

Vrijednost kontaktne endoskopije u probiru predkancerovnih promjena laringalnog epitela u pušača

The value of contact endoscopy in the screening of precancerous lesions of laryngeal epithelium in smokers

Marisa Klančnik, Zaviša Čolović, Nikola Kolja Poljak, Draško Cikojević, Mirko Kontić, Jadranka Vela Ljubić*

Sažetak

Kontaktna endoskopija je neinvazivna dijagnostička metoda koja pruža uvid u mikroskopsku sliku epitela sluznice larinksa, a stanice se analiziraju in vivo, čime je uklonjena mogućnost oštećenja i deformiranja stanica pri izradi preparata. U radu smo metodom kontaktne endoskopije analizirali epitel sluznice glasnica kod bolesnika koji još nemaju kliničkih simptoma bolesti. Početne promjene larinksa su makroskopski nevidljive, a rano prepoznavanje ovih promjena omogućava bolju prognozu i jednostavnije liječenje. Ovaj rad pokazuje znatno veću učestalost početnih patoloških promjena larinksa u pušača u odnosu na nepušače. Ova pretraga je pogodna i kod bolesnika s kroničnim laringitisom ili izraženijom leukoplakijom, u procjeni mjesta biopsije za patohistološku pretragu, jer se time dobiva pouzdanija dijagnoza uz manje oštećenje sluznice larinksa.

Pretragu bi bilo poželjno provesti i u pušača kod kojih je došlo do promjene glasa, jer se neinvazivnom metodom dobiva mikroskopski uvid u početne patološke promjene epitela sluznice glasnica.

Cljučne riječi: kontaktna endoskopija, larinks, predkancerovna promjena, pušači

Summary

Contact endoscopy as a noninvasive diagnostic method provides an insight into the microscopic picture of laryngeal mucosa epithelium. The cells are analyzed in vivo, thus obviating the possible cell damage and distortion on preparation. In the present study, vocal cord mucosa epithelium was analyzed by contact endoscopy in subjects still free from clinical symptoms of disease. Initial laryngeal lesions are macroscopically invisible, and early detection of these changes is associated with better prognosis and easier management. The present study also demonstrated a considerably higher prevalence of initial pathologic lesions of the larynx in smokers versus nonsmokers. This method is also suitable for patients with chronic laryngitis or pronounced leukoplakia to identify the best site of biopsy for histopathologic analysis, as it offers a more reliable diagnosis with less damage to laryngeal mucosa.

This noninvasive method should preferably be also used in smokers with voice alteration because it provides a microscopic insight into initial pathologic lesions of the vocal cord mucosa epithelium.

Key words: contact endoscopy, larynx, precancerous lesion, smoke

Med Jad 2014;44(1-2):33-38

* **KBC Split**, Klinika za bolesti uha, grla i nosa s kirurgijom glave i vrata (Doc. dr. sc. Marisa Klančnik, dr. med., Zaviša Čolović, dr. med., doc. dr. sc. Nikola Kolja Poljak, dr. med., doc. dr. sc. Draško Cikojević, dr. med., Mirko Kontić, dr. med., Jadranka Vela Ljubić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* Doc. dr. sc. Marisa Klančnik, dr. med., otorinolaringolog, Klinika za bolesti uha grla i nosa s kirurgijom glave i vrata, KBC Split, Spinčićeva 1, 21000 Split, Hrvatska

Primljeno / *Received* 2013-02-24; Ispravljeno / *Revised* 2013-11-04; Prihvaćeno / *Accepted* 2013-11-04

Uvod

Osnova svake terapije je rana i točna dijagnoza. S obzirom na to da je za urednu proizvodnju glasa potrebna anatomski i funkcionalno uredna glasnica, jasno je da i najmanji njihov poremećaj uzrokuje promuklost. Pojedine patološke promjene epitela larinksa mogu se povući ako se uklone nadražajni čimbenici.^{1,2} Zbog toga bi bilo dobro na vrijeme otkriti te promjene, pa i prije kliničkih manifestacija. Ovu dijagnostičku mogućnost pruža kontaktna endoskopija koja neinvazivnom metodom pruža uvid u mikroskopsku sliku epitela sluznice larinksa. Kontaktnu endoskopiju prvi je opisao Hamou 1979. godine u ginekološkoj dijagnostici,³ a u dijagnozi bolesti larinksa prvi su je primijenili Andrea i suradnici 1995. godine.^{4,5}

Sama metoda je jednostavna i neinvazivna, a stanice se analiziraju *in vivo*, čime je uklonjena mogućnost oštećenja i deformiranja stanica pri izradi preparata. Arens i suradnici su usporedili metodu kontaktne i autofluorescentne endoskopije,⁶ a Cikojević i suradnici su pokazali točnost kontaktne endoskopije u odnosu na patohistološku pretragu smrznutog reza.⁷ Ovi, kao i brojni drugi radovi, pokazali su pouzdanost kontaktne endoskopije u dijagnozi malignih i predmalignih bolesti.⁸⁻¹¹

U radu smo metodom kontaktne endoskopije analizirali epitel sluznice glasnica kod bolesnika koji još nemaju kliničkih simptoma bolesti. S obzirom na to da su 98% bolesnika s karcinomom larinksa dugogodišnji pušači,¹²⁻¹⁴ za očekivati je veću učestalost početnih promjena kod pušača u odnosu na nepušače.

Metode rada i ispitanici

U radu smo metodom kontaktne endoskopije analizirali epitel sluznice glasnica u bolesnika koji su operirani na našoj klinici u općoj anesteziji radi bolesti štitnjače, devijacija nosne pregrade, nosne polipoze i ciste vrata. Ispitivanje je provedeno nakon odobrenja Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra u Splitu, a svi bolesnici su potpisali suglasnost za provođenje ispitivanja.

U radu je ukupno analizirano 250 bolesnika koji su bili podijeljeni u dvije skupine: pušači i nepušači. Bilo je ukupno 120 (48%) pušača i 130 (52%) nepušača. Srednja životna dob bolesnika bila je 52 godine s rasponom od 21 do 78 godina. Ukupno je bilo 110 (44%) muškaraca i 140 (56%) žena. Svi bolesnici imali su uredan prijeoperacijski endoskopski nalaz larinksa. Nakon uvođenja u endotrahealnu anesteziju obojili smo sluznicu glasnica 1%-tnim metilenskim plavilom i nakon jedne minute prislonili kontaktni endoskop uz glasnicu, te povlačili od prednje komisure prema straga

duž obje glasnice. U radu je korišten kontaktni mikrolaringoskop Karl Storz 8715 AA, 0° s uvećanjem 60x i 150x. Analizu snimaka naknadno je obavljao patolog na osnovi videozapisa. Biopsiju za patohistološku pretragu nismo radili, a samo u bolesnika kod kojih su kontaktnom endoskopijom dijagnosticirane patološke promjene je naknadno preporučena biopsija promjene sluznice larinksa.

Nalaze kontaktne endoskopije svrstali smo u četiri skupine: uredan nalaz, kronični laringitis, displazija, planocelularni karcinom.

Na Slici 1 prikazan je uredan nalaz višeslojnog pločastog epitela (VPE): stanice imaju ujednačen raspored, jezgre su male, piknotične, tamnoplavo obojene, a citoplazma je velika, svijetloplave boje.



Slika 1. Prikazan je uredan nalaz epitela. Stanice imaju ujednačen raspored, jezgre su male, piknotične, a citoplazma je velika, uz uredan omjer citoplazme i jezgre (uvećanje 60x).

Picture 1 Showing uniform cell architecture with round and regular-shaped contours and normal nucleocytoplasmic ratio indicate normal mucosa (magnification x60).

Na Slici 2 prikazan je nalaz kroničnog laringitisa: stanice su jednoliko raspoređene, jezgre su lagano uvećane, okruglih rubova, lagana hiperkromazija može biti prisutna, ali je kromatin jednolično, sitno granularan bez značajnijih kromatinskih abnormalnosti.

Na Slici 3 prikazan je nalaz displazije: prisutna je heterogenost stanične populacije, jezgre su veće, različitog oblika i hiperkromatične, mijenja se odnos jezgra/citoplazma u korist jezgre, povećan je broj mitozna, prisutna je diskarioza, diskromazija i anizokorija.

Na Slici 4 prikazan je nalaz planocelularnog karcinoma: izrazita heterogenost stanične populacije, hiperkromatičnost jezgre, nepravilan raspored kromatida, povećanje veličine i broja jezgara, uz nepravilnost oblika, promijenjen odnos jezgra/citoplazma, tako da je stanica pretežito zauzeta jezgrom.



Slika 2. (lijevo) Prikazan je nalaz kroničnog laringitisa. Stanice su jednoliko raspoređene, jezgre su lagano uvećane, okruglih rubova, lagana hiperkromazija može biti prisutna, ali je kromatin jednolično, sitno granuliran, bez značajnijih kromatinskih abnormalnosti (uvećanje 150x).

Picture 2 (left) Showing chronic laryngitis findings. Cells are homogeneously distributed; the nuclei are slightly enlarged, with round edges; there may be slight hyperchromatism, but chromatin is uniformly, finely granulated and free from major chromatin abnormalities (magnification x150).



Slika 3. (lijevo) Prikazan je nalaz displazije. Prisutna je heterogenost stanične populacije, jezgre su veće, različitog oblika i hiperkromatične, mijenja se odnos jezgra/citoplazma u korist jezgre, povećan je broj mitozs s još uvijek prepoznatljivom staničnom homogenošću u displastičnoj sluznici (uvećanje 150x).

Picture 3 (left) Showing dysplastic mucosa findings. The cell population is heterogeneous, the nuclei are enlarged, variedly shaped and hyperchromatic; the nucleus/cytoplasm ratio is changed in favour of the nucleus; there is an increased number of mitoses; but with still recognizable cell homogeneity in dysplastic mucosa (magnification x150).



Slika 4. (lijevo) Prikazan je nalaz planocelularnog karcinoma. Vidi se izrazita heterogenost stanične populacije, hiperkromatičnost jezgre, nepravilan raspored kromatida, povećanje veličine i broja jezgara uz nepravilnost oblika, promijenjen odnos jezgra/citoplazma, tako da je stanica pretežito zauzeta jezgrom (uvećanje 150x).

Picture 4 (left) Showing squamous cell carcinoma findings. Pronounced heterogeneity of the cell population, nuclear hyperchromatism, irregular chromatin distribution, increase in the size and number of nuclei with irregular shape; the nucleus/cytoplasm ratio is changed, the cell being predominantly occupied by the nucleus (magnification x150).

Rezultati

Od ukupno 250 bolesnika, metodom kontaktne endoskopije dijagnosticirali smo sedam nalaza displastičnih promjena glasnica i šest nalaza kroničnog laringitisa. Sve ove promjene nađene su kod pušača, odnosno kod nepušača nisu dijagnosticirane patološke promjene kontaktnom endoskopijom. Tablica 1 prikazuje povećanu učestalost patoloških nalaza sukladno konzumiranju većeg broja cigareta, odnosno nisu nađene patološke promjene u ispitanika koji su pušili manje od 10 cigareta na dan. Patološki nalaz glasnica povećava se sukladno duljini pušenja (Tablica 2). U bolesnika koji su pušili manje od 10 godina nisu nađene patološke promjene, a značajnije se povećavaju nakon 20 godina pušenja.

Rasprava

Ovaj rad pokazuje da je u svih nepušača nalaz kontaktne endoskopije bio uredan. S druge strane, u skupini pušača dijagnosticirano je trinaest patoloških nalaza. Ukupno je dijagnosticirano sedam displastičnih promjena epitela glasnica i to tri prvoga stupnja i četiri drugoga stupnja. Kontaktna endoskopija je jedina metoda koja omogućava *in vivo* preciznu

mikrolokalizaciju početne promjene glasnice. Na ovaj način moguća je dijagnoza makroskopski nezamjetljive promjene, te precizno uzimanje uzorka s točno određene lokalizacije.

Dijagnozu početnih, makroskopski nezamjetnih promjena moguće je postići i eksfolijativnom citologijom,¹⁵ ali ova pretraga zahtijeva uzimanje uzorka cijele površine glasnica, te je kasnije teško odrediti točnu lokaciju patološki promijenjenih stanica. Autofluorescentna endoskopija omogućava jasan prikaz zdrave i patološki promijenjene sluznice, odnosno zdrava sluznica odražava zelenkastu svjetlost, a promijenjena sluznica crvenkastu ili ljubičastu.⁶ Ova pretraga ne pruža mikroskopski prikaz promjene, a upala često daje lažno pozitivne nalaze. S druge strane, kontaktna endoskopija pruža uvid u mikrovaskularizaciju sluznice, odnosno pojačana, pravilna mikrovaskularizacija ukazuje na upalni proces, dok postojanje patološke mikrovaskularizacije predstavlja siguran znak malignosti promjene. Tumorska promjena rastom razvija vlastitu mikrovaskularizaciju koja je nepravilna i lako uočljiva kontaktnom endoskopijom. Nastanak tumora larinksa je u izravnoj korelaciji s duljinom pušenja, te brojem popušanih cigareta na dan,¹²⁻¹⁴ te i ovaj rad pokazuje znatno veću učestalost početnih patoloških

Tablica 1. Usporedba povezanosti broja popušanih cigareta dnevno i patološkog nalaza kontaktne endoskopije
Table 1 Correlation between number of smoked cigarettes per day and contact endoscopy pathologic findings

	Broj popušanih cigareta dnevno <i>Number of smoked cigarettes per day</i>					Ukupno <i>Total</i>
	1-10	11-20	21-30	31-40	> 41	
Broj pušača <i>Number of smokers</i>	38 (32%)	27 (22%)	25 (21%)	21 (17%)	9 (8%)	120 (100%)
Patološki nalaz kont. end. <i>Contact endoscopy pathologic findings</i>	0	L – 2	D – 4	D – 2 L – 2	D – 1 L – 2	13 (10,8%)

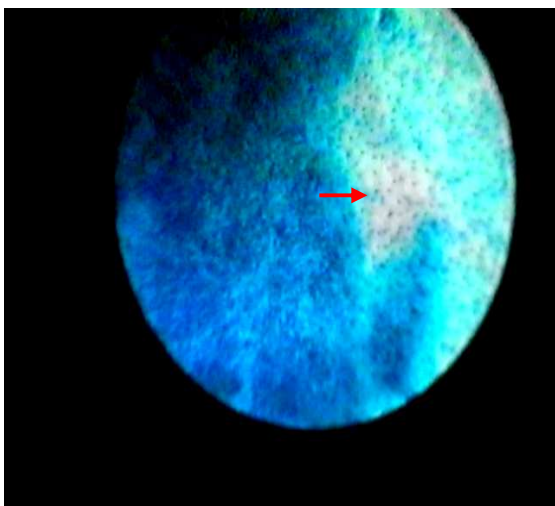
*L – laryngitis chronica, D – displasia

Tablica 2. Usporedba povezanosti duljine pušenja cigareta i patološkog nalaza kontaktne endoskopije
Table 2 Correlation between the length of cigarette smoking and contact endoscopy pathologic findings

	Duljina pušenja cigareta (god) <i>Length of cigarette smoking (yrs)</i>					Ukupno <i>Total</i>
	1-10	11-20	21-30	31-40	> 40	
Broj pušača <i>Number of smokers</i>	27 (22%)	32 (27%)	27 (22%)	16 (14%)	18 (15%)	120 (100%)
Patološki nalaz kont. end. <i>Contact endoscopy pathologic findings</i>	0	L – 2	D – 2 L – 2	D – 2	D – 3 L – 2	13 (10,8%)

*L – laryngitis chronica, D – displasia

promjena larinksa u pušača u odnosu na nepušače. Uz tumore kod pušača je znatno veća učestalost i predkanceroznih, kao i dobroćudnih promjena, kao što su polipi, ciste i slično.¹⁶ Početne promjene larinksa su makroskopski nevidljive, a rano prepoznavanje ovih promjena omogućava bolju prognozu i jednostavnije liječenje. S druge strane, dio promjena larinksa je reverzibilan i one nestaju s uklanjanjem nadražajnog čimbenika, tj. s prestankom pušenja. Kod pušača uslijed štetnog djelovanja duhanskoga dima dolazi do oštećenja cilija višerednog cilindričnog epitela (VCE), a potom i do zamjene VCE puno otpornijim višeslojnim pločastim epitelom (VPE). Time se proširuje zona VPE, što rezultira poremećajem mukocilijarnog transporta, a klinički se prezentira kašljem. Ovo širenje VPE na područja VCE jasno se prikazuje metodom kontaktne endoskopije (Slika 5).



Slika 5. Prikazano je širenje višeslojnjog pločastog epitela na područje višerednog cilindričnog epitela (uvećanje 60x).

Picture 5 Showing spreading of stratified squamous epithelium in the area of stratified columnar epithelium (contact endoscopy, magnification x60).

Ukoliko se prestane s pušenjem, stanje se popravlja. Kako bi se zaštitio bazalni sloj epitela, u sljedećoj fazi dolazi do umnožavanja epitelnih stanica, povećanja slojeva stanica VPE, odnosno do zadebljanja epitela sluznice larinksa (kronični laringitis) ili pak može doći do stvaranja površnog sloja odumrlih stanica (hiperkeratoza), što se klinički prezentira bjeličastim naslagama – leukoplakija. U daljnjoj fazi može doći do postupnog mijenjanja stanica epitela počevši od bazalnog sloja (displazija levis) do zahvaćanja i 2/3 debljine epitela (displazija gravis), pa sve do pune

debljine epitela (ca in situ), odnosno proboja bazalne membrane (invazivni karcinom). Ove promjene mogu biti izražene u različitom stupnju, tako da često u patohistološkom preparatu nalazimo karcinom, ali i rubno displastične promjene različitoga stupnja.

Veliki je problem napraviti ispravnu biopsiju kod bolesnika s kroničnim laringitisom ili izraženijom leukoplakijom. Jedna je mogućnost uzimanje biopsije s više mjesta, a druga prethodno kontaktnom endoskopijom pregledati promijenjenu sluznicu larinksa i sukladno nalazu odlučiti se za mjesto biopsije. Time bi se dobila puno pouzdanija dijagnoza, uz manje oštećenje tkiva.

Zaključak

Ovaj rad pokazuje opravdanost primjene kontaktne endoskopije u pušača kod kojih je došlo do promjene glasa, jer se neinvazivnom metodom dobiva mikroskopski uvid u početne patološke promjene epitela sluznice glasnica.

Ova pretraga je pogodna i kod bolesnika s kroničnim laringitisom ili izraženijom leukoplakijom u procjeni mjesta biopsije za patohistološku pretragu, jer se time dobiva pouzdanija dijagnoza, uz manje oštećenje sluznice larinksa.

Literatura

1. Maier H, Gewelke U, Dietz A, Heller W. Risk factors of cancer of the larynx: results of the Heidelberg case-control study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992; 107:577-82.
2. Sezer O, Jakob C, Niemoller K. Angiogenesis in cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19:3299-301.
3. Hamou J, Salat B, Coupex F, De Brux J. Microhysteroscopy: a new approach to the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol.* 1984;63:567-74.
4. Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy of the vocal cord: normal and pathological patterns. *Acta Otolaryngol.* 1995;115:314-6.
5. Andrea M, Dias O, Macor C, Santos A, Vardas J. Contact endoscopy of the nasal mucosa. *Acta Otolaryngol.* 1997;117:307-11.
6. Arens C, Glanz H, Dreyer T, Malzahn K. Compact endoscopy of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2003; 112:113-9.
7. Cikojevic D, Gluncic I, Pesutic-Pisac V. Comparison of contact endoscopy and frozen section histopathology in the intraoperative diagnosis of laryngeal pathology. *J Laryngol Otol.* 2008;122:836-9.
8. Wardrop PJ, Sim S, McLaren K. Contact endoscopy of the larynx: a quantitative study. *J Laryngol Otol.* 2000; 113:437-40.
9. Xiaoming H, Haiqiang M, Manquan D, et al. Examination of nasopharyngeal epithelium with

- contact endoscopy. *Acta Otolaryngol.* 2001;121:98-102.
10. Pak MW, To KF, Leung SF, van Hasselt CA. *In vivo* diagnosis of persistent and recurrent nasopharyngeal carcinoma by contact endoscopy. *Laryngoscope.* 2002;112:1459-66.
 11. Warnecke A, Averbeck T, Leinung, et al. Contact endoscopy for the evaluation of the pharyngeal and laryngeal mucosa. *Laryngoscope.* 2010;120:253-8.
 12. Cikojević D, Glunčić I, Klančnik M. Cigarette smoking and progression of laryngeal lesions. *Coll Antropol.* 2010; 34:45-8.
 13. Sugar J, Vereczkey I, Toth J. Some etiopathogenic factors in laryngeal carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1996;15:195-9.
 14. Ahrens W, Jockel E, Patzak W, Elsner G. Alcohol, smoking and occupational factors in cancer larynx. A case control study. *Am J Ind Med.* 1991;20:477-93.
 15. Cikojević D, Glunčić I, Pešutić-Pisac V. Role of exfoliative cytology in diagnosis of laryngeal tumors. *Acta Cytol.* 2007;51:767-72.
 16. Mishra A, Nilakantan A, Datta, et al. Contact endoscopy – a promising tool for evaluation of laryngeal mucosal lesions. *J Laryngol Voice.* 2012;2:53-9.