

ПОСТАВЉАЊЕ ДИЈАГНОЗЕ КОД РАЗЛИЧИТИХ ПРОМЕНА СЛУЗНИЦЕ ГЛАСНИЦА КОНТАКТНОМ ЕНДОСКОПИЈОМ: ПРВА ПРИМЕНА У НАШОЈ КЛИНИЧКОЈ ПРАКСИ

Милан Б. ЈОВАНОВИЋ¹, Јелена ПЕРОВИЋ-ЈОВАНОВИЋ¹, Сања МИЛЕНКОВИЋ²

¹Служба за оториноларингологију са максилофацијалном и цервикалном патологијом, Клиничко-болнички центар „Земун”, Београд; ²Служба за клиничку патологију, Клиничко-болнички центар „Земун”, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

У току ларингомикроскопије површни слојеви епитела гласница се могу испитати контактним ендоскопом *in vivo* и *in situ*. Метиленско плаво се користи да би се обојиле епителне ћелије гласница. У непосредном контакту са ткивом овај ендоскоп омогућава увеличање слике 60 и 150 пута и јасну видљивост особина ћелија површних слојева епитела. Први пут смо у нашој клиничкој ларинголошкој пракси потврдили бројне раније утврђене параметре [5], као што су правилност и распоред епитела, облик једра, однос распореда једра и цитоплазме, што нам је омогућило да лако и рано препознајемо различита клиничка стања, као што су хронични ларингитис, Рајнкеови (*Reinke*) едеми, папиломи, дисплазије и карцином на гласницама. Предност покретљивости контактне ендоскопије дозвољава оцртавање *in vivo* и *in situ* и детаљно „мапирање” свих промена на ћелијама дуж целе површине слузнице. Ове способности сврставају контактну ендоскопију у допунско дијагностичко средство у ларингологији.

Кључне речи: ендоскопија; епител; патологија; гласнице

УВОД

Увођењем микроскопа при директној ларингоскопији и у ендоларинксну хирургију побољшан је приступ унутрашњој грађи ларинкса [1, 2]. Микроларингоскопија је широм света постала стандардна техника која се користи за дијагностиковање патолошких промена на слузници гласница. Поред свих предности, међутим, понекад постоје ограничења и проблеми при постављању микроскопске дијагнозе због тешкоћа у неадекватном приказу и отежаном приступу одређеним деловима и просторима ларинкса [3] или због недовољно прегледних области приликом овог испитивања [4].

Метод контактне ендоскопије се развио како би се омогућила знатно боља претерапијска хистолошка идентификација лезија гласница. Контактна ендоскопија се такође изводи у току класичне микроларингоскопије, а омогућава посматрање површних слојева епитела *in vivo* и *in situ* који је претходно обојен метиленским плавим. На великим увеличањима контактне ендоскопије (60× и 150×) добија се директни, интраоперациони увид у основне хистолошке и цитолошке особине ћелија [5]. Испитивање контактним ендоскопом је врло корисно за анализу нормалне слузнице, али и за прецизно дијагностиковање бенигних, премалигних и малигних промена на гласницама [6, 7].

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се применом метода контактне ендоскопије, која се први пут примењује у нашој ларинголошкој пракси, у непосредном додиру са ткивом *in vivo* и *in situ*, одреде обим и проширеност болести на различитим местима слузнице гласница и у различитим стадијумима, чиме би се прецизирала

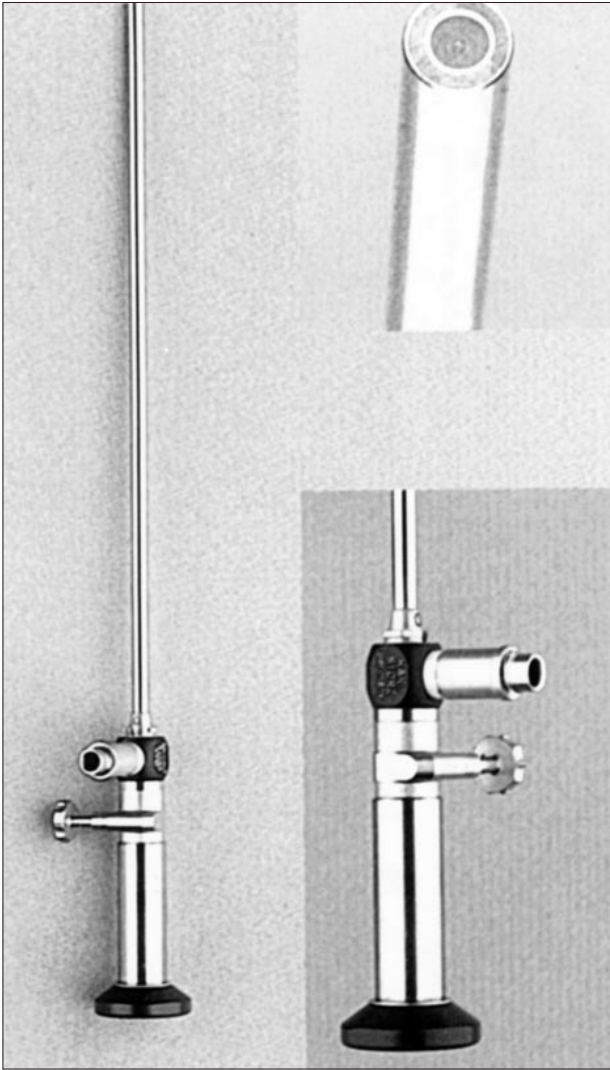
обољења код којих се овај метод може успешно применити. Такође, циљ је био да се истим методом дефинишу основне особине ћелија површних слојева епитела слузнице гласница у нормалним и патолошким стањима.

МЕТОД РАДА

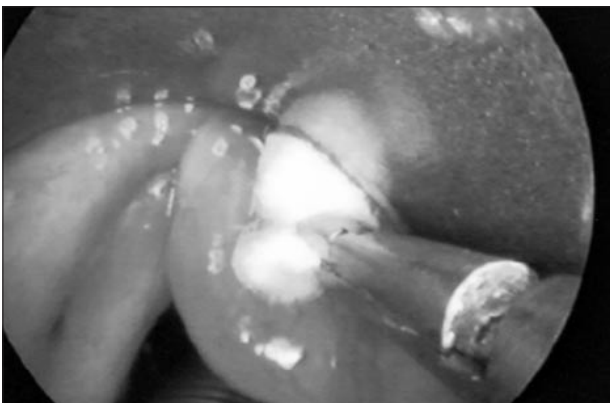
Материјал на којем су анализирани промене добијен је од 80 болесника с различитим бенигним, премалигним и малигним променама слузнице гласница – хронични ларингитис, Рајнкеови (*Reinke*) едеми, хиперкератоза, папиломи код одраслих особа, јувенилна папиломатоза, дисплазија и карцином. Болесници су примљени у Служби за оториноларингологију са максилофацијалном и цервикалном патологијом Клиничко-болничког центра „Земун”, где је и постављена дијагноза болести. Код свих болесника је урађен директан ендоскопски преглед хируршким микроскопом на различитим увеличањима (25×, 40×) или је обављена микроларингоскопија (МЛС).

За детаљно посматрање појединих области нормалне и патолошке измењене слузнице ларинкса коришћен је ригидни контактни ендоскоп (*Karl Storz 8715*), који је приказан на слици 1. Ригидни контактни ендоскоп опремљен је оптичким системом за посматрање ларинкса из различитих углова (0°, 30°). На овај начин омогућен је правилан положај изнад области која се испитује. Углавном је коришћен раван телескоп, који омогућава и одличан панорамски поглед на великом увеличању. Контактни ендоскоп (дужине 23 cm, пречника 5,5 mm) специјално је направљен за непосредан додир са слузницом испитиваног ткива.

Примењујући метод контактне ендоскопије *in vivo* и *in situ*, подесили смо слику на мање (60×) и веће (150×) увеличање, те детаљно испитали површне

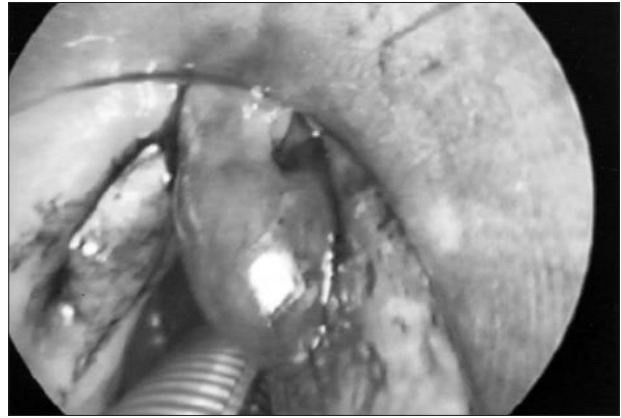


СЛИКА 1. Контактни ендоскоп.
FIGURE 1. Contact endoscope.



СЛИКА 2. Слузница гласница се суши са спонгостаном (*Spongostan*[®]) натопљеним у физиолошки раствор.
FIGURE 2. Vocal fold mucosa was wiped with a *Spongostan*[®] pad soaked in pH salt solution.

слојеве епитела гласница. Слузница је брисана комадом спонгостана (*Spongostan*[®]), који је био натопљен у физиолошки раствор, а затим је нежно аспириран секрет и сушена површина (Слика 2). За бојење је коришћен једнопроцентни раствор метиленског плавог (0,5 ml) (Слика 3). Врхом контактеног ендоскопа је врло нежно додиривана површина слузнице.



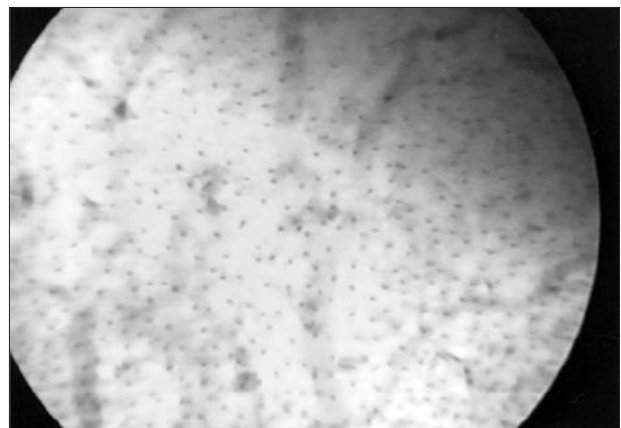
СЛИКА 3. Бојење слузнице гласница метиленским плавим.
FIGURE 3. Vocal fold mucosa was stained with methylene blue.

За фотографије и документацију коју смо направили у току рада помоћу контактеног ендоскопа коришћен је снажан извор ксенонског осветљења (*Karl Storz 615*), који је омогућио видео-приказ на монитору преко видеокамере (*Karl Storz Endovision Telecam CCD 9050*) фиксиране на контактни ендоскоп. Видео-приказ је забележен супер VHS системом (*JVC RM G810V*).

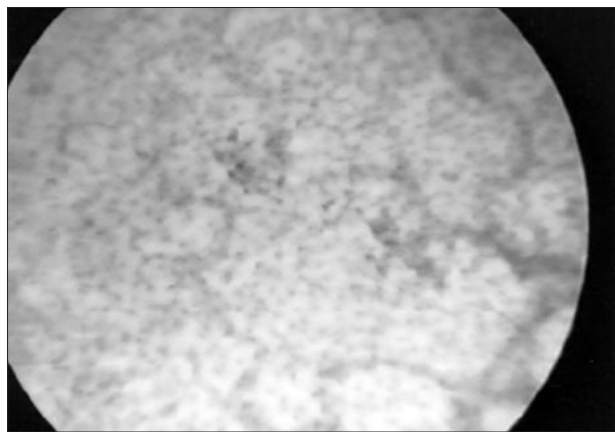
РЕЗУЛТАТИ

Када се контактним ендоскопом додирне површина гласнице, површни слојеви епитела постају видљиви. Снажна пребојеност траје четири-пет минута, а бојење се може поновити уколико се продужава време посматрања. Морфолошке промене које су настале у обојеним површним слојевима слузнице нудиле су хистолошке и цитолошке параметре који су значајни за одређивање типа лезије. У зависности од клиничког изгледа и положаја, читав поступак је трајао 10-15 минута.

Ћелије и једра нормалног плочастог слојевитог епитела показују правилне и истоветне морфолошке особине: обојеност, облик, величину, однос распореда једра и цитоплазме (Слика 4). Једра епителних ћелија су обојена тамноплавом бојом, док је цитоплазма обојена светлоплаво. Лаганим померањем контактеног ендоскопа на гласници латерално према



СЛИКА 4. Нормалан, плочаст, слојевит епител гласница (×150).
FIGURE 4. Normal vocal fold squamous epithelium (×150).



СЛИКА 5. Једро заузима већи простор у цитоплазми код хроничог ларингитиса и Рајнкеових едема (x60).

FIGURE 5. The nuclei were larger than in normal epithelium and occupied more space in cytoplasm in patients with chronic laryngitis and Reinke's edema (x60).

слузници вентрикулног набора распознаје се прелаз плочастог слојевитог епитела у цилијарни епител, али та линија није оштра. На контактної ендоскопији крвни судови показују бољи контраст од околног ткива. Крвни судови различитог калибра и облика се јасно распознају, а понекад се може уочити и сам проток. Код болесника с хроничним ларингитисом и Рајнкеовим едемима епителне ћелије задржавају правилан изглед и распоред, али су једра већа него код нормалног епитела, а повећава се и разлика у односу распореда једра и цитоплазме, јер једро тада заузима већи простор у цитоплазми (Слика 5).

Премалигне промене које су биле праћене знацима кератинизације лако се доказују применом метода контактне ендоскопије, будући да се промене јављају на површини епитела. Поједини стадијуми кератинизације могу се разликовати и раздвојити, мада су се понекад јављали и истовремено код истог болесника. Код болесника код којих је дијагностикована леукоплакија, осим кератинизације, могли смо да опишемо и друге типове и степене патолошких промена. Уочили смо и појаву хетерогених ћелија, са једром различитог облика, величине и боје, код болесника са хистолошким налазом дисплазије.

Код болесника са папиломатозом гласница контактна ендоскопија омогућава добру видљивост већег броја папила које су покривене плочастим слојевитим епителом. Свака папила је снабдевена властитим крвним судом, који је смештен у центру папиле. Код појединих папилома одраслих особа потврдили смо налаз типичних ћелија – коилоцита („балониране ћелије”). Ове ћелије имају вакуолизовану цитоплазму, са једром које је умерено на периферију и смештено непосредно уз ћелијску мембрану. Једро је често савијено и добија изглед месечевог српа због притиска цитоплазматских вакуола.

Код карцинома гласница контактном микроендоскопијом показали смо неправилност распореда и изразиту хетерогеност ћелија, са једрима различитог облика, величине и обојености. С друге стране, код бенигну промена се чворићи гласница, код којих су промене тек у касној фази израженије на епителу, могу применом ове технике у потпуности уочити.

ДИСКУСИЈА

Контактна ендоскопија је почела да се примењује ради побољшања увида у ларинкс, јер је досадашњим испитивањем посматрана само клинички видљива промена на површини слузнице. Идеја о примени контактне ендоскопије се развијала јер су били потребни боље осветљење, дубина поља и преглед болесника без трауме. Повећањем промера контактне ендоскопа (5 mm) и оптичког увећања добија се више светла, боља слика и унапређује дефинисање промена гласница. За витално бојење слузнице гласница коришћено је метиленско плаво јер је лако доступно и у широкој клиничкој употреби. Међутим, тачан степен пенетрације метиленског плавог, као апсорптивне боје у епител, остаје и даље да се одреди. Пјаца (Piazza) и сарадници [8] су за слична испитивања користили са истим успехом толуидинско плаво.

Будући да је епител гласница стално изложен утицајима спољних фактора, епителне ћелије имају ограничено време трајања, те ћелијска обнова и променљивост непрекидно трају. Динамичко покретање ћелија се одвија према површини, тако да се већина патолошких промена епитела манифестује управо у његовим површним слојевима [9]. Када је утицај спољашњих агенаса интензивнији, епител реагује хиперплазијом или стварањем површног слоја кератина, који има улогу механичке заштите. Међутим, када је процес орожавања јасно ограничен, на ендоскопском прегледу се виде „плоче” или „плакови” (хиперкератоза). Општи приступ површним слојевима епитела је у потпуности био изведен градијацијом од нормалног до патолошког стања, чиме су лако забележене различите фазе исте болести.

У нашем раду такође су одсликани патолошка стања и распоред појединих ткивних елемената код уобичајених болести слузнице гласница. Даљи радови треба да дефинишу и јасно разграниче нормална и патолошка стања. Оно што смо уочили у нашем испитивању јесте да прелаз једног епитела гласнице ларинкса у други није увек равна или оштра линија. Проучавање и познавање овог прелаза је од великог значаја јер су то најчешћа места интензивних процеса канцерогенезе и настанка премалигну промена [10].

Значајно је и да почетне стадијуме кератинизације, забележене испитивањем контактном ендоскопијом, нисмо могли претходно да уочимо микроларингоскопским испитивањем. Код дисплазија, могућност само површног приступа контактним ендоскопом стварао је одређена ограничења у откривању првог степена или благе дисплазије, с обзиром на то да су промене ограничене углавном на базални слој ћелија. На благи степен дисплазије указују поједине промене на ћелијама. Прелазне зоне говоре у прилог постепеној трансформацији и прогресивном развоју патолошких промена. Што је више ћелијских промена и неправилности забележених контактном ендоскопијом, тежи је и степен дисплазије, што је у корелацији са прелиминарним хистопатолошким налазима [11].

Код папилома смо применом контактне ендоскопије потврдили типичан распоред папила које су покривене плочастим слојевитим епителом са централном васкуларизацијом. Спој епитела код папилома,

према резултатима истраживања већине аутора, сматра се местом честих рецидива [12], док коилоцити говоре о присуству вируса и пореклу папиломатозних промена [13]. Вирус онемогућава да се процес епителне деобе заврши и ствара типичан цитолошки ефекат у интрацитоплазматским променама, које се манифестују изгледом уочених коилоцитних ћелија [14]. Сматрамо да при доношењу одлуке о разликовању папиломатозе од папилома само на основу налаза контактне ендоскопије треба у обзир узети степен кератинизације, појаву коилоцита и незрелих ћелија.

ЗАКЉУЧАК

Мада је микроларингоскопија и даље неприкосновен ендоскопски метод за дијагностиковање промена на слузници ларинкса, потребно је унапређивање преоперационе евалуације правих особина лезија на гласницама. Контактна ендоскопија је савремени ендоскопски метод прегледа који обједињује клиничке, хистолошке и цитолошке аспекте анализираних слузнице гласница. Примена контактне ендоскопије у току микроларингоскопије (CEMS) је новина у ларингологији на нашим просторима и њом се дефинишу сви хистолошки и морфолошки елементи ћелија површних слојева епитела слузнице. Овим методом се у тзв. реалном времену поставља прецизна дијагноза хроничног ларингитиса, Рајнкеових едема, папиломатозе, папилома, дисплазије и карцинома. Предност покретљивости контактне ендоскопије дозвољава оцртавање *in vivo* и *in situ* и детаљно „мапирање“ свих промена на ћелијама дуж целе површине слузнице. Захваљујући овим могућностима, контактна ендоскопија се сврстава у допунско дијагностичко средство у ларингологији.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kleinsasser O. Ein Laryngomikroskop zur Frühdiagnose und Differentialdiagnose von Krebsen in Kehelkopf, Rachen und Mundhöhle. *Z Laryngol Rhinol* 1961; 40:227.
2. Savić D, Jovanović B, Stanisavljević B. Mikrolaringoskopija u ranoj dijagnozi malignih tumora larinksa. *Libri Oncologici Jugos* 1971; 1:419.
3. Vaughan CW. Vocal fold exposure in phonosurgery. *J Voice* 1993; 7:189-94.
4. Andrea M, Dias O. Atlas of rigid and contact endoscopy in micro-laryngeal surgery. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 1995.
5. Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy of the vocal cord: normal and pathological patterns. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1995; 115(2):314-6.
6. Arens C, Malzahn K, Dias O, Andrea M, Glanz H. Endoscopic imaging techniques in the diagnosis of laryngeal carcinoma and its precursor lesions. *Laryngorhinootologie* 1999; 78(12):685-91.
7. Carriero E, Galli J, Fadda G, Di Girolamo S, Ottaviani F, Paludetti G. Preliminary experiences with contact endoscopy of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000; 257:68-71.
8. Piazza C, Trimarchi M, Berlucchi C, Casirati G, Peretti. Diagnostic work-up in epithelial abnormalities of the vocal cords. *Laryngorhinootologie* 2000; 43-9.
9. Vancaille T. Manuel of microcolposcopy. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 1988.
10. Reidenbach MM. Subglottic region: normal topography and possible clinical implications. *Clin Anat* 1998; 11(1):9-21.
11. Jovanović MB. Upporedna analiza izmenjene sluznice larinksa utvrđena laringomikroskopijom, kontaktnom mikroendoskopijom i histopatologijom [doktorska disertacija]. Beograd: Medicinski fakultet; 2001.
12. Derkay S, Darrow S. Recurrent respiratory papillomatosis of the larynx. Current diagnosis and treatment. *Otolaryngol Clin North Am* 2000; 33:5.
13. Azzimonti B, Hertel L, Aluffi P, et al. Demonstration of multiple HPV types in laryngeal premalignant lesions using polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *J Med Virol* 1999; 59(1):110-6.
14. Favre M, Ramoz N, Orth G. Human papillomaviruses: General features. *Clin Dermatol* 1997; 15:181-98.

MAKING A DIAGNOSIS OF DIFFERENT LESIONS OF VOCAL FOLD MUCOSA BY CONTACT ENDOSCOPY – THE FIRST USAGE IN OUR CLINICAL PRACTICE

Milan B. JOVANOVIĆ¹, Jelena PEROVIĆ-JOVANOVIĆ¹, Sanja MILENKOVIĆ²

¹Department of Otorhinolaryngology, Maxillofacial and Cervical Pathology, "Zemun" Clinical and Hospital Centre, Belgrade;

²Department of Clinical Pathology, "Zemun" Clinical and Hospital Centre, Belgrade

ABSTRACT

During laryngomicroscopy, the superficial layers of vocal fold epithelium can be examined *in vivo* and *in situ* by contact endoscopy. Methylene blue is applied initially to stain the epithelial cells of the vocal folds. When in contact with mucosal tissue, this endoscope provides 60 and 150 times magnification and clear visualization of cellular patterns of the superficial epithelial layers. For the first time in our laryngological clinical practice, we confirmed a number of previously established parameters such as regularity and arrangement of the epithelium, nucleus contour, and nucleus-cytoplasm ratio, what all enable recognition and easy evaluation of different clinical conditions such as chronic laryngitis, Reinke's edema, papilloma dysplasia or vocal fold carcinoma. The advantage of con-

tact endoscopy *in vivo* and *in situ* allows for detailed scan and mapping of all cell changes of the whole mucosa surface. All these features definitely classify the contact endoscopy into additional diagnostic methods in laryngology.

Key words: endoscopy; epithelium; pathology; vocal fold

Milan B. JOVANOVIĆ
Služba za otorinolaringologiju sa maksilofacijalnom hirurģijom i cervikalnom patologijom
Kliničko-bolnički centar „Zemun“
Vukova 9, 11080 Zemun
Tel: 011 2612 616 / lokal 711