

DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-1-12-25



Улучшение диагностики «скрытого» метастазирования при плоскоклеточном раке слизистой оболочки полости рта cT1–2N0M0

А.М. Мудунов^{1,2}, И.М. Гельфанд³, М.А. Кропотов³, А.А. Ахундов³, С.О. Подвязников⁴, А.С. Вилкова³, А.В. Дубинина³, М.Е. Билик³, С.М. Каспшик³, А.С. Крылов³

¹Клинический госпиталь «Лапино»; Россия Московская обл., Одинцовский р-н, д. Лапино, 1-е Успенское шоссе, 111;

²кафедра онкологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России; Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁴кафедра онкологии и паллиативной медицины им. акад. А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контакты: Игорь Михайлович Гельфанд igorgelf@yandex.ru

Введение. Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, даже на ранних стадиях (T1–2N0M0), склонен к регионарному метастазированию. При морфологическом исследовании в 20 % удаленных клинически непораженных лимфатических узлов обнаруживаются «скрытые» метастазы. Их наличие снижает показатели выживаемости в 2 раза. Выполнение профилактической шейной лимфодиссекции на ранних стадиях онкологического заболевания по сравнению с динамическим наблюдением улучшает выживаемость с 67,5 до 80 %. В то же время некоторые авторы считают elective шейную лимфодиссекцию чрезмерной лечебной процедурой, а только динамическое наблюдение – недостаточным.

Цель исследования – анализ применения проточной цитометрии для выявления «скрытых» метастазов в сторожевых лимфатических узлах как метод, определяющий показания к проведению шейной лимфодиссекции при плоскоклеточном раке слизистой оболочки полости рта cT1–2N0M0.

Материалы и методы. В исследование вошли 27 пациентов, из них 13 (48,1 %) – с распространенностью процесса T1N0M0, 14 (51,9 %) – с T2N0M0. Всем больным на 1-м этапе выполнены удаление первичного очага, шейная лимфодиссекция с определением сторожевых лимфатических узлов. После мобилизации половина этих лимфатических узлов направлялась на рутинное морфологическое исследование с последующим иммуногистохимическим исследованием, а половина – на проточную цитометрию. Далее проводилось сравнение полученных данных.

Результаты. Исследованы 46 удаленных сторожевых лимфатических узлов 27 пациентов. Плановое гистологическое исследование выявило 4 (8,7 %) «скрытых» метастаза. Применение метода полимеразной цепной реакции позволило дополнительно обнаружить еще 16 (37,8 %) метастазов. Наиболее часто поражались I, II и III уровни. По данным проточной цитометрии при глубине инвазии менее 4 мм «скрытые» метастазы были выявлены в 20 % случаев, при глубине от 4 до 8 мм – в 60 % случаев.

Среднее время наблюдения за пациентами составило $20,4 \pm 11,7$ мес (от 2,2 до 42,5 мес, медиана – 19,5 мес). За этот период все больные живы. Из 27 (100 %) пациентов с заболеванием T1–2N0M0 «скрытые» метастазы обнаружены у 17 (63 %) больных. У 10 (37 %) пациентов они выявлены не были. В 1 случае, при плоскоклеточном раке слизистой оболочки дна полости рта T1N0M0, выполнено только удаление первичной опухоли и сторожевого лимфатического узла. По результатам морфологического исследования и проточной цитометрии метастатического поражения не обнаружено. Через 14,8 мес реализовался ипсилатеральный регионарный метастаз cN3. Трехлетняя выживаемость без признаков прогрессирования составила $94,7 \pm 5,1$ %.

Заключение. Вследствие высокой чувствительности и скорости получения результатов проточная цитометрия может стать методом выбора при решении вопроса о проведении шейной лимфодиссекции у пациентов с cN0. Исследование продолжается.

Ключевые слова: «скрытые» метастазы, биопсия сторожевого лимфатического узла, сигнальный лимфатический узел, плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, микрометастазы

Для цитирования: Мудунов А.М., Гельфанд И.М., Кропотов М.А. и др. Улучшение диагностики «скрытого» метастазирования при плоскоклеточном раке слизистой оболочки полости рта cT1–2N0M0. Опухоли головы и шеи 2022;12(1):12–25. DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-1-12-25.

Improved diagnostics of “concealed” metastases in patients with cT1–2N0M0 oral squamous cell carcinoma

A.M. Mudunov^{1,2}, I.M. Gelfand³, M.A. Kropotov³, A.A. Akhundov³, S.O. Podvyaznikov⁴, A.S. Vilkova³, A.V. Dubinina³, M.E. Bilik³, S.M. Kaspshik³, A.S. Krylov³

¹Lapino Clinical Hospital; 111 1st Uspenskoe Shosse, Lapino Village, Odintsovo Dst., Moscow Region, Russia;

²Department of Oncology of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Healthcare of the Russian Federation; Bld. 2, 8, Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

⁴Acad. A.I. Savitsky Department of Oncology and Palliative Medicine of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 12/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia

Contacts: Igor Mikhailovich Gelfand igorgelf@yandex.ru

Introduction. Oral squamous cell carcinoma is associated with a high risk of regional metastasis even in early stages (T1–2N0M0). Morphological examination reveals concealed metastases in 20 % of removed clinically unaffected lymph nodes.

Objective – to evaluate the effectiveness of flow cytometry for detection of concealed metastases in sentinel lymph nodes as an indication for cervical lymph node dissection in patients with stage cT1–2N0M0 oral squamous cell carcinoma.

Materials and methods. This study included 27 patients, including 13 patients (48.1 %) with stage T1N0M0 cancer and 14 patients with stage T2N0M0 cancer (51.9 %). At the first stage, all participants underwent primary tumor removal and cervical lymph node dissection with sentinel lymph node examination. After mobilization, half of these lymph nodes was used for routine morphological examination followed by immunohistochemical examination, while the second half of them was analyzed using flow cytometry. Then we compared the results obtained.

Results. We examined 46 removed sentinel lymph nodes from 27 patients. Conventional histological examination revealed 4 concealed metastases (8.7 %). Polymerase chain reaction allowed us to detect another 16 metastases (37.8 %). Levels I, II, and III lymph nodes were most frequently affected. Flow cytometry demonstrated that 20 % of patients with a <4 mm invasion had concealed metastases, whereas patients with a 4 to 8 mm invasion had concealed metastases in 60 % of cases.

Median follow-up time was 20.4 ± 11.7 months (range: 2.2 to 42.5 months; median 19.5 months). All participants were alive during this time. Seventeen out of 27 patients with stage T1–2N0M0 disease (63 %) were found to have concealed metastases, while the remaining ten patients (37 %) had no metastasis. One patient with stage T1N0M0 oral floor squamous cell carcinoma underwent the removal of the primary tumor and sentinel lymph node. Morphological examination and flow cytometry showed no metastatic lesions. After 14.8 months, the patient developed ipsilateral regional CN3 metastasis. The three-year progression-free survival rate was 94.7 ± 5.1 %.

Conclusion. Highly sensible and rapid flow cytometry can become the method of choice in the diagnosis of metastases and deciding on cervical lymph node dissection in patients with cN0 disease. The study is still ongoing.

Key words: “concealed” metastases, sentinel lymph node biopsy, signal lymph node, oral squamous cell, carcinoma micrometastases

For citation: Mudunov A.M., Gelfand I.M., Kropotov M.A. et al. Improved diagnostics of “concealed” metastases in patients with cT1–2N0M0 oral squamous cell carcinoma. *Opuholi golovy i shei = Head and Neck Tumors* 2022;12(1):12–25. (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-1-12-25.

Введение

Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта даже на ранних стадиях (T1–2N0M0) склонен к регионарному метастазированию. При морфологическом исследовании в 20 % случаев удаленных клинически непораженных лимфатических узлов (ЛУ) обнаруживаются «скрытые» метастазы [1, 2]. Их наличие снижает показатели выживаемости в 2 раза [1, 2]. Выполнение профилактической шейной лимфодиссекции на ранних стадиях онкологического заболевания по сравнению с динамическим наблюдением улучшает выживаемость с 67,5 до 80 % [1]. В то же время некоторые авторы считают электроктивную шейную лимфодиссекцию чрезмерной лечебной процедурой, а только динамическое наблюдение — недостаточным [2].

В зависимости от размера опухолевого поражения метастазы подразделяются на депозит опухолевых

клеток (<0,2 мм в диаметре), микрометастаз (от 0,2–2 мм в диаметре) и макрометастаз (>2 мм в диаметре) [3]. При стандартном патологоанатомическом исследовании удаленной клетчатки шеи выполняется микроскопия с окраской гематоксилином и эозином. Как правило, патологоанатом делает не более 2 срезов с каждого ЛУ. При применении такого метода выявления «скрытых» метастазов наблюдается большой процент ложноотрицательных результатов, т. е. пропущенных метастазов в ЛУ. При этом повторное, более тщательное морфологическое исследование ЛУ иммуногистохимическим методом позволяет выявить метастазы в 5–58 % случаев [4]. Решением данной проблемы является использование персонифицированного подхода с применением новой методики, позволяющей более точно определять наличие микрометастазов в регионарных ЛУ [2].

Биопсия сторожевого лимфатического узла (СЛУ) с последовательным секционированием может быть рассмотрена как альтернатива функциональной шейной лимфодиссекции. Чувствительность этого метода достигает 90 %, а отрицательная прогностическая ценность — 96 % [5, 6]. Он основан на концепции, которая заключается в удалении СЛУ или 1-го ближайшего ЛУ, расположенного по ходу путей лимфооттока от опухоли. Если СЛУ не поражен, то и в остальных ЛУ регионарного бассейна нет метастазов. Очевидно, что статус СЛУ является показанием к выполнению шейной лимфодиссекции на начальных стадиях заболевания [7].

Чувствительность морфологического исследования при определении «скрытого» метастазирования может быть улучшена с помощью проведения иммуногистохимического (ИГХ) исследования с использованием маркеров эпителиальных клеток, например антител к цитокератину AE1/AE3. Данный маркер распознает цитокератин не только плоскоклеточного рака, но и естественный цитокератин, который присутствует в эпителиальной ткани, например в слюнных железах [8]. MUC1 экспрессируется клетками большинства эпителиальных злокачественных опухолей человека при раке молочной железы, яичников, матки, поджелудочной, предстательной желез, легких, органов верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, орофарингеальной зоны, а также клетками ряда новообразований гемопоэтической ткани [9]. Молекула адгезии эпителиальных клеток (EpcAM), трансмембранный гликопротеин, экспрессируется при быстропрогрессирующих опухолях эпителиального происхождения [10].

Совокупная оценка экспрессии этих маркеров методом проточной цитометрии может значительно повысить точность и скорость выявления микрометастазов в СЛУ [11]. В литературе встречается описание использования нескольких экспериментальных методов обнаружения метастазов в ЛУ. В большинстве случаев применяется полимеразная цепная реакция (ПЦР) с 1 или несколькими клеточными маркерами [4]. L. Тао и соавт. в 2006 г. опубликовали результаты исследования, нацеленного на определение мРНК цитокератина-19 методом ПЦР при выявлении «скрытого» метастазирования плоскоклеточного рака полости рта и глотки. Были проанализированы 1328 ЛУ. Частота выявления метастазов с помощью патологоанатомического исследования с дальнейшим ИГХ-исследованием составила 16,3 %. Амплификация матричной РНК цитокератина-19, определенная методом ПЦР, позволила обнаружить 36 % скрытых метастазов. Значения экспрессии мРНК цитокератина-19 в гистологически положительных ЛУ оказалась в 4 раза выше, чем в отрицательных [12]. Проточная цитометрия позволяет определить экспрессию маркеров путем поштучного

анализа каждой клетки и обнаружить наличие реальных жизнеспособных опухолевых клеток в образце.

Исследование С.А. Hartan и соавт. продемонстрировало высокую эффективность проточной цитометрии при обнаружении микрометастазирования в случае почечно-клеточного рака. Так, у 26 % пациентов по данным проточной цитометрии были выявлены метастазы, которые не удалось определить рутинным патологоанатомическим исследованием [13].

Цель исследования — анализ применения проточной цитометрии для выявления «скрытых» метастазов в СЛУ при cN0 как метод, определяющий показания к проведению шейной лимфодиссекции при плоскоклеточном раке слизистой оболочки полости рта cT1–2N0M0.

Данный метод позволяет исследовать весь ЛУ, а не только его отдельные срезы. Биопсия СЛУ на ранних стадиях рака слизистой оболочки полости рта может стать методом выбора при решении вопроса о выполнении функциональной шейной лимфодиссекции.

Материалы и методы

В исследование вошли 27 пациентов с диагнозом «плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, cT1–2N0M0», ранее не получавших лечения. Средний возраст больных составил 56,3 года.

По данным клинического обследования, включающего пальпацию и ультразвуковое исследование (УЗИ), ни у 1 больного не было обнаружено регионарных метастазов (cN0). Всем пациентам проведена функциональная шейная лимфодиссекция с определением СЛУ. Стадирование после хирургического лечения выполнялось по международной классификации Tumor, Nodus и Metastasis (TNM) 8-го пересмотра (2017).

Наиболее часто процесс локализовался в языке (19 (70,4 %) случаев), а также наблюдался в слизистой оболочке тканей дна полости рта (5 (18,5 %) случаев), альвеолярном отростке нижней челюсти (2 (7,4 %) случая) и слизистой оболочке щеки (1 (3,7 %) случай). Характеристика пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта представлена в табл. 1. Пораженные СЛУ выявлены у 17 (62,9 %) пациентов. Высокодифференцированный плоскоклеточный рак встречался в 16 (59,3 %) случаях, умеренно-дифференцированный — в 10 (37,0 %), низкодифференцированный — в 1 (3,7 %).

Стадию заболевания определяли в соответствии с TNM 8-го пересмотра. Стоит отметить, что у 2 (7,4 %) пациентов были выявлены макро- и микрометастазы. Только микрометастазы обнаружены у 14 (51,8 %) больных, а только макрометастазы — у 1 (3,7 %). В 37 % случаев встречались несколько СЛУ. Один СЛУ наблюдался у 17 (62,9 %) пациентов, 2 — у 6 (22,2 %), 3 — у 4 (14,8 %).

Методика определения сторожевого лимфатического узла. Всем пациентам на 1-м этапе лечения проводили

Таблица 1. Характеристика пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта ($n = 27$)**Table 1.** Characteristics of patients with oral squamous cell carcinoma ($n = 27$)

Параметр Parameter	Число пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)
Пол: Sex:	
муж male	14 (51,8)
жен female	13 (48,2)
Локализация: Location:	
язык tongue	19 (70,4)
слизистая оболочка тканей дна полости рта oral floor mucosa	5 (18,5)
альвеолярный отросток нижней челюсти alveolar process of the mandible	2 (7,4)
слизистая оболочка щеки cheek mucosa	1 (3,7)
Степень дифференциации опухоли: Tumor differentiation grade:	
высокодифференцированная well differentiated	16 (59,2)
умеренно-дифференцированная moderately differentiated	10 (37)
низкодифференцированная poorly differentiated	1 (3,7)
Глубина инвазии: Depth of invasion:	
<4 мм <4 mm	5 (18,5)
от 4 до 8 мм 4 to 8 mm	15 (55,6)
>8 мм >8 mm	7 (25,9)
Количество сигнальных лимфатических узлов: Number of sentinel lymph nodes:	
1	17 (62,9)
2	6 (22,2)
3	4 (14,8)

удаление первичной опухоли, биопсию СЛУ и шейную лимфодиссекцию. Биопсию СЛУ выполняли по двухдневному протоколу. Для визуализации этих ЛУ использовали радиофармпрепарат (РФП) Технефит (нанокolloид, меченный изотопом ^{99m}Tc , диаметр частиц — 200–1000 нм). За 14–24 ч до операции выполняли подслизистую инъекцию данного РФП в 3–4 точки по периметру образования (перитуморально).

Через 30–60 мин после введения 0,2–0,5 мл РФП с суммарной активностью 100–150 МБк проводили исследование лимфооттока, картирование и разметку СЛУ. На 1-м этапе в режиме persistent с помощью

«заряженной» указки выполняли сопоставление и маркировку перманентным маркером на коже визуализируемых СЛУ. Затем проводили статическую скintiграфию в 4 проекциях: передней, задней, правой боковой и левой боковой. На 2-м этапе выполняли однофотонную эмиссионную компьютерную томографию, совмещенную с компьютерной томографией (ОФЭКТ/КТ). Гибридные исследования проводили на системе Symbia серии Т с 2-срезовой конфигурацией КТ. Толщина среза составила 5 мм, шаг спирали — 1,5 мм, размер фокусного пятна согласно IAC 60360 — $0,8 \times 0,4$ мм, $0,8 \times 0,7$ мм. Параметры ОФЭКТ/КТ: матрица — 128×128 , 64 угловых позиции при вращении детекторов, время записи на 1 угол вращения — 10 с. В результате были получены эмиссионные радионуклидные и трансмиссионные рентгеновские томограммы исследуемого участка тела, после чего формировались совмещенные изображения. Исследование проводили в положении пациента лежа на спине. Верхняя граница сканирования проходила на уровне костей свода черепа, нижняя — на уровне Th_5 .

Применение ОФЭКТ/КТ позволило получить информацию о характере лимфооттока от первичной опухоли (ипсилатеральный, контралатеральный или двусторонний) и более точно определить анатомическую локализацию СЛУ (рис. 1). Оценка данных ОФЭКТ/КТ осуществлялась врачом-радиологом, проводившим исследование, и оперирующим хирургом.

На следующий день, спустя 16–18 ч после введения РФП, выполняли хирургический этап. Сначала дополнительно осуществляли интраоперационный поиск СЛУ с помощью портативной гамма-камеры Sentinella (рис. 2). Его выполняли с помощью разметки, сделанной на коже, и лазерного указателя, установленного в области кристалла гамма-камеры, а затем проводили биопсию.

Дополнительно, за 10 мин до выполнения лимфодиссекции, в область первичной опухоли перитуморально вводили флуоресцентный препарат индоцианин зеленый-пульсион (ICG). С помощью системы визуализации SPY в операционной ране обнаружено накопление ICG в СЛУ (рис. 3).

Удаленный СЛУ повторно исследовали на препаровочном столе с помощью портативной гамма-камеры Sentinella и гамма-зонда. Клетчатка и все удаленные во время операции ЛУ также анализировались с использованием портативной гамма-камеры для поиска возможных дополнительных СЛУ. В тех случаях, когда числовые/визуальные показания гамма-камеры и звуковой сигнал зонда свидетельствовали об активном накоплении РФП в ЛУ, он расценивался как сторожевой (рис. 4).

Перед завершением операции для подтверждения удаления всех СЛУ проводили быстрое сканирование операционного поля с помощью портативной гамма-камеры.

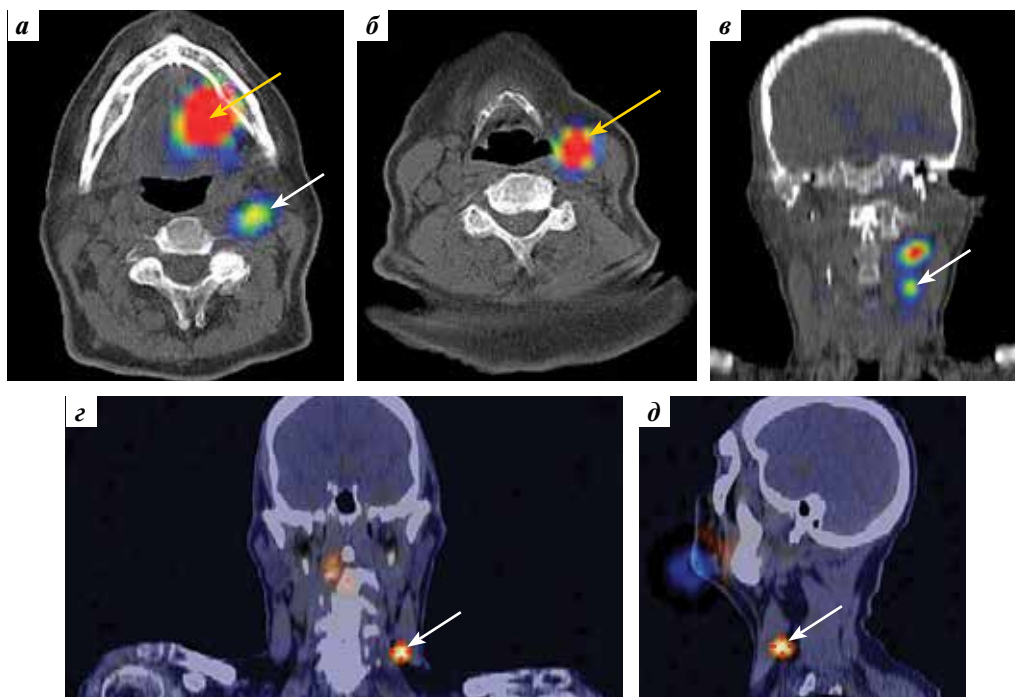


Рис. 1. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография, совмещенная с компьютерной томографией, с использованием лимфотропного радиофармпрепарата: а — накопление радиофармпрепарата в месте его введения (помечено желтой стрелкой) и сторожевом лимфатическом узле II уровня (помечено белой стрелкой), аксиальная проекция; б — накопление радиофармпрепарата в лимфатическом узле III уровня, аксиальная проекция; в, г — фронтальная проекция; д — сагиттальная проекция

Fig. 1. Contrast-enhanced single-photon emission computed tomography/computed tomography: а — contrast agent accumulation at the site of its administration (yellow arrow) and level II sentinel lymph node (white arrow), axial view; б — contrast agent accumulation in level III sentinel lymph node, axial view; в, г — front view; д — sagittal view

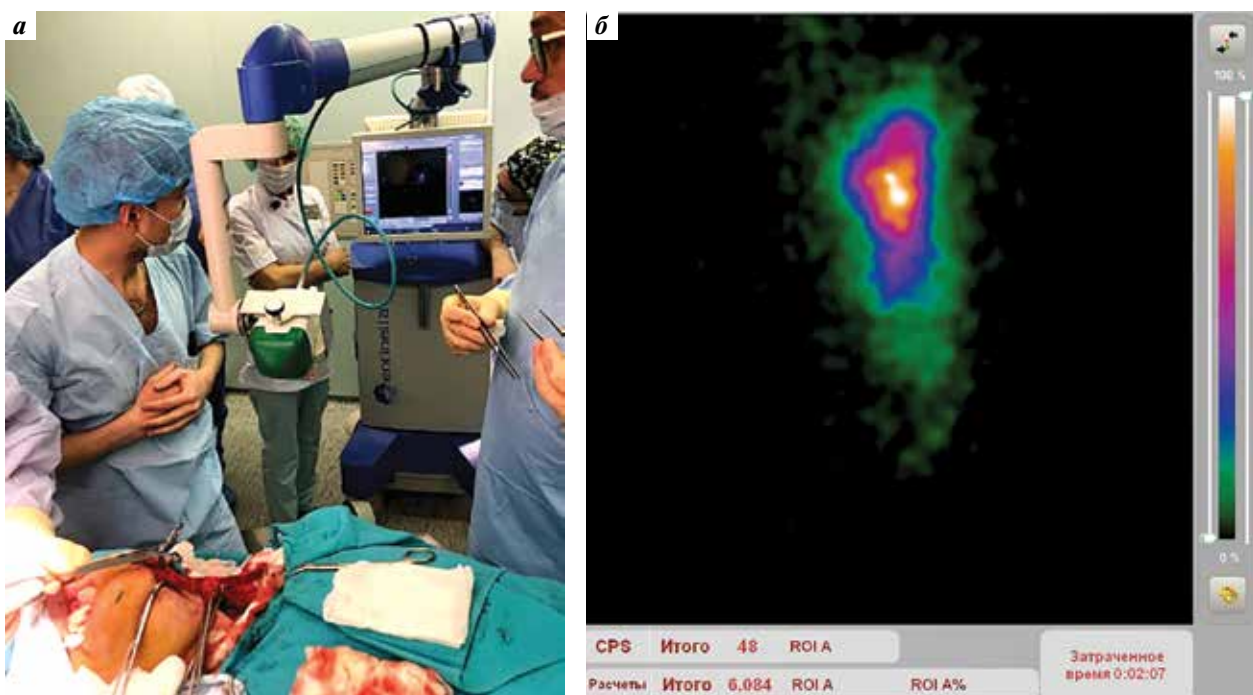


Рис. 2. Интраоперационный поиск сторожевого лимфатического узла с помощью портативной гамма-камеры Sentinella (а). На мониторе камеры виден очаг повышенного накопления радиофармпрепарата, соответствующий этому лимфатическому узлу (б)

Fig. 2. Intraoperative search for the sentinel lymph node using the portable gamma camera Sentinella (а). Area of contrast agent accumulation in this sentinel lymph node is visualized (б)

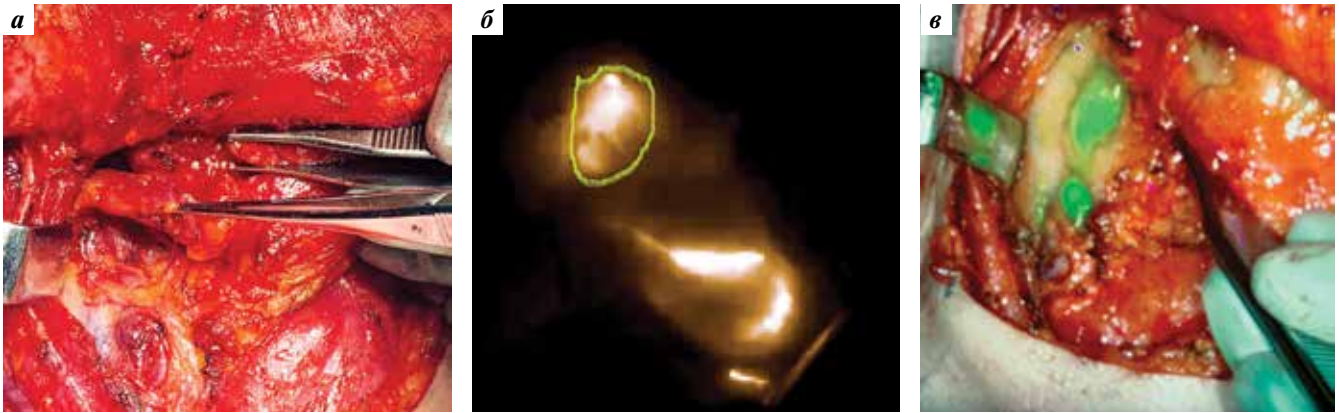


Рис. 3. Интраоперационный поиск сторожевого лимфатического узла: а — вид операционной раны; б — визуализация накопления индоцианина зеленого в сторожевом лимфатическом узле с помощью системы SPY (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина); в — визуализация накопления индоцианина зеленого в сторожевом лимфатическом узле с помощью системы Stryker (Клиника Каролинского университета, Стокгольм, Швеция)

Fig. 3. Intraoperative search for the sentinel lymph node: a — surgical wound; б — accumulation of indocyanine green in the sentinel lymph node visualized using the SPY system (N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center); в — accumulation of indocyanine green in the sentinel lymph node visualized using the Stryker system (Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden)

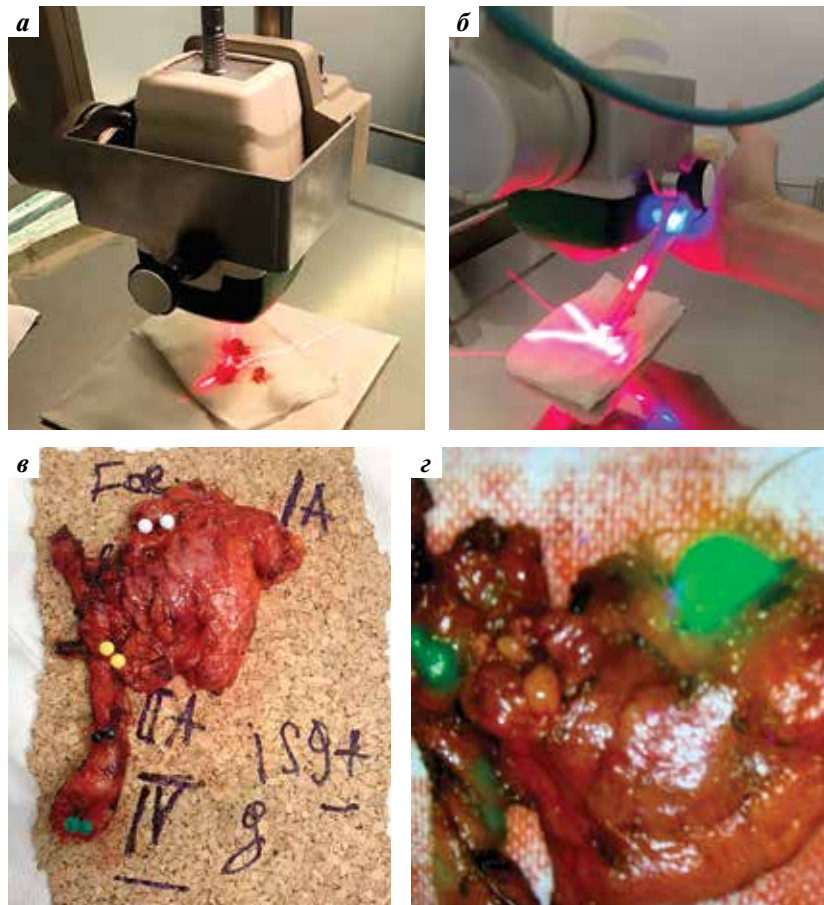


Рис. 4. Исследование удаленных лимфатических узлов: а — сканирование с помощью портативной гамма-камеры; б — сканирование с использованием гамма-зонда. Полученное изображение и звуковой сигнал зонда свидетельствуют о накоплении радиофармпрепарата в лимфатическом узле; в — маркировка удаленных сторожевых лимфатических узлов; з — накопление индоцианина зеленого подтверждает статус сторожевых лимфатических узлов

Fig. 4. Examination of removed lymph nodes: а — scanning using a portable gamma camera; б — scanning using a gamma probe. The image and sound signal of the probe indicate contrast agent accumulation in the lymph node; в — marking of the removed sentinel lymph nodes; з — accumulation of indocyanine green confirms the status of sentinel lymph nodes

Таблица 2. Распределение сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) в зависимости от характеристики опухоли

Table 2. Distribution of sentinel lymph nodes (SNLs) depending on tumor characteristics

Показатель Parameter	Всего случаев, абс. (%) (n = 27) Total cases, abs. (%) (n = 27)	Отрицательные СЛУ, абс. (%) (n = 10) Negative SLNs, abs. (%) (n = 10)	Положительные СЛУ, абс. (%) (n = 17) Positive SLNs, abs. (%) (n = 17)
Пол, абс. (%): Sex, abs. (%):			
муж male	14 (100)	4 (28,5)	10 (71,5)
жен female	13 (100)	6 (46,1)	7 (53,9)
Средний возраст, лет Mean age, years	56,3	62,7	49,9
Стадия, абс. (%): Stage, abs. (%):			
T1	13 (100)	5 (38,4)	8 (61,5)
T2	14 (100)	4 (28,5)	10 (71,5)
Локализация, абс. (%): Location, abs. (%):			
язык tongue	19 (100)	8 (42,1)	11 (57,9)
слизистая оболочка тканей дна полости рта oral floor mucosa	5 (100)	1 (20)	4 (80)
альвеолярный отросток нижней челюсти alveolar process of the mandible	2 (100)	1 (50)	1 (50)
слизистая оболочка щеки cheek mucosa	1 (100)	1 (100)	—
Дифференцировка опухоли, абс. (%): Tumor differentiation, abs. (%):			
высокодифференцированная well differentiated	16 (100)	5 (33,3)	11 (66,7)
умеренно-дифференцированная moderately differentiated	10 (100)	4 (40)	6 (60)
низкодифференцированная poorly differentiated	1 (100)	1 (100)	—
Глубина инвазии, абс. (%): Depth of invasion, abs. (%):			
<4 мм <4 mm	5 (100)	4 (80)	1 (20)
от 4 до 8 мм 4 to 8 mm	15 (100)	6 (40)	9 (60)
>8 мм >8 mm	7 (100)	1 (14,2)	6 (85,8)
pN-классификация, абс. (%): pN stage, abs. (%):			
cN0/pN0	—	10 (37,0)	—
cN0/pN1mi	—	—	14 (51,8)
cN0/pN+ (ma)	—	—	1 (3,7)
cN0/pN ma/mi	—	—	2 (7,4)
Количество СЛУ, абс. (%): Number of sentinel lymph nodes, abs. (%):			
1	17 (100)	6 (35,2)	11 (64,8)
2	6 (100)	3 (50)	3 (50)
3	4 (100)	1 (25)	3 (75)

Таблица 3. Распределение сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) с метастазами в зависимости от уровня регионарного метастазирования

Table 3. Distribution of sentinel lymph nodes (SLNs) with metastases depending on the level of regional metastasis

Уровни метастазирования Levels of metastasis	Всего СЛУ, абс. (%) Total SLNs, abs. (%)	pN+, абс. (%)
I	7 (15,4)	2 (4,3)
II	28 (60,9)	10 (21,8)
III	8 (17,3)	6 (13,2)
IV	1 (2,1)	1 (2,1)
V	—	—
VI	—	—
Skip	2 (4,3)	1 (2,1)
Всего	46 (100)	20 (43,5)

Морфологическое исследование. После операции проводили плановое патологоанатомическое исследование клетчатки шеи и первичного очага. Сторожевые ЛУ делили на 2 части: одну отправляли на морфологическое исследование, а другую — на проточную цитометрию. При плановом гистологическом исследовании морфолог разделял присланный фрагмент СЛУ на 2–3 части, затем делали их серийные срезы толщиной 3 мк. После рутинного гистологического исследования с окраской срезов гематоксилином и эозином на материале СЛУ проводили плановое ИГХ-исследование с антителом PAN Cytokeratin. При необходимости дополнительно выполняли реакцию с антителом Cytokeratin 5/6.

Характеристика сторожевого лимфатического узла. На данный момент в исследование включены 27 пациентов (14 мужчин и 13 женщин). Набор ведется с января 2018 г. по настоящее время (табл. 2).

Всего на момент подсчета было выявлено 46 (100 %) СЛУ. В 25 (60,9 %) случаях они локализовались на II уровне, далее по частоте обнаружения следуют уровни I и III: 7 (15,3 %) и 8 (17,3 % случаев соответственно). Реже всего СЛУ локализовались на IV уровне — в 1 (2,2 %) случае. В 2 (4,3 %) случаях они были обнаружены вне зон регионарного метастазирования. Из 46 выявленных СЛУ в 20 (43,3 %) из них найдены «скрытые» метастазы (табл. 3).

Чаще всего «скрытые» метастазы, как и СЛУ, были обнаружены на II уровне (в 10 (21,8 %) случаях). На III уровне они встречались в 6 (13,2 %) случаях, на I уровне — в 2 (4,3 %) и реже всего — на IV уровне (в 1 (2,1 %) случае). «Прыгающие» метастазы наблюдались у 1 (2,1 %) пациента. Они локализовались

на платизме. Данные ЛУ были определены как сторожевые, в 1 из них был выявлен «скрытый» метастаз.

При плановом патологоанатомическом исследовании удаленной клетчатки шеи в 2 случаях обнаружены метастазы в других регионарных зонах.

Метод проточной цитометрии. Особенностью метода проточной цитометрии является высокая чувствительность. Он позволяет обнаружить 0,3–1 % опухолевых клеток в «непораженных» ЛУ.

Для получения клеточной суспензии образцы ЛУ подвергаются умеренной гомогенизации с помощью модуля BD Medimachine Module (BD Bioscience, США) при комнатной температуре с последующей фильтрацией через фильтр Filcon 50 мкм (BD Bioscience, США). Для изучения внутриклеточных белков проводили реакцию пермеабилзации с помощью набора PerFix-nc Kit (Beckman Coulter, США), который позволяет изменять проницаемость мембраны клеток. В работе использовали антитела к Cytokeratin 5/8, меченные Alexa-488 (Novus Biologicals, США), к EpCAM (краситель FITC) и CD227 (краситель BV 515) (BD Bioscience, США).

В целях снижения неспецифического окрашивания на этапе пермеабилзации в реакционную смесь вносили реактив Fc Block (BD Bioscience, США). Количество живых клеток определяли с помощью стандартной прямой реакции иммунофлуоресценции с применением красителя 7-AAD (Beckman Coulter, США). Для идентификации лимфоцитов использовали антитела к панлейкоцитарному антигену CD45, меченные APC (BD Bioscience, США).

Экспрессию изучаемых маркеров оценивали на проточном цитометре FACSCanto II (BD Bioscience, США) с программным пакетом FACSDiva 7.0. В каждом образце анализировали не менее 1 000 000 событий из гейта одиночных событий (синглетов).

Использована следующая стратегия последовательного гейтирования опухолевых клеток онкологических больных:

- 1-й этап — построение дотплота в координатах FSC-H vs. FSC-A, выделение гейта одиночных событий (синглетов);
- 2-й этап — построение дотплота в координатах SSC-H vs. CD45 APC, выделение гейта отрицательных событий по параметру CD45 (из анализа исключали лейкоциты);
- 3-й этап — построение дотплота в координатах SSC-H vs. 7 AAD, выделение гейта отрицательных событий по параметру 7-AAD (из анализа исключали неживые клетки);
- 4-й этап — построение дотплота в координатах SSC-H vs. Cytokeratin 5/8+ EpCAM+ CD227 с учетом событий из гейта живых клеток, определение количества опухолевых клеток (рис. 5).

Исследование образцов ЛУ проведено в лаборатории клинической иммунологии отдела клиничко-

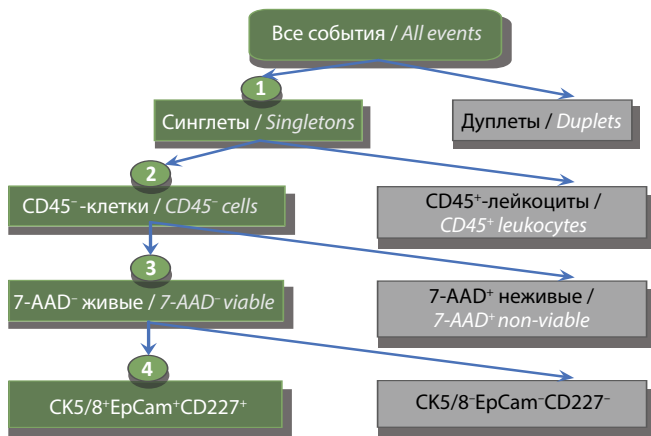


Рис. 5. Стратегия последовательного гейтирования опухолевых клеток сторожевого лимфатического узла

Fig. 5. Sequential gating strategy for tumor cells from a sentinel lymph node

лабораторной диагностики Научно-исследовательского института клинической онкологии им. акад. РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Его выполнил научный сотрудник, кандидат медицинских наук Е.Н. Захарова под руководством заведующего отделом, доктора биологических наук Т.Н. Заботиной.

Результаты

Исследованы 46 СЛУ, удаленных у 27 пациентов. Плановое гистологическое исследование СЛУ выявило 4 (8,7 %) «скрытых» метастаза. Метод ПЦР позволил дополнительно обнаружить еще 16 (37,8 %) метастазов. Чаще всего были поражены I, II и III уровни (см. табл. 2, 3). При толщине опухоли менее 4 мм «скрытые» метастазы выявлены у 11,7 % пациентов.

Таблица 4. Результаты методов диагностики «скрытых» метастазов

Table 4. Diagnostics of concealed metastases

Метод Method	ИП, n TP, n	ИО, n TN, n	ЛП, n FP, n	ЛО, n FN, n	Чувствительность, % (ДИ) Sensitivity, % (CI)	Специфичность, % (ДИ) Specificity, % (CI)	Точность, % (ДИ) Accuracy, % (CI)	Пр+ (ДИ) PP+ (CI)	Пр- (ДИ) PP- (CI)
Гистологическое и иммуногистохимическое исследования Histological and immunohistochemical studies	4	26	0	16	20 (8,3–20,0)	100 (91,0–100)	65,2 (55,0–65,2)	100 (41,4–100)	61,9 (56,3–61,9)
Проточная цитометрия Flow cytometry	20	26	—	—	96 (87,0–100)	100 (90,0–100)	100 (88,7–100)	100 (87,0–100)	100 (90,0–100)

Примечание. ИП — истинно положительные результаты; ИО — истинно отрицательные результаты; ЛП — ложноположительные результаты; ЛО — ложноотрицательные результаты; ДИ — доверительный интервал; Пр+ — положительные прогностические значения; Пр- — отрицательные прогностические значения.

Note. TP — true positive results; TN — true negative results; FP — false positive results; FN — false negative results; DI — confidence interval; PP+ — positive prognostic values; PP- — negative prognostic values.

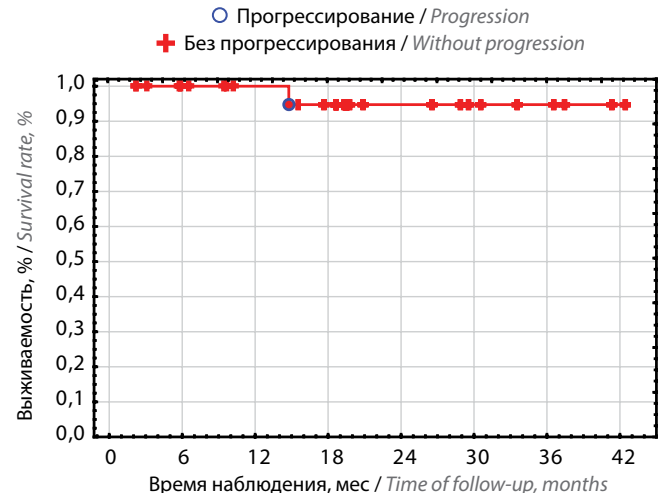


Рис. 6. Трехлетняя выживаемость без признаков прогрессирования пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки дна полости рта

Fig. 6. Three-year progression-free survival of patients with squamous cell carcinoma of the oral floor

Среднее время наблюдения за больными составило $20,4 \pm 11,7$ мес (от 2,2 до 42,5 мес, медиана — 19,5 мес), 3-летняя выживаемость без признаков прогрессирования — $94,7 \pm 5,1$ % (рис. 6). В 1 случае при плоскоклеточном раке слизистой оболочки дна полости рта T1N0M0 было выполнено только удаление первичной опухоли и СЛУ. Глубина инвазии удаленной опухоли составила 2 мм. По результатам морфологического исследования и проточной цитометрии метастатического поражения не выявлено. Через 14,8 мес обнаружен ипсилатеральный регионарный метастаз cN3. Пациенту проведены 2 курса полихимиотерапии по схеме DCF с последующей лечебной лимфодиссекцией.

По данным статистического анализа биопсии СЛУ чувствительность рутинного патологоанатомического

исследования составила 20 %, точность — 65,2 %. При добавлении проточной цитометрии чувствительность увеличилась до 96 %, а точность составила 100 % (табл. 4).

Даже при небольших процессах, соответствующих стадии T1, микрометастазы в СЛУ встречаются у 71 %. При стадии T2 количество пораженных СЛУ значительно не отличалось и составило 61,5 %.

Благодаря высокой чувствительности проточной цитометрии, в 20 % случаев удалось обнаружить «скрытые» метастазы даже при толщине опухоли менее 4 мм. При ее увеличении от 4 до 8 мм риск «скрытого» метастазирования возрастал до 60 %, при толщине 8 мм и более — до 85,8 %.

Количество отрицательных СЛУ при стадиях T1 и T2 составило 28,5 и 38,4 % соответственно. Таким образом, практически у 30 % пациентов с заболеванием ранних стадий пути регионарного метастазирования остаются непораженными. В данной группе больных можно ограничиться только биопсией СЛУ и удалением первичной опухоли.

Обсуждение

Дискуссия о выборе лечебного воздействия при клинически непораженных регионарных ЛУ (cN0) у пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта cT1–2N0M0 продолжается до сих пор. Такие методы, как пальпация, МРТ, КТ, УЗИ с аспирационной биопсией, недостаточно чувствительны для определения «скрытого» метастазирования [14]. Несмотря на то что толщина опухоли является прогностическим фактором его развития, этот показатель не может считаться определяющим критерием для решения вопроса о выполнении лимфодиссекции. В табл. 5 представлены результаты исследований, посвященных определению влияния толщины опухоли на риск развития «скрытого» метастазирования.

Показатели критической толщины опухоли, по данным различных авторов, различаются. В последних опубликованных исследованиях P. Cariati и соавт. (2020) 5 % «скрытых» метастазов были выявлены при толщине опухоли, не превышающей 4 мм. Увеличение толщины ≥ 4 мм повышает риск метастазирования почти в 10 раз (до 45,7 %) [19]. В работе J.-H. Shin 2020 г. показано, что «скрытые» метастазы при толщине менее 3 мм не обнаруживаются, тогда как ее увеличение повышает риск «скрытого» метастазирования в 20 раз (до 22 %) [20, 25]. По данным И.С. Романова [18], толщина опухоли 8 мм является критической. При ее превышении риск регионарного метастазирования возрастает в 3 раза.

Существует множество исследований, результаты которых говорят о том, что биопсия СЛУ сопоставима с шейной лимфодиссекцией — «золотым стандартом» определения N-стадии [26–35]. Данные различных

многоцентровых исследований показали высокую чувствительность этого метода — от 88 до 98 % (табл. 6).

Таблица 5. Влияние толщины опухоли на развитие «скрытого» метастазирования при плоскоклеточном раке полости рта

Table 5. Association between tumor thickness and probability of concealed metastasis in patients with oral squamous cell carcinoma

Авторы Authors	Толщина опухоли, мм Tumor thickness, mm	Частота метастазиро- вания в зависимости от указанных параметров, % Frequency of metastasis depending on the parameters specified, %	
		<	≥
Язык Tongue			
S.H. Huang и соавт. [15] S.H. Huang et al. [15]	4,0	4,5	16,8
A.P. Yuen и соавт. [16] A.P. Yuen et al. [16]	3,0	8,0	44,0
H. Fukano и соавт. [17] H. Fukano et al. [17]	5,0	5,9	64,7
И.С. Романов [18]	8,0	13,6	35,9
P. Cariati и соавт. [19] P. Cariati et al. [19]	4,0	5,0	45,7
J.-H. Shin и соавт. [20] J.-H. Shin et al. [20]	3,0	0	22,0
И.М. Гельфанд [21]	4,0	0	31,3
Дно полости рта Oral floor			
M.A. Mohit- Tabatabai [22] M.A. Mohit-Tabatabai [22]	1,5	12,0	33,0
R.H. Spiro [23] R.H. Spiro [23]	2,0	2,0	45,0
A. Amar и соавт. [24] A. Amar et al. [24]	3,0	7,0	50,0

В приведенных исследованиях биопсия СЛУ выполнялась как одновременно с лимфодиссекцией, так и без нее. Отрицательная прогностическая ценность данного метода при рутинном гистологическом исследовании составила 94 % (95 % доверительный интервал 0,88–0,98). С применением ИГХ-исследования этот показатель возрастает до 96 %. При стадии T1

отрицательная прогностическая ценность биопсии СЛУ составила 100 %, при стадии Т2 – 94 % [6, 41, 42]. По данным метаанализа, проведенного S.F. Thompson [36], чувствительность биопсии СЛУ варьировала от 95 до 96 %, отрицательная прогностическая ценность – от 96 до 100 %. Метаанализы Т.М. Govers и соавт. [37] и F.J. Civantos и соавт. [6] показали, что чувствительность этого метода составила 90–100 %, отрицательная прогностическая ценность – 96–100 %. Высокая эффективность биопсии СЛУ описана и российскими учеными. Так, по данным И.С. Романова (2013), чувствительность и отрицательная прогностическая ценность этого метода составили 87 и 94 % соответственно [38].

Таблица 6. Эффективность биопсии сторожевого лимфатического узла, по данным литературы

Table 6. Effectiveness of sentinel lymph node biopsy (literature)

Автор Author	Год Year	Чувствительность биопсии, % Sensitivity of biopsy, %	Индекс отрицательных прогностических значений, % Negative predictive value, %
F.J. Civantos [31]	2010	90–100	94–100
S.F. Thompson [36]	2013	95–96	96–100
Т.М. Govers и соавт. [37] T.M. Govers et al. [37]	2013	90–100	96–100
И.С. Романов [38]	2013	87	94
K. Boeve [39]	2018	85	94
I.J. den Toom [40]	2020	81	93

Стоит отметить, что при локализации первичного очага в области слизистой оболочки дна полости рта многие авторы отмечают снижение чувствительности биопсии СЛУ. При таком расположении опухоли после введения РФП наблюдается феномен «засвечивания», когда СЛУ скрываются за фоновым излучением от места инъекции. Это подтверждается результатами исследования I.J. Den Toom и соавт., в котором у 64 % пациентов с отрицательным СЛУ в период наблюдения реализовались метастазы на I уровне [43].

Несмотря на то что практически в 100 % случаев удается обнаружить СЛУ, существует сложность выявления «скрытых» метастазов в них. В исследовании G.B. Flacha и соавт. [44] сравниваются 2 группы пациентов. В 1-ю группу вошли больные с положительным СЛУ. Им проведены лимфодиссекция, лучевая терапия

или комбинация этих методов. Во 2-ю группу были включены пациенты с отрицательным СЛУ. Они оставались под наблюдением. У 12 % пациентов с отрицательными СЛУ за время наблюдения (15 мес) реализовались метастазы на шее. Это говорит о том, что рутинное патологоанатомическое исследование неспособно обнаружить все микрометастазы.

С целью выявления «скрытых» метастазов M.W. Van den Brekel и соавт. провели повторное тщательное исследование удаленной клетчатки после 96 профилактических шейных лимфодиссекций (сN0). Дополнительно были проанализированы 3092 ЛУ. Из 96 макропрепаратов после профилактических лимфодиссекций в 37 % обнаружены макроскопические и микроскопические метастазы. Более тщательная секция и ИГХ-исследование значительно улучшают возможности поиска микрометастазов, но, несмотря на это, риск того, что некоторые из них будут пропущены, остается высоким [45]. Если их не лечить, то они развиваются за время наблюдения, что ухудшает прогноз заболевания. Даже при клинически непораженных ЛУ и отрицательном рутинном патогистологическом исследовании почти в 40 % случаев при более тщательном изучении регионарного лимфооттока выявляются метастазы [46–48]. Таким образом, в настоящее время чрезвычайно актуален вопрос поиска более точной методики определения скрытых метастазов в шейных ЛУ при раке слизистой оболочки полости рта. Решением данной проблемы может стать добавление к рутинному патологоанатомическому исследованию проточной цитометрии. Впервые ее применение для поиска метастазов в СЛУ при этой патологии применили в Клинике Каролинского университета (Стокгольм, Швеция) [49]. Данная работа продолжается по настоящее время. На основе полученных результатов можно сделать вывод, что проточная цитометрия позволяет с высокой точностью отличить метастатические ЛУ от непораженных.

Было установлено, что во всех пораженных ЛУ содержится более 1 % клеток с положительными опухолевыми маркерами (ErCAM/CK5/8/MUC1). Исходя из этого, среднее количество таких клеток в первичном очаге составило 8,10 % (2,46–33,0 %), в гистологически подтвержденных метастатических ЛУ – 3,9 % (1,95–7,02 %). Для сравнения при pN0 данные клетки встречались в среднем в 0,09 (0,02–1,04 %) и 0,17 % (0,038–1,26 %) случаев соответственно [49].

Для подтверждения истинно отрицательного статуса ЛУ, диагностированных как N0 методом проточной цитометрии, было проведено дополнительное морфологическое исследование на оставшихся образцах ткани, которое не выявило ложноотрицательных результатов. В 3 (15 %) случаях в морфологически не пораженных ЛУ по данным проточной цитометрии количество клеток с положительными онкомаркерами превышало норму. Это свидетельствует о том, что с помощью

названного метода можно обнаружить изолированные опухолевые клетки и опухолевые депозиты менее 0,2 мм [3]. Поскольку в ходе морфологического исследования данных ЛУ опухолевые клетки выявлены не были, можно сделать вывод, что морфологическое исследование в 15 % случаев дает ложноотрицательные результаты [49]. Для сравнения: объем ЛУ составляет 250 мм³, метастаз занимает более 1 % объема, микрометастаз — 0,03–1,6 %. Таким образом, проанализировав более 50 % ЛУ с помощью проточной цитометрии, удалось определить N-стадию и наличие микрометастазов. Доказано, что в 99,76 % случаев в непораженных ЛУ не наблюдается положительного ответа на онкомаркеры [13, 50].

В Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России в 2019 г. начато исследование, посвященное применению проточной цитометрии в диагностике «скрытого» метастатического поражения СЛУ, по совместному с Каролинским университетом (Стокгольм, Швеция) научному протоколу. Первые результаты показали, что при толщине опухоли менее 4 мм в 20 % случаев есть «скрытые» метастазы. Однако у 38 % пациентов с заболелением стадии T1–2 они обнаружены не были.

Таким образом, знания толщины опухоли недостаточно для решения вопроса о проведении лимфодиссекции. Необходимы разработка и внедрение более

чувствительного метода оценки путей регионарного метастазирования. Чувствительность только патолого-анатомического метода составляет 20 %, при добавлении метода проточной цитометрии она возрастает до 94,6 % (см. табл. 5). Обращает на себя внимание случай реализации метастаза на ипсилатеральной стороне после удаления первичной опухоли слизистой оболочки дна полости рта и проведения биопсии СЛУ. Несмотря на отрицательный СЛУ, это можно связать с пропуском 2-го СЛУ из-за феномена «засвечивания».

Заключение

Концепция СЛУ не вызывает сомнений. Однако в зависимости от локализации опухолевого процесса методика определения СЛУ может различаться. Особенностью области головы и шеи является близость регионарных ЛУ и первичного очага. При использовании радиоизотопа ^{99m}Tc может возникать феномен «засвечивания», что увеличивает вероятность пропуска СЛУ. При использовании только флуоресцентной спектроскопии с ICG существует вероятность того, что контралатеральный СЛУ останется незамеченным. Таким образом, предложенная методика позволяет с высокой точностью обнаружить все СЛУ. Исследование продолжается.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. D'Cruz A.K., Vaish R., Kapre N. et al. Head and neck disease management group. Elective versus therapeutic neck dissection in node-negative oral cancer. *N Engl J Med* 2015;373(6):521–29. DOI: 10.1056/NEJMoa1506007.
2. De Bree R., van der Waal J., Doornaert P. et al. Indications and extent of elective neck dissection in patients with early stage oral and oropharyngeal carcinoma: nationwide survey in The Netherlands. *J Laryngol Otol* 2009;123(8):889–98. DOI: 10.1017/S0022215109004800.
3. TNM classification of malignant tumours. Ed. by J.D. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. 7th ed. Wiley-Blackwell: NJ, 2009. Available at: http://www.inen.sld.pe/portal/documentos/pdf/educacion/13072015_TNM%20Classification.pdf.
4. Ferlito A., Rinaldo A., Devaney K.O. et al. Detection of lymph node micrometastases in patients with squamous carcinoma of the head and neck. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265(10):1147–53. DOI: 10.1007/s00405-008-0715-8.
5. Paleri V., Rees G., Arullendran P. Sentinel node biopsy in squamous cell cancer of the oral cavity and oral pharynx: a diagnostic meta-analysis. *Head Neck* 2005;27(9):739–47. DOI: 10.1002/hed.20228.
6. Civantos F.J., Zitsch R.P., Schuller D.E. et al. Sentinel lymph node biopsy accurately stages the regional lymph nodes for T1–T2 oral squamous cell carcinomas: results of a prospective multi-institutional trial. *J Clin Oncol* 2010;28(8):1395–400. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.8777.
7. Vermeeren L., Valdes Olmos R.A., Klop W.M. et al. A portable gamma-camera for intraoperative detection of sentinel nodes in the head and neck region. *J Nucl Med* 2010;51(5):700–3. DOI: 10.2967/jnumed.109.071407.
8. Yamauchi K., Fujioka Y., Kogashiwa Y., Kohno N. Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using onestep nucleic acid amplification. *J Clin Pathol* 2011;64:875–9. DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200085.
9. Leroy X., Buisine M.P., Leteurtre E. et al. MUC1 (EMA): a key molecule of carcinogenesis? *Ann Pathol* 2007;26(4):257–66. DOI: 10.1016/S0242-6498(06)70718-0.
10. Munz M., Kieu C., Mack B. et al. The carcinoma-associated antigen EpCAM upregulates c-myc and induces cell proliferation. *Oncogene* 2004;23(34):5748–58. DOI: 10.1038/sj.onc.1207610.
11. Zhang L., Hu J., Zirakzadeh A.A. et al. Detection of micro-metastases by flow cytometry in lymph nodes from patients with penile cancer. *BMC Urology* 2018;18(1):86. DOI: 10.1186/s12894-018-0399-3.
12. Tao L., Lefeuvre M., Ricci S. et al. Detection of occult carcinomatous diffusion in lymph nodes from head and neck squamous cell carcinoma using real-time RT-PCR detection of cytokeratin 19 mRNA. *Br J Cancer* 2006;94(8):1164–9. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603073.
13. Hartana C.A., Kinn J., Rosenblatt R. et al. Detection of micrometastases by flow cytometry in sentinel lymph nodes from patients with renal tumours. *Br J Cancer* 2016;115(8):957–66. DOI: 10.1038/bjc.2016.279.
14. Hornstra M.T., Alkureishi L.W., Ross G.L. et al. Predictive factors for failure to identify sentinel nodes in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2008;30(7):858–62. DOI: 10.1002/hed.20787.
15. Huang S.H., Hwang D., Lockwood G., et al. Predictive value of tumor thickness for cervical lymph-node involvement

- in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 2009;115(7):1489–97. DOI: 10.1002/cncr.24161.
16. Yuen A.P., Ho C.M., Chow T.L. et al. Prospective randomized study of selective neck dissection versus observation for N0 neck of early tongue carcinoma. *Head Neck* 2009;31(6):765–72. DOI: 10.1002/hed.21033.
17. Fukano H., Matsuura H., Hasegawa Y., Nakamura S. Depth of invasion as a predictive factor for cervical lymph node metastasis in tongue carcinoma. *Head Neck* 1997;19(3):205–10. DOI: 10.1002/(sici)1097-0347(199705)19:3<205::aid-hed7>3.0.co;2-6.
18. Романов И.С., Оджарова А.А., Удинцов Д.Б. и др. Выявление «сторожевых» лимфатических узлов при плоскоклеточном раке полости рта с применением лимфосцинтиграфии. Медицинская радиология и радиационная безопасность 2012;57(6):58–67. [Romanov I.S., Odjarova A.A., Udintsov D.B. et al. Identification of sentinel lymph nodes in squamous cell carcinoma of the oral cavity by lymphoscintigraphy. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'* = Medical radiology and radiation safety. 2012;57(6):58–67. (In Russ.)].
19. Cariat P., Pampin Ozan D., Gonzalez Corcoles C. et al. Clinical behavior of T1cT2 squamous cell carcinoma of the oral cavity. *J Craniomaxillofac Surg* 2020;48(12):1152–7. DOI: 10.1016/j.jcms.2020.09.011.
20. Shin J.-H., Yoon H.-J., Kim S.-M. et al. Analyzing the factors that influence occult metastasis in oral tongue cancer. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2020;46(2):99–107. DOI: 10.5125/jkaoms.2020.46.2.99.
21. Гельфанд И.М. Тактика лечения больных раком слизистой оболочки полости рта стадии cT1–2N0M0: Дис. ... канд. мед. наук. М., 2016. 187 с. [Gelfand I.M. Tactics of treatment of patients with cancer of the oral mucosa stage cT1–2N0M0: Dis. ... candidate of medical sciences. Moscow, 2016. 187 p. (In Russ.)].
22. Mohit-Tabatabai M.A. Relation of thickness of floor of the mouth stage I and II cancers to regional metastasis. *Am J Surg* 1986;152(4):351–3. DOI: 10.1016/0002-9610(86)90303-x.
23. Spiro R.H., Huvois A.G., Wong G.Y. et al. Predictive value of tumor thickness in squamous carcinoma confined to the tongue and floor of the mouth. *Am J Surg* 1986;152(4):345–50. DOI: 10.1016/0002-9610(86)90302-8.
24. Amar A., Rapoport A., Curioni O.A. et al. The density of metastatic lymph node as prognostic factor in squamous cell carcinoma of the tongue and floor of the mouth. *Braz J Otorhinolaryngol* 2012;78(3):86–90.
25. Taylor R.J., Wahl R.L., Sharma P.K. et al. Sentinel node localization in oral cavity and oropharynx squamous cell cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;127(8):970–4. DOI: 10.1001/archotol.127.8.970.
26. Alvarez J., Bidaguren A., McGurk M. et al. Sentinel node biopsy in relation to survival in floor of the mouth carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(3):269–73. DOI: 10.1016/j.ijom.2013.10.022.
27. Barzan L., Sulfaro S., Alberti F. et al. Gamma probe accuracy in detecting the sentinel lymph node in clinically N0 squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111(9):794–8. DOI: 10.1177/000348940211100906.
28. Bilde A., von Buchwald C., Therkildsen M.H. et al. Need for intensive histopathologic analysis to determine lymph node metastases when using sentinel node biopsy in oral cancer. *Laryngoscope* 2008;118(3):408–14. DOI: 10.1097/MLG.0b013e31815d8e15.
29. Burcia V., Costes V., Faillie J.L. et al. Neck restaging with sentinel node biopsy in T1–T2N0 oral and oropharyngeal cancer: why and how? *Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;142(4):592–7. DOI: 10.1016/j.otohns.2009.12.016.
30. Chikamatsu K., Kamada H., Ninomiya H. et al. A preliminary study on sentinel lymph node biopsy: feasibility and predictive ability in oral cavity cancer. *Ann Nucl Med* 2004;18(3):257–62. DOI: 10.1007/BF02985008.
31. Civantos F.J., Gomez C., Duque C. et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer: correlation with PET scan and immunohistochemistry. *Head Neck* 2003;25(1):1–9. DOI: 10.1002/hed.10213.
32. Dequanter D., Shahla M., Paulus P., Lothaire P. Long term results of sentinel lymph node biopsy in early oral squamous cell carcinoma. *Oncotargets Ther* 2013;6:799–802. DOI: 10.2147/OTT.S43446.
33. Fan S.F., Zeng Z.Y., Peng H.W. et al. Sentinel lymph node biopsy versus elective neck dissection in patients with cT1–2N0 oral tongue squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014;117(2):186–90. DOI: 10.1016/j.oooo.2013.09.012.
34. Kontio R., Leivo I., Leppanen E., Atula T. Sentinel lymph node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma without clinically evident metastasis. *Head Neck* 2004;26(1):16–21. DOI: 10.1002/hed.10355.
35. Pezier T., Nixon I.J., Gurney B. et al. Sentinel lymph node biopsy for T1/T2 oral cavity squamous cell carcinoma – a prospective case series. *Ann Surg Oncol* 2012;19(11):3528–33. DOI: 10.1245/s10434-011-2207-0.
36. Thompson C.F., John M.A., Lawson G. et al. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270(7):2115–22. DOI: 10.1007/s00405-012-2320-0.
37. Govers T.M., Hannink G., Merks M.A. et al. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: a diagnostic meta-analysis. *Oral Oncol* 2013;49(8):726–32. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2013.04.006.
38. Романов И.С. Стратегия диагностики и лечения регионарных метастазов рака слизистой оболочки полости рта: Дис. ... док. мед. наук. М., 2013. 259 с. [Romanov I.S. Strategy of diagnosis and treatment of regional metastases of cancer of the oral mucosa: Dis. ... doctor of medical sciences. M., 2013. 259 p. (In Russ.)].
39. Boeve K., Schepman K.P., Schuurin E. et al. High sensitivity and negative predictive value of sentinel lymph node biopsy in a retrospective early stage oral cavity cancer cohort in the Northern Netherlands. *Clin Otolaryngol* 2018;43(4):1080–7. DOI: 10.1111/coa.13107.
40. Den Toom I.J., Boeve K., Lobeek D. et al. Neck dissection or sentinel lymph node biopsy in early stage oral cavity cancer patients the dutch experience. *Cancers* 2020;12(7):1783. DOI: 10.3390/cancers12071783.
41. Zitsch R.P., Todd D.W., Renner G.J., Singh A. Intraoperative radiolymphoscintigraphy for detection of occult nodal metastasis in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122(5):662–6. DOI: 10.1016/S0194-5998(00)70192-6.
42. Moreau P., Goffart Y., Collignon J. Computed tomography of metastatic cervical lymph nodes. A clinical, computed tomographic, pathologic correlative study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1990;116:1190–3. DOI: 10.1001/archotol.1990.01870100084018.
43. Den Toom I.J., Heuveling D.A., Flach G.B. et al. Sentinel node biopsy for early-stage oral cavity cancer: the VU University Medical Center experience. *Head Neck* 2015;37(4):573–8. DOI: 10.1002/hed.23632.
44. Flacha G.B., Bloemenab E., Klop M.W. et al. Sentinel lymph node biopsy in clinically N0 T1–T2 staged oral cancer: The Dutch multicenter trial. *Oral Oncol* 2014;50(10):1020–4. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2014.07.
45. Van den Brekel M.W., Stel H.V., van der Valk P. et al. Micrometastases

- from squamous cell carcinoma in neck dissection specimens. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1992;249(6):349–53. DOI: 10.1007/BF00179388.
46. Rigual N., Loree T., Frustino J. et al. Sentinel node biopsy in lieu of neck dissection for staging oral cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;139(8):779–82. DOI: 10.1001/jamaoto.2013.3863.
47. Sebbesen L., Bilde A., Therkildsen M. et al. Three-year follow-up of sentinel node-negative patients with early oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2014;36(8):1109–12. DOI: 10.1002/hed.23414.
48. Van den Brekel M.W., van der Waal I., Meijer C.J. et al. The incidence of micrometastases in neck dissection specimens obtained from elective neck dissections. *Laryngoscope* 1996;106(8):987–91. DOI: 10.1097/00005537-199608000-00014.
49. Häyry V., Kågedal Å., Hjalmarsson E. et al. Rapid nodal staging of head and neck cancer surgical specimens with flow cytometric analysis. *Br J Cancer* 2018;118(3):421–27. DOI: 10.1038/bjc.2017.408.
50. Matsuzuka T., Uemura H., Yoshimoto S. Attempting to define sentinel node micrometastasis in oral squamous cell carcinoma. *Fukushima J Med Sci* 2020;66(3):143–7. DOI: 10.5387/fms.2020-17.

Вклад авторов

А.М. Мудунов: проведение операций, научное редактирование статьи;

И.М. Гельфанд: проведение операций, написание текста статьи;

М.А. Кропотов: научное редактирование статьи;

А.А. Ахундов, С.О. Подвязников: обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование статьи;

А.С. Вилкова, А.В. Дубинина: проведение морфологического исследования;

М.Е. Билик, С.М. Каспшик: проведение лимфосцинтиграфии;

А.С. Крылов: редактирование статьи.

Authors' contributions

A.M. Mudunov: article writing, performing surgery, scientific editing of article;

I.M. Gelfand: article writing;

M.A. Kropotov: reviewing of publications of the article's theme, scientific editing of article;

A.A. Akhundov, S.O. Podvyaznikov: reviewing of publications of the article's theme, scientific editing of article;

A.S. Vilкова, A.M. Dubinina: morphological examination;

M.E. Bilik, S.M. Kaspshik: liposcintigraphy;

A.S. Krylov: article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.М. Мудунов / A.M. Mudunov: <https://orcid.org/0000-0003-1255-5700>

И.М. Гельфанд / I.M. Gelfand: <https://orcid.org/0000-0002-4496-6128>

М.А. Кропотов / M.A. Kropotov: <https://orcid.org/0000-0002-9132-3416>

А.А. Ахундов / A.A. Akhundov: <https://orcid.org/0000-0002-9543-990X>

С.О. Подвязников / S.O. Podvyaznikov: <https://orcid.org/0000-0003-1341-0765>

А.С. Вилкова / A.S. Vilкова: <https://orcid.org/0000-0003-2724-4075>

А.М. Дубинина / A.M. Dubinina: <https://orcid.org/0000-0002-8129-0593>

М.Е. Билик / M.E. Bilik: <https://orcid.org/0000-0002-2592-685X>

С.М. Каспшик / S.M. Kaspshik: <https://orcid.org/0000-0002-1384-9551>

А.С. Крылов / A.S. Krylov: <https://orcid.org/0000-0002-8476-7879>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики и прав пациентов. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 24.12.2021. Принята к публикации: 06.02.2022.

Article submitted: 24.12.2021. Accepted for publication: 06.02.2022.