формы) предоставляет достоверные ($p<0,05$) данные о структурных различиях в состоянии ядер эпителиоцитов гортани у больных предраковыми заболеваниями и раком гортани.

Впервые в РФ проведено исследование уровня экспрессии Е-кадгерина и виментина у пациентов с предраковыми заболеваниями и раком гортани и получены новые данные о роли е-кадгерина и виментина, как биомаркеров злокачественной трансформации у пациентов с предраковыми заболеваниями гортани. Уточнены данные о роли p16 в процессе канцерогенеза рака гортани.

Практическая значимость

Выявленные специфические клинические, морфометрические, и эндоскопические признаки у больных предраковыми заболеваниями и раком гортани, а также - предложенные методы морфометрического анализа клеточных ядер эпителиоциов гортани и определение иммуногистохимических маркеров (Е-кадгерина, виментина и p16) могут использоваться для диагностики и дифференциальной диагностики предраковых заболеваний гортани и рака гортани. Результаты работы могут быть использованы в работе оториноларингологов и онкологов как в амбулаторных, так и стационарных условиях.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выраженная охриплость (III-IV степени) и изменения сосудистого рисунка слизистой оболочки гортани (извитой ход капилляров с формированием клубочков) характерно для рака гортани.

2. Переход дисплазии в рак гортани отражается достоверным увеличением частоты критерия S (площадь ядра) + F (фактор формы), при этом сохраняется достоверное различие его величины при простой гиперплазии и тяжелой дисплазии.

3. Экспрессия Е-кадгерина значительно снижена, а виментина значительно увеличена при раке гортани, по сравнению с предраковыми заболеваниями ($p<0,05$), при этом наличие экспрессии p16 свидетельствует о более благоприятном течении рака гортани.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: конференции оториноларингологов и аллергологов СКФО «Современные проблемы оториноларингологии, аллергологии и иммунологии: новые подходы и актуальные исследования» (Владикавказ, 2018); конференции оториноларингологов и аллергологов СКФО «Современные проблемы оториноларингологии, аллергологии и иммунологии: новые подходы и актуальные исследования» (Ставрополь, 2019); XXIII международной научно-практической конференции «21 век: фундаментальная наука и технологии» (NorthCharleston, USA, 2020); международной научно-практической конференции «Инновационные технологии современной научной деятельности: стратегия, задачи, внедрения» (Пенза, 2020); международной научно-практической конференции «Концепции развития и эффективного использования научного потенциала общества» (Калуга, 2020); XI научно-практической конференции оториноларингологов Республики Дагестан «Научно-практические вопросы оториноларингологии» (Махачкала, 2022).

Апробация работы состоялась на совместном заседании сотрудников кафедры оториноларингологии с офтальмологии, кафедры хирургических болезней №1 и кафедры лучевой диагностики с лучевой терапией и онкологией ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России 31 марта 2022 года, протокол №1.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику оториноларингологическое отделение ГБУ «Республиканской клинической больницы им Ш.Ш. Эпендиева» (Чеченская Республика, г. Грозный); в эндоскопическое и поликлиническое отделения ГБУ «Республиканского онкологического диспансера» (Чеченская Республика, г. Грозный); в оториноларингологическое отделение ГБУЗ «Поликлиника №1» (Республика Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ).

Материалы работы используются в учебном процессе кафедры оториноларингологии с курсом офтальмологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Личный вклад автора

Автором диссертационной работы самостоятельно выполнены разработка ее дизайна, клинический осмотр пациентов, анализ и интерпретация полученных результатов исследования, лабораторных и инструментальных исследований. Автор принимал участие во всех эндоскопических исследованиях, самостоятельно оценивал качество жизни, состояние пациентов на протяжении всего периода наблюдения. Автором самостоятельно выполнены анализ и статистическая обработка данных с применением методов медицинской статистики и диссертация оформлена в законченный научный труд.

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства высшего образования и науки РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Объем и структура диссертации

Материалы диссертации представлены на 110 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертационная работа содержит 17 таблиц и 19 рисунков. Список литературы включает 136 источников, из них 30 – отечественных и 106 – иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на базе ГБУ «Республиканского онкологического диспансера», г. Грозный. В ходе выполнения работы было проведено обследование 188 пациентов с ЗНО и ПЗГ в возрасте от 25 до 62 лет, 152 (80.9%) - мужчин и 36 (19.1%) - женщин. Включение в исследование выполняли на основе добровольного информированного согласия каждого пациента.

На основании данных объективного осмотра, жалоб, результатов видеоларингоскопии, морфологического анализа опухоли все пациенты были разделены на 2 группы: основная группа (n=136) - пациенты с ПЗГ; группа сравнения (n=52) - пациенты с раком гортани

В основную группу исследования были включены 89 пациентов (65.4%) с ХГЛ (71, 79,8%, - с гиперкератозом эпителия голосовых складок и

18, 20,2%, - с лейкоплакией голосовой складки); 33 (24,3%) – с респираторным рецидивирующим папилломатозом гортани и 14 (10.3%) - с пахидермией гортани. В группу сравнения были включены 21 пациент (40.4%) с умереннодифференцированным раком гортани, 17 (32.7%) - с высокодифференцированным раком гортани, 9 (17.3%) - с низкодифференцированным раком гортани и 5 (9.6%) - с раком in situ.

Критериями включения пациентов в основную группу исследования были: одна из вышеуказанных патологий; нормальная моторика голосовых складок и черпаловидных хрящей; отсутствие операций на гортани и интубации трахеи

В группу сравнения были включены 52 пациента с раком гортани Tis-3N0M0G1-3. Все пациенты со злокачественным процессом в гортани до проведенного обследования не получали никакого специального лечения.

Всем пациентам нашей когорты проводили тщательный сбор анамнеза заболевания с обязательным уточнением у каждого больного продолжительности жалоб, рода профессиональной деятельности и наличие вредных привычек; проведено эндоскопическое исследование полости носа, глотки, гортани и уха по стандартной методике; оценку голосовой функции проводили при помощи шкалы Yanagihara.

Видеоларингоскопию гортани выполняли с помощью гибкого видеобронхоскопа EVIS Lucera AFI BF-F260 (OLYMPUS CF-HQ190L\I). После аппликационной анестезии 10% раствором лидокаина полости носа и глотки, видеобронхоскоп вводили через носовой ход в глотку и проводили обзор гортани (изображение гортани воспроизводится на экране монитора). При искривлениях носовой перегородки видеобронхоскоп вводили через рот. При проведении видеоларингоскопии архивировали изображения гортани.

Из измененных визуально участков слизистой оболочки гортани с целью морфологического исследования, верификации диагноза и оценки

выраженности диспластических изменений всем пациентам проводили забор биопсийного материала. Из фрагментов биоптатов выполнялись мазки отпечатки, фрагменты биопсийного материала фиксировали в растворе формальдегида. Комплексное морфологическое исследование включало цитологическое исследование мазков отпечатков, гистологическое и иммуногистохимическое исследование (ИГХ) по стандартным методикам.

Морфометрическую характеристику клеточных ядер ПЗГ и рака гортани проводили с помощью лицензионного программного обеспечения «Olympus DP-SOFT» Version 3.2 для Windows. Измеряли площадь ядра, периметр, наибольший и наименьший диаметры, фактор формы ядра, который определяется как отношение квадрата периметра к площади ядра. Для исключения субъективизма для каждого препарата измеряли подряд по 100 верифицированных клеток: большие, маленькие, в группах и изолированные.

Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа Carl zeiss axio. Полученный материал сначала фиксировали в забуференном 10% растворе нейтрального формалина с последующей парафиновой проводкой по стандартным методикам. С парафиновых блоков делали срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Гистологические препараты изучались при иммерсионном увеличении с использованием объектива × 100.

ИГХ выполняли на срезах с парафиновых блоков, предназначенных для стандартного морфологического исследования опухолевой ткани гортани. Использовали первичные моноклональные антитела (МКАТ) фирмы DAKO (Дания) и Novocastra (LeicaBiosystems, Германия) для определения Е-кадгерина и виментина. ***Оценка иммуноокрашивания Е-кадгерином*** была основана на процентном содержании окрашенных клеток: 1+ - <10% положительных клеток; 2+ - от 10 до 20%; 3+ - от 20 до 50% и 4+ - > 50% положительных клеток. Степень Е-кадгерина также оценивалась на основе локализации и интенсивности окрашивания: 1+ - отсутствие окрашивания мембран; 2+ - слабое / неоднородное мембранное окрашивание и 3+ - сильное

/ однородное окрашивание мембраны. ***Оценка виментина*** производилась на основе интенсивности окрашивания: 1+ - слабое и очаговое окрашивание; 2+ -сильное и очаговое окрашивание; 3+ -слабое и диффузное окрашивание и 4+ -сильное и диффузное окрашивание. Для ***определения уровня экспрессии p16***

были использованы первичные антитела VENTANA и приборы автоматизированной окраски препаратов VENTANA BenchMark XT, BenchMark GX и BenchMark ULTRA.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета “StatPlus”. Распределение полученных данных на нормальность оценивалось с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для определения формы распределения характеристик использовались способ построения гистограмм и частотного анализа.

При сравнении количественных признаков использовали t-критерий Стьюдента, критерии Фишера и Манна-Уитни.

Для оценки относительного риска использовали метод соотношения шансов (OR от "oddsratio"), представляющий собой один из основных способов описать в численном выражении, насколько отсутствие или наличие определенного результата связано с присутствием или отсутствием определенного фактора в конкретной статистической группе. Результатом применения отношения шансов является не только определение достоверной связи между фактором и результатом, но и ее количественная оценка. Для оценки значимости отношения шансов рассчитываются пределы 95% доверительного интервала (записывается 95% ДИ).

Анализ безрецидивной выживаемости был проведен с построением кривых Каплана-Мейера и использования критерия Гехана-Вилкоксона.

Для корреляционного анализа показателей использовали коэффициент Спирмена ($r=0\pm0,25$). Наличие прямой корреляционной зависимости устанавливали при положительных значениях r, обратной – при отрицательных. Сила обнаруженной корреляционной связи оценивалась следующим образом:

- при r от 0,76 до 1,0 (от -0,76 до -1,0) – как сильный;

- при r от 0,51 до 0,75 (от –0,51 до –0,75) – как средний;

- при r от 0,26 до 0,5 (от -0,26 до -0,5) – как умеренный;

Результаты исследования

При оценке достоверности **влияния различных факторов риска** на развитие ЗНО и ПЗГ при помощи метода оценки шансов как у пациентов с ПЗГ, так и у пациентов с раком гортани доказана ассоциация с табакокурением. Также, у больных с ЗНО была выявлена зависимость между раком гортани и работой в условиях повышенной запыленности, когда у обследованных ПЗГ данная ассоциация отсутствовала. Частота факторов риска развития ПЗГ и рака гортани представлены на таблице 1.

Таблица 1

Частота факторов риска развития

ПЗГ и рака гортани у обследованных больных (n=188)

№ п/п	Фактор риска	ПЗГ (n=136)		ЗНО (n=52)		p
		абс.	%	абс.	%	
1	Табакокурение	112	82,3	46	88,5	>0,05
2	Употребление алкоголя	22	16,2	9	17,3	>0,05
3	Работа в условиях повышенной запыленности	10	7,4	10	19,2	<0,05
4	Вдыхание вредных канцерогенных веществ	5	3,7	6	11,5	<0,05

Были также проанализированы характерные для ПЗГ жалобы со стороны голоса, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Частота изменений голоса у больных основной группы (n=136)

Жалобы	**Абс. (%)**				
	Гиперкератоз эпителия голосовых складок (n=71)	Лейкоплакия голосовой складки (ок) (n=18)	Респираторный рецидивирующий папилломатоз гортани (n=33)	Пахидермия гортани (n=14)	Все пациенты (n=136)
Охриплость 3-4 степени	25 (35,2)	4 (22,2)	6(18,2)*	3 (21,4)	38 (27,9)
Охриплость 1-2 степени	46 (64,8)	14 (77,8)*	27 (81,8)*	11 (78,6)*	98 (72,1)

Примечание: * - различие достоверно (p<0,05, критерий Стьюдента) относительно показателей пациентов с гипекератозом эпителия голосовых складок.

Охриплость 3-4 степени среди пациентов с ПЗГ была документирована достоверно чаще у пациентов с гиперкератозом эпителия голосовых складок. В целом в основной группе охриплость голоса 3-4 степени имели 38 пациентов (27.9%), а охриплость 1-2 степени имели 98 пациентов (72.1%). На рисунке 1 представлены результаты сравнительного анализа частоты изменения голоса у пациентов ПЗГ и раком гортани.



Рисунок 1. Частота изменений голоса у пациентов обследованных групп

Примечание: * - различие достоверно (p<0,05, критерий Фишера) относительно показателя пациентов с предраковыми заболеваниями гортани (основная группа исследования).

Результаты сравнительного анализа частоты изменения голоса у обследованных больных свидетельствуют о том, что пациенты с раком гортани достоверно (p<0,05) чаще, в сравнении с больными ПЗГ, имели охриплость 3-4 степени (65,4 и 27,9%, соответственно), а охриплость 1-2 степени достоверно (p<0,05) чаще имели пациенты с ПЗГ, в сравнении с больными раком гортани (72,1 и 34,6%, соответственно).

Результаты проспективного **сравнительного анализа частоты эндоскопических признаков изменения слизистой оболочки гортани** в группах исследования свидетельствуют, что такие патологические изменения слизистой гортани, как инфильтрация и кровоизлияние были документированы достоверно (p<0,05) чаще у больных ЗН0 (96,2 и 17,3%, соответственно), в сравнении с данными пациентов с ПЗГ (21,3 и 5,1%, соответственно). Также у пациентов основной группы и группы сравнения были диагностированы гиперемия слизистой оболочки гортани (89,0 и 96,2%, соответственно). Изменения сосудистого рисунка слизистой гортани при раке проявлялись извитым ходом капилляров с формированием клубочков, а в основной группе капилляры имели прямой ход, но были расширены. Такие изменения были диагностированы в 33,8% (n=46) случаев в основной группе

и в 100% (n=52) в группе сравнения. Также при каждой обсуждаемой патологии были выявлены специфические эндоскопические признаки. В подгруппе больных гиперкератозом эпителия слизистой гортани (n=71) было диагностировано утолщение гиперемированной слизистой оболочки голосовых складок у 84,5% обследованных, при этом односторонние изменения имели 31,6%, двухсторонние – 68,4%; у 15,0% больных было диагностировано изолированное поражение задней комиссуры гортани. У 15 больных (28,8%) были визуализированы очаги некроза.

Среди обследованных основной группы нашей когорты (n=136) **результаты видеоларингостробоскопии** свидетельствовали о сохранении колебаний голосовых складок у 117 больных (86,0%). При этом, в 86,8% случаев колебания голосовых складок имели асимметричный характер с уменьшенной амплитудой на стороне поражения. У 114 больных (83,8%) была диагностирована остановка слизистой волны на участке дискератоза. Нерегулярные колебания голосовых складок имели преимущественное число обследованных (78 чел., 57,4%). У 52 пациентов (100%) с раком гортани была диагностирована остановка слизистой волны на участке поражения опухолью.

Результаты морфометрического анализа полученных данных при различных состояниях эпителия голосовых складок пациентов с ХГЛ свидетельствуют, что именно комбинация критериев S (площадь ядра) и F (фактор формы) предоставляет достоверные ($p<0,05$) данные о структурных различиях в состоянии ядер эпителиоцитов. Полученные результаты отображены в таблице 3.

Таблица 3.

Доля ядер эпителиоцитов по критериям S и F при различных состояниях эпителия голосовых складок у больных с ХГЛ (n=30)

№	Состояние эпителия	Частота показателей, %		
		S (площадь ядра) в	F (фактор формы) в	По критерию (S + F)

		диапазоне 30-59 мкМ^2	диапазоне 0,8-1,0 усл.ед.	
1	Простая гиперплазия МПЭ	87,1 (77,3 - 96,4)	88,7 (79,3 - 97,5)	77,6 (70,1 - 87,4)
2	Гиперплазия и дисплазия II-III степени	55,9 (49,8 - 61,5)	50,8 (46,7 - 55,2)	33,2 (28,1 - 32,3)
3	Плоскоклеточный рак на фоне гиперплазии	57,4 (51,9 - 63,7)	76,1 (68,1 - 82,5)	51,4 (44,5 - 59,2)
достоверность различий				
1-2		p <0,001	p <0,001	p <0,001
2-3		p> 0,05	p = 0,002	p = 0,022
1-3		p <0,001	p> 0,05	p <0,001

У больных с ХГЛ при простой гиперплазии многослойного плоского эпителия (МПЭ) S (площадь ядра) в диапазоне 30-59 мкМ^2 была документирована в 87,1% случаев, что было достоверно чаще в сравнении с показателями при гиперплазии и дисплазии II-III степени (55,9%, p<0,001), а также плоскоклеточном раке на фоне гиперплазии (57,4%, p<0,001). Фактор формы в диапазоне 0,8-1,0 усл.ед. был выявлен в 88,7% случаев при простой гиперплазии МПЭ, что было больше, чем при гиперплазии и дисплазии II-III степени (50,8%, p<0,001) и плоскоклеточном раке на фоне гиперплазии (76,1%, p<0,001). Было установлено, что при гиперплазии и дисплазии II-III степени более чем вдвое уменьшается количество клеток с ядрами средних размеров, которые имеют правильную круглую форму и, соответственно, удваивается доля клеток с неправильной формой ядра и отклонениями размеров от средних величин (77,6% и 33,2%, соответственно). Переход дисплазии в рак отражается достоверным (p = 0,022) увеличением частоты критерия (S + F) с 33,2% до 51,4%, при этом сохраняется достоверное различие его величины от простой гиперплазии и тяжелой дисплазии.

Результаты морфометрического анализа полученных данных при различных состояниях эпителия голосовых складок пациентов с респираторным рецидивирующим папилломатозом гортани представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Доля ядер эпителиоцитов по критериям S и F при различных состояниях эпителия голосовых складок у больных с папилломами (n=30)

№	Состояние эпителия	Частота показателей,%		
		S (площадь ядра)в диапазоне 30-59 мкМ^2	F (фактор формы)в диапазоне 0,8-1,0 усл.ед.	По критерию (S + F)
1	Плоскоклеточная папиллома без дисплазии	93,8 (82,2 - 100,0)	92,5 (81,1 - 100,0)	87,1 (74,9 - 95,8)
2	Папиллома с дисплазией III степени	24,2 (20,2 - 25,9)	75,4 (64,8 - 82,1)	24,2 (21,6 - 26,2)
3	Плоскоклеточный рак на фоне папилломы	59,8 (54,1 - 65,3)	82,1 (71,9 - 90,8)	50,6 (44,2 - 57,1)
достоверность различий				
1-2		p <0,001	p> 0,05	p <0,001
2-3		p <0,001	p> 0,05	p = 0,002
1-3		p <0,001	p> 0,05	p <0,001

Нормальная площадь ядра (в диапазоне 30-59 мкМ^2) эпителия папиллом при плоскоклеточной папилломе без дисплазии была документирована в 93,8% случаев, что было достоверно чаще в сравнении с показателями при папилломе с дисплазией Д3 (24,2%, p<0,001), а также плоскоклеточном раке на фоне папилломы (59,8%, p<0,001).Фактор формы в диапазоне 0,8-1,0 усл.ед. был выявлен в 92,5% случаев при плоскоклеточной папилломе без дисплазии, что было больше, чем при папилломе с дисплазией III степени (75,4%) и плоскоклеточном раке на фоне папилломы (82,1%). Величина показателя (S + F) на уровне 50,6% у больных с плоскоклеточным раком на фоне папилломы соотносимо с уровнем для плоскоклеточного рака на фоне гиперплазии (50,7%), что свидетельствует как о едином

гистопатологическом строении опухолей, так и о вероятном механизме их возникновения.

Результаты ИГХ биоптатов слизистой оболочки гортани свидетельствуют, что большинство пациентов с ПЗГ (53,3%) имели высокий уровень экспрессии Е-кадгерина, 36,7% – умеренный и 10,0% – минимальный. Результаты сравнительного анализа степени экспрессии Е-кадгерина у пациентов с ПЗГ и ЗНО представлены в таблице 5.

Таблица 5

Сравнительный анализ степени экспрессии Е-кадгерина у больных с ПЗГ и ЗНО гортани (n=60)

Степень экспрессии	ПЗГ (n=30)	ЗНО			
		In situ (n=5)	Высоко-дифферен-цированные (n=10)	Умеренно-дифферен-цированные (n=10)	Низко-дифферен-цированные (n=5)
1+/2+ (отсутствует/ минимальная)	3 (10,0)	1 (20,0)	2 (20,0)	8 (80,0)*	4 (80,0)*
3+ (умеренная)	11 (36,7)	1 (20,0)	6 (60,0)	0	1 (20,0)
4+ (выраженная)	16 (53,3)	3 (60,0)	2 (20,0)*	2 (20,0)*	0 *

Было установлено, что **экспрессия Е-кадгерина** значительно снижена при инвазивных ЗНО гортани, по сравнению с ПЗГ и раком *in situ* ($p<0,05$). Выраженный уровень экспрессии Е-кадгерина был документирован у 53,3% обследованных с ПЗГ и 60,0% больных раком *in situ,* что было достоверно ($p<0,05$) выше показателей пациентов с высоко-, умеренно- и низкодифференцированными ЗНО гортани (20,0%, 20,0% и 0, соответственно).

У большинства пациентов с ПЗГ (80,0%) была выявлена слабая цитоплазматическая иммунная **экспрессия виментина**, у 10,0% – умеренная

и еще у 10,0% – высокая. Результаты сравнительного анализа степени экспрессии виментина у пациентов с ПЗГ и ЗНО гортани представлены в таблице 6.

Таблица 6

Сравнительный анализ степени экспрессии виментина у больных с ПЗГ и ЗНО гортани (n=60)

Степень экспрессии	ПЗГ (n=30)	ЗНО			
		In situ (n=5)	Высоко-дифферен-цированные (n=10)	Умеренно-дифферен-цированные (n=10)	Низко-дифферен-цированные (n=5)
1+/2+ (отсутствует/ минимальная)	24 (80,0) *	3 (60,0)*	7 (70,0) *	2 (20,0)	0
3+ (умеренная)	3 (10,0)	2 (40,0)	3 (30,0)	5 (50,0)	2 (40,0)
4+ (выраженная)	3 (10,0) *	0	0	3 (30,0)	3 (60,0)

Полученные данные свидетельствуют о значительном увеличение экспрессии виментина с прогрессированием опухоли ($p<0,05$). У пациентов с умеренно- (30,0%) и низкодифференцированными (60,0%) ЗНО гортани достоверно ($p<0,05$) чаще был выявлен выраженный уровень экспрессии виментина, в сравнении с показателями обследованных с ПЗГ (10,0%), больных раком *in situ* (0%) и высокодифференцированными опухолями (0%).

На основе представленных данных можно предположить, что потеря Е-кадгерина и увеличение виментина являются признаком высокого злокачественного потенциала опухоли, а Е-кадгерин является хорошим прогностическим маркером, тогда как экспрессия виментина указывает на агрессивный характер опухоли.

Сверхэкспрессия p16 у пациентов с ЗНО гортани была выявлена в 23,3% случаев, фокально-положительная экспрессия – в 20,0%, отсутствие - в 56,7%. Результаты экспрессия p16 у 30 пациентов с раком гортани представлены на рисунке 2.

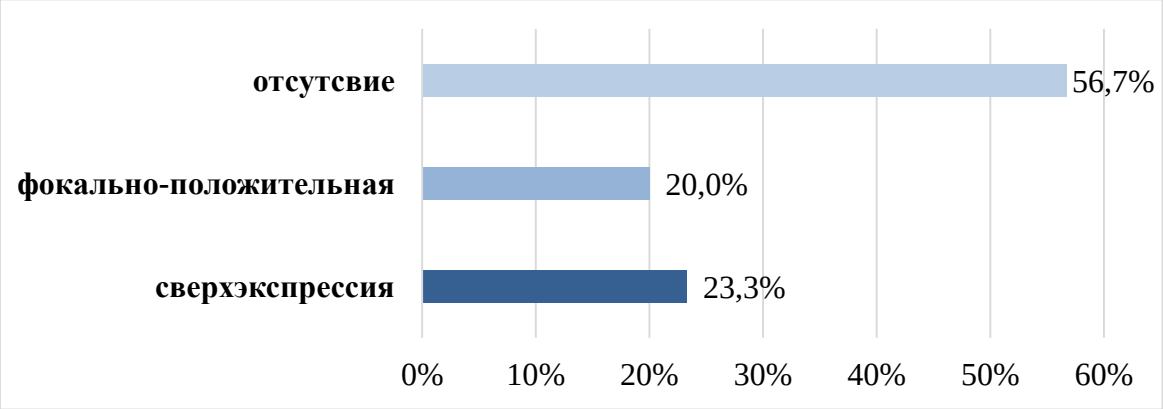


Рисунок 2. Уровень экспрессия p16 у пациентов с раком гортани

Сверхэкспрессия p16 у пациентов с ПЗГ гортани была выявлена в 6.7% случаев, фокально-положительная экспрессия – в 10,0% и отсутствие - в 83.3%. Результаты экспрессия p16 у 30 пациентов с ПЗГ представлены на рисунке 3.

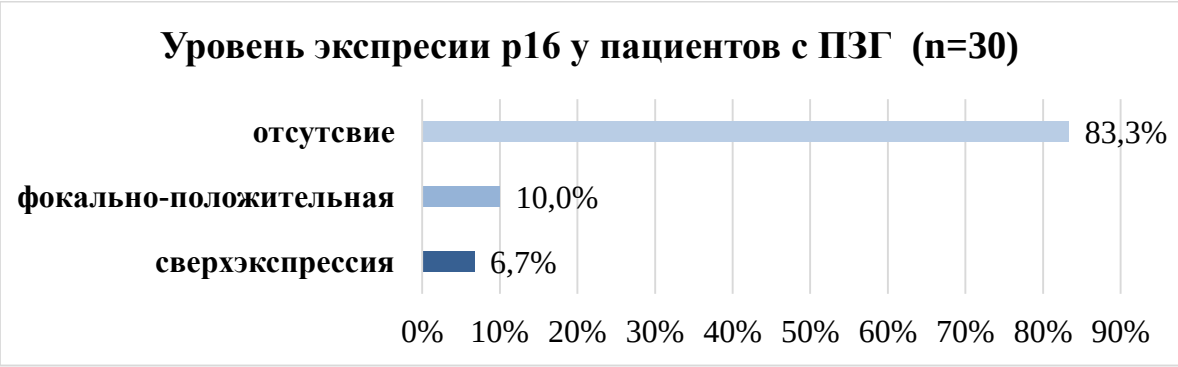


Рисунок 3. Уровень экспрессия p16 у пациентов с ПЗГ

Выводы

1. У пациентов раком гортани имеет место ассоциация между заболеванием и вдыханием канцерогенных веществ (ОШ=4,6, ДИ 2,4-9,9, p=0,011), тогда как у обследованных с предраковыми заболеваниями гортани данная связь отсутствует (ОШ=1,5, ДИ 0,9-3,4, p=0,234). У больных с раком

гортани достоверно (p<0,05) чаще, в сравнении с больными предраковыми заболеваниями гортани имеет место охриплость 3-4 степени (65,4 и 27,9%, соответственно).

2. У больных предраковыми заболеваниями гортани по данным ларингостробоскопии в большинстве случаев (92,6%) сохраняются колебания голосовых складок, при этом в 86,8% случаев они носят асимметричный характер с уменьшенной амплитудой колебания на стороне поражения, в 57,4% - нерегулярный характер, в 83,8% - наблюдается остановка слизистой волны на участке дискератоза; при раке гортани в 100% случаев наблюдается остановка слизистой волны на стороне опухоли. Изменения сосудистого рисунка слизистой оболочки гортани при раке гортани проявляются извитым ходом капилляров с формированием клубочков (100%), в то время как при предраковых заболеваниях гортани капилляры расширены и имеют прямой ход (33,8%).

3. При гиперплазии и дисплазии II-III степени слизистой гортани более чем вдвое уменьшается количество клеток эпителия с ядрами средних размеров, которые имеют правильную круглую форму и, соответственно, удваивается доля клеток с неправильной формой ядра и отклонениями размеров от средних величин (77,6% и 33,2%, соответственно). Переход дисплазии в рак отражается достоверным (p = 0,022) увеличением частоты критерия S (площадь ядра) + F (фактор формы) с 33,2% до 51,4%, при этом сохраняется достоверное различие его величины от простой гиперплазии и тяжелой дисплазии.

4. Выраженный уровень экспрессии Е-кадгерина имеет место в 53,3% при предраковых заболеваниях гортани и в 60,0% при раке in situ, что достоверно (p <0,05) выше, чем при высоко, умеренно и низкодифференцированном раке гортани (20,0%, 20,0% и 0%, соответственно), Е-кадгерин является хорошим прогностическим маркером. У пациентов с умеренно- и низкодифференцированным раком гортани достоверно чаще (p<0,05) имеет место выраженный уровень экспрессии виментина (30,0 и 60,0%,

соответственно), чем у больных предраковыми заболеваниями гортани (10,0%), больных раком in situ (0%) и высокодифференцированными опухолями (0%), экспрессия виментина указывает на агрессивный характер опухоли. У пациентов с раком гортани p16+ встречается достоверно чаще, чем у больных предраковыми заболеваниями гортани (43,3 и 16,7%, соответственно).

Практические рекомендации

1. При консультировании пациентов с очагом дисплазии слизистой оболочки гортани необходимо проведение микрохирургической биопсии с проведением иммуногистохимического анализа (Е-кадгерина, виментина и p16) для определения потенциала злокачественной трансформации опухоли.
2. У пациентов с раком гортани следует рассматривать потерю Е-кадгерина и увеличение уровня экспрессии виментина, как объективные признаки высокого злокачественного потенциала опухоли, а для предраковых заболеваний гортани снижение экспрессии Е-кадгерина и увеличение экспрессии виментина можно рассматривать как прогностический фактор возможной малигнизации.
3. При проведении морфометрического анализа состояния эпителия истинных голосовых складок пациентов с хроническим гиперпластическим ларингитом следует использовать комбинацию критериев S (площадь ядра) и F (фактор формы) для оценки структурных различий в состоянии ядер эпителиоцитов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т. Патогенетическая роль половых гормонов при хроническом гиперпластическом ларингите // Материалы XXIII

международной научно-практической конференции «21 век: фундаментальная наука и технологии».-North Charleston, USA.- 2020.-С. 25-30.

2. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т. Динамика изменений иммунного гомеостаза у пациентов с предраковыми заболеваниями гортани после комплексного лечения // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные технологии современной научной деятельности: стратегия, задачи, внедрения».- Пенза.- 2020.- С. 183-187.

3. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т. Типы ВПЧ у больных папилломатозом гортани // Материалы международной научно-практической конференции «Концепции развития и эффективного использования научного потенциала общества».- Калуга, 2020.- С.247-249.

4. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т. Проблемы диагностики предраковых заболеваний гортани // Вестник науки.-Тольятти, -2020.-№5(3).-С.133-137.

5. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т., Ибрагимов Л.А. Современные тенденции хирургического лечения папилломатоза гортани // Вестник науки.-Тольятти,-2020.-№5(4).-С. 227-231.

6. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т., Исакова Ф.С. Морфометрические аспекты предраковых гиперпластических поражений гортани // Фарматека. -Москва.-2021.- №7.- С. 133-137.

7. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т., Исакова Ф.С. Клиническая характеристика предраковых поражений гортани // Российская оториноларингология.-2021.-№6.-С. 35-40.

8. Гехаев А.У., Гаппоева Э.Т., Исакова Ф.С. Группа риска развития предраковых поражений и злокачественных новообразований гортани среди населения // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки.-Москва.-2022.-№4(2).-С.174-178.

Список сокращений

ЗНО – злокачественные новообразования

ИГХ–иммуногистохимическое исследование

МПЭ – многослойный плоский эпителий

ПЗГ – предраковые заболевания гортани

ХГЛ – хронический гиперпластический ларингит