

КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ ЭНДОМИКРОСКОПИЯ И УТОЧНЯЮЩИЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ В ДИАГНОСТИКЕ ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА

1-ое место в конкурсе научных работ молодых ученых по гастроэнтерологии за 2012 г.

Кирова М. В.

ГБУЗ г. Москвы «Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии» ДЗ г. Москвы

Кирова Марина Владимировна

E-mail: kirmavi@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

Пищевод Барретта известен как предраковое заболевание, являющееся одним из наиболее грозных осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Своевременное выявление кишечной метаплазии и дисплазии эпителия дает возможность проведения адекватной терапии, а следовательно, профилактики аденокарциномы пищевода. Основным методом диагностики пищевода Барретта является эндоскопическое исследование. В статье представлен сравнительный анализ эффективности хромоэндоскопии, узкоспектрального анализа и конфокальной лазерной эндомикроскопии в определении типа метаплазии в пищеводе Барретта.

Ключевые слова: пищевод Барретта, конфокальная лазерная эндомикроскопия, узкоспектральная эндоскопия, хромоэндоскопия.

SUMMARY

Barrett's esophagus is known to be a premalignant condition being one of the most dangerous complications of gastroesophageal reflux disease. Well-timed revealing of intestinal metaplasia and dysplasia gives the opportunity of adequate treatment and as a result prophylaxis of esophageal adenocarcinoma. The endoscopic method is leading in diagnostics of Barrett's esophagus. This article presents the comparative analyses of chromoendoscopy, narrow-band imaging and confocal laser endomicroscopy in diagnosis of the type of metaplasia in Barrett's esophagus.

Keywords: Barrett's esophagus, confocal laser endomicroscopy, narrow-band imaging, chromoendoscopy.

Пищевод Барретта (ПБ) — одно из осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), являющееся потенциально предраковым заболеванием пищевода с многоэтапной неопластической прогрессией и плохим прогнозом аденокарциномы на его фоне.

В настоящее время рак пищевода находится на 6-м месте в структуре мировой смертности от злокачественных заболеваний, поэтому повышенный интерес к ПБ сохраняется во всем мире [1]. Отсутствие специфической клинической симптоматики зачастую приводит к поздней диагностике заболевания и высокой смертности.

Термин «пищевод Барретта» учеными трактуется весьма вариablyно. В 2005 г. в Монреале было представлено соглашение, согласно которому

диагноз ПБ устанавливается при выявлении в ходе эндоскопического исследования участков, подозрительных на метаплазию слизистой оболочки пищевода, и подтверждении при последующем гистологическом исследовании цилиндрической метаплазии. Диагноз правомерен как при наличии, так и при отсутствии фокусов кишечной метаплазии. При этом только морфологически подтвержденная кишечная метаплазия рассматривается как предраковое состояние, что обуславливает необходимость оптимизации методов ее диагностики [2].

Долгое время «золотым стандартом» диагностики ПБ считалось эндоскопическое исследование с выполнением четырехквadrантных «слепых» биопсий на протяжении каждого сантиметра по длине метаплазированного сегмента, однако по данным

ряда авторов, диагностическая точность рутинной эзофагоскопии не превышает 48–60% [3].

Новые технологии последних лет позволили в значительной степени увеличить диагностическую точность проводимых процедур, тем не менее, вопрос о наиболее оптимальном диагностическом алгоритме до настоящего времени остается нерешенным.

В случае отсутствия сопутствующих эрозивных поражений слизистой оболочки пищевода в диагностике ПБ эффективно использование хромоэндоскопии с окраской метиленовым синим [4–5]. Однако при наличии эрозивного рефлюкс-эзофагита у пациентов с подозрением на ПБ чувствительность окраски составляет всего лишь 45,2%, что связано со способностью красителя прокрашивать не только очаги кишечной метаплазии, но и адсорбироваться в области эрозий и язв, что приводит к ложноположительным результатам диагностики [6–7]. Таким образом, целесообразность использования метиленового синего для диагностики ПБ требует дальнейшего изучения.

Высокая точность диагностики ПБ была продемонстрирована при проведении хромоэндоскопии с раствором Люголя [8], однако, учитывая тропность йодсодержащего красителя к нормальной слизистой оболочке пищевода, возможность адекватной оценки и взятия прицельной биопсии из оставшихся неокрашенными метапластических, диспластических и неопластических участков представляется сомнительной.

Хорошие результаты в дифференциальной диагностике метаплазированного эпителия были показаны при хромоэндоскопии с одномоментным орошением слизистой оболочки пищевода раствором 2% уксусной кислоты, действие которой основано на обратимой денатурации протеина цитоплазмы клеток и усилении структурной детализации [9]. Сочетанное применение уксусной кислоты с проведением эндоскопии с увеличением (ZOOM-эндоскопии) также значительно повышает точность исследования [10–11]. Не менее эффективным представляется одновременное использование эндоскопии с увеличением и хромоэндоскопии [12–13].

Осмотр в узком спектре световой волны (NBI или FICE технологии) по эффективности сравним с хромоэндоскопией, но имеет ряд преимуществ, таких как простота проведения исследования, отсутствие необходимости использовать краситель, возможность несколько раз переключаться с режима обычной эндоскопии в белом свете на режим узко-спектрального освещения [14–15].

Стоит подчеркнуть, что при использовании всех указанных методик окончательное заключение о наличии или отсутствии кишечной метаплазии продолжает основываться на результатах гистологического исследования, требующего значительных временных затрат. Кроме того, нередко кусочки ткани, взятые для гистологического исследования, не содержат

важного для постановки диагноза фрагмента ткани, что связано с мозаичностью распределения участков кишечной метаплазии в сегменте метаплазированного эпителия.

Конфокальная лазерная эндомикроскопия является принципиально новым методом эндоскопической диагностики, позволяющим исследовать ткани на клеточном уровне в состоянии физиологической жизнедеятельности, и осуществлять постановку точного диагноза непосредственно во время эндоскопической процедуры. При проведении исследования врач одновременно оценивает эндоскопическую картину с наличием характерных сегментов метаплазированного эпителия по типу «языков пламени» и эндомикроскопическую картину, представленную множественными ворсиноподобными структурами, выстланными цилиндрическими эпителиоцитами, среди которых встречаются бокаловидные клетки. В отечественной литературе данных по эффективности конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике ПБ на сегодняшний день нет. Данные мировой литературы немногочисленны, но метод представляется многообещающим [16–20].

Цель исследования: сравнить эффективность уточняющих эндоскопических методик (хромоэндоскопия с метиленовым синим, NBI) и конфокальной лазерной эндомикроскопии в определении типа метаплазированного эпителия в ПБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включались больные с выявлявшимися в ходе ЭГДС эндоскопическими признаками ПБ. С марта 2010 года по январь 2012 года в ЦНИИГ обследовано 46 больных (30 мужчин и 16 женщин в возрасте от 18 до 81 года) (табл. 1). Средний возраст исследуемых больных составил $64,63 \pm 11,66$ лет, средняя длина сегмента метаплазированного эпителия $3,03 \pm 1,8$ см. В целом на этапе диагностики и мониторинга была проведена 61 ЭГДС, у всех больных осуществлялся забор и исследование биопсийного материала (число биоптатов в среднем составило $4,2 \pm 2,1$).

Критерии включения больных в исследование:

- мужчины и женщины с подозрением на ПБ (выявление в ходе ЭГДС сегментов метаплазированного эпителия в нижней трети пищевода);
- согласие больного на проведение данного метода обследования.

Критерии исключения:

- некомпенсированная соматическая патология;
- поливалентная аллергия;

- установленная гиперчувствительность к флуоресцеину натрия, метиленовому синему;
- психические заболевания, алкогольная и наркотическая зависимость;
- беременность или кормление грудью;
- любое клиническое состояние, которое, по мнению исследователя, не позволит безопасно выполнить исследование;
- отказ больного от исследования.

Исследование выполнялось с применением видеоэндоскопической системы Olympus Exera II с возможностью осмотра слизистой оболочки в режиме NBI (Narrow Band Imaging). В основе NBI лежит применение светового пучка с узким спектром и длиной волны 415–540 нм, что дает возможность контрастировать сосудистый

рисунок и архитектуру ямок слизистой оболочки пищевода.

В качестве красителя для проведения хромоэндоскопии использовался 1% водный раствор метиленового синего, который селективно окрашивает зону кишечной метаплазии. Введение препарата в просвет пищевода осуществлялось при помощи спрей-катетера.

Конфокальная лазерная эндомикроскопия проводилась с использованием эндомикроскопической системы Cellvizio® производства компании Mauna Kea Technologies, Франция (probe-based confocal laser endomicroscopy — pCLE). Новейшая медицинская технология позволяет визуализировать клеточные структуры *in vivo* в ходе проведения обычной эндоскопической процедуры. Основными компонентами системы являются

Таблица 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПБ ПО ПОЛУ И ВОЗРАСТУ									
	до 20	21–30	31–40	41–50	51–60	61–70	71–80	81–90	ИТОГО
Мужчины	1	0	1	1	6	11	9	1	30
Женщины	0	0	0	0	4	7	4	1	16
ВСЕГО	1	0	1	1	10	18	13	2	46

Таблица 2

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ В ВЫЯВЛЕНИИ ТИПА МЕТАПЛАЗИРОВАННОГО ЭПИТЕЛИЯ В ПБ				
Метод исследования	Число исследований	Чувствительность	Специфичность	Общая точность метода
ЭГДС + хромокопия с метиленовым синим 1%	14	87,5%	33,3%	64,3%
ЭГДС + NBI	25	94,1%	62,5%	84,0%
ЭГДС + pCLE	15	90,9%	100%	93,3%
ЭГДС + NBI + pCLE	7	100%	100%	100%
ВСЕГО	61			

Таблица 3

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ С ПБ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ	
Тип метаплазии	Число больных (%)
Желудочная метаплазия	18 (39,1%)
Кишечная метаплазия без дисплазии	23 (50,0%)
Кишечная метаплазия с дисплазией легкой степени	3 (6,5%)
Кишечная метаплазия с дисплазией умеренной степени	2 (4,3%)
Кишечная метаплазия с дисплазией тяжелой степени	0
Аденокарцинома пищевода	0
ВСЕГО	46

конфокальный лазерный сканирующий блок, зонды, вводимые через рабочий канал эндоскопа, компьютер с программами расшифровки данных и монитор, на который в режиме реального времени выводится эндомикроскопическое изображение (рис. 1 на цветной вклейке).

Для оптимальной визуализации структуры слизистой оболочки в ходе конфокальной лазерной эндомикроскопии необходимо использование флуоресцентного красителя, поэтому перед исследованием больным через предварительно установленный кубитальный катетер вводился 10% раствор флуоресцеина натрия в объеме 5 мл. По микрососудистому руслу препарат распределяется за считанные секунды, а оптимальное качество осмотра клеточных структур возможно после 8-ой минуты. Время флуоресценции препарата составляет в среднем 30 минут.

После стандартного эндоскопического исследования через инструментальный канал эндоскопа вводился конфокальный минизонд GastroFlex-UHD™, передающий сканирующий лазерный луч в зону наблюдения и фиксирующий флуоресцентный свет, отражаемый тканью. Получаемые на экране монитора Cellvizio® изображения микроструктуры слизистой оболочки сохранялись в цифровом виде. Проводилась прицельная биопсия слизистой оболочки терминального отдела пищевода. Осуществлялся сравнительный анализ данных конфокальной эндомикроскопии и результатов морфологического исследования.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с применением программы Microsoft Office Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная сравнительная характеристика эндоскопических методов диагностики выявила следующие данные, представленные в табл. 2.

Хромозендоскопия с окрашиванием слизистой оболочки пищевода 1% водным раствором метиленового синего проводилась 14 больным (рис. 2–3 на цв. вклейке). Согласно приведенным в таблице данным, методика при сравнительно высокой чувствительности (87,5%) обладает низкой специфичностью (33,3%). Так, совпадение данных хромозендоскопии и морфологического исследования было отмечено у 9 из 14 больных (7 больных с кишечной и 2 с желудочной метаплазией в пищеводе). У 4 больных отмечалось ложноположительное окрашивание участков желудочного эпителия; у 1 больного участки кишечной метаплазии остались неокрашенными. Таким образом, общая диагностическая точность метода составила 64,3%, что нельзя признать удовлетворительным. Кроме того, метиленовый синий адсорбируется в области эрозий и язв, что ведет к снижению диагностической точности

исследования. Выраженный у больного рвотный рефлекс также является фактором, затрудняющим диагностику, поскольку введение в пищевод красителя в значительной степени усиливает перистальтическую активность пищевода, что ухудшает визуализацию и качество изображений.

Использование технологии узкоспектрального анализа (NBI) слизистой оболочки у 25 больных в монорежиме по признаку «виллезной архитектоники» обеспечило высокую чувствительность исследования (94,1%) при умеренной специфичности (62,5%) (рис. 4 на цв. вклейке). Общая диагностическая точность метода составила 84,0%. Совпадение эндоскопического и морфологического диагнозов наблюдалось у 21 больного, у 16 из которых диагностирован кишечный, а у 5 — желудочный тип эпителия в метаплазированных сегментах нижней трети пищевода.

Бесспорно, хромоэндоскопия и узкоспектральный анализ повышают диагностическую точность проводимых исследований. Однако при использовании данных методик врач-эндоскопист может только предполагать тип метаплазии, а окончательный диагноз продолжает основываться на результатах морфологического заключения.

Конфокальная лазерная эндомикроскопия позволяет исследовать ткани на микроскопическом уровне в состоянии их физиологической жизнедеятельности, что дает возможность постановки окончательного диагноза непосредственно во время эндоскопической процедуры.

Нами проводилось обследование 22 больных с дополнительным применением конфокальной лазерной эндомикроскопии с использованием конфокальных зондов. После определения во время эндоскопического исследования зоны интереса конфокальный зонд вводился через рабочий канал эндоскопа до легкого контакта с исследуемой областью, после чего на экране монитора Cellvizio® появлялось *in vivo* изображение структуры слизистой оболочки. Для анализа визуализируемой эндомикроскопической картины следует учитывать, что конфокальные изображения отличаются от традиционных гистологических препаратов: ориентация конфокальных оптических срезов имеет горизонтальное направление, параллельное поверхности эпителия, тогда как при традиционном гистологическом исследовании направление срезов продольное. Тем не менее, знание гистологической структуры различных отделов желудочно-кишечного тракта позволяет в достаточной мере овладеть новым методом исследования и научиться интерпретировать полученные результаты.

Так, слизистая оболочка пищевода на конфокальных изображениях в норме представлена многослойным плоским неороговевающим эпителием с вдающимися в него из подслизистой основы сосочками, содержащими капиллярную сеть (рис. 7 на цв. вклейке). На эндомикроскопических изображениях желудка структура эпителия характеризуется большим количеством попадающих в горизонтальный оптический срез желудочных ямок и валиков. Структура тонкой кишки представлена множеством ворсин, содержащих сосудистую сеть и покрытых цилиндрическим эпителием с бокаловидными клетками (рис. 5 на цв. вклейке). При этом бокаловидные клетки содержат не окрашивающуюся флуоресцеином слизь, а потому выглядят темными и отчетливо различимы на конфокальных изображениях. Темными выглядят также эритроциты, быстро циркулирующие по ярко флуоресцирующей плазме.

При наличии кишечной метаплазии в ПБ на конфокальных изображениях визуализируются множественные ворсиноподобные структуры, выстланные цилиндрическими эпителиоцитами, среди которых встречаются бокаловидные клетки (рис. 6 на цв. вклейке).

При использовании данной методики в монорежиме чувствительность метода в выявлении кишечной метаплазии составила 90,9%, специфичность 100%, общая диагностическая точность 93,3%. Причиной диагностической ошибки у одного больного (ложноотрицательный результат исследования) явилось сопутствующее эрозивно-язвенное поражение пищевода с массивными наложениями фибрина, затрудняющими эндомикроскопическую оценку. Следует отметить, что конфокальный лазерный эндомикроскоп предназначен для верификации уже выявленных измененных участков слизистой оболочки, т. к. имеет очень узкую область сканирования, а потому его применение целесообразно сочетать с другими уточняющими эндоскопическими методиками. Как видно из табл. 2, при комбинированном использовании NBI и конфокальной лазерной эндомикроскопии диагностическая точность исследования достигает 100%.

Ограничением конфокальной лазерной эндомикроскопии с применением флуоресцеина является то, что ядра клеток остаются неокрашенными, а следовательно, не представляется возможным судить о наличии или отсутствии низкой и умеренной степени дисплазии эпителия, т. к. характеристикой данных диспластических изменений являются именно изменения в ядре клетки. Тем не менее, дисплазия высокой степени и рак могут быть диагностированы с высокой точностью благодаря визуализации нарушенной архитектоники, гиперваскуляризации, экстравазаций флуоресцеина.

В табл. 3 представлено процентное соотношение исследуемых больных в зависимости от морфологического заключения. У 28 из 46 больных определялись сегменты кишечной метаплазии в пищеводе, из них у 5 (17,86%) наблюдались признаки дисплазии легкой и умеренной степени, выразившиеся в полиморфизме ядер, их расположении в несколько рядов. Из 18 больных с сегментами желудочной метаплазии в пищеводе признаков дисплазии не было выявлено ни в одном случае.

Таким образом, комбинированное применение NBI и конфокальной лазерной эндомикроскопии позволяет определить тип метаплазии в пищеводе непосредственно во время проведения эндоскопического исследования, сузить показания для проведения биопсии (только наличие кишечной метаплазии) и минимизировать количество необходимых биоптатов.

ВЫВОДЫ

1. Применение хромоэндоскопии с раствором метиленового синего и узкоспектральной визуализации (NBI) в диагностике типа метаплазированного эпителия в ПБ характеризуется при сравнительно удовлетворительной чувствительности (87,5% и 94,1%) невысокой специфичностью (33,3% и 62,5%), что обуславливает общую точность методов 64,3% и 84,0% соответственно.
2. Наиболее чувствительным (90,9%) и специфичным (100%) методом в диагностике ПБ является конфокальная лазерная эндомикроскопия (общая диагностическая точность 93,3%), позволяющая исследовать гистологическую структуру слизистой оболочки *in vivo* в ходе проведения эндоскопического исследования.
3. Учитывая узкую область сканирования конфокального эндомикроскопа, целесообразно сочетать его применение с другими уточняющими эндоскопическими методиками. Совместное применение NBI и конфокальной лазерной эндомикроскопии повышает общую диагностическую точность проводимых исследований до 100%.
4. Применение конфокальной лазерной эндомикроскопии позволяет сузить показания для проведения биопсии (только наличие кишечной метаплазии) и минимизировать количество биоптатов.

БЛАГОДАРНОСТЬ

- заведующему отделом внутрисветной эндоскопии д. м. н., проф. Щербакову П. Л. за идею, коррекцию и постоянную помощь в процессе исследования;
- руководителю лаборатории патоморфологии д. м. н., проф. Хомерики С. Г. за поддержку и техническое осуществление морфологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Blot W.J., Devesa S.S., Kneller R.W.* Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia // *JAMA*. — 1991. — Vol. 265. — P. 1287–1289.
2. *Vakil N., Zanten S., Kahrilas P., et al.* The Montreal Definition and Classification of Gastroesophageal Reflux Disease: A Global Evidence-Based Consensus // *Am.J. Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 101. — P. 1900–1920.
3. *Василенко В.Х., Гребенев А.Л.* Грыжи пищеводного отверстия диафрагмы. — М.: Медицина, 1978. — С. 59–68.
4. *Кашин С.В., Иванников И.О.* Пищевод Барретта: принципы эндоскопической диагностики и медикаментозной терапии // *РЖГГК*. — 2006. №6. — С. 73–77.
5. *Canto M.I., Calloo A.* Chromoendoscopy for Barrett's oesophagus in the twenty-first century: to stain or not to stain // *Gastrointest. Endosc.* — 2006. — Vol. 64, №2. — P. 200–205.
6. *Giuli R.* Barrett's esophagus // *John Libbey Eurotext, Paris*. — 2003 — P. 1–4
7. *Lim C.H., Rotimi O., Dexter S.P. et al.* Randomized crossover study that used methylene blue or random 4-quadrant biopsy for the diagnosis of dysplasia in Barrett's oesophagus // *Gastrointest. Endosc.* — 2006. — Vol. 64, №2. — P. 195–199
8. *Shimizu Y., Takagoshi J. et al.* Endoscopic screening for early esophageal cancer by iodine staining in patients with other current or prior primary cancers // *Gastrointest. Endosc.* — 2001. — V. 53. — P. 1–5.
9. *Pech O, Manner H, Petrone MC et al.* One-step chromoendoscopy and structure enhancement using balsamic vinegar for screening of Barrett's esophagus // *Gastroent. Endosc.* — 2007. 65: AB146
10. *Rey J.F., Inoue H., Gueirud M.* Magnification endoscopy with acetic acid for Barrett's esophagus // *Endoscopy*. — 2005. — Vol. 37, №6. — P. 583–586.
11. *Reaud S., Croue A., Boyer J.* Diagnostic accuracy of magnifying chromoendoscopy with detection of intestinal metaplasia and dysplasia using acetic acid in Barrett's esophagus // *Gastroenterol. Clin. Biol.* — 2006. — Vol. 30, №2. — P. 217–223.
12. *Giuli R.* Barrett's esophagus // *John Libbey Eurotext, Paris*. — 2003. — Vol. 1. — P. 96–99.
13. *Kara M, Peters F, Rosmolen W et al.* High-resolution endoscopy plus chromoendoscopy or narrow-band imaging in Barrett's esophagus: a prospective crossover study // *Endoscopy*. — 2005; 37:929–936.
14. *Kara M.A., Ennahachi M., Fockens P et al.* Detection and classification of the mucosal and vascular patterns (mucosal morphology) in Barrett's esophagus by using narrow band imaging // *Gastrointest. Endosc.* — 2006. — Vol. 64, №2. — P. 155–166.
15. *Sharma P., Bansal A., Mathur S. et al.* The utility of a novel narrow band imaging endoscopy system in patients with Barrett's esophagus // *Gastrointest. Endosc.* — 2006. — Vol. 64, №2. — P. 167–175.
16. *Kiesslich R, Gossner L, Goetz M et. al.* In Vivo Histology of Barrett's Esophagus and Associated Neoplasia by Confocal Laser Endomicroscopy // *Clin Gastroenterol Hepatol.* — 2006 Aug; 4 (8):979–987.
17. *Becker V, Vieth M, Bajbouj M et. al.* Confocal laser scanning fluorescence microscopy for in vivo determination of microvessel density in Barrett's esophagus // *Endoscopy*. — 2008; 40: 888–891.
18. *Pohl H, Rosch T, Vieth M et. al.* Miniprobe confocal laser microscopy for the detection of invisible neoplasia in patients with Barrett's oesophagus // *Gut* 2008; 57: 1648–1653.
19. *Dunbar KB, Okolo P 3rd, Montgomery E, Canto MI.* Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial // *Gastrointest Endosc.* — 2009; 70: 645–654
20. *Kiesslich R., Galle P., Neurath M.* Atlas of endomicroscopy // 2008.