

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
УРАЇНИ ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЛИСАК АНДРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

УДК: 616.321-006.6-091.85:611-018.73:576.3

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА, РІВЕНЬ ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ,
ПРОЛІФЕРАТИВНА ТА МЕТАБОЛІЧНА АКТИВНІСТЬ
ПЛОСКОКЛІТИННИХ КАРЦИНОМ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ
222 «Медицина»**

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі
«Охорона здоров'я»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 А.В. Лисак

Науковий керівник:

Дядик Олена Олександрівна
доктор медичних наук, професор

Київ - 2021

АНОТАЦІЯ

Лисак А.В. Морфологічна будова, рівень диференціювання, проліферативна та метаболічна активність плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина» – Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Міністерство охорони здоров'я України, Київ, 2021. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація присвячена проведенню порівняльної оцінки даних гістологічного, імуногістохімічного досліджень, позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією (ПЕТ/КТ) з подальшим визначенням нових критеріїв для встановлення рівня диференціювання пухлин та рекомендацій для діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки різного ступеню диференціювання.

Карциноми органів носа та ротової порожнини займають 6 місце по частоті виникнення серед усіх пухлин. В Україні станом на 2015 рік зареєстровано більш ніж 2323 випадків захворювання на злоякісні новоутворення ротової порожнини: з них – 1512 летальних та 2304 випадків захворювання на злоякісні новоутворення глотки (1572 летальних випадків). До 90,0% цих пухлин становить плоскоклітинний рак.

Роль різноманітних факторів ризику у виникненні плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки досліджено в багатьох працях, було встановлено низку закономірностей онкогенезу. Однак, незважаючи на це, плоскоклітинні карциноми даної локалізації залишаються складним питанням в плані градування рівня диференціювання та прогнозу. Питання

діагностики також залишається дискусійними та потребує змін згідно з потребами сьогодення.

При виконанні дисертаційної роботи був обстежений 121 пацієнт, віком від 35 до 95 років, госпіталю Бундесвер (м. Ульм, Німеччина), що знаходилися на лікуванні з 1 травня 2012 р. до 1 січня 2015 р. Всі обстежені були прооперовані з приводу раку орофарингеальної ділянки, мали гістологічний діагноз – плоскоклітинна карцинома з визначенням рівня диференціювання.

Обстежені були розподілені на три групи, залежно від рівня диференціювання новоутворення. До першої групи (G1) обстежених увійшли 22 пацієнти (18,2 %) з високодиференційованими плоскоклітинними карциномами. Другу групу (G2) склали 45 пацієнтів (37,2 %) з помірнодиференційованими плоскоклітинними карциномами. У 54 пацієнтів з третьої групи (G3) (44,6 %) діагностовано низький рівень диференціювання досліджуваних новоутворень.

Всім пацієнтам з метою визначення рівня диференціювання пухлини виконали імуногістохімічне дослідження (ІГХД), використовуючи моноклональні антитіла Ki67 (моноклональний, мишачий анти-Ki-67 антиген, Clone MIB-1, ZYTOMED Systems GmbH-Berlin), фосфогістон H3 (pHH3) (кролячий поліклональний антиген, Clone BC37, Biocare Medical Inc, 4040 Pike Lane, Concord, CA 94520, USA).

Для отримання кількісного аналізу даних, метаболічної активності пухлини, при виконанні ПЕТ/КТ дослідження проводили визначення коефіцієнту стандартизованого поглинання (SUV) та коефіцієнт максимального поглинання (SUV_{max}) радіофармпрепарату. Використання коефіцієнту стандартизованого поглинання в даний час є важливим для оцінки рівня метаболічної активності пухлин.

За результатами ретроспективного аналізу гістологічного матеріалу з повторним визначенням рівня диференціювання пухлин, з використанням

методики G. Anneroth і M. Bruyne, нам вдалося достовірно розподілити когорту обстежених пацієнтів на три групи в залежності від рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. Зазначена методика оцінки рівня диференціювання пухлини містить: гістологічну структуру, рівень зроговіння, поліморфізм ядер (відсоток зрілих клітин), кількість мітозів, вид інвазії пухлинного росту та запальна реакція строми.

У пацієнтів з діагностованою плоскоклітинною карциномою орофарингеальної ділянки було виконано порівняння даних гістологічного дослідження та результатів ПЕТ/КТ діагностики, визначено максимальне SUV значення та мінімальне SUV значення, як в усій когорті пацієнтів, так і в окремих групах, як прояв метаболічної активності пухлини.

Мінімальне загальне значення метаболічної активності пухлини (SUVmin) склало 3,3; максимальне загальне значення (SUVmax) – 51,5. Обстежені з високодиференційованими плоскоклітинними карциномами G1 мали SUVmin – 3,3; SUVmax – 29; середнє значення – 11,1. У пацієнтів з пухлинами середнього рівня диференціювання G2 встановлено SUVmin – 5; SUVmax – 30,7; середнє значення – 16,2. В групі обстежених пацієнтів з низькодиференційованими новоутвореннями G3 встановлено SUVmin – 3,5; SUVmax – 51,5; середнє значення – 21,1.

Звертають увагу отримані дані, щодо зростання значення показника метаболічної активності SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення метаболічної активності SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення метаболічної активності SUVmax, що були статистично значно ($p < 0,05$) вищими, ніж для групи G1, але нижчими ($p < 0,05$), ніж для групи G3.

Нами було також досліджено рівень проліферативної активності

плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за допомогою маркеру Ki-67. Встановлено, що більша кількість пацієнтів з 50,0 % та вищим показником позитивних пухлинних клітин була в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (81,5 %), у порівнянні з обстеженими з середньодиференційованими (71,0 %) та високодиференційованими карциномами (31,0 %, $p < 0,05$). Медіанне значення маркеру Ki-67 в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином G1 складало 20,0 % і статистично було значуще нижчим, у порівнянні з обстеженими G2 та G3 групами. В групі обстежених з орофарингеальними пухлинами середнього рівня диференціювання показник маркеру Ki-67 (60,0 %) був статистично значуще вище, ніж у групі G1 та вірогідно нижчим за показник групи G3. Медіанне значення маркеру Ki-67 для пацієнтів групи низькодиференційованих пухлин G3 склало 70,0 %, що статистично значуще вище за досліджений показник в обстежених інших двох груп.

Нами встановлено зростання медіанного значення маркеру Ki-67 при зниженні ступеню диференціювання плоскоклітинного варіанту карцином орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). Встановлено також, щонайменше ($p < 0,05$) значення Ki-67 відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Дані пацієнтів групи G2 відповідно мали проміжне значення Ki-67, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.

Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки в нашому дослідженні, проводилось за допомогою ІГХД з використанням маркеру pHH3. Виявлена більша кількість пацієнтів з 4 та більше позитивними пухлинними клітинами, в пухлинній тканині, в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (83,3%), у

порівнянні з обстеженими зі середньодиференційованими (55,6 %, $p < 0,05$) та високодиференційованими карциномами (4,5 %, $p < 0,05$).

Було доведено зростання значення показника рННЗ ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса) зі зниженням рівня диференціювання плоскоклітинного варіанту карциноми орофарингеальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення рННЗ в тканині пухлини у пацієнтів в групі G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам з групи G3. Показники для пацієнтів, що перебували в групі G2 мали проміжне значення рННЗ, ($p < 0,05$), що були статистично значуще вище, ніж для групи пацієнтів G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для пацієнтів групи G3.

Для виключення впливу запальної реакції стромы пухлини на результати ПЕТ/КТ дослідження в випадках з вираженим запаленням було виконано додатково ПГХД з використанням моноклональних антитіл до CD3 і CD20, для визначення фенотипу популяції клітинного (запального) інфільтрату Т- та В-клонів лімфоцитів. Результати були порівняні з рівнем метаболічної активності (SUV_{max}), та рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

З метою визначення наявності зв'язку між показниками Ki-67, рННЗ, SUV_{max} із рівнем диференціювання пухлинної тканини було проведено кластерний аналіз (з використанням методу побудови нейромереж Кохонена). Нами була проведена оцінка статистичної одноманітності визначених груп обстежених. Виявлена статистично значуща відмінність розподілу пацієнтів, що віднесені до різних кластерів за ступенем диференціювання тканини ($p < 0,001$). При цьому, до кластера 1 та 2 віднесені (в основному) пацієнти із рівня диференціювання пухлинної тканини G2 та G3, а в кластері 3 представлені пацієнти (майже із рівною частотою) з усіма ступенями диференціювання тканини.

Враховуючи, отримані дані з приводу різниці показника маркеру Ki-67 у пацієнтів з різним рівнем диференціювання пухлин, представляло інтерес

проведення методу побудови ROC-кривих для аналізу прогностичних характеристик. Нами встановлено, що при наявності у пухлинній тканині 50,0 % позитивних клітин, визначених за допомогою маркера Ki-67, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Надалі проводилось порівняння гістологічної будови пухлин з результатами ІГХД з використанням маркеру рННЗ. Звертає увагу, що при наявності у зразку 4 мітозів, визначених за допомогою маркеру рННЗ, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Порівняльний аналіз гістологічної будови пухлин із результатами ПЕТ/КТ діагностики довів, що при перевищенні показника метаболічної активності SUV_{max} 14 прогнозується середній та при перевищенні 17,2 низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Нами встановлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між показниками Ki-67 та рННЗ ($r = 0,814$ при $p < 0,001$) та слабкого позитивного кореляційного зв'язку показника метаболічної активності SUV_{max} із Ki-67 ($r = 0,214$ при $p = 0,019$) та рННЗ ($r = 0,301$ при $p < 0,001$).

Отримані нами данні дозволили встановити, що використання маркеру Ki67 має низку недоліків, а саме: він є позитивним у всіх стадіях мітозу (коли рННЗ – тільки у Mst), в апоптотичних ядрах клітин, у певному відсотку запальних клітин; важко піддається обрахунку (підрахунок ведеться у відсотках пухлинних клітин). Маркер рННЗ - дозволяє визначати точне значення позитивних клітин у 10 полях зору при збільшенні 400. Сьогодні сучасна класифікація пухлин ВООЗ передбачає в більшості визначення рівня диференціювання пухлин за допомогою ІГХД з Ki-67. Поряд з цим, роботи, що виконані та виконуються за кордоном, в перспективі передбачають заміну

Ki67 на pHH3, як більш точного показника проліферативної активності пухлини.

Аналізуючи отримані нами дані, які свідчать про можливість використання маркера pHH3 одночасно з Ki67 при визначенні та прогнозуванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, що дозволить оптимізувати діагностику обговорюваних пухлин.

Ключові слова: плоскоклітинні карциноми, орофарингеальна ділянка, pHH3, SUVmax, метаболічна активність, рівень диференціювання, позитронно-емісійна томографія, комп'ютерна томографія.

ABSTRACT

Lysak A.V. Morphological structure, level of differentiation, proliferative and metabolic activity of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area

The dissertation for the scientific degree of a Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 “Healthcare” on a specialty 222 – “Medicine” – P.L. Shupyk National University of Healthcare of Ukraine, Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, 2021. A qualifying scientific work as a manuscript.

The dissertation is devoted to a comparative evaluation of data of histological, immunohistochemical studies, positron emission tomography with computed tomography (PET/CT), followed by the subsequent definition of new criteria for establishing the level of tumor differentiation and recommendations for the diagnosis of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area of varying degrees of differentiation.

Carcinomas of the nose and oral cavity are the 6th most common of all tumors. As of 2015, 2,323 cases of malignant neoplasms of the oral cavity (1,512 of which were fatal) and 2,304 cases of malignant neoplasms of the pharynx (1,572 of which were fatal) were registered in Ukraine. Up to 90.0% of these tumors are squamous cell carcinomas.

The role of various risk factors in causing squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area has been studied in many works, a number of patterns of oncogenesis have been determined. Nevertheless, squamous cell carcinomas of this localization remain a difficult issue in terms of grading the level of differentiation and prognosis. Diagnostic issue also remains debatable and requires changing according to present needs.

When performing a dissertation, 121 patients, aged between 35 and 95 years, were examined at the Bundeswehr Hospital (Ulm, Germany), who were treated from May 1, 2012 to January 1, 2015. All subjects were operated on for oropharyngeal cancer, and had a histological diagnosis – squamous cell carcinoma with the determination of the level of differentiation.

The subjects were divided into three groups, depending on the level of differentiation of the tumor. The first group (G1) of the subjects included 22 patients (18.2%) with highly differentiated squamous cell carcinomas. The second group (G2) consisted of 45 patients (37.2%) with moderately differentiated squamous cell carcinomas. 54 patients of the third group (G3) (44.6%) had a low level of differentiation of the studied tumors.

All patients underwent immunohistochemistry study (IHCS) using Ki-67 monoclonal antibodies (monoclonal, mouse anti-Ki-67 antigen, Clone MIB-1, ZYTOMED Systems GmbH-Berlin), pHH3 (rabbit polyclonal antigen, Clone BC37, Biocare Medical Inc, 4040 Pike Lane, Concord, CA 94520, USA) to determine the level of tumor differentiation.

To obtain a quantitative analysis of data of tumor metabolic activity, when performing PET/CT studies, the standardized absorption coefficient (SUV) and the maximum absorption coefficient (SUV_{max}) of the radiopharmaceutical were determined. The use of a standardized absorption coefficient is currently important for assessing the level of metabolic activity of tumors.

According to the results of retrospective analysis of histological material with re-determination of the level of tumor differentiation, using the method of G. Anneroth and M. Bryne, we were able to credibly divide the cohort of examined patients into three groups depending on the level of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area. This method of assessing the level of tumor differentiation includes the histological structure, keratinization level, nuclear polymorphism (percentage of mature cells), number of mitoses, type of tumor growth invasion and inflammatory reaction of the stroma.

The comparison of histological data and PET/CT diagnostic results was performed in patients diagnosed with squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area, as well as the maximum SUV value and the minimum SUV one were determined, both in the whole cohort of patients and in individual groups, as a manifestation of tumor metabolic activity.

The total minimum value of metabolic activity of the tumor (SUV_{min}) was 3.3; the total maximum value (SUV_{max}) was 51.5. Subjects with highly differentiated squamous cell carcinomas had SUV_{min} of 3.3; SUV_{max} – 29; the average value was 11.1. The patients with tumors of average level of differentiation had SUV_{min} of 5; SUV_{max} – 30.7; the average value was 16.2. The cohort of subjects with low-differentiated tumors had SUV_{min} of 3.5; SUV_{max} - 51.5; the average value was 21.1.

The obtained data on the increase in the value of SUV_{max} with a decrease in the degree of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area ($p < 0.001$ according to the Kruskal-Wallis criterion) are worth noting. In this case, the lowest ($p < 0.05$) value of SUV_{max} corresponded to patients of group G1, and the largest ($p < 0.05$) – to patients of group G3. Indicators for patients in group G2 had an intermediate value of SUV_{max} metabolic activity, which were statistically significant ($p < 0.05$) higher than for group G1, but lower ($p < 0.05$) than for group G3.

We also investigated the level of proliferative activity of squamous cell carcinomas of the oropharyngeal area using the Ki-67 marker. It was found that most patients with 50.0% and a higher indicator of positive tumor cells were in the group with low-differentiated tumors (81.5%), compared with those examined with average- (71.0%) and highly differentiated (31.0%, $p < 0.05$) carcinomas. The median value of the Ki-67 marker in the group of patients with a high level of differentiation of squamous cell carcinoma G1 was 20.0% and was statistically significantly lower compared with the examined G2 and G3 groups. In the group of subjects with oropharyngeal tumors of average level of differentiation, the Ki-67

marker (60.0%) was statistically significantly higher than in group G1 and probably lower than in group G3. The median value of the Ki-67 marker for patients in the group of low-differentiated tumors G3 was 70.0%, which is statistically significantly higher than the studied indicator in the other two groups.

We established an increase in the median value of the Ki-67 marker with a decrease in the degree of differentiation of the variant of squamous cell carcinomas of the oropharyngeal area ($p < 0.001$ according to the Kruskal–Wallis criterion). It was also found that the lowest ($p < 0.05$) value of Ki-67 corresponded to patients of group G1, and the highest ($p < 0.05$) – to patients of group G3. Data of G2 group patients, respectively, had an intermediate value of Ki-67, which was statistically significant ($p < 0.05$) higher than for group G1, but lower ($p < 0.05$) than for group G3.

Determination of mitotic activity of squamous cell carcinomas of the oropharyngeal area in our study was performed with the help of the immunohistochemical method using the pHH3 marker. There is a greater number of patients with four or more positive tumor cells in the group with low-differentiated tumors (83.3%), compared with those examined with average- (55.6%, $p < 0.05$) and highly differentiated (4.5%, $p < 0.05$).

An increase in the pHH3 indicator value ($p < 0.001$ according to the Kruskal – Wallis criterion) with a decrease in the degree of differentiation of squamous cell carcinomas of the oropharyngeal was proved. At the same time, the lowest ($p < 0.05$) pHH3 value in the tumorous tissue corresponded to patients of group G1, and the highest ($p < 0.05$) – to patients of group G3. Indicators for patients of group G2 had an intermediate value of pHH3, which was statistically significant ($p < 0.05$) higher than for group G1, but lower ($p < 0.05$) than for group G3.

In order to exclude the influence of the inflammatory reaction of the tumor stroma on the results of PET/CT studies in cases of severe inflammation, additional IHCS was performed using monoclonal antibodies to CD3 CD20 to determine the phenotype of the population of cellular (inflammatory) infiltrate of

T- and B-lymphocyte clones. The results were compared with the level of metabolic activity (SUVmax) and the level of differentiation of squamous cell carcinomas of the oropharyngeal area.

In order to determine the connection between Ki-67, pHH3, SUVmax with the degree of tumorous tissue differentiation, a cluster analysis was performed (using the method of construction of Kohonen neural networks). We assessed the statistical uniformity of certain groups of subjects. A statistically significant difference in the distribution of patients assigned to different clusters by the degree of tissue differentiation ($p < 0.001$) was found. At the same time, clusters 1 and 2 include (mainly) patients with the degree of tumorous tissue differentiation G2 and G3, and cluster 3 presents patients (almost with equal frequency) with all degrees of tissue differentiation.

Considering the data obtained on the difference in the Ki-67 marker in the patients with different levels of tumor differentiation, it was of interest to conduct a method of constructing ROC-curves for the analysis of prognostic characteristics. We found that in the presence of 50.0% of positive cells in the tumorous tissue, determined with the help of the Ki-67 marker, an average and low level of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area is predicted.

We then compared the histological structure of tumors with the IHCS results using the pHH3 marker. It is noteworthy that in the presence of 4 mitoses in the sample, determined by the pHH3 marker, an average and low level of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area is predicted. Comparative analysis of the histological structure of tumors with the results of PET/CT diagnosis showed that at exceeding of SUVmax 14 an average level and at exceeding of 17.2 low level of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area is predicted.

We found a strong positive correlation between the Ki-67 and pHH3 indicators ($r = 0.814$ at $p < 0.001$) and a weak positive correlation between

SUVmax indicator of metabolic activity and Ki-67 ($r = 0.214$ at $p = 0.019$) and pHH3 ($r = 0.301$ at $p < 0.001$).

The data obtained made it possible to define that the Ki-67 marker had a number of the following disadvantages: it is positive in all stages of mitosis (when pHH3 is only in Mct), in apoptotic sell nuclei, in a certain percentage of inflammatory cells; difficult to calculate (the calculation is carried out in the percentage of tumor cells). The pHH3 marker makes it possible to determine the exact value of positive cells in 10 fields of view at an increase of 400. Nowadays, the current WHO classification of tumors mostly involves determining the level of tumor differentiation using IHCS with Ki-67. In addition, the work performed and being performed abroad in the future involves the replacement of Ki-67 by pHH3 as a more accurate indicator of tumor proliferative activity.

Thus, the data obtained indicate the possibility of using the pHH3 marker simultaneously with Ki-67 when determining and predicting the level of differentiation of squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area, which will optimize the diagnosis of these tumors.

Key words: Key words: squamous cell carcinomas, oropharyngeal area, pHH3, SUVmax, metabolic activity, level of differentiation, positron emission tomography, computed tomography.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації.

1. Лисак А. В., Дядик О. О. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони. *Патологія. Науково-практичний медичний журнал*. 2016. № 2(37). С. 4–13.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

2. Лисак А. В., Дядик О. О. Можливості одномоментної позитронно-емісійної та комп'ютерної томографії в визначенні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки на доопераційному етапі. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. Київ, 2017. Вип. 28. С. 288–292.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

3. Лисак А. В. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки. *ArtofMedicine*. 2018. № 3(7). С. 72–80.

4. Тіш М., Лисак А.В., Дядик О.О. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії. *Патологія. Науково-практичний медичний журнал*. 2019. № 1(45). С. 60–67.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

5. Lysak Andrii, Diadyk Olena. «Relationship between the results of immunohistochemical examination (pHH3, KI-67) and positron emission tomography data (Suvmax) of Oropharyngeal squamous cell carcinoma». Lysak Andrii. Diadyk Olena в журналі World Science №7(59), 2020 видавництво RS Global Sp. z O.O., Варшава, Польща 2020, С.30-39.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

1. Лисак А. В., Дядик О. О. Особливості клітинної інфільтрації в прилеглий стромі плоско-клітинних орофарингіальних карцином в залежності від рівня їх диференціювання. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених*: матеріали 40-вої ювілейної науково-практичної конференції молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки (м. Київ, 18 травня 2017 р.). Київ, 2017. С. 108–109.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

2. Лисак А. В., Дядик О. О. Клініко-морфологічні можливості одномоментної позитронно-емісійної та комп'ютерної томографії при прогнозуванні рівня диференціювання пухлин орофарингеальної ділянки. *Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії*: матеріали науково-практичної конференції (м. Київ, 26-27 квітня 2017 р.). Київ, 2017. С. 69–71.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

3. Лисак А. В., Дядик О. О. Оцінка рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони за допомогою імуногісохімічного маркера фосфогістону Н3. *Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи*: матеріали заочної науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова (м. Харків, 24 грудня 2016 р.). Харків, 2016. С. 82–83.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

4. Дядик О. О., Лисак А. В. Кореляційний аналіз позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією при діагностиці плоскоклітинного раку ротової порожнини різного рівня диференціювання. *XIII З'їзд онкологів та радіологів України: матеріалів з'їзду* (м Київ, 26-28 травня 2016 р). Київ, 2016. С. 23.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ	22
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН, ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, ПАТОМОРФОЛОГІЯ, КЛІНІЧНІ, ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ДІАГНОСТИЧНІ ПАРАМЕТРИ КАРЦИНОМ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ. (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	33
1.1. Етіопатогенетичні чинники розвитку плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.....	34
1.2. Рівень виживання та особливості локалізації плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.....	47
1.3. Особливості гістологічної та TNM класифікації плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки	49
1.4. PET/CT діагностика	60
1.5. Визначення рівня проліферативної активності пухлин у залежності від рівня диференціювання	66
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	72
2.1. Аналіз клінічного матеріалу плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.....	72
2.2. Гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки	75
2.3. PET/CT діагностика плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.....	84
2.4. Методи біостатистики	88

РОЗДІЛ 3. ГІСТОЛОГІЧНИЙ ТА МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПЛОСКОКЛІТИННИХ ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ КАРЦИНОМ..... 89

3.1. Розподіл гістологічного матеріалу обстежених у залежності від морфологічної будови пухлини 89

РОЗДІЛ 4. ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ ПЛОСКОКЛІТИННИХ КАРЦИНОМ..... 105

4.1. Характеристика проліферативної активності пухлин за допомогою маркеру Ki-67..... 105

4.2. Визначення мітотичної активності орофарингеальних карцином за допомогою маркеру рННЗ..... 115

4.4. Визначення статистичної одноманітності досліджуваних груп пацієнтів... .. 128

РОЗДІЛ 5 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ КАРЦИНОМ ТА КОРЕЛЯЦІЯ З РЕЗУЛЬТАТАМИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ТА ПЕТ/КТ ДОСЛІДЖЕНЬ 132

5.1. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження Ki-67 132

5.2. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження рННЗ..... 140

5.3. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами ПЕТ/КТ діагностики 143

5.4. Взаємозв'язок між маркерами Ki-67, рННЗ та результатами ПЕТ-КТ в плоскоклітинних пухлинах орофарингеальної ділянки 147

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ..... 149

ВИСНОВКИ	163
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	166
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	167
ДОДАТКИ.....	200
Додаток А Акти впровадження.....	200
Додаток Б Наукові праці, опубліковані за темою дисертації	234

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ІГХД – імуногістохімічне дослідження

КТ – комп'ютерна томографія

МСКТ – мультиспіральна комп'ютерна томографія

мм – міліметр

ПАВ – поліциклічні ароматичні вуглеводи

ПЕТ/КТ – позитронно-емісійна томографія з комп'ютерною
томографією

РНК – рибонуклеїнова кислота

США – Сполучені Штати Америки

AUC – are under curve

BER – base excision repair

ВІ – інтервал вірогідності

CD3 – cluster of differentiation 3

CD20 – cluster of differentiation 20

Е6 – білок Е6

Е7– білок Е7

EGF – Epidermal Growth Factor Rezeptoren

GCP – good clinical practice

GSTs – глутатіон S-трансфераза

HPF – Highpowerfield

HPV – human papillomavirus

MMR – Mismatch repair

mRNA – messenger of ribonucleic acid

NATs –N-ацетилтрансферази

NER –Nucleotide excision repair

pHH3 – Phosphohistone H3

ROC – receiver operating characteristic

RR – Recombination repair

SULTs – сульфотрансфераза

SUV – standardized uptake values

TNM – tumor, nodus, metastasis

TPMT – тіопурин S-трансфераза

UGTs – УДП-глюкуроносульфотрансфераза

ICD-O – International Classification of Diseases for Oncology

VEGF –vascularendothelialfactor

ВСТУП

Актуальність роботи. За даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ) у 2005 році у світі від пухлин, що вражали органи орофарингеальної ділянки загинуло приблизно 390000 людей [251, 275]. При цьому, число нових захворювань до 2020 року збільшиться на 50,0 % [251]. Карциноми органів носа та ротової порожнини займають 6 місце по частоті виникнення серед усіх пухлин [78, 215, 216, 231, 250].

Більша частина цих пухлин становить плоскоклітинний рак (до 90,0 %) [40, 88, 103, 165, 216, 243, 250]. Аденокарциноми, саркоми та пухлини м'яких тканин займають друге місце, на третьому місці рідкісні пухлини даної локалізації [78, 103, 176, 232, 250, 269, 270].

Пухлини даної локалізації, а також методи їх лікування в переважній більшості випадків призводять до порушення життєво-важливих функцій, таких як: дихання, ковтання, а також важких косметичних дефектів, що призводить до важкої інвалідизації [25].

Причина виникнення плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки є темою обговорень та численних епідеміологічних досліджень. Окрім віку та статі існують багаточисленні фактори асоційовані з онкогенезом пухлин вище зазначеної локалізації, а саме: вживання алкоголю, паління та жування тютюну, інфікованість папіломавірусом людини 16 типу та ін. Окрім основних факторів ризику існують різноманітні інші: вірус Ебштейн-Бара, відсутність гігієни ротової порожнини, недостатність вітамінів (вітамін А, С, каротину, фолієвої кислоти). До факторів ризику відносяться також різноманітні професійні шкідливості: азбест, арсен, цементний пил, та ін. [29, 101, 108, 121, 146, 156, 236, 243, 247, 253, 256]. Не останню роль у виникненні плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки відіграє спадковість, так, приблизно, 10,0 % пухлин мають спадковий характер. У осіб з спадковим характером пухлин (один з батьків чи один з

братів, сестер страждають на рак орофарингеальної ділянки), ймовірність захворіти на рак збільшується у тричі [189].

На сьогоднішній час верифікація та градування пухлин орофарингеальної ділянки, діагностування їх потенціалу малігнізації продовжує залишатися актуальною проблемою, як в діагностиці даних пухлин, так і в прогнозуванні їх перебігу. Рівень гістологічного диференціювання корелюється з рівнем 5-ти річного виживання та прогнозом. Окрім того первинна локалізація пухлини відіграє важливе значення, а також глибина інвазії та розмір [1, 4, 32, 45, 51, 93, 105, 163, 233].

Залежність рівня проліферації, кількості мітозів, метаболічної активності пухлини є малодослідженою проблемою. На даний час існують лише поодинокі роботи з вивчення цієї закономірності, що стосуються в основному пухлин шкіри (меланоми) [53, 61, 61, 72, 170, 230].

Рівень метаболічної активності будь-якого новоутворення є важливою діагностичною інформацією та використовується для оцінювання рівня диференціювання пухлин. Окрім того рівень метаболічної активності має велике значення в виборі тактики лікування пацієнтів на рак будь-якої локалізації [53, 71, 186, 268, 276].

За гістологічною будовою та за рівнем диференціювання плоскоклітинні карциноми орофарингеальної ділянки бувають високодиференційовані, помірнодиференційовані, низькодиференційовані. Вирізняють також субтипи плоскоклітинної карциноми в залежності від гістологічних структур, що утворює пухлина [205, 265]. Для визначення рівня диференціювання використовують іммуногістохімічні маркери Ki-67 та новий маркер рННЗ (Phosphohistone H3) [14, 86, 152, 168, 173, 239].

Маркер Ki-67 доволі давно відомий, вперше почав використовуватись у 1983р. Він відноситься до моноклональних ядерних маркерів, що позитивний у наступні фази клітинного циклу: G1A, G1B, S, G2 та безпосередньо у фазу М-мітозу. В той же час він негативний у G0, G1T, G1a, G1b. В сучасній

патоморфології даний маркер використовується для визначення кількості проліферуючих клітин, та входить в стандартну панель діагностики пухлин та доброякісних новоутворень. Virізняють дві ізоформи даного антигену 345 та 395 kDa [12, 14, 75, 76, 219, 226, 264].

Останнім часом в пошуках нового маркера для визначення рівня мітозів, почали використовувати фосфогістон-НЗ. Не дивлячись на те, що маркер відомий вже понад 20 років, тільки в останній час його почали розглядати як потенційний прогностичний маркер при пухлинах [113, 136, 207, 254].

Сьогодні фосфогістон-НЗ тільки почав використовуватись як новий стандарт при деяких пухлинах при ІГХД. Відомі численні дослідження з використання цього маркера для визначення злоякісності карцином молочної залози, простати, яєчників, шкіри [86, 168, 173, 174, 207, 228, 231, 254].

Фосфогістон-НЗ використовується для визначення мітотичної активності пухлин, встановлює серед апоптотичних ядер, залишку лізованих ядер, справжні мітози. Даний маркер може бути використаний як первинне чи вторинне антитіло при ІГХД (імуногістохімічне дослідження) [14, 75, 76, 86, 167, 168, 174, 183, 190, 239, 254].

Проте, слід зазначити, що сучасні методики визначення проліферативного індексу за допомогою маркеру Ki-67 в повній мірі не відповідають потребам сьогодення [14, 173, 207, 228, 254].

Наступним кроком у діагностиці плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки є вірогідне визначення кількості мітозів в пухлині за допомогою таких маркерів, як рННЗ та порівняння до метаболізму глюкози у ній. Тому представляє науковий інтерес можливість верифікації пухлини безпосередньо під час проведення ПЕТ/КТ (позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією) з визначенням рівня диференціювання пухлин за допомогою визначення максимальної метаболічної активності на доопераційному етапі та гістологічно

встановлювати злоякісність за допомогою одного маркера в незалежності від наявності в пухлині вторинних змін у вигляді запалення, некрозів, апоптозу, лікувального патоморфозу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана відповідно до плану наукового дослідження Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Міністерства охорони здоров'я України і є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри патологічної та топографічної анатомії за темою «Наукове обґрунтування сучасної патоморфологічної діагностики та встановлення клініко-морфологічних відповідностей при різних захворюваннях» (2016-2020рр., № державної реєстрації 0116u007906)

Мета роботи. Покращення діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з різним ступенем диференціювання, за допомогою проведення порівняльної оцінки результатів гістологічного, імуногістохімічного дослідження з даними ПЕТ/КТ з наступним визначенням рекомендацій для встановлення рівня диференціювання пухлин.

Завдання дослідження:

1. Виконати ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу з наступним визначенням рівня диференціювання пухлин.
2. Визначити закономірності між ступенем диференціювання пухлин та результатами імуногістохімічного дослідження.
3. З'ясувати взаємозв'язок між результатами позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією та картиною гістологічної будови пухлин.
4. Сформулювати рекомендації для покращення визначення рівня диференціювання пухлин в залежності від їх метаболічної активності та рівня «справжніх» мітозів. Порівняти вихідні дані та встановити закономірності.

5. Встановити структурні особливості запальних процесів в стромі пухлини в порівнянні з результатами позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією.

Об'єкт дослідження: – плоскоклітинні карциноми орофарингеальної ділянки.

Предмет дослідження: метаболічна активність пухлин в залежності від проліферативної та мітотичної активності, визначена за допомогою імуногістохімічного дослідження з використанням маркерів, Ki67 та рННЗ.

Методи дослідження: гістологічне забарвлення (гематоксилином і еозином), ІГХД із маркерами Ki-67, рННЗ, CD3, CD20, ПЕТ/КТ з визначенням SUV (Standardized Uptake Values), методи біостатистики згідно з положенням доказової медицини.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлена залежність між даними ПЕТ/КТ з визначенням метаболічної активності (SUV_{max}) та рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки: значення показника SUV_{max} достовірно ($p < 0,001$) збільшується із зниженням ступеню диференціювання пухлини.

Доведено, за допомогою маркеру рННЗ, достовірно ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.

Вперше встановлено, що наявність у пухлині 50,0 % позитивних клітин, визначених за допомогою маркера Ki-67, прогнозує розвиток середнього та низького рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. Наявність у пухлині 4 мітозів, визначених за допомогою маркера рННЗ, вказує на середній та низький рівень диференціювання зазначених новоутворень. Перевищення показника SUV_{max} більше 14 свідчить про середній рівень диференціювання пухлин, а при перевищенні значення 17,2 – про низький рівень.

Встановлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між показниками Ki-67 та pHH3 ($r= 0,814$ при $p<0,001$) та слабого позитивного кореляційного зв'язку показника SUV_{max} із Ki-67 ($r= 0,214$ при $p= 0,019$) та pHH3 ($r= 0,301$ при $p<0,001$).

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати дозволяють підвищити рівень діагностики та визначення рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, за допомогою гістологічної оцінки матеріалу використовуючи мультифакторальний тип класифікацій рівня диференціювання G. Annerothi M. Врупе з оцінкою характеристик пухлини - рівня ороговіння, поліморфізму ядер, підрахунок кількості мітозів, встановлення виду інвазії.

Рекомендовано використання маркера Ki-67 на pHH3 при проведенні імуногістохімічних дослідженнях на етапі біопсійного та операційного матеріалів. Рекомендувати до використання для визначення рівня диференціювання pHH3 маркер. При виявленні 6 мітозів, визначених за допомогою маркера pHH3, задокументувати середній рівень диференціювання зазначених новоутворень, а при перевищенні значення 8,5 – низький рівень.

Ми рекомендуємо проводити визначення максимальної метаболічної активності пухлини при проведенні ПЕТ/КТ дослідження, для передопераційної діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки та прогнозування рівня диференціювання пухлин.

При проведенні ПЕТ/КТ та встановленні перевищення показника SUV_{max} більше 11,1 констатувати середній рівень диференціювання зазначених пухлин, а при перевищенні значення 16,5 – низький рівень.

Впровадження матеріалів дослідження. Нові теоретичні та практичні положення роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет” (акт впровадження від 22.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії

Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 20.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 25.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 26.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 08.09.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 28.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії медичного інституту Сумського державного університету (акт впровадження від 07.08.2020 р.), на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова (акт впровадження від 09.09.2020 р.), на кафедрі військової хірургії Української військово-медичної академії (акт впровадження від 21.04.2020 р.), кафедрі патологічної та топографічної анатомії НМАПО ім. П.Л. Шупика (акт впровадження 20.10.2020р.), у роботу патологоанатомічного центру Національного військово-медичного клінічного центру “Головний військовий клінічний госпіталь”, м. Київ (акт впровадження від 09.04.2020 р), військового госпіталю, Київська обл., м. Ірпінь (акт впровадження від 03.09.2020 р), військового госпіталю, м. Чернігів (акт впровадження від 02.09.2020 р), військового госпіталю, Чернігівська обл., смт. Десна (акт впровадження від 01.09.2020 р), Комунального некомерційного підприємства “Госпіталь Печерський”, м. Київ (акт впровадження від 05.08.2020 р), Військово-медичного клінічного центру Північного регіону, м. Харків (акт впровадження від 16.04.2020 р), патологоанатомічної лабораторії Військово-медичного клінічного центру Західного регіону, м. Львів (акт впровадження від 13.04.2020 р).

Особистий внесок дисертанта: Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора. Ідея, розробка і тема дисертації сформована разом з науковим керівником завідувачем кафедри патологічної та топографічної анатомії, Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Міністерства охорони здоров'я України, д.мед.н., професором Оленою Олександрівною Дядик. Дисертант особисто визначив мету, завдання дослідження і методичний підхід до їх вирішення. Автором виконаний патентно-інформаційний пошук, проаналізовані сучасні літературні відомості стосовно досліджуваної тематики наукової роботи. Автором самостійно проаналізовано наукову літературу та патентну документацію із зазначеної проблеми. Вивчено результати позитронноемісійної томографії разом з комп'ютерною томографією. Вивчено методику та проведення імуногістохімічних методів дослідження. Автор безпосередньо брав участь в обробці одержаних даних з допомогою статистичних методів. Самостійно здійснив забір первинної документації, повів у повному обсязі спеціальні дослідження за темою дисертації, вивчив 121 гістологічний матеріал з імуногістологічним дослідженням та аналізом отриманих результатів, сформував висновки та практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації.

Основні положення і результати дослідження дисертаційної роботи висвітлені на: науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії», виступ на тему «Можливості PET/CT діагностики в визначенні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки на доопераційному етапі» (м. Київ 2017 р.); Перспективи розвитку сучасної патології, доповідь на тему «Аналіз проліферативної та метаболічної активності плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки», публікація тез, виступ (м. Яремче 2018 р.).

Публікації. Основні положення та результати дослідження відображено в 9 наукових працях, серед них 4 – статті в провідних фахових

виданнях, 1 стаття – у закордонних виданнях, 4 тез-доповідей на науково-практичних конференціях.

Структура дисертації. Дисертаційна робота була написана українською мовою на 237 сторінках (з яких 160 залікового машинописного тексту). Робота складається зі змісту, анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, трьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Список літератури складається з 256 джерел викладених латиницею та 23 джерел викладених кирилицею. Дисертація ілюстрована 49 рисунками та 20 таблицями та 2-ма формулами.

РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН, ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, ПАТОМОРФОЛОГІЯ, КЛІНІЧНІ, ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ДІАГНОСТИЧНІ ПАРАМЕТРИ КАРЦИНОМ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ. (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Плоскоклітинні карциноми - є однією з найбільш розповсюджених груп первинних пухлин орофарингеальної ділянки та складають понад 90%, серед усіх можливих пухлин даної локалізації. Кількість випадків первинного виявлення даних пухлин постійно рік за роком збільшується. Етіологія виникнення плоскоклітинних пухлин орофарингеальної ділянки мультикомпонентна [40, 78, 88, 103, 146, 165, 176, 189, 216, 232, 243, 250, 256, 269, 270].

На початку захворювання у пацієнта відсутні скарги, безсимптомний перебіг у більшості випадків призводить до діагностування пухлин у більш пізніх стадіях. Найчастіше пацієнти самостійно первинно-діагностують утворення ротової порожнини або в крайніх випадках звертаються за медичною допомогою в зв'язку з виникненням порушень ковтання, артикуляції чи болю. Приєднання вторинної інфекції у даних пацієнтів погіршує можливості діагностики та встановлення вірного діагнозу [25, 60, 212, 220].

У виникненні плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки відіграють значну роль різноманітні фактори ризику, які були досліджені в багатьох працях, було встановлено певні закономірності онкогенезу. Однак, незважаючи на достатньо вивчені механізми виникнення та розвитку плоскоклітинних карцином даної локалізації, ці пухлини залишаються складними в плані градування рівня диференціювання та прогнозу [4, 5, 20, 23, 25, 35, 45, 67, 92, 117, 165, 202, 224, 250].

1.1. Етіопатогенетичні чинники розвитку плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

Протягом багатьох років причина виникнення плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки є темою обговорень та численних епідеміологічних досліджень. Окрім віку та статі існують численні фактори асоційовані з онкогенезом пухлин вищевказаної локалізації. Сьогодні вживання алкоголю та паління тютюну залишаються провідними факторами ризику для розвитку плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки. Комбіноване вживання тютюну та алкоголю багаторазово збільшують ризик виникнення раку. Окрім цього, в останній час, одним з провідних факторів виникнення карциноми стає папіломавірус людини - HPV (human papillomavirus), передусім 16 типу. В країнах, що розвиваються (Індія, Азія), суттєве місце займає жувальний тютюн. Так, за підрахунками 600 мільйонів людей у світі жують тютюн. Окрім основних факторів ризику існують різноманітні інші фактори ризику: вірус Ебштейн-Бара, відсутність гігієни ротової порожнини, недостатність вітамінів (Вітамін А, С, каротину, фолієвої кислоти). До факторів ризику відносяться також різноманітні професійні шкідливості: азбест, арсен, цементний пил, та ін [29, 101, 108, 121, 146, 156, 236, 243, 247, 253, 256].

Не останню роль у виникненні плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки відіграє спадковість, так приблизно 10% пухлин мають спадковий характер. У осіб зі спадковим характером пухлин (один з батьків чи один з братів, сестер страждають на рак орофарингеальної ділянки), ймовірність захворіти на рак збільшується у тричі [120, 189].

За етіологією, усі фактори ризику можна розподілити на екзогенні та ендогенні.

До екзогенних факторів належать: куріння тютюну, вживання алкоголю, вплив інших шкідливих речовин у вигляді парів чи пилу [34, 39, 80, 81, 96, 103, 127, 134, 156, 189, 191, 198, 236, 243, 255].

Мова про алкоголь та тютюн як фактор ризику може йтися при вживанні більше ніж 75г., алкоголю в день, та більше ніж 10 цигарок на день. Люди, що вживають алкоголь та палять цигарки, мають у 90 разів більшу ймовірність захворіти на рак в порівнянні з людьми, що не мають цих звичок [25, 38, 39, 65, 92, 130, 131, 133, 142, 146, 159, 189, 192, 198, 217, 236, 250].

Тютюн- це найважливіший із відомих факторів ризику, виникнення пухлин орофарингеальної ділянки. У країнах, що розвиваються, щорічно відбувається 2% приріст кількості курців. В економічно розвинутих країнах кількість курців щорічно зменшується на 1,5%. На жаль, у зв'язку з низкою інших екзогенних факторів, що мають місце в індустріальних країнах - це на загальну кількість хворих не впливає. За останній час у країнах, що розвиваються (Азія та Африки), відбувається значне зростання кількості споживачів жувального тютюну та тютюну для нюхання серед молоді, що призвело до значного збільшення кількості випадків діагностики раку орофарингеальної ділянки на рік, та склало 25% [34, 38, 81, 127, 146, 157, 172, 191, 197, 210, 236, 244, 256].

Серед населення Африки та Азії окрім звичайного тютюну використовують тютюн для нюхання, та різні суміші для жування (жувальний тютюн). Так, одна доза тютюну для нюхання складає 0,1-0,2 г. За день людина вживає від 2 г. до 10 г., вміст же нікотину у 2 г., жувального тютюну складає 14 мг., що відповідає 30-40 сигаретам з фільтром [20, 34, 58, 101, 162].

Шкідливий вплив тютюну пов'язаний з більше ніж 30 канцерогенними компонентами, серед більше ніж 4000 речовин, що містяться в тютюновому димі. Так, наприклад, ПАВ (поліциклічні ароматичні вуглеводи): метилхолантерен, бензипірен, бензотразен - є вже відомими канцерогенними

речовинами, що за допомогою своїх вільних радикалів проникають до організму через слизові оболонки та зв'язуються з ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) та РНК (рибонуклеїнова кислота) молекулами. Іншою групою речовин, що входять в склад тютюну, є специфічні нітрозаміни (N'-нітрозонорнікотин, N'-нітрозонобазін, N'-нітрозоантабін, 4-(метилнітрозаміно)-1-(3-птеридил)-1-бутадіон), які утворюють в організмі курця нестабільні сполуки з вільними радикалами, що здатні реагувати з молекулами ДНК, та мають також генотоксичний вплив [17, 54, 127, 159, 172, 236, 256].

Ризик виникнення раку орофарингеальної ділянки зростає у курців, котрі викурюють щодня 20 сигарет та більше у 20 разів. При чому провідне значення відіграє саме безперервність куріння, а не кількість цигарок на день [9, 35, 39, 81, 89, 146, 155, 159, 198].

За результатами найбільшого епідеміологічного дослідження про вплив куріння та алкоголю на виникнення раку верхніх дихальних шляхів, вказує на вищу ймовірність захворіти на рак в 20,1 раза вищий у осіб, що в певний період свого життя вживали тютюн у порівнянні з особами, що такими не являються. В осіб, що викурюють від 1 цигарки до 10, відмічається підвищений ризик у 10,1-29,8 раза, у курців зі стажем більше ніж 2 роки ризик виникнення раку збільшується у 36 разів. Усі інші дослідження вказують також на провідну роль куріння у виникненні новоутворень. Так, 90% усіх хворих на рак орофарингеальної ділянки, за результатами опитування, вживали тютюнові вироби та алкоголь [39, 80, 81, 92, 96, 127, 159, 189, 198, 236, 237].

Окремо вживання алкоголю має помірний вплив на канцерогенез. Доза алкоголю більше ніж 90 мл. на добу підвищує ризик виникнення пухлини у 11,7 раза, що пов'язано з продуктами розпаду алкоголю у вигляді ацетальдегідів та безпосереднім впливом алкоголю на слизові, що спричиняє гіперрегенерацию та атрофію слизової оболонки, крім цього безпосередній

вплив алкоголю пов'язаний з впливом на фосфоліпідні мембрани клітин, таким чином призодячи до порушення їх бар'єрної функції. Це у свою чергу спричиняє збільшенню проникнення канцерогенних речовин у клітину, у тому числі й похідних тютюну. Цікавим є британське дослідження про залежність ризику виникнення раку від виду алкогольних напоїв. Так, при вживанні 100 грамів алкоголю на добу, якщо 30% складає червоне вино, то воно за рахунок речовин, що мають онкопротекторні властивості, нівелює шкідливий вплив алкоголю на орофарингеальну ділянку та стравохід. За результатами дослідження, що було проведено на Гаваях, виявили достовірне збільшення ризику виникнення раку орофарингеальної ділянки та стравоходу при вживанні пива в 4 рази, а за дослідженнями, що проведені у Франції виявило достовірне збільшення ризику виникнення раку у пацієнтів, які вживають біле вино [9, 10, 17, 81, 96, 122, 123, 127, 130, 197, 142].

У протилежність взаємодія алкоголю та тютюну, значно підвищує негативний ефект впливу. Було встановлено, що у людей з комбінацією цих двох факторів, тютюн та алкоголь, ризик виникнення раку збільшується у більш ніж 50 разів [9, 10, 39, 81, 123, 197, 198].

Низка досліджень була проведена для визначення впливу пасивного куріння при виникненні раку. Мультицентричне дослідження Інтернаціональної агенції по дослідженню раку, що включало 500000 чоловіків та жінок не курців з 10 європейських країн. Серед яких було проведено опитування, на предмет проживання з людиною курцем, та можливим впливом тютюнового диму в місцях постійного перебування. За результатами цих досліджень виявлено підвищення ризику виникнення раку. Подальші дослідження ведуться [54, 81, 89].

Не дивлячись на те, що за даними досліджень, в більшості випадків (80%) однією з можливих причин виникнення пухлин являється алкоголь та тютюн, залишається велика кількість пацієнтів, що не піддавалась впливу даних чинників. У цьому випадку як одним з джерел речовин, що мають

канцерогенний ефект може виступати навколишнє середовище. У процесі свого життя людина стикається з тотальним техногенним забрудненням: на роботі, на вулиці, у місцях загального перебування. У даному випадку найчастіше виступають наступні канцерогени: азбест, поліциклічні ароматичні вуглеводні, різні види промислового пилу (азбест, цемент, метал, деревина, граніт, пари кислот та лугів), які здатні експонуватися у тканинах організму [9, 18, 130, 141, 144].

Так, за результатами низки досліджень в європейських країнах, вплив азбесту у людей, що зайняті на виробництві та будівництві, збільшує ймовірність виникнення пухлин на третину. Дані були також підтвержені експериментально на щурах. У випадку вживання алкоголю та тютюну, ймовірність захворіти збільшується ще на третину [26, 74, 143, 175].

Статистичне дослідження, що було проведене у Франції на фабриці з виготовлення скловати, протягом 25 років, ретроспективно було доведено, що у робітників достовірно збільшується ймовірність захворіти на рак верхніх дихальних шляхів. У інших європейських країнах та у Північній Америці було виконано аналогічні дослідження. Експериментальні роботи були виконані із застосуванням як канцерогенів, мікрочастинок скловати, що у вигляді аерозолів вводились щурам [62, 110, 143].

Комбінація алкоголю, тютюну та задбрунення навколишнього середовища значно підвищують ризик виникнення раку [18, 130, 140, 141, 143].

Окрім екзогенних факторів у виникненні пухлин орофарингеальної ділянки величезне значення відіграють ендогенні фактори. До таких факторів відносяться: генні мутації, хромосомні зміни, мікросателітна нестабільність. До внутрішніх факторів належить також «чутливість до раку» індивідуальні особливості генетичної будови та ферментативні (ензимні) особливості організму, здатність організму до ДНК-відновлення, що відіграють роль у чутливості індивідууму до мутацій [56, 69, 80, 193].

Такі фактори, як міжклітинні зв'язки, імуносупресивні та імунопотенціювання, статеві гормони, на сьогоднішній час мало вивчені [56, 69, 132, 193].

Індивідуальні особливості чутливості організму до шкідливих речовин пов'язані з генетичними та фізіологічними факторами та є результатом двох характеристик організму: чутливості до мутації та здатності до відновлення ДНК [69, 120, 132, 193].

Уперше про можливу причину інфекційного агенту на процес виникнення плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки почали писати наприкінці 40-х початку 50-х років у контексті рецидивування плоскоклітинних папілом у рак. Надалі виявили підвищений ризик виникнення орофарингеальних карцином у пацієнток, що хворіють на карциному шийки матки. У той же час виникла теорія малігнізуючого вірусного впливу. У 1983 році вперше були описані закономірні гістологічні зміни багат шарового плоского епітелію при впливі папіломавірусу людини [15, 37, 85, 244].

В останній час було відкрито новий фактор розвитку раку, що зайняв одну з провідних місць у процесі виникнення пухлин – папіломавірус людини (Human papillomavirus, HPV) [15, 50, 85, 103, 104, 110, 111, 159, 180, 202, 206, 234, 244, 269].

Харальд цур Хаузен у 2008 році отримав Нобелівську премію у медицині за проведене ним з 1980 року дослідження вірусної етіології раку. Це одне з революційних відкриттів, що було зроблено у 21 столітті. Важливе значення дане відкриття має для попередження виникнення спровокованих папіломавірус пухлин цервікального каналу та орофарингеальної ділянки. Дане відкриття стало основою для наступних досліджень та винайденню вакцини проти папіломавірусу. За даними дослідження в США (Сполучені Штати Америки), вакцинація населення є ефективним методом запобігання

раку. У вакцинованих групах населення частота раку, викликаного папіломавірусом людини значно зменшилась [15, 99, 102, 195, 198].

На сьогоднішній час відомо в середньому 180 видів папіломавірусу людини, із них 15 видів потенційно можуть бути причиною розвитку раку (табл. 1.1.1). Типи 16, 18, 31, 32, 45 відносяться до групи папіломавірусів з високим малігнізуючим потенціалом (High-Risk-Типен). За результатами досліджень [206] – більш ніж 25% усіх хворих на плоскоклітинну карциному орофарингеальної ділянки були носіями папіломавірусу. За даними інших джерел HPV-16 позитивні карциноми складають від 20 - 90% [15, 108, 110, 117, 145, 146, 180, 202, 206, 234, 269].

У залежності від клінічних проявів, умовно папіломавіруси розподіляють на:

- Папіломавіруси, що переважно вражають шкіру: Тип 1-4;
- Папіломавіруси, що вражають аногенітальну зону: тип 6, 11, 16, 18, 31, 33, 52 [15, 64].

У залежності від ризику виникнення раку, усі види папіломавірусу поділяються на:

- З низьким малігнізуючим потенціалом: 6, 11, 42 - 44.
- З помірним малігнізуючим потенціалом: 33, 35, 39, 51, 52.
- З високим малігнізуючим потенціалом: 16, 18, 31, 45 [15, 64, 269, 277].

Таблиця 1.1.1

Типи папіломавірусу людини та захворювання, що ними викликаються [99]

HPV-типи	Захворювання
HPV 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-21, 47	Верукоформна епідермодисплазія Левандовського-Лютца.
HPV 13, 32	Вірусні папіломи ротової порожнини
HPV 1-4	Папілома звичайна (Verruca vulgaris)

	<i>Продовження табл. 1.1.1</i>
HPV 1, 2, 4	Підошвова папілома (<i>Verruca plantaris</i>)
HPV 3, 10	Підошвова юнацька папілома (<i>Verrucaplantarisjuvenilis</i>)
HPV 7	Папілома м'ясника (<i>butcher's warts</i>)
HPV 6, 11	Гострокінцева конділома (<i>condyloma acuminatum</i>), гігантська гострокінцева конділома (конділома Бушке-Левенштайна), рецидивуючий респіраторний папіломатоз.
HPV 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-21, 47	Верукоформна епідермодисплазія
HPV 6, 18, 33, 45, 52, 58	Інтраепітеліальна неоплазія цервікса, вульви, перианальної ділянки.
HPV 16, 18, 33, 45, 52, 58	Плоскоклітинна карцинома цервіксу
HPV 16	Пеніскарцинома, анускарцином
HPV 16, 18, 33	Карцинома голови та шиї

Аналізуючи результатами дослідження [107] яким було встановлено, що частка пухлин з папіломавірусною інфекцією в ділянці ротової порожнини складає 59%, в ділянці глотки 4%, в ділянці гортані 33%. М. Bouda [94], у власних дослідженнях проводив оцінку здорових тканин, тканин з дисплазією та пухлинних тканин ротової порожнини. У кожного пацієнта забиралось щонайменше 10 проб. Так, у пробах здорової тканини відсоток позитивних на папіломавірус випадків складав до 31%, у пробах з гіперплазією тканин частка позитивних випадків сягала 86%, з важкою дисплазією та плоскоклітинною карциномою кількість позитивних випадків сягала 95%. Аналогічні дослідження були проведені у [106], 61,4% карцином орофарингеальної ділянки, 27,1% доброякісних новоутворень, 26,5%

ерозивних виразок були позитивними на ДНК папіломавірусу, з цієї когорти 86,5% займав вірус папіломи 18-типу. У той же час у здорових осіб у пробах виявлено лише 5,5% позитивних на HPV. При метастатичному враженні лімфатичних вузлів, майже у всіх випадках спостерігається позитивна реакція на HPV [23, 29, 50, 57, 94, 102, 103, 106, 107, 117, 128, 186, 211, 236, 244].

Окрім злоякісних новоутворень, папіломавірус спричиняє інші захворювання, що спричиняють зниження якості життя пацієнта. До таких захворювань належать: аногенітальні, рецидивуючі кондиломи, папіломатоз респіраторного тракту та ін. [31, 99, 244].

Визначення наявності вірусу в пухлині виконується за допомогою, так званого, сурогатного маркеру p16INK4a, що виявляє свою позитивність у вірусних онкогенах mRNA (messenger of ribonucleic acid) E6 (білок E6) та E7 (білок E7). Вірусні онкогени E6 та E7 відповідають за малігнізуючий потенціал вірусу, незважаючи на дані факти самі механізми виникнення пухлин, їх прогресії та метастазування досі невідомі. HPV-позитивні пухлини поводять себе більш агресивно, та метастазують частіше а, ніж пухлини, що не містять вірусу. Попри більш агресивний перебіг HPV-позитивних пухлин, відмічається їхня чутливість до променевої терапії [18, 20, 29, 37, 50, 57, 66, 80, 111, 113, 130, 198, 202, 236].

Одним із факторів виникнення пухлин та їхнього подальшого прогнозу є генетичний. Даний фактор пов'язаний з накопиченням мутацій, локалізованих в онкогенах та в генах супресорах. Так, до нього належать мутації глутадіон-S-трансферази, що має підвищений ризик для виникнення карциноми. До даного фактору належить система генів глутатіон-S-трансфераза, які забезпечують процеси життєдіяльності організму. Пов'язано це з тим, що гени кодують ферменти, які регулюють різні процеси в організмі. Дана система генів приймає одну з найважливіших ролей у детоксикації організму, до того ж вони беруть участь в метаболізмі

стероїдних гормонів, простогландинів, різноманітних лікарських препаратів, тощо [16, 83, 255]. Процес детоксикації в клітині проходить у два етапи:

- Модифікації – збільшення гідрофільності токсичних сполук шляхом приєднання груп по типу - OH, - NH₂, - SH, - COOH (у даному процесі основну роль відіграють ферменти з групи цитохрома P450(CYPs)) [8, 16].

- Конюгації – біотрансформування токсичних речовин у метаболічно інтактні речовини (ферменти, що беруть участь: UDP-глюкороносульфотрансферази (UGTs), сульфотрансферази (SULTs), N-ацетилтрансферази (NATs), глутатіон S-трансферази (GSTs), тіопурин S-трансферази (TPMT) [16, 83, 255].

Наступним етапом всі деактивовані речовини виводяться з організму. Всього в метаболізмі токсичних речовин беруть участь більш ніж 200 ферментів [16, 68, 83, 189].

GSTs одна з найважливіших група ферментів, що візьме участь у детоксикації. GSTs поділяється на декілька класів: альфа (A1-A4), каппа (K1), мю (M1-M5), пі (P1), сігма (Σ), тета (T1,T2), зета (Z), омега (Ω) [16, 83, 189, 255].

Гени, які входять в склад GSTs, розташовані в геномі людини групами, утворюючи кластери, що, вочевидь, пов'язано з еволюційним походженням. Гени утворюючі кластери є гомологами, виникли в результаті дуплікації одного і того гену [68, 77, 189].

У клітині кодуємі генами GSTs ферменти найбільш представлені в цитоплазмі, однак ферменти присутні в ядрах та мітохондріях. Серед органів найбільша скупченість GSTs відмічається в печінці, плаценті, легенях, еритроцитах [83, 189].

Одною з основних особливостей ферментів GSTs - це здатність взяти участь у більш ніж з 3000 токсичними для організму реагентами [68, 83, 189].

Мутація даного гену спричиняє зменшення детоксикаційних можливостей організму, однак за даними літератури, для виникнення карциноми необхідно 6-10 незалежних генетичних одна від одної мутацій. Найчастіше мутації даного гену виникають у наступних хромосомах: 3q, 5q, 8q, 9q, 18q, 21q [68, 77, 88, 189].

Існують, однак, і інші мутації, що можуть відігравати значну роль у виникненні раку. Зміни, що характерні для передракових захворювань, були знайдені в 11q13 регіоні. Ці зміни у 30% асоційовані зі збільшенням протоонкогену *CyclinD1*. Ген *Cyclin D1* відноситься до генів регуляторів клітинного циклу. Даний ген регулює ініціювання синтезу ДНК та перехід клітини з G1 в S стадію. Спочатку він був ідентифікований як ген *bcl-1*. У той же час спостерігається інактивація гена супресора *CyclinD1* у плоскоклітинних карциномах голови та шиї [11, 68, 84, 114, 146, 164, 189, 224, 227, 233].

До інших факторів розвитку карцином в орофарингеальній ділянці належать також: *Ki-ras*, *N-ras*, *Rb*, *p16*, *p21*, *p27* гени, що підсилюються у декілька раз у пухлинах [3, 68, 84, 114, 129, 181].

P16-протеїн кодується геном *CDKN2A* у 9p21 хромосомі більше ніж у 50% пухлин експресія значно зменшена, що має негативне значення та збільшує ймовірність метастатичних уражень та смертності [84, 114, 181, 236].

До генетичних мутацій відноситься також ген *p53*, що локалізується в 17-й хромосомі короткому плечі та кодує ядерний фосфопротеїн *p53*, який відіграє одну з провідних ролей, супресора пухлинного росту та зустрічається у більш ніж половині плоскоклітинних пухлин даної локалізації. Цей білок контролює процеси проліферації та диференціації клітин та за їх допомогою у випадках незворотніх пошкоджень ДНК, призводить до апоптозу клітин. У нормі цей протеїн синтезується у незначних кількостях та швидко розпадається. Мутантні форми *p53*

синтезуються у значно більших кількостях, а період напіврозпаду сягає доби. Втрата функції p53 гену призводить до накопичення мутацій в інших генах та до зниження апоптотичних відповідей [30, 40, 67, 84, 87, 88, 100, 109, 114, 134, 152, 165, 166, 181, 256, 263, 278, 279].

За результатами інших досліджень ризик виникнення пухлин орофарингеальної ділянки значно збільшується з втратою в зонах дисплазії p16 фактору [100, 186].

Одним з останніх факторів, що був відкритий в останній час є EGF (Epidermal Growth Factor Rezeptoren), що активно експресується в 90% пухлинних клітин. Деякі з дослідників відмічають більш гірший прогноз у хворих з пухлинами, що містять рецептори до даного маркера. До цієї групи належать HER-1 (erb-B1), HER-2(erb-B2/neu), HER-3 (erb-B3), HER-4 (erb-B4) [236].

Судинний ендотеліальний фактор росту VEGF (vascularendothelialfactor) – нараховує 6 членів, за даними численних досліджень VEGF-A та VEGF-C регулюють лімфангіогенез та відіграють важливу роль в інвазії та рості пухлини. Гіперекспресія останніх вказує на негативний прогноз [4, 236].

До інших мутацій, що відіграють важливу роль в онкогенезі пухлин, відносяться: PIK3CA, CDKN2A, EGFR, KRAS, EGFR, SYNE1, NOTCH1, FGFR1, GSTM1, GSTT1, BRCA1. [3, 16, 60, 83, 91, 109, 129, 151, 184, 255, 256, 258].

Організми, в основу яких покладено ДНК будову, постійно піддаються впливу ендогенних та екзогенних факторів, що призводять до ДНК пошкоджень. Однак запорукою виживання індивіду є стабільність ДНК структури клітини та спадковість передачі інформації при поділі клітини, дочірнім клітинам. Це можливо завдяки механізму відновлення ДНК, що здатний до визначення місця локалізації пошкодження з послідуочим відновленням структури ДНК. На сьогодні відомо чотири системи ДНК-

відновлення що відбувається за допомогою численних ензимів. Кожна з цих систем відновлює специфічні класи ДНК-пошкоджень, при чому одні й ті ензими можуть брати участь у різних процесах відновлення [4, 91, 192, 253]:

- NER (Nucleotide excision repair);
- MMR (Mismatch repair);
- BER (Base excision repair);
- RR (Recombination repair).

Дефект гену, що кодує певний протеїн, який в свою чергу бере участь у процесах відновлення ДНК, здатний призвести до мутації, генетичної нестабільності та виникнення раку. Дефект гену здатний викликати повну втрату білка, що він кодує з порушенням всієї структури відновлення, чи тільки частково послабити систему відновлення [4, 91, 192].

1.2. Рівень виживання та особливості локалізації плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

Незважаючи на досягнення останніх 30 років у діагностиці та лікуванні у тому числі і плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки рівень 5-тирічного виживання суттєво не змінився [51, 241, 253].

Плоскоклітинні карциноми, що ростуть з плоского епітелію, зустрічаються з різною частотою в орофарингеальній ділянці, однак загалом займають шосте місце по частоті зустрічання. Плоскоклітинні карциноми орофарингеальної ділянки складають 85-95% усіх пухлин даної локалізації, окрім того зустрічаються аденокарциноми, остеосаркоми та хондросаркоми (табл. 1.2.1) [8, 32, 47, 51, 146, 176, 189, 241].

Таблиця 1.2.1

Первинна локалізація пухлин ротової порожнини [93, 137, 146, 196, 212, 216]

Локалізація	Чоловіки	Жінки
Гортань	38,2%	27,8%
Язик	19,1%	22,2%
Орофарингеальна ділянка	11,4%	14,8%
Дно ротової порожнини	10,7%	5,6%
Інші відділи ротової порожнини	20,6%	29,6%
Всього	100%	100%

Як уже описувалось в попередньому пункті, рівень 5 річного виживання сильно відрізняється у пацієнтів з плоскоклітинною карциномою орофарингеальної ділянки і частково залежить від того позитивна чи негативна пухлина до папіломавірусу людини. Так, пацієнти з позитивною реакцією до HPV, мають більш сприятливий перебіг та п'ятирічне виживання. Однією з причин є більша чутливість цих пухлин до променевої

терапії. Інша причина - це неоднорідність пацієнтів цих двох груп. Звернімо увагу на те, що пацієнти, інфіковані HPV входять у більш молодшу групу, що менше страждають на важку супутню патологію. За даними літератури, пацієнти, що страждають на плоскоклітинну карциному з позитивними результатами на HPV, мають нижчий рівень смертності на 53%, та на більш ніж 50% нижчий рівень рецидивів захворювання [1, 8, 32, 92, 93, 105, 111, 113, 217, 241, 267].

В економічно розвинутих країнах, як США існують окремі протоколи лікування для хворих з HPV-асоційованою карциномою орофарингеальної ділянки. За результатами досліджень встановлено, що адювантна променева терапія значно покращує прогнози у даної частини пацієнтів та зменшує кількість метастазів (табл. 1.2.2) [105, 108, 111, 113, 176].

Таблиця 1.2.2

Загальний рівень п'ятирічного виживання та рівень п'ятирічної відсутності рецидивів у хворих на плоскоклітинну карциному орофарингеальної ділянки [1, 113, 137]

Загальний рівень виживання	HPV+	HPV-	Безрецидивний перебіг захворювання	HPV+	HPV-
1 рік	93(82-97)	69(54-79)	1 рік	85(73-92)	52(38-64)
2 роки	89(78-95)	48(34-61)	2 роки	83(70-91)	35(23-48)
3 роки	87(75-94)	41(28-53)	3 роки	81(68-90)	33(21-46)
5 років	82(69-90)	35(23-48)	5 років	78(64-87)	28(17-40)

1.3. Особливості гістологічної та TNM класифікації плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

Основоположником гістологічної класифікації плоскоклітинних карцином був А. С. Broders [28] надалі ця класифікація лягла в основу TNM-класифікації [7, 13, 19, 153, 231, 242], що локалізуються у рофарингеальній ділянці (Рис. 1.3.1).

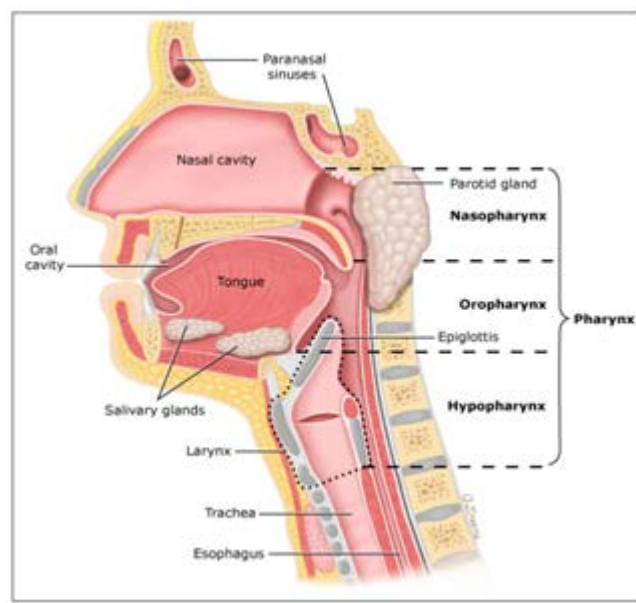


Рис. 1.3.1. Анатомічна будова верхніх дихальних шляхів. Орофарингеальна ділянка, локалізація досліджуваних нами пухлин [177]

За даною класифікацією рівень диференціювання пухлин було розподілено на 5 рівнів:

GX рівень диференціювання не встановлений,

G1 високий рівень диференціювання,

G2 помірний рівень диференціювання,

G3 низький рівень диференціювання,

G4 недиференційована пухлина [7, 153, 221].

Численними дослідженнями було встановлено, що окремо визначення TNM стадії недостатньо для прогнозування перебігу захворювання. Тому

необхідне обов'язкове встановлення гістологічного рівня диференціювання пухлини з визначенням мультифакторальних параметрів. Одна з перших класифікацій, що оцінювала тільки один критерій (монофакторна) належить А. С. Broders [28] – оцінювала виключно рівень кератинізації пухлини. Так, GI – рівень диференціювання високий, -75%-100% клітин диференційовані; GII помірний рівень диференціювання – 50%-75% клітин; GIII низький рівень диференціювання -25% -50% клітин; GIV анапластична пухлина, рівень диференційованих клітин складає 0-25% [19, 153, 163].

До мультифакторальних типів класифікацій рівня диференціювання пухлин відносяться наступні багаточисленні класифікації.

Одна з перших таких класифікацій запропонована Р. А. Jakobson [97], яка оцінювала структуру, тенденцію до кератинізації, абберачії ядер та мітози (табл. 1.3.1) [19, 163].

Таблиця 1.3.1

Гістологічна система градації за Jakobson et al [97]

Гістологічний ступінь диференціації пухлинних клітин				
Популяція пухлинних клітин	Бали			
	1	2	3	4
Структура	Папілярна або солідна	Ниткоподібна	Групи клітин або дрібні тяжі	Відмічаються окремі клітинні скупчення
Диференціація	Високодиференційована з кератинізацією	Помірnodиференційована, з вогнищами кератинізації	Низькодиференційована, з мінімальною кератинізацією	Низькодиференційована, без кератинізації

<i>Продовження таблиці 1.3.1</i>				
Ядерний поліморфізм	Незначне збільшення ядер	Помірна кількість збільшених ядер	Множинні збільшені ядра	Анапластичні ядра
Мітози	Поодинокі	Помірна кількість	Велика кількість	Множинні
Гістологічний ступінь диференціації в залежності від проростання пухлини в прилягаючі тканини				
Характеристики інвазивного росту	Бали			
	1	2	3	4
Форма інвазії	Чіткі межі росту пухлини	Ріст у вигляді окремих тяжів з нечіткою межею	Групи клітин, без чіткого відмежування	Дифузний ріст
Глибина інвазії	Можлива	Мікрокарцинома (поодинокі тяжі)	Вузлові структури в сполучній тканині	Масивна (тотальна)
Судинна інвазія	Відсутня	Можлива	Поодинокі	Множинні
Клітинна відповідь (Лімфо-плазмоцитарна інфільтрація)	Виражена	Помірно виражена	Слабо виражена	Відсутня

Однак дана класифікація мала суттєвий недолік, так результати суттєво різнилися, та залежали від виду матеріалу (операційний чи біопсійний). Наступні класифікації [79] (табл. 1.3.2), [98] (табл. 1.3.3) модифікувавши класифікацію [97] з більшою достовірністю діагностики та за допомогою бальної системи пов'язали загальну кількість набраних балів з виживанням та ймовірністю метастазування [19, 153, 163] на відміну від Jakobsson et al. (табл. 1.3.4) [97]. Також усі кількісні виміри проводяться в HPF (Highpowerfield).

Таблиця 1.3.2

Система градації пухлин Fischer [79]

	Бали			
	1	2	3	4
Диференціація	Значна кератинізація	Незначна кератинізація	Окремі луски	Відсутність кератинізації
Ядерний поліморфізм	Незначний	Помірний	Виражений	Втрата диференціації
Мітози	Поодинокі	Невелика кількість	Помірна кількість	Велика кількість
Строма	Розвинута	Щільна	Пухка	Відсутня
Тип інвазивного росту	Вогнища	Групи	Тяжі	Дифузний ріст
Глибина інвазивного росту	Без інвазії	Мікроінвазія	Інвазія в сполучну тканину	Глибока інвазія

<i>Продовження таблиці 1.3.2</i>					
Інвазія	в	Відсутні	Поодинокі	Невелика	Велика
кровоносні			судини	кількість	кількість
судини				судин	судин
Запальна		Виражена	Помірно	Слабо	Відсутня
відповідь			виражена	виражена	

Наступні класифікації [97] та [46] являються подальшими модифікаціями класифікації [97], не враховувала структуру пухлини та інвазію в судини. Дані класифікації не показали значного зв'язку з рівнем виживання та вірогідністю виникнення метастазів [19, 153, 163].

Класифікація, в якій було нівельовано інвазію в судини та додано оцінку інвазивного фронту пухлини [13], що за дослідженнями М. Врупе [225] відіграє вирішальну роль в місцевому рості пухлини та здатності до метастазування. Автор представив в 1998 році гіпотезу, що морфологічна та молекулярна характеристика переднього фронту пухлини характеризує її краще, ніж решта тканини пухлини. Дана теорія відзначає втрату та перерозподіл молекулярної адгезії, секрецію протеолітичних ферментів, збільшення клітин проліферації саме в інвазивній частині пухлини. Отже, популяція клітин пухлини неоднорідна та складається з різноманітних патернів, деякі з яких мають більше інші менше значення [19, 153, 163].

Таблиця 1.3.3

Система градації пухлин Lund et al [98].

Ознака	Мікроскопічний ступінь			
	Бали			
	1	2	3	4

	<i>Продовження таблиці 1.3.3</i>			
	Зовнішній папіломатоз	Внутрішній папіломатоз	Дрібні ниткоподібні і групи клітин	Одиничні клітинні скупчення
Цитоплазматична диференціація	Висока >50% кератинізовано	Помірна 20-50% кератинізовано	Низька 5-20% кератинізовано	Відсутня кератинізація 0-5%
Ядерна диференціація (Broder's)	Висока >75% зрілих	Помірна 50-75% зрілих	Низька 25-50% зрілих	Відсутня 0-25% зрілих
Мітози	Поодинокі 0-1	Помірна кількість 0-3	Велика кількість 0-5	Множинні >5
Тип інвазії	З чіткими межами	Мікроінвазія	Групи клітин. без чіткої межі.	Дифузний ріст
Глибина інвазії	Підозра на інвазію	З нечіткою межею	Лімфатичні судини	Інвазія за межі підслизовій
Судинна інвазія	Відсутня	Підозра на інвазію	Вузлова, в підслизовій основі	Кровоносні судини
Клітинна відповідь (лімфо-плазмоцитарна)	Виражена	Помірно-виражена	Слабо Виражена	Відсутня

В таблиці 1.3.4 наведено критерії оцінки рівня диференціювання пухлини, що містить: гістологічну структуру, рівень ороговіння, поліморфізм ядер та кількість мітозів. Поряд з тим характеризується також вид інвазії пухлинного фронту та запальна реакція стромы. За результатами морфологічної будови пухлини та відповідно до кількості набраних балів встановлюється рівень диференціювання: G1 пухлини – 4–8 балів, G2 пухлини – 9–12 балів, G3 пухлини – 13–16 балів (табл.1.3.4) [7, 153, 163, 221].

Відповідно критеріям представленими G. Anneroth і M. Bryne 1-а група мала наступну характеристику: рівень ороговіння складає не менше 20%, помірно виражений чи слабкий поліморфізм, пухлина містить зрілих клітин не менше ніж 50%, характеризується ростом солідними полями з чіткими межами, мітози відсутні або до 3-х у полі зору, вираженість запалення коливається від помірного до значного [7, 153, 163, 221].

Група 2. До цієї групи відносяться плоскоклітинні карциноми з не менше ніж 5% ороговіння, поліморфізм ядер помірно виразний, тип росту може бути інфільтративним, дрібними групами клітин, але не менше, ніж 15 клітин у групі. Спостерігається відповідно також помірна кількість мітозів і відсутня або незначна запальна реакція в тканині пухлин [7, 153, 163, 221].

Група 3. До цієї групи належать пухлини з низьким рівнем диференціювання. Група характеризується наступними показниками: рівень ороговіння менш як 5%, або взагалі відсутні ознаки ороговіння. Відмічається виражений поліморфізм ядро у пухлинних клітинах, зрілих клітин не більше ніж 25%, 5 і більше мітозів у полі зору, інвазія відбувається дрібними групами клітин, група містить менше ніж 15 клітин. Запалення зазвичай відсутнє [7, 153, 163, 221].

Гістологічний рівень диференціювання корелюється з прогнозом та рівнем 5-ти річного виживання. Окрім того, важливе значення відіграє первинна локалізація пухлини, глибина інвазії та розмір. Так, при пухлині

язика з I-II стадією по TNM-класифікації, але розміром більш ніж 4 мм, ризик метастазування значно підвищується [7, 150, 153, 163, 221].

Таблиця 1.3.4

Оцінювання рівня диференціювання за методикою G. Anneroth і M. Bryne [13, 225]

Критерій	Кількість балів			
	1	2	3	4
Рівень ороговіння	більше ніж 50 % клітин	20 %–50 % клітин	5 %–20 % клітин	0–5 % клітин
Поліморфізм ядер	більше ніж 75 % зрілих клітин	50 %–75 % зрілих клітин	25 %–50 % зрілих клітин	0–25
Кількість мітозів	0–1	2–3	4–5	>5
Вид інвазії	чітко обмежені краї	інфільтрує солідними полями	дрібні групи або вирости інфільтрувальних клітин (n<15 клітин)	поширені поля дисоційованих клітин у дрібних групах або у вигляді поодиноких клітин (n>15 клітин)
Лімфо-плазмоцитарна інфільтрація	сильне запалення	помірне запалення	незначне запалення	немає запалення

TNM класифікація

Ротова порожнина (ICD-OC00, C02-C06)

TX – первинна пухлина не визначена

T0 – дані про первинну пухлину відсутні

Tis carcinoma in situ

T1 – пухлина з найбільшим розміром до 2 см.

T2 – пухлина більша ніж 2 см, але менша ніж 4 см.

T3 – пухлина більша ніж 4 см, у діаметрі.

T4a – Губи. Пухлина інфільтрує прилеглі структури (кортикальний шар кістки, N. alveolaris inferior, дно ротової порожнини).

T4a – Ротова порожнина. Пухлина інфільтрує через кортикальний шар кістки, зовнішні м'язи язика (m. genioglossus, m. hyoglossus, m. palatoglossus, m. styloglossus), гайморові пазухи, шкіру обличчя.

T4b – Губа та ротова порожнина. Пухлина проростає в жувальні м'язи, крилоподібну пластину, основу черепа, внутрішню сонну артерію.

N – регіональні лімфатичні вузли.

NX – регіональні лімфатичні вузли оцінити неможливо

N0 – відсутні метастази в регіональні лімфатичні вузли

N1 – метастаз в один лімфатичний вузол розміром до 3 см, на стороні пухлини

N2 – метастаз в один лімфатичний вузол розміром 3,1 см, 6 см, на стороні пухлини.

N2b – метастаз в декілька лімфатичних вузлів розміром більш ніж 6 с., на стороні пухлини.

N2c – метастаз з протилежного боку від пухлини або двобічне враження лімфатичних вузлів не більше ніж 6 см.

N3 – метастази в лімфатичні вузли більш ніж 6см.

M-віддалені метастази

M0 – віддалені метастази відсутні

M1 – віддалені метастази [7, 185, 222, 231, 242].

Враховуючи наявність більш ніж 300 лімфатичних вузлів у ділянці голови та шиї, можливо виділити наступні топографічні райони. Так, на даний момент використовують систему визначення рівня метастазування за Robbinsetal, в якому йдеться про 6 рівнів, з яких 3 розподіляються на два підрівня (Ia, Ib, IIa, IIb, III, IV, Va, Vb, VI) (Рис. 1.3.2) [43].

Згідно TNM-класифікації метастази поділяються на регіональні та віддалені. Даною схемою метастази шиї відносяться до регіональних метастазів, всі інші до віддалених метастазів. Зазвичай метастази бувають іпси-, котра- та білатеральні [43, 161, 200].

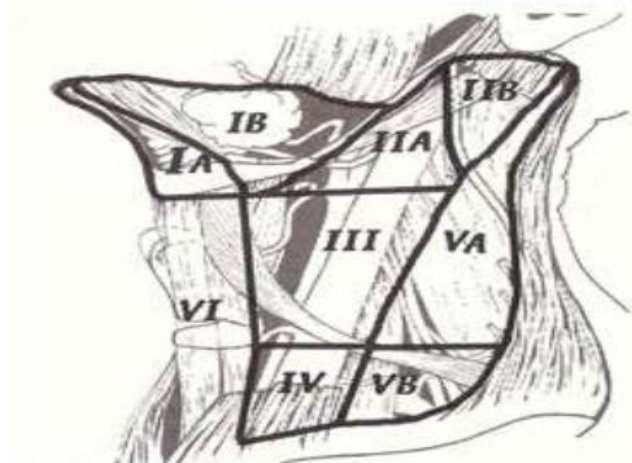


Рис. 1.3.2. Анатомічні рівні локалізації лімфатичних вузлів у ділянці шиї [161, 200]

На основі TNM-класифікації для пухлин різної локалізації було створено стадії (табл. 1.3.5). За допомогою даного методу можливо створювати відносно гомогенні групи пацієнтів для лікування, прогнозування рівня виживання тощо. Клінічні стадії дають змогу лікарю створювати стандарти лікування в залежності від важкості стану пацієнта Б [231, 242].

До передракових новоутворень належать: лейкоплакія та еритроплакія.

Лейкоплакія – утворення слизової оболонки, що має вигляд білої плями, при гістологічному дослідженні визначається гіперкератоз слизової оболонки. Причиною виникнення лейкоплакії можуть бути різноманітні фактори: захворювання шлунково-кишкового тракту, фізичні та хімічні фактори що мають систематичний вплив. При правильній консервативній терапії та виключенні факторів розвитку відбувається повне зникнення лейкоплакії. В іншому разі захворювання з часом прогресує та може трансформуватись у рак [30, 189].

Еритроплакія – захворювання слизової оболонки ротової порожнини, що характеризується виникненням червоної плями. Гістологічно характерна виражена дисплазія епітелію. Ризик виникнення раку становить 0,13-17,5% від причин виникнення та періоду спостереження за хворим [30, 189, 196].

Таблиця 1.3.5

Стадії для пухлин орофарингеальної ділянки

Стадія	TNM-класифікація		
	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T1,T2	N1	M0
	T3	N1,N0	M0
IVA	T1,T2,T3	N2	M0
	T4a	N0,	M0
IVB	Будь-який T	N3	M0
	T4b	Будь-який N	M0
IVC	Будь-який T	Будь-який N	M1

1.4. PET/CT діагностика

PET/CT діагностика – метод, що ґрунтується на порівнянні двох методів комп'ютерної томографії та позитронно-емісійної томографії [52, 203, 268].

Так, комп'ютерна томографія - це метод діагностики, що полягає в використанні рентгенівського випромінювання, відомого вже понад 100 років. Даний метод вперше застосував під час роботи з катодною трубкою Вільгельм Конрад Рентген в 1895 році та назвав невідомі на той час промені X-промені [79, 154].

Звичайне рентгенівське зображення значно обмежене, що пов'язано з проекцією зображення на плівку, та створенням двовимірної картини. Ці зображення органів, кісток, тканин, накладаються одні на інші, що призводить до зниження чіткості зображення. Тому дрібні утворення не будуть верифіковані. Одним із способів зменшити дані перешкоди, це виконати рентгенограму у декількох проекціях, недоліком є значне підвищення рентген-навантаження на організм [59, 79, 154, 158, 203, 268].

Комп'ютерна томографія - неінвазивний метод пошарового дослідження органів та тканин організму людини. Був запропонований Годфрі Хаунсфілдом і Аллфном Кормаком, для дослідження головного мозку, та за даний винахід були нагороджені Нобелівською премією. Формула (1.4.1.) для розрахунку одиниць Хаунсфілда. Метод базується на комп'ютерному алгоритмі обробки зменшення інтенсивності рентгенівського випромінювання при проходженні тканин різної щільності. Для визначення було створено шкалу Хаунсфілда, в якій рентгенологічну щільність дистильованої води було прийнято за 0 [44, 59, 79, 135, 154, 158, 178, 259].

$$HE = \frac{\mu(\text{Об'єкт}) - \mu(\text{Вода})}{\mu(\text{Вода})} \times 1000 \quad (1.4.1)$$

Основними перевагами КТ (комп'ютерна томографія) є можливість отримання томографічних неінвазійних зрізів товщиною до 1 мм. Це стало можливо завдяки мультиспіральній комп'ютерній томографії (МСКТ), що полягає в обертанні рентгенівської трубки навколо пацієнта та за допомогою багаторядних детекторів створення томографічних зрізів. Сучасні апарати МСКТ (мультиспіральна комп'ютерна томографія) дають змогу створювати одночасно від 2 до 256 зрізів. Даний метод дозволяє, особливо з внутрішньовенним контрастуванням, виявляти патологічні вогнища діаметром до 3 мм, та оцінювати ступінь поширеності процесу. За допомогою комп'ютерних програм даний метод дозволяє неінвазивно оцінювати внутрішні поверхні порожнистих органів, кишок, сечового міхура, серця, на предмет різноманітних дефектів, та створювати їх віртуальні тривимірні проєкції (табл. 1.4.1). КТ – є стандартизованим методом тому результати досліджень можна порівнювати, переглядати та оцінювати в динаміці та на різноманітних КТ-апаратах [41, 71, 209, 240, 259, 268].

Таблиця 1.4.1

Щільності КТ різних тканин Хаунсфілда [49]

Тканина	Щільність [HE]
кістка	+1000
нирки	50 - 70
жирове переродження печінки	20 - 40
печінку	50 - 60
паренхіми. органи	40 - 70
кісти	10 - 20
вода	0
жирова тканина	-100 до -200

<i>Продовження таблиці 1.4.1</i>	
легенева тканина	-600 до -700
повітря	-1000

Позитронно-емісійна томографія відноситься до методів ядерної медицини та використовує радіофармпрепарати, які містять ультракороткоіснуючий радіонуклід, що дає змогу зменшити променеве навантаження на пацієнта, адже препарат розпадається ще під час дослідження пацієнта. До того ж такі елементи, як ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , котрі входять до сполук, що бере безпосередню участь у всіх біологічних процесах організму, тому за допомогою даного методу можливо дослідити будь-який процес організму, потрібно лише підібрати речовину, що візьме безпосередню участь в цьому процесі та помітити її радіоактивним радіонуклідом. Таким чином, помічена радіонуклідом речовина з током крові поширюється по судинному руслі, міжклітинних просторах, накопичуючись у місцях найбільшої своєї концентрації, що дає можливість оцінити рівень накопичення [41, 71, 116, 218, 235, 260, 268].

Метод PET базується на здатності радіоактивних ізотопів брати участь у фізіологічних процесах організму, як і не радіоактивні. У сучасній діагностиці найбільшого поширення має ^{18}F фтордезоксиглюкоза, що метаболізується по шляху звичайної глюкози, період напіврозпаду даного ізотопу складає 110 хвилин (Рис. 1.4.1). Цього часу достатньо для того, щоб речовина розчинилася у рідинах організму і частково накопичилася в найбільш глюкоз-споживаючих тканинах людського організму. Під час розпаду даного ізотопу відбувається звільнення енергії у вигляді вільного позитрону, шлях відповідно якого у тканинах приблизно складає 3-4мм та закінчується вивільненням двох гамма-квантів або фотонів при зіткненні з електроном, при цьому відбувається вивільнення енергії 511 кЕв. Кванти або фотони завжди розлітаються під одним кутом $180^{\circ} \pm 0,4^{\circ}$. Датчики, що розташовані по колу пацієнта, фіксують фотони та за допомогою

математичної моделі обробки отриманої інформації, та надають можливість встановити точне розташування координат розпаду та кількість ізотопів [61, 194, 213, 214, 218, 266, 268].

Уперше даний метод описав Георг де Хевеши в 1924 році, на рослинах бобових, які він розміщував у розчин солей свинцю, певний відсоток з яких включав радіоактивний ізотоп. У подальшому він спостерігав за алгоритмом розподілення радіоактивного ізотопу по тканинах рослини за допомогою лічильника Гейгера [203].

Якщо решта методів діагностики, такі як ультразвукове дослідження, магнітно-резонансна томографія та комп'ютерна томографія, рентгенографія, досліджують структурні зміни, які вже відбулись під час хвороби, то при ПЕТ досліджуються ті процеси, що передують структурним змінам, та є їхньою причиною [116, 235].



Рис. 1.4.1. Позитронно-емісійний томограф [112]

Основним недоліком ПЕТ є бідна анатомічна картина, що сильно утруднює визначення точної локалізації процесу [182, 268, 272].

Ера PET/CT діагностики розпочалась в 90-і роки. Цей метод включає дві методики: позитронно-емісійна томографії та комп'ютерної томографії.

Поєднання цих двох методів дає можливість не тільки виявити пухлину, завдяки накопиченню радіоактивного компонента, але й вказати точну анатомічну локалізацію пухлини. Для цього виконуються одночасно два дослідження ПЕТ та СТ, програмне забезпечення суміщає два зображення, та дає змогу одночасно отримати анатомічну будову досліджуваної ділянки та метаболічні процеси, що проходять [22, 70, 171, 204, 230, 268, 272, 276].

Перший PЕТ/СТ-Tomographen, як прототип був запущений у травні 1998 року в місті Піцбург. У наступні два роки він поширився на весь світ (Рис. 1.4.2) [22, 118, 119, 182, 209, 230].



Рис. 1.4.2. Philips Gemini PЕТ/СТ-Systemseries C [147]

Дана методика набула широкого застосування в онкології, під час первинної діагностики новоутворень, рецидивів, метастазів, залишків пухлини після оперативного лікування. Також успішно застосовується ця методика при: не визначеному за локалізацією запальному процесі, підозрі на остеомієліт, температурі невідомої етіології [36, 42, 58, 63, 138, 170, 208, 276].

У даної методики є декілька переваг:

- вона має високу чутливість,
- має високу специфічність,
- розчин, що використовується, є біологічно-активним,
- не впливає на процеси досліджуваного організму,

- не має токсичного впливу на пацієнта.

Велике значення в діагностиці та оцінюванні рівня диференціювання будь-якого новоутворення відіграє метаболічна активність, що є важливою складовою діагностики. Окрім того, рівень метаболічної активності відіграє велику роль у виборі тактики лікування хворих на рак [53, 71, 246, 268, 276].

1.5. Визначення рівня проліферативної активності пухлин у залежності від рівня диференціювання

Гістологічно плоскоклітинні карциноми орофарингеальної ділянки за рівнем диференціювання бувають: високодиференційовані, помірнодиференційовані, низькодиференційовані. Virізнять також субтипи плоскоклітинної карциноми у залежності від гістологічних структур, що утворює пухлина та кодуються окремими ICD-O-Code (International Classification of Diseases for Oncology) кожен (табл. 1.5.1) [205, 265].

Таблиця 1.5.1

Гістологічні субтипи плоскоклітинних карцином [205]

Субтипи	Рівень диференціювання	ICD-O-Code
Звичайний тип	G1-G3	8070/3
Верукозна карцинома	G1	8050/3
Папілярна карцинома	G1	8051/3
Норицевий тип	G1	8051/3
Базальноклітинний тип	G3	8083/3
Веретинovidний тип	G3	8074/3
Акантолітичний тип	G3	8075/3
Аденосквамозний тип	G3	8560/3

Окрім того для визначення рівня диференціювання використовують іммуногістохімічні маркери Ki-67 та pHH3 [21, 33, 167, 190, 264].

Маркер Ki-67 доволі давно відомий, вперше почав використовуватись у 1983 р., його винахідником J. Gerdes, для дослідження в периферичній крові лімфоцитів, макрофагів, та використовується на свіжозаморожених тканинах. У зв'язку з низькою якістю результатів на нативних матеріалах не здобув

широкого поширення, а у зв'язку з проблемами демаскування антигенів після фіксування матеріалу у спирті чи формаліні використання маркера було неможливе. На початку 90-х почали використовувати даний маркер для градуювання пухлин. Варто зазначити, що перші спроби були для градуювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, визначення метастазів у лімфатичні вузли, Т-статусу та рівня виживання пацієнтів [2, 21, 27, 33, 179, 264, 273].

Кі-67 відноситься до моноклональних ядерних маркерів, що є позитивним у наступних фазах клітинного циклу: G1A, G1B, S, G2, а також безпосередньо у фазу М-мітозу (Рис. 1.5.1). Водночас, даний маркер негативний у G0, G1T, G1a, G1b. У сучасній патофторфології та діагностиці даний маркер використовується для визначення кількості клітин, що проліферують та входить у стандартну панель для діагностики пухлин (табл. 1.5.2). Вирізняють дві ізоформи даного антигену 345 та 395 kDa [12, 14, 75, 76, 219, 226, 264].

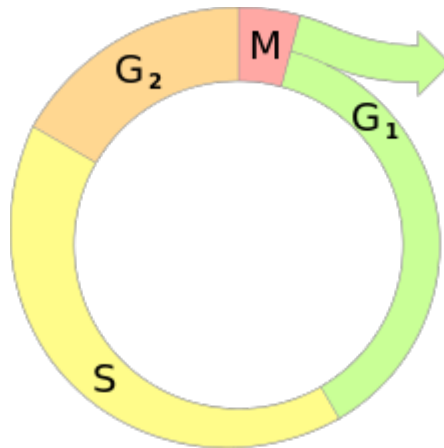


Рис. 1.5.1. Схема клітинного циклу. М-фаза мітозу, після інтерфази насупають фази G1, S, та G2 фази [248]

Перші дослідники почали використовувати маркер Кі-67 для визначення рівня диференціювання пухлин. На початку 90-х дослідники на прикладі плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, визначили

закономірність між рівнем проліфераційного маркера в пухлині та ризиком виникнення ранніх метастазів у лімфатичні вузли, а також рівнем п'ятирічного виживання пацієнтів [76, 95, 188, 220, 223, 229].

Таблиця 1.5.2

Активність маркерів pHH3 та Ki-67 в різні фази мітозу [14, 239]

Фази клітинного циклу	pHH3	Ki-67
G0-фаза	-	-
Інтерфаза		
G1-фаза	-	+
S-фаза	-	+
G2-фаза	-	+
Фази мітозу		
Профаза	+	+
Метафаза	+	+
Анафаза	+	+
Телофаза	+	+

Останнім часом у пошуках нового маркера для визначення рівня мітозів, почали використовувати pHH3. Недивлячись на те, що маркер відомий вже понад 20 років, тільки в останній час його почали розглядати як потенційний прогностичний маркер при пухлинах. На даний час pHH3 тільки почав використовуватись, як новий стандарт при деяких пухлинах при імуногістохімічному дослідженні. Ведуться розробки для визначення злоякості карцином молочної залози, простати, яєчників, шкіри за допомогою даного маркера [14, 86, 125, 136, 167, 173, 174, 183, 190, 207, 228, 238, 254].

РННЗ використовується для визначення мітотичної активності пухлин, визначаючи серед апоптотичних ядер залишку лізованих ядер та справжні мітози. Даний маркер може бути використаний як первинне чи вторинне антитіло при імуногістохімічному дослідженні [14, 86, 75, 76, 167, 168, 174, 183, 190, 239, 254].

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ

При роботі з зарубіжними та вітчизняними джерелами інформації, що були опубліковані в період з 1984 по 2020 роки, дозволим нам виявити ряд питань, котрі на сьогоднішній день залишаються вирішеними не в повному обсязі.

Насамперед, у літературі відсутнє висвітлення кореляційних зв'язків між позитронно-емісійною томографією з комп'ютерною томографією та гістологічними особливостями утворень орофаренгіальної ділянки, а саме - плоскоклітинних карцином. Також відсутній міждисциплінарний підхід у проблемі діагностики орофаренгіальних плоскоклітинних карцином, що може впливати на прогноз, об'єм та тактику лікування пацієнтів з даною патологією.

По-друге, нами було розглянуто літературні джерела в яких висвітлювалось порівняння імуногістохімічного маркера Ki-67 і pHH3 та були виявлені чіткі переваги останнього. Маркер Ki-67 застосовується для визначення мітотичної активності ще з середини минуло століття, що не дозволяє в повній мірі визначати мітотичну активність популяції пухлинних клітин, так як його експресія можлива на всіх стадіях мітотичного циклу, тоді як pHH3 дає нам змогу чітко виявити дійсно мітотично-активні клітини плоскоклітинних карцином, що знаходяться лише в M-стадії. За даними сучасної літератури pHH3 використовується у злоякісних новоутвореннях різної локалізації та дає чіткі дані про мітотичну активність утворень, що в майбутньому може бути використане для формування сучасних класифікацій та прогностичних критеріїв для пацієнтів.

Як підсумок визначення метаболічної активності пухлин та її кореляція з гістологічною картиною. На наш погляд, який сформований на підставі вивчення літературних джерел та підтверджений власними спостереженнями доводить, що із зниженням рівня диференціювання злоякісних плоскоклітинних новоутворень процеси пухлинного обміну зростають, тобто

має місце прямий пропорційний зв'язок метаболізму 18-F фтордезоксиглюкози, показник максимального накопичення якої (SUVmax) визначений методом позитронно-емісійною томографією з комп'ютерною томографією із морфологічними даними та є критерієм визначення злякисності, котрий дозволить більш об'єктивно оцінювати прогноз онкологічного захворювання, підібрати відповідну лікувальну тактику та подальшу реабілітацію хворого.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Аналіз клінічного матеріалу плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Робота виконана в патологоанатомічному та діагностичному відділеннях військового госпіталю Бундесверу (м. Ульм, Німеччина).

Для досягнення мети та вирішення завдань нашої дисертаційної роботи було проведено обстеження 121 пацієнта, що пролікувались у госпіталі з 1 травня 2012 р. по 1 січня 2015 р. та були прооперовані з приводу карциноми орофарингеальної ділянки, мали встановлений гістологічний діагноз – плоскоклітинна карцинома, з відповідним визначенням рівня диференціювання.

Верифікацію діагнозу проводили з використанням лабораторних та інструментальних методів згідно з рекомендаціями *Німецької асоціації раку (Deutsche Krebsgesellschaft)* [124].

Проведення нашого дослідження ґрунтувалось на засадах етичних принципів щодо наукових досліджень із включенням людей (Гельсінська декларація) [261] та положень рекомендацій належної клінічної практики (GCP – good clinical practice) [160].

У нашому дослідженні взяло участь 20 жінок (16,5 %) та 101 чоловік (83,5 %), віком від 35 до 95 років, середній вік 66 років. Згідно отриманих даних (Рис. 2.1.1), найбільша кількість пацієнтів (90%) була у віці 50-80 років, при цьому переважали обстеження чоловічої статі. Це відповідає загальносвітовій тенденції статевого розподілу цієї патології. Наукове товариство [38, 54, 65, 117, 122, 127, 149, 159, 178, 187, 192, 199, 215] цей факт пояснює тим, що переважна кількість курців – це чоловіки, а тютюнопаління займає перше місце в етіології плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

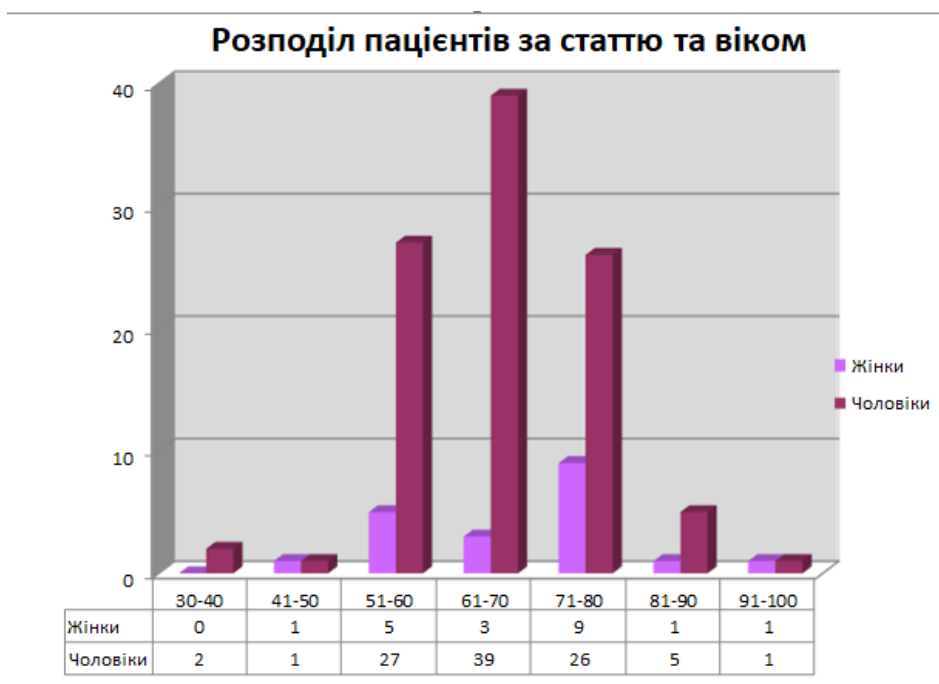


Рис. 2.1.1. Розподіл обстежених (n=121) за статтю та віком

У нашій роботі всі обстежені були розподілені на три групи, залежно від рівня диференціювання новоутворення.

До першої групи (**G1**) обстежених пацієнтів увійшли 22 пацієнта (18,2 %) з **високодиференційованим** варіантом плоскоклітинної карциноми, що мали наступні властивості: рівень ороговіння в тканині пухлини не менше ніж 20 %, незначний чи помірно-виражений поліморфізм, не менше 50 % зрілих пухлинних клітин, із ростом солідними полями. У тканині пухлини відмічалася незначна кількість мітозів – від 0 до 3 в одному полі зору, допускалося виражене чи помірне запалення.

У другу групу (**G2**) пацієнтів увійшли 45 осіб, що склало 37,2 % загальної когорти. Обстежені другої групи мали **помірнодиференційований** варіант плоскоклітинної карциноми з рівнем ороговіння, що не перевищувала 5 %, зрілих клітин пухлини не менше ніж 25 %, помірновираженим поліморфізмом ядер пухлинних клітин, можливий інфільтративний ріст дрібними групами клітин, але, що не перевищує, 15 клітин у групі. Відмічається також помірна кількість мітозів та незначна або взагалі відсутня

запальна реакція.

У пацієнтів третьої групи (**G3**) загальною кількістю 54 особи, що склало 44,6% обстежених, відмічається **низький рівень диференціювання** досліджуваних пухлинних тканин. До данної групи належать пухлини, що мають незначний рівень ороговіння, виражений поліморфізм ядер (менше ніж 25 % зрілих клітин), кількістю мітозів 5 та більше. Інвазія пухлини відбувається дрібними групами клітин менше, як 15 клітин та поодинокими клітинами, запалення переважно відсутнє.

2.2. Гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

Матеріал надходив до лабораторії не пізніше ніж через 4-ри години після оперативного втручання, був представлений тканиною пухлини, що була фіксована у 10% нейтральному забуференому формаліні виробництва Diapath (Італія) з рН 7,4. Співвідношення формаліну до матеріалу було відповідно не менше ніж 1:10. Після отримання шматочки промивали в проточній воді, вирізали шматочки максимальною товщиною до 0,3 см, та розміщували у гістологічні касети, що були марковані відповідно пацієнтів. Касети розміщувалися у вакуумному автоматичному гістологічному процесорі Leica biosystems (ASP6025) на 14 годин. Прилад розрахований для одночасного розміщення 300 касет з біоматеріалом, об'єм резервуару для матеріалу 5 літрів. Температурний режим парафіну 50⁰ С - 65⁰ С, температурний режим для витратних реактивів 50⁰ С – 67⁰ С. Загальна кількість ємностей для реактивів 15, та 1 ємність для конденсату.

Протокол для проведення матеріалу був стандартизований для обробки операційного матеріалу з дофіксацією в гістологічному процесорі. Дофіксація в зв'язку з наявністю в матеріалі жирової тканини виконувалась протягом 90 хвилин при температурі 37⁰ С. Наступний етап - промивання дистильованою водою протягом 5 хвилин. Експозиція в 6-и спиртах етанолу починаючи з 70%, 80%, 95%, та закінчуючи останніми 3-ма 100% відбувалась відповідно протягом 1 години кожен. Температура усіх спиртів була сталою 45⁰С. Наступні 3-и етапи відбувались також протягом 60 хвилин кожен з експозицією в ксилолі, з температурою 45⁰ С. Останні три етапи було перебування матеріалу в парафіні, в першій та другій ємності по 60 хвилин, в останній 90 хвилин, температурний режим був 65⁰ С. Під час роботи в гістологічному процесорі використовувалися наступні реактиви: забуферений формалін виробництва Diapath (Італія) з рН 7,4; замітник

ксилолу Diasolv Diapath (Італія); парафін гістологічний Leica Surgipath Paraplast Regular.

Наступного дня виконувалась заливка матеріалу в гістологічні касети Leica, Germany. Заливка матеріалу виконувалась на станції для заливки Leica biosystems EG1150 H, Germany. Прилад складається з ємності для парафіну на 3 літри, ємності для касет місткістю 100 шт, ємність для заливних форм на 50 шт, робочої поверхні, панелі з охолодженням, підсвітки та пінцету.

Маркування касет виконувалось на Sakura AutoWrite® Cassette Printer, Японія, розширення друку 360 dpi, фарба наноситься на поверхню касети, фіксується спалахом високовольтної лампи. Фарби стійкі до реагентів, що використовуються в лабораторії. Можливі додаткові примітки наносились незмивним олівцем. Місткість принтеру 6 магазинів з вертикальним завантаженням по 80 касет у кожному. Швидкість друку по 10 секунд на касету.

Маркування предметних скелець виконували на Sakura AutoWrite® Slide Printer, Японія, розширення друку 300 dpi, фарба наноситься на поверхню скельця та фіксується спалахом високовольтної лампи. Фарби стійкі до реагентів, що використовуються в лабораторії. Можливі додаткові примітки наносились незмивним олівцем. Принтер оснащений 3-ма магазинами по 150 предметних скелець в кожному, швидкість друку до 15 скелець у хвилину в автоматичному режимі та до 6 скелець у хвилину в ручному режимі.

Час холодного старту приладу 4 години для нагрівальних елементів та 1 година для поверхні, що охолоджується. Температурний режим нагрівання ємності для парафіну та поверхонь для нагрівання мав широкий діапазон від 55⁰ С до 70⁰ С нами був використаний режим 60⁰ С, враховуючи використання парафіну по-типу Leica Surgipath Paraplast Regular, Germany.

Панель для охолодження містилась безпосередньо на робочій поверхні приладу. Для розміщення зразку заливна форма разом із зразком

заповнювалась парафіном на третину, під час охолодження на панелі, парафін змінював свою в'язкість перетворюючись на в'язку рідину, в якій і виконувалась кінцева орієнтація зразку, після чого форма заповнювалась повністю.

Гістологічні зрізи 4 мкм., товщиною здійснювали на HM 355S, Thermo Fisher Scientific Inc., Walldorf, Germany, ротаційному мікротомі.

Забарвлення виконували в автоматі Ventana BenchMark (Ventana Medical Systems, Ventana, USA), з максимальною пропускною здатністю 600 скелець, мінімальною 200 скелець (табл. 2.2.1). Загальна кількість ємностей з реактивами 18, з об'ємом реактивів 450 мл., максимальна кількість промивних ємностей 5. Максимальна кількість тримачів для предметних скелець 11, один тримач здатний розмістити 30 скелець. Прилад оснащений термокамерою для депарафінізації зрізів з регульованою температурою від +30⁰ С до +65⁰ С та регулюванням часу інкубації від 0 до 99 минути 59 секунди. Окрім 15 програм з максимальною кількістю етапів 25, в приладі передбачена можливість введення власних програм.

Таблиця 2.2.1

Рекомендований виробником протокол забарвлення гематоксиліном та еозином.

Етап	Реактив	Станція	Час
1		Термокамера	10хв.
2	Ксилол	1	2хв.
3	Ксилол	2	2хв.
4	Спирт 100%	3	2хв
5	Спирт 90%	4	2хв.
6	Спирт 70%	5	1хв.
7	Промивне середовище	Промивна станція 1	2хв
8	Гематоксилін	6	5хв.
9	Промивне середовище	Промивна станція 2	2хв.

<i>Продовження таблиці 2.2.1</i>			
10	Спирт з соляною кислотою	7	0,02хв
11	Промивне середовище	Промивна станція 3	3хв.
12	Середовище по Скотту	8	3хв.
13	Промивне середовище	Промивна станція 4	3хв.
14	Еозин	9	2хв.
15	Спирт 95%	10	0.30хв
16	Спирт 100%	11	2хв.
17	Спирт 100%	12	2хв.
18	Спирт 100%	12	2хв
19	Ксилол	14	----

Нами була використана рекомендована виробником програма для забарвлення гематоксиліном та еозином, що складалася з 19 етапів. На першому етапі після розміщення предметних скелець на тримачі, тримач встановлюється в висувний ящик приладу. Після звукового та світлового сигналу розпочинається програма забарвлення. Перший етап передбачав перебування зрізів у термокамері протягом 10 хвилин, після чого двічі матеріал переміщувався в ємності з ксилолом по 2 хвилини в кожні 4, 5, 6 етапи переміщувався у низхідних концентраціях ізопропілових спиртів 100%, 90% та 70% по 2 хвилини в кожному, після чого відбувалося промивання у промивній станції протягом 2 хвилин. Наступним етапом виконували забарвлення гематоксиліном на протязі 5 хвилин з наступним промиванням у промивному середовищі, та двох секундним зануренням в 1% спиртовий розчин соляної кислоти, та повторним промиванням. На етапі 12 відбувалась фіксація матеріалу в середовищі по Скотту протягом 3-х хвилин з послідуєчим промиванням в промивному середовищі протягом 3-х хвилин. Етап 14 забарвлення зрізів еозином протягом 3хв. На завершальних етапах 15-18, виконувалось переміщення матеріалу у зростаючих концентраціях

спиртів по 30 секунд та тричі по 2 хвилини з остаточним розміщенням матеріалу в ксилолі.

Покриття предметних скелець виконувалось на Coverslipper RCM 7000 фірми SMT Gerätehandel GmbH, Germany, автоматична програмована станція для заключення гістологічних зрізів за допомогою монтуючого середовища Sub-X Leica Biosystems і покриття покривними скельцями. Працює зі стандартного розміру покривними скельцями 24x40, товщиною в діапазоні 0,12 - 0,17, можлива кількість скелець для завантаження 200. Приймає тримачі від автоматів для забарвлення, кількість предметних скелець для завантаження 60. Час потрібний для покриття одного скельця 8 - 14 секунд, за годину продуктивність 350 скелець. Місткість контейнеру для монтуючого середовища 500 мл. У приладі існує можливість регулювати об'єм монтуючого середовища від 0,04 мл, до 0,2 мл, з в'язкістю від 80 до 800СР.

Усій когорті пацієнтів з метою визначення рівня диференціювання карцином, було виконано імуногістохімічне дослідження (ІГХД). Нами було застосовані моноклональні антитіла Ki67 готові до використання (мишачий анти-Ki-67 антиген, моноклональний, Clone MIB-1, Systems GmbH-Berlin, ZYTOMED, Germany), готові до використання антитіла рНН3 (Clone BC37, кролячий поліклональний антиген, Biocare Medical Inc, 4040 Pike Lane, Concord, CA 94520, USA).

Маркер Ki-67 належить до моноклональних ядерних маркерів, що є позитивним у таких фазах клітинного циклу як: G1A, G1B, S, G2 та також безпосередньо позитивний в фазу М-мітозу. Одночасно даний маркер є негативним у G0, G1T, G1a, G1b. В сучасній патоморфології та діагностиці даний маркер використовується для визначення кількості клітин, що проліферують та входить в стандартну панель для діагностики пухлин та доброякісних новоутворень [12, 14, 75, 76, 219, 226, 264].

Фосфогістон НЗ (pHH3) використовується для встановлення мітотичної активності пухлин, визначаючи серед апоптотичних ядер, залишки лізованих ядер, справжні мітози [14, 75, 76, 86, 167, 168, 174, 183, 190, 239, 254].

Також для дослідження запального інфільтрату стромы пухлини, було проведено визначення фенотипів лімфоцитів: Т-лімфоцитів - CD3 (2GV6) Моноклональне кроляче антитіло, готове для використання (Ventana Medical Systems, USA) та В-лімфоцитів CD20 (L26) щуряче моноклональне антитіло, готове для використання (Ventana Medical Systems, USA). Застосування ІГХД методу для визначення фенотипу клітинного інфільтрату було проведено для порівняння з результатами ПЕТ/КТ дослідження задля визначення максимальної метаболічної активності пухлини.

Проведення забарвлення обраних нами антитіл виконували в автоматі Ventana BenchMark XT (Ventana Medical Systems, Ventana, USA) Прилад призначений для автоматичного забарвлення гістологічних та цитологічних скелець імуногістохімічними реагентами. Основними складовими приладу є карусель для реагентів, система електроприводів та система подачі та дозування реактивів, два сканери зчитування штрих-кодів, мікрокомп'ютер. Карусель для реагентів розміщує в собі 35 дозаторів для реагентів в п'яти лотках. Прилад здатний одночасно забарвлювати до 30 предметних скелець. Кожному штрих-коду на скельці відповідає певний протокол забарвлення. Карусель для реагентів обертається згідно з заданим інтервалом часу, проходячи над склом запускає функцію відповідно закладеного в програму протоколу. Кожна з позицій для предметного скельця оснащена ThermoPad з індивідуальним керуванням температурного режиму згідно вибраної програми. У приладі використовувались виключно предметні скельця Superfrost Plus 25x75 мм, та 26x76 мм, з електростатичним покриттям, для зрізів тканин.

Депарафінізація та регідратація виконувалась по стандартній методиці за допомогою експозиції в ксилолі, 96% спирті та дистильованій воді.

Наступним етапом виконувалась обробка предметних скелець Neg Buffer M в супроводі термічної підтримки протягом 20 хвилин. Після охолодження матеріалу до кімнатної температури, виконувалась промивка ТРИС-буфером з Tween 20. Після чого наносився пероксидазний блок Hydrogen Peroxide Block, згідно рекомендацій експозицією 10 хвилин. Повторна промивка ТРИС-буфером з Tween 20. Для зменшення фонового забарвлення використовувалось нанесення Ultra V block на 5 хвилин, з наступним промиванням ТРИС-буфером з Tween 20. Наступним етапом було нанесення первинного антитіла KI-67, рННЗ, CD3, CD20 терміном до 20 хвилин, з наступним промиванням ТРИС-буфером з Tween 20. Для підсилення експресії первинного антитіла використовували UltraVision Quanto amplifies з експозицією 10 хвилин, та промиванням в ТРИС-буфері з Tween 20. Одним з завершальних етапів було інкубація в DAB-коктейлі (DAB Chromogen Quanto + DAB Substrate Quanto) протягом 5 хвилин, з наступним промиванням дистильованою водою. Дофарбовування матеріалу виконувалось гематоксиліном Маєра протягом 90 секунд, з наступною обробкою дистильованою водою, спиртовим розчином соляної кислоти та середовищем по Скотту. Покриття предметних скелець виконувалось на Coverslipper RCM 7000 фірми SMT Geraetehandel GmbH, автоматичній програмованій станції для дослідження гістологічних зрізів за допомогою монтуючого середовища Sub-X Leica Biosystems і покриття покривними скельцями.

Світлова мікроскопія була виконана на мікроскопі Leica DM 6000 B, Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar обладнаний x5, x10, x20, x40, x100 об'єктивами.

Підрахунок позитивних та негативних клітин при дослідженні рівня проліферативної активності за допомогою імуногістохімічного маркера Ki-67 виконувалось при збільшенні 400, на мікрофотографії відмічалися окремими позначками клітини з позитивним та негативним забарвленням з наступним підрахунком у відсотках позитивних клітин (Рис. 2.2.1. та Рис. 2.2.2).

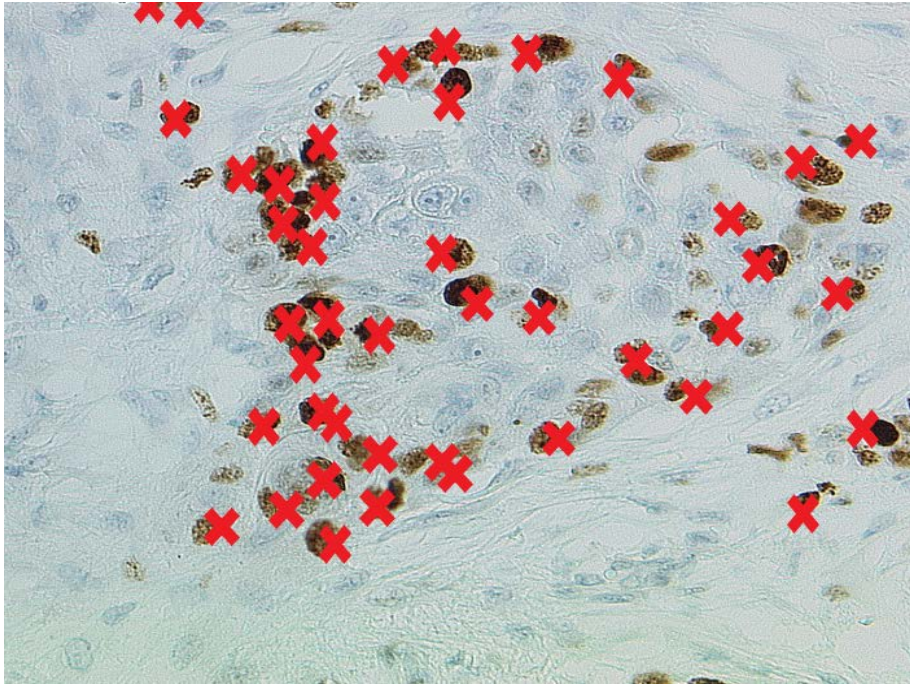


Рис. 2.2.1. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, реакція з Ki-67: Позитивна реакція в 40% клітин, відмічені відповідною позначкою. Збільшення x400

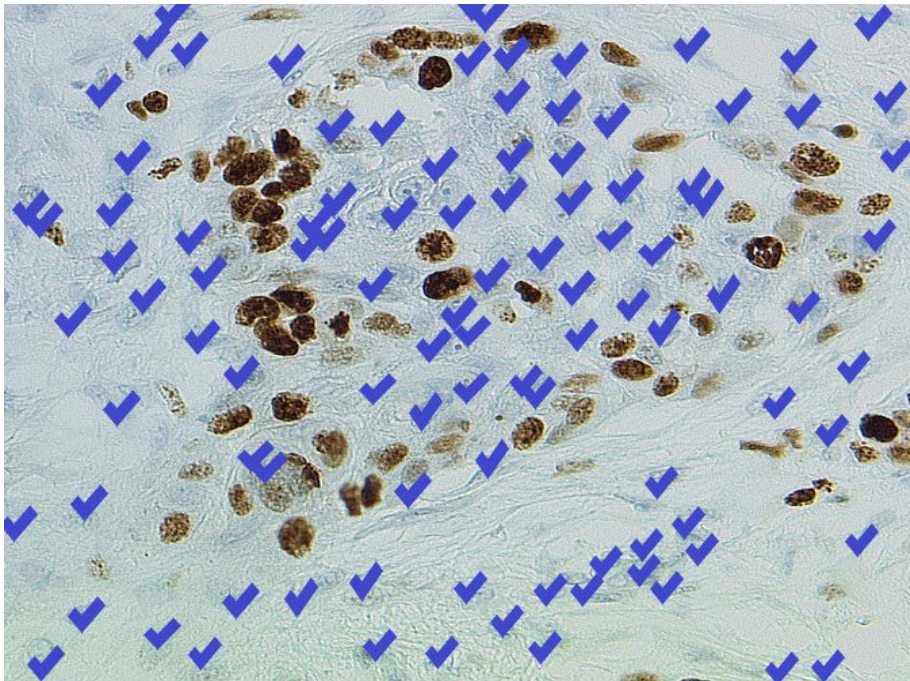


Рис. 2.2.2. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, реакція з Ki-67: Позитивна реакція у 40% клітин, відмічено клітини з негативною реакцією. Збільшення x400

В протилежність Ki-67 при визначенні реакції з рННЗ визначалось кількість позитивних клітин в 10 полях зору при збільшенні 400. Число було абсолютне та не потребувало визначення відсоткового співвідношення (Рис. 2.2.3).

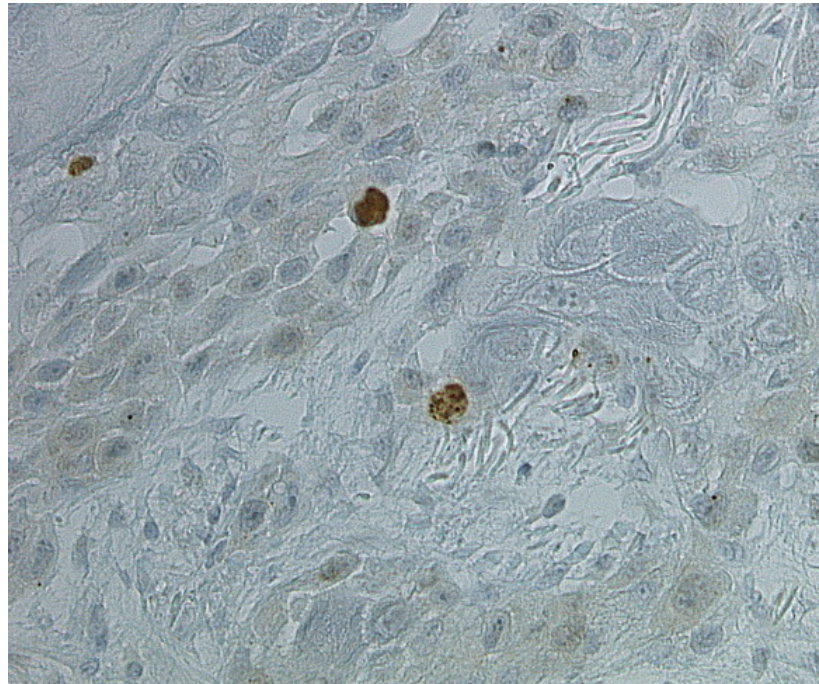


Рис. 2.2.3. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, реакція з рННЗ: Позитивна реакція в двох клітинах. Збільшення x400

2.3. PET/CT діагностика плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки

PET/CT діагностика один з нових методів діагностики, що ґрунтується на одночасному проведенні двох методів дослідження: комп'ютерній томографії та позитронно-емісійній томографії, з наступним співставленні їх за допомогою програмних алгоритмів у вигляді однієї об'ємної моделі [52, 203, 268].

Не зважаючи на те, що КТ-діагностика залишається золотим стандартом у діагностиці пухлин та візуалізації анатомічних структур організму, даний метод містить певні обмеження та недоліки. У зв'язку з чим ефективним є поєднання данного методу з іншими неінвазивними діагностичними методами, наприклад ПЕТ, що не тільки покращує діагностичний результат, а також зменшує променеве навантаження КТ [41, 61, 70, 201].

Позитронно-емісійна томографія відноситься до методів ядерної медицини та використовує радіофармпрепарати, які містять ультракороткоживучий радіонуклід, що дає змогу зменшити променеве навантаження на пацієнта, адже препарат розпадається ще під час дослідження пацієнта. Для діагностики використовують цілу низку радіоактивних ізотопів: фтору, вуглицю, вуглеводню, йоду, бромю та ін. Носіями ізотопів в організмі людини можуть бути: вуглеводи, амінокислоти, нуклеїнові кислоти, гормони, лікарські препарати. За видом радіопрепарати розподіляються за методом виготовлення. Перша група препаратів виготовляється на медичних циклотроннах (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F), що розташовані безпосередньо у лікувальних закладах, друга група препаратів – генераторна (^{68}Ga , ^{82}Rb) виготовляються в спеціалізованих радіонуклідних лабораторіях. До того ж, такі елементи, як ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F входять до сполук, що беруть

безпосередню участь у всіх біологічних процесах організму, тому за допомогою даного методу можливо дослідити будь-який процес організму потрібно лише підібрати речовину, що бере безпосередню участь в цьому процесі та помітити її радіактивним маркером. Таким чином, помічена радіонуклідом речовина з током крові поширюється по судинному руслу, міжклітинних просторах, накопичуючись в місцях найбільшої своєї концентрації, це дає можливість оцінити рівень накопичення [41, 71, 116, 218, 235, 260, 268, 272].

Метод ПЕТ використовується не тільки для діагностики пухлинних уражень, а й для оптимізації та планування лікування, зменшення навантаження променевих методів діагностики. Найбільшого поширення ПЕТ з 18-F фтордезоксиглюкозою набуло в кардіології, неврології, онкології та складає до 80% усіх досліджень. Метод ПЕТ базується на здатності біологічних рідин, що марковані радіоактивним ізотопом, брати участь у фізіологічних процесах організму, поряд з звичайними рідинами. В сучасній діагностиці найбільшого поширення (більше 90% всіх досліджень) має 18-F фтордезоксиглюкоза, що метаболізується по шляху звичайної глюкози, період напіврозпаду даного ізотопу складає 110 хвилин. Зазначеного часу достатньо для того, щоб речовина розчинилася у рідинах організму і частково накопичилася в найбільш глюкоз-споживаючих тканинах людського організму. Під час розпаду даного ізотопу відбувається вивільнення енергії у вигляді вільного позитрону, шлях відповідно якого у тканинах приблизно складає 3-4 мм, та закінчується вивільненням двох гамма-квантів або фотонів при зіткненні з електроном, при цьому відбувається викид енергії 511 кЕв. Кванти або фотони завжди розлітаються під одним кутом $180^0 \pm 0,4^0$. Датчики, що розташовані по колу пацієнта, фіксують фотони та за допомогою математичної моделі обробки отриманої інформації та надають можливість встановити точне розташування координат розпаду та кількість ізотопів [61, 194, 213, 214, 218, 268].

Для отримання кількісного аналізу даних при проведенні ПЕТ/КТ використовують коефіцієнт стандартизованого поглинання (SUV) та коефіцієнт максимального поглинання (SUV_{max}) радіофармпрепарату [72]. SUV – це співвідношення концентрації радіоактивності (c_{img}), що утворює зображення та концентрації введеної радіоактивності у всьому тілі (c_{inj}) формула (2.3.1) дозволяє визначити коефіцієнт стандартизованого поглинання [252].

$$SUV = \frac{c_{img}}{c_{inj}} \quad (2.3.1)$$

де SUV – співвідношення концентрації радіоактивності;

c_{img} – що утворює зображення;

c_{inj} – концентрації введеної радіоактивності у всьому тілі.

Використання коефіцієнту стандартизованого поглинання в даний час є важливим інструментом у клінічній томографії з ПЕТ/КТ і має особливу роль в оцінці відповіді пацієнта на впроваджену терапію раку. Також ПЕТ/КТ може бути використано для визначення ефективності лікування та оптимізації плану лікування шляхом покращення діагностики локалізації ураження та встановлення відповідної стадії захворювання. Відповідно даний метод може зменшити або збільшити ділянку лікування таким чином оптимізувавши променеве навантаження на пацієнта. Даний метод дозволяє з мінімальним променевим навантаженням діагностувати віддалені вогнища пухлинного ураження, що можуть бути причиною слабкої відповіді на лікування та/або хибного встановлення стадії хвороби [61, 194, 213, 214, 218, 266].

Комбіноване використання ПЕТ та КТ містить низку переваг:

- зменшення кількості хибних результатів;
- більш точне визначення характеру та об'єму процесу, стадії захворювання;
- підвищення визначення точної локалізації ураження;

- виявлення віддалених метастазів з меншим променевим навантаженням.

Проблемним питанням використання ПЕТ та КТ є алгоритм суміщення двох зображень, отриманих за допомогою вищеперерахованих методів. Виконання ПЕТ може тривати до 45-60 хвилин, в той же час КТ більш швидкий метод та займає декілька хвилин. Інтервал між двома методами має бути за можливості якомога коротший, а за можливості мають проводитись одночасно [194, 213, 214, 218, 266].

Доведено, що коефіцієнт максимального поглинання радіофармпрепарату не залежить від глибини інвазії пухлинного процесу та гістологічної структури пухлини, а залежить від протяжності ураження органів і ступенів диференціювання злоякісних пухлин. На підставі показника SUV_{max} , можна безпосередньо робити висновок про ступінь злоякісності первинної пухлини [266].

2.4. Методи біостатистики

Аналізуючи результати нашого дослідження, ми використали методи біостатистики [271]. Виконуючи перевірку закону розподілу аналізованих показників на нормальність (за критерієм Шапіро-Уїлка) ми виявили відмінність закону розподілу від нормального ($p < 0,05$), у зв'язку з чим для представлення кількісних ознак нами розраховано медіанне значення отриманих показників (Me), значення першого і третього кuartилів ($Q_I \div Q_{III}$), розраховано було також 95% вірогідний інтервал (95% ВІ) аналізованих нами показників [271]. Для порівняння наших показників у трьох групах ми використали критерій Крускала-Волліса, при здійсненні нами апостеріорних порівнянь – критерій множинних порівнянь Данна [271]. У всіх випадках прийнято $\alpha_{\text{крит.}} = 0,05$ за критичний рівень значущості.

Для аналізу прогностичних характеристик нашого тесту за маркерами рННЗ і Кі67 ми використали метод побудови і аналізу кривих операційних характеристик ROC-кривих (receiver operating characteristic) [271]. Адекватність тесту ми оцінювали за площею під ROC-кривою AUC (are under curve), де наведено і її 95 % ВІ [271]. Оптимальний поріг прийняття рішення для нашого тесту розраховували за показником Youden $Inex = \text{Max}$ (де чутливість тесту + специфічність тесту – 100 %), оцінювання прогностичних характеристик нашого тесту при вибраному порозі ми здійснили за показником чутливості (95 % ВІ) і специфічності (95 % ВІ) тесту. Під час аналізу ми використали статистичний пакет MedCalc v.16.8 (MedCalcSoftWarebvba, 1993–2016).

РОЗДІЛ 3. ГІСТОЛОГІЧНИЙ ТА МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПЛОСКОКЛІТИННИХ ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ КАРЦИНОМ

3.1. Розподіл гістологічного матеріалу обстежених у залежності від морфологічної будови пухлини

Першим етапом нашого дослідження став ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу з повторним визначенням рівня диференціювання пухлин.

Ми проаналізували дані 121 пацієнта (20 жінок та 101 чоловік, віком від 35 до 95 років) госпіталю Бундесверу (м. Ульм, Німеччина), які були прооперовані з приводу раку орофарингеальної ділянки.

Гістологічний матеріал був опрацьований за методикою G. Anneroth et, M. Вгуне [13] та внесений до таблиць 3.1.1, 3.1.2, та 3.1.3 разом з результатами ПЕТ/КТ дослідженням [13]. Зазначена методика оцінки рівня диференціювання пухлини включає в себе: гістологічну структуру, рівень ороговіння, поліморфізм ядер (відсоток зрілих клітин), кількість мітозів, вид інвазії пухлинного фронту та запальна реакція стромы. Характеристика кожного з параметрів відповідає певній кількості балів.

Відповідно до вибраної нами методики [13], за результатами морфологічної структури пухлини та відповідно до набраних балів для рівнів диференціювання встановлюються наступні категорії: G1 пухлини відповідно – 4-8 балів, G2 пухлини відповідно – 9-12 балів, G3 пухлини відповідно – 13-16 балів [7, 153, 163, 221].

Згідно отриманих нами даних (табл. 3.1.1, табл. 3.1.2, табл. 3.1.3) гістологічний матеріал пацієнтів розподілено відповідно до рівня його диференціювання наступним чином:

Таблиця 3.1.1

Характеристика гістологічного матеріалу обстежених за методикою G. Anneroth et, M. Bryne з рівнем метаболічної активності G1 пухлин [13]

№	SUV max	Рівень кератинізації	Клітинний поліморфізм	Кількість мітозів	Вид інвазії	Інфільтрація лейкоцитами
1	6,9	2	2	1	1	2
2	11,2	1	2	1	1	3
3	29	1	2	1	2	1
4	14	1	1	1	1	3
5	12,9	1	1	1	2	2
6	13,3	1	1	1	1	2
7	12,7	1	1	1	2	3
8	9,6	1	1	1	1	3
9	6,4	1	1	1	1	3
10	11,8	1	1	1	1	3
11	13,5	1	1	2	1	3
12	9,8	1	1	1	1	2
13	11	1	2	1	1	3
14	8,2	1	1	1	1	3
15	10,9	1	1	3	1	2
16	11,2	1	1	1	1	3
17	6,1	1	1	1	2	1
18	17,2	1	2	1	1	2
19	6,5	1	2	1	1	3
20	4,7	1	1	1	2	2
21	3,3	2	1	1	1	1
22	8,7	2	2	1	1	2

1. G1 пухлини (*високодиференційовані плоскоклітинні карциноми*) – 22 матеріали, що складає 18,2% від загальної когорти пацієнтів, рівень ороговіння в тканині пухлини не менше ніж 20 %, відмічається помірновиражений чи слабкий цитологічний поліморфізм, атипові кератиноцити мають нерівномірну, еозинофільну цитоплазму та просвітлені ядра, в яких диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, у складі пухлини не менше 50 % зрілих клітин, міжклітинні десмосоми збережені, спостерігається чіткий ріст солідними полями, у пухлині незначна

кількість мітозів – від 0 до 3 у полі зору, можливе помірне чи виражене запалення (Рис. 3.1.1).

На рисунку 3.1.1 зображений приклад плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки високого рівня диференціювання (G1) за допомогою забарвлення гематоксиліном та еозином при збільшенні в 50. Пухлина сформована шляхом проліферації відносно мономорфних кератоцитів з помірними-вираженими явищами поліморфізму, в товщі вогнищ проліферації атипових кератоцитів – формування множинних кератинових перлин. Відзначаються поодинокі фігури атипових мітозів.

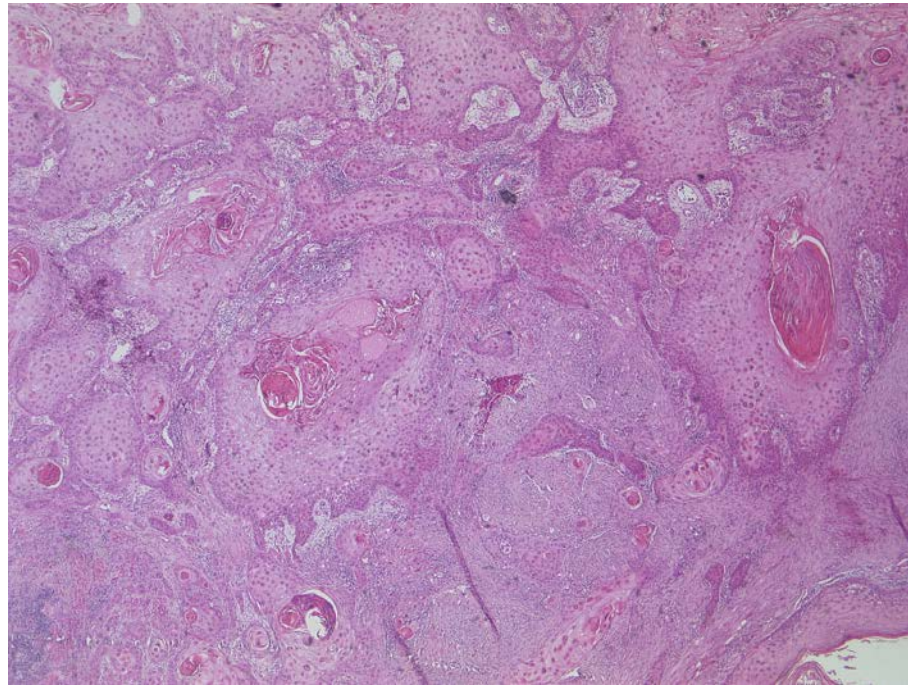


Рис. 3.1.1. Високодиференційована G1 плоскоклітинна карцинома: У пухлині чіткий солідний ріст, ділянки з раковими перлинами. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x50

Гістологічний субтип у групі переважав звичайний ICD-O Code 8070/3, за винятком 2-ох випадків папілярного субтипу карциноми ICD-O Code 8051/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: пухлина сформована шляхом проліферації кератоцитів з мінімальними явищами цитологічної атипії – у частини клітин нерівномірна еозинофільна цитоплазма, овоїдні (вогнищево поліморфні) ядра, зустрічаються поодинокі мітотичні фігури. В товщі вогнищ-проліфератів атипичних кератоцитів відзначаються фокуси скваматизації, поодинокі рогові псевдо-кісти, просвіт яких заповнено слоїстими роговими масами. По периферії утворення відмічаються широкі тяжі або суцільний ріст кератоцитів з чіткою межею, вогнищево строма пухлини інфільтрована сегментоядерними нейтрофілами (Рис. 3.1.2).

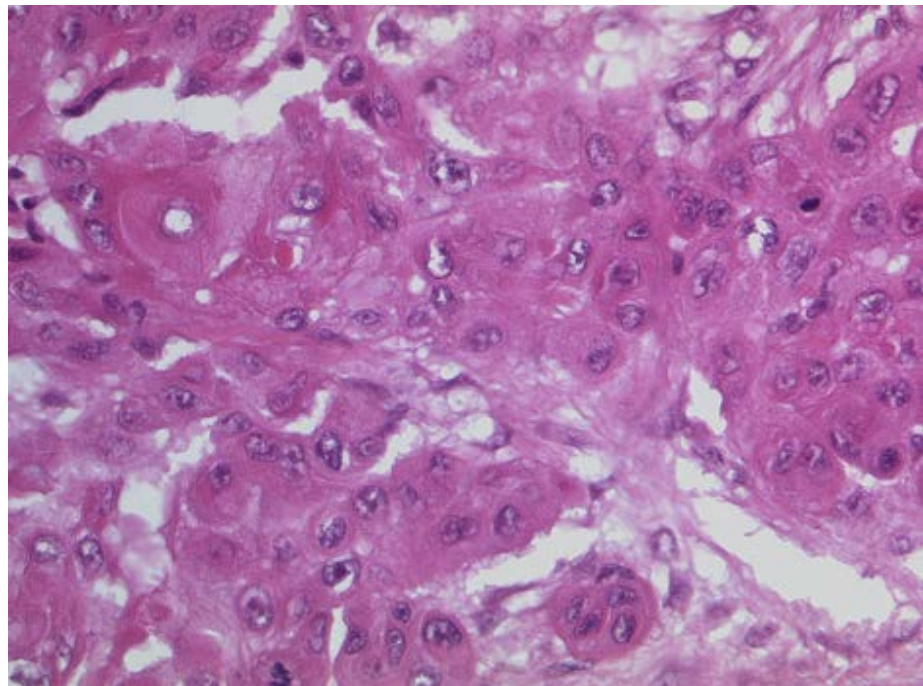


Рис. 3.1.2. Високодиференційована G1 плоскоклітинна карцинома: Серед пухлинних клітин поодинокі клітини з патологічними мітозами, формування ракових перлин, незначні фокуси запалення. Забарвлення гематоксилін і еозин. Збільшення x400

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків набрав 1 бал, у трьох

випадках було оцінено у 2 бали. Клітинний поліморфізм у більшості випадків був оцінений також у 1 бал, у 7-ми випадках було оцінено в 2 бали. Кількість мітозів у переважній кількості випадків були поодинокі та були оцінені в 1 бал, в одному випадку було 2 мітози в полі зору при збільшенні 400 – 2 бали, та в 1 випадку було 4 мітози – 3 бали. В усіх випадках інвазія була чітко обмежена – 1 бал або інфільтрувала солідними полями – 2 бали. У 3-ьох випадках спостерігалось виражене запалення, в решти випадках помірно та незначне.

За результатами ПЕТ/КТ мінімальне значення метаболічної активності склало (SUVmin)-3,3, максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 29, середнє значення метаболічної активності відповідно 11,1.

2. G2 пухлини (помірнодиференційовні плоскоклітинні карциноми) – 45 матеріалів, що склало відповідно 37,2% загальної когорти, рівень ороговіння в тканині пухлини відповідно не менше ніж 25 %, відмічається помірно виражений цитологічний поліморфізм, атипові кератиноцити мають нерівномірну, еозинофільну цитоплазму та просвітлені ядра в яких диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, в складі пухлини не менше 25 % зрілих клітин, міжклітинні десмосоми частково відсутні, інфільтративний ріст можливий у прилеглий тканині дрібними групами клітин, але у групі не менше ніж 15 клітин, пухлина містить помірну кількість мітозів і відсутня або незначна запальна реакція (Рис. 3.1.3).

Таблиця 3.1.2

Характеристика гістологічного матеріалу обстежених за методикою G. Anneroth et, M. Bryne з рівнем метаболічної активності G2 пухлин [13]

№	SUV max	Рівень кератинізації	Клітинний поліморфізм	Кількість мітозів	Вид інвазії	Інфільтрація лейкоцитами
1	24,6	4	3	1	2	2

<i>Продовження таблиці 3.1.2</i>						
2	12,1	2	3	1	2	2
3	14,8	2	3	1	3	3
4	16,7	1	2	3	1	3
5	19,5	1	3	3	2	2
6	17,9	2	2	3	4	1
7	14,8	4	4	1	3	3
8	20,9	2	3	1	2	3
9	16,5	4	4	1	2	2
10	20,8	3	3	1	1	3
11	17,2	1	2	2	2	3
12	10	1	1	2	3	2
13	21	2	3	2	2	3
14	20,2	1	1	3	1	3
15	12,6	2	3	1	2	1
16	20,1	4	4	1	2	3
17	26,1	2	1	1	3	3
18	14,5	3	2	1	2	2
19	16	4	3	1	2	1
20	19,4	3	2	1	1	3
21	9,6	2	2	1	3	3
22	16,5	2	2	1	1	3
23	10,9	2	3	1	2	2
24	20	2	2	1	3	2
25	17,1	1	2	1	2	3
26	20,3	1	2	1	2	3
27	17	3	4	1	3	1
28	15,7	2	3	1	3	3
29	11,6	3	3	2	2	2
30	19,9	3	3	2	2	2
31	12,9	3	3	2	1	2
32	12	2	2	2	2	3
33	30,7	3	2	4	2	3
34	5,2	3	2	1	2	2
35	18,1	2	2	2	1	3
36	6,4	1	2	2	2	3
37	7,9	3	2	1	2	2
38	9,5	1	1	1	2	3
39	10	2	2	2	1	3
40	14,8	1	2	2	2	3
41	14,2	2	2	1	2	3
42	13	2	2	1	3	3

<i>Продовження таблиці 3.1.2</i>						
43	21,9	3	2	2	2	2
44	23	2	2	2	3	3
45	16	2	2	1	3	2

Вся група пухлин була представлена звичайним гістологічним субтипом ICD-O Code 8070/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: пухлина сформована шляхом проліферації атипових кератоцитів з вираженими явищами поліморфізму – клітини мають нерівномірну еозинофільну цитоплазму, поліморфні, переважно просвітлені ядра, в котрих диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хромати, десмосомальні містки збережені між частиною клітин. Мітотична активність пухлинних клітин помірна. У товщі вогнищ-проліферації атипових клітин відмічаються формування поодиноких кератинових перлин та в декількох випадках вогнища некрозів.

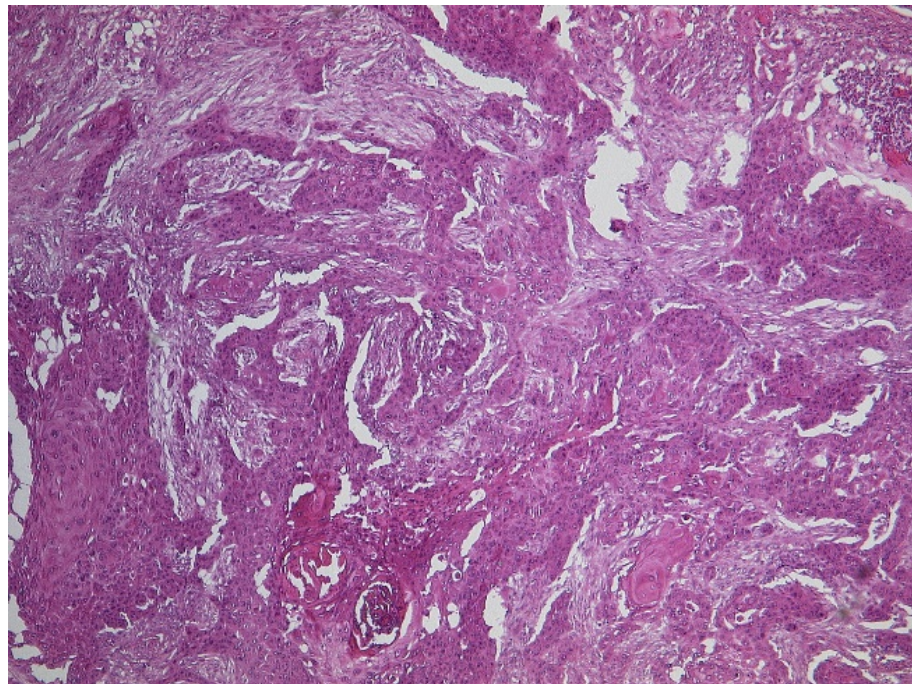


Рис. 3.1.3. Помірнодиференційована G2 плоскоклітинна карцинома: Пухлина має інфільтративний ріст у прилеглі тканини, групи пухлинних клітин більше 15. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x50

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків набрав 2 та 3 бали, однак були випадки з оцінкою рівня кератинізації в пухлині в 1 та 4 бали. Клітинний поліморфізм у більшості випадків був оцінений також у 2 та 3 бали, у 4-ох випадках було оцінено в 1 бал, та 4-ох випадках було оцінено в 4 бали. Кількість мітозів коливалась в широкому діапазоні від 2 до 4 полі зору. В усіх випадках інвазія була солідними полями – 2 бали, або групами клітин але не менше ніж 15 клітин в групі. В 4-ьох випадках спостерігалось виражене запалення, в решти випадках помірне та незначне.

За результатами ПЕТ/КТ мінімальне значення метаболічної активності склало (SUVmin)-5, максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 30,7, середнє значення метаболічної активності відповідно 16,2.

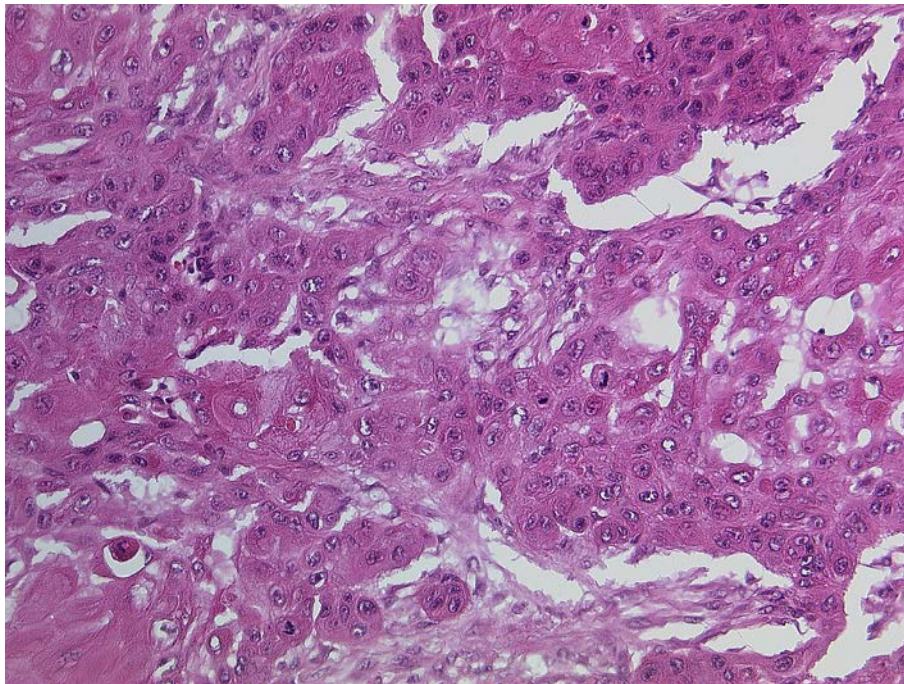


Рис. 3.1.4. Помірнодиференційована G2 плоскоклітинна карцинома: Виражений інфільтративний ріст пухлини, патологічні мітози. Забарвлення гематоксилін і еозин. Збільшення x400

На Рис. 3.1.3 та 3.1.4 відображений приклад плоскоклітинної карцинома орофарингеальної ділянки середнього рівня диференціювання (G2) за допомогою забарвлення гематоксилином та еозином. На Рис. 3.1.3 збільшення 50, на Рис. 3.1.4 представлено збільшення 400. Пухлина побудована з атипичних кератоцитів з помірним рівнем клітинної та ядерної атипії, солідним типом росту з поодиноким вогнищами формування ракових перлин, помірною мітотичною активністю. Інвазія пухлини відбувається солідними вогнищами та групами клітин більше 15 клітин в групі. Спостерігаються поодинокі запальні клітини.

3. G3 пухлин (низькодиференційованні плоскоклітинні карциноми) – до групи увійшло 54 матеріали, що склало 44,6% когорти пацієнтів, дані пухлини мали незначний рівень ороговіння, виражений ядерний поліморфізм (зрілих клітин містили менше ніж 25 %), кількість мітозів у пухлинній тканині 5 і більше, інвазія була дрібними групами клітин, що містили менше ніж 15 клітин або інвазія поодинокими клітинами, запалення в переважній частині пухлин було відсутнє (Рис 3.1.5).

Таблиця 3.1.3

Характеристика гістологічного матеріалу обстежених за методикою G. Anneroth et, M. Bryne з рівнем метаболічної активності G3 пухлин [13]

№	SUV max	Рівень кератинізації	Клітинний поліморфізм	Кількість мітозів	Вид інвазії	Інфільтрація лейкоцитами
1	35,2	3	3	2	2	3
2	24,7	3	3	3	2	3
3	23,5	3	4	2	4	3
4	51,5	4	4	3	2	4
5	24,9	3	4	3	4	3
6	13,2	4	4	2	3	3
7	4,2	4	3	3	2	3
8	20,9	4	4	1	3	2
9	22,4	4	4	1	2	3

<i>Продовження таблиці 3.1.3</i>						
10	35	4	4	1	2	3
11	21,7	4	4	2	2	3
12	18,3	4	3	2	2	3
13	12,6	4	3	1	3	3
14	13,8	4	4	2	4	1
15	28,2	3	3	3	3	4
16	15,8	4	3	2	3	1
17	15,6	2	3	2	3	3
18	29,6	4	2	4	2	2
19	18,4	4	4	2	3	2
20	24,7	3	3	2	3	2
21	21,4	4	4	3	3	3
22	26,3	4	4	2	3	2
23	19,2	4	4	2	2	2
24	20,4	4	3	3	2	1
25	30,2	4	4	2	2	3
26	20,4	4	4	2	2	1
27	17,9	4	4	1	2	2
28	46,1	4	4	2	3	3
29	22,9	4	3	3	3	3
30	12,1	4	4	2	3	3
31	16,2	3	3	2	3	3
32	35,9	4	4	2	1	2
33	19,9	4	4	3	2	1
34	21	4	4	1	3	1
35	29	3	3	2	2	3
36	20,6	4	4	1	2	3
37	30,6	4	3	4	2	3
38	12,6	4	4	1	3	1
39	18,8	4	4	3	1	2
40	3,5	4	4	2	1	2
41	17,4	4	4	1	3	1
42	21,3	4	4	2	2	2
43	25,3	4	4	2	2	2
44	12,5	4	3	3	2	3
45	12,6	3	2	3	2	3
46	20,3	4	4	4	1	1
47	6,3	4	4	2	2	1
48	10	3	3	2	4	1
49	20,7	2	1	1	2	1
50	7,2	4	4	2	2	1

<i>Продовження таблиці 3.1.3</i>						
51	8,7	3	3	2	2	3
52	19,9	4	3	2	3	1
53	25	4	4	3	3	2
54	30,6	3	3	2	2	3

Вся група пухлин була представлена звичайним гістологічним субтипом ICD-O Code 8070/3.

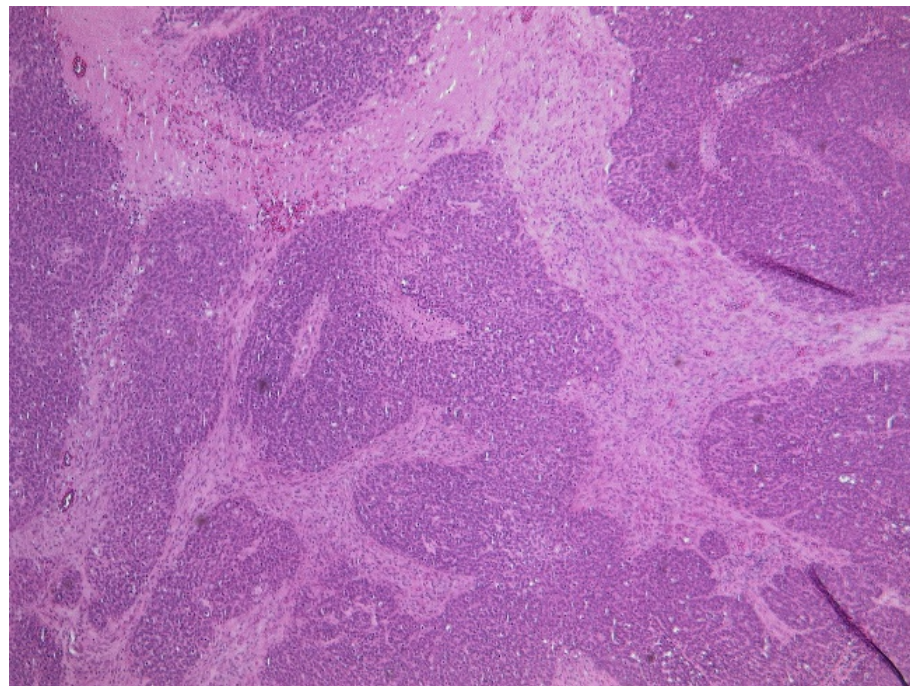


Рис. 3.1.5. Низькодиференційована G3 плоскоклітинна карцинома: Інфільтративний ріст пухлини з втратою диференціювання. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x50

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: тканина пухлини представлена вогнищевими та солідними розростаннями злоякісної пухлини, побудованої із великих клітин з великими поліморфними гіперхромними та просвітленими ядрами, в ядрах окремих пухлинних клітин визначаються чіткі нуклеоли; цитоплазма пухлинних клітин широка, оптично порожня та еозинофільна, зерниста. Мала

місце підвищена мітотична активність, патологічні мітози. В 6-и випадках спостерігалось виражене запалення, в решти випадках помірне та незначне.

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків був менше 5% - 4 бали, частина випадків з оцінкою рівня кератинізації до 20% пухлині 3 бали. Клітинний поліморфізм у більшості випадків був оцінений також в 3 та 4 бали, в 2-ох випадках було оцінено в 2 бал, та в 1-му випадку було оцінено в 1 бал. Кількість мітозів коливалась у широкому діапазоні від 2 до 5 та більше в полі зору. Інвазія в даній групі пухлин була різноманітна починаючи від солідних полів до груп клітин, що містили різноманітну кількість клітин в тому числі, поодинокими клітинами.

На рисунках 3.1.5 та 3.1.6 наведений приклад плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки низького рівня диференціювання (G3) за допомогою забарвлення гематоксиліном та еозином при збільшенні у 50 та 400 разів відповідно.

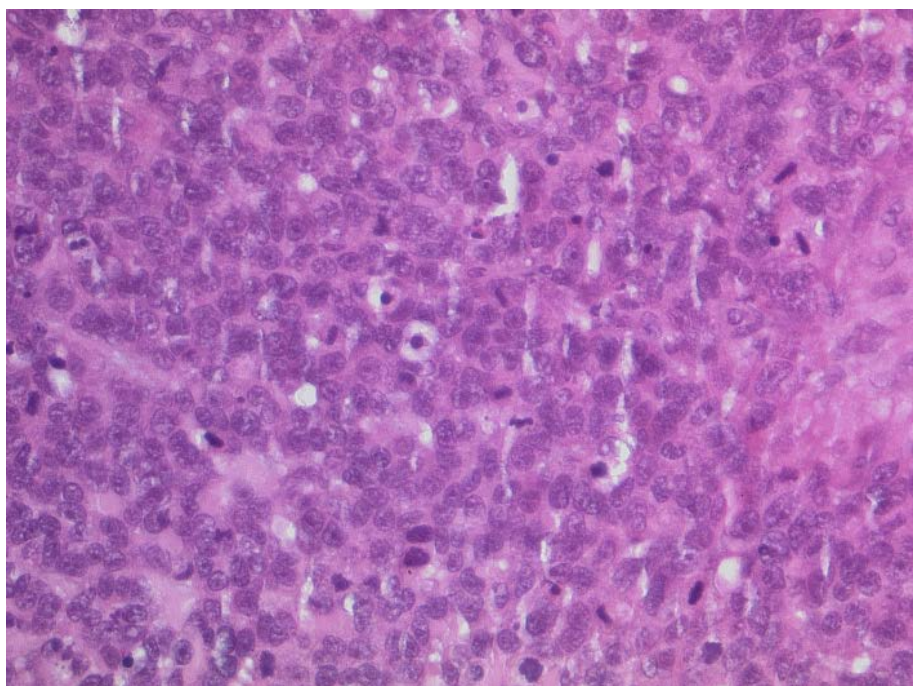


Рис. 3.1.6. Низькодиференційована G3 плоскоклітинна карцинома: Серед пухлинних клітин багаточисленні мітози та клітинни з ознаками патологічного апоптозу. Забарвлення гематоксилін і еозин. Збільшення x400

За результатами ПЕТ/КТ мінімальне значення метаболічної активності склало (SUVmin)-3,5 максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 51,5, середнє значення метаболічної активності відповідно 21,1.

Отже, проведений нами ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу за методикою [13] дозволив достовірно розподілити когорту обстежених пацієнтів на три групи в залежності від рівня диференціювання плосколітинних карцином орофарингеальної ділянки з урахуванням таких особливостей пухлини, як гістологічна структура, рівень ороговіння, поліморфізм ядер, кількість мітозів, вид інвазії та запальна реакція стромы.

3.2. Зв'язок між результатами позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією та гістологічними особливостями пухлин

Другим етапом нашого дослідження було визначення наявності закономірності між результатами ПЕТ/КТ діагностики та гістологічними особливостями пухлин.

Порівнюючи данні гістологічного дослідження, а також ПЕТ/КТ діагностики, було визначено максимальне і мінімальне значення SUV для пухлин, як в усій когорті пацієнтів, відповідно так і в групах. Мінімальне загальне значення (SUV_{min}) склало 3,3; максимальне загальне значення (SUV_{max}) – 51,5. Обстежені з високодиференційованими плоскоклітинними карциномами мали SUV_{min} – 3,3; SUV_{max} – 29; середнє значення – 11,1. У пацієнтів з пухлинами середнього рівня диференціювання встановлено SUV_{min} – 5; SUV_{max} – 30,7; середнє значення – 16,2. В когорті обстежених з низькодиференційованими новоутвореннями встановлено SUV_{min} – 3,5; відповідно SUV_{max} – 51,5; та середнє значення – 21,1.

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна був проведений статистичний аналіз медіанного значення показнику SUV_{max} в трьох групах пацієнтів (табл. 3.2.1).

Згідно даних представлених у таблиці медіанне значення показнику SUV_{max} в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином складало 11,1 і було статистично значуще нижчим у порівнянні з обстеженими групи G2 та групи G3 (табл. 3.2.1).

Наведені в таблиці 3.2.1 результати дослідження констатують, що в групі обстежених з орофаренгіальними пухлинами середнього рівня диференціювання показник SUV_{max} (16,5) був статистично значуще вищим, ніж у групі G1 та вірогідно нижчим за показник групи G3 (табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1.

Медіанне значення маркера показнику SUV_{max} в групах пацієнтів з різним рівнем диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином

Показник	Me (Q _I ÷ Q _{III})			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n=22)	G2 (n=45)	G3 (n=54)	
SUV _{max}	11,1 [#] (8,2÷13,3)	16,5* ^{\$} (12,5÷20,1)	20,4* [#] (13,8÷25,0)	<0,001

Примітки: * – відмінність від показника для G1 вірогідна, $p < 0,05$;

– відмінність від показника для G2 вірогідна, $p < 0,05$;

\$ – відмінність від показника для G3 вірогідна, $p < 0,05$.

Рисунок 3.2.1 наглядно відображає вищезазначені результати порівняльного аналізу медіанного значення показника SUV_{max} у трьох групах обстежених.

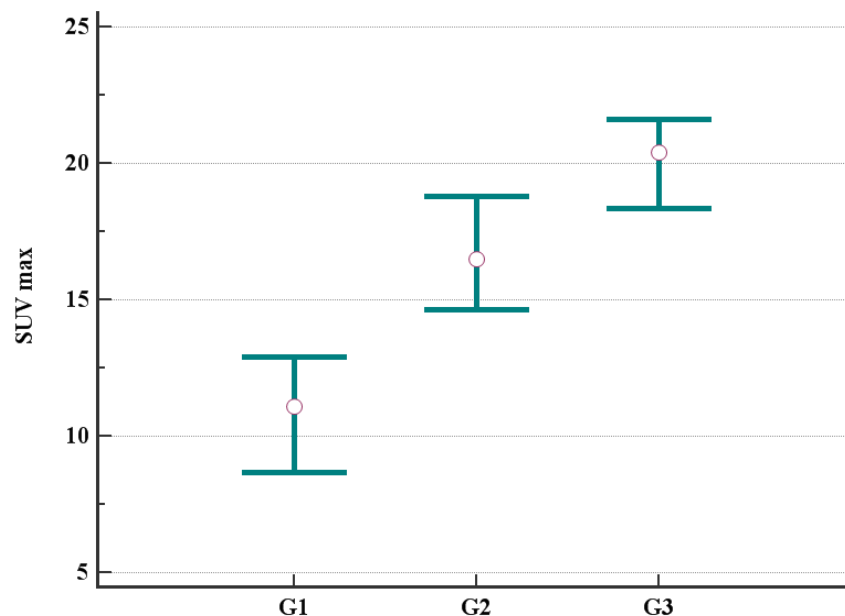


Рис. 3.2.1. Відображення показника SUV_{max} для пацієнтів в трьох групах, представлено медіанне значення і 95% ВІ

Медіанне значення показнику SUV_{max} для пацієнтів третьої групи (G3, низькодиференційовані пухлини) склало 20,4, що статистично значуще вище за досліджений показник у обстежених інших двох груп.

Отже, отримані нами дані свідчать про зростання значення показника SUV_{max} з зниженням рівня диференціювання плоскоклітинних карцином, досліджуваної нами, орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUV_{max} відповідало відповідно пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) відповідно пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів з групи G2 мали проміжне SUV_{max} значення, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж у групі G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж у групі G3.

У данному розділі описана методика достовірного розподілу когорти обстежених пацієнтів на три групи в залежності від рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з урахуванням таких особливостей пухлини, як гістологічна структура, рівень ороговіння, поліморфізм ядер, кількість мітозів, вид інвазії та запальна реакція стромы. Нами встановлена залежність між даними ПЕТ-КТ з визначенням SUV та рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки: значення показника SUV_{max} достовірно ($p < 0,001$) збільшується із зниженням ступеню диференціювання пухлини.

РОЗДІЛ 4. ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ ПЛОСКОКЛІТИННИХ КАРЦИНОМ

4.1. Характеристика проліферативної активності пухлин за допомогою маркеру Ki-67

Проліферативна активність плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки в нашій роботі була досліджена за допомогою маркеру Ki-67, визначення якого є стандартом при діагностиці та встановлення рівня диференціювання пухлин [1, 143, 166, 185, 215, 228, 267]. Ki-67 маркер вимірюється у відсотковому співвідношенні негативних до позитивних пухлинних клітин [1, 143, 185, 228].

Мінімальна кількість позитивних пухлинних клітин у групі пацієнтів з карциномами високого рівня диференціювання (G1, n=22) складала 5,0 %, максимальна кількість – 80,0 % (Рис. 4.1.1).



Рис. 4.1.1. Розподіл пацієнтів з орофарингеальними карциномами високого рівня диференціювання за відсотком позитивних пухлинних клітин

Згідно даних, представлених на Рис. 4.1.1, у 9 пацієнтів з групи обстежених з орофарингеальними карциномами високого рівня

диференціювання виявлено 10,0 % позитивних клітин, у 5 чол. – 50,0 %, у 3 чол. констатована наявність 20,0 %, у 2 чол. – 30,0 % та по одному обстеженому мали 5,0 %, 60,0% та 80,0%. Так, 50,0 % та більше позитивних клітин встановлено у 31,0 % пацієнтів цієї групи.

Приклади зображення імуногістохімічної діагностики плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки G1, за допомогою маркера Кі67 при різних збільшеннях продемонстровані на рис. 4.1.2 та рис. 4.1.3.

Приклад імуногістохімічного забарвлення Кі-67 у випадку високодиференційованої плоскоклітинної карциноми орофарингіальної ділянки (G1) при збільшенні 200 наведено на рис. 4.1.2. Пухлина має чіткий солідний ріст, незначний клітинний та ядерний поліморфізм, 20% пухлинних клітин позитивні при імуногістохімічному забарвленні, що розташовано поодинокі чи невеликими групами клітин.

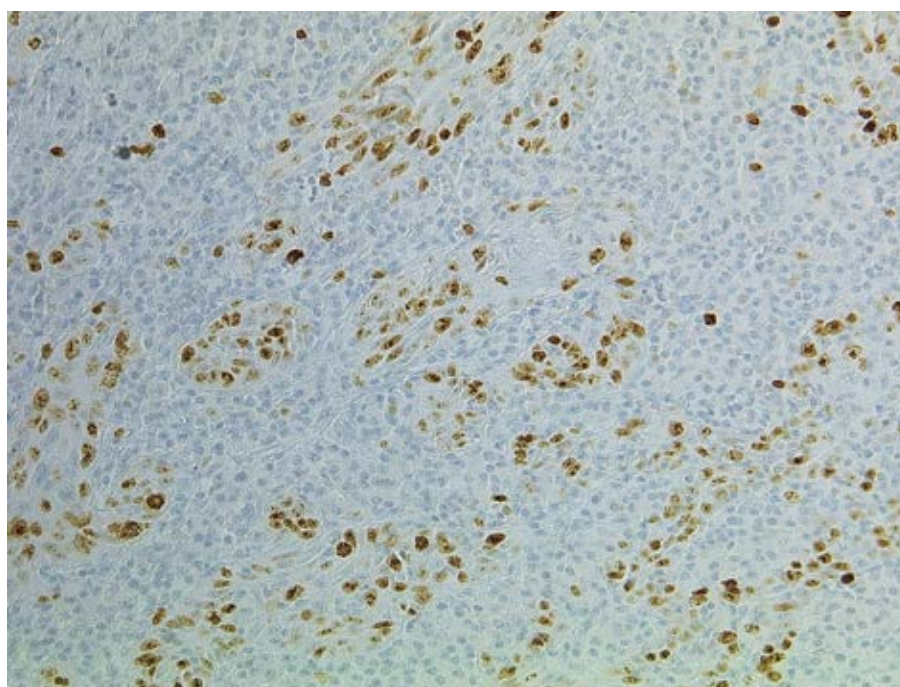


Рис. 4.1.2. G1 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, позитивна реакція у 20% клітин. ІГХД з Кі-67. Збільшення x200

Високодиференційовану пухлину (G1) зображено на рис. 4.1.3 при

збільшенні 400, з незначним клітинним та ядерним поліморфізмом, високим рівнем кератинізації, та солідним типом росту, при імуногістохімічному забарвленні визначається група клітин позитивних до маркера Ki-67, та складають 20% пухлинних клітин.

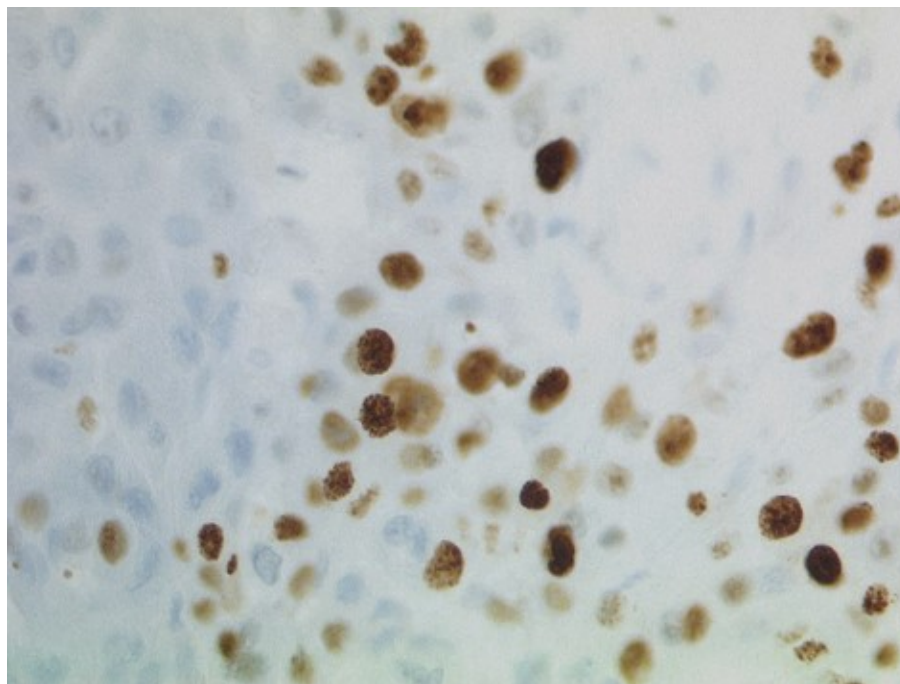


Рис. 4.1.3. G1 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, група різних за розміром Ki-67 позитивних клітин. ІГХД з Ki-67. Збільшення x400

В групі обстежених пацієнтів зі середнім рівнем диференціювання карцином, G2 (n=45), кількість позитивних пухлинних клітин складає від 10,0 % до 95,0 %

Більша кількість обстежених (n=32, 71,1%) з новоутвореннями середнього рівня диференціювання мали 50,0 % та більше позитивних пухлинних клітин (Рис. 4.1.4).

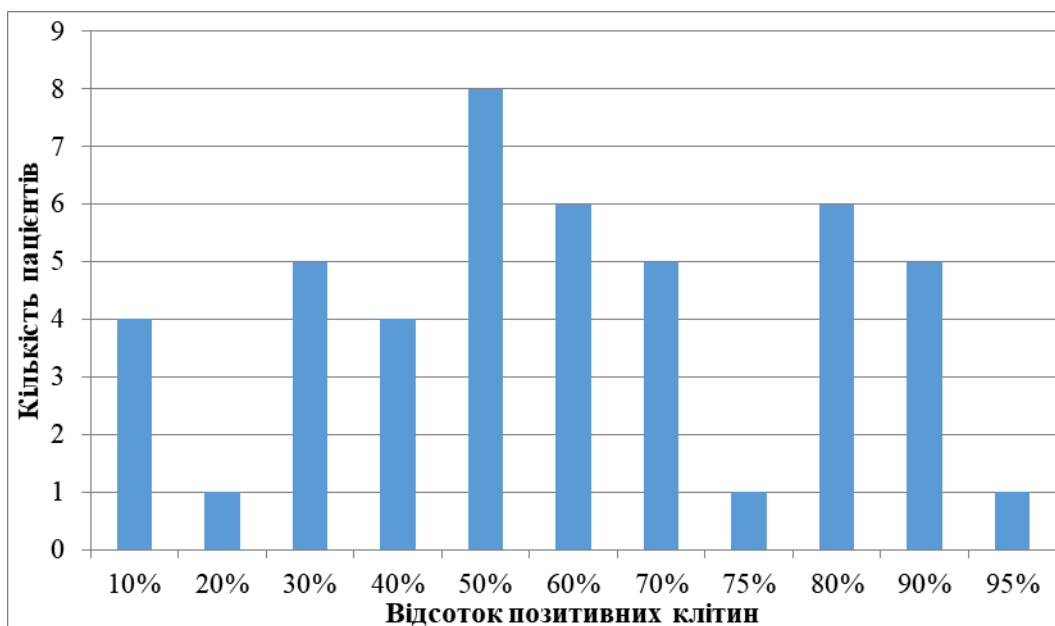


Рис. 4.1.4. Розподіл пацієнтів з орофарингеальними карциномами середнього рівня диференціювання за відсотком позитивних пухлинних клітин

При імуногістохімічному дослідженні плоскоклітинних орофарингіальних карцином орофарингіальної ділянки при збільшенні 200 та 400, відповідно рис. 4.1.5 та рис. 4.1.6 відзначається проліферації атипівих клітин з вираженими явищами поліморфізму – клітини мають, поліморфні, ядра з нерівномірним контуром в деяких з них диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хромати. Мітотична активність пухлинних клітин помірна. В товщі вогнищ-проліферації атипівих клітин – формування поодиноких кератинових перлин.

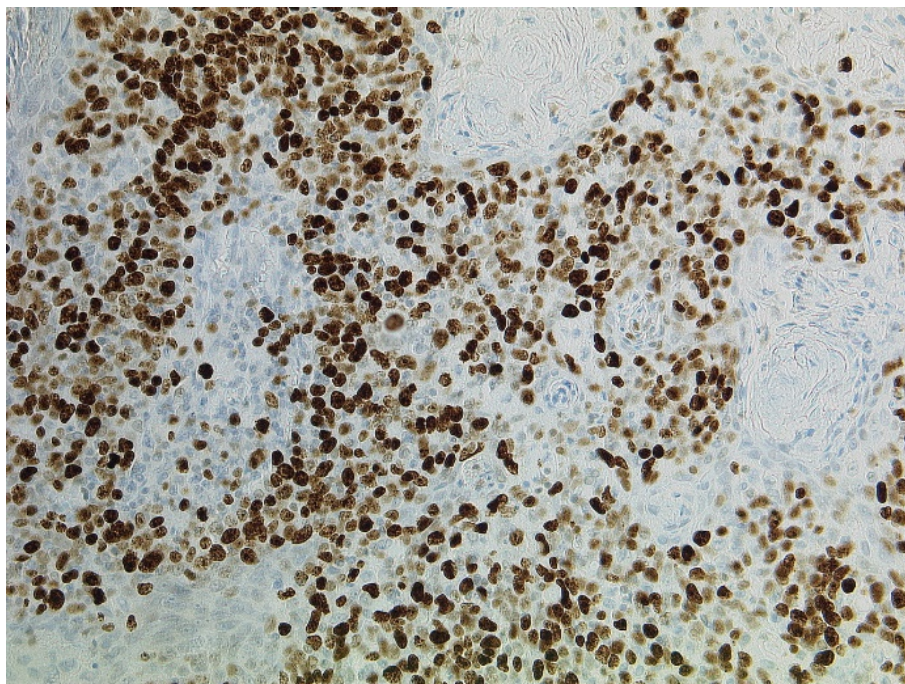


Рис. 4.1.5. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, позитивна реакція у 60% клітин. ІГХД з Ki-67. Збільшення x200

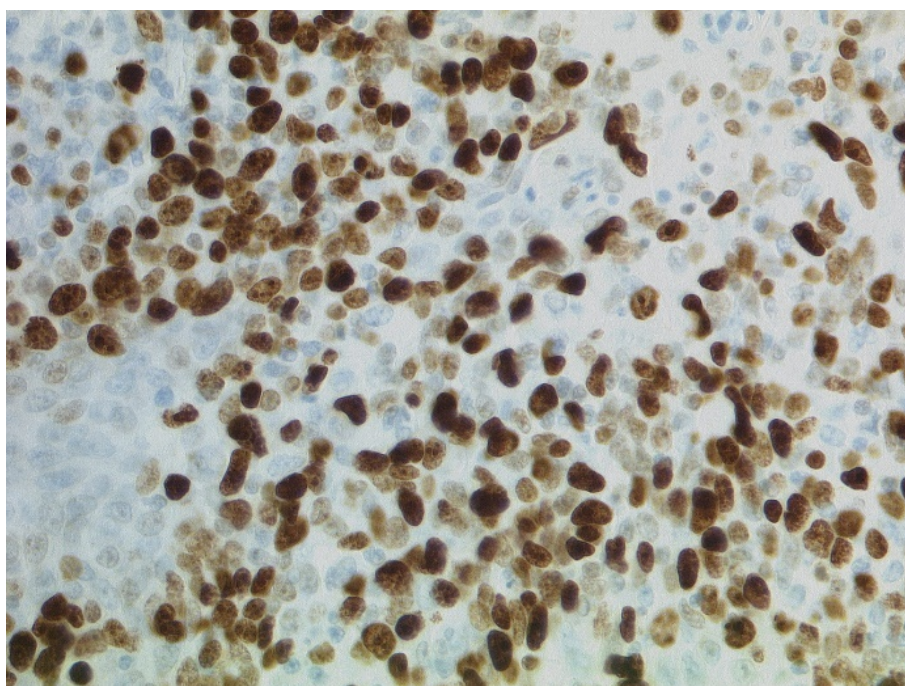


Рис. 4.1.6. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, скупчення Ki-67 позитивних клітин. ІГХД з Ki-67. Збільшення x400

Низькодиференційовані G3 карцином були діагностовані у 54 пацієнтів. Мінімальне значення позитивних клітин в цій групі склало 10,0 %, максимальне – 95,0 % (Рис. 4.1.7).



Рис. 4.1.7. Розподіл пацієнтів з орофарингеальними карциномами низького рівня диференціювання за відсотком позитивних пухлинних клітин у групі

У групі пацієнтів з орофарингеальними карциномами низького рівня диференціювання 81,5 % обстежених мали 50,0 % та більше позитивних пухлинних клітин.

Плоскоклітинну орофарингеальну карциному G3 зображено на рисунках 4.1.8, 4.1.9 з проведеним імуногістохімічною діагностикою за допомогою маркера Ki-67 при збільшеннях 200 та 400 відповідно. В даній групі пухлин відзначаються проліферації атипівих клітин з помірно вираженими явищами поліморфізму – клітини мають поліморфні, ядра з нерівномірним контуром в деяких з них диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хромати. Мітотична активність пухлинних клітин виражена. В товщі вогнищ-проліферації атипівих клітин – формування поодиноких кератинових перлин.

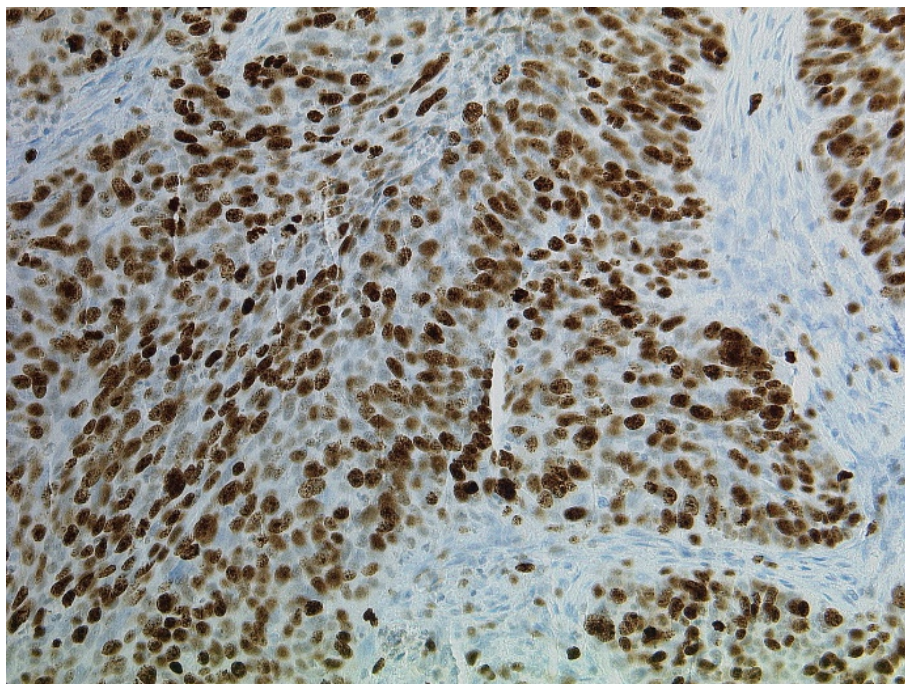


Рис. 4.1.8. G3 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, позитивна реакція в 80% клітин. ІГХД з Ki-67. Збільшення x200

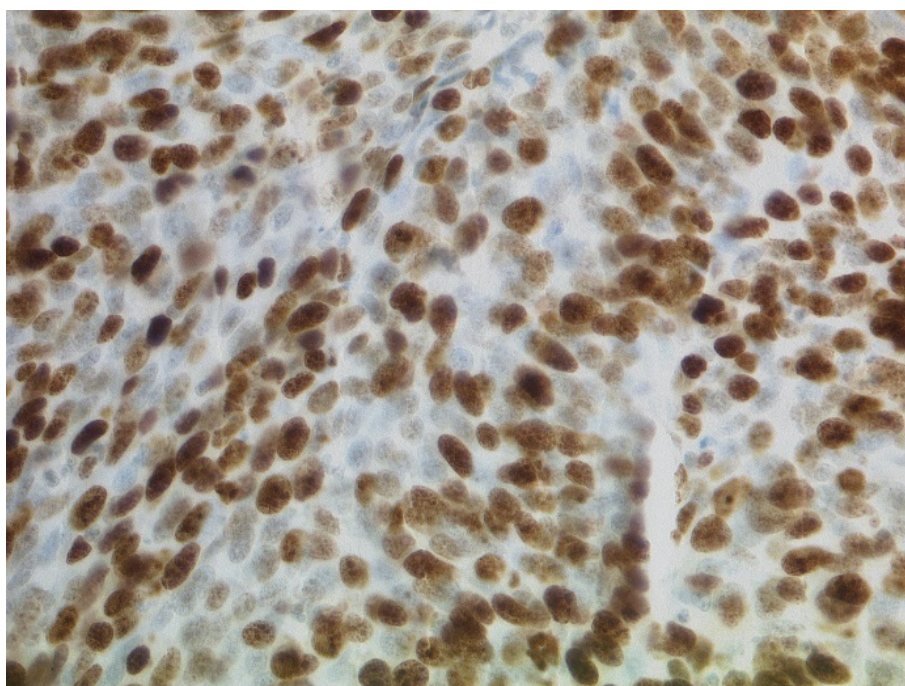


Рис. 4.1.9. G3 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, великі групи Ki-67 позитивних клітин. ІГХД з Ki-67. Збільшення x400

На рис. 4.1.8 та рис. 4.1.9 збільшення 200 та 400 відповідно відмічаються Ki-67 позитивні пухлини, що складають 80 % від загальної

популяції пухлинних клітин.

Отже, при дослідженні проліферативної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за допомогою Ki-67 маркеру нами виявлена більша кількість пацієнтів з 50,0 % та вищим відсотком позитивних пухлинних клітин в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (81,5 %), у порівнянні з обстеженими зі середньодиференційованими (71,0 %) та високодиференційованими (31,0 %, $p < 0,05$).

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна був проведений статистичний аналіз медіанного значення маркеру Ki-67 в трьох групах пацієнтів (табл. 4.1.1).

Таблиця 4.1.1

Медіанне значення маркеру Ki-67 в групах пацієнтів з різним рівнем диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином

Показник	Me (Q _I ÷ Q _{III})			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n=22)	G2 (n=45)	G3 (n=54)	
Ki-67, %	20,0 ^{#\$} (10,0 ÷ 50,0)	60,0 ^{*\$} (40,0 ÷ 76,3)	70,0 ^{*#} (60,0 ÷ 90,0)	<0,001

Примітки: * – відмінність від показника для G1 вірогідна, $p < 0,05$;

– відмінність від показника для G2 вірогідна, $p < 0,05$;

\$ – відмінність від показника для G3 вірогідна, $p < 0,05$.

Згідно даних медіанне значення маркеру Ki-67 в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином складало 20,0 % і було статистично значуще нижчим у порівнянні з обстеженими групи G2 та групи G3 (табл. 4.1.1).

Наведені результати дослідження констатують, що в групі обстежених з орофарингеальними пухлинами середнього рівня диференціювання показник маркера Ki-67 (60,0 %) був статистично значуще вищим, ніж у групі G1 та вірогідно нижчим за показник групи G3.

Медіанне значення маркера Ki-67 для пацієнтів третьої групи (G3, низькодиференційовані пухлини) склало 70,0 %, що статистично значуще вище за досліджений показник у обстежених інших двох груп (табл. 4.1.1).

Наочно наочно відображає вищезазначені результати порівняльного аналізу медіанного значення маркера Ki-67 у трьох групах обстежених (Рис. 4.1.10).

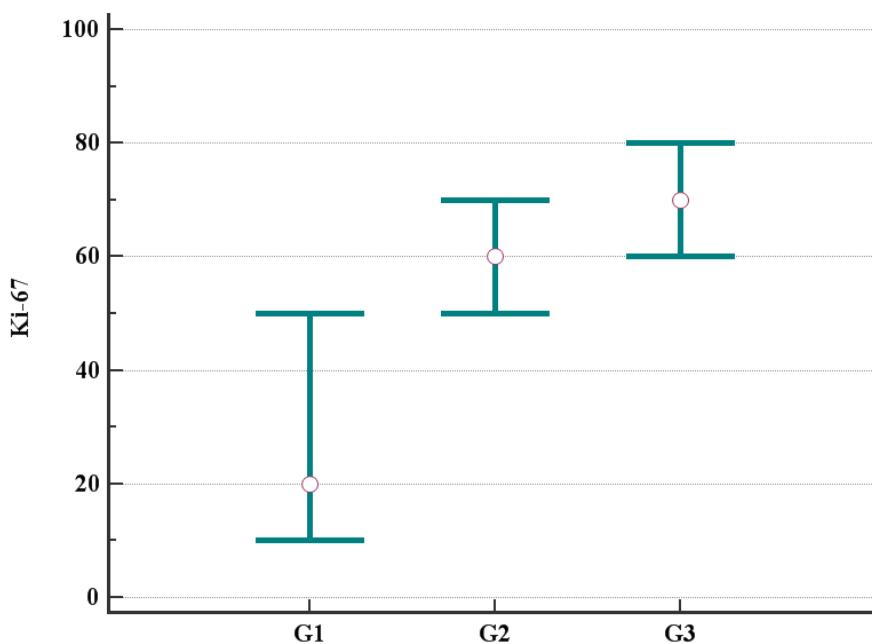


Рис. 4.1.10. Медіанне значення показника для пацієнтів з Ki-67 у трьох групах і 95% ВІ

Анлізуючи дані, що ми отримали, свідчать про зростання експресії Ki-67 маркера з зниженням рівня диференціювання орофарингеальних плоскоклітинних карцином ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). При чому найслабша експресія Ki-67 ($p < 0,05$) відповідала пацієнтам з групи G1, а

найбільша експресія ($p < 0,05$) – пацієнтам з групи G3. Показники експресії для пацієнтів G2 групи мали проміжне Ki-67 значення, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для G1 групи, але нижче ($p < 0,05$), ніж G3 для групи.

4.2. Визначення мітотичної активності орофарингеальних карцином за допомогою маркера рННЗ

Мітотична активність новоутворень є важливою складовою діагностики та невідємним критерієм для оцінювання рівня диференціювання пухлин [185, 203]. Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки в нашому дослідженні проводилось за допомогою імуногістохімічного методу з використанням маркера фосфогістон НЗ (рННЗ). Цей маркер визначає саме справжні мітози серед клітин, що знаходяться в різних стадіях мітозу (М-стадію), серед апоптичних ядер та запального інфільтрату та клітин, що знаходяться у G1, G2, S стадіях [76, 86, 167, 174]. Результат оцінювався мікроскопічно: у 10 полях зору при збільшенні 400 (10HPF) підраховано кількість мітозів.

Результати оцінювались окремо у кожній групі. Отже, у першій групі (G1, n=22) високодиференційованих пухлин кількість позитивних клітин склала від 1 до 4 у полі зору, тільки в одному випадку склало 9 клітин (Рис. 4.2.1).

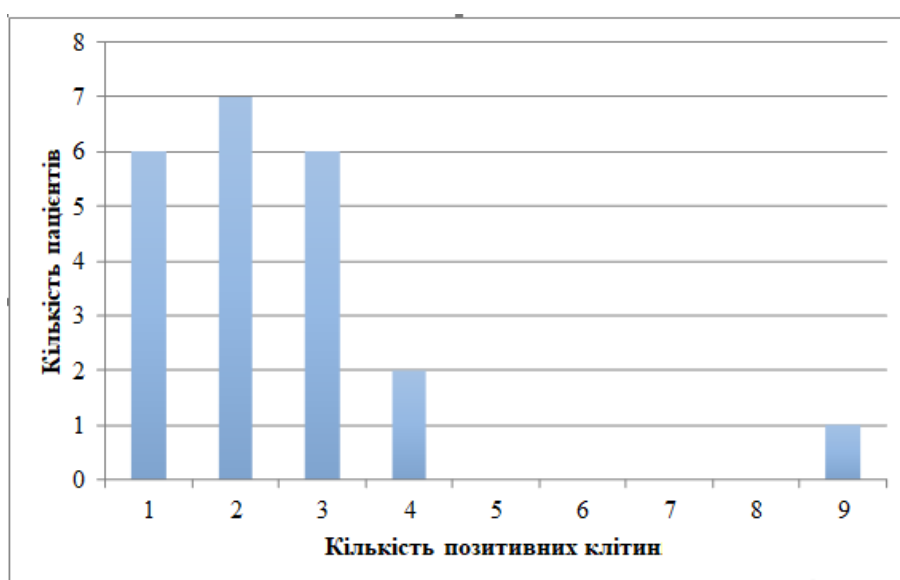


Рис. 4.2.1. Розподіл пацієнтів у групі G1 за кількістю позитивних клітин у 10HPF

Згідно даних, представлених на рис. 4.2.1, одну позитивну клітину (клітина з мітозом) виявлено у 6 пацієнтів з групи обстежених з орофарингеальними карциномами високого рівня диференціювання, дві – у 7 чол., три – у 6 чол., чотири – у 2 чол. та максимально – дев'ять – у одного обстеженого. Отже, лише 4,5 % обстежених мали більше 5 позитивних клітин.

Плоскоклітинну орофарингеальну карциному G1, з проведеним імуногістохімічною діагностикою за допомогою маркера рНН3 наведено на рис. 4.2.2 при збільшеннях 200

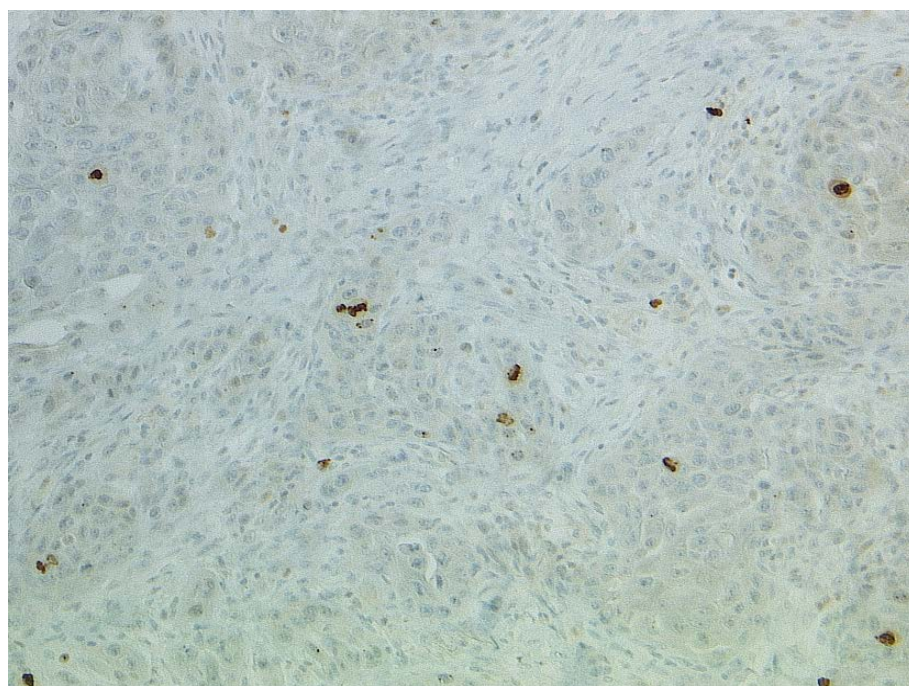


Рис. 4.2.2. G1 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки. Позитивна реакція в поодиноких клітинах. ІГХД з рНН3. Збільшення x200

Відмічається ріст пухлини з проліферацією поодиноких атипівих клітин позитивних при ІГХД з рНН3. На наступному рис. 4.2.3 зображено туж саму G1 плоскоклітинну карциному орофарингеальної ділянки, при збільшенні x400. В центрі слайда чітко зображено мітоз, розміщення на екваторі подвійних хромосом в пухлинній клітині.

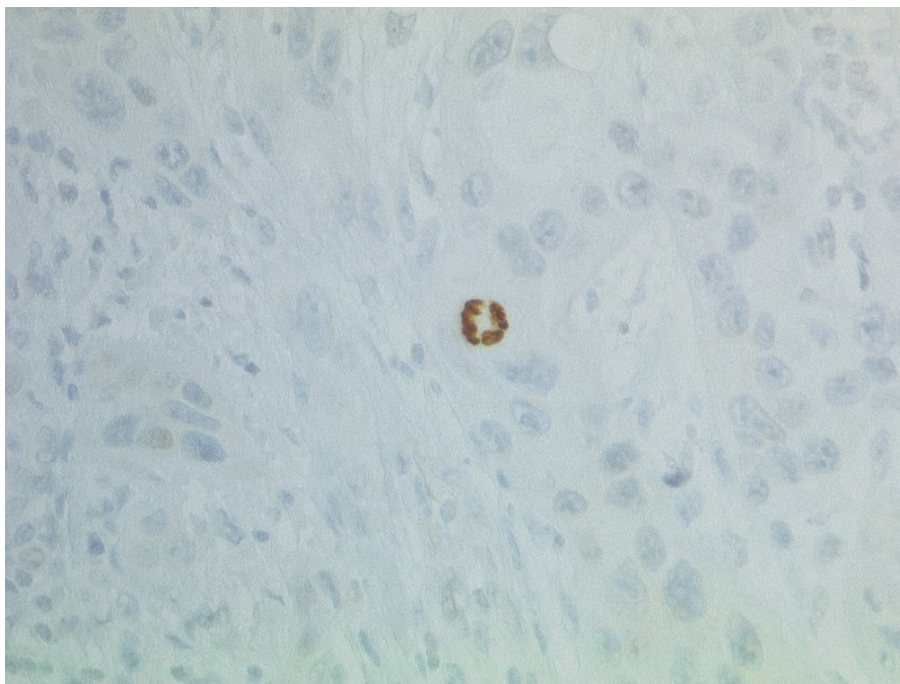


Рис. 4.2.3. G1 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки, позитивна реакція, мітоз. ПГХД з рННЗ. Збільшення x400

В групі пацієнтів зі середнім рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином (n=45) встановлено середнє значення – 6 позитивних клітин у 10HPF (максимально – 19 клітин, мінімально – 1), що відображено на рисунку 4.2.4.

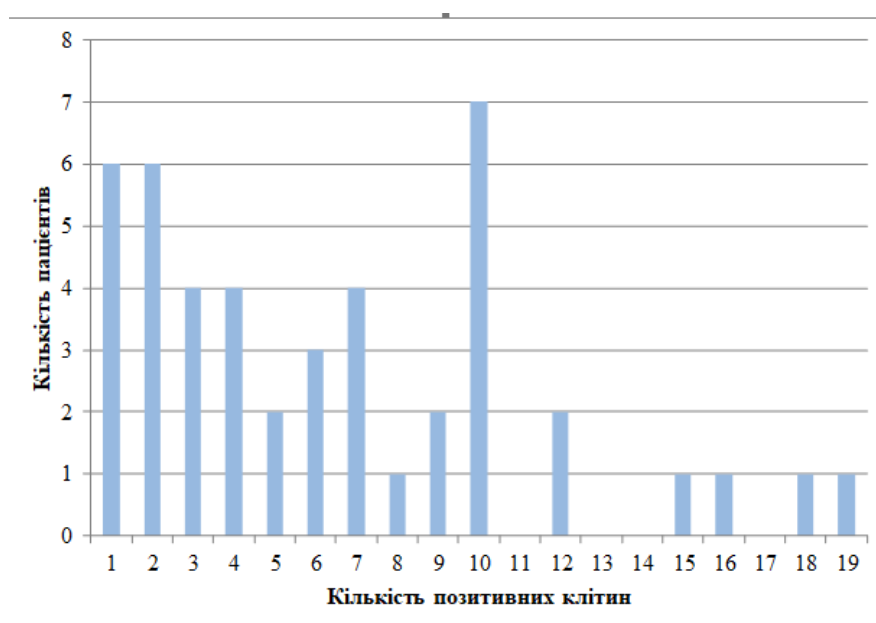


Рис. 4.2.4. Розподіл пацієнтів у групі G2 за кількістю позитивних клітин у 10 HPF

Більша кількість обстежених ($n=25$, 55,6 %) з новоутвореннями середнього рівня диференціювання мали 5 та більше позитивних пухлинних клітин.

Приклад імуногістохімічної діагностики плоскоклітинної карциноми орофарингеальної ділянки G2, за допомогою маркера рННЗ наведено на рис. 4.2.5 при збільшенні 200. На даному слайді відзначаються проліферації атипових клітин з помірно вираженими явищами поліморфізму, поодинокі клітини, що містять мітозом позитивні до рННЗ.



Рис. 4.2.5. G2 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки. Позитивна реакція в поодиноких клітинах серед комплексів пухлинних клітин. ІГХД з рННЗ. Збільшення $\times 200$

У обстежених з низькодиференційованими карциномами ($n=54$) середнє значення вмісту позитивних клітин склало 9 в 10НРФ, при цьому максимально – 22, мінімально – 1 (Рис. 4.2.6).

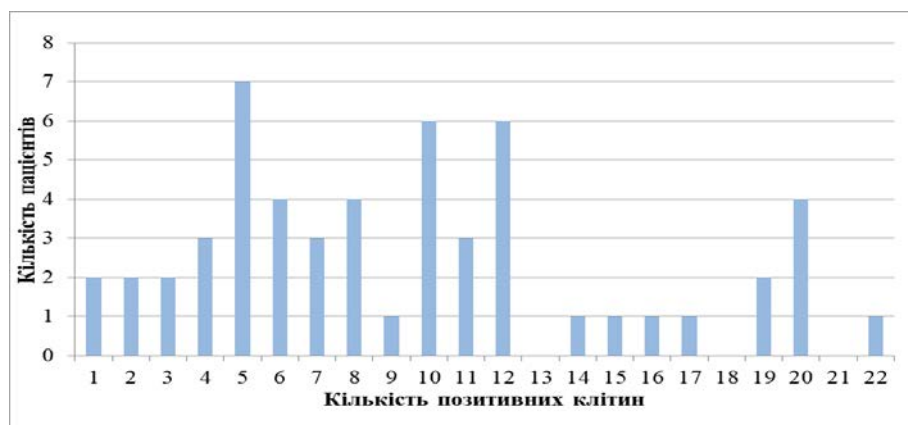


Рис. 4.2.6. Розподіл пацієнтів у групі G3 за кількістю позитивних клітин у 10HPF

Згідно отриманих результатів, у групі пацієнтів з орофарингеальними карциномами низького рівня диференціювання 83,3 % обстежених мали 8 та більше позитивних пухлинних клітин (Рис. 4.2.7).

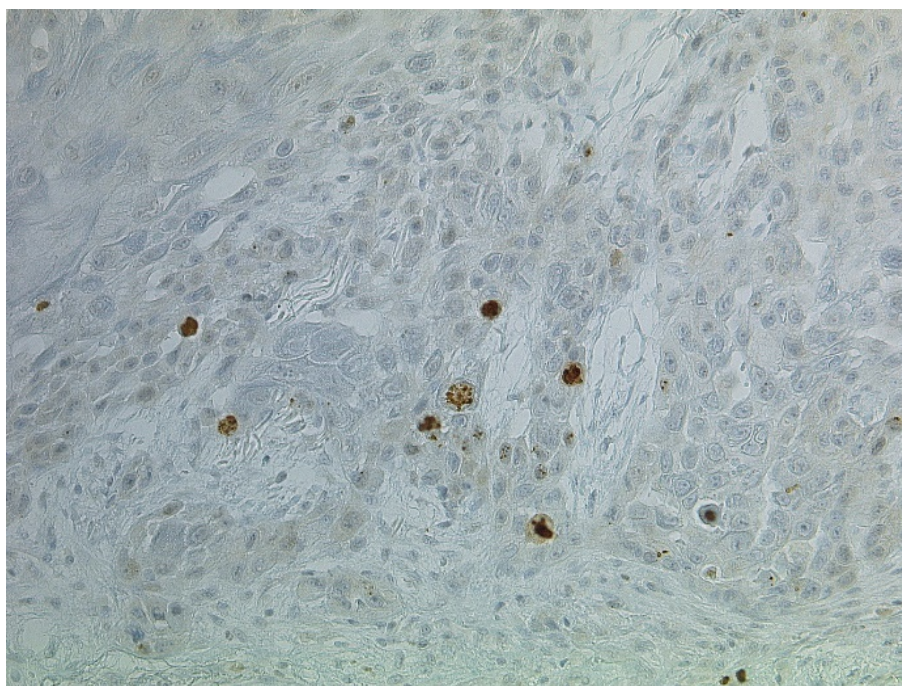


Рис. 4.2.7. G3 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки. Позитивна реакція в групах пухлинних клітин. ІГХД з рННЗ. Збільшення x200

На рис. 4.2.7 та 4.2.8 зображено плоскоклітинну карциному

орофарингеальної ділянки G3, за допомогою маркера рННЗ при збільшенні 200 та 400 відповідно. На даному слайді відзначаються проліферація окремих скупчень атипівих клітин з помірно вираженими явищами поліморфізму, поодинокі клітини, що містять мітозом позитивні до рННЗ.

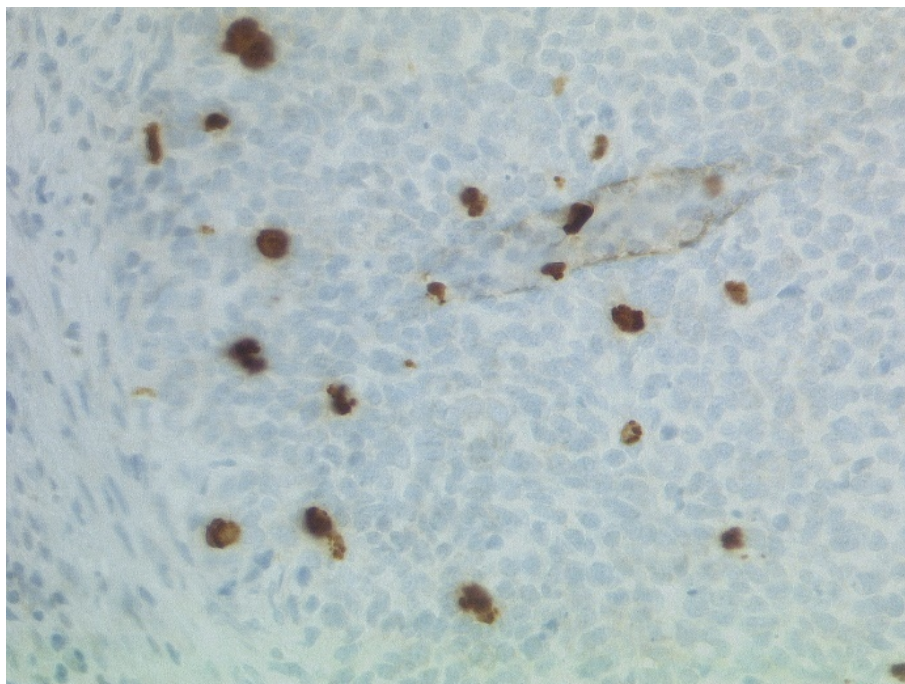


Рис. 4.2.8. G3 плоскоклітинна карцинома орофарингеальної ділянки з вираженою атипією клітин. Різко позитивна експресія в групах пухлинних клітин. ІГХД з рННЗ. Збільшення x400

Враховуючи проведені дослідження мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркера фосфогістон НЗ, нами виявлена більша кількість пацієнтів з 8 та більше позитивними пухлинними клітинами в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (83,3 %), у порівнянні з обстеженими з середньодиференційованими (55,6 %, $p < 0,05$) та високодиференційованими (4,5 %, $p < 0,05$).

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна було проаналізовано медіанне значення маркеру рННЗ в трьох групах пацієнтів.

Таблиця 4.2.1

Медіанне значення маркеру рННЗ в групах пацієнтів з різним рівнем диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином

Показник	Me (Q _I ÷ Q _{III})			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n=22)	G2 (n=45)	G3 (n=54)	
рННЗ	2 [#] (1÷3)	6 ^{*\$} (2÷10)	8,5 ^{*#} (5÷12)	<0,001

Примітки: * – відмінність від показника для G1 вірогідна, $p < 0,05$;

– відмінність від показника для G2 вірогідна, $p < 0,05$;

\$ – відмінність від показника для G3 вірогідна, $p < 0,05$.

Згідно даних медіанне значення маркеру рННЗ в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином складало 2 і було статистично значуще нижчим у порівнянні з обстеженими групи G2 та групи G3 (табл. 4.2.1).

Наведені результати дослідження констатують, що в групі обстежених з орофарингеальними пухлинами середнього рівня диференціювання показник маркеру рННЗ (6) був статистично значуще вищим, ніж у групі G1 та вірогідно нижчим за показник групи G3 (табл. 4.2.1).

Медіанне значення маркеру рННЗ для пацієнтів третьої групи (G3, низькодиференційовані пухлини) склало 8,5, що статистично значуще вище за досліджений показник у обстежених інших двох груп (табл. 4.2.1).

Рис. 4.2.9 наочно відображає вищезазначені результати порівняльного аналізу медіанного значення маркера рННЗ у трьох групах обстежених.

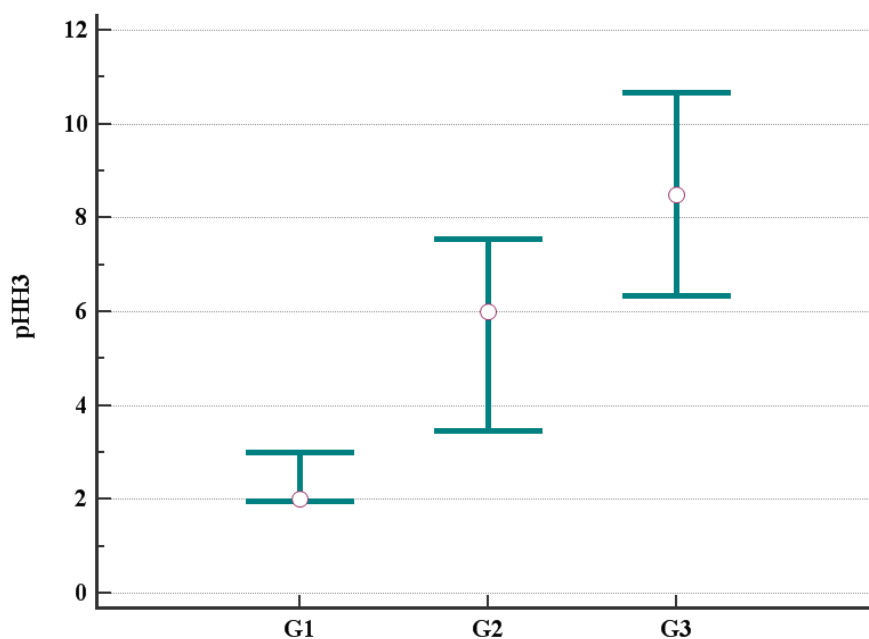


Рис. 4.2.9. Значення показника рННЗ для пацієнтів у трьох групах, представлено медіанне значення та 95% ВІ

Аналізуючи отримані дані було встановлено, що відбувається зростання значення показника рННЗ із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за Крускала–Уолліса критерієм). При чому, для найменшого рННЗ ($p < 0,05$) значення відповідало групі G1 пацієнтів, а найбільше ($p < 0,05$) – групі G3 пацієнтів. Показники групи G2 пацієнтів мали проміжне рННЗ значення, що були ($p < 0,05$) статистично значуще вище, ніж для G1 групи, але нижче ($p < 0,05$), ніж для G3 групи.

4.3. Особливості клітинної інфільтрації в прилеглій стромі плоскоклітинних орофарингеальних карцином в залежності від рівня їх диференціювання

Для визначення структурних особливостей запальних процесів в стромі плоскоклітин орофарингеальної ділянки та для визначення впливу запального процесу на результати позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією у випадках з вираженим запаленням було виконано додатково імуногістохімічне дослідження з використанням CD3 CD20 маркерів, для визначення складу клітинного (запального) інфільтрату, Т- та В-клонів лімфоцитів. За результатами нашого дослідження в першій групі було три випадки в яких спостерігалось виражене запалення. За результатами ПЕТ/КТ SUV_{max} становив відповідно 6,5; 8,7 та 11,8 відповідно. Порівнюючи результатами ПЕТ/КТ загальної когорти пацієнтів першої групи: мінімальне значення метаболічної активності склало (SUV_{min})-3,3, максимальне значення метаболічної активності склало (SUV_{max}) – 29, середнє значення метаболічної активності відповідно 11,1.

За результатами нашого дослідження в другій групі було чотири випадки в яких спостерігалось виражене запалення. За результатами ПЕТ/КТ SUV_{max} становив відповідно 9,5; 12,9; 14,5 та 16 відповідно. Порівнюючи з результатами ПЕТ/КТ загальної когорти пацієнтів першої групи: мінімальне значення метаболічної активності склало (SUV_{min})-5, максимальне значення метаболічної активності склало (SUV_{max}) – 30,7, середнє значення метаболічної активності відповідно 16,2. Результати ПЕТ/КТ у випадках з вираженим запаленням відповідають результатам загальної когорти випадків.

За результатами нашого дослідження в третій групі було шість випадків в яких спостерігалось виражене запалення. За результатами ПЕТ/КТ SUV_{max} становив відповідно 16,2; 19,9; 21; 30,2; 30,6 та 35,9 відповідно. Порівнюючи результатами ПЕТ/КТ загальної когорти пацієнтів першої

групи: мінімальне значення метаболічної активності склало (SUV_{min})-3,5, максимальне значення метаболічної активності склало (SUV_{max}) – 51,5, середнє значення метаболічної активності відповідно 21,1.

Результати ПЕТ/КТ у всіх трьох групах пацієнтів з гістологічними ознаками вираженого запалення відповідають результатам загальної когороти випадків в групі.

Випадки низькодиференційованої орофарингеальної карциноми наведені на рис. 4.3.1 та 4.3.2 з використанням ІХД з маркерами CD3 та CD20 при збільшенні 200 та 400. Відмічається експресія CD3 позитивних дифузно-розсіяних Т-лімфоцитів в плоскоклітинній карциномі орофарингеальної ділянки G3.

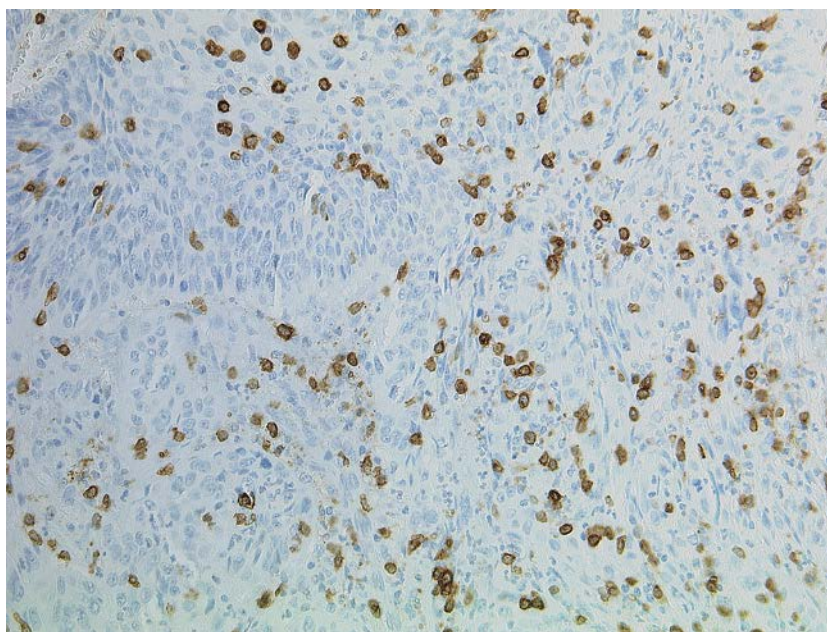


Рис. 4.3.1. Низькодиференційована плоскоклітинна карцинома G3. Позитивна експресія Т-лімфоцитів в клітинах запального інфільтрату пухлини. ІХД з CD3. Збільшення x200

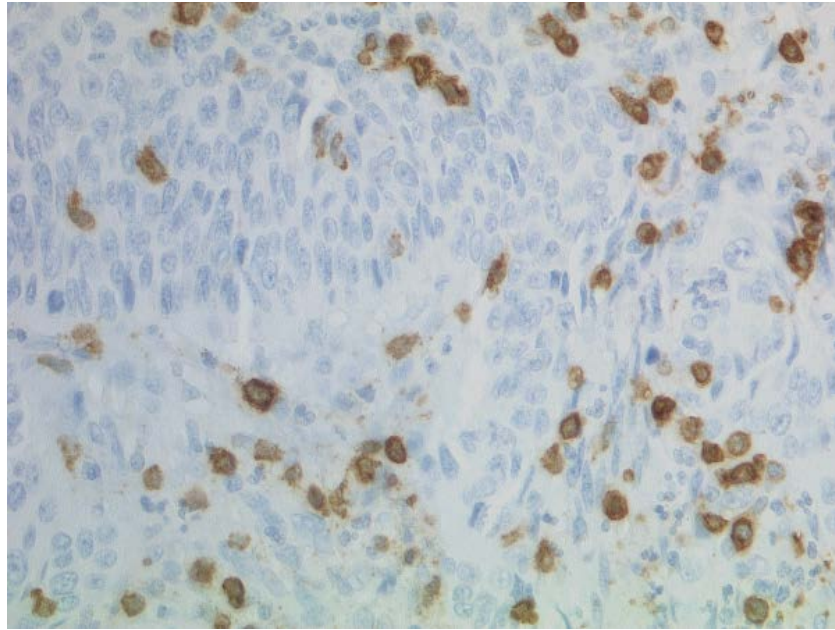


Рис. 4.3.2. Низькодиференційована плоскоклітинна карцинома G3. Позитивна експресія Т-лімфоцитів в щільному клітинному запальному інфільтраті пухлини. ІГХД з CD3. Збільшення x400

Нами відмічено, що експресія з маркером CD3 була в більшості проаналзованих випадків слабо та помірно вираженою, переважно дифузною. При аналізі рівня експресії з маркером CD20 в частині випадків відмічено, що він був більш вираженим, розмовсюдження позитивних В-лімфоцитів спостерігалось переважно обмеженого характеру з формуванням вогнищевих скупчень В-лімфоцитів, що наведено на рис. 4.3.3 та 4.3.4.

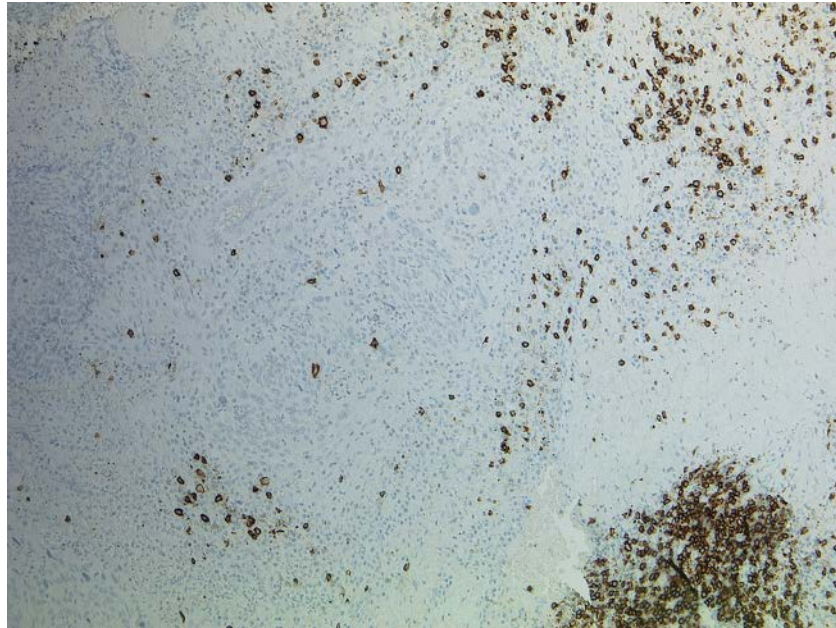


Рис. 4.3.3. Низькодиференційована плоскоклітинна карцинома G3. Експресія CD20 в фокусах запального інфільтрату пухлини, який має обмежений характер розповсюдження. Невеликі ділянки скупчення В-лімфоцитів проміж пухлинних клітин. ІГХД з CD20. Збільшення x100

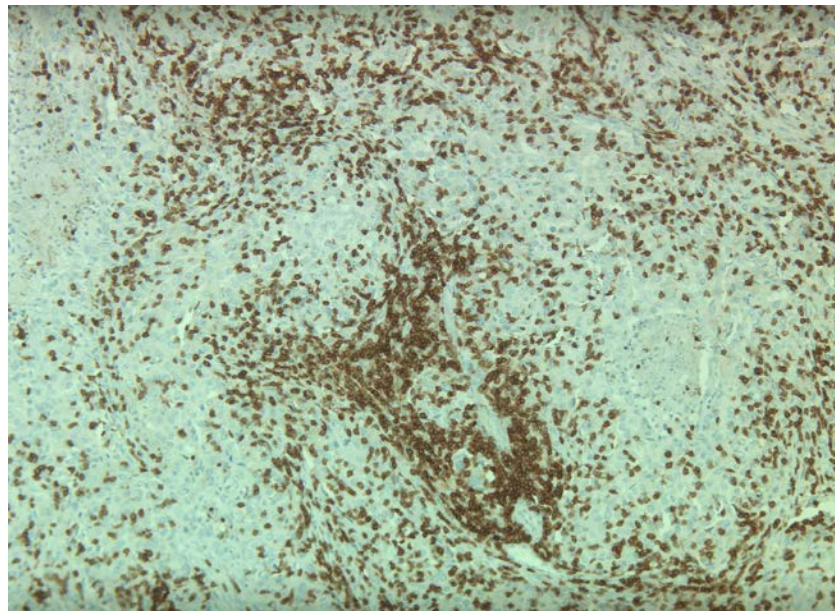


Рис. 4.3.4. Низькодиференційована плоскоклітинна карцинома G3, виражена експресія CD20 в клітинах запального інфільтрату пухлини. ІГХД з CD20. Збільшення x200

Так, за допомогою додаткового імуногістохімічного дослідження з використанням CD3 та CD20 маркерів, нами встановлено переважання В-лімфоцитів у запальному інфільтраті. Нами також доведено відсутність взаємозв'язку між запаленням та результатом ПЕТ/КТ дослідження. Отже, виражені запальні зміни не призводять до збільшення метаболічної активності пухлин зі збільшенням SUVmax.

4.4. Визначення статистичної одноманітності досліджуваних груп пацієнтів.

З метою визначення статистичної одноманітності визначених груп обстежених пацієнтів було проведено кластерний аналіз.

На Рис. 4.4.1 - 4.4.3. представлено поле розсіювання для пацієнтів із різними ступенями диференціювання пухлин (G1, G2, G3) в координатах Ki-67/PNH3, Ki-67/SUVmax та PNH3/SUVmax.

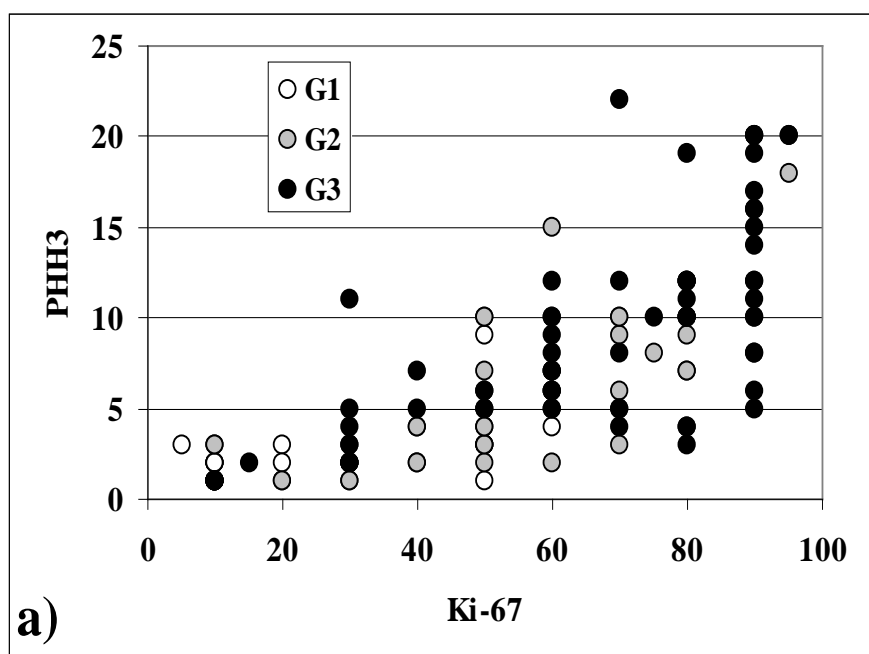


Рис. 4.4.1. Поле розсіювання для пацієнтів із різними ступенями диференціювання пухлин (G1, G2, G3) в координатах Ki-67 / PNH3

Отримані дані свідчать, що для визначення наявності зв'язку показників Ki-67, PNH3, SUVmax із ступенем диференціювання тканини було проведено кластерний аналіз (з використанням методу побудови нейромереж Кохонена). Всі дані в тривимірному просторі (Ki-67, PNH3, SUVmax) розподілялися в три кластери (табл. 4.4.1).

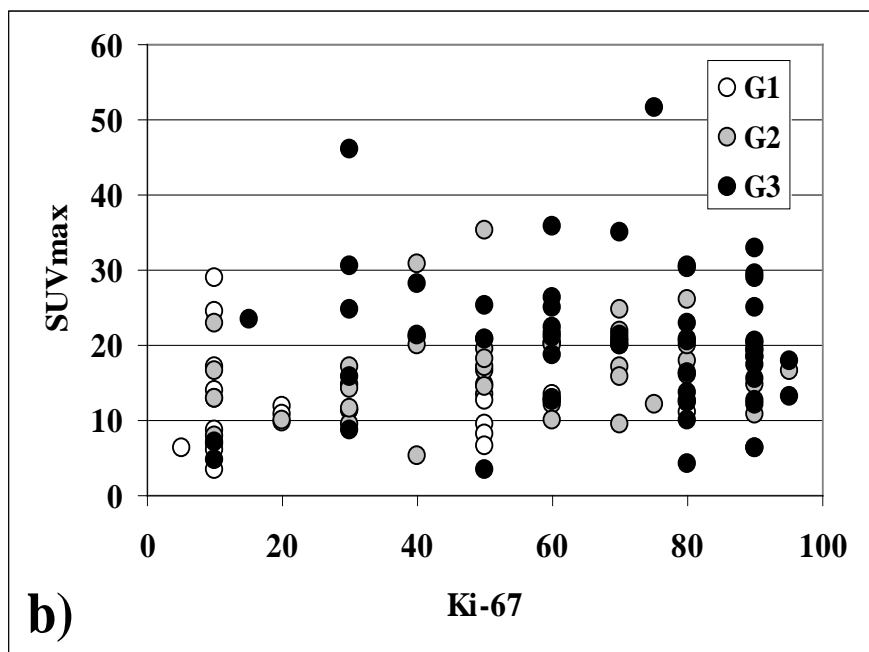


Рис. 4.4.2. Поле розсіювання для пацієнтів із різними ступенями диференціювання пухлин (G1, G2, G3) в координатах Ki-67 / SUVmax

Проведений аналіз даних свідчить про наявність взаємозв'язку ступеню диференціювання пухлин з показниками Ki-67, PNH3, SUVmax, встановлено статистично значущу відмінність розподілу хворих, що віднесені до різних кластерів за ступінню диференціювання пухлин ($p < 0,001$). При цьому, до кластеру 1 і 2 віднесені (в основному) пацієнти із ступінню диференціювання пухлин G2 та G3, а в кластері 3 представлені пацієнти (майже із рівною частотою) з усіма ступенями диференціювання пухлин. Саме тому для подальшого аналізу нами було використано метод побудови логістичних моделей регресії прогнозування ризику високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vs G1) для кожного із показників: Ki-67, PNH3, SUVmax.

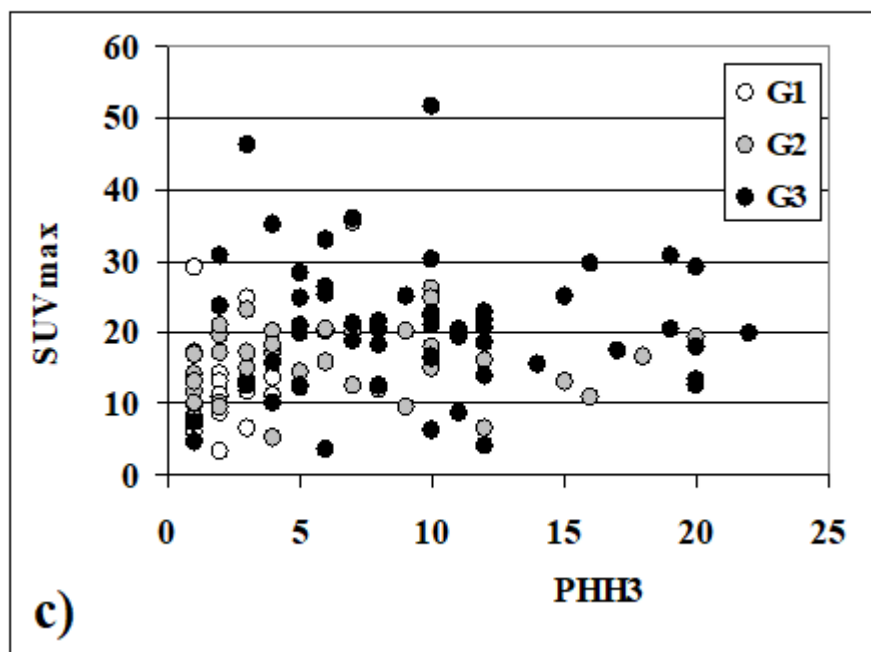


Рис. 4.4.3. Поле розсіювання для пацієнтів із різними ступенями диференціювання пухлин (G1, G2, G3) в координатах rHNS / SUVmax

Отож, проведена оцінка проліферативної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за допомогою маркера Ki-67 свідчить про достовірне зростання відсотка позитивних пухлинних тканин з зниженням ступеню диференціювання пухлини ($p < 0,001$ за Крускала–Уолліса критерієм). При цьому, нами встановлена більша кількість пацієнтів з 50,0 % та вищим відсотком позитивних пухлинних клітин в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (81,5 %), у порівнянні з обстеженими зі середньодиференційованими (71,0 %) та високодиференційованими (31,0 %, $p < 0,05$). Результати аналізу мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, визначеної з використанням маркера rHNS, доводять достовірне зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса). Так, нами виявлена більша кількість пацієнтів з 5 та більше позитивними пухлинними клітинами в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (83,3 %), у

порівнянні з обстеженими зі середньодиференційованими (55,6 %, $p < 0,05$) та високодиференційованими (4,5 %, $p < 0,05$) (табл. 4.4.1).

Таблиця 4.4.1

Кластерний аналіз (з використанням методу побудови нейромереж Кохонена)

Кластер	Ступінь диференціювання тканини			Рівень значущості відмінності, p
	G1	G2	G3	
Кластер 1 (n=49)	1 (2,0)	16 (32,7)	32 (65,3)	<0,001
Кластер2 (n=18)	1 (5,6)	8 (44,4)	9 (50,0)	
Кластер3 (n=54)	20 (37,0)	21 (38,9)	13 (24,1)	

Хибно-позитивні результати в усіх випадках були виключені. Проведений аналіз статистичної одноманітності визначених груп обстежених свідчить про наявність зв'язку ступеню диференціювання тканини з показниками Ki-67, PNH3, SUVmax, виявлено статистично значущу відмінність розподілу пацієнтів, що віднесені до різних кластерів за ступенем диференціювання пухлинних тканини ($p < 0,001$).

РОЗДІЛ 5 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРОФАРИНГЕАЛЬНИХ КАРЦИНОМ ТА КОРЕЛЯЦІЯ З РЕЗУЛЬТАТАМИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ТА ПЕТ/КТ ДОСЛІДЖЕНЬ

5.1. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження KI-67

Прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vsG1). З цією метою усю когорту пацієнтів було розподілено на дві нові групи: одна група – високодиференційовані карциноми, друга група – всі інші пухлини.

Отримані нові групи мали наступні характеристики перша група (високодиференційовані плоскоклітинні карциноми) – 22 матеріали, що складає 18,2% від загальної когорти пацієнтів, рівень ороговіння в тканині пухлини не менше ніж 20 %, відмічається помірновиражений чи слабкий цитологічний поліморфізм, атипові кератиноцити мають нерівномірну, еозинофільну цитоплазму та просвітлені ядра, в яких диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, в складі пухлини не менше 50 % зрілих клітин, міжклітинні десмосоми збережені, спостерігається чіткий ріст солідними полями, в пухлині незначна кількість мітозів – від 0 до 3 у полі зору, можливе помірне чи виражене запалення. Гістологічний субтип у групі переважав звичайний ICD-O Code 8070/3, у 2-ох випадках мало місце карцинома папілярного субтипу ICD-O Code 8051/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: пухлина сформована шляхом проліферації кератоцитів з мінімальними явищами цитологічної атипії – у частини клітин нерівномірна еозинофільна цитоплазма, овоїдні (вогнищево поліморфні) ядра, зустрічаються поодинокі мітотичні фігури. У товщі вогнищ

проліфератів атипівих кератоцитів відзначаються фокуси скваматизації, поодинокі рогові псевдо-кісти, просвіт яких заповнено слоїстими роговими масами. По периферії утворення відмічаються широкі тяжі або суцільний ріст кератоцитів з чіткою межею, вогнищево строма пухлини інфільтрована сегментоядерними нейтрофілами.

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків набрав 1 бал, в трьох випадках було оцінено в 2 бали. Клітинний поліморфізм у більшості випадків був оцінений також в 1 бал, в 7-ми випадках було оцінено в 2 бали. Кількість мітозів у переважній кількості випадків не було виявлено, або були поодинокі – 1 бал, в одному випадку було 2 мітози в полі зору при збільшенні 400 – 2 бали, та в 1 випадку було 4 мітози – 3 бали. В усіх випадках інвазія була чітко обмежена – 1 бал або інфільтрувала солідними полями – 2 бали. В 3-ьох випадках спостерігалось виражене запалення, в решти випадках помірне та незначне.

Друга група містила пухлини з помірним рівнем диференціювання G2 а також з низьким рівнем G3. Характеристика даної групи була наступною: помірнодиференційовані та низькодиференційовані плоскоклітинні карциноми – 99 матеріалів, що склало відповідно 81.8% загальної когорти, рівень ороговіння в тканині пухлини відповідно менше ніж 50%, відмічається помірновиражений та виражений цитологічний поліморфізм, атипіві кератиноцити мають нерівномірну, еозинофільну цитоплазму та просвітлені ядра в яких диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, міжклітинні десмосоми частково або повністю відсутні, інфільтративний ріст можливий в прилеглій тканині дрібними групами клітин, у групі може бути менше ніж 15 клітин, пухлина містить помірну або значну кількість мітозів і відсутня або незначна запальна реакція.

Вся група пухлин була представлена звичайним гістологічним субтипом ICD-O Code 8070/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: пухлина сформована шляхом проліферації атипових кератоцитів з вираженими явищами поліморфізму – клітини мають нерівномірну еозинофільну цитоплазму, поліморфні, переважно просвітлені ядра в котрих диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, десмосомальні містки збережені між частиною клітин. Мітотична активність пухлинних клітин помірна. В товщі вогнищ-проліферації атипових клітин відмічаються формування поодиноких кератинових перлин та в декількох випадках вогнища некрозів.

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne картина була різноманітна, рівень кератинізації в більшій частині випадків був менше 5% та набрав 4 бали, в меншій частині випадків коливався у межах 2-х, 3-х балів, однак були випадки з оцінкою рівня кератинізації в пухлині в 1 бали. Клітинний поліморфізм у більшості випадків був оцінений в 3 та 4 бали, в 2-а бали було оцінено поліморфізм клітин у пухлині у значно меншій кількості, та в 5-ох випадках було оцінено в 1 бал. Кількість мітозів коливалась в широкому діапазоні від 2 до 5 полі зору. Інвазія в даній групі пухлин була різноманітна від солідних полів до груп клітин більше або менше 15 клітин та поодинокими клітинами. У незначній частині випадків спостерігалось виражене запалення, в решти випадках помірне та незначне.

Враховуючи, отримані дані з приводу різниці показника маркеру Ki-67 у пацієнтів з різними рівнем диференціювання пухлин, представляло інтерес проведення методу побудови ROC-кривих для аналізу прогностичних характеристик. При проведенні аналізу випадком нами вважався низький або середній ступінь диференціювання пухлин для пацієнтів з груп G2 та G3, для пацієнтів із групи G1 прогноз вважався сприятливим (не випадок). На Рис. 5.1.1. нами представлена ROC-крива тесту для прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vsG1) за показником Ki-67.

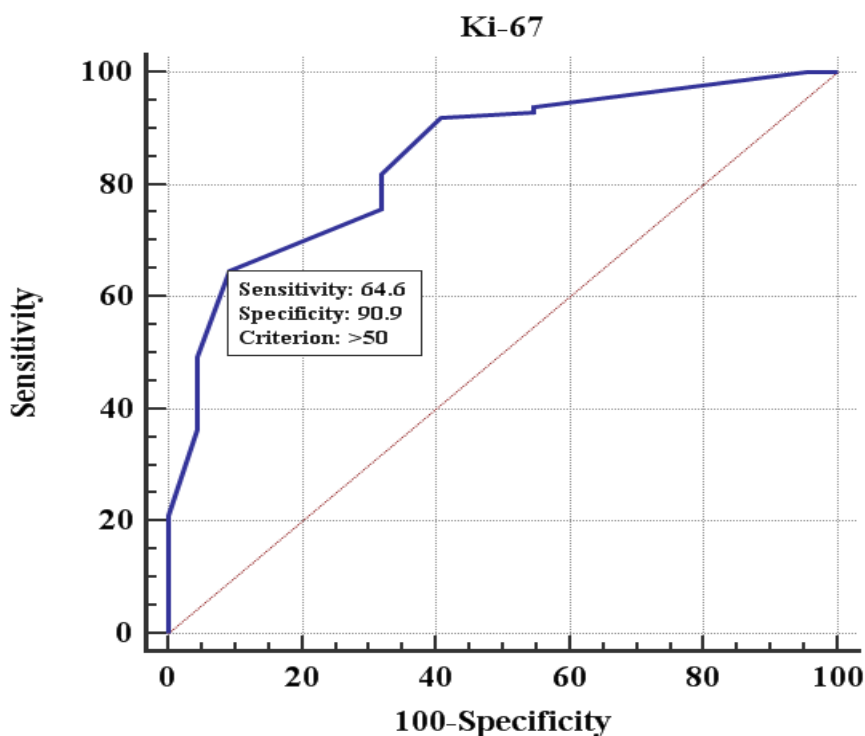


Рис. 5.1.1. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vsG1) за показником Ki-67. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг прийняття рішення, чутливість та специфічність тесту

Встановлена нами адекватність моделі прогнозування ($AUC = 0,85$ 95,0 % ВІ 0,77 – 0,91, статистично значуще, $p < 0,001$ що перевищує 0,5), це свідчить про хороші прогностичні можливості показника Ki-67.

При виборі оптимального порогу (за YoudenIndex) встановлено критичне значення показника ($Ki-67_{crit}$), яке дорівнювало 50,0%. Так, при перевищенні цього значення прогноуються середньодиференційованими та низькодиференційованні. При обраному нами порозі, чутливість тесту складає 64,6 % (95,0 % ВІ 54,4 % – 74,0 %), а специфічність тесту – 90,9 % (95,0 % ВІ 70,8 % – 98,9 %).

Прогнозування низького ступеню диференціювання пухлин (G3 vsG2, G1). З цією метою когорту пацієнтів було знову розподілено на дві нові

групи: матеріали низькодиференційованих карцином, увійшли до першої групи, матеріали помірнодиференційованих та високкодиференційованих карцином увійшли до другої групи.

Отримані групи мали наступні характеристики, перша група низькодиференційованих плоскоклітинних карцином – до групи увійшло 54 матеріали, що склало 44,6% когорти пацієнтів, дані пухлини мали незначний рівень ороговіння, виражений ядерний поліморфізм (зрілих клітин містили менше ніж 25 %), кількість мітозів в пухлинній тканині 5 і більше, інвазія була дрібними групами клітин, що містили менше ніж 15 клітин або інвазія поодинокими клітинами, запалення в переважній частині пухлин було відсутнє.

Вся група пухлин була представлена звичайним гістологічним субтипом ICD-O Code 8070/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: тканина пухлини представлена вогнищевими та солідними розростаннями злоякісної пухлини, побудованої із великих клітин з великими поліморфними гіперхромними та просвітленими ядрами, в ядрах окремих пухлинних клітин визначаються чіткі нуклеоли; цитоплазма пухлинних клітин широка, оптично порожня та еозинофільна, зерниста. Мала місце підвищена мітотична активність, патологічні мітози. В деяких випадках відмічалися поля некрозів в тканині пухлини.

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків був менше 5% - 4 бали, частина випадків з оцінкою рівня кератинізації до 20% пухлині 3 бали. Клітинний поліморфізм в більшості випадків був оцінений також в 3 та 4 бали, в 2-ох випадках було оцінено в 2 бал, та в 1-му випадку було оцінено в 1 бал. Кількість мітозів коливалась в широкому діапазоні від 2 до 5 та більше в полі зору. Інвазія в даній групі пухлин була різноманітна від солідних полів до груп клітин більше 15 клітин та поодинокими клітинами.

Друга група містила пухлини з помірним рівнем диференціювання G2 а також з високим рівнем G1. Характеристика даної групи була наступною: до групи ввійшло 67 матеріалів пухлин, що склало 55,6% від загальної когорти пацієнтів, рівень ороговіння в тканині пухлини не менше ніж 5%, відмічається помірновиражений чи слабкий цитологічний поліморфізм, атипіві кератиноцити мають нерівномірну, еозинофільну цитоплазму та просвітлені ядра в яких диференціюються ядерця та дрібнодисперсний хроматин, в складі пухлини не менше 25% зрілих клітин, міжклітинні десмосоми збережені, спостерігається чіткий ріст солідними полями, в пухлині незначна кількість мітозів – від 0 до 5 у полі зору, можливе помірне чи виражене запалення.

Гістологічний субтип у групі переважав звичайний ICD-O Code 8070/3, за винятком 2-ох випадків папілярного субтипу карциноми ICD-O Code 8051/3.

Загальна гістологічна картина була однорідною для всієї групи пацієнтів та була наступною: пухлина сформована шляхом проліферації кератоцитів з помірними явищами цитологічної атипії – у частини клітин нерівномірна еозинофільна цитоплазма, овоїдні (вогнищево поліморфні) ядра, зустрічаються поодинокі мітотичні фігури. В товщі вогнищ-проліфератів атипівих кератоцитів відзначаються фокуси скваматизації, поодинокі рогові псевдо-кісти, просвіт яких заповнено слоїстими роговими масами. По периферії утворення відмічаються широкі тяжі або суцільний ріст кератоцитів з чіткою межею, вогнищево строма пухлини інфільтрована сегментоядерними нейтрофілами.

При оцінці гістологічної будови за методикою G. Anneroth et, M. Bryne рівень кератинізації в більшій частині випадків набрав від 1 до 3-х балів, однак були випадки з оцінкою рівня кератинізації в пухлині в 4 бали. Клітинний поліморфізм в більшості випадків був оцінений також в 2 та 3 бали, в 4-ох випадках було оцінено в 1 бал, та 4-ох випадках було оцінено в 4

бали. Кількість мітозів коливалась в широкому діапазоні від 0 до 4 полі зору. В усіх випадках інвазія була чітко обмежена – 1 бал або інфільтрувала солідними полями – 2 бали обо групами клітин, але не менше ніж 15 клітин в групі. В 7-ьох випадках спостерігалось виражене запалення, в решті випадків помірне та незначне.

При другому етапі аналізу випадком нами вважалася тільки низька ступінь диференціювання пухлин для пацієнтів з G3 групи, для пацієнтів із груп G1 чи G2 прогноз вважався нами сприятливим (не випадок).

При проведенні нами аналізу тесту за показником Ki-67, нами встановлено адекватність моделі прогнозування (AUC = 0,73 95,0 % ВІ 0,64 – 0,80, статистично значуще, $p < 0,001$ перевищує 0,5), це свідчить про задовільні прогностичні можливості показника (Рис. 5.1.2).

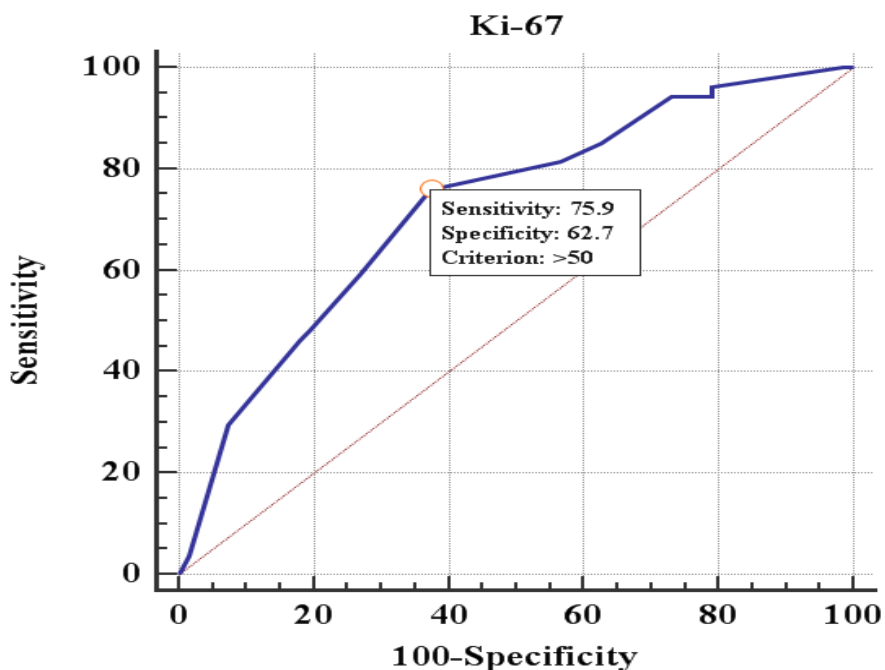


Рис. 5.1.2. ROC-крива тесту прогнозування низького ступеню диференціювання пухлин (G3 vs G1, G2) за показником Ki-67. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг для прийняття рішення, чутливість і специфічність тесту

При виборі нами оптимального порогу (за YoudenIndex) було встановлено критичне значення для показника **Ki-67_{crit} = 50,0 % (при перевищенні даного значення прогнозується G3 пухлина)**. При обраному намі порозі чутливість тесту складає у нас 75,9 % (95,0 % ВІ 62,4 % – 86,5 %), специфічність тесту складає – 62,7 % (95,0 % ВІ 50,0 % – 74,2 %).

У кінцевому результаті, нами встановлено, що при наявності у зразку 50,0 % позитивних клітин, визначених за допомогою маркера Ki-67, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

5.2. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження рННЗ

Для виконання порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження рННЗ нами було використано попередньо створені в пункті 5.1 групи.

Ми виконуємо прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vs G1). При проведенні нами аналізу на першому етапі вважався випадком низький або середній ступінь диференціювання пухлин для хворих з груп G2 та G3, для хворих із G1 прогноз вважався сприятливим (не випадок).

З цією метою когорту пацієнтів було розподілено на дві групи: одна група – високодиференційовані карциноми, друга група – всі інші пухлини.

Друга група містила пухлини з помірним рівнем диференціювання G2 а також з низьким рівнем G3.

При проведенні нами аналізу тесту за рННЗ показником встановлено адекватність моделі прогнозування ($AUC=0,85$ 95,0 % ВІ 0,77 – 0,91, статистично значуще, $p<0,001$ що перевищує 0,5) та свідчить про хороші прогностичні властивості показника (Рис. 5.2.1).

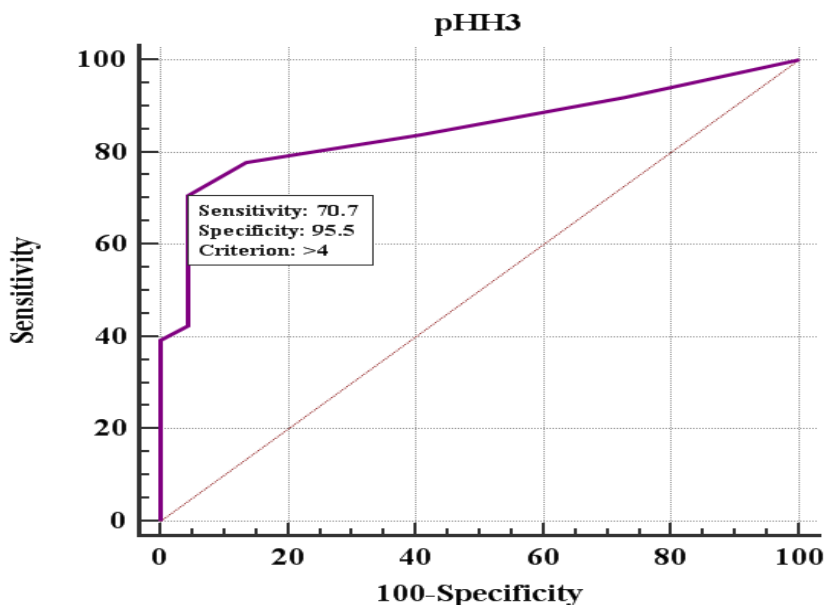


Рис. 5.2.1. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vs G1) за рННЗ показником. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг для прийняття рішення, чутливість і специфічність тесту

При виборі нами оптимального порогу (за YoudenIndex) було встановлено критичне значення показника для $\text{pHN3}_{\text{crit}} = 4$ (при перевищенні даного значення прогнозується G2, G3 пухлини). При обраному нами порозі чутливість тесту відповідно складає 70,7 % (95,0 % ВІ 60,7 % – 79,4 %) та специфічність тесту – 95,5 % (95,0 % ВІ 77,2 % – 99,9 %).

Прогнозування низького ступеню диференціювання пухлин (G3 vs G2, G1). На другому етапі аналізу нами вважався випадком тільки низька ступінь диференціювання пухлин для пацієнтів з групи G3, для пацієнтів із груп G1 чи G2 прогноз вважався нами сприятливим (не випадок).

З цією метою було використано попередньо створені групи: група низькодиференційованих карцином, група помірнодиференційованих та високодиференційованих карцином.

При проведенні нами аналізу тесту за рННЗ показником встановлено було адекватність моделі прогнозування (AUC=0,75 95% ВІ 0,66–0,82, статистично значуще, $p < 0,001$ що перевищує 0,5 (Рис. 5.2.2), що свідчить відповідно про задовільні прогностичні можливості показника.

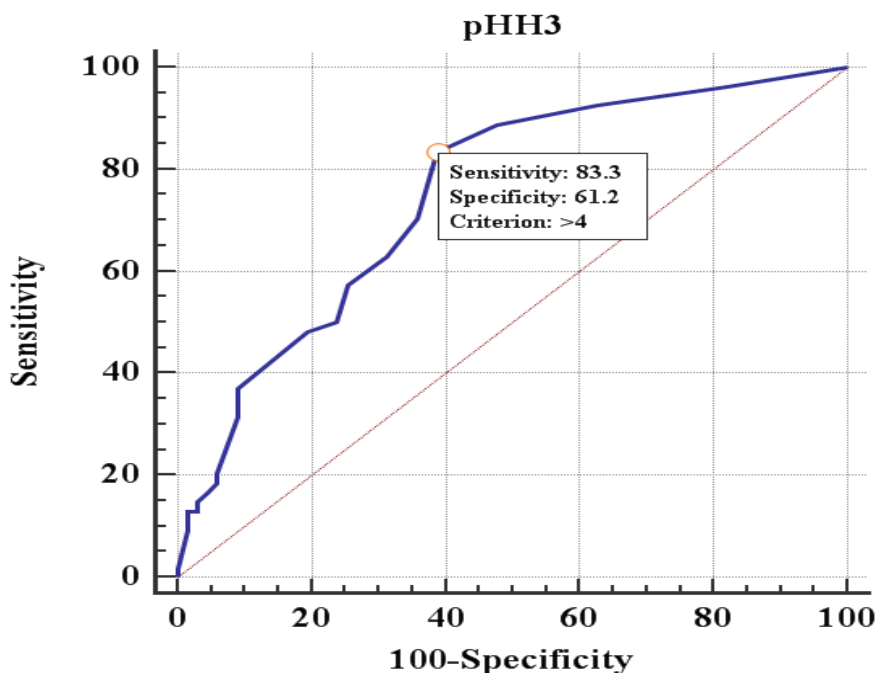


Рис. 5.2.2. ROC-крива тесту прогнозування низького ступеню диференціювання пухлин (G3 vs G2, G1) за рННЗ показником. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг для прийняття рішення, чутливість і специфічність тесту

При виборі нами оптимального порогу (за YoudenIndex) було встановлено критичне значення для показника $\text{pННЗ}_{\text{crit}} = 4$ (при перевищенні данного значення прогнозується G3 пухлини). При обраному нами порозі чутливість тесту складає відповідно 83,3 % (95,0 % ВІ 70,7 % – 92,1 %), та специфічність тесту – 61,2 % (95,0 % ВІ 48,5 % – 72,9 %).

Отже, нами доведено, що при наявності у зразку 4 мітозів, визначених за допомогою маркера **рННЗ**, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

5.3. Порівняння гістологічної будови пухлин з результатами ПЕТ/КТ діагностики

Для виконання порівняння гістологічної будови пухлин з результатами ПЕТ/КТ діагностики нами було використано попередньо створені дві групи матеріалів

Прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vs G1).

При проведенні нами аналізу на першому етапі нами вважався випадком низька або середня ступінь диференціювання пухлин для пацієнтів з груп G2 та G3, для пацієнтів із групи G1 прогноз вважався нами сприятливим (не випадок).

З цією метою когорту пацієнтів було розподілено на дві групи: одна група – високодиференційовані карциноми, друга група – всі інші пухлини.

Перша група (високодиференційовані (G1) плоскоклітинні карциноми) включає 22 матеріали, що становить 18,2% від загальної кількості.

Друга група (помірnodиференційовані (G2) та низькодиференційовані (G3)) включає 99 матеріалів, що склало відповідно 81,8% від кількості.

При проведенні нами аналізу тесту за SUV_{max} показником також встановлено адекватність моделі для прогнозування (однак $AUC = 0,78$ $95,0\% \text{ ВІ } 0,70 - 0,85$, статистично значуще, $p < 0,001$ що перевищує 0,5 (Рис. 5.3.1), та свідчить про задовільні прогностичні можливості показника.

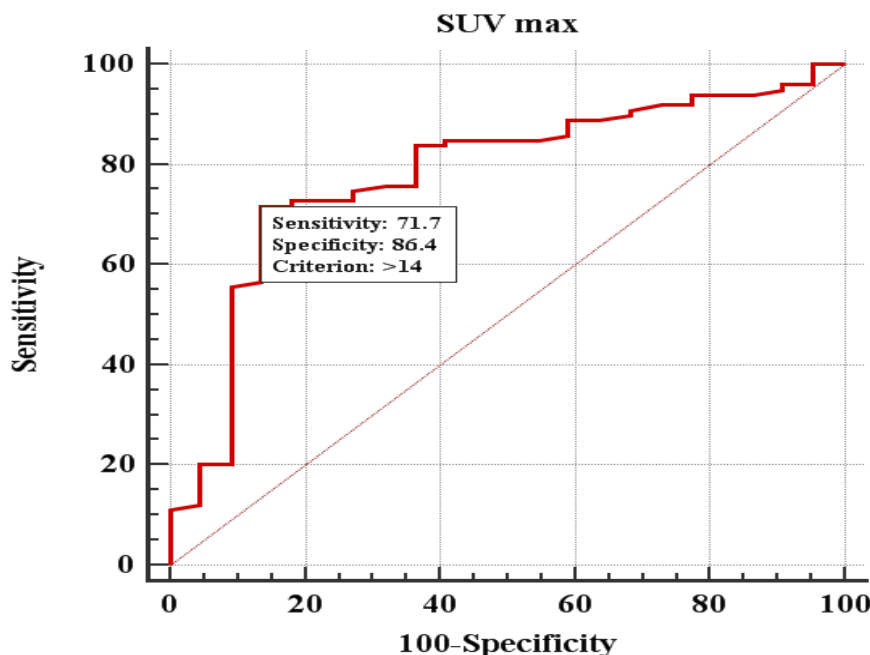


Рис. 5.3.1. ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3, G2 vsG1) за SUV_{max} показником. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг для прийняття рішення, чутливість і специфічність тесту

При виборі нами оптимального порогу (за YoudenIndex) було встановлено критичне значення показника для $SUV_{crit} = 14$ (**при перевищенні даного значення прогнозується G2, G3 пухлин**). При обраному нами порозі чутливість тесту, що складає 71,7 % (95,0 % ВІ 61,8 % – 80,3 %), специфічність тесту відповідно – 86,4 % (95,0 % ВІ 65,1 % – 97,1 %).

Прогнозування низького ступеню диференціювання пухлин (G3 vsG2, G1).

На другому етапі аналізу нами вважався випадком тільки низька ступінь диференціювання пухлин для пацієнтів з G3 групи, для пацієнтів із груп G1 чи G2 прогноз вважався відповідно сприятливим (не випадок).

З цією метою когорту пацієнтів було розподілено на дві групи: група низькодиференційованих карцином, та група помірнодиференційованих та високодиференційованих карцином.

До першої групи низькодиференційованих плоскоклітинних карцином увійшло 54 матеріали (44,6% когорти пацієнтів).

Друга група містила пухлини з помірним рівнем диференціювання (G2), а також з високим рівнем (G1), до котрої увійшло 67 матеріалів пухлин (55,6% від загальної когорти пацієнтів).

При проведенні нами аналізу тесту за SUV_{max} показником було встановлено адекватність моделі для прогнозування (однак $AUC=0,70$ 95% ВІ 0,61–0,78, що статистично значуще, $p<0,001$ та перевищує 0,5, (Рис. 5.3.2), та свідчить про задовільні прогностичні можливості показника.

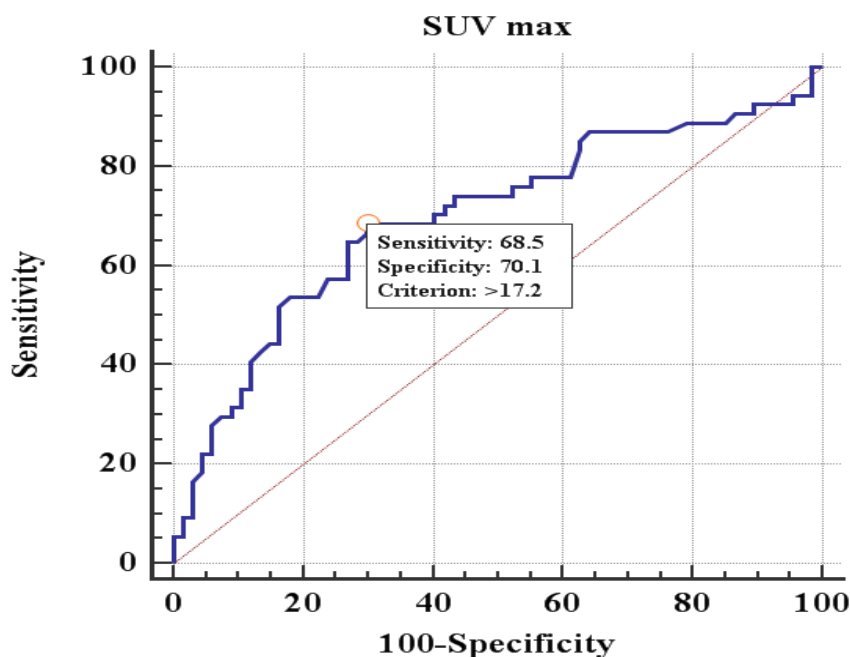


Рис. 5.3.2 ROC-крива тесту прогнозування високого ступеню диференціювання пухлин (G3 vs G2, G1) за SUV_{max} показником. Вказано оптимальний (за YoudenIndex) поріг для прийняття рішення, чутливість і специфічність тесту

При виборі нами оптимального порогу (за YoudenIndex) було встановлено критичне значення для показника $SUV_{crit} = 17,2$ (**при перевищенні даного значення прогнозується G3 пухлина**). При обраному нами порозі чутливість тесту відповідно складає 68,5 % (95,0 % ВІ 54,4 % – 80,5 %), та специфічність тесту – 70,2 % (95,0 % ВІ 57,7 % – 80,7 %).

У результаті, нами доведено, що при перевищенні показника SUV_{max} 14 прогнозується середній та при перевищенні 17,2 низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

5.4. Взаємозв'язок між маркерами Ki-67, pHH3 та результатами ПЕТ-КТ в плоскоклітинних пухлинах орофарингеальної ділянки

Для виявлення наявності зв'язку між показниками Ki-67, було використано кореляційний аналіз. Кореляційна матриця (приведено ранговий показник кореляції Спірмена та рівень значущості відмінності його від 0) (табл. 5.4.1).

Таблиця 5.4.1

Кореляційний аналіз Ki-67, pHH3 і SUV_{max}

Показник	Ki-67	pHH3	SUV _{max}
Ki-67		0,814 (p<0,001)	0,214 (p=0,019)
pHH3	0,814 (p<0,001)		0,301 (p<0,001)
SUV _{max}	0,214 (p=0,019)	0,301 (p<0,001)	

Так, встановлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку, між показниками Ki-67 та pHH3 ($r = 0,814$ при $p < 0,001$) та слабкого позитивного кореляційного зв'язку показника SUV_{max} із Ki-67 ($r = 0,214$ при $p = 0,019$) та pHH3 ($r = 0,301$ при $p < 0,001$).

При проведення методу побудови ROC-кривих для аналізу прогностичних характеристик було встановлено наступне. При наявності у зразку 50,0 % позитивних клітин, визначених за допомогою маркера Ki-67, прогнозується наявність середнього та низького рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. Наявність у зразку 4 мітозів, визначених за допомогою маркера **pHH3**, вказує на середній та низький рівень диференціювання зазначених новоутворень. Перевищення показника SUV_{max} більше 14 свідчить про середній рівень диференціювання обговорюваних пухлин, а при перевищенні значення 17,2 про низький рівень.

При визначенні взаємозв'язку між досліджуваними імуногістохімічними маркерами встановлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між показниками Ki-67 та pHH3 ($r = 0,814$ при $p < 0,001$) та слабого позитивного кореляційного зв'язку показника SUV_{max} із Ki-67 ($r = 0,214$ при $p = 0,019$) та pHH3 ($r = 0,301$ при $p < 0,001$).

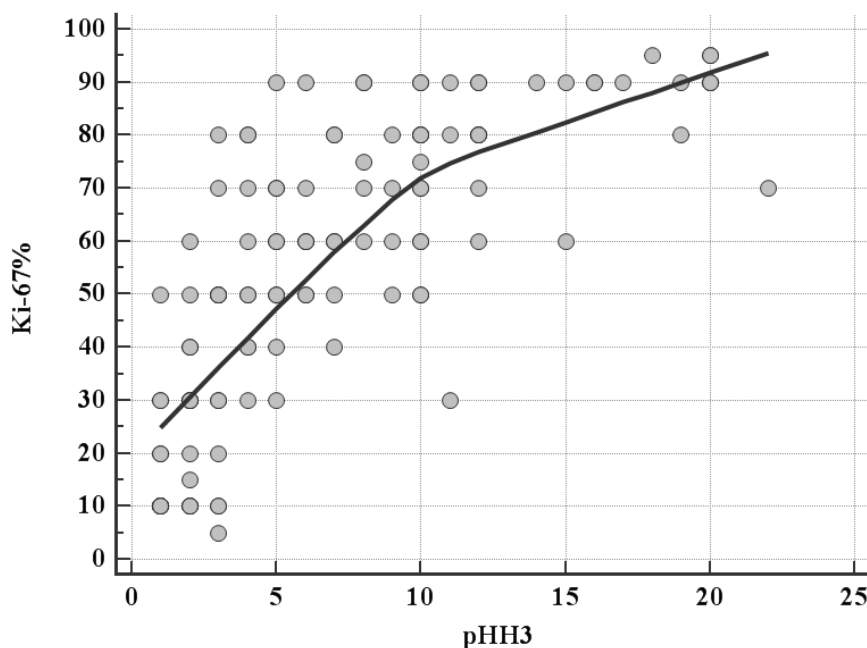


Рис. 5.4.1. Кореляційний аналіз Ki-67, pHH3

На рисунку 5.4.1 представлений сильний позитивний кореляційний взаємозв'язок показників Ki-67 та pHH3.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дані літератури та результати власних спостережень свідчать про те, що проблема плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки залишається актуальною через значний їх відсоток в структурі всіх пухлин даної локалізації (понад 90,0 %), високу поширеність та зростання частоти із року в рік [25, 78, 216, 231, 250, 252].

Початок захворювання частіше всього безсимптомний, що в більшості випадків призводить до виявлення пухлин на більш пізніх стадіях. Частіше всього пацієнти самостійно виявляють утворення орофарингеальної ділянки, чи звертаються за медичною допомогою уже з порушеннями ковтання, артикуляції, болем. Приєднання вторинної інфекції у даних випадках призводить до важкості при встановленні вірного діагнозу [25].

Роль різноманітних факторів ризику у виникненні плоскоклітинного раку орофарингеальної ділянки досліджено у багатьох працях, було встановлено низку закономірностей онкогенезу. Однак, незважаючи на це, плоскоклітинні карциноми даної локалізації залишаються складним питанням в плані градування рівня диференціювання та прогнозу [25, 29, 101, 121, 140, 156, 236, 247, 250, 253, 256].

Питання діагностики також залишаються дискусійними та потребують змін згідно потребам сьогодення. Використання новітніх додаткових морфологічних методів прижиттєвої діагностики є необхідним для вирішення тактики лікування хворого, встановлення прогнозу та відокремлення факторів ризику прогресування та можливого рецидивування пухлини.

Перспективним є проведення порівняльної оцінки даних ПЕТ-КТ та гістологічних, імуногістохімічних досліджень (ІГХД), з подальшим визначенням критеріїв для визначення рівня диференціювання пухлин, з метою покращення діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки різного ступеню диференціювання.

У зв'язку з цим, до задач, які були поставлені в нашому дослідженні входило:

1. Виконати ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу з наступним визначенням рівня диференціювання пухлин.
2. Визначити закономірності між ступенем диференціювання пухлин та результатами імуногістохімічного дослідження.
3. З'ясувати взаємозв'язок між результатами позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією та картиною гістологічної будови пухлин.
4. Сформулювати рекомендації для покращення визначення рівня диференціювання пухлин в залежності від їх метаболічної активності та рівня «справжніх» мітозів. Порівняти вихідні дані та встановити закономірності.
5. Встановити структурні особливості запальних процесів в стромі пухлини в порівнянні з результатами позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією.

Для вирішення поставлених задач обстежено 121 пацієнт, а саме 20 жінок (16,5 %) та 101 чоловік (83,5 %), віком від 35 до 95 років, які пролікувались у госпіталі Бундесвер (м. Ульм, Німеччина) з 1 травня 2012 р. по 1 січня 2015 р., і були прооперовані з приводу раку орофарингеальної ділянки, мали гістологічний діагноз – плоскоклітинна карцинома, з визначенням рівня диференціювання.

Першим етапом нашого дослідження став ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу з повторним визначенням рівня диференціювання пухлин, який був опрацьований за методикою [13]. Зазначена методика оцінки рівня диференціювання пухлини включає в себе: гістологічну структуру, рівень ороговіння, поліморфізм ядер (відсоток зрілих клітин), кількість мітозів, вид інвазії пухлинного фронту та запальна реакція стромы. Характеристика кожного з параметрів відповідає певній кількості балів. Проведений аналіз дозволив нам достовірно розподілити когорту обстежених

пацієнтів на три групи в залежності від рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

У всіх випадках було проведене гістологічне дослідження з використанням світлової мікроскопії виконували за допомогою мікроскопу Leica DM 6000 B, Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar оснащеного об'єктивами x5, x10, x20, x40, x100. Гістологічні зрізи виконували на ротаційному мікротомі HM 355S, Section-Transfer-System, Walldorf товщиною 4 мкм. Забарвлювали за допомогою автомату Ventana BenchMark (Ventana Medical Systems, Ventana, USA).

Залежно від рівня диференціювання новоутворення, всі обстежені хворі були розподілені на три групи. До першої групи (G1) обстежених увійшли 22 пацієнта (18,2 %) з високодиференційованими плоскоклітинними карциномами. Другу групу (G2) склали 45 осіб, що становило 37,2 % загальної когорти. Обстежені цієї групи мали середньодиференційовані плоскоклітинні карциноми. У хворих третьої групи (G3, n=54; 44,6 %) задокументований низький рівень диференціювання досліджуваних новоутворень.

Отримана нами гістологічна характеристика кожної групи була наведена у відповідних розділах роботи.

З метою визначення рівня диференціювання пухлин всім пацієнтам виконали імуногістохімічне дослідження (ІГХД) із готовими до використання моноклональними антитілами до Ki-67 (моноклональний, мишачий анти-Ki-67 антиген, Clone MIB-1, ZYTOMED Systems GmbH-Berlin), готовий до використання маркер рННЗ (кролячий поліклональний антиген, Clone BC37, Biocare Medical Inc, 4040 Pike Lane, Concord, CA 94520, USA).

Наступним етапом нашої роботи стало дослідження проліферативної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки використовуючи імуногістохімічний маркер Ki-67, визначення якого є

стандартом при діагностиці та встановлення рівня диференціювання пухлин. Даний імуногістохімічний маркер позитивний у клітинному циклі під час G1T, G1B, S, G2 фаз, та фазі мітозу. В сучасній патоморфологічній діагностиці в пухлинах різної локалізації використання данного імуногістохімічного маркеру входить в діагностичний протокол, та використовується для встановлення індексу проліферативної активності клітин [1, 142, 164, 186, 216, 229, 268]. Результат експресії маркеру Ki-67 вимірюється у відсотках співвідношення позитивних до негативних пухлинних клітин [1, 142, 164, 186, 216]. Данний результат використовують в подальшому при плануванні тактики лікування пацієнта, встановлення ризику прогресування та можливого рецидиву пухлини [142, 164, 186, 229].

Нами виявлена більша кількість пацієнтів з 50,0 % та вищим відсотком Ki-67 позитивних пухлинних клітин в групі з низькодиференційованими новоутвореннями (81,5 %), у порівнянні з обстеженими з середньо- (71,0 %) та високодиференційованими (31,0 %, $p < 0,05$).

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна був проведений статистичний аналіз медіанного значення маркеру Ki-67 в трьох групах пацієнтів.

Медіанне значення маркеру Ki-67 в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином складало 20,0 % і було статистично значуще нижчим у порівнянні з обстеженими групи G2 та групи G3. В групі обстежених з орофарингеальними пухлинами середнього рівня диференціювання показник маркеру Ki-67 (60,0 %) був статистично значуще вищим, ніж у групі G1 та вірогідно вищим за показник групи G3. Медіанне значення маркеру Ki-67 для пацієнтів третьої групи (G3, низькодиференційовані пухлини) складало 70,0 %, що статистично значуще вище за досліджений показник у обстежених інших двох груп.

Так, слід акцентувати увагу на доведене нами зростання медіанного значення маркеру Ki-67 із зниженням ступеню диференціювання

плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за Крускала–Уолліса критерієм). При цьому, де найменше Ki-67 ($p < 0,05$) значення відповідало пацієнтам G1 групи, а найбільше значення ($p < 0,05$) відповідало пацієнтам G3 групи. Показники ж для пацієнтів G2 групи мали проміжне Ki-67 значення, що були відповідно статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для G1 групи пацієнтів, але нижче ($p < 0,05$), ніж для G3 групи пацієнтів.

Не дивлячись на це, даний метод імуногістохімічного дослідження має низку недоліків, основні з яких - це високий рівень витраченого часу на дослідження, для підрахунку відсоткового складу позитивних клітин та реакція даного маркеру у всіх стадіях мітозу. Так, E. P. Dias et al. [2] в результатах свого дослідження, що було проведено на гістологічному матеріалі із злякисними та доброякісними новоутвореннями ротової порожнини, вказує на високий рівень ефективності даного методу у діагностиці з одного боку. З іншого боку, забарвлення Ki-67 потребує надмірної затрати часу та неоднорідність останнього, в зв'язку з чим, було виділено 4 групи позитивних клітин в залежності від інтенсивності реакції з Ki-67 класифікацію паттернів ядерної позитивності (NP1, NP2, NP3, NP4) даний ефект автори пов'язують з широким спектром експресії маркеру в усіх стадіях мітозу.

Sun X. [221] та інші автори в свої роботах також описують широкий спектр експресії Ki-67 в матеріалі.

Отримані нами дані та проаналізовані літературні джерела, дозволили встановити, що використання маркеру Ki67 має низку недоліків, а саме: він є позитивним протягом всієї інтерфази та фази мітозу (коли експресія клітин з рННЗ – тільки у Мст), в апоптотичних ядрах клітин, у певному відсотку запальних клітин; важко піддається обрахунку (підрахунок ведеться у відсотках пухлинних клітин).

Мітотична активність новоутворень є невід'ємною та важливою складовою діагностики, використовується для оцінювання ступеня

диференціювання пухлин [53, 276], визначення якої стало четвертим етапом нашого дослідження. Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки в нашому дослідженні проводилось за допомогою імуногістохімічного методу з використанням маркера фосфогістон НЗ (pHH3). Цей маркер визначає саме справжні мітози серед клітин, що знаходяться в різних стадіях мітозу (М-стадію), серед апоптичних ядер та запального інфільтрату та клітин, що знаходяться у G1, G2, S стадіях [25]. Результат оцінювався мікроскопічно: у 10 полях зору при збільшенні 400 (10 HPF) підраховано кількість мітозів.

Показники pHH3 в групі обстежених з орофарингеальними карциномами високого рівня диференціювання був наступний: одну позитивну клітину виявлено у 6 пацієнтів з групи, дві – у 7 чол., три – у 6 чол., чотири – у 2 чол. Та максимально – дев'ять – у одного обстеженого. Отже, лише 4,5 % обстежених мали більше 5 позитивних клітин.

Показники pHH3 в групі обстежених з орофарингеальними карциномами середнім рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином встановлено середнє значення – 6 позитивних клітин у 10HPF.

Показники pHH3 в групі обстежених з орофарингеальними карциномами низького рівня диференціювання 83,3 % обстежених мали 8 та більше позитивних пухлинних клітин.

Згідно даних, медіанне значення маркера pHH3 в групі пацієнтів з високим рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином, складало 2 і було статистично значуще нижчим, у порівнянні з обстеженими групи G2 та групи G3.

В групі обстежених з середнього рівнем диференціювання плоскоклітинних карцином показник маркера pHH3 склав 6 та був статистично значуще вищим, ніж у групі G1, та, вірогідно нижчим, за показник групи G3.

Медіанне значення маркеру рННЗ для пацієнтів третьої групи (G3, низькодиференційовані пухлини) склало 8,5, що статистично значуще вище за досліджений показник у обстежених інших двох груп.

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна було проаналізовано медіанне значення маркеру рННЗ в трьох групах пацієнтів.

При аналізі отриманих даних, нами було встановлено, зростання значення показника рННЗ у тканині пухлин із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинного варіанту карциноми орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за Крускала–Уолліса критерієм). При цьому відзначалось, щонайменше ($p < 0,05$) значення рННЗ що відповідало групі G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам G3 групи. Показники значень для пацієнтів G2 групи мали проміжне значення рННЗ, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для G1 групи пацієнтів, але нижче ($p < 0,05$), ніж для G3 групи пацієнтів.

На даний момент, існують публікації стосовно окремих локалізацій, а саме: пухлин молочної залози, головного мозку, та інших, в яких зазначено, що використання маркеру рННЗ зменшує складність визначення та підрахунку позитивних клітин та час витрачений на дослідження. Підрахунок позитивних клітин та встановлення ступеня диференціювання при використанні маркеру рННЗ з більшою точністю дозволяє встановлювати рівень злоякісності пухлини, що дозволяє більш точно спрогнозувати перебіг захворювання, призначити адекватну терапію то встановити прогноз.

Опрацьовуючи зарубіжні літературні джерела ми не знайшли робіт, які описували особливості експресії маркеру рННЗ в плоскоклітинних карциномах орофарингеальної ділянки. Поряд з цим є низка робіт з застосування рННЗ в пухлинах інших локалізацій.

Е. Mirzaiian et al. [241] та J. E. C. van Steenhoven et al. [14] висловлюють певні сумніви, щодо достовірності проведення дослідження з використанням маркеру Ki-67 для визначення рівня диференціювання різних форм карцином

молочної залози та пропунують кращу альтернативу на корисність pHH3, як маркера мітозу. У своєму дослідженні вони розглянули можливість використання маркеру pHH3 при різних ступенях раку молочної залози та порівняння його з традиційною методикою підрахунку індексу проліферації з маркером Ki-67.

Як результат, Mirzaiian et al. дослідили 90 випадків інвазивної карциноми молочної залози. Середня кількість мітозів становила 5,2/10HPF, 7,8/10HPF та 14,3/10HPF у групах відповідно. Спостерігався високий рівень кореляції результатів експресії маркеру pHH3 з іншими методиками дослідження ($R = 0,914$) [241].

В роботі J. E. C. van Steenhoven et al. було досліджено матеріал 159 пацієнтів з раннім протоковим раком молочної залози, в якому проведено виявлення мітотичної фігури за допомогою маркеру pHH3. В даній роботі автори зазначили, що недивлячись на прогностичне значення Ki-67, даний метод має недоліки, одним з основних визначили погану відтворюваність, що також відображається в результатах їх дослідження. Міжлабораторна мінливість у методики забарвлення Ki-67 та методика оцінки результатів фахівцями вказують на потребу в подальших пошуках більш ефективного та стабільного маркеру для визначення справжніх мітозів. Перевагою маркеру pHH3 автори відзначили простоту інтерпретації результату (не потребує багато досвіду, використання великого збільшення зображення мікроскопу) та швидкість проведення підрахунків [14].

Низка робіт була виконана з використанням маркеру pHH3 для провеження морфологічної діагностики пухлин головного мозку. В представлених роботах S. Fukuschima et al. [209] та N. Puripat et al. [173] відзначили ефективність визначення мітозів в менінгіомах головного мозку пацієнтів та радили включити використання маркеру pHH3 в стандарт діагностики пухлин данної групи.

Інший автор I. Elmaci et al. [167] не тільки рекомендує використання

маркеру рННЗ для визначення рівня диференціювання гліальних пухлин. Окрім цього, рекомендує використовувати маркер рННЗ при прогнозуванні біологічної поведінки гліальні пухлини. В роботі було відмічено, що низький показник індексу Кі-67, можливо не відображає реальні результати рівня диференціювання пухлини, особливо коли зразки пухлини отримують у пацієнтів підчас лікування. Загалом, автор вказує на переваги забарвлення маркеру рННЗ над маркером Кі-67. Як результат роботи, автор пропонує розглянути можливості оцінки результатів імуногістохімічного дослідження на одиниці площі наприклад, 10 HPF або в абсолютних одиницях (1000 пухлинних клітин).

Одним із важливих напрямків діагностики злоякісних новоутворень шкіри, є діагностика та диференційна діагностика меланом з доброякісними пухлинними враженнями шкіри, що виконували Michel R. Nasr та інші автори [152].

Так, за даними Michel R. Nasr [152] диференційна діагностика між злоякісною меланомою та доброякісними меланоцитарними враженнями може бути складною при звичайній гістології.

Було виконано імуногістохімічне дослідження з рННЗ, Кі-67 на 66-и меланоцитарних новоутвореннях (18 злоякісних меланом, 8 невусів шпїца, 20 диспластичних невусів та 20 складних невусів). У дослідженні не було виявлено мітозів в складних невусах та диспластичних невусах. Поодинокі мітози були виявлені при експресії рННЗ в 3-х шпїц невусах, у злоякісних меланомах, було виявлено до 25 мітозів на 10 полів зору (HPF), що в групі меланом склало діапазон 2–75 на 10 HPF, в той же час у шпїц невусах у середньому 0,5 на 10 HPF, діапазон 0–2 на 10 HPF. Наведені автором дані, свідчать про можливість використання рННЗ маркеру для діагностики злоякісних меланом [152].

Результати вищепредставлених наукових робіт, аналогічні результатам нашого дослідження та дозволяють, з метою оптимізації

діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, рекомендувати використання рННЗ при проведенні імуногістохімічного дослідження на етапі біопсійного та операційного матеріалів для визначення рівня диференціювання пухлин.

Третьою задачею нашого дослідження було визначення наявності закономірності між результатами ПЕТ/КТ діагностики та гістологічними особливостями пухлин.

Для отримання кількісного аналізу даних при проведенні ПЕТ/КТ проводили визначення коефіцієнту стандартизованого поглинання (SUV) та коефіцієнту максимального поглинання (SUVmax) радіофармпрепарату. Використання коефіцієнту стандартизованого поглинання у даний час є важливим інструментом у клінічній томографії з ПЕТ/КТ і посідає особливе місце у оцінці відповіді пацієнта на впроваджену терапію раку.

При порівнянні даних гістологічного дослідження та ПЕТ/КТ дослідження, визначено максимальне і мінімальне значення для SUV, як в усій вибірці пацієнтів, так і в окремих групах. Загальне мінімальне значення для SUVmin склало 3,3; загальне максимальне значення для SUVmax склало 51,5. Обстежені пацієнти з високодиференційованими плоскоклітинними пухлинами мали SUVmin відповідно 3,3; та SUVmax відповідно 29; середнє значення для цієї групи було 11,1. Пацієнти з пухлинами середнього рівня диференціювання мали SUVmin – 5; та SUVmax – 30,7; середнє значення для цієї групи було 16,2. В когорті хворих з низькодиференційованими новоутвореннями було встановлено SUVmin – 3,5; та SUVmax – 51,5; середнє значення для цієї групи було 21,1.

За допомогою критерію Крускал–Уолліса та критерію множинних порівнянь Данна був проведений статистичний аналіз медіанного значення показнику SUVmax у трьох групах пацієнтів.

Особливої уваги потребують отримані дані, що свідчать про зростання значення показника SUVmax зі зниженням рівня диференціювання

плоскоклітинних пухлин орофарингеальної ділянки ($p < 0,001$ за Крускала–Уолліса критерієм). При цьому, найменше значення SUVmax ($p < 0,05$) відповідало хворим G1 групи, а найбільше значення ($p < 0,05$) – пацієнтам G3 групи. Показники для пацієнтів G2 групи, відповідно мали проміжне значення для SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для G1 групи, але відповідно нижче ($p < 0,05$), ніж для G3 групи.

Не дивлячись на те, що існують багаточисленні наукові публікації з використання ПЕТ/КТ діагностики ми не змогли знайти серед них тих, що визначали гістологічний рівень диференціювання та співвідносили його з SUVmax при ПЕТ/КТ діагностиці.

Для виключення хибно-позитивного результату в усіх випадках було виконано додатково імуногістохімічне дослідження з використанням маркерами CD3 CD20, для визначення залежності клітинного (запального) інфільтрату Т- і В-клонів лімфоцитів в залежності від ступеня диференціювання плоскоклітинних пухлин орофарингеальної ділянки.

Результати нашого дослідження були наступні: в першій групі було три випадки у яких спостерігалось виражене запалення, з наступними результатами ПЕТ/КТ SUVmax 6,5; 8,7 та 11,8 відповідно. Порівнюючи з результатами ПЕТ/КТ загальної когороти пацієнтів першої групи: мінімальне значення метаболічної активності склало (SUVmin)-3,3, максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 29, середнє значення метаболічної активності відповідно 11,1. Результати ПЕТ/КТ у випадках з вираженим запаленням відповідають результатам загальної когороти випадків.

В другій групі досліджуваних нами пухлин орофарингеальної ділянки, за результатами нашого дослідження, було чотири випадки у яких спостерігалось виражене запалення з результатами ПЕТ/КТ SUVmax 9,5; 12,9; 14,5 та 16 відповідно. Порівнюючи результатами ПЕТ/КТ загальної когороти пацієнтів першої групи: мінімальне значення метаболічної

активності склало (SUVmin)-5, максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 30,7, середнє значення метаболічної активності відповідно 16,2. Результати ПЕТ/КТ у випадках з вираженим запаленням відповідають результатам загальної когорти випадків.

В третій групі досліджуваних нами пухлин орофарингеальної ділянки, за результатами нашого дослідження, було шість випадків у яких спостерігалось виражене запалення з результатами ПЕТ/КТ SUVmax 16,2; 19,9; 21; 30,2; 30,6 та 35,9 відповідно. Порівнюючи результатами ПЕТ/КТ загальної когорти пацієнтів першої групи: мінімальне значення метаболічної активності склало (SUVmin)-3,5 максимальне значення метаболічної активності склало (SUVmax) – 51,5, середнє значення метаболічної активності відповідно 21,1.

За допомогою проведеного нами додаткового імуногістохімічного дослідження з використанням маркерів CD3 та CD20, було встановлено переважання В-лімфоцитів у запальному інфільтраті. Вираженість експресії В-лімфоцитів була більшою у порівнні з виразністю експресії Т-лімфоцитів. Розповсюдженість В-позитивного клітинного інфільтрату була переважно лімфоїдно-подібної та мала обмежений характер, в той час, як інфільтрація Т-позитивними лімфоцитами була переважно-дифузно-розповсюдженою. Також, нами було доведено, відсутність взаємозв'язку між запаленням та результатом ПЕТ/КТ дослідження. Нами встановлено, що виражені запальні зміни не призводять до збільшення метаболічної активності пухлин зі збільшенням SUVmax.

З метою визначення нами наявності зв'язку відповідно між показниками Ki-67, pHH3, SUVmax зі ступінем диференціювання тканини, нами було проведено кластерний аналіз (що передбачав використання методу побудови нейромереж за Кохоненом). Отримані нами дані були розміщені у тривимірному просторі відповідно (Ki-67, pHH3, SUVmax), де вони розподілялися в три кластери.

Нами була проведена оцінка статистичної одноманітності визначених груп обстежених.

Отримані дані свідчать про статистично значущу відмінність розподілу пацієнтів, які були віднесені до різних кластерів за рівнем диференціювання пухлини ($p < 0,001$). При цьому, до 1 та 2 кластеру, віднесені (в основному) пацієнти із ступенем диференціювання пухлинних тканини G2 та G3, а в кластері 3 були представлені пацієнти (майже із рівною частотою) з усіма ступенями диференціювання пухлинної тканини. З метою подальшого аналізу нами було використано наступний метод побудови логістичних моделей регресії прогнозування ризику високого ступеню диференціювання пухлинних тканин (G3, G2 vs G1) відповідно для кожного з показників: Ki-67, рННЗ, SUV_{max}.

Враховуючи отримані дані з приводу різниці показника маркера Ki-67 у пацієнтів з різним рівнем диференціювання пухлин, представляло інтерес проведення методу побудови ROC-кривих для аналізу прогностичних характеристик.

Нами встановлено, що при наявності у зразку 50,0 % позитивних клітин, визначених за допомогою маркера Ki-67, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Надалі проводилось порівняння гістологічної будови пухлин з результатами імуногістохімічного дослідження рННЗ.

Звертає увагу, що при наявності у зразку 4 мітозів, визначених за допомогою маркера рННЗ, прогнозується середній та низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Порівняльний аналіз гістологічної будови пухлин з результатами ПЕТ/КТ діагностики довів, що при перевищенні показника SUV_{max}14 прогнозується середній та при перевищенні 17,2 низький рівень диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

Для виявлення наявності зв'язку між показниками маркерів Ki-67, pHH3 і SUV_{max} було використано кореляційний аналіз.

Звертає увагу встановлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між показниками Ki-67 та pHH3 ($r = 0,814$ при $p < 0,001$) та слабкого позитивного кореляційного зв'язку показника SUV_{max} із Ki-67 ($r = 0,214$ при $p = 0,019$) та pHH3 ($r = 0,301$ при $p < 0,001$).

Використання маркеру Ki67 має низку недоліків, а саме: він є позитивним у всіх стадіях мітозу (коли pHH3 – тільки у Mst), в апоптичних ядрах, у певному відсотку запальних клітин; важко піддається обрахунку (підрахунок ведеться у відсотках пухлинних клітин, а pHH3- середнє значення позитивних клітин у 10 полях зору при збільшенні 400); сучасна класифікація ВООЗ пухлин передбачає у більшості визначення рівня диференціювання пухлин за допомогою ІГХ Ki-67, роботи, що виконані та виконуються за кордоном, у перспективі передбачають заміну Ki67 на pHH3.

Таким чином, отримані дані свідчать, про можливість заміни використання маркеру Ki-67 на pHH3 при визначенні та прогнозуванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, що дозволить оптимізувати діагностику обговорюваних пухлин.

ВИСНОВКИ

Плоскоклітинні карциноми орофарингеальної ділянки є актуальною проблемою медицини у всьому світі, в тому числі в нашій країні, через значний їх відсоток у структурі всіх новоутворень цієї локалізації, неухильне зростання частоти та поширеності. В дисертаційній роботі вирішується актуальне питання патологічної анатомії, щодо сучасних патоморфологічних методів діагностики, параметрів верифікації та градування пухлин орофарингеальної ділянки, визначення їх метаболічної активності, та запропоновані шляхи їх вирішення і удосконалення.

1. Проведений за допомогою мультифакторального типу класифікацій рівня диференціювання G. Annerothi M. Bryne ретроспективний аналіз гістологічного матеріалу плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з оцінкою характеристик пухлини - рівня ороговіння, поліморфізму ядер, підрахунок кількості мітозів, встановлення виду інвазії, оцінкою клітинної інфільтрації. Отримані дані свідчать, що на G1 карциному страждало 22 (18,2%), G2 – 45 (37,2%), G3 – 54 пацієнта (44,6%) відповідно. Встановлено, що у всіх групах переважав звичайний гістологічний субтип пухлини. Відповідно критеріям представленими G. Anneroth і M. Bryne G1 пухлини мали 4–8 балів, G2 пухлини – 9–12 балів, G3 пухлини – 13–16 балів відповідно.

2. Нами встановлено зростання ($p < 0,001$) рівня проліферативної активності в трьох групах пухлин за допомогою маркеру Ki-67: для G1-групи пухлин 20% (10%÷50%) позитивних клітин; G2-групи пухлин – 60% (40%÷76,3%) позитивних клітин; G3-групи пухлин 70% (60%÷90%) клітин, – із зниженням рівня диференціювання пухлини.

3. Зростання відсотка позитивних пухлинних клітин із зниженням ступеню диференціювання пухлини достовірно встановлено за допомогою маркеру pNH3 ($p < 0,001$ за критерієм Крускала-Уолліса). Так, у групі

високодиференційованих пухлин G1 медіанне значення маркеру рННЗ склало 2 клітини у 10 десяти полях зору, для групи помірнодиференційованих карцином G2 - 6 клітин у 10 десяти полях зору, а для низкодиференційованих плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки – 8,5 клітин у 10 десяти полях зору.

4. При порівнянні результатів гістологічного дослідження та метаболічної активності пухлин (SUVmax) встановлено, що групі високодиференційованих пухлин G1 відповідає медіанне значення метаболічної активності 11,1 (8,2÷13,3); G2 групі – 16,5 (12,5÷20,1); G3 групі – 20,4 (13,8÷25,0). Рівень значущості відмінності між групами, була статистично значуща ($p < 0,001$ за критерієм Крускала–Уолліса.).

5. На підставі проведених досліджень нами доведено, що маркер рННЗ позбавлений низки недоліків, які характерні для маркеру проліферативної активності Ki-67 - він негативний у всіх стадіях клітинного циклу (крім фази мітозу), в апоптотичних ядрах, його підрахунок ведеться не у відсотковому співвідношенні, а в наявності позитивних клітин в 10 полях зору при збільшенні 400. Отримані нами дані свідчать про можливість використання маркеру рННЗ одночасно з Ki67 при визначенні та прогнозуванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. Дана залежність доведена статистично за допомогою рангового показника кореляції Спірмена за рівнем значущості відмінності його від 0, нами встановлена, наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між показниками Ki-67 та рННЗ ($r = 0,814$ при $p < 0,001$), що більш ніж достатньо для рекомендуванню використання рННЗ, як одного з методів діагностики рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних пухлин.

6. На підставі отриманих при ПЕТ/КТ даних, метаболічній активності пухлин (SUVmax) та рівня диференціювання пухлин за G. Annerothi M. Bruyne встановлено, що наявність запальної клітинної

інфільтрації в тканині пухлини не вплило на результати ПЕТ/КТ дослідження, як показника рівня метаболічної активності пухлини. Отримані данні дозволяють з достовірністю прогнозувати рівень диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за рівнем метаболічної активності та проводити диференційну діагностику з запальними захворюваннями орофарингеальної ділянки.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою оптимізації діагностики плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки, а саме визначення та прогнозування рівня їх диференціювання, замінити використання маркера Ki-67 на pHH3 при проведенні імуногістохімічного дослідження на етапі біопсійного та операційного матеріалів.

2. При виявленні 6 мітозів, визначених за допомогою маркера pHH3, задокументувати середній рівень диференціювання зазначених новоутворень, а при перевищенні значення 8,5 – низький рівень

3. При проведенні ПЕТ/КТ та встановленні перевищення показника SUV_{max} більше 11,1 констатувати середній рівень диференціювання зазначених пухлин, а при перевищенні значення 16,5 – низький рівень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten mit primären Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle / P. Keßler et al. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2007. Vol. 4. P. 184–189.
2. A novel evaluation method for Ki-67 immunostaining in paraffin-embedded tissues / E. P. Dias et al. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2021. Vol. 19. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33464376/> (Last accessed: 16.01.2021).
3. A systematic review and meta-analysis of prognostic biomarkers in resectable esophageal adenocarcinomas / A. Creemers et al. *Scientific reports*. 2018. Vol. 8, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30185893/> (Last accessed: 05.12.2018).
4. A Systematic Review of p53 as a Prognostic Factor of Survival in Squamous Cell Carcinoma of Four Main Anatomical Subsites of the Head and Neck / S. Tandon et al. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2010. Vol. 19, No. 2. P. 574–587.
5. Abdullah B.H., Sarkis S. A., AL Drobie B. F. Angiogenesis and MMP-2 expression in oral squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma and its correlation with clinicopathological parameters. *Diyala Journal of Medicine*. 2014. Vol. 6, No. 1. P. 15–26.
6. AEUROCARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary / M. Sant et al. *European Journal of Cancer*. 2009. Vol. 45, No. 6. P. 931–991.
7. Agaimy A., Weichert W. Grading von Tumoren der Kopf-Hals-Region. *DerPathologe*. 2016. Vol. 37, No. 4. P. 285–292.
8. Albers A. E., Hoffmann T. K., Klussmann J. P., Kaufmann A. M. Prophylaktische und therapeutische Vakzinen gegen humane Papillomviren. *HNO*. 2010. Vol. 58, No. 8. P. 778–790.

9. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis / V. Bagnardi, M. Rota et al. *British Journal of Cancer*. 2015. Vol. 13, Issue 8. P. 580- 593.
10. Alcohol drinking cessation and the risk of laryngeal and pharyngeal cancers: a systematic review and meta-analysis / A. A. Kiadaliri, J. Jarl, G. Gavriilidis et al. *PLoS One*. 2013. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058158> (Last accessed: 03.02.2018).
11. An update on the implications of cyclin D1 in oral carcinogenesis / P Ramos-García et al. *Oral Disease*. 2016. Vol. 23, No. 7. P. 897-912.
12. Analytical validation of a standardised scoring protocol for Ki67 immunohistochemistry on breast cancer excision whole sections: an international multicentre collaboration / S. C .Y. Leung et al. *Histopathology*. 2019. Vol. 75, No. 2. P. 225-235.
13. Anneroth G., Batsakis J., Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scandinavian journal of dental research*. 1987. Vol. 95. P. 229–249.
14. Assessment of tumour proliferation by use of the mitotic activity index, and Ki67 and phosphohistone H3 expression, in early-stage luminal breast cancer / J. E. C. van Steenhoven et al. *Histopathology*. 2020. Vol. 77, No. 4. P. 579-587.
15. Assmann G., Sotlar K. HPV-assozierte Plattenepithelkarzinogenese. *Der Pathologe*. 2011 Vol. 32, No. 5. P. 391–398.
16. Association of genetic polymorphisms in glutathione S-transferases and susceptibility to head and neck cancer / Singha M. et al. *Mutation research / fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*. 2008. Vol. 638, Issues 1–2. P. 184-194.
17. Bayer O., Cámara R., Zeissig S. R., Rensing M., Dietz A., Locati L. D., Ramroth H., Singer S. Occupation and cancer of the larynx: a systematic review and meta-analysis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2016. Vol. 273,

Issue 1. P. 9–20. URL: <https://doi.org/10.1007/s00405-014-3321-y> (Last accessed: 11.02.2019).

18. Berufliche Exposition gegenüber Farben, Lacken und Lösungsmitteln und Krebsrisiko im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes. / H. Maier et al. *HNO*. 1997. Vol. 45, No. 11. P. 905–908.

19. Bhargava A., Saigal S., Chalishazar M. Histopathological Grading Systems in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Review. *Journal of International Oral Health*. 2010. Vol. 2, No. 4. P. 1–10.

20. Biologic importance and prognostic significance of selected clinicopathological parameters in patients with oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma, with emphasis on smoking, protein p16(INK4a) expression, and HPV status / J. Laco, J. Nekvindova et al. *Neoplasma*. 2012. Vol.59, No.4. P. 398-408.

21. Biological tumor markers associated with local control after primary radiotherapy in laryngeal cancer: A systematic review / M. G. Noordhuis et al. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*. 2020. Vol. 45, No. 4. P. 486-494.

22. Biology-guided radiotherapy: redefining the role of radiotherapy in metastatic cancer / S. M. Shirvani et al. *The British journal of radiology*. 2021. Vol. 94, No. 1117. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33112685/> (Last accessed: 12.02.2021).

23. Biomarkers of HPV in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma / C. Liang et al. *Cancer Research*. 2012. Vol. 72, Issue 19. P. 5004 – 5013.

24. Bloching M. et al. Der Ames-Test als Biomarker. *HNO*. 2001. Vol. 49, No. 6. P. 440–446.

25. Bootz F., Bamberg M. Wichtigstes Therapieziel: Funktionserhalt und –aufbau. *Onkologe*. 2001. Vol. 7. P. 471–472.

26. Borre L., Deboosere P. Enduring health effects of asbestos use in Belgian industries: a record-linked cohort study of cause-specific mortality (2001–2009). *BMJ Open*. 2015. Vol. 5, Issue 6. URL: <https://bmjopen.bmj.com/content/bmjopen/5/6/e007384.full.pdf> (Last accessed: 16.07.2019).
27. Breast cancer risk factors in relation to estrogen receptor, progesterone receptor, insulin-like growth factor-1 receptor, and Ki67 expression in normal breast tissue / A. H. Eliassen et al. *Nature partner journals breast cancer Breast cancer*. 2017. Vol. 2, No. 3. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28979927/> (Last accessed: 09.07.2018).
28. Broders A. C. The microscopic grading of cancer. *Surgical Clinics of North America*. 1941. Vol. 21. P. 947–962.
29. Broglie M. A., Stöckli S. J. Die Rolle des humanen Papillomavirus beim Oropharynxkarzinom. *Swiss Medical Forum*. 2012. Vol. 12, No. 1-2. P. 15–17.
30. Bugshan A., Farooq I. Oral squamous cell carcinoma: metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis. Version 1. F1000Res. 2020. *F1000Research*. URL: <https://f1000research.com/articles/9-229/v1> (Last accessed: 03.04.2020).
31. Bühmann W. Krebs durch humane Papillomoviren-primäre Prävention durch Impfung. *URO-NEWS*. 2016. Vol. 20, No. 6. P. 38–43.
32. Cancers of the upper aerodigestive tract in Ontario, Canada, and the United States / D. P. Skarsgard et al. *Cancer*. 2000. Vol. 88, No. 7. P. 1728–1738.
33. Cell cycle reentry from the late S phase: implications from stem cell formation in the moss *Physcomitrella patens* / M. Ishikawa et al. *Journal of plant research*. 2015. Vol. 128, No. 3. P. 399-405.
34. Cigarette smoking, alcohol drinking, and oral cavity and pharyngeal cancer in the Japanese: a population-based cohort study in Japan / Y. Lu et al. *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 2018. Vol. 27, No. 2. P. 171-179.

35. Clinical applications of the diagnosis of p53 alterations in squamous cell carcinoma of the head and neck / M. Lopez-Martinez et al. *Med Oral*. 2002. Vol.7, No. 2. P. 108-120.
36. Clinical outcomes of IMRT planned with or without PET/CT simulation for patients with pharyngeal cancers / T. Matsuura et al. *International journal of clinical oncology*. 2017. Vol. 22, No. 1. P. 52-58.
37. Collen D.T., Winterhalder R., Diebold J. HPV bei Hals-Nasen-Ohren Tumoren. *Schweizer Zeitschrift für Onkologie*. 2011. Vol. 1. P. 18-23.
38. Combined effect of tobacco smoking and alcohol drinking in the risk of head and neck cancers: a re-analysis of case-control studies using bi-dimensional spline models / L. D. Maso et al. *European Journal of Epidemiology*. 2016. Vol. 31, No. 4. P. 385–393.
39. Combined effect of tobacco smoking and alcohol drinking in the risk of head and neck cancers: a re-analysis of case-control studies using bi-dimensional spline models / L. D. Maso et al. *European Journal of Epidemiology*. 2015. Vol. 31, No. 4. P. 385-93.
40. Comparative Evaluation of Immunohistochemical Expression of p16 with p16 Microsatellite Marker by PCR in Surgical Margins of Oral Squamous Cell Carcinoma / D. Babji et al. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019. Vol. 71, No. 1. P. 716-723.
41. Comparison of CT and PET/CT for biopsy guidance in oncological patients / J. J. Cerci et al. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017. Vol. 44, No. 8. P. 1269–1274.
42. Computed tomography-based skeletal segmentation for quantitative PET metrics of bone involvement in multiple myeloma / M. E. S. Takahashi et al. *Nuclear medicine communications*. 2020. Vol. 41, No. 4. P. 377-382.
43. Cornelius C. P., Probst F., Mast G. Neck Dissection. *Manual Kopf-HalsMalignome/ G.Mast*. München: W. Zuckschwerdt Verlag, 2009. P. 61–74.

44. Correlation Between Semiquantitative Metabolic Parameters After PET/CT and Histologic Prognostic Factors in Laryngeal and Pharyngeal Carcinoma / G. Karpathiou et al. *Head Neck Pathol.* 2020. Vol. 14, No. 3. P. 724-732. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12105-019-01116-z> (Last accessed: 18.11.2019).

45. Correlation of TP53 Overexpression and Clinical Parameters with Five-Year Survival in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients / S.A. Ali et al. *Cureus.* 2017. Vol. 9, No. 6. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5573341/> (Last accessed: 24.02.2019).

46. Crissman J. D., Lin W. Y., Gluckman J. L., Cummings G. Prognostic value and histopathologic parameters in squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Cancer.* 1984. Vol. 54. P. 2995–3001.

47. Critical weight loss predicts poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma / Q. Zeng et al. *BioMed Central cancer.* 2016. Vol. 29. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26926144/> (Last accessed: 19.12.2016).

48. Current Perspective on HPV-Associated Oropharyngeal Carcinomas and the Role of p16 as a Surrogate Marker of High-Risk HPV / D. Gurín et al. *Klinicka onkologie Journal.* 2019. Vol. 23, No. 4. P. 252-260.

49. Current Practice and Emerging Molecular Imaging Technologies in Oral Cancer Screening / A. Strome et al. *Molecular imaging.* 2018. Vol. 17. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32852263/> (Last accessed: 23.04.2019).

50. Däppen M. A. B., Stöckli S. J. HPV- assoziierte Kopf-Hals-Karzinome Einfluss auf Diagnostik und Therapie. *Der Onkologe.* 2013. Vol. 5. P. 16–19.

51. De Souza D. L., Bernal M. M., Jerez Roig J., Curado M. P. Oropharyngeal Cancer Survival: A Population-Based Study of Patients Diagnosed between 1978 and 2002. *ISRN Oncology.* 2012. Vol. 2012. Article ID 207263. doi:10.5402/2012/207263.

52. Diagnostic Accuracy and Confidence of [155] FDG PET/MRI in comparison with PET or MRI alone in Head and Neck Cancer / J. Park et al. *Sci Rep.* 2020. Vol. 11, No. 10. P. 9490. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32528161/> (Last accessed: 18.11.2019).
53. Die Rolle der FDG-PET in der onkologischen Chirurgie / G. Schürmann et al. *Der Chirurg.* 2001. Vol. 72, No. 4. P. 528–536.
54. Dietz A. Nikotin und Krebsentstehung im oberen Aerodigestivtrakt. *HNO.* 2006. Vol. 54. P. 345–346.
55. Dietz A., Knödler M., Lordick F. Primärtherapie der Kopf-Hals-Tumoren. *Der Onkologe.* 2014. Vol. 20, No. 2. P. 144–151.
56. Dietz A., Maier H. Berufskrebs. Stellenwert von Biomarkern in der Risikofaktorenanalyse von Karzinomen der Kopf-Hals-Region. *HNO.* 1998. Vol. 46, No. 9. P. 779–785.
57. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancer / M. L. Gillison et al. *Journal of the National Cancer Institute.* 2008. Vol. 100, No. 6. P. 407–420.
58. Dose-Distribution-Driven PET Image-Based Outcome Prediction (DDD-PIOP): A Deep Learning Study for Oropharyngeal Cancer IMRT Application / C. Wang et al. *Frontiers in oncology.* 2020. Vol. 18, No. 10. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33014811/> (Last accessed: 03.08.2020).
59. Dössel O. Bildgebende Verfahren in der Medizin. Von der Technik zur medizinischen Anwendung. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 2016. P. 513.
60. Effect of BRCA1 on the Concurrent Chemoradiotherapy Resistance of Cervical Squamous Cell Carcinoma Based on Transcriptome Sequencing Analysis / X. Wen et al. *BioMed research international.* 2020. Vol. 21. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32685473/> (Last accessed: 22.09.2020).
61. Effects of blood glucose level on 18F-FDG uptake for PET/CT in normal organs: A systematic review / C. Sprinz et al. *PLoS One.* 2018. Vol. 13,

No. 2. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29486008/> (Last accessed: 18.02.2019).

62. Egnot N. S., Benson S. M., Vatera Mark F., Hazan R., Patel O., Marsh G. M. Systematic review and meta-analysis of epidemiological literature evaluating the association between exposure to man-made vitreous fibers and respiratory tract cancers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020. Vol. 112. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230020300118?via%3Dihub> (Last accessed: 06.07.2019).

63. Emerging clinical applications of computed tomography / C. Liguori at al. *Medical devices : evidence and research*. 2015. Vol. 5, No. 8. P. 265-278.

64. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer / N. Munoz et al. *The new England journal of medicine*. 2003. Vol. 348, No. 6. P. 518–527.

65. Epidemiology and Demographics of the Head and Neck Cancer Population. Cohen N., Fedewa S., Chen A. Y. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*. 2018. Vol.30, Issue 4. P. 381-395.

66. Evaluation of HPV16 E7 expression in head and neck carcinoma cell lines and clinical specimens / K. Kitamura et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33335126/> (Last accessed: 22.05.2020).

67. Evidence for different molecular parameters in head and neck squamous cell carcinoma of nonsmokers and nondrinkers: Systematic review and meta-analysis on HPV, p16, and TP53 / F. J. Mulder et al. *Head Neck*. 2021. Vol. 43, No. 1. P. 303-322.

68. Expression of cyclic D1, p27, p21, bcl-2, and p53 in laryngeal squamous cell carcinoma and an investigation of the correlation with conventional prognostic factors / G. Şimsek et al. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2013. Vol. 43. P. 27–32.

69. Family history of cancer, personal history of medical conditions and risk of oral cavity cancer in France: the ICARE study / L. Radoï et al. *BMC Cancer*. 2013. Vol. 13, No. 560. URL: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-13-560> (Last accessed: 03.04.2019).

70. Fast analytical approach of application specific dose efficient spectrum selection for diagnostic CT imaging and PET attenuation correction / X. Rui et al. *Physics in medicine and biology*. 2016. Vol. 7, No. 21. P. 7787-7811.

71. FDG-PET in der Bildgebung des CUP-Syndroms / L. Jenicke et al. *Der Onkologe*. 2001. Vol. 7, No. 5. P. 491–497.

72. FDG-PET-based differential uptake volume histograms: a possible approach towards definition of biological target volumes / S. Devic et al. *The British journal of radiology*. 2016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27007269/> (Last accessed: 09.03.2016).

73. Franchi A., Gallo O., Sardi I., Santucci M. Downregulation of transforming growth factor β type II receptor in laryngeal carcinogenesis. *Journal of Clinical Pathology*. 2001. Vol. 54. P. 201–204.

74. Frank A. L. Global use of asbestos - legitimate and illegitimate issues. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2020. Vol. 15, No. 16. URL: <https://doi.org/10.1186/s12995-020-00267-y> (Last accessed: 13.08.2019).

75. Gastrointestinal Stromal Tumors Risk Stratification Utilizing Phospho-Histone H3 Evaluated by Manual Counting and Computer-Assisted Image Analysis / C. Jin et al. *International journal of surgical pathology*. 2019. Vol. 27, No. 7. P. 706-712.

76. Gastrointestinal Stromal Tumors Risk Stratification Utilizing Phospho-Histone H3 Evaluated by Manual Counting and Computer-Assisted Image Analysis / C. Jin et al. *International journal of surgical pathology*. 2019. Vol. 27, No. 7. P. 706-712.

77. Genetic progression model for head neck cancer: implication for field cancerization / J. Califano et al. *Cancer research*. 1996. Vol. 56. P. 2488–2492.

78. Genetic signatures of HPV-relation and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications / J. P. Klussmann et al. *Clinical cancer research*. 2009. Vol. 15. P. 1779–1986.

79. Gesundheit und Wirtschaftswachstum Recht, Ökonomie und Ethik als Innovationsmotoren für die Medizin / eds. S. Meyer, M. G. Fischer. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 2010. P. 208.

80. Giese M., Friedrich R. E., Riethdorf S., Löning T. p53-Mutationsnachweis in Abstrichen der Mundschleimhaut von Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinomen. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 2001. Vol. 5, No.1. P. 37–43.

81. Gillissen A. Tabakrauchen und Lungenerkrankungen. *Pneumologie*. 2008. Vol. 5, No. 6. 378-385 p.

82. Global cancer statistics / A. Jemal et al. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2011. Vol. 6, No. 2.P. 69–90.

83. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of second primary malignancy after index squamous cell carcinoma of the head and neck / M. E. Zafereo et al. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)*. 2009. Vol. 2, No. 5. P.432–439.

84. Guan G., Bakr M.M., Firth N., Love M.R. Expression of cyclin D1 correlates with p27 KIP1 and regulates the degree of oral dysplasia and squamous cell carcinoma differentiation. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 2018. Vol. 126, Issue 2. P. 174-183.

85. H. Zur Hausen. Papillomaviruses in the causation of human cancers – a brief historical account. *Viology*. 2009. Vol. 384. P. 260–265.

86. Habberstadt A. H., Gulati S., Torp S. H. Evaluation of the proliferation markers Ki-67/MIB-1, mitosin, survivin, pHH3, and DNA

tropoisomerase II α in human anaplastic astrocytomas – an immunohistochemical study. *Diagnostic Pathology*. 2011. Vol. 6, No. 43. doi:10.1186/1746-1596-6-43.

87. Hainaut P., Pfeifer P.G. Somatic TP53 Mutations in the Era of Genome Sequencing. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016. Vol. 6. No. 11. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27503997/> (Last accessed: 25.02.2019).

88. Hamada M., Yura Y. Efficient Delivery and Replication of Oncolytic Virus for Successful Treatment of Head and Neck Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, No. 19. P. 7073.

89. Hamm H. Atemwegserkrankungen bei Nichtrauchern durch Passivrauch. *Pneumologie*. 2005. Vol. 2, No. 5. P. 358-360.

90. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011. Vol. 144, Issue 5. P. 646-674.

91. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell press*. 2000. Vol. 100. P. 57–70.

92. Hassan M. M. p53 Mutation and Multiple Primary Oral Squamous Cell Carcinomas. *Oral Cancer*. 2012. Vol. 388. P. 149–170.

93. Head and neck cancer in Germany: a site-specific analysis of survival of the Thuringian cancer registration database / O. Guntinas-Lichius, T. Wendt et al. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2010. Vol. 136. P. 55–63.

94. High prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral mucosal lesions of patients at the Ambulatory of Oral Diagnosis of the Federal University of Sergipe, Northeastern Brazil / M. Ribeiro et al. *Journal of Applied Oral Science: revista FOB*. 2017. Vol. 25, No. 1. P. 69-74.

95. High prognostic impact of growth fraction parameters in advanced stage laryngeal squamous cell carcinoma / G. Valente et al. *Oncology Reports*. 1999. Vol. 6, No. 2. P. 289–293.

96. Hirth K., Riedel F., Bergler W., Hörmann K. Nachweis der Serumkonzentration von Carbonhydrate-Deficient-Transferrin (CDT) bei Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen. *HNO*. 1999. Vol. 47, No. 1. P. 33–37.

97. Histological classification and grading of malignancy in the carcinoma of the larynx / P. A. Jakobsson et al. *Acta Radiologica: Therapy, Physics, Biology*. 1973. Vol. 12, No. 1. P. 1–8.
98. Histotype classification of ovarian carcinoma: A comparison of approaches / L. C. Peres et al. *Gynecologic oncology*. 2018. Vol. 151, No. 1. P. 53–60.
99. Hoffmann M., Hoffmann A. S., Tribius S. Humane Papillomvirusinfektionen im Kopf-Hals-Bereich im öffentlichen Bewusstsein. *HNO*. 2012. Vol. 60, No. 11. P. 968–973.
100. Hoffmann T. K., Whiteside T. L., Bier H. Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs Grundlagen und aktuelle Konzepte der Immuntherapie. *HNO*. 2005. Vol. 53, No. 3. P. 285–297.
101. HPV-assoziierte Kopf-Hals-Karzinome / S. Wagner et al. *HNO*. 2015. Vol. 63, No. 11. P. 758–767.
102. HPV-assoziierte oropharyngeale Karzinome / M. Mollenhauer et al. *Der Pathologe*. 2014. Vol. 35, No. 2. P. 127–142.
103. Human papillomavirus 16 E6 antibodies are sensitive for human papillomavirus-driven oropharyngeal cancer and are associated with recurrence / K. Kuhs et al. *Cancer*. 2017. Vol. 123, No. 22. P. 4382–4390.
104. Human papillomavirus and head and neck cancer: a growing concern / M. Boyd Gillespie et al. *South Carolina Medical Association*. 2008. Vol. 104, No. 8. P. 247–51.
105. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer / K. K. Ang. *The New England Journal of Medicine*. 2010. Vol. 1. P. 24–35.
106. Human Papillomavirus DNA in Oral Mucosal Lesions / L. Giovannelli et al. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002. Vol. 185. P. 833–836.
107. Human papillomavirus in head and neck cancer: molecular biology and clinicopathological correlations / Z. Szentirmay, K. Pólus et al. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2005. Vol. 24. P. 19–34.

108. Human papillomavirus related head and neck cancer survival: a systematic review and meta-analysis / M.A.O`Rorke. *Oral Oncology*. 2012. Vol. 48, No. 12. P. 1191–1201.

109. Human papillomavirus, p16 and p53 expression associated with survival of head and neck cancer / Smith E.M. et al. *Infectious Agents and Cancer*. 2010. Vol. 5, No. 4. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2841067/> (Last accessed: 24.09.2018).

110. Humane Papillomavirusinfektionen bei Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Halsbereich / M. Maier et al. *HNO*. 2013. Vol. 61, No. 7. P. 593–601.

111. Humane Papillomviren bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf- und Halsregion / M. Reuschenbach et al. *HNO*. 2016. Vol. 64, No. 7. P. 450–459.

112. Ibarra A. Leptogenesis. Technische Universität München. 2010. P. 1-117. URL: https://www.fuw.edu.pl/~tok/talksVII/1_Ibarra.pdf (Last accessed: 17.03.2018).

113. Ihloff A. S., Knecht R., Tribius S. HPV-Infektion bei Kopf- und Hals-Malignomen. *HNO*. 2010. Vol. 58, No. 12. P. 1163–1167.

114. Illuminating biological pathways for drug targeting in head and neck squamous cell carcinoma / Choonoo G. et al. *PLOS ONE*. 2019. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0223639> (Last accessed: 25.02.2019).

115. Immunohistochemical evaluation of p63 and cyclin D1 in oral squamous cell carcinoma and leukoplakia / S. B. Patel et al. *The Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2017. Vol. 43, No. 5. P. 324-330.

116. Impact of acquisition count statistics reduction and SUV discretization on PET radiomic features in pediatric 18F-FDG-PET/MRI examinations / Branchini M et al. *Phys Med*. 2019. Vol. 59. P. 117-126. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1120179719300481> (Last accessed: 18.04.2019).

117. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial / C. Fakhry et al. *Journal of the national cancer institute*. 2008. Vol. 100. P. 261–269.

118. In vivo three-dimensional evaluation of tumour hypoxia in nasopharyngeal carcinomas using FMT-CT and MSOT / W. Huang et al. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020. Vol. 47. P. 1027-1038.

119. Intensity threshold based solid tumour segmentation method for Positron Emission Tomography (PET) images: A review / M. Tamal et al. *Heliyon*. 2020. Vol . 27, No.10. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33163642/> (Last accessed: 03.11.2020).

120. Jefferies S., Foulkes W.D. Genetic mechanisms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncology*. Vol. 37, Issue 2, 2001. P. 115-126.

121. Jethwa A. R., Khariwala S. S. Tobacco-related carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Metastasis Reviews*. 2017. Vol. 36, No. 3. P. 411– 423.

122. Joint and independent effects of alcohol drinking and tobacco smoking on oral cancer: a large case-control study / JL F. Antunes, T. N. Toporcov, MG. H. Biazevic et al. *PLoS One*. 2013. Vol. 8. Issue 7. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0068132> (Last accessed: 17.06.2018).

123. Kawakita D., Matsuo K. Alcohol and head and neck cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017. Vol. 36. P. 425–434. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10555-017-9690-0> (Last accessed: 19.03.2018).

124. Keilholz U. Kopf-Hals-Tumoren – Diagnose. *Onko internetportal*. 2013. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/andere-krebsarten/kopf-hals-tumoren/diagnose.html> (Last accessed: 01.03.2021).

125. Ki-67 proliferation index but not mitotic thresholds integrates the molecular prognostic stratification of lower grade gliomas / E. Duregon et al. *Oncotarget*. 2016. Vol. 19, No. 16. P. 21190-8.

126. Klages H. Bananenkurve im Überleben nach alleiniger Strahlentherapie fortgeschrittener Kopf-Hals-Karzinome. *Strahlentherapie Onkologie*. 2014. Vol. 190, No.10, P. 970–972.

127. Kleinsasser N. H et al. Trägt Nikotin zur Krebsentstehung im oberen Aerodigestivtrakt bei? *HNO*. 2006. Vol. 54, No. 5. P. 369–375.

128. Klussmann J. P., Preuss S. F., Speel E. J. Humane Papillomviren und Oropharynxkarzinome Molekulare Interaktion und klinische Auswirkung. *HNO*. 2009. Vol. 57. P. 113–122.

129. KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations, and patient prognosis in 126 pancreatic cancers: pyrosequencing technology and literature review / L. Zhou et al. *Medical oncology*. 2016. Vol. 33, No. 4. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26927447/> (Last accessed: 19.04.2017).

130. Kreimer A. R., Clifford G. M., Boyle P., Fanceschi S. Human papillomavirus tipes in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: A sitematic review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2005. Vol. 14, No. 2. P. 467–475.

131. Krug M., Wünsche A., Blum A. Tabakabhängigkeit und die Folgen auf die Haut. *Hautarzt*. 2004. Vol. 55. P. 301–316.

132. Kumara A., Pant M. C., Singhc H. S., Khandelwal S. Associated risk of XRCC1 and XPD cross talk and life style factors in progression of head and neck cancer in north Indian population. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2012. Vol. 729, Issues 1–2. P. 24-34.

133. Laryngeal and hypopharyngeal cancers and occupational exposure to formaldehyde and various dusts: a case-control study in France / L. Laforest, D. Luce et al. *BMJ*. 2000. Vol. 57, Issue 11. P. 767-773.

134. Lasting DNA damage and aberrant DNA repair gene expression profile are associated with post-chronic cadmium exposure in human bronchial epithelial cells / H. W. Tan et al. *Cells*. 2019. Vol. 8, Issue 8. P. 842.

135. Lell M., Mantsopoulos K., Uder M., Wuest W. Bildgebung der Kopf-Hals-Region. *HNO* № 3 64:189-210.2016.

136. Level of phosphohistone H3 among various types of human cancers / A. Sun et al. *BMJ Open*. 2012. Vol. 2.doi:10.1136/bmjopen-2012-001071.

137. Lorenz K. J., Maier H. Plattenepithelkarzinome im Kopf-Hals-Bereich. *HNO*. 2008. Vol. 56, No. 4. P. 402–409.

138. Machine learning in quantitative PET: A review of attenuation correction and low-count image reconstruction methods / T. Wang et al. *Physica medica : PM : an international journal devoted to the applications of physics to medicine and biology : official journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*. 2020. Vol. 76. P. 294-306.

139. Magnetic Resonance Imaging for Translational Research in Oncology / M.F. Fiordelisi et al. *Journal of clinical medicine*. 2019. Vol. 6, No. 11. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31698697/> (Last accessed: 18.01.2019).

140. Maier H. et al. Berufliche Schadstoffexposition und Ernährung. Risikofaktoren für Mundhöhlen-, Rachen- und Kehlkopkarzinome? *HNO*. 2002. Vol. 50, No. 8. P. 743–752.

141. Maier H. Krebsfrüherkennung bei asbeststaubexponierten personen. *HNO*. 2002. Vol. 50, No. 11. P. 976–977.

142. Maier H., Tisch M. Alkoholkonsum und Krebsrisiko im Bereich des oberen Verdauungstraktes. *HNO*. 1999. Vol. 47. P. 764–765.

143. Maier H., Tisch M. Beruf und Krebs im Kopf-Hals-Bereich. *HNO*. 1999. Vol. 47, No. 12. P. 1025–1037.

144. Maier H., Tisch M., Dietz A., Conradt C. Arbeiter in der Bauindustrie. Eine Höchstrisikogruppe für Krebserkrankungen des oberen Atmungs- und Verdauungstraktes? *HNO*. 1999. Vol. 47, No. 8. P. 730–736.

145. Martina A., Sandro J. Einfluss auf Diagnostik und Therapie. *Onkologie*. 2013. Vol. 5. P. 16–19.

146. Maschmeyer G., Koch K., Jungehülsing M. Kopf-Hals-Tumoren interdisziplinäre Therapiekonzepte. *Best practice onkology*. 2011. Vol. 6, No. 4. P. 4–20.

147. Medical Outfitter. Computed tomography Philips the GEMINI TF, 16-channel configuration system URL: https://medicaloutfitter.net/featured_item/philips-gemini-tf-16-pet-ct/ (Last accessed: 19.03.2018).

148. Mehanna H., Paleri V., West C. M., Nutting C. Head and neck cancer – part 1: epidemiology, presentation, and prevention. *BMJ*. 2010. Vol. 341. P. 663–666.

149. Mehanna H., West C. M., Nutting C., Paleri V. Head and neck cancer – Part 2: Treatment and prognostic factors. *Clinical review*. 2010. Vol. 341. P. 721–725.

150. Metastatic disease in head & neck oncology / P. Pisani et al. *Acta otorhinolaryngologica Italica : organo ufficiale della Società italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale*. 2020. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32469009/> (Last accessed: 02.01.2020).

151. Mutation and downregulation of the transforming growth factor β type II receptor gene in primary squamous cell carcinomas of the head and neck / D. Wang. *Oxford University Press. Carcinogenesis*. 1997. Vol. 18, No. 11. P. 2285–2285.

152. Nasr R. M. Comparison of pHH3, Ki-67, and Survivin Immunoreactivity in Benign and Malignant Melanocytic Lesions. Original Article. 2008. Vol. 30, No. 2. P. 117–122.

153. Neena D. P., Siddharth S. A., Keyuri P. B., Munira J. F. Histological grading of oral cancer: a comparison of different systems and their relation to

lymph node metastasis. *National journal of community medicine*. 2011. Vol. 2, No. 1. P. 136–142.

154. Nuclear medicine in clinical diagnosis and treatment / ed. P. J. Ell, S. S. Gambhir. 3rd ed. Edinburgh; New York: Churchill Livingstone, 2004. 150 p.

155. Occupation and cancer of the larynx: a systematic review and meta-analysis / Bayer O. et al. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2016. Vol. 273. P. 9–20.

156. Occupation and larynx and hypopharynx: an international case-control study in France, Italy, Spanien, and Switzerland / P. Boffetta et al. *Cancer Causes and Control*. 2003. Vol.14. P. 203–212.

157. Occupational exposure to petroleum-based and oxygenated solvents and hypopharyngeal and laryngeal cancer in France: the ICARE study / C. Barul, M. Carton, L. Rado et al. *BMC Cancer* 18. 2018. No. 388. URL: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4324-7> (Last accessed: 11.06.2019).

158. Oehler M. Interpolations-basierte Sinogrammrestauration zur Metallartefaktreduktion in der Computertomographie. *Wiesbaden: Springer Vieweg*. 2014. P. 268.

159. Offner F. A. Ätiologie, Molekularbiologie und Pathologie des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus. *Der Pathologe*. 2000. Vol. 21, No. 5. P. 349–357.

160. Online training from National Institute on Drug Abuse about Good Clinical Practice. URL: <https://gcp.nidatrainig.org/resources> (Last accessed: 01.03.2021).

161. Oral Cancer: Diagnosis, Management, and Rehabilitation / Ed. J. W. Werning. New York-Stuttgart: Thieme Medical Publishers, 2007. P. 448.

162. Oral precancerous disorders associated with areca quid chewing, smoking, and alcohol drinking in southern Taiwan / Ching-Hung Chung et al. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 2005. Vol. 34, Issue 8. P. 460-466.

163. Oral squamous cell carcinoma grading systems-analysis of the best survival predictor / R. Lindenblatt et al. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2012. Vol. 41, No. 1. P. 34–39.

164. P16(INK4a)/CDKN2 expression and its relationship with oral squamous cell carcinoma is our current knowledge enough? / M. Pérez-Sayáns et al. *Cancer Letters*. 2011. Vol. 306, Issue 2. P. 134-141.

165. P53 Immunoexpression in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma / L. Cercelaru et al. *Curr Current health sciences journal*. 2017. Vol. 43, No. 4. P. 325-329.

166. p53-Mutationen und HPV-Infektionen in Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Regionen / S.Riethdorf et al. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 1998. Vol. 2, No. 1. P. 30–34.

167. Paradoxical results obtained with Ki67-labeling and PHH3-mitosis index in glial tumors: a literature analysis / I. Elmaci et al. *Clinical neuropathology*. 2017. Vol. 36, No. 6. P. 272-282.

168. Paradoxical results obtained with Ki67-labeling and PHH3-mitosis index in glial tumors: a literature analysis / D. Komar et al. *Clinical epigenetics*. 2020. Vol. 14, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33054831/> (Last accessed: 12.09.2020).

169. Peng WJ, Mi J, Jiang YH. Asbestos exposure and laryngeal cancer. *The Laryngoscope*. 2016. Vol. 126, Issue 5. P. 1169-1174. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26418833/> (Last accessed: 13.08.2019).

170. PET/CT-Guided Interventions in Oncology Patients: A Nursing Perspective / J. S. Taylor et al. *Journal of radiology nursing*. 2017. Vol. 36, No. 2. P. 99-103.

171. PET/MRI: a frontier in era of complementary hybrid imaging / S. Musafargani et al. *European journal of hybrid imaging*. 2018. Vol. 2, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29998214/> (Last accessed: 12.09.2019).

172. Pfaue D., Tisch M., Maier H. Krebs durch Schnupftabak? *HNO*. 2003. Vol. 51, No. 3. P. 193–196.

173. Phosphohistone H3 (PHH3) as a surrogate of mitotic figure count for grading in meningiomas: a comparison of PHH3 (S10) versus PHH3 (S28) antibodies / N. Puripat et al. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2019. Vol. 474, No. 1. P. 87-96.

174. Phospho-histone H3 (pHH3) immuno-reactivity as a prognostic marker in non-functioning pituitary adenoma / E. Hightower et al. *Pituitary*. 2012. Vol. 15. P. 556–561.

175. Pigott G. H., Ishmael J. The effects of intrapleural injections of alumina and aluminosilicate (ceramic) fibres. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 1992. Vol. 73. P. 137–146.

176. Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle. Überlebenswahrscheinlichkeit und Lebensqualität – Erste Ergebnisse von 2 Behandlungsstrategien / P. Keßler et al. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 2004. Vol. 8, No. 5. P. 302–310.

177. Poon C. S., Stenson K. M. Overview of the diagnosis and staging of head and neck cancer. URL:<https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-diagnosis-and-staging-of-head-and-neck-cancer> (Last accessed: 29.10.2017).

178. Praxis der HNO-Heilkunde, Kopf und Halschirurgie / ed. J. Strutz, W. Mann. Stuttgart-New York: Georg Thiem Verlag, 2017. P. 1120. URL: <https://www.schweitzer-online.de/ebook/Strutz/Praxis-HNO-Heilkunde-Kopf-Halschirurgie/9783132418943/A41721987/> (Last accessed: 25.02.2019).

179. Predict Ki-67 Positive Cells in H&E-Stained Images Using Deep Learning Independently From IHC-Stained Images / Y. Liu et al. *Frontiers in molecular biosciences*. 2020. Vol. 4, No. 7. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2020.00183/full> (Last accessed: 26.07.2020).

180. Prevalence of human papillomavirus types, viral load and physical status of HPV16 in head and neck squamous cell carcinoma from the South Swedish Health Care Region / H. Faust et al. *Journal of General Virology*. 2016. Vol. 97, Issue 11. P. 2949-2956.

181. Prevalence of p53 dysregulations in feline oral squamous cell carcinoma and non-neoplastic oral mucosa / A. Renzi et al. *PLoS One*. 2019. Vol. 14, No. 4. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30998743/> (Last accessed: 24.02.2020).

182. Principles of PET/MR Imaging / J. A. Disselhorst et al. *The Journal of Nuclear Medicine*. 2014. Vol. 55. No. 6(Suppl. 2). P. 2–10.

183. Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer / T. Tőkés et al. *Pathology oncology research : POR*. 2020. Vol. 26, No. 3. P. 1499-1510.

184. Prognostic value of ERCC1, RRM1, BRCA1 and SETDB1 in early stage of non-small cell lung cancer / A. Lafuente-Sanchis et al. *Clinical & translational oncology: official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*. 2016. Vol. 18, No. 8. P. 798-804.

185. Prognostische Bedeutung der Expression von p53, bcl-2, und bax im Plattenepithelkarzinom des Larynx-Eine multivariate Analyse / M. C. Jäckel et al. *HNO*. 2000. Vol. 49, No. 13. P. 204–211.

186. Ramirez-Perez F. A. The role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma. *Plastic and Aesthetic Research*. 2016. Vol. 3. P. 132–141.

187. Ramorth H., Dietz A., Becher H. Interaction effects and population-attributable risk for smoking and alcohol on laryngeal cancer and its subsites. A case-control study from Germany. *Methods of Information in Medicine*. 2004. Vol. 43. P. 499–504.

188. Ramos-Vara J. A., Miller M. A. When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the Technical Aspects of Immunohistochemistry – The Red, Brown, and Blue Technique. *Veterinary Pathology*. 2014. Vol. 51, No. 1. P. 42–87.

189. Rase M. Indikation zur chirurgischen Therapie von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhlen. *Weiner Medizinische Wochenschrift*. 2008. Vol. 9-10. P. 243–248.

190. Rebelled epigenome: histone H3S10 phosphorylation and H3S10 kinases in cancer biology and therapy / D. Komar et al. *Clinical epigenetics*. 2020. Vol. 14, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33054831/> (Last accessed: 12.09.2020).

191. Reduced DNA repair capacity for removing tobacco carcinogen-induced DNA adducts contributes to risk of head and neck cancer but not tumor characteristics / Li-E Wang et al. 2010. Vol. 16, Issue 2. P. 764-774.

192. Reduced DNA repair capacity for removing tobacco carcinogen-induced DNA adducts contributes to risk of head and neck cancer but not tumor characteristics / L. Wang et al. *Clin. Cancer Research*. 2010. Vol. 16, No. 2. P. 764–774.

193. Reduced mRNA expression of nucleotide excision repair genes in lymphocytes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck / P. Han et al. *Carcinogenesis*. 2017. Vol. 38, Issue 5. P. 504–510.

194. Reißer C., Eichhorn K., Herold-Mende C. Glukoseaufnahme maligner Kopf-Hals-Tumoren. *HNO*. 1999. Vol. 47. P. 712–717.

195. Reuschenbach M. p16^{INK} als Ziel therapeutischer Impfung. *HNO*. 2015. Vol. 63, No. 2. P. 104–110.

196. Reuther T., Posselt N. K., Rabbels J., Kübler A. C. Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle. Eine retrospektive Analyse der Therapieergebnisse und Überlebensraten bei neoadjuvanter, präoperativer Radiochemotherapie. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 2006. Vol. 10. P. 18–29.

197. Riedel F., Hörmann K. Alkoholinduzierte Erkrankungen im Kopf-Hals-Bereich. *HNO*. 2004. Vol. 52, No. 7. P. 590-598.

198. Risikofaktor HPV / T. Kroll et al. *HNO-Nachrichten*. 2017. Vol. 47, No. 1. P. 35–38.

199. Risk factor for oral and pharyngeal cancer in young adults / T. Rodriguez et al. *Oral Oncology*. 2004. Vol. 40. P. 207–213.

200. Robbins K. T., Denys D., Committee for Neck dissection classification, American Head and Neck Society. The American Head and Neck Society's revised classification for neck dissection. *Proceedings of the 5th International Conference in Head and Neck Cancer* / Eds. J. T. Johnson, A. R. Shaha. Madison: Omnipress, 2000. P. 365–370.

201. Rödel R. M., Christiansen H. CT-Untersuchung zur Lokalrezidivdiagnostik bei Plattenkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2012. Vol. 188, No. 9. P. 839–840.

202. Sano D., Oridate N. The molecular mechanism of human papillomavirus-induced carcinogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *International Journal of Clinical Oncology*. 2016. Vol. 21. P. 819–826.

203. Schicha H, Schober O. Nuklearmedizin, Basiswissen und klinische Anwendung. Stuttgart: Schattauer Verlag, 2013. P. 398.

204. Schober O. PET/CT bei Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich mit unbekanntem Ursprung. Signifikanter diagnostischer Zugewinn in einer prospektiven klinischen Studie. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2012. Vol. 188, No. 7. P. 637–638.

205. Schwarz-Furlan S. Pathologie und histopathologische Prognosefaktoren oraler Karzinome. *Oralchirurgie*. 2013. December 6. URL: <https://www.zwp-online.info/fachgebiete/oralchirurgie/mundschleimhauterkrankungen/pathologie-und-histopathologische-prognosefaktoren-oraler-karzinome> (Last accessed: 25.03.2018).

206. Screening Awareness of HPV-Related Oropharyngeal Cancers and Attitudes and Concerns towards HPV Vaccination Among Parents: HPV and Oropharyngeal Cancer / Y. Dundar et al. *Journal of Cancer Education*. 2021. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13187-020-01932-w> (Last accessed: 06.03.2019).

207. Sensitivity and usefulness of anti-phosphohistone-H3 antibody immunostaining for counting mitotic figures in meningioma cases / S. Fukuschima et al. *Brain Tumor Pathology*. 2009. Vol. 26. P. 51–57.

208. Sensitivity, Specificity and the Diagnostic Accuracy of PET/CT for Axillary Staging in Patients With Stage I-III Cancer: A Systematic Review of The Literature / J. Kasem et al. *In vivo*. 2021. Vol. 35, No. 1. P. 23-30.

209. Shuo J., Dengwang L., Hongjun W., Yong Y. Registration of PET and CT images based on multiresolution gradient of mutual information demonsalgorithm for positioning esophageal cancer patients. *Journal of Applied clinical medical physics*. 2013. Vol. 14, No. 1. P. 50–61.

210. Siddiqui MS, Chandra R., Aziz A., Suman S. Epidemiology and histopathological spectrum of head and neck cancers in Bihar, a state of Eastern India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2012. Vol. 13. Issue 8. P. 3949-3953.

211. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer Statistics 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2014. Vol. 64, No. 1. P. 9–29.

212. Squamous Cell Carcinoma of the Upper Aerodigestive Tract / M. R. Spitz et al. *Cancer*. 1988. Vol. 61. P. 203–208.

213. Stellenwert der ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose-Positronenemissionstomographie in der Radiotherapieplanung von Kopf-Hals-Tumoren / A.N. Rahn et al. *Strahlen und Onkologie*. 1998. Vol. 174, No. 7. P. 358–364.

214. Stellenwert der F18-2-Fluordesoxyglukose-PET im Staging des Mundhöhlenkarzinoms / M. Kunkel et al. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 1998. Vol. 2, No. 1. P. 181–187.

215. Stenzinger A., Kriegsmann M., Kraywinkel K., Weichert W. Pathologie der malignen Kopf-Hals-Tumoren. Epidemiologie und histologische Subtypen. *Der Onkologe*. 2014. Vol. 2. URL: <https://www.springermedizin.de/pathologie-dermalignen-kopf-hals-tumoren/8665192> (Last accessed: 17.06.2018).

216. Stenzinger A., Krigsmann M., Kraywinkel K., Weichert W. Pathologie der malignen Kopf-Hals-Tumoren. *Der Onkologe*. 2014. Vol. 2. P. 116–129.

217. STOP HPV study protocol: a nationwide case-control study of the association between oropharyngeal cancer and human papillomavirus (HPV) infection in Brazil / E.M. Wendland et al. *BMJ*. 2020. Vol. 10, Issue 1. URL: <https://bmjopen.bmj.com/content/10/1/e031602> (Last accessed: 06.03.2019).

218. Stumpp P., Purz S., Sabri O., Kahn T. Molekulare Bildgebung bei Kopf-Hals-Tumoren. *Radiologe*. 2016. Vol. 56, No. 7. P. 588–596.

219. Sun X., Kaufman P. D. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018. Vol. 127, No. 2. P. 175-186. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00412-018-0659-8> (Last accessed: 16.01.2021).

220. Systematic review and individual patient data analysis of pediatric head and neck squamous cell carcinoma: An analysis of 217 cases / B. V. Prasad et al. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2017. Vol. 92. P. 75-81. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165587616304037> (Last accessed: 19.01.2021).

221. Seifert G. Oralpathologie III. Mundhöhle, angrenzendes Weichteil- und Knochengewebe. Berlin: Springer-Verlag, 2000. 625 p.

222. T- und N- Klassifikation von Kopf-Hals-Tumoren *Der Onkologie* 5. 2001 473-476.

223. The clinical relevance of Ki-67 expression in laryngeal squamous cell carcinoma / F. M. Gioacchini et al. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2015. Vol. 272, No. 7. P. 1569-1576. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00405-014-3117-0> (Last accessed: 19.01.2021).

224. The prognostic implication of the expression of EGFR, p53, cyclin D1, Bcl-2 and p16 in primary locally advanced oral squamous cell carcinoma cases: a tissue microarray study / M. C. Solomon et al. *Medical Oncology*. 2016. Vol. 33, No. 12. P. 138.

225. The prognostic role of histologic grade, worst pattern of invasion, and tumor budding in early oral tongue squamous cell carcinoma: a comparative study / B. Xu et al. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2021. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33661329/> (Last accessed: 22.01.2021).

226. The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in meningioma: A systematic review with meta-analysis / N. Liu et al. *Medicine (Baltimore)*. 2020. Vol 99, No 9. UR: https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2020/02280/The_prognostic_role_of_Ki_67_MIB_1_in_meningioma_3.aspx (Last accessed: 17.01.2021).

227. The prognostic value of cyclin D1 expression in head and neck squamous cell carcinoma / F. M. Gioacchini et al. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2016. Vol. 273. P. 801–809.

228. The proliferation markers Ki-67/MIB-1, phosphohistone H3, and survivin may contribute in the identification of aggressive ovarian carcinomas / G. Aune et al. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2011. Vol. 4, No. 5. P. 444–353.

229. The Relevance of Assessing the Cell Proliferation Factor Ki-67 in Squamous Cell Carcinoma of the Larynx / J. Vukelic et al. *BioMed research*

international. 2019. Vol. 15. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30766887/> (Last accessed: 19.06.2020).

230. The Status of the Acupuncture Mechanism Study Based on PET/PET-CT Technique: Design and Quality Control / L. Hou et al. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019. Vol. 29. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31885671/> (Last accessed: 20.04.2020).

231. TNM Klassifikation maligner Tumoren / Ch. Wittekind, F. Bootz, H.-J. Meyer (Hrsg.). Berlin: Springer-Verlag, 2012, Auflage 23p.

232. Tomar S.L., Hecht S. S., Jaspers I., Gregory R. L., Stepanov I. Oral health effects of combusted and smokeless tobacco products. *Advances in Dental Research*. 2019. Vol. 30, Issue 1. P. 4 -10.

233. TP53 Mutations and Survival in Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck / M. L. Poeta et al. *The New England Journal of Medicine*. 2007. Vol. 357, No. 25. P. 2552–2561.

234. Tribius S., Hoffmann M. Human papilloma virus infection in head and neck cancer. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2013. Vol. 110, No. 11. P. 184–190.

235. Tumor Delineation and Quantitative Assessment of Glucose Metabolic Rate within Histologic Subtypes of Non-Small Cell Lung Cancer by Using Dynamic ¹⁸F Fluorodeoxyglucose PET / T.W.H Meijer et al. *Radiology*. 2017. Vol.283, No. 2. P. 547-559. URL: <https://pubs.rsna.org/doi/full/10.1148/radiol.2016160329> (Last accessed: 18.02.2019).

236. Tumormarker und Prognosefaktoren bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region / G. Lehnerdt et al. *HNO*. 2010. Vol. 58, No. 7. P. 713–725.

237. Untersuchung der Tumorsuppressoren p16^{INKa} und p^{ARF} in Mundschleimhautleukoplakien / M. Nitsche et al. *Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie*. 2007. Vol. 11. P. 317–326.

238. Update on eighth edition American Joint Committee on Cancer classification for cutaneous melanoma and overview of potential pitfalls in

histological examination of staging parameters / C. M. Trinidad et al. *Journal of clinical pathology*. 2019. Vol. 72, No. 4. P. 265-270.

239. Utility of PHH3 in Evaluation of Mitotic Index in Breast Carcinoma and Impact on Tumor Grade / E. Mirzaian et al. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2020. Vol. 21, No. 1. P. 63-66.

240. Vogl T.J. Mack M.G. Gstöttner W. Kopf-Hals-Karzinom. Bildgebende Diagnostik. Onkologie. №5 7:477-490. 2001.

241. Wagner S., Mayer C., Witterkindt C., Klußmann J. P. Humane Papillomaviren (HPV) bei Kopf-Hals-Karzinomen. *Der Hautarzt*. 2012. Vol. 63, No. 1. P. 24–29.

242. Weber A., Schmid K.W., Tannapfel A., Wittekind C. Neuerung der TNM-Klassifikation der Kopf-Hals-Tumoren. *Der Pathologe*. 2010. Vol. 31, No. 5. P. 339–343.

243. Weber A., Tannapfel A. Prognosefaktoren bei Kopf-Hals-Karzinomen. *HNO*. 2002. Vol. 50. P. 35–42.

244. Wentzensen N., Doberitz M-K. Virale Kanzerogenese von Kopf-Hals-Tumoren. *Der Pathologe*. 2004. Vol. 25, No. 1. P. 21–30.

245. Wert der Spiral-CT im Staging von Karzinomen der Mundhöhlen und des Oro-und Hypopharynx / S. Kösling et al. *Radiologe*. 2000. Vol. 40, No. 7. P.632–639.

246. Wieder H. A., Hermann K., Ott K., Krause B. J. 18F-FDG-PET zur Therapieverlaufskontrolle beim Ösophaguskarzinom. *Radiologe*. 2007. Vol. 47, No. 2. P. 110–114.

247. Wiegand S., Teymoortasch A., Werner J. A. Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen von Mundhöhle, Rachen und Kehlkopf. *Hessisches Ärzteblatt*. 2015. Vol. 3. P. 127–132.

248. Wikimedia.org. Zellzyklus. URL:
https://de.wikipedia.org/wiki/Zellzyklus#/media/Datei:Cell_cycle_diagram.svg
 (Last accessed: 19.03.2018).

249. Willén R., Nathanson A., Moberger G., Anneroth G. Squamous cell carcinoma of the gingiva. Histological classification and grading of malignancy. *Acta Oto-Laryngologica*. 1975. Vol. 79, No. 1-2. P. 146–154.

250. Wittekind C., Weber A., Weidenbach H. Pathologie und Prognosefaktoren von Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches. *Der Onkologe*. 2001. Vol. 7. P. 498–504.

251. World Health Organization 2006. World Health Statistics 2006. URL:
https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/whostat2006_erratar_educ.pdf (Last accessed: 23.08.2018).

252. X-change symposium: status and future of modern radiation oncology-from technology to biology / S. Corradini et al. *Radiation oncology*. 2021. Vol. 16, No. 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33541387/> (Last accessed: 01.03.2021).

253. XPD/ERCC2 polymorphisms and risk of head and neck cancer: a case-control analysis / E. M. Sturgis et al. *Cancerogenesis*. 2000. Vol. 21, No. 12. P. 2219-2223.

254. Yang G. G. Phosphohistone H3: new standard ICH marker for grading tumors via mitotic indexing. *MLO: Medical Laboratory Observer*. 2011. Vol. 43, No. 7. P. 20–23.

255. Zafereo M.E., Sturgis E.M., Aleem S., Chung K., Wei Q., Li G. Glutathione S-Transferase Polymorphism and Risk of Second Primary Malignancy after Index Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Cancer Prevention Research*. 2009. Vol.2. P. 432-438.

256. Zhou G., Liu Z., Myers J. N. TP53 Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Impact on Disease Progression and

Treatment Response. *Journal of cellular biochemistry*. 2016. Vol.117, Issue 12. P. 2682-2692.

257. Аналіз показників експресії маркера фактора росту ендотелію судин (VEGF) у хворих на рак ротової частини глотки при хемопротерапевтичному лікуванні / О. В. Ковтуненко та ін. *Український радіологічний журнал*. 2013. Т. 21, Вип. 2. С. 195–199.

258. Барнушвейт Т., Левандровски А., Сметте Д., Болотин М. В. Плоскоклеточный рак головы и шеи: новые перспективы лечения? *Опухоли головы и шеи*. Москва, 2013. Вып. 3. С. 4–10.

259. Васильев А. Ю., Дудицкая Т. К., Викулова Ю. В. Сравнительный анализ возможностей мультиспиральной компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии в диагностике опухолей полости рта и ротоглотки. *Радиология-Практика*. 2013. №1. С. 4–10.

260. Возможности позитронно-эмиссионной томографии с ¹⁸F-фтордизоксиглюкозой и ¹¹C-метионином в определении и активности туберкулеоза легких: метаболические и морфологические параллели / М.С. Толстанова и др. *Клиническая медицина*. 2014. Т. 6, № 4. С. 78–84.

261. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження". 1964. *Офіційний вебпортал Верховної Ради України*. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005#Text (дата обращения: 05.11.2019).

262. Горбань Н. А., Попучиев В. В., Барышев В. В. Прогностические критерии течения плоскоклеточного рака гортани (обзор литературы). *Опухоли головы и шеи*. Москва, 2013. Вып. 1. С. 33–38.

263. Егоров М. А., Мухамеджанова Л. Р., Кулагин Р. Н., Кузнецова Р. Г. Информативность определения биомаркёров p53 и Ki-67 у пациентов с плоскоклеточным раком губы. *Практическая медицина*. 2013. № 1-2(69). Т. 1. С. 36–39.

264. Ковтуненко О. В., Шпортько Б. В., Шпонька І. С., Пославська О. В. Прогностичні імуногістохімічні показники регіонарного метастазування плоскоклітинних раків гортані. *Morphologia*. 2014. Т. 8, № 4. С. 30–36.

265. Ковтуненко О. В., Бакаєв А. А., Шпонька І. С., Пославська О. В. Особливості морфологічних варіантів плоскоклітинного раку верхньощелепної пазухи: імуногістохімічна характеристика. *Morphologia*. 2014. Т. 8, № 3. С. 27–34.

266. Конурбаев Т.Р. Влияние метаболизма опухолей на стандартизированный уровень накопления радиофармпрепарата 18F - ФДГ (SUV) при ПЭТ/КТ исследовании у больных раком пищевода и желудка. *Современные проблемы науки и образования*. 2014. № 1. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11231> (дата обращения: 12.10.2018).

267. Некоторые молекулярно-биологические маркеры (p53, Ki-67, CD34) при раке органов рта / П. В. Светицкий и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 2-1. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17445> (дата обращения: 05.11.2018).

268. Новицкий А. В., Тыренко В. В., Бойков И. В., Горностаев Д. А. Результаты применения совмещенной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии в стадировании больных злокачественными лимфомами. *Онкология*. 2011. № 12. С. 598–609.

269. Папилломавирусная инфекция и прогрессия опухолей головы и шеи / В. А. Бычков и др. *Инфекция и иммунитет*. 2014. Т. 4, № 2. С. 162–166.

270. Пачес А. И., Пустынский И. Н., Демидов Л. В. Опухоли головы и шеи. Москва: Практическая медицина, 2013. 160 с.

271. Петри А., СэбинК. Наглядная статистика в медицине / пер. с англ. В.П. Леонова. Москва: ГЭОТАР МЕД, 2003. 144 с.

272. Поиск первичного очага при метастатическом поражении лимфоузлов шеи / Е. П. Куликов и др. *Российский медико-биологический*

вестник имени академика И.П. Павлова. 2016. Том 24, № 4. С. 119-125. URL: <https://journals.eco-vector.com/pavlovj/article/view/6077> (дата обращения: 05.11.2018).

273. Пославська О. В. Імуноморфологічні аспекти прогнозування перебігу плоскоклітинних раків орофарінгеальної області. *Морфологія*. 2011. Т. 5, № 3. С. 85–91.

274. Пославська О. В., Легеза О. А., Мальцев І. О., Алексеєнко О. А. Прогнозування перебігу плоскоклітинних раків ротоглотки: імуноморфологічні аспекти. *Патологія*. 2012. № 3(26). С. 111.

275. Рудас М. С. Позитронно-эмиссионная томография в клинической практике: учебно-методическое пособие/ / М. С. Рудас, И. Ю. Насников, Г. Г. Матякин. – Москва: Центральная клиническая больница УДП РФ, 2007. С. 53.

276. Рязнов В. В., Труфанов Г. Е. Морфофункциональная характеристика опухолей пищевода с применением современной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии. *Вестник Санкт-Петербургского университета*. Серия 11. 2008. Вып. 1. С. 93–106.

277. Смеетс Д., Эртмер К., Брауншвейг Т., Болотин М.В. Роль вируса папилломы человека (ВПЧ) при различных локализациях плоскоклеточного рака головы и шеи. *Опухоли головы и шеи*. Москва, 2011. Вып. 1. С. 61–65.

278. Шахсуварян С. Б., Поляков Б. И., Ломая М. А. Прогностическая роль клинических, морфологических и молекулярно-генетических характеристик рака гортани, медицинская реабилитация, количественная оценка степени функциональных нарушений при осуществлении экспертно-реабилитационной диагностики. *Опухоли головы и шеи*. Москва, 2015. Том 5, № 4. URL: <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2015-5-4-28-40> (дата обращения: 16.08.2018).

279. Шпонька І. С., Гриценко П. О., Пославська О. В., Шпонька В. І. Плоскоклітинні раки орофарінгеальної області: залежність клінічного перебігу від імунофенотипу пухлини. *Патологія*. 2009. Т. 6, № 3. С. 4–10.

ДОДАТКИ
Додаток А Акти впровадження
ДОДАТОК А1

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи
 ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”



 доцент Геруш І. В.
 22 серпня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
 Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
 Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес — у матеріали лекцій та практичних занять з патологічної анатомії з патоморфології пухлин.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Схвалено на засіданні кафедри патологічної анатомії
 (протокол №1 від 21 серпня 2020 р.)

Відповідальний за впровадження – завідувач кафедри патологічної анатомії,
 доктор медичних наук, професор


 І.С.Давиденко

ДОДАТОК А2

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи
ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”



доцент Геруш І. В.

“27 серпня” 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес — у матеріали лекцій та практичних занять з патологічної анатомії з патоморфології пухлин.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Схвалено на засіданні кафедри патологічної анатомії

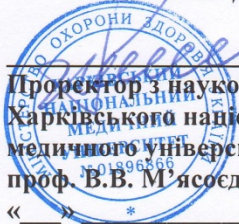
(протокол №1 від 21 серпня 2020 р.)

Відповідальний за впровадження – завідувач кафедри патологічної анатомії,
доктор медичних наук, професор

І.С.Давиденко

ДОДАТОК АЗ

ЗАТВЕРДЖУЮ

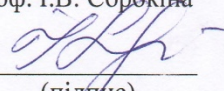

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
проф. В.В. М'ясоєдов
«___» _____ 20__ р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.):** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Ким і коли запропонований:** Лисак А.В., Дядик О.О.; Патологоанатомічний центр НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна, 18, 01133; Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, 04112.
3. **Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):**
 - Лисак А.В., Дядик О.О. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37). С. 4-13.
 - Лисак А.В. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки. Art of Medicine. 2018, №3 (7) липень-вересень. С. 72-80.
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2020 р.
5. **Результати застосування методу за період з 10.12.2019 р. по 10.05.2020 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і аспірантів щодо вдосконалення морфологічної діагностики пухлин орофарингеальної ділянки за допомогою забарвлення гістологічних зрізів імуногістохімічними маркерами рННЗ і Ki-67 з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

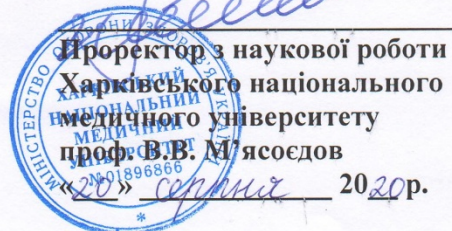
Відповідальний(і) за впровадження
в.о. завідувача кафедри
патологічної анатомії ХНМУ

20 серпня 2020
(дата)

проф. І.В. Сорокіна

(підпис)

ДОДАТОК А4

ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
проф. В.В. М'ясоєдов
«20» серпня 2020 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.):** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Ким і коли запропонований:** Тіш М., Лисак А.В., Дядик О.О.; Патологоанатомічний центр НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна, 18, 01133; Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, 04112.
3. **Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):** Тіш М., Лисак А.В., Дядик О.О. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2020 р.
5. **Результати застосування методу за період з 10.12.2019 р. по 10.05.2020 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і аспірантів щодо вдосконалення морфологічної діагностики пухлин орофарингеальної ділянки за допомогою порівняння рівня гістологічного диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони та їхньої метаболічної активності за даними позитронно-емісійної томографії.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний(і) за впровадження
в.о. завідувача кафедри
патологічної анатомії ХНМУ

20 серпня 2020
(дата)

проф. І.В. Сорокіна

(підпис)

ДОДАТОК А5

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Харківської медичної академії
післядипломної освіти
Проф. М.А. Георгіяц



“25” *серпня* 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингіальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А.В. Лисак, О.О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. Впровадження затверджено на навчально-методичній нараді кафедри від 08.01.2020
6. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.05.2020;
7. **Загальна кількість спостережень:** 121
8. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
9. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри патологічної анатомії,

Д.мед.н., проф.

25.09.2020

ЯКОВЦОВА Ірина Іванівна

ДОДАТОК А6

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Харківської медичної академії
післядипломної освіти
Проф. М.А. Георгіяни



“25” *серпня* 2020 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Впровадження затверджено** на навчально-методичній нараді кафедри від 08.01.2020.
6. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
7. **Загальна кількість спостережень:** 121
8. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
9. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри патологічної анатомії,

Д.мед.н., проф.

25.08.2020

ЯКОВЦОВА Ірина Іванівна

ДОДАТОК А7

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького, член-кореспондент НАМН
України, доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки

ГЖЕГОЦЬКИЙ Мечислав Романович

2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: Спосіб визначення рівня
диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними
позитронно-емісійної томографії.

Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Патологоанатомічний
центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична
академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул.
Дорогожицька, 9.

**Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ.
листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**

М. Тіш, А.В. Лисак, О.О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8.
Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66.
Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності
плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-
емісійної томографії.

- 1. Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
- 2. Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.05.2020;
- 3. Загальна кількість спостережень:** 121
- 4. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
- 5. Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії
та судової медицини, доктор медичних наук,
професор

26.08.2020

ПОСПІШЛЬ Юрій Олексійович

ДОДАТОК А8

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор з науково-педагогічної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України,
ГЖЕГОЦЬКИЙ Мечислав Романович
“26” серпня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А.В. ArtofMedicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії
та судової медицини, доктор медичних наук,
професор
26.08.2020


ШОСПШІЛЬЮрій Олексійович

ДОДАТОК А9

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор Запорізького
державного медичного університету,
доцент Авраменко М.О.



М.О. Авраменко
10 вересня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Форма впровадження:** в навчальний процес – матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології.
7. **Відповідальний за впровадження:** зав. кафедрою патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету, д.мед.н., професор С.І.Тертишний.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол від 10 вересня 2020р. № 4)

Завідувач кафедри патологічної анатомії
і судової медицини, доктор медичних наук,
професор

Тертишний С.І.

ДОДАТОК А10

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор Запорізького
державного медичного університету,
доцент Авраменко М.О.



М.О. Авраменко
4 вересня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію): М. Тіш, А.В. Лисак, О.О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. Впроваджено: Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. Термін впровадження: з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. Форма впровадження: в навчальний процес – матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології.
7. Відповідальний за впровадження: зав. кафедрою патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету, д.мед.н., професор С.І.Тертишний.
8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол від 4 вересня 2020р. № 4)

Завідувач кафедри патологічної анатомії
і судової медицини, доктор медичних наук,
професор

04.09.2020

С.І. Тертишний

Тертишний С.І.

ДОДАТОК А11

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

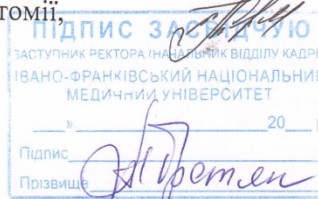
Проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор М.І. Вакалюк
“28” серпня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп’ютерної мікроскопії.
- 2. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
- 3. Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А. В., Дядик О. О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37): 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А. В. Art of Medicine. Кореляційний зв’язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки. липень-вересень 2018, №3(7): 72-80
- 4. Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
- 5. Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
- 6. Загальна кількість спостережень:** 121.
- 7. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркеру фосфогістон НЗ, доводить достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеня диференціювання новоутворення.
- 8. Зауваження, пропозиції:** немає.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 1 від 27 серпня 2020р.)

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
доктор медичних наук, професор



Е.О. Кіндратів

ДОДАТОК А12

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор І.П. Вакалюк
“28” серпня 2020 року.

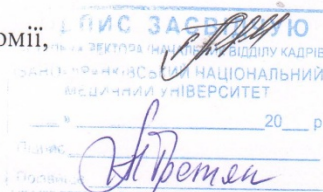


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А.В. Лисак, О.О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв’язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 1 від 24 серпня 2020 р.)

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
доктор медичних наук, професор



Е.О. Кіндратів

ДОДАТОК А13

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Заступник директора медичного
інституту Сумського державного
університету з наукової роботи, доктор
медичних наук, доцент
ПОГОРЕЛОВ Максим Володимирович

“07” серпня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркера фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
доктор медичних наук, професор

РОМАНЮК Анатолій Миколайович

ДОДАТОК А14

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Заступник директора медичного
інституту Сумського державного
університету з наукової роботи, доктор
медичних наук, доцент
ПОГОРЄЛОВ Максим Володимирович

“07” *серпня* 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію): М. Тіш, А.В. Лисак, О.О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. Впроваджено: Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. Термін впровадження: з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. Загальна кількість спостережень: 121
7. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації): Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. Зауваження, пропозиції: немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
доктор медичних наук, професор

ROMANIUK
РОМАНЮК Анатолій Миколайович

ДОДАТОК А15

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного
медичного університету ім.
М.І.Пирогова, доктор медичних
наук, професор
ВЛАСЕНКО Олег Володимирович



[Handwritten signature]

2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон Н3 як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки з використанням маркера фосфогістон Н3, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
судової медицини та права, доктор

медичних наук, професор

[Handwritten signature]

ГАВРИЛЮК Алла Олександрівна

ДОДАТОК А16

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного
медичного університету ім.
М.І.Пирогова, доктор медичних

наук, професор
ВЛАСЕНКО Олег Володимирович



09 _____ 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингеальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри патологічної анатомії,
судової медицини та права, доктор

медичних наук, професор *А. Гаврилюк* ГАВРИЛЮК Алла Олександрівна

ДОДАТОК А17

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Української військово-медичної академії, доктор медичних наук, професор, полковник медичної служби
В.Л. Савицький

"21" _____ 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Начальник кафедри військової хірургії,
доктор медичних наук, професор,
полковник м/с



Я.Л. ЗАРУЦЬКИЙ

Начальник патологоанатомічної лабораторії НВМКЦ «ГВКГ»
майор м/с



А.В. ЛИСАК

ДОДАТОК А18

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Української військово-медичної академії, доктор медичних наук, професор, полковник медичної служби
В.Л. Савицький

"2" _____ 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Начальник кафедри військової хірургії,
доктор медичних наук, професор,
полковник м/с



Я.Л. ЗАРУЦЬКИЙ

Начальник патологоанатомічної лабораторії НВМКЦ «ГВКГ»
майор м/с



А.В. ЛИСАК

ДОДАТОК А19

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Національного військово –
Медичного клінічного центру "ГВКГ"

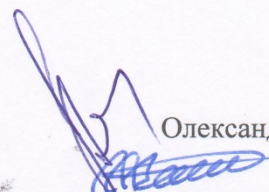
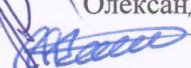
2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник начальника НВМКЦ «ГВКГ»
медичної частини
начальник медичної частини полковник м/с

Начальник патологоанатомічної лабораторії майор м/с


Олександр ЦИЦ

Андрій ЛИСАК

ДОДАТОК А20

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Національного військово –
Медичного клінічного центру "ГВКГ"

"05" березня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник начальника НВМКЦ «ГВКГ»
медичної частини
начальник медичної частини полковник м/с


Начальник патологоанатомічної лабораторії майор м/с

Олександр ЦИЦ

Андрій ЛИСАК

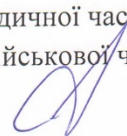
ДОДАТОК А21

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

ТВО командира військової частини А2923
полковник медичної служби  В.БЕСАГА
"19" травня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

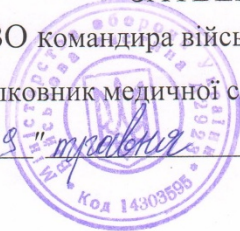
1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофаренгіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірно ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

ТВО заступника командира з медичної частини-
начальника медичної частини військової частини А2923
полковник медичної служби  С.ДАВИДОВ

ДОДАТОК А22

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

ТВО командира військової частини А2923
 полковник медичної служби В.БЕСАГА
 "18" травня 2020 року.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
 М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

ТВО заступника командира з медичної частини-
 начальника медичної частини військової частини А2923
 полковник медичної служби С.ДАВИДОВ

ДОДАТОК А23

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник 9 військового госпіталю
(військова частина А4302)

підполковник медичної служби


Валентин КИЛИВНИК



2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. Впроваджено: Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. Термін впровадження: з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. Загальна кількість спостережень: 121
7. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації): Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. Зауваження, пропозиції: немає.

Заступник начальника госпіталю з медичної частини -
начальник медичної частини госпіталю (військова частина А4302)
підполковник м/с  Людмила ЯЦЕНКО

ДОДАТОК А24

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник 9 військового госпіталю
(військова частина А4302)

підполковник медичної служби

Валентин КИЛИВНИК

"07" травня 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон Н3 як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінювані рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон Н3, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник начальника госпіталю з медичної частини -
начальник медичної частини госпіталю (військова частина А4302)
підполковник м/с Людмила ЯЦЕНКО

ДОДАТОК А25

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор КНП «Госпіталь

«Печерський» Печерського району

міста Києва»



Ю.П.Климишин

"10" 2020 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінювані рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач терапевтичним відділенням

КНП «Госпіталь «Печерський»

к.м.н.

В.М.Грушовська

ДОДАТОК А26

"ЗАТВЕРДЖУЮ"



Директор КНП «Госпіталь
«Печерський» Печерського району
міста Києва»

Ю.П.Климишин

2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач терапевтичним відділенням
КНП «Госпіталь «Печерський»

кмн

В.М.Грушовська

ДОДАТОК А27

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Командир військової частини А3120

полковник м/с

О. СЛЕСАРЕНКО

" 16 " червня 2020 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник командира військової частини А3120 з медичної частини-
начальник медичної частини
підполковник м/с

 А. ОТРОШКО

Начальник патологоанатомічної лабораторії
майор м/с

А. ЛИСАК

ДОДАТОК А28

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Командир військової частини А3120
полковник м/с

О. СЛЕСАРЕНКО

" 16 " вересня 2020 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник командира військової частини А3120 з медичної частини-
начальник медичної частини
підполковник м/с

А. ОТРОШКО

Начальник патологоанатомічної лабораторії
майор м/с

А. ЛИСАК

ДОДАТОК А29

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Військово-медичного
клінічного центру Північного регіону
полковник м/с Ю. Подолян

"16" *квітня* 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник начальника Військово-медичного клінічного центру
Північного регіону з медичної частини-начальник медичної частини
полковник м/с Є. Скиба

ДОДАТОК А30

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Військово-медичного
клінічного центру Північного регіону
полковник м/с Ю. Подолян

" 16 " *листопада* 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. Рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Заступник начальника Військово-медичного клінічного центру
Північного регіону з медичної частини-начальник медичної частини
полковник м/с

С. Скиба
С. Скиба

ДОДАТОК АЗ1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник

Військово-медичного клінічного центру
Західного регіону (м. Львів)

полковник м/с Іван ГАЙДА

" / " 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

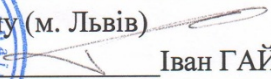
1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):** М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2019 по 10.5.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач патологоанатомічної лабораторії

Військово-медичного клінічного центру Західного регіону
працівник ЗС України Марія ЗАКАЛИК

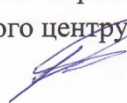
ДОДАТОК А32

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник
Військово-медичного клінічного центру
Західного регіону (м. Львів)
полковник м/с  Іван ГАЙДА
" 16 " 04 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоско клітинних орофарингеальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп'ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічна лабораторія НВМКЦ «ГВКГ», м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.4.2020.
6. **Загальна кількість спостережень:** 121.
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач патологоанатомічної лабораторії
Військово-медичного клінічного центру Західного регіону
працівник ЗС України  Марія ЗАКАЛИК

ДОДАТОК А33



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи, доктор медичних наук, професор

Толстанов Толстанов О.К.

“20” листопада 2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингіальних карцином за допомогою фарбування гістологічних зрізів імуногістохімічним маркером з наступною візуалізацією зразка методом цифрової комп’ютерної мікроскопії.
2. **Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів:** Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):**
Лисак А.В., Дядик О.О. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2016, №2 (37) С. 4-13. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної зони.
Лисак А.В. Art of Medicine. №3(7) липень-вересень 2018. С., 72-80. Кореляційний зв’язок проліферативного індексу Ki-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингіальної ділянки.
4. **Впроваджено:** Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. **Термін впровадження:** з 10.12.2016 по 10.04.2020;
6. **Загальна кількість спостережень:** 121
7. **Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації):** Визначення мітотичної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки з використанням маркера маркеру фосфогістон НЗ, доводять достовірне ($p < 0,001$) зростання кількості мітозів у пухлинних клітинах із зниженням ступеню диференціювання новоутворення.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувачка кафедри патологічної та топографічної анатомії,
доктор медичних наук, професор

Дядик О.О.

ДОДАТОК А34



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної,
роботи, доктор медичних наук,
професор

Толстанов О.К.

2020 року.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб визначення рівня диференціювання плоскоклітинних орофарингіальних карцином за даними позитронно-емісійної томографії.
2. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Патологоанатомічний центр НВМКЦ “ГВКГ”, м. Київ, вул. Госпітальна 18. Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. м. Київ, 04112, вул. Дорогожицька, 9.
3. Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію):
М. Тіш, А. В. Лисак, О. О. Дядик. УДК: 616.22+616.31]-006.6-018-091.8. Патологія. Науково-практичний медичний журнал. 2019, №1 (45) С. 60-66. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії.
4. Впроваджено: Принципи діагностики пухлин орофарингіальної ділянки.
5. Термін впровадження: з 10.12.2019 по 10.05.2020;
6. Загальна кількість спостережень: 121
7. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації): Доведено достовірне ($p < 0,001$) зростання значення показника SUVmax із зниженням ступеню диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингіальної ділянки. При цьому, найменше ($p < 0,05$) значення SUVmax відповідало пацієнтам групи G1, а найбільше ($p < 0,05$) – пацієнтам групи G3. Показники для пацієнтів групи G2 мали проміжне значення SUVmax, що були статистично значуще ($p < 0,05$) вище, ніж для групи G1, але нижче ($p < 0,05$), ніж для групи G3.
8. Зауваження, пропозиції: немає.

Завідувачка кафедри патологічної
та топографічної анатомії,
доктор медичних наук, професор

Дядик О.О.

Додаток Б Наукові праці, опубліковані за темою дисертації
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації.

1. Лисак А. В., Дядик О. О. Фосфогістон НЗ як стандарт імуногістохімічного дослідження в оцінюванні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони. *Патологія. Науково-практичний медичний журнал*. 2016. № 2(37). С. 4–13.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

2. Лисак А. В., Дядик О. О. Можливості одномоментної позитронно-емісійної та комп'ютерної томографії в визначенні рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки на доопераційному етапі. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. Київ, 2017. Вип. 28. С. 288–292.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

3. Лисак А. В. Кореляційний зв'язок проліферативного індексу Кі-67 та рівня метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки. *ArtofMedicine*. 2018. № 3(7). С. 72–80.

4. Тіш М., Лисак А.В., Дядик О.О. Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії. *Патологія. Науково-практичний медичний журнал*. 2019. № 1(45). С. 60–67.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

5. Lysak Andrii, Diadyk Olena. «Relationship between the results of immunohistochemical examination (PHH3, KI-67) and positron emission tomography data (Suvmax) of Oropharyngeal squamous cell carcinoma». Lysak Andrii, Diadyk Olena в журналі World Science No7(59), 2020 видавництво RS Global Sp. z O.O., Варшава, Польща 2020, С.30-39.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

1. Лисак А. В., Дядик О. О. Особливості клітинної інфільтрації в прилеглий стромі плоско-клітинних орофарингіальних карцином в залежності від рівня їх диференціювання. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених*: матеріали 40-вої ювілейної науково-практичної конференції молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки (м. Київ, 18 травня 2017 р.). Київ, 2017. С. 108–109.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

2. Лисак А. В., Дядик О. О. Клініко-морфологічні можливості одномоментної позитронно-емісійної та комп'ютерної томографії при прогнозуванні рівня диференціювання пухлин орофарингеальної ділянки. *Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії*: матеріали науково-практичної конференції (м. Київ, 26-27 квітня 2017 р.). Київ, 2017. С. 69–71.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

3. Лисак А. В., Дядик О. О. Оцінка рівня диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони за допомогою імуногісохімічного маркеру фосфогістону Н3. *Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи*: матеріали заочної науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведникова (м. Харків, 24 грудня 2016 р.). Харків, 2016. С. 82–83.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

4. Дядик О. О., Лисак А. В. Кореляційний аналіз позитронно-емісійної томографії з комп'ютерною томографією при діагностиці плоскоклітинного раку ротової порожнини різного рівня диференціювання. *XIII З'їзд онкологів та радіологів України: матеріал з'їзду* (м Київ, 26-28 травня 2016 р). Київ, 2016. С. 23.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, відбір, клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Akademisches Krankenhaus der Universität Ulm


Sanitätsdienst
Wir. Dienen. Deutschland.

BwKrhs Ulm, Hals-, Nasen- und Ohrenklinik, Oberer Eselsberg 40,

Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde Kopf-Halschirurgie, Plastische Operationen, Allergologie, Stimm- und Sprachstörungen

89081 Ulm

Per Email
Lisaka95@gmail.com

Telefon: 0731 1710-Apparat
Telefax: 0731 1710-1530
BwKrhsUlmAbtVHNO@bundeswehr.org
www.bundeswehrkrankenhaus-ulm.de

Ärztlicher Direktor:
Prof. Dr. med. habil. M. Tisch, OTArzt
Honorary Doctorate in Medicine
Jordan University of Science and Technology (JUST)

Stellvertretender Ärztlicher Direktor:
Prof. Dr. med. habil. K. J. Lorenz, OFArzt

Sekretariat: -1501
Frau Anker
Terminvereinbarung Privatambulanz
Mo-Do 08:00 – 12:00, 13:00-16:00
Fr 08:00 – 12:00

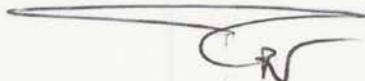
B e s c h e i n i g u n g

Ulm, den 03.08.2018/scha

Zur Vorlage bei der zuständigen Institution

Betr.: Herrn Lysak Andrii

Als Doktorvater habe ich nichts dagegen, dass Herr Lysak die im BWK Ulm gesammelten Daten für weitere wissenschaftliche Forschungen (Artikel, Doktorarbeit) in der Ukraine benutzen kann.



Prof. Dr. med. habil. M. Tisch, OTArzt
Honorary Doctorate in Medicine
Jordan University of Science and Technology (JUST)
Ärztlicher Direktor

Seite - 1 - von 1

Mitglied im Kopfklinikum am Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Mitglied im allergologischen Zentrum am Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Mitglied des überregionalen Traumazentrums am Bundeswehrkrankenhaus Ulm