

ОГЛАВЛЕНИЕ

Благодарность	4
Список сокращений и условных обозначений	4
Введение	5
Глава 1. Диагностика опухолей ЛОР-органов	26
1.1. Эндоскопическое исследование слизистой оболочки гортани с применением световых фильтров системы Storz Professional Image Enhancement System, Karl Storz	31
Глава 2. Диагностика микроРНК	46
Глава 3. Лечение рака ЛОР-органов	50
3.1. Хирургическая тактика при лечении больных стенозирующим раком гортани	50
3.2. Эффективность перевязки наружной сонной артерии в хирургии головы и шеи	52
3.3. Шейная лимфодиссекция	61
3.4. Заживление ран на шее после операции	78
3.5. Анестезиологическое пособие	110
3.6. Полихимиотерапия в лечении опухолей ЛОР-органов	115
Глава 4. Реабилитация	122
Заключение	135
Список литературы	137

Глава 1

ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ ЛОР-ОРГАНОВ

Ранняя диагностика в ЛОР-онкологической практике

Во всем мире отмечается постоянный рост заболеваемости злокачественными опухолями и смертности от них, что обусловлено в значительной степени несвоевременной диагностикой и, вследствие этого, недостаточной эффективностью лечения.

Среди всех злокачественных опухолей опухоли головы и шеи занимают 8-е место [1]. Так, например, стандартизованные показатели заболеваемости раком гортани в РФ в 2015 г. среди мужчин составили 6,69 на 100 тыс. населения, среди женщин — 0,33 на 100 тыс. населения, показатели смертности — 4,01 и 0,18 на 100 тыс. соответственно [2], а стандартизованные показатели заболеваемости раком глотки в РФ в 2015 г. среди мужчин составили 6,87 на 100 тыс. населения, среди женщин — 0,95 на 100 тыс. населения, абсолютное число впервые заболевших раком глотки мужчин и женщин составило 4658 чел. и 749 чел. соответственно [3].

Общеизвестно, что пятилетняя выживаемость пациентов со злокачественными новообразованиями напрямую зависит от стадии их выявления, однако более 70% больных поступает на лечение с III и IV стадией заболевания, что сказывается на результатах лечения [4].

В связи с этим возрастает необходимость поиска и активного применения различных методов ранней диагностики злокачественных новообразований гортани и глотки, к ним относятся технологии эндоскопического осмотра, стандартные — непрямая эндоларингоскопия и усовершенствованные — контактная эндоскопия, узкоспектральная эндоскопия и Storz Professional Image Enhancement System, молекулярные методы — определение раково-эмбрионального антигена (РЭА), белков теплового шока (БТШ), СА-125, SCCA (squamous cell carcinoma antigen, антиген плоскоклеточной карциномы) и микроРНК и физиче-

ские методы диагностики — ультразвуковое исследование, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография, позитронная эмиссионная томография (ПЭТ), сцинтиграфия (мягких тканей и сторожевых лимфатических узлов).

Эндоскопические методы диагностики. Непрямая эндоларингоскопия

При непрямой эндоскопии можно оценить состояние слизистой оболочки и структур гортани в целом, однако оценить состояние сосудистого рисунка, используя этот метод, не представляется возможным.

Непрямая эндоларингоскопия проводится с помощью ригидного эндоскопа фирмы Karl Storz 90° (рис. 1.1), пациент находится в положении сидя, при высоких защитных рефлексах используется местное аппликационное обезболивание. Осмотр начинают с исследования valleкул, язычной миндалины (рис. 1.2). Затем исследуют поверхность надгортанника, оценивают его подвижность. Осматривают гортанную его поверхность, в том числе и во время фонации. После осмотра надгортанника оцениваются черпалонадгортанные складки, грушевидные синусы и черпаловидные хрящи. Необходимо сравнить обе вестибулярные складки, по мере возможности осмотреть гортанные желудочки. Затем приступить к осмотру голосовых складок, передней комиссуры, межчерпаловидной области и нижнего отдела гортани, который, как и гортанные желудочки, недоступен детальному осмотру под микроскопом без смещения голосовых складок (рис. 1.3).



Рис. 1.1. Ригидный эндоскоп 90° фирмы Karl Storz

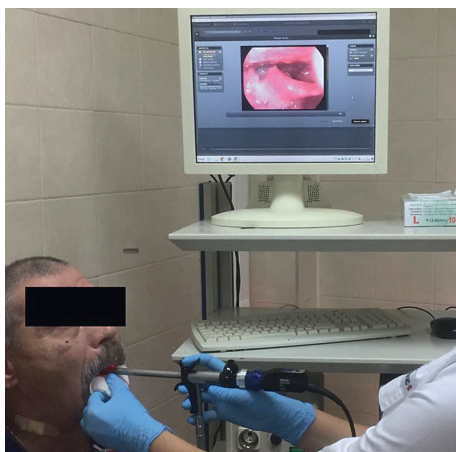


Рис. 1.2. Техника проведения эндоскопии



Рис. 1.3. Эндоларингоскопическая картина при раке гортани

Фиброларингоскопия

Метод фиброларингоскопии имеет большое преимущество в сравнении с прямой и непрямой ларингоскопией: легкость и безопасность введения инструмента в гортань, большую разрешительную способность оптики, исключающую наличие «слепых» зон. Фиброларингоскопия существенно дополняет непрямую ларингоскопию, позволяет оценить гортанные желудочки, подскладочный отдел гортани.

Техника фиброларингоскопии состоит в следующем: после передней риноскопии под местной аппликационной анестезией слизистой

оболочки полости носа световод (рис. 1.4) вводится через один из носовых ходов в носоглотку, а затем в нижележащие отделы дыхательного тракта с обязательным осмотром слизистой оболочки трахеи до ее бифуркации (рис. 1.5).

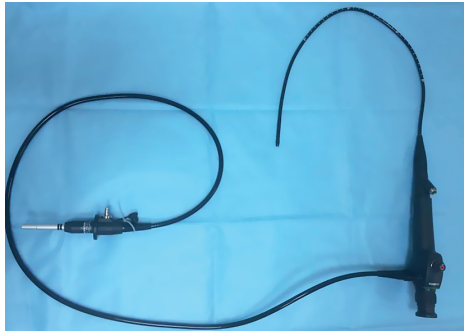


Рис. 1.4. Гибкий фиброскоп фирмы Karl Storz

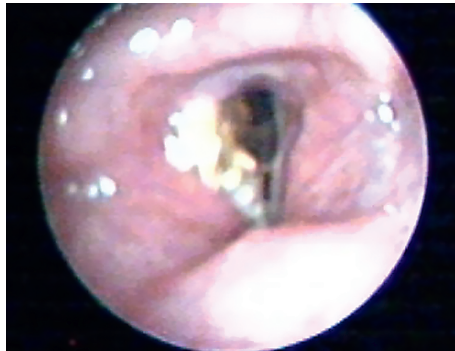


Рис. 1.5. Фиброларингоскопическая картина при раке гортани

Контактная эндоскопия

Метод контактной эндоскопии является неинвазивным и позволяет в режиме реального времени и в условиях живого организма визуализировать сосудистую структуру и клеточную архитектуру поверхностных слоев слизистой оболочки.

Для проведения исследования используется 0° или 30° ригидный эндоскоп с возможностью 60- и 150-кратного увеличения. Для достижения необходимого эффекта рабочая поверхность эндоскопа приво-

дится в контакт с поверхностью слизистой оболочки, при этом удается визуализировать сосудистый рисунок исследуемой области. Далее слизистую оболочку обрабатывают раствором метиленового синего, после чего становится доступным к осмотру клеточное строение. Этот эффект достигается благодаря способности метиленового синего связываться с нуклеиновыми кислотами. В результате их взаимодействия ядра клеток окрашиваются в темно-синий цвет, а цитоплазма — в светло-голубой. По причине высокой митотической активности неопластические клетки окрашиваются более интенсивно.

Преимуществами контактной эндоскопии являются неинвазивность, быстрота и возможность проведения *in vivo*.

Узкоспектральная эндоскопия

Узкоспектральная эндоскопия (NBI-эндоскопия, narrow band imaging — изображение в узком спектре света) является одним из новейших методов оптической визуализации, который позволяет усовершенствовать диагностические возможности стандартной эндоскопии путем селективного улучшения контрастности кровеносных сосудов. Этот эффект достигается путем изменения стандартного светового спектра за счет фильтра, встроенного в источник света, который поглощает все длины волн, кроме двух: 412 и 540 нм. 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 очень четко визуализировать их на фоне однородно окрашенной слизистой оболочки (рис. 1.6).

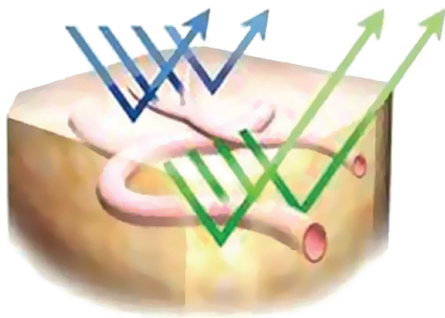


Рис. 1.6. Принцип действия узкоспектральной эндоскопии (A. Watanabe, M. Fujita)

Таким образом, узкоспектральная эндоскопия позволяет выявить очаги неоваскуляризации (рис. 1.7) [5].



Рис. 1.7. Рак гортани. Отмечены очаги неоваскуляризации

По данным А. Watanabe et al., чувствительность, специфичность и точность стандартной эндоскопии и узкоспектральной эндоскопии составила 51, 99, 96 и 97, 98% соответственно [6]. Преимуществами узкоспектральной эндоскопии являются неинвазивность, возможность применения на всех этапах обследования пациента, включая догоспитальный (рис. 1.7).

1.1. ЭНДОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГОРТАНИ С ПРИМЕНЕНИЕМ СВЕТОВЫХ ФИЛЬТРОВ СИСТЕМЫ STORZ PROFESSIONAL IMAGE ENHANCEMENT SYSTEM, KARL STORZ

Большое диагностическое значение имеет изучение сосудистого рисунка слизистой оболочки гортани. Под микроскопом хорошо видна реакция сосудов на сосудосуживающие средства (адреналиновая проба).

Проводится эндоскопическое исследование слизистой оболочки гортани с применением световых фильтров системы Storz Professional Image Enhancement System (SPIES), Karl Storz GmbH & Co.

Режим CLARA гарантирует оптимальное освещение всех участков эндоскопического изображения. Яркость темных областей динамически увеличивается. Каждый пиксел сравнивается с информацией

об освещенности соседних участков, и при необходимости его яркость увеличивается. Это способствует оптимальной визуализации темных областей и глубоко расположенных структур.

Режимы SPECTRA A и SPECTRA B улучшают видимость определенных участков цветового спектра за счет цветового сдвига. Эта дополнительная информация может упростить дифференциацию тканей для пользователей. Спектральное разделение на основе технологии Storz Professional Image Enhancement System SPECTRA™ выполняется внутри видеосистемы и не требует специального источника света.

Молекулярные методы диагностики.

Раково-эмбриональный антиген

Раково-эмбриональный антиген (РЭА) представляет собой гликопротеин с высоким содержанием углеводов, вырабатываемый в тканях пищеварительного тракта эмбриона и плода. Биологические функции этого белка связывают с процессами межклеточной кооперации в иммунном ответе на опухолевые антигены. При развитии опухолей различной локализации уровень РЭА повышается и достаточно точно отражает состояние злокачественного процесса. Повышение концентрации РЭА наблюдается не только при карциномах пищеварительного тракта, раке головы и шеи, злокачественных образованиях соединительнотканного происхождения. РЭА является белком острой фазы, поэтому его уровень может подниматься у больных с разнообразными аутоиммунными, острыми и хроническими воспалительными заболеваниями, при циррозе, хронических гепатитах, язвенной болезни, пневмонии, бронхитах, туберкулезе, эмфиземе легких, муковисцидозе и др. Однако скорость роста и максимально достигаемый уровень маркера значительно ниже, чем при злокачественных заболеваниях. Значение РЭА при раке гортани дискутабельно, одни исследователи определяют повышение уровня РЭА при этом заболевании и положительную корреляцию со стадией процесса, другие эти изменения не считают достоверными.

Белки теплового шока

Любое стрессорное воздействие на прокариоты и эукариоты сопровождается биологической реакцией адаптации. Это многокомпонентный процесс, и одно из его звеньев — это синтез и метаболизм белков-шаперонов (англ. shape — «придавать форму»), которые также

называют белками теплового шока (БТШ). Они участвуют в нековалентной сборке/демонтаже внутриклеточных и внеклеточных белков, осуществляя контроль за правильностью формирования третичной структуры белковой молекулы. Синтез БТШ, как правило, усиливается после воздействий таких стрессогенных факторов, как большие дозы физических агентов, тепловых воздействий (отсюда и название этих белков), химических веществ, антибиотиков, экстремальных изменений гормонального и иммунного статусов и при малигнизации клеток [7]. В этих условиях количество БТШ резко возрастает — до 20% белковой массы клеток. Результат подобного усиления синтеза БТШ — это существенное возрастание клеточной резистентности к воздействию стрессогенных факторов. Кроме этого, что наиболее важно, эти белки чутко реагируют на опухолевую трансформацию клеток и собственно опухолевый процесс. Более того, предлагается использовать определение уровня циркулирующих в крови БТШ в качестве диагностического теста при раковых заболеваниях и прогноза эффективности противоопухолевой терапии. Синтез БТШ и выведение их в кровь осуществляют все клетки организма. Не останавливаясь на молекулярной биологии и генетике БТШ, которые детально изучены, отметим чрезвычайно важное обстоятельство, а именно: индукция синтеза и колебания уровня этих белков не зависят от специфичности стрессогенного фактора. Любой стрессогенный фактор индуцирует сверхэкспрессию этих белков, и уровень сверхэкспрессии зависит от интенсивности (количества) воздействующего фактора. Классификация БТШ основана на различиях их молекулярной массы. Выделяют шесть основных семейств БТШ: БТШ110, БТШ90, БТШ70, БТШ60, БТШ40 и малые sБТШ (англ. small — малый) с молекулярной массой меньше 30 кДа. Каждое из перечисленных семейств БТШ имеет собственные физиологические и молекулярно-генетические характеристики. Все БТШ являются эндогенными флого-генами — индукторами воспаления, что обуславливает их иммуностропный эффект, обусловленный, в частности, взаимодействием с TLR4 (toll-like receptor 4, толл-подобный рецептор 4).

БТШ27 играет важную роль в выживании клетки во время стресса и регуляции процессов апоптоза. При злокачественных опухолях, в т.ч. эпителиального происхождения, уровень БТШ27 заметно повышается и коррелирует с метастазированием, неблагоприятным исходом заболевания, степенью злокачественности опухоли. Это было показано и на экспериментальных моделях, и в отношении рака молочной железы, остеосаркомы и лейкозов. Однако, согласно данным других авторов,

при ларингеальной карциноме экспрессия матричной рибонуклеиновой кислоты (РНК) БТШ27, так же как и матричная РНК БТШ90, была достоверно ниже по сравнению с контролем. Определение БТШ27 иммуногистохимическими методами подтвердило приведенные результаты. При появлении в крови онкологических больных антител к БТШ27 выживаемость последних была выше.

БТШ70. Показано резкое увеличение матричной РНК БТШ70 при раке гортани. Сверхвысокий уровень БТШ70 свидетельствует о возможности метастазов, неблагоприятного прогноза, резистентности к химио- и радиотерапии при многих опухолевых заболеваниях (рак гортани, остеосаркомы, лейкозы, рак почки и шейки матки). Хотя уровень БТШ70 коррелирует со злокачественностью опухоли, в частности при остеосаркоме и раке почки, их сверхэкспрессия парадоксально связана и с благоприятным прогнозом заболевания. Кроме этого в некоторых работах показан фоновый уровень БТШ70 на ранних стадиях развития плоскоклеточной карциномы гортани.

Сверхэкспрессия БТШ90 была определена при раке гортани, так же как и при раке молочной железы, раке легких, лейкозах, болезни Ходжкина. Оценка уровня этого белка может быть использована в качестве признака малигнизации опухоли.

Однако чувствительность определения РЭА БТШ в среднем около 30%, специфичность — около 20%, в связи с чем применение этих маркеров в диагностике рака гортани нецелесообразно.

СА-125 (рис. 1.8) — это высокомолекулярный гликопротеин, который обнаруживается на опухолевых клетках эпителия яичников, а также в норме в клетках эндометрия, брюшины, плевры, перикарда и яичек.

В норме СА-125 содержится в ткани эндометрия и в серозной и муцинозной жидкости матки (рис. 1.8). СА-125 — это белок, присутствующий на поверхности большинства клеток раковой опухоли яичников, однако незначительные количества СА-125 вырабатываются раковыми опухолями головы и шеи.

В связи с невысокой специфичностью анализа на СА-125 применять его для диагностики рака гортани нецелесообразно.

SCCA — это опухоль-ассоциированный антиген плоскоклеточных карцином различных локализаций: шейки матки, головы и шеи, пищевода, легких, вульвы. SCCA — гликопротеин из семейства ингибиторов сериновых протеаз, молекулярная масса — 45–55 кДа. Считается, что благодаря некоторым особенностям аминокислотной последовательности в структуре активного центра у SCCA появляются такие физио-

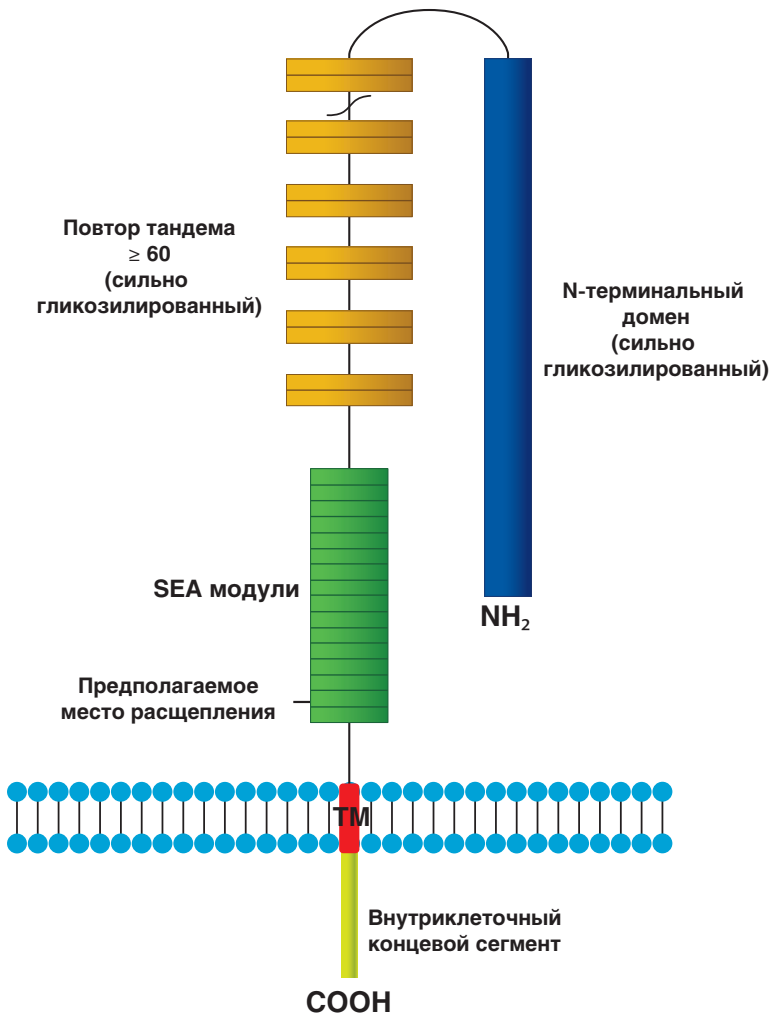


Рис. 1.8. Строение CA-125

логические функции, как участие в регуляции дифференцировки нормального плоскоклеточного эпителия и стимуляции роста опухолевых клеток путем ингибирования процесса апоптоза.

Концентрация SCCA отражает степень гистологической дифференцировки опухоли, являясь важным независимым прогностическим

маркером. Этот антиген является патогномичным для плоскоклеточной карциномы гортани и глотки, по резкому росту SCCA можно судить об агрессивном росте опухоли или метастазировании, а увеличение концентрации антигена на фоне лечения свидетельствует либо о неэффективности выбранной схемы лечения, либо о рецидиве опухоли.

Для определения уровня SCCA производится забор 3–5 мл венозной крови и затем иммунохемилюминесцентный анализ. В норме концентрация SCC-антигена не превышает 2 нг/мл, однако для наиболее точной диагностики необходим подробный сбор анамнеза, соблюдение пациентом рекомендаций перед забором периферической крови на анализ (исключить из рациона жирную пищу в течение 24 ч до анализа; не принимать пищу в течение 8 ч до анализа, можно пить чистую негазированную воду; исключить физическое и эмоциональное перенапряжение за 30 мин до анализа; не курить в течение 30 мин до анализа), исключение рака другой локализации и динамика процесса лечения.

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 (рис. 1.9). Определение уровня определенных микроРНК играет важную роль в диагностике рака гортани и глотки, определении гистологического типа и вероятности метастазирования.

При обследовании пациентов выделялись 3 типа микроРНК: miR-181a, miR-124, miR-107.

Производили забор опухолевой ткани и нормального участка слизистой оболочки на расстоянии 10 мм от опухоли. Образцы тканей помещаются в пробирки со специальным консервирующим раствором RNAlater и хранятся при температуре 80 °С. Тотальная фракция РНК выделяется набором реагентов NucleoBond RNA/DNA, согласно стандартным протоколам. Анализ экспрессии конкретных микроРНК произведен при помощи TaqMan® MicroRNA Assays. Уровень экспрессии микроРНК в ткани будет рассчитан согласно методу Pfaffl, в качестве

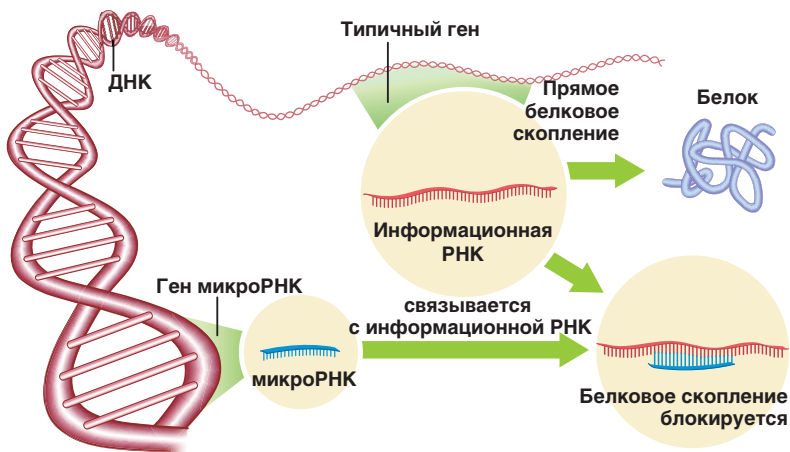


Рис. 1.9. Строение микроРНК

гена-рефери выбрана микроРНК-103 и матричная РНК U6. Статистическая обработка данных будет произведена в программе Statistica 8.0. miR-181a регулирует пролиферацию, миграцию, инвазию и колониобразующую способность раковых клеток головы и шеи. miR-181a участвует в регуляции 10 сигнальных путей, а именно p53/молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты, TGF-beta, MAPK/ERK, MAPK/JNK, Hsp90, Muc/Max, Cell cycle/pRB-E2F, Notch, Wnt и NF-κB-пути. miR-181a может экспрессироваться на высоком уровне при раке головы и шеи по сравнению с нормальными тканями.

miR-124

Эктопическая экспрессия miR-124 в клетки драматически ингибировала клеточную пролиферацию, колониобразование, миграцию и инвазию *in vitro*, так же как и опухолевой рост и метастазы *in vivo*. Обнаружено, что экспрессия miR-124 была достоверно выше на I стадии заболевания, в то время как II—IV имели более низкий уровень экспрессии miR-124. Кроме того, обнаружено, что уровень miR-124 был ниже в тканях с отдаленными метастазами по сравнению с локальными метастазами. В опухолях колебания значений у индивидуальных больных составляли от 0,6 до 55,71 отн. ед., а в здоровой ткани — от 0,16 до 68,59 отн. ед. (рис. 1.10).

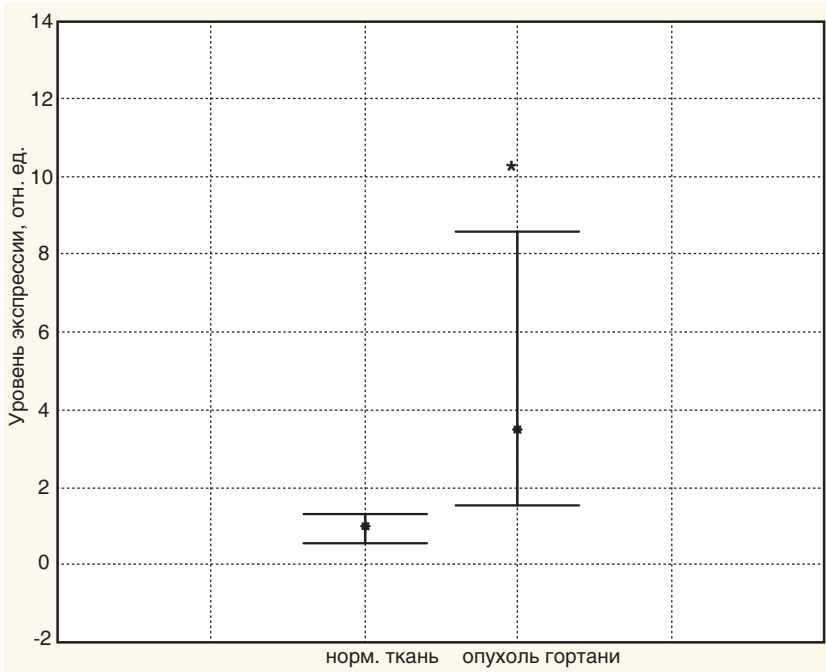


Рис. 1.10. Содержание зрелой miR-124 в опухолях гортани

Вероятно, miR-124 может быть супрессором или онкогеном в зависимости от клеточного контекста. Этот очевидный парадокс может проявляться из-за того, что одна молекула микроРНК имеет сотни различных мишеней матричной РНК, которые обладают противоположными (онкогенными или супрессорными) функциями. Изменчивость экспрессии одной и той же микроРНК может наблюдаться в пределах одного и того же типа опухоли. Это может быть связано с тем, что существует полиморфизм генов-мишеней микроРНК, а также генов самих микроРНК.

miR-107

Эктопическая экспрессия miR-107 в клетки SCC15, SCC25 и CAL27 (клетки плоскоклеточной карциномы головы и шеи) позволяет снизить опухолевый потенциал этих клеток *in vitro* и *in vivo* [8]. Обработка клеток miR-107 существенно блокирует клеточную пролиферацию, репликацию молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты, колоние-

образование и инвазию раковых клеток. Содержание miR-107 при раке головы и шеи снижено в зависимости от степени распространения опухолевого процесса.

Физические методы диагностики.

Ультразвуковое исследование

Главная задача ультразвуковой диагностики при злокачественных опухолях головы и шеи — выявление лимфогенных и гематогенных отдаленных метастазов в лимфатических узлах надключичной, шейной и аксиллярных областей, органах брюшной полости и забрюшинного пространства.

Ультразвуковое исследование в онкологии призвано решать ряд задач:

- ▶ выявление новообразования (рис. 1.11);
- ▶ дифференциальная диагностика;
- ▶ определение распространения опухоли на соседние органы, ткани и магистральные сосуды;
- ▶ выявление отдаленных метастазов;
- ▶ динамический контроль за эффективностью лечения;
- ▶ выявление послеоперационных изменений и осложнений;
- ▶ сопровождение и контроль в реальном времени интервенционных вмешательств.

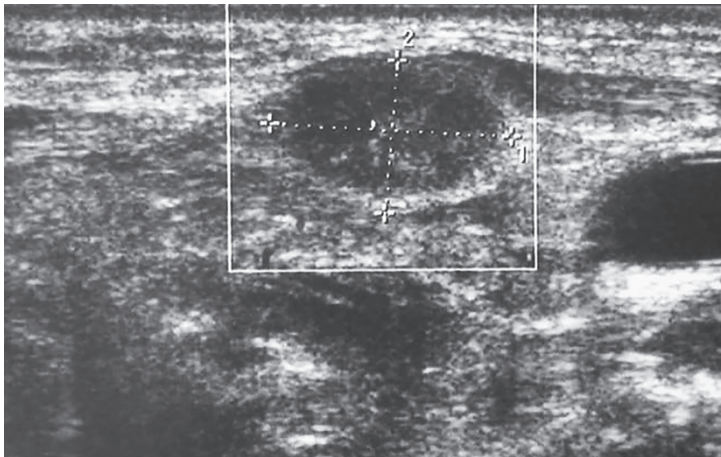


Рис. 1.11. Ультразвуковое исследование измененного шейного лимфатического узла

Компьютерная томография

В настоящее время компьютерная томография (КТ) является ведущим методом в рентгенодиагностике новообразований носоглотки, гортани и челюстно-лицевой области. 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. Данный метод позволяет получить ответ на вопрос, распространяется ли опухоль на лицевой скелет и основание черепа. Однако во всех этих областях нельзя с достаточной точностью отличить злокачественную опухоль от полипа или аденоидов даже при внутривенном контрастировании (особенно в носоглотке) до появления признаков инвазии окружающих тканей.

По КТ гортаноглотки и гортани наиболее ценные сведения можно получить о степени экзоорганного распространения опухоли. Для уточнения границ новообразования и определения состояния крупных сосудов шеи целесообразно использовать внутривенное контрастирование. Тем не менее КТ не является методом первичной диагностики новообразований этой области, для этого достаточно фиброларингоскопии с биопсией.

Более информативна при исследовании костей и тканей, содержащих воздух или примыкающих к воздушным пространствам (рис. 1.12). Возможности дифференцирования мягких тканей более ограничены [9].

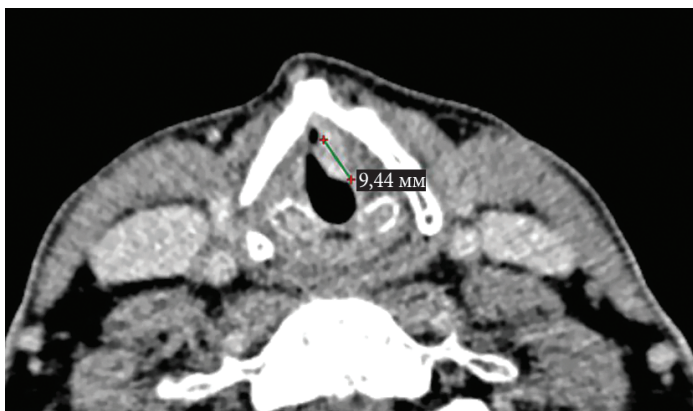


Рис. 1.12. Компьютерная томография новообразования гортани, активно накапливающего контрастный препарат

Магнитно-резонансная томография

Диагностические преимущества магнитно-резонансной томографии (по сравнению с другими методами получения изображения) основаны на возможности построения анатомических изображений с учетом нескольких физических параметров, в частности протонной плотности, времени релаксации T1 и T2, что в сочетании с применением большого количества разнообразных импульсных последовательностей (протоколов исследования) почти всегда позволяет выявить различия в отображении нормальных и патологически измененных тканей, особенно если применяются методики внутривенного введения специальных парамагнитных контрастных препаратов, изменяющих физические параметры исследуемых органов и тканей (рис. 1.13).

Для исследования костей магнитно-резонансная томография менее информативна. Позволяет четче дифференцировать мягкие ткани, судить о границах инвазии. Отличается высокой информативностью при исследовании тканей в области основания черепа [9].



Рис. 1.13. Магнитно-резонансная томография новообразования гортани, активно накапливающего контрастный препарат