

КЛИНИЧЕСКАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

УДК 616-006.04-072.1:535.853

V. Chissov¹, V. Sokolov¹, N. Bulgakova (Zharkova)², E. Filonenko¹

FLUORESCENCE ENDOSCOPY, DERMASCOPY AND SPECTROPHOTOMETRY FOR DIAGNOSIS OF MALIGNANT TUMORS

¹*P.A. Herzen Moscow Research Oncological Institute, 2d Botkinskii pr., 125284 Moscow Russia
Tel: +7 (095) 9458807 Fax: +7 (095) 9456832 E-mail: vik123@online.ru*

²*General Physics Oncology Institute of Russian Academy of science*

ABSTRACT

Review of clinical experience in fluorescence detection of malignant lesions of skin, respiratory tracts, gastrointestinal tract, bladder and genitals is presented. The first clinical results in fluorescence laparoscopy and thoracoscopy are discussed also. The approach which integrates autofluorescence and 5-ALA induced PPIX fluorescence imaging with local (in situ) spectrophotometry in 450-800 nm spectral range is described. The results obtained suggest that such combined approach really improves the ability to localize precancerous and early cancerous lesions, intraepithelial and micro invasive primary cancers of different localizations, to detect micro metastasis in pleura and peritoneum, to reveal residual tumor or early recurrence and to detect occult foci of synchronous and metachronous primary multiple malignancies.

Key words: autofluorescence, fluorescence diagnosis, 5-ALA, cancer.

В.И. Чиссов¹, В.В. Соколов¹, Н.Н.Булгакова (Жаркова)², Е.В. Филоненко¹

ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ЭНДОСКОПИЯ, ДЕРМАСКОПИЯ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ОСНОВНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

¹*Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена МЗ РФ,*
²*Институт общей физики РАН*

АБСТРАКТ

В обзоре обсуждаются результаты клинических испытаний метода флюоресцентной диагностики при злокачественных поражениях кожи, дыхательных путей, мочевого пузыря, желудочно-кишечного тракта и гениталий. Представлены первые результаты отдельных наблюдений по флюоресцентной торакокопии и лапароскопии. Разработан комбинированный подход, основанный на регистрации аутофлюоресцентного и 5-АЛК индуцированного флюоресцентного изображения с одновременной локальной (in situ) регистрацией спектров флюоресценции в широком спектральном диапазоне (450-800 нм). Показано, что флюоресцентная эндоскопия в сочетании с локальной спектрофотометрией открывает возможности для эффективного выявления скрытых очагов облигатного предрака, интраэ-

питалиального и микроинвазивного первичного рака различных локализаций; микрометастазов на поверхности плевры или брюшины; остаточной опухоли или раннего рецидива рака после предшествующего лечения; скрытых очагов синхронного и метакронного первично множественного рака различных органов.

Ключевые слова: аутофлюоресценция, флюоресцентная диагностика, 5-АЛК, рак.

ВВЕДЕНИЕ

Метод флюоресцентной диагностики (ФД) злокачественных опухолей основан на: 1) различиях в интенсивности и спектральном составе собственной (эндогенной, ауто-) флюоресценции здоровой и опухолевой ткани при возбуждении лазерным излучением в ультрафиолетовом и видимом диапазонах спектра и 2) избирательности накопления фотосенсибилизатора в ткани злокачественного новообразования и возможности его обнаружения по характерной флюоресценции из освещаемой лазерным излучением области.

Первое клиническое наблюдение аутофлюоресценции злокачественной опухоли человека в красной области спектра было сделано Policard в 1924 г. [45]. Однако только с середины 70-х гг., с началом клинических испытаний производных гематопорфирина для фотодинамической терапии рака (ФДТ), резко возросло количество публикаций в области ФД. В последующие десятилетия метод ФД активно развивался как в нашей стране, так и за рубежом благодаря внедрению в клиническую практику различных классов фотосенсибилизаторов, совершенствованию волоконной оптики и оптоэлектронной медицинской техники. Наиболее значительные успехи были достигнуты группами Profio et al. (США) [46,47,48] и Lam et al. (Канада) в области эндоскопической ФД предрака и раннего рака бронхов [31,32,33], Baumgartner et al. (Германия) в ФД поверхностного рака мочевого пузыря [28] и в онконейрохирургии (интраоперационная ФД опухолей головного мозга) [57]. В результате сотрудничества указанных научных групп с ведущими производителями эндоскопической техники, такими, как Karl Storz (Германия), Olympus (Япония), Pentax (Япония) и Wolf (Германия), было разработано несколько моделей флюоресцентных эндоскопов, клинические испытания которых начались с середины 90-х гг. в крупнейших медицинских центрах мира. Флюоресцентные эндоскопы позволяют получать панорамное изображение тканей в свете аутофлюоресценции или индуцированной флюоресценции эндогенного или экзогенного фотосенсибилизатора.

Большие перспективы в области ФД злокачественных опухолей связывают с 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛК). Избыточное введение в организм 5-АЛК, являющейся промежуточным продуктом синтеза гема, приводит (по принципу обратной связи) к индукции синтеза протопорфирина IX (ППИХ), эндогенного фотосенсибилизатора, интенсивно флюоресцирующего в красной области спектра. В результате его преимущественного накопления в опухолевых клетках возникает флюоресцентный контраст между опухолью и окружающей здоровой тканью. Этот феномен составляет основу 5-АЛК-индуцированной ФД, которая активно развивается с начала 90-х гг. Клинические испытания методик, основанных на регистрации флюо-

ресцентных эндоскопических изображений после приема 5-АЛК, показали высокую чувствительность (до 90%) в диагностике злокачественных опухолей ряда локализаций. Однако значительное количество ложно-положительной флюоресценции (при неонкологической патологии) снижает специфичность данного диагностического метода.

В Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А. Герцена клинические исследования в области ФД ранних и местнораспространенных форм рака совместно с Институтом Общей Физики РАН (отдел оптической спектроскопии) проводятся с 1992 г., с момента начала в России клинических испытаний метода ФДТ [6]. Накопленный к настоящему времени 11-летний клинический опыт флюоресцентного детектирования предраковой патологии, ранних и распространенных форм злокачественных опухолей кожи, слизистых оболочек органов дыхательных путей, пищеварительного тракта и мочеполовой системы включает более 1000 обследований с отечественными фотосенсибилизаторами Фотогем (ООО «Фотогем»), Фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»), Аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК») и Радахлорин (ООО «Радафарма»).

По мере накопления опыта в области ФД с введением опухолетропных экзогенных и эндогенных фотосенсибилизаторов был выявлен ряд ограничений в их использовании в скрининговых диагностических программах. Это обстоятельство стимулировало возобновление интереса к поиску и изучению различий в аутофлюоресценции (АФ) злокачественных опухолей и нормальных тканей в видимом диапазоне спектра.

Спектр аутофлюоресценции биологических тканей в видимом диапазоне спектра формируется такими эндогенными флюорохромами, как флавины, порфирины, НАДН и некоторые другие, флюоресценция которых в видимом диапазоне спектра эффективно возбуждается в УФ и синем диапазонах [1,54].

Аутофлюоресценция злокачественных опухолей в красной области спектра приписывается эндогенным порфиринам. Как показали современные исследования, накопление эндогенных прото-, уро- и копропорфиринов действительно может происходить в некоторых типах злокачественных опухолей на поздних стадиях их развития, особенно на стадиях распада и метастазирования [56]. На стадии предрака и раннего рака, как было показано Lam [22; 31-33;35], очаги патологии характеризуются резким падением интенсивности аутофлюоресценции в видимом диапазоне спектра относительно окружающих здоровых тканей.

Впервые феномен резкого падения интенсивности аутофлюоресценции опухолей в видимом диапазоне спектра мы наблюдали в рамках клинических испытаний первого отечественного фотосенсибилизатора Фотогем в 1992-1994 гг., при изучении избирательно-

ти его накопления в злокачественных новообразованиях [6]. В рамках этих клинических испытаний нами были проведены спектрально-флюоресцентные исследования более 200 пациентов с опухолями различных локализаций. У всех пациентов наблюдалось резкое падение интенсивности излучения аутофлюоресценции злокачественных опухолей в диапазоне 450-800 нм. Это позволило разработать методику эндоскопической флюоресцентной диагностики злокачественных опухолей внутренних полых органов [2-4].

С 1999г. в МНИОИ им. П.А. Герцена активно разрабатываются методики аутофлюоресцентной и 5-АЛК-индуцированной эндоскопической диагностики с использованием новых моделей флюоресцентных эндоскопов (бронхоскоп, цистоскоп, гистероскоп, лапароскоп) фирмы Karl Storz GmbH (Германия). Данная аппаратура была адаптирована нами для флюоресцентной дерматоскопии, торакокопии и кольпоскопии. Ряд авторов указывают на возможность существенно объективизировать данные флюоресцентного эндоскопического исследования за счет одновременного применения метода локальной спектрофотометрии [44; 60], однако работ, реализующих сочетанное применение обоих указанных диагностических подходов, в мировой литературе крайне мало [30; 49]. В наших исследованиях мы объединили регистрацию и анализ аутофлюоресцентного и индуцированного флюоресцентного изображений с прицельной локальной спектрофотометрией различных участков нормальной и патологической ткани [5].

В данной работе обсуждаются данные литературы и представлены результаты наших исследований в области АФ и 5-АЛК индуцированной ФД при обследовании кожи, дыхательных путей, мочевого пузыря, желудочно-кишечного тракта и гениталий. Также представлены первые результаты отдельных наблюдений по флюоресцентной торакокопии и лапароскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Препарат Аласенс

В настоящее время в России в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» синтезирована по оригинальной технологии стандартная субстанция 5-АЛК и на ее основе разработан лекарственный препарат Аласенс. За последние 4 года в МНИОИ им. П.А. Герцена, в рамках клинических испытаний изучена кинетика накопления ППХ при различных способах введения препарата Аласенс, апробировано несколько методик ФД опухолей самых различных локализаций, включая кожу, слизистые оболочки полых органов, плевральной и брюшной полости.

В зависимости от локализации опухоли для флюоресцентного исследования применялись следующие способы введения препарата Аласенс: 1) гортань и бронхи: ингаляция 10% раствора Аласенса с количестве 10 мл в течение 30 минут за 2 часа до эндоскопии; 2) верхние отделы желудочно-кишечного тракта: прием через рот раствора Аласенса в дозе 10 — 30 мг/кг веса тела за 2ч., 4 и 6 ч. до эзофагогастроскопии; 3) мочевого пузыря: инстилляция в мочевой пузырь 50 мл 3% раствора Аласенса за 2 ч. до цистоскопии; 4) эндометрий: инстилляция в полость матки 25 мл 3%-ного раствора Аласенса за 2 часа до гистерос-

копии; 5) вульва, влагалище и шейка матки: аппликация 20%-ной мази Аласенса за 2ч., 4 ч. до кольпоскопии; 6) плевра: внутривидеальное введение 100 мл 1,5% раствора Аласенса за 2 ч. до торакокопии; 7) брюшина: интраперитонеальное введение 100 мл 1,5% раствора Аласенса за 2 ч. до лапароскопии; 8) кожа: аппликация 20% мази Аласенса из расчета 0,1 гр./см² за 4-6 ч. до дерматоскопии.

Аппаратура для получения флюоресцентных изображений

В данной работе для регистрации флюоресцентных изображений в реальном времени в процессе дерматоскопии, ларинго-, бронхо-, цисто-, кольпо-, гистеро-, торако-, лапаро- и ректоскопии нами использовались различные модели ригидной и гибкой флюоресцентной эндоскопической аппаратуры D-Light/AF System (Karl Storz GmbH, Германия), которая позволяет проводить эндоскопическое исследование в белом свете, в свете собственной (ауто) флюоресценции тканей и в свете 5-АЛК индуцированной флюоресценции ППХ при возбуждении в синем диапазоне спектра (380-460 нм). В качестве источника возбуждения в этой системе используется ксеноновая лампа с набором фильтров.

Аппаратура для получения спектров флюоресценции

Для проведения локальной спектрофотометрии кожи и слизистых оболочек полых органов и полостей организма использовали разработанную по результатам совместных исследований флюоресцентную диагностическую установку «Спектр-«Кластер»» (ООО «Кластер», ИОФ РАН, Москва). Данная установка включает в себя: волоконно-оптическое устройство доставки лазерного излучения и сбора флюоресцентного излучения, спектрограф; многоканальный линейный фотоприемник, IBM PC AT, а также ряд лазерных источников для возбуждения флюоресценции с длинами волн генерации в диапазоне от 442нм до 633нм [63; 7]. Возможность выбора лазерного источника позволяет оптимизировать процесс диагностики в соответствии с целью диагностического исследования и/или используемым фотосенсибилизатором. Для аутофлюоресцентного исследования и для диагностики с препаратами Аласенс было использовано излучение с длиной волны 442 нм, 510 нм и 532 нм.

Для ФД злокачественных опухолей мы разработали и применяем рассчитываемый по специальному алгоритму спектрально-флюоресцентный диагностический параметр D_r , который отображается на экране компьютера и позволяет проводить количественную оценку и верификацию флюоресцентных изображений в реальном времени [5]. Данный параметр отражает соотношение регистрируемых интенсивностей флюоресценции в красном и зеленом спектральных диапазонах.

Методика проведения спектрофотометрических флюоресцентных исследований кожи и слизистых оболочек полых органов описана ранее [4]. При идентификации выявленных при флюоресцентной дерматоскопии подозрительных участков при сканировании пятна возбуждающего лазерного излучения вдоль поверхности подозрительного участка, его границ и неизмененных тканей в реальном времени про-

водится отображение на экране компьютера регистрируемых спектров и мониторинг величины диагностического параметра D_f . При каждом обследовании в среднем записывается около 30 спектров флюоресценции и протоколируется величина D_f для всех исследуемых участков ткани. Очаги флюоресценции с отклонениями от «нормальных» средних значений величины D_f подвергаются биопсии или скарификации и морфологическому исследованию [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Опухоли гортани и бронхов

Как показывает анализ мировой литературы, в настоящее время наибольший клинический материал по ФД рака легкого накоплен при аутофлюоресцентном режиме исследования [21; 33; 35]. Предраковая патология и ранние формы рака бронхов, как правило, имеют незначительные размеры: 1-10 мм по поверхности и 200-300 мкм по толщине. Поэтому возможность их обнаружения при обычной бронхоскопии в белом свете составляет около 36%, т.е. 64% очагов облигатного предрака и раннего рака остаются незамеченными. В 1992 г. группа ученых из Канады показала [22; 31], что локальные измерения спектров аутофлюоресценции слизистой оболочки бронхов при возбуждении излучением с длиной волны 442 нм повышают частоту обнаружения при бронхоскопии раннего центрального рака легкого до 86%. С целью совершенствования данного диагностического метода фирмой Xillix Technologies Corp. (Канада) совместно с фирмой Olympus (Япония) был разработан флюоресцентный бронхоскоп LIFE System (Lung Imaging Fluorescence Endoscopy System.), позволяющий регистрировать флюоресцентное изображение внутренней поверхности (слизистой оболочки) гортани, трахеи и бронхов при возбуждении флюоресценции излучением с длиной волны 442 нм и регистрацией аутофлюоресцентного изображения в диапазоне 480-800 нм. Позднее в 7 медицинских центрах США и Канады были проведены широкие клинические испытания аутофлюоресцентной бронхоскопии в диагностике раннего рака легкого с использованием указанной аппаратуры [33]. Результаты испытаний (более 1000 клинических наблюдений) показали, что, если при бронхоскопии в белом свете детектируется около 40% раннего рака бронхов, то аутофлюоресцентная бронхоскопия повышает чувствительность метода до 80% [25; 29; 33].

LIFE System была также применена в аутофлюоресцентной диагностике рака гортани [17]. Полученные результаты показали крайне высокую чувствительность аутофлюоресцентной ларингоскопии — более, чем 90%. Однако было отмечено большое количество ложно-положительной аутофлюоресценции, обусловленной развитием рака на фоне хронического ларингита.

В МНИОИ им. П.А.Герцена флюоресцентное исследование гортани и бронхов проведено 72 пациентам с предварительным диагнозом: хронический ларингит (13), ангиофиброма (4); гемангиоэндотелиома гортани (1); папиллома гортани (17), ранний рак гортани (5); остаточный рак гортани после ЛТ (4); центральный рентгенопозитивный рак легкого (6); ранний центральный рентгенонегативный рак легкого (первичная диагностика и динамический контроль после лечения)

(8); остаточная опухоль или рецидив рака трахеи или бронха после операции (3); состояние после радикальной хирургической операции по поводу рака легкого (3), распространенный центральный рак легкого (8).

29 больным выполнено аутофлюоресцентное исследование, 43 — сочетанное исследование с оценкой ауто- и Аласенс-индуцированной флюоресценции гортани и бронхов (эндоскопия+спектрофотометрия).

При панорамном аутофлюоресцентном исследовании малигнизированные участки слизистых оболочек гортани и бронхов всегда визуализируются как затемненные участки на фоне яркой зеленой флюоресценции нормальной слизистой оболочки бронха. Так, на рис. 1 представлен характерный пример аутофлюоресцентной ларингоскопии пациента, имеющего хронический ларингит. При ларингоскопии в белом свете обе голосовые складки кажутся равномерно утолщенными, в то время как при обследовании в свете аутофлюоресценции на одной голосовой складке на фоне гомогенного зеленого свечения было обнаружено темное пятно, обусловленное резким падением интенсивности аутофлюоресценции. Биопсия и последующий морфологический анализ показали наличие интраэпителиального рака в этой зоне.

Крайне низкий уровень интенсивности аутофлюоресценции злокачественных поражений позволил обнаружить у ряда больных рентгенонегативный ранний центральный рак легкого, не видимый при осмотре в белом свете. Визуально опухоль проявлялась в свете аутофлюоресценции темным пятном, при локальной спектрофотометрии различия в максимальной интенсивности спектров аутофлюоресценции в максимуме излучения на 520 нм составляли от 5 до 20.

Причины столь резкого падения интенсивности аутофлюоресценции в зоне малигнизации слизистой оболочки до конца не изучены, однако высказываются следующие предположения: уменьшение количества флюорохромов и (или) изменение их функционального состояния в опухолевой ткани за счет особенностей окислительно-восстановительных процессов; изменение оптических свойств опухолевой ткани за счет повышения концентрации молекул, имеющих сильное поглощение в видимой части спектра (Hung, 1991, MacAulay, 1995). Известно, что глубина проникновения в ткани возбуждающего излучения в ультрафиолетовой области спектра составляет порядка 1 — 10 мкм, при возбуждения в зеленой области — не более 1 мм. Изучение флюоресценции замороженных срезов тканей бронхов показало [32; 12; 64], что: эпителиальный слой слизистой оболочки бронха (как в норме, так и при различной патологии) флюоресцирует крайне слабо; подслизистый слой флюоресцирует ярко, при этом интенсивность свечения его поверхностного слоя существенно выше, чем нижележащего.

Считаем, что основным фактором, определяющим падение интенсивности аутофлюоресценции раннего рака слизистой оболочки гортани и бронхов, является утолщение эпителия в очагах облигатного предрака и раннего рака. Теоретические расчеты интенсивности флюоресценции слизистой оболочки бронхов [32], показали, что при утолщении респиаторного эпителия от 50 мкм до 200 мкм может происходить падение интенсивности флюоресценции до 2,5 раз. Реально при ранней ста-

дии рака происходит утолщение бронхиального эпителия более чем на 200 мкм, что фактически «тушит» интенсивную флюоресценцию подслизистого слоя, т.е. в зоне злокачественного перерождения слизистая оболочка теряет свою прозрачность, что и реализуется в виде затемнения в аутофлюоресцентном изображении.

В то же время при аутофлюоресцентных исследованиях имеют место ложноположительные результаты. Резкое падение интенсивности аутофлюоресценции регистрируется на месте недавно выполненной щипцовой или петлевой биопсии и в рубце на месте удаленной злокачественной опухоли (ФДТ, лазерная и криохирургия, лучевая терапии и др.). Можно предположить, что ложноположительные результаты обусловлены уменьшением толщины эпителиального покрова и резким изменением оптических свойств ткани после травмирующего воздействия.

Суммируя полученные результаты, необходимо отметить, что АФ — исследование показано в группе пациентов с хроническим ларингитом, при первичном бронхоскопическом исследовании лиц из группы риска по раку легкого или с подозрением на наличие рака легкого для верификации диагноза, для уточнения границ опухолевого поражения и для выявления скрытых синхронных первично множественных очагов рака слизистой оболочки дыхательных путей. Что же касается тех пациентов, которым контрольное диагностическое обследование проводится после предшествующего лечения, включая взятие биопсий слизистой, то для ФД в данной группе более перспективным пред-

ставляется сочетание аутофлюоресцентной и 5-АЛК индуцированной флюоресценции.

После ингаляции Аласенса в плоскоклеточном раке голосовой складки наблюдается яркая красная флюоресценция индуцированного ППХ, в то время как флюоресценция нормальной голосовой складки остается «зеленой» (аутофлюоресценция). Спектральные исследования показали, что величина диагностического параметра D_f в здоровой голосовой складке составляет 0,3–0,5, в опухоли возрастает до 15,5.

При хронических воспалительных заболеваниях гортани часто регистрируется гомогенная красная флюоресценция индуцированного ППХ умеренной интенсивности во всех отделах органа. При сканировании пятна возбуждающего лазерного излучения и мониторинге величины диагностического параметра вдоль поверхности воспаленной слизистой оболочки в зоне красного свечения величина D_f в среднем невелика и составляет 2,5 — 3 относительно 0,3 — 0,5 в неизменной слизистой. У одного пациента с хроническим ларингитом на фоне умеренных значений диагностического параметра были обнаружены отдельные участки, где величина D_f была существенно выше и достигала 9–15. Морфологическое исследование материала биопсии показало в этих участках ранний рак гортани.

На рис. 2 представлены результаты флюоресцентной бронхоскопии и локальной спектрофотометрии пациента с ранним рентгеногегативным раком легкого (SCC RB2). Во флюоресцентном изображении видна зеленая аутофлюоресценция непораженной слизистой

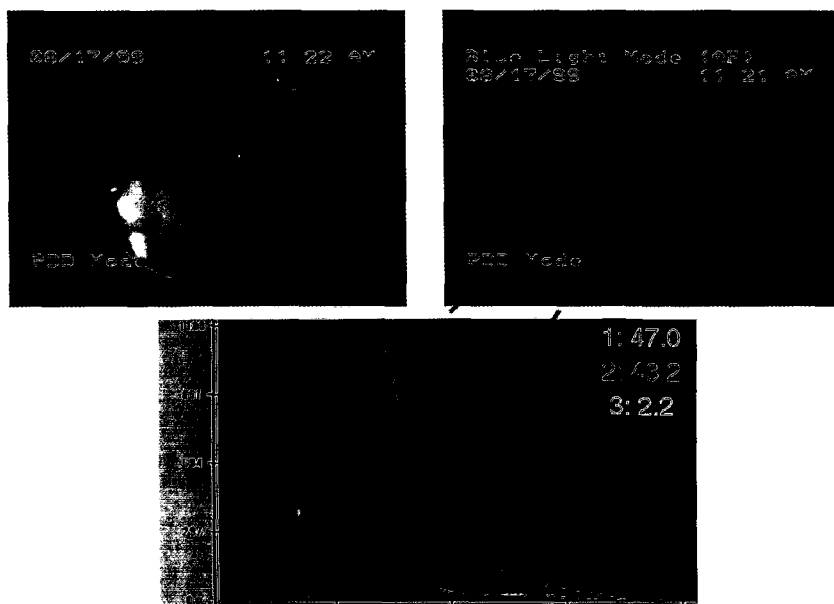


Рис.1. Аутофлуоресцентная ларингоскопия пациента с CIS правой голосовой складки на фоне хронического гиперпластического ларингита.

Слева представлено изображение голосовых складок в белом свете, справа представлено изображение голосовых складок в свете аутофлюоресценции при возбуждении в синей области спектра от лампового источника возбуждения (Karl Storz GmbH, Germany). В аутофлюоресцентном изображении левая непораженная голосовая складка характеризуется зеленым свечением с максимумом на 520 нм. Злокачественное поражение (CIS) правой голосовой складки проявляется в аутофлюоресцентном изображении затемненным участком. Как видно из данных локальной спектрофотометрии (внизу), максимальная интенсивность аутофлюоресценции в зоне поражения в 20 раз ниже, чем в непораженной складке. Спектры измерены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 442 нм.

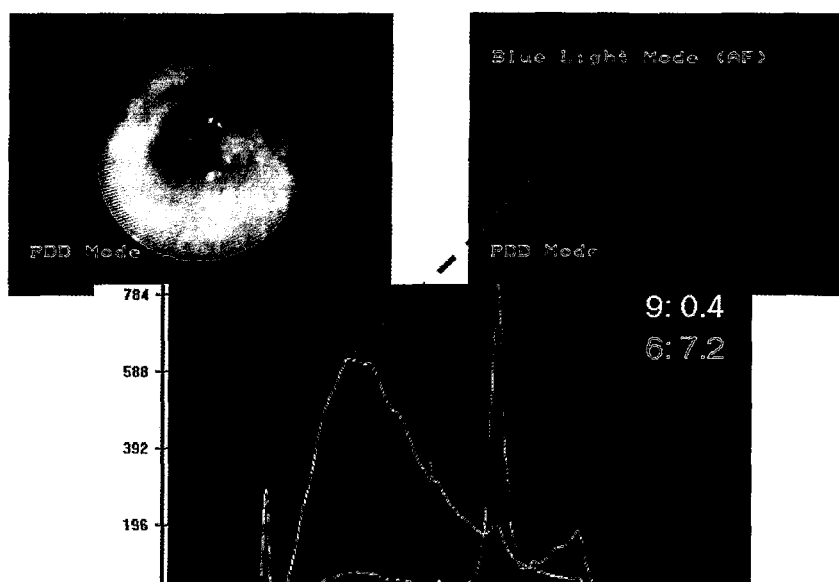


Рис. 2. Флюоресцентная бронхоскопия пациента с ранним рентгеногегативным раком легкого (SCC RB2), проведенная через 2 ч. после ингаляции с препаратом Аласенс.

Слева представлено изображение бронха в белом свете, справа представлено флюоресцентное изображение, наблюдаемое при возбуждении в синей области спектра от лампового источника (Karl Storz GmbH, Germany). В флюоресцентном изображении видна зеленая аутофлюоресценция неповрежденной слизистой оболочки бронха, опухоль проявляется по красной флюоресценции индуцированного в опухолевых клетках эндогенного ППХ. Внизу представлены данные локальной спектрофотометрии. Спектры флюоресценции здоровой слизистой оболочки бронха характеризуются высоким уровнем интенсивности аутофлюоресценции с максимумом на 520 нм, величина диагностического параметра $D_f = 0,4$ (спектр N9). Спектры флюоресценции злокачественного поражения характеризуются крайне низким уровнем аутофлюоресценции в видимой области спектра и высокой интенсивностью флюоресценции индуцированного ППХ с максимумами на 635 нм и 700 нм. Величина диагностического параметра D_f в опухоли составляет 7,2 (спектр N6). Спектры измерены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 442 нм.

оболочки бронха, опухоль проявляется по красной флюоресценции индуцированного в опухолевых клетках эндогенного ППХ.

Особый интерес в наших исследованиях представляло изучение возможностей флюоресцентного детектирования предраковых очаговых изменений слизистой оболочки бронхов (дисплазия II-III ст.), не выявляемых при эндоскопическом обследовании в белом свете. Во флюоресцентном изображении очаги предраковой патологии, развивающиеся на фоне хронических воспалительных процессов, детектируются по красной флюоресценции индуцированного ППХ, интенсивность которой колеблется от слабой до умеренной. Однако величина диагностического параметра D_f в этих участках, как правило, не достигает значений, характерных для раннего рака бронха.

У трех пациентов проведение флюоресцентной бронхоскопии позволило выявить ранний рентгеногегативный рак легкого, не детектируемый при бронхоскопии в белом свете и другими методами диагностики. При проведении флюоресцентной бронхоскопии у них были выявлены зоны очагового или мозаичного неяркого красного свечения. Однако при измерении спектров из различных мест внутри флюоресцирующих зон и мониторинге величины D_f были обнаружены участки, где регистрировались высокие значения параметра D_f (до 7), которые были существенно выше средних значений, зарегистрированных в этой зоне (1,5 - 2,5). Биопсия слизистой оболочки в местах с высоким зна-

чением диагностического параметра и последующее морфологическое исследование подтвердило наличие рака. У одного пациентов был обнаружен CIS в зоне линии резекции бронха после лобэктомии по поводу рака легкого, у двух — множественные очаги (от средней дисплазии до микроинвазивного рака).

В ходе исследований были выявлены и ложноположительные результаты. Флюоресценция ППХ регистрировалась по линии резекции бронха через 3-4 месяца после оперативного вмешательства, что было связано с воспалением и репаративным процессом (подтверждено гистологическим исследованием биоптата). При ложноположительных сигналах флюоресценции величина диагностического параметра D_f , как правило, была ниже значений, характерных для опухолевого процесса.

Таким образом, в случаях ложноположительной флюоресценции, полученной во время эндоскопии, разработанная методика локальной спектрофотометрии позволяла в ряде случаев уточнить диагноз или заподозрить неонкологическую патологию, что и было подтверждено результатами морфологического исследования биоптатов.

Папилломатоз гортани

ФД была проведена больным с хроническим рецидивирующим папилломатозом гортани. В аутофлюоресцентном изображении папилломы гортани проявляются в виде затемненного участка на фоне интенсивной зеленой флюоресценции нормальной слизистой оболочки. Интенсивность аутофлюоресценции папиллом в диапа-

зоне 460-800 нм существенно ниже интенсивности аутофлюоресценции неповрежденной слизистой. По данным локальной спектрофотометрии, эти различия составляют от 5 до 10. Однако для контрольных обследований пациентов с хроническим папилломатозом гортани наиболее перспективным является флюоресцентное исследование после ингаляции с препаратом Аласенс. Через 2 ч после ингаляции при флюоресцентной ларингоскопии у всех пациентов в очагах папилломы наблюдалась яркая характерная флюоресценция индуцированного ППХ. По данным локальной спектрофотометрии величина диагностического параметра D_p , регистрируемая в спектрах флюоресценции папиллом, намного превосходит значения, характерные для злокачественных поражений, и в отдельных случаях D_p достигает 20-50. Активная индукция ППХ позволяет выявлять скрытые очаги и микропапилломы, не видимые при эндоскопическом исследовании в белом свете.

Опухоли желудочно-кишечного тракта

В области аутофлюоресцентной диагностики злокачественных поражений ЖКТ наибольшее количество публикаций посвящено изучению возможности дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей толстой кишки. До создания флюоресцентной эндоскопической аппаратуры, флюоресцентные исследования проводились или *in vivo* в ходе рутинного эндоскопического исследования методом локальной спектрофотометрии, либо *ex vivo* на резецированных образцах кишки с измерением спектров аутофлюоресценции и цифрового анализа видеозображений.

В работе Kapatida [24] на 35 резецированных полипах толстой кишки была подтверждена гипотеза о возможности детектирования аденоматозной трансформации нормальной слизистой оболочки кишки по спектрам аутофлюоресценции в диапазоне 350-600 нм [51]. В ходе эндоскопических исследований *in vivo* изучались различия в спектрах аутофлюоресценции нормальной слизистой (86), гиперпластических (35) и аденоматозных полипов (49) кишки при возбуждении в УФ диапазоне. Результаты спектральных исследований сопоставляли с данными морфологического анализа. Было показано, что различия в форме спектров аутофлюоресценции позволяют дифференцировать гиперпластические и аденоматозные полипы, при этом чувствительность и специфичность разработанной методики при идентификации аденоматозных полипов составляла 86% и 80% соответственно. Высокая специфичность (92%) и чувствительность (90%) аутофлюоресцентного детектирования (400-700 нм) дисплазии слизистой оболочки толстой кишки также была показана [61]. Специфичность и чувствительность метода локальной спектрофотометрии при возбуждении в УФ диапазоне для аденомы кишки *in vivo* составили 100% и 96% соответственно [19]. Диагностически значимые различия в интенсивности и форме спектров аутофлюоресценции здоровой слизистой оболочки, аденомы и аденокарциномы толстой кишки были показаны многими авторами как *in vivo*, так и *ex vivo* [37, 14]. Показано [37], что чувствительность и специфичность методики аутофлюоресцентной спектроскопии в дифференциальной диагностике: аденокарцинома или норма; адено-

ма или норма составляют 80,6%, 88,2 и 90,5% и 95,2% соответственно. Специфичность и чувствительность аутофлюоресцентной эндоскопии в диагностике дисплазии слизистой оболочки прямой и ободочной кишки *in vivo* (прототип LIFE System) составляет 90% и 91% соответственно [11].

В то же время необходимо подчеркнуть, что оптические свойства тканей *post mortem* значительно меняются, поэтому режим *ex vivo* нельзя считать адекватным целям диагностического исследования.

Были исследованы причины, вызывающие различия в аутофлюоресценции нормальной слизистой, аденокарциномы, тубулярной и ворсинчатой аденомы толстой кишки [23]. Известно, что наиболее часто различия приписывают таким эндогенным флюорохромам, как флавины, НАДН и коллаген. Работа проводилась на резецированных образцах тканей толстой кишки. Содержание флавинов определяли методом ЖКВД. При возбуждении в синем диапазоне спектра (400-440 нм) исследовалась флюоресценция замороженных срезов нормальной, аденоматозной и малигнизированной ткани. Полученные результаты позволили сделать два принципиальных вывода: флавины и НАДН не влияют на регистрируемую флюоресценцию тканей, а главным источником флюоресценции является коллаген подслизистого слоя. Таким образом, главной причиной уменьшения интенсивности аутофлюоресценции аденом и аденокарциномы толстой кишки является снижение интенсивности флюоресценции коллагена подслизистого слоя за счет экранирующего эффекта утолщенного слоя аденоматозной ткани или замещения слизистого слоя раковыми клетками.

Метод локальной спектрофотометрии при возбуждении в синей области спектра эффективно применялся и для изучения аутофлюоресценции нормальной слизистой оболочки, плоскоклеточного рака и аденокарциномы пищевода [59; 15]. Высокая чувствительность (97%) и специфичность (95%) этого метода в диагностике рака пищевода была также показана [38].

Группа авторов [16] провела исследования аутофлюоресцентных изображений резецированных образцов желудка при возбуждении в УФ. Анализ 26 образцов позволил выявить диагностически значимые спектральные параметры и составить алгоритм их расчета. Чувствительность разработанной методики в диагностике рака желудка оказалось равной 96%, прогностическая величина — 42%.

В 2000 г. в Японии были проведены клинические испытания модернизированного для гастроскопического исследования флюоресцентного эндоскопа LIFE-GP System [8]. Сравнительное изучение аутофлюоресцентного изображения желудка, данных гистологического анализа, глубины опухолевой инвазии и толщины слизистой оболочки, в которой обнаруживались опухолевые клетки, показали, что при инвазии опухоли в пределах слизистого слоя аутофлюоресцентная гастроскопия позволяет детектировать аденокарциному желудка в 57,5%, при инвазии в подслизистый слой — в 74,3%, а при инвазии опухоли в мышечный слой стенки желудка — в 88,1%. При этом выявляется 82% высоко- и малодифференцируемых форм и только 61% недифференцируемых форм рака.

Таким образом, для аутофлюоресцентной диагностической гастроскопии принципиальное значение имеет утолщение слизистой оболочки в зоне формирования опухолевого очага. Поэтому данный метод аутофлюоресцентной диагностики оказался малоинформативным для диагностики недифференцированных, инфильтративных и скirroзных форм рака с преимущественным поражением подслизистого слоя стенки желудка.

Применение 5-АЛК индуцированной флюоресценции в диагностике патологий ЖКТ в течение ряда лет сдерживалось отсутствием соответствующей аппаратуры. Разработка новых моделей флюоресцентной эндоскопической техники [55] стимулировала изучение возможностей 5-АЛК индуцированной эндоскопической флюоресценции в детектировании опухолевой и неопухолевой патологии ЖКТ.

Показана возможность флюоресцентной визуализации предраковых (дисплазия I-III ст.) изменений слизистой оболочки ЖКТ в ходе флюоресцентного эндоскопического исследования после орального или местного приема 5-АЛК при следующей исходной патологии [39; 40]: пищевод Барретта, тубулярная или ворсинчатая аденома толстой кишки, язвенный колит, гиперпластические и железистые полипы желудка, подозрение на ранний рак желудка или на рецидив рака желудка после лучевой и химиотерапии. Было показано, что данная методика может применяться для мониторинга состояния пациентов, входящих в группу риска развития злокачественного процесса ЖКТ. Встречающаяся ложноположительная флюоресценция, по мнению авторов, обусловлена наличием микроскопических очагов воспаления слизистой оболочки или наличием фекальных загрязнений кишечника. Эти же авторы изучили специфичность и чувствительность 5-АЛК индуцированной флюоресценции ПППХ при дисплазии различной степени тяжести на фоне экспериментальной модели колита кишечника [41]. Было показано, что при приеме 5-АЛК в дозе 100 мг/кг в.т. чувствительность данной методики достигает 100%, однако регистрируется большое количество ложноположительной флюоресценции в очагах воспалительной инфильтрации слизистой оболочки толстой кишки, что снижает специфичность до 22%. При снижении дозы вводимой 5-АЛК до 75 и 50 мг/кг в.т. чувствительность снижалась до 92% и 42%, а специфичность возрастала до 35% и 62% соответственно.

Таким образом, по данным ряда зарубежных работ и наших исследований, специфичность флюоресцентной диагностики существенно зависит от дозы вводимой 5-АЛК. Методом флюоресцентной микроскопии показано, что через 4-6 ч после орального приема 5-АЛК в дозах 60 и 75 мг/кг в.т. ПППХ предпочтительно накапливается в поверхностном эпителиальном слое слизистой оболочки пищевода и пищевода Барретта, по сравнению с подлежащей стромой и подслизистым слоем [58]. Флюоресцентный контраст между карциномой и нормальной слизистой оболочкой пищевода при указанных дозах составляет только 1,4. Более интенсивная индукция ПППХ всегда происходит в поверхностных слоях стенки полого органа (в частности, пищевода), демонстрируя яркую флюоресценцию ПППХ в слизистой оболочке или ее малигни-

зированных участках при отсутствии флюоресценции в мышечном слое. Более сложным является выявление и оценка флюоресцентной контрастности между плоским эпителием и очагами кишечной или желудочной метаплазии при пищеводе Барретта.

По мнению большинства исследователей, повышенные дозы вводимой 5-АЛК приводит к увеличению накопления ПППХ во всех тканях без увеличения флюоресцентного контраста между опухолью и нормальной тканью. Диагностически эффективными, по мнению Magson [36], являются дозы 5-АЛК для приема *per os* в диапазоне от 2 до 10 мг/кг в.т. При терапевтических дозах 5-АЛК (30-60 мг/ в.т.) показано отсутствие селективности накопления ПППХ.

Данное наблюдение полностью согласуется с результатами наших исследований. Методом локальной спектрофотометрии нами было обследовано 24 пациента (33 обследования) с опухолями ЖКТ после орального приема Аласенса в дозах 10; 20 и 30 мг/кг в.т. В исследуемую группу вошли больные раком пищевода (5) и желудка (19). Ввиду отсутствия флюоресцентного гибкого гастроскопа флюоресцентное диагностическое исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта проведено методом локальной спектрофотометрии с использованием флюоресцентно-спектроскопической установки «Спектр-Кластер» без регистрации двумерного флюоресцентного изображения.

Прежде всего, необходимо отметить, что у всех пациентов при возбуждении в синей (442 нм) и зеленой (510 нм и 532 нм) областях спектра в зоне злокачественного поражения регистрировался низкий уровень интенсивности аутофлюоресценции в диапазоне 450-800 нм, что полностью согласуется с данными мировой литературы.

Через 6-7 ч после орального приема Аласенса в нормальных и патологических тканях пищевода и желудка происходит активная индукция эндогенного ПППХ, о чем свидетельствует появление в регистрируемых спектрах, измеренных с поверхности слизистых оболочек, характерных полос излучения флюоресценции ПППХ с максимумами на 635 нм и 700 нм. Наибольшая селективность индукции ПППХ наблюдалась при дозе 10 мг/кг (рис. 3), при которой оптическая контрастность опухолей пищевода и желудка, оцениваемая по соотношению диагностических параметров, достигала 4-9 относительно окружающих тканей. При дозах 20-30 мг/кг в.т. флюоресцентная контрастность снижалась и у некоторых пациентов практически отсутствовала, за счет интенсивной флюоресценции индуцированного ПППХ в здоровых участках слизистой оболочки пищевода и желудка. Ложноположительная флюоресценция ПППХ регистрировалась при хроническом воспалительном процессе, эрозийных и язвенных поражениях пищевода и желудка. В 74% наблюдений имела место ложноположительная флюоресценция ПППХ в антральном отделе желудка, где величины диагностического параметра D_r достигали крайне высоких значений (до 13). Возможно, это связано с воспалительными изменениями и *Helicobacter Pylori* инфекцией. В настоящее время причины этого явления изучаются.

Таким образом, наши результаты подтверждают данные зарубежных авторов [36] о том, что при оральном приеме диагностическая доза 5-АЛК для опухо-

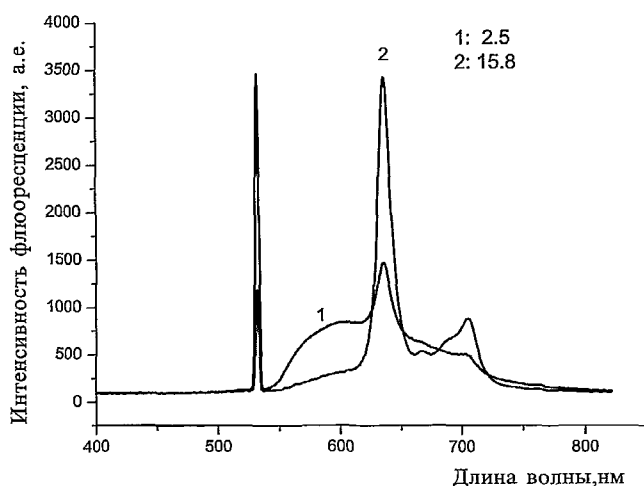


Рис. 3. Локальная спектрофотометрия пациента со злокачественным поражением желудка.

Спектры флуоресценции здоровой слизистой желудка (1) и аденокарциномы желудка (2) измерены в процессе эндоскопического обследования через 6 ч после приема Аласенса в дозе 10 мг/кг в.т. Диагностический параметра D_f в опухоли составляет 15,8 (спектр 2), в здоровой слизистой оболочке желудка D_f составляет 2,5 (спектр 1). Спектры измерены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм.

лей верхних отделов желудочно-кишечного тракта не должна превышать 10 мг/кг в.т.

Рак мочевого пузыря

Основная проблема в диагностике и лечении рака мочевого пузыря — мультицентричный первично множественный характер роста переходноклеточного рака. Современные методы диагностики (обычная цистоскопия в белом свете, слепые биопсии, цитология мочи) не позволяют выявлять все микроочаги рака, не видимые даже при использовании современных эндоскопических телескопов.

Наиболее плодотворные перспективы флуоресцентной диагностики злокачественных опухолей мочевого пузыря связаны с аутофлуоресценцией опухолей [9; 26] и флуоресценцией 5-АЛК индуцированного ППХ [27; 28]. Последняя методика нашла очень широкое применение в клинической практике и по количеству публикаций, несомненно, доминирует в мировой литературе.

Флуоресцентная цистоскопия с локальной спектрофотометрией выполнена 80 больным раком мочевого пузыря, средний возраст 56 лет. Через 2 ч после внутривезикального введения Аласенса, всех обследованных больных в опухолевых поражениях обнаруживалась характерная флуоресценция ППХ с максимумами на 635 и 700 нм. Независимо от способа введения (интравезикально или системно), 5-АЛК индукция ППХ характеризуется высокой тропностью к эпителиальным структурам [28; 53]. Это означает, что характерная флуоресценция ППХ не индуцируется в сосудистом эндотелии, соединительной ткани и мышечном слое мочевого пузыря. Однако интенсивность флуоресценции ППХ в очагах переходноклеточного рака, как с плоской, так и с папиллярной формой роста в 5 и более раз

превышала флуоресценцию окружающей слизистой оболочки мочевого пузыря.

У 75 пациентов количество опухолевых очагов и их размеры одинаково визуализировались как в белом, так и в свете флуоресценции. У 5 больных при флуоресцентной цистоскопии выявлено 8 дополнительных очагов флуоресценции размерами от 3 до 10 мм.

В то же время, как показали данные локальной спектрофотометрии, в диапазоне 450–800 нм имеет место резкое (в 5 и более раз) падение интенсивности аутофлуоресценции опухолевых очагов по сравнению с окружающей нормальной слизистой оболочкой.

Ложноположительная красная флуоресценция ППХ регистрировалась в воспалительных участках, в участках гиперплазии и плоскоклеточной метаплазии слизистой оболочки мочевого пузыря. Необходимо отметить, что согласно последним обобщенным результатам клинических испытаний количество ложноположительных результатов при флуоресцентной цистоскопии (без локальной спектрофотометрии) мочевого пузыря с 5-АЛК достигает 45 % [53].

Для верификации патологических изменений в пределах зон неоднородной панорамной флуоресценции в наших исследованиях параллельно регистрировались спектры флуоресценции в диапазоне 460 — 800 нм и проводился мониторинг диагностического параметра D_f . Те участки слизистой оболочки, в которых величина D_f превышала 4, подвергались биопсии и морфологическому исследованию. По данным гистологического исследования биоптатов, взятых из 8 очагов флуоресценции, в 3 установлено очаговое воспаление, в 3 — дисплазия I–III степени и в 2 — переходноклеточный рак.

Полученные нами результаты позволяют сделать вывод, что сочетанное применение методов панорамной флуоресценции и локальной спектрофотометрии в зонах неоднородной индуцированной флуоресценции ППХ позволяет повысить специфичность флуоресцентной цистоскопии с препаратом Аласенс в диагностике злокачественных новообразований мочевого пузыря.

Дисплазия и рак шейки матки

Метод флуоресцентной спектроскопии был успешно применен для детектирования дисплазии шейки матки рядом авторов [34; 50]. Показано, что наиболее информативными являются три линии возбуждения аутофлуоресценции (337; 380; 460 нм). Изучение аутофлуоресценции замороженных срезов нормальной слизистой и участков с дисплазией шейки матки методом микроспектрофлуориметрии показало статистически достоверное увеличение интенсивности аутофлуоресценции в участках дисплазии относительно нормальной слизистой в максимуме флуоресценции эндогенного флуорохрома НАДН при возбуждении 380 нм [18].

ФД на основе 5-АЛК-индуцированной флуоресценции ППХ требует, прежде всего, изучения фармакокинетики синтеза ППХ у пациенток с патологией шейки матки [42]. С этой целью нами проводились спектрально-флуоресцентные исследования 36 больных с цитологическими и кольпоскопическими признаками тяжелой дисплазии и начальных форм рака шейки матки при двух режимах экспозиции. При 2-часовой экспозиции в зоне наложения мази регистрируется слабая интенсив-

ность флюоресценция индуцированного ППХ с характерными пиками на 635 и 700 нм, однако через 4 ч в нормальных и патологических тканях начинается интенсивная индукция ППХ, распределение которой в данные сроки очень неоднородно.

При панорамной флюоресцентной кольпоскопии у 11 из 36 обследованных пациенток были выявлены дополнительные очаги флюоресценции (от 2 до 6 мм). По данным морфологического анализа в этих очагах была диагностирована дисплазия II-III степени, *carcinoma in situ*, плоскоклеточный рак. Таким образом, флюоресцентное исследование позволило у 11 из 36 больных установить мультицентричный характер опухолевого поражения слизистой оболочки шейки матки.

Полученные результаты показали, что разработанная методика, несомненно, обладает высокой чувствительностью, которая может достигать 90% и более. Однако для повышения специфичности необходимо более детальное изучение кинетики накопления и выведения ППХ в здоровой слизистой и участках патологии шейки матки.

Рак эндометрия

В отделении онкогинекологии МНИОИ накоплен 2-летний опыт разработки и апробации методики флюоресцентной гистероскопии у больных с атипичской гиперплазией (10 пациенток) и раком эндометрия (36 пациенток). Флюоресцентная гистероскопия позволила выявить у 5 больных атипичской гиперплазией эндометрия дополнительные очаги флюоресценции. В 3 случаях в очаге флюоресценции, по данным гистоло-

гического исследования, установлена железистая гиперплазия, в 2 — атипичская гиперплазия и в одном наблюдении — рак эндометрия. Из 36 больных раком эндометрия дополнительные очаги флюоресценции обнаружены у 26: в 2 случаях установлена гиперплазия эндометрия, а в остальных 24 — рак эндометрия.

Опухоли кожи

Изучению аутофлюоресценции кожи с целью дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных поражений посвящено очень мало публикаций. Достоверных различий в спектрах аутофлюоресценции злокачественной опухоли (включая меланому) и нормальной кожи в видимом диапазоне спектра не обнаружено [52]. В то же время, по мнению одного из авторов [62], большим потенциалом обладает флюоресцентная спектроскопия *in vivo* в сочетании с микроспектрофлюориметрическими исследованиями тканевых срезов.

5-АЛК и ее эфиры находят широкое применение в дерматологии и в онкодерматологии, в частности. Местное нанесение 5-АЛК на кожу индуцирует преимущественное образование ППХ в опухолевых поражениях, что создает диагностически значимый флюоресцентный контраст опухоль-норма, который можно наблюдать визуально через специальные очки. Наиболее широко изучены возможности 5-АЛК индуцированной ФД в диагностике базальноклеточного и плоскоклеточного рака кожи [43,52].

В МНИОИ им. П.А. Герцена МЗ РФ ФД рака кожи после местного нанесения 5-АЛК была проведена 47

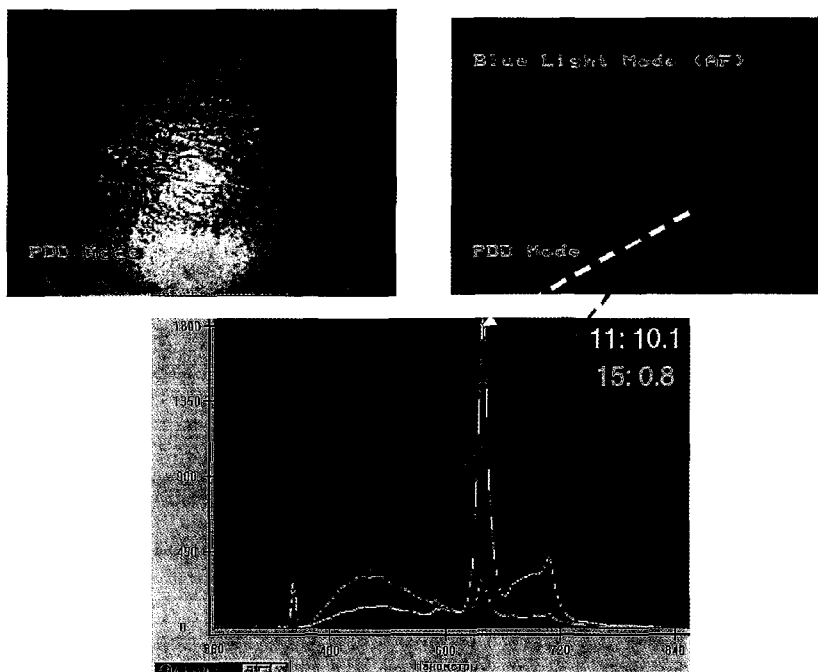


Рис. 4. Флюоресцентная дермаскопия пациента с базальноклеточным раком кожи после местного нанесения Аласенса (6 ч экспозиции и 6 ч после удаления мази)

Сверху представлено изображение кожи в белом свете (слева) и в свете флюоресценции (справа) при возбуждении в синей области спектра от лампового источника (Karl Storz GmbH, Germany). Внизу представлены результаты локальной спектрофотометрии. В зоне нанесения мази величина диагностического параметра в нормальной коже составляет $D_f = 0,8$ (спектр N15), в зоне опухолевого поражения $D_f = 10,1$ (спектр N10). Спектры измерены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 442 нм.

больным (55 исследований) с базальноклеточным (45 пациентов) и плоскоклеточным раком кожи (2 пациентов). У 12 пациентов до флюоресцентной дерматоскопии был установлен первично множественный характер роста базальноклеточного рака кожи. Целью флюоресцентных исследований было, во-первых, изучение фармакокинетики накопления и выведения ПППХ в здоровой коже и опухолях и, во-вторых, выявление первично множественных скрытых опухолей и рецидивов после различных вариантов лечения. Размер опухолей колебался от 0,5 до 3,0 см. ФД проводили через 0, 6, 12, 24 часа после местного нанесения Аласенса. Время экспозиции варьировалось от 6 до 12 ч.

Полученные результаты показали высокую флюоресцентную контрастность (от 3 до 20) между опухолью и нормальной кожей в зоне наложения мази. Интенсивная красная флюоресценция АЛК-индуцированного ПППХ наблюдалась в очагах рака кожи у всех пациентов, что свидетельствует о высокой чувствительности метода. Несмотря на значительную неоднородность распределения индуцированной флюоресценции в опухоли, метод позволяет диагностировать и выявлять границы опухолевых поражений (рис. 4). В ходе ФД у 19 пациентов было выявлено 30 дополнительных очагов флюоресценции на коже, не имеющей в белом свете видимой патологии. Размеры очагов флюоресценции колебались от 0,3 до 0,5 мм. По данным морфологического исследования, в 28 очагах диагностирован базальноклеточный рак, в 2 случаях — очаговое воспаление кожи.

Флюоресцентная торакоскопия и лапароскопия

Анализ зарубежных публикаций показывает, что аппаратура и методики флюоресцентной торакоскопии и лапароскопии находятся на начальной стадии разработок и изучения [13;20]. В МНИОИ им. П.А. Герцена разработка методик флюоресцентной торакоскопии и лапароскопии ведется с 1999 г.

Разработанная там методика флюоресцентной торакоскопии была проведена 8 добровольцам с диагнозом мезотелиома плевры стадия III-IV (5) и «специфический» экссудативный плеврит при раке легкого (2) и раке молочной железы (1). Через 2 ч после внутриплеврального введения 1,5%-ного раствора Аласенса у всех больных была выявлена красная флюоресценция плевры в участках опухолевого поражения как при мезотелиоме, так и при метастатическом поражении плевры. Торакоскопия и послеоперационный период у всех больных проходили без побочных реакций и осложнений.

Флюоресцентная лапароскопия выполнена 5 больным со следующими диагнозами: рак желудка стадии III (3), лимфома брюшной полости, подозрение на канцероматоз брюшины (1), опухолевая диссеминация по брюшине, специфический асцит без выявленного первичного очага (1). Через 2 ч после внутрибрюшинного введения раствора Аласенса у всех больных в очагах опухолевого поражения брюшины наблюдалось интенсивная красная флюоресценция индуцированного ПППХ. Минимальный флюоресцирующий очаг имел размер до 1 мм. Морфологическое исследование макроскопически подозрительных (в белом свете), но не

флюоресцирующих очагов измененной брюшины установило неопухолевый характер патологии (рубец, жировая ткань). Осложнений в исследуемой группе не зарегистрировано.

Таким образом, первый опыт флюоресцентной торакоскопии и лапароскопии указывает на перспективность этого нового уточняющего диагностического метода. В настоящее время продолжается изучение его чувствительности и специфичности.

ВЫВОДЫ

Целью проведения исследований было, в первую очередь, изучение потенциальных возможностей и ограничений метода ФД. Представленные результаты носят, несомненно, предварительный характер в силу ограниченности обследуемых групп пациентов, однако они показали высокую корреляцию с данными морфологического анализа биопсийного материала (в среднем около 94%), что свидетельствует о перспективности, надежности и высокой чувствительности метода флюоресцентной диагностики злокачественных опухолей различных локализаций. В ходе дальнейших исследований предполагается детальное изучение специфичности разработанных методик на больших группах пациентов.

Выбранный комбинированный подход, основанный на регистрации аутофлюоресцентного и 5-АЛК индуцированного флюоресцентного изображения с одновременной локальной (in situ) регистрацией спектров флюоресценции в широком спектральном диапазоне позволяет объективизировать результаты флюоресцентной визуализации и значительно улучшает качество и надежность диагностического обследования. Флюоресцентная эндоскопия в сочетании с локальной спектрофотометрией открывает возможности для эффективного выявления скрытых очагов облигатного предрака, интраэпителиального и микроинвазивного первичного рака различных локализаций; выявления микрометастазов на поверхности плевры или брюшины; выявления остаточной опухоли или раннего рецидива рака после предшествующего лечения; выполнения прицельной биопсии в зоне «флюоресцирующего пятна»; выявления скрытых очагов синхронного и метасинхронного первично множественного рака различных органов. Разработанный подход позволяет минимизировать число ложноположительных результатов и количество биопсий, обычно необходимых при эндоскопическом поиске скрытых очагов рака в белом свете.

В настоящее время на основе указанных методологических принципов, совершенствуются методики флюоресцентной диагностики с экзогенным фотосенсибилизатором Фотогем, а также разрабатываются методики ФД в рамках клинических испытаний новых экзогенных фотосенсибилизаторов хлоринового ряда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карнухов В.Н. Цитология, XVIII, N.4, 408(1976).
2. Соколов В.В., Жаркова Н.Н., Филоненко Е.В. Патент РФ 219273 на изобретение «Способ эндоскопической флюоресцентной злокачественных опухолей полых органов» с приоритетом от 26.11.1997.

3. Соколов В.В., Жаркова Н.Н., Фабелинский В.И., Филоненко Е.В., Сухин Д.Г., Крылова Г.П. Сборник научных трудов «Современные аспекты онкологии», Москва, 1999, с 60-74.
4. Соколов В.В., Жаркова Н.Н., Фабелинский В.И. и др. «Диагностика злокачественных опухолей на основе феноменов экзогенной и эндогенной флюоресценции», Пособие для врачей, Москва 2001.
5. Соколов В.В. Филоненко Е.В. Телегина Л.В. Булгакова Н.Н. Смирнов В.В. Квантовая электроника, 2002, 11, стр. 963-969.
6. Чиссов В.И., Соколов В.В., Е.В.Филоненко и др. Хирургия, 1995, 5, 37.
7. Чиссов В.И., Соколов В.В., Жаркова Н.Н., Филоненко Е.В., Сухин Г.М. Материалы Международной конференции и Научно-практической конференции Северо-Западного региона России «Лазерные и информационные технологии в медицине XXI, Санкт-Петербург, 2001, стр. 513.
8. Abe S., Iuishi K., Tajiri H., Kinoshita T., Matsuoka T. Endoscopy 2000 Apr; 32(4):281-286.
9. Anidjar M., Ettori D., Cussenot O., Meria P. Desgrandchamps F, Cortesse A, Tellac P, Le Duc A, Avriller S. J Urol 1996, 156, 1590-1596.
10. Baumgartner R., Huber R.M., Schulz H et al. Photochem Photobiol, 1996 36(2), 169.
11. Brand S., Stepp H., Ochsenkuhn T., Baumgartner R., Baretton G., Holl J., von Ritter C., Paumgartner G., Sackmann M. Int. J Colorectal Dis 1999 Feb;14910:63-68.
12. Bottioli G., Croce A.C., Locatelli D., Marchesini R., Pignoli E., Tomatis S., Cuzzoni C., Di Palma S., Dalfante M., Spinelli P. Lasers Surg Med 1995;16(1):48-60.
13. Canic M., Botchorishvili R., Berreni N., Manhes H., Wattiez A., Mage G., Pouly J.L., Bruhat M.A. Surgical Endoscopy, 2001, v.15, N10, 1184-1186.
14. Chwirot B.W., Kowalska M., Sypniewska N., Michniewicz Z., Gradziel M. J Photochem Photobiol B 1999 Jun;50(2-3):174-83.
15. Chwirot B.W., Michniewicz Z., Kowalska M., Nussbeutel J. J. Photochem Photobiol 1999 Mar; 69(3):336-340.
16. Chiwort B.W., Shwirot S., Jedrezejczyk W., Jackowski M., Raczynska A.M., Winczakeiewicz J., Dobber J. Laser Surg Med 1997;21(2):149-158.
17. Delank W., Khanavkar B., Nakhosteen J.A., Stoll W. Laryngoscope, 2000,110(3Pt1), 368.
18. Drezek R., Brookner C., Pavlova I., Boiko I., Malpica A., Lotan R., Follen R., Richards-Kortum R. Photochem Photobiol 2001 Ju;73(6):636-641.
19. Eker C., Montan S., Jaramillo E., Koizumi K., Rubio C., Andersson-Engels S, Svanberg K, Svamberg S, Slezak P Gut 1999 Apr;44(4):511-518.
20. Gahlen J., Pross R.L., Pietschmann M., Pheinwald M., Haase T., Herfarth C. J Photochem Photobiol B. 1999 Sept-Oct;52(1-3):131-135.
21. Haubinger K., Stanzel F., Huber R.M. et al. Diagnostic and Therapeutic Endoscopy, 1999, 5, 105.
22. Hung J., Lam S., LeRiche J. Lasers Surg. Med, 1991, 11, 99.
23. Izuishi K, Tajiri H, Fujii T, Boku N, Ohtsu A, Ohnishi T, Ryu M, Kinoshita T, Yoshida S. Endoscopy 1999 Sep;31(7):511-6.
24. Kapadia C.R., Cutruzzol F.W., O'Brein K.M., Stetz M.L., Enriquez R., Deckelbaum L.I. Gastroenterology 1990 Jul; 99(1): 150-157.
25. Kennedy T.C., Lam S., Hirsch F.R. Oncologist, 2001 6(3), 257.
26. Koenig F., McGovern F.J., Althausen A.F., Deutsch T.F., Schomacker K.T. J Urol 1996 156(5):1597-601.
27. Koenig F., McGovern F.J., Larne R., Enquist H., Schomacker K.T., Deutsch T.F. BJU Int, 1999, Jan;83(1):129-35.
28. Kriegmair M., Baumgartner R., Knuchel R., Stepp H., Hofstetter F., Hofstetter A. J Urol 1996, 155:105-110.
29. Kurie J.M., Lee J.S., Morice R.C. et al. J Natl Cancer Inst, 1998, 90(13), 991.
30. Kusunoki Y., Imamura F., Uda H., Mano M., Horai T. Chest 2000 Dec;118(6):1776-1782.
31. Lam S., Hung J.Y., Kennedy S.M. et al. Am Rev Respir Dis, 1992, 146(6), 1458.
32. Lam S., MacAulay C., LeRiche J. SPIE, 1994, 2324, 2.
33. Lam S., MacAulay C., le Riche J.C., Palcic B. Cancer, 2000, 89(11 Suppl), 2468.
34. Lohmann W., Mussmann J., Lohmann C., Kunzel W. Eur. J. Obstet. Gynecol.Reprod. Biol. 1989, 31, 249-253.
35. MacAulay Qu J., Lam S., Palcic B. Optic Engineering 1995(34), p.3334.
36. Macron N. Proceedings of SPIE, 2001, vol.4432, 152-178.
37. Marchesini R., Brambilla M., Pignoli E., Bottioli G., Croce A.C., Dal Fante M., Spinelli P., di Palma S. J Photochem Photobiol B, 1992, Jul 15;14(3):219-30.
38. Mayinger B., Horner P., Jordan M., Gerlach C., Horbach T., Hohenberger W., Hahn E.G. Gastrointest Endosc, 2001 Aug;54(2):195-201.
39. Messmann H., Knuchel R., Endlicher E., Hauser T., Szeimies R.M., Kullmann F., Baumler W., Scholmerich J. Dtsch Med Wochenschr 1998 Apr. 24;123(17):515-521.
40. Messmann H., Knuchel R., Baumler W., Holstege A., Scholmerich J. Gastrointest Ebdosc 1999 Jan;49(1):97-101
41. Messmann H., Kullmann F., Wild T., Knuchel-Clarke R., Ruschoff J., Gross V., Scholmerich J., Holstege A. Endoscopy 1998 30(4):333-338.
42. Pahernik S.A., Botzlar A., Hillemanns P., Dellian M., Kirschstein M., Abels C., Korell M., et al. Int J Cancer, 1998, 78(3):310-314.
43. Peng Q., Warloe T., Berg K., Moan J., Kongshaug M., Griercksky K.E., et al. Cancer 1997;79:2282-2308.
44. Pichler J., Stepp H., Baumgartner R. et al. Lasermedizin, 1998, 13, 151.
45. Policard A. C R Soc Biol, 1924, 91, 1423.
46. Profio A.E., Doiron D.R., Balchum O.J. Phys. Med. Biol., 1977, vol. 22, 949-957.
47. Profio A.E., Doiron D.R., Balchum O.J., Huth G.C. Med. Phys. 1983, Vol. 35-39.
48. Profio A.E., Doiron D.R., Sarnaik J. Med. Phys. 1984, Vol. 11, 516-520.
49. Prossi R., Gahlen J.. International J Colorectal Disease, 2002, Vol.17, N1, 1-10.
50. Ramanujam N., Mitchell M.F., Mahadevan A., Thomsen S., Malpica A., Wright T., Atkinson N., Rishards-Kortum R. Lasers Surg Med 1996;19(1):63-74.
51. Schomacker K.T., Frisoli J.K., Compton C.C., Flotte T.J., Richter J.M., Nishioka N.S., Deutsch T.F. Lasers Surg Med 1992 12 (1):63-78.
52. Sterenberg H., Motamedi M., Wagner R., Duvic M., Thomsen S., Jacques S. Lasers Med. Sci, 1994, 9, 191-201.
53. Stepp H. 10th Congress of the European Society for Photobiology, Vienna, Austria, 2003, Abstract Book, p.56.
54. Stepp H., Hohla A. Proceedings of SPIE, 2001, vol.4432, 221-229.
55. Stepp H., Stroka R., Baumgartner R.. Endoscopy 1998 May;30(4):379-386.
56. Stroka R., Baumgartner R., Buser A., 1991, et al. SPIE, 1641, 99.
57. Stummer W., Stepp H., Novotny A. J Neurosurg, 2000, 93, 1003-1013.
58. Tan W.C., Fulljames C., Stone N., Dix A.J., Shepherd N., Roberts J.H., Brown S.B., Krasner N., Barr H. J Photochem Photobiol. B:Biol.53 1999,75-80.
59. Vo-Dinh T., Panjehpour M., Overholt B.F. Ann N.Y. Acad Sci 1998 Feb 9;838:116-122.
60. Wagnieres A., Star W., Wilson B. Photochemistry and Photobiology, 1998, 68(5): 603-632.
61. Wang T.D., Van Dam J., Crawford J.M., Preisinger E.A., Wang Y., Feld M.S. Gastroenterology 1996 Nov;111(5):1182-91.
62. Zeng H., MacAulay C., McLean, Palcic B. Photochemistry Photobiology, 1995, 61, 639-945.
63. Zharkova N., Kozlov D., Smirnov V., Sokolov V. et al. 1994, SPIE 2325, 400.
64. Zonios G., Cothren R., Arendt J., et al. SPIE, 2324, 9 (1994).