

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Е. В. Загайнова¹, О. С. Стрельцова², А. Г. Орлова^{1,3}, Е. Э. Юнусова¹
**КОМБИНИРОВАННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ
ЦИСТОСКОПИИ И ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАННЕГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

¹Нижегородская Государственная медицинская академия, Нижний Новгород

²Клиническая областная больница им. Н. А. Семашко, Нижний Новгород

³Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

Описаны результаты комбинированного применения оптической когерентной томографии и флюоресцентной цистоскопии для диагностики раннего рака мочевого пузыря. В исследование включены 26 пациентов, у которых изучены 107 флюоресцирующих зон. Выявлено, что применение оптической когерентной томографии при эндоскопическом исследовании мочевого пузыря позволяет выделять зоны малигнизации среди плоских флюоресцирующих зон. Проведен статистический анализ результатов, полученных методами оптической когерентной томографии и флюоресцентной цистоскопии. Чувствительность эндоскопии в диагностике раннего рака при комбинированном применении этих двух методов составила 86%, специфичность — 79%. Прогностическая ценность положительного теста увеличилась до 43%. Такая постановка исследования дает возможность существенно повысить диагностическую точность процедуры и избежать ошибочной биопсии или резекции зон с ложной флюоресценцией.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, оптическая когерентная томография, флюоресцентная цистоскопия, 5-аминолевулиновая кислота, рак in situ.

Традиционными методами диагностики, применяемыми для идентификации рака мочевого пузыря, являются цистоскопическое исследование и биопсия. Эффективность цистоскопии в белом свете достаточно высока при диагностике объемных опухолей. Ограничения в ее использовании возникают при выявлении плоских зон малигнизации, которые скрыты или трудно различимы, таких, как рак in situ (CIS) и дисплазия уротелия. Обычно CIS протекает в эпителиальном слое без папиллярных разрастаний и образует так называемые плоские подозрительные зоны. Тем не менее хорошо известен высокий риск инвазии и прогрессии CIS [7—9]. Эффективность слепой биопсии слизистой оболочки для выявления мультифокального опухолевого роста также недостаточна. Исследование подозрительных зон мочевого пузыря (red patch zone) позволило выявить малигнизацию только в 12% случаев (23 из 193 биопсий), в то время как остальные зоны слизистой оболочки оказались доброкачественными [12].

Применение флюоресцентной цистоскопии позволяет выделить участки малигнизации на фоне здоровой слизистой оболочки мочевого пузыря и повышает чувствительность эндоскопической диагностики рака, однако специфичность ее остается низкой [2; 3; 5]. Более высокая специфичность эндоскопической диагностики может быть достигнута при дополнительном использовании оптической когерентной томографии (ОКТ) — метода визуализации, основанного на детекции обратного рассеяния света инфракрасного диапазона от биологических тканей, позволяющего:

- получить изображение структуры стенки мочевого пузыря, характеризующееся высоким разрешением, на глубину до 2 мм;
- уточнять характер структурных изменений флюоресцирующих зон;
- выявлять малигнизацию в мочевом пузыре в процессе традиционной цистоскопии с высокой чувствительностью и специфичностью [4; 14; 15].

Задача исследования состояла в оценке возможности ОКТ в повышении диагностической точности флюоресцентной диагностики рака мочевого пузыря в плоских подозрительных зонах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 26 пациентов с подозрением на рак мочевого пузыря, у которых изучены 107 флюоресцирующих зон.

В работе использован отечественный оптический когерентный томограф с эндоскопическим торцевым датчиком («ИПФРАН», Нижний Новгород). Томограф снабжен источником низкокогерентного оптического излучения длиной волны 1270 нм, мощностью излучения 1,5 мВт на ткани и разрешением 15 мкм. Глубина проникновения зондирующего излучения составляет 2 мм, время получения изображения — 1,5 с. Оптический когерентный томограф имеет эндоскопический зонд длиной 5 м и диаметром 2,7 мм. Сканирование осуществляется путем прижимания сканирующего конца зонда под визуальным контролем к поверхности слизистой оболочки мочевого пузыря. Изображения, полученные в процессе исследования, выводятся на монитор компьютера.

ОКТ-изображения представлены в позитивной псевдоцветной желто-коричневой палитре, где оттенки желтого соответствуют большей интенсивности, а оттенки коричневого — меньшей интенсивности отраженного света.

Разработана методика комбинированного применения ОКТ- и флюоресцентной диагностики [1]. Для проведения флюоресцентной цистоскопии использована система «Karl Storz», снабженная ксеноновой лампой с длиной волны 430—480 нм.

При подготовке к исследованию за 2 ч до вмешательства пациенту внутривезикулярно вводили 50 мл 3% раствора аласенса (5-аминолевулиновая кислота). В начале цистоскопического исследования аласенс удаляли из пузыря, вводили ригидный цистоскоп и мочевой пузырь наполняли стерильной жидкостью. Первично слизистую оболочку оценивали в белом свете. Выполняли видеозапись и протоколировали подозрительные зоны. Затем свет переключали на синий и оценивали флюоресцирующие (красным) зоны. В оценке флюоресценции использовали рекомендации разработчиков-производителей [6]. Через рабочий канал цистоскопа вводили эндоскопический зонд

оптического томографа, прижимали его непосредственно к слизистой оболочке мочевого пузыря. Из каждой флюоресцирующей зоны получали 1—2 ОКТ-изображения. Выполняли видеозапись и описывали все флюоресцирующие зоны. На завершающем этапе выполняли резекцию или контрольную биопсию всех флюоресцирующих зон.

Основой для окончательного диагноза служили данные гистологического анализа, с которыми сопоставляли данные, полученные с помощью обоих методов диагностики.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам флюоресцентной цистоскопии из 107 выявленных зон 18 представляли собой папиллярные опухоли и 89 — плоские флюоресцирующие зоны. Все 18 папиллярных опухолей были правильно распознаны с помощью традиционной цистоскопии, флюоресцентной диагностики и ОКТ (рис. 1). Следовательно, ни флюоресцентная диагностика, ни ОКТ не дают дополнительной информации при детекции папиллярных опухолей. Флюоресценцию экзофитных опухолей использовали как маркер правильности накопления фотосенсибилизатора.

Особое внимание уделяли оценке возможностей ОКТ в верификации плоских подозрительных зон, т. е. в диагностике раннего рака. Из 89 плоских флюоресцирующих зон 75 были доброкачественными по данным гистологического исследования и, следовательно, имели ложноположительную флюоресценцию (табл. 1).

Из 75 доброкачественных зон 59 были правильно распознаны при ОКТ-исследовании как доброкачественные. ОКТ-изображения имели 3 слоя: эпителий, подслизистый слой, мышечный слой, контрастную границу «уротелий — подслизистый слой». С учетом того, что данные ОКТ были подтверждены гистологически, эти случаи рассмотрены как истинноотрицательные для ОКТ-диагностики.

ОКТ позволяла безошибочно определять хроническое воспаление с экссудативным компонентом (рис. 2), гиперплазию уротелия (рис. 3).

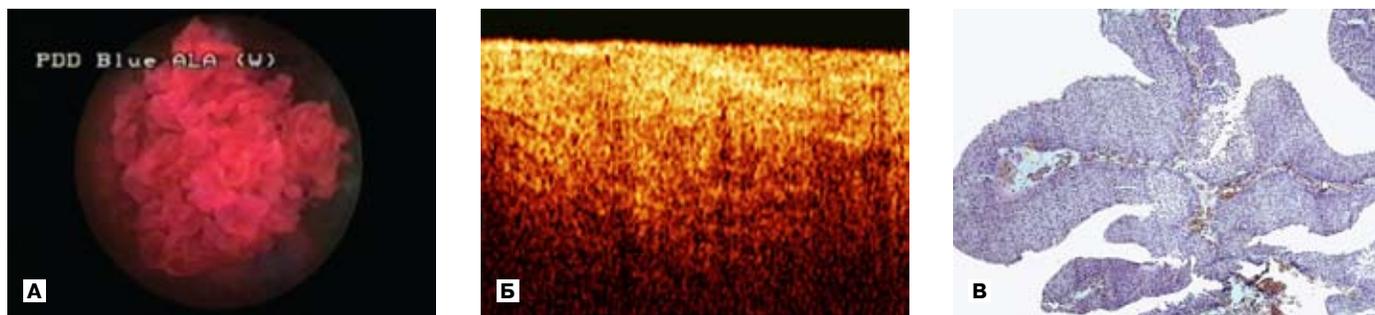


Рисунок 1. Папиллярная опухоль.

А. Флюоресцентная цистоскопия (истинноположительная флюоресценция). **Б.** «Раковый» тип ОКТ-изображения. **В.** Гистологический препарат: переходноклеточная опухоль T1GII (размер изображения 0,97 × 0,77 мм, окраска гематоксилином и эозином).

Таблица 1

ОКТ-диагностика плоских флюоресцирующих зон

Гистологическое заключение	ОКТ				Флюоресцентная цистоскопия	
	ИО	ЛП	ИП	ЛО	ЛП	ИП
Доброкачественные изменения (n = 75)	59	16	–	–	75	–
Неопластические изменения (n = 14)	–	–	12	2	–	14

ИО — истинноотрицательные; ИП — истинноположительные; ЛО — ложноотрицательные; ЛП — ложноположительные.

Известно, что в треугольнике Льео часто диагностируют плоскоклеточную метаплазию — процесс, при котором происходит замещение уротелия на плоский многослойный эпителий, часто с акантозом и кератозом. Как было показано нами раньше, случаи плоскоклеточной метаплазии распознаются при помощи ОКТ с очень большой ошибкой — 64% [15]. Однако в исследовании по комбинированному применению ОКТ и флюоресценции мы получили при плоскоклеточной метаплазии случаи как доброкачественных ОКТ-изображений, так и подозрительных. При анализе особенностей морфологических изменений мы обнаружили, что в случае плоскоклеточной метаплазии без ороговения получают ОКТ-изображения доброкачественного типа (рис. 4), а при плоскоклеточной метаплазии с ороговением — подозрительного или «ракового» типов (рис. 5).

В 16 из 75 доброкачественных зон по данным ОКТ получены подозрительные изображения. Нарушена слоистая организация или контраст границы уротелий—подслизистый слой. Следовательно, 21% ложноположительных флюоресцирующих зон были также ложноположительными по данным ОКТ. Однако 79% ложнофлюоресцирующих зон были верно распознаны с помощью ОКТ как доброкачественные, и их можно было не резецировать.

Среди ложноположительных случаев большинство (9 из 16) составили гнезда Брунна (рис. 6) и плоскоклеточная метаплазия с ороговением (рис. 5). Эти результаты

исследования еще раз подтвердили наши данные о низкой специфичности ОКТ в выявлении указанных состояний [15].

Из 14 плоских неопластических зон 12 были правильно распознаны с помощью ОКТ и имели подозрительный или «раковый» тип изображений. Только 3 зоны из 14 были отмечены как подозрительные в белом свете, т. е. остальные 11 были диагностированы при флюоресцентной цистоскопии. Среди них в 10 случаях выявлена дисплазия уротелия. При дисплазии уротелия в 8 случаях определялся подозрительный тип ОКТ-изображения (рис. 7), а в 2 — доброкачественный тип (рис. 8); они были расценены как ложноотрицательные случаи.

В 4 случаях был обнаружен рак *in situ* (рис. 9), при котором чаще определялся «раковый» тип ОКТ-изображения.

Таким образом, комбинированное использование флюоресцентной цистоскопии и ОКТ, несомненно, улучшает качество эндоскопической диагностики рака мочевого пузыря:

- только 21% ложнофлюоресцирующих зон были ложноположительными по данным ОКТ;
- применение ОКТ во время флюоресцентной цистоскопии позволило бы в 79% случаев не выполнять биопсию или резекцию зон ложноположительной флюоресценции;
- чувствительность нового метода диагностики рака мочевого пузыря на базе комбинированного исполь-

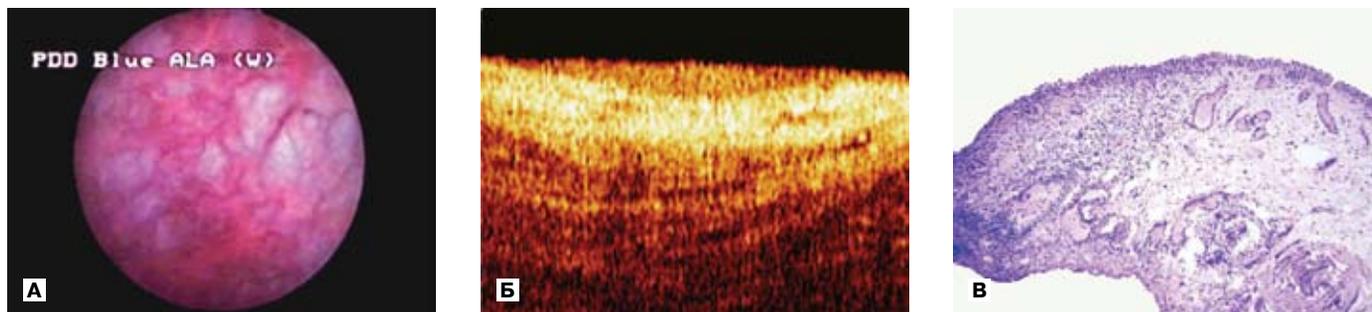


Рисунок 2. Хронический цистит.

А. Флюоресцентная цистоскопия (ложноположительная красная флюоресценция). **Б.** «Доброкачественный» тип ОКТ-изображения (истинноотрицательный случай). **В.** Гистологический препарат: хроническое воспаление (размер изображения 0,97 × 0,77 мм, окраска гематоксилином и эозином).

Таблица 2

Сравнительная диагностическая ценность флюоресцентной цистоскопии и ОКТ по данным литературы, %

Показатель	Флюоресцентная цистоскопия [10]	ОКТ — открытое распознавание [11]/слепое распознавание [15]	Комбинированное применение флюоресцентной цистоскопии и ОКТ
Чувствительность	97	100/98	86
Специфичность	65	89/71	79
ПЦПТ для плоских зон	33	75/74	43

ПЦПТ — прогностическая ценность положительного теста: ИП/(ИП + ЛП), где ИП — истинноположительные результаты; ЛП — ложноположительные.

зования ОКТ и флюоресценции для плоских подозрительных зон составила 86%, специфичность — 79%;

- при больших площадях флюоресценции слизистой оболочки мочевого пузыря (хроническое воспаление, плоскоклеточная метаплазия), ОКТ позволит объективизировать изменения в этих зонах и сохранить максимальное количество здоровой слизистой оболочки.

ОБСУЖДЕНИЕ

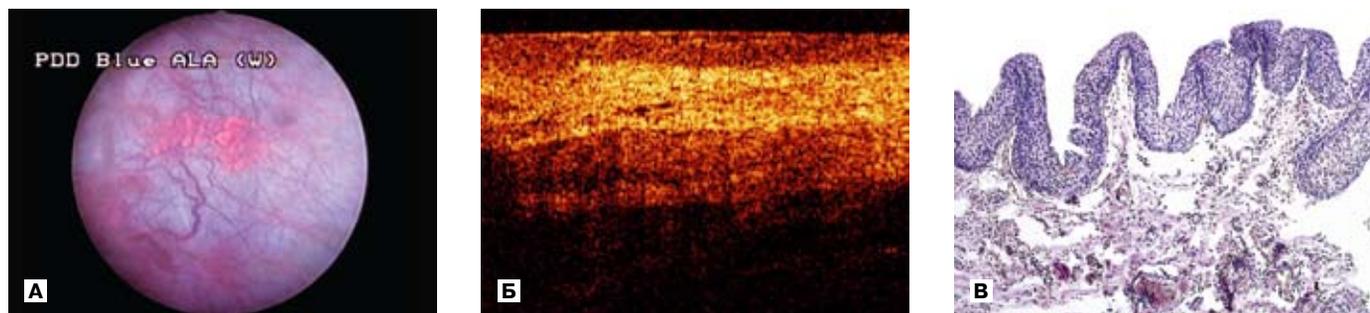
Как флюоресцентная цистоскопия, так и ОКТ могут быть отдельно применены для повышения эффективности эндоскопической диагностики рака мочевого пузыря. В табл. 2 приведены сравнительные данные по однотипным параметрам флюоресцентной цистоскопии, ОКТ и комбинированного использования этих двух методов в диагностике неоплазии мочевого пузыря. Полученные результаты свидетельствуют, что применение ОКТ существенно повышает точность диагностики рака мочевого пузыря методом флюоресцентной цистоскопии.

Благодаря специфичному накоплению в тканях 5-АЛК-индуцированного протопорфирина-IX четко выявляются флюоресцирующие участки слизистой оболочки. В работе D. Zaak и соавт. продемонстрирована 100% чувствительность флюоресцентной цистоскопии для диагностики рака *in situ* [13]. Тем не менее при вы-

сокой чувствительности отмечается низкая специфичность этого метода диагностики. Если рассматривать прогностическую ценность положительного теста (ПЦПТ), которая отражает число положительных случаев, которые были действительно положительными, то она будет довольно низкой, особенно при исследовании плоских подозрительных участков. Число ложноположительных случаев флюоресценции велико благодаря простой гиперплазии уротелия, воспалительным изменениям и плоскоклеточной метаплазии [6]. Так, в исследованиях, выполненных М. Kriegmaier и соавт., показана высокая чувствительность (97%) и специфичность (65%) для флюоресцентной диагностики неоплазии мочевого пузыря на основе 5-АЛА, однако ПЦПТ для плоских зон составила только 33% (см. табл. 2) [10].

Выделение зон малигнизации среди всех флюоресцирующих зон непосредственно во время эндоскопического исследования возможно с использованием ОКТ. Согласно данным, полученным нами ранее, этот метод позволяет дифференцировать воспаление, доброкачественные и злокачественные изменения слизистой оболочки мочевого пузыря [14; 15].

По результатам открытого распознавания ОКТ-изображений, ПЦПТ для плоских поверхностных новообразований достаточно высокий — 75% (см. табл. 2) [15]. Для слепого распознавания ПЦПТ составляет 74% (см. табл. 2) [15].

**Рисунок 3. Гиперплазия уротелия.**

А. Флюоресцентная цистоскопия. **Б.** «Доброкачественный» тип ОКТ-изображения (истинноотрицательный случай). **В.** Гистологический препарат: простая гиперплазия уротелия (размер изображения 0,45 × 0,39 мм, окраска гематоксилином и эозином).

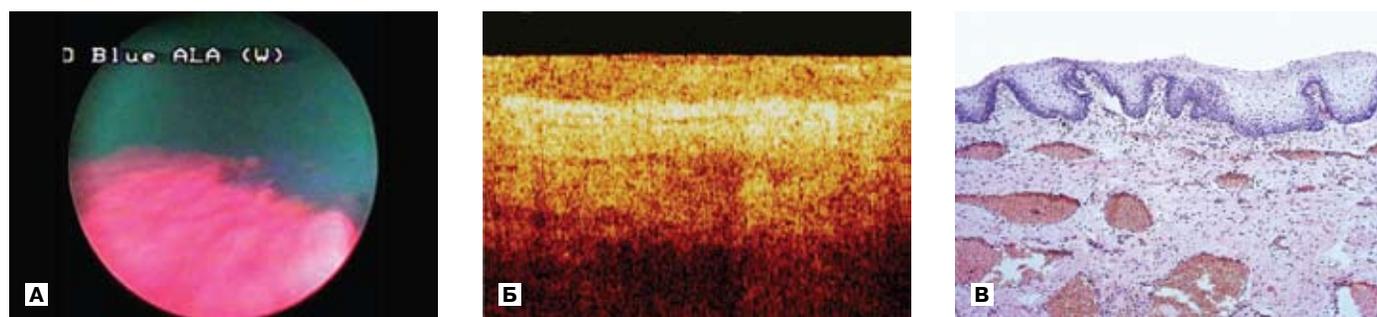


Рисунок 4. Плоскоклеточная метаплазия без ороговения.

А. Флуоресцентная цистоскопия (ложноположительная флуоресценция). **Б.** «Доброкачественный» тип ОКТ-изображения (истинноотрицательный случай). **В.** Гистологический препарат: плоскоклеточная метаплазия без ороговения (размер изображения $0,97 \times 0,77$ мм, окраска гематоксилином и эозином).

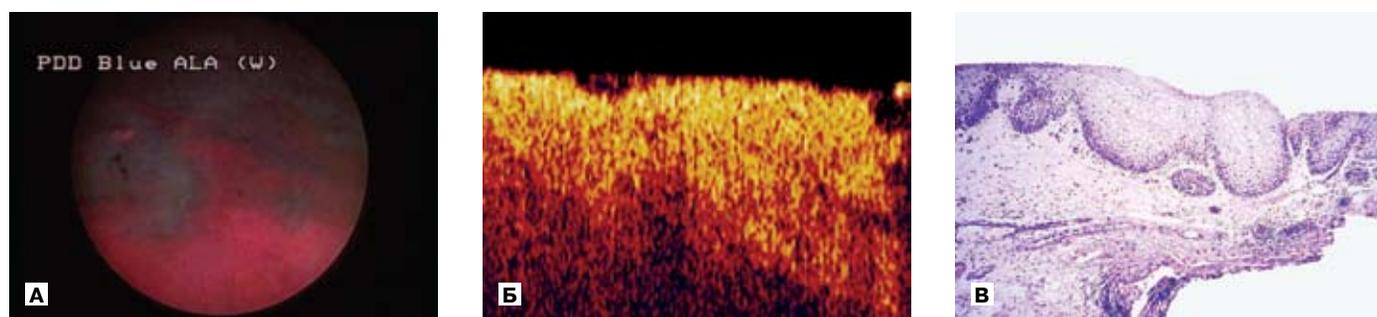


Рисунок 5. Плоскоклеточная метаплазия с ороговением.

А. Флуоресцентная цистоскопия (ложноположительная флуоресценция). **Б.** «Раковый» тип ОКТ-изображения (ложноположительный). **В.** Гистологический препарат: плоскоклеточная метаплазия с ороговением (размер изображения $0,97 \times 0,77$ мм, окраска гематоксилином и эозином).

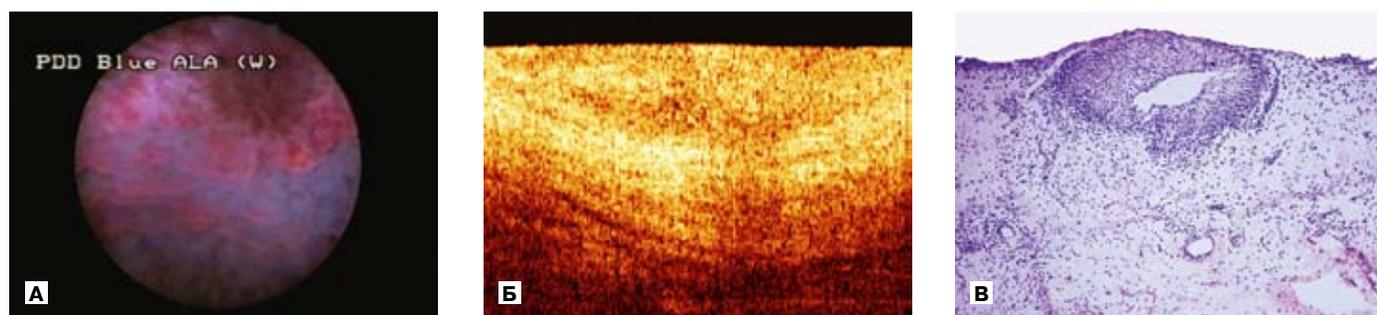


Рисунок 6. Гнезда Брунны.

А. Флуоресцентная цистоскопия (ложноположительная флуоресценция). **Б.** «Подозрительный» тип ОКТ-изображения (утолщенный уротелий с неравномерным уровнем сигнала в слое, граница уротелий—подслизистый слой неконтрастная). **В.** Гистологический препарат: гнезда Брунны (размер изображения $0,97 \times 0,77$ мм, окраска гематоксилином и эозином).

Следует отметить, что в своем исследовании мы опирались именно на ПЦПТ. Этот показатель наиболее точно отражает соотношение истинно- и ложноположительных случаев среди всех флуоресцирующих зон. Благодаря уменьшению количества ложноположительных зон ОКТ позволяет улучшать этот показатель. В нашем исследовании ПЦПТ для флуоресцентной цистоскопии в отношении плоских зон составил 16%. ПЦПТ при комбинированном использовании двух методов увеличился до 43%

(см. табл. 2). Это достаточно хорошее увеличение диагностической ценности метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, выполненное нами впервые клиническое исследование по комбинированному применению флуоресцентной цистоскопии и ОКТ в диагностике раннего рака позволило выявить, что ОКТ значительно улучшает показатели флуоресцентной цистоскопии при диагно-

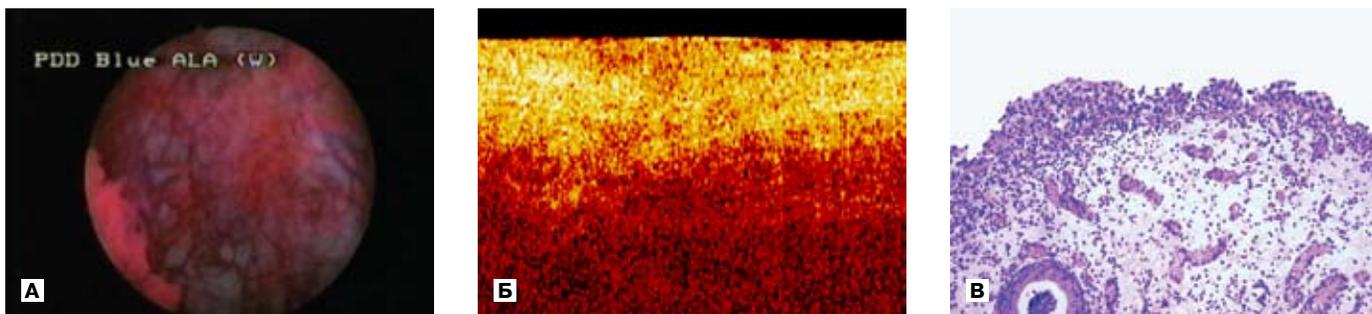


Рисунок 7. Дисплазия уротелия.

А. Флуоресцентная цистоскопия: зона красного свечения (истинноположительный случай). **Б.** «Подозрительный» тип ОКТ-изображения (нарушена контрастность границы уротелий—подслизистый слой). **В.** Гистологический препарат: выраженная дисплазия уротелия (размер изображения 0,45 × 0,39 мм, окраска гематоксилином и эозином).

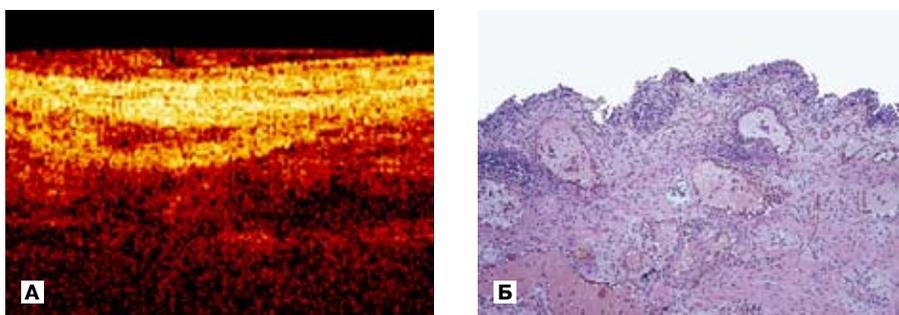


Рисунок 8. Дисплазия уротелия. Ложноотрицательный случай.

А. «Доброкачественный» тип ОКТ-изображения. **Б.** Гистологический препарат: дисплазия II степени (размер изображения 0,97 × 0,77 мм, окраска гематоксилином и эозином).

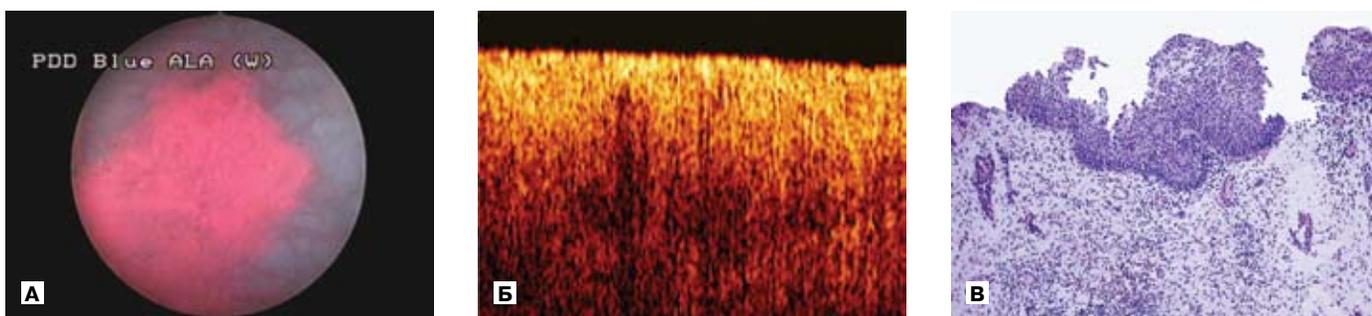


Рисунок 9. Рак in situ.

А. Флуоресцентная цистоскопия (красная флуоресценция — истинно положительный случай). **Б.** «Раковый» тип ОКТ изображения (истинно положительный случай). **В.** Гистологический препарат: рак in situ (размер изображения 0,97 × 0,77 мм, окраска гематоксилином и эозином).

стике раннего рака в плоских подозрительных зонах: повышает специфичность до 79%, улучшает ПЦПТ до 43%, при этом диагностическая точность метода 80%.

Таким образом, показано, что комбинированное применение флуоресценции и ОКТ может стать новым методом диагностики раннего рака мочевого пузыря.

Авторы выражают благодарность за поддержку исследований Федеральному агентству по науке и инновациям (Госконтракт № 02.522.11.2002) и Российскому

фонду фундаментальных исследований (гранты № 08-04-97098-р_поволжье_a, № 07-02-01146-a).

ЛИТЕРАТУРА

1. Загайнова Е. В. Диагностическая ценность оптической когерентной томографии в эндоскопии: Дис... д-ра мед. наук. — Н. Новгород, 2007. — 290 с.
2. Лопаткин Н. А., Камалов А. А., Кудрявцев Ю. В., Токарев Ф. В. Флуоресцентная диагностика рака мочевого пузыря // Урология. — 2000. — № 4. — С. 3—6.
3. Матвеев Б. П., Кудашев Б. В., Бухаркин Б. В. и др. Роль флуоресцентного контроля в повышении радикализма оперативного ле-

чения поверхностного рака мочевого пузыря // Урология. — 2000. — № 3. — С. 22—24.

4. Стрельцова О. С. Повышение радикальности органосохраняющих операций при раке мочевого пузыря: Дис... канд. мед. наук. — М., 2004. — 176 с.

5. Чиссов В. И., Соколов В. В., Булгакова Н. Н., Филоненко Е. В. Флюоресцентная эндоскопия, дермаскопия и спектрофотометрия в диагностике злокачественных опухолей основных локализаций // Рос. биотер. журн. — 2003. — Т. 2, № 4. — С. 46—57.

6. Baumgartner R., Wagner S., Zaak D. et al. Fluorescence diagnosis of bladder tumor by use of 5-aminolevulinic acid: fundamental and results. — Tutlingen, Germany: Endo-Press, 2000. — P. 58.

7. Cheng L., Chevillat J. C., Neumann R. M. et al. Survival of patients with carcinoma in situ of the urinary bladder // Cancer. — 1999. — Vol. 85, N 11. — P. 2469—2474.

8. Heney N. M., Ahmed S., Flanagan M. J. et al. Superficial bladder cancer: Progression and recurrence // J. Urol. — 1983. — Vol. 130. — P. 1083—1086.

9. Hudson M. A., Herr H. W. Carcinoma in situ of the bladder // J. Urol. — 1995. — Vol. 153, N 3. — P. 564—572.

10. Kriegmair M., Baumgartner R., Knuchel R. et al. Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence // J. Urol. — 1996. — Vol. 155, N 1. — P. 105—109.

11. Manyak M. J., Gladkova N. D., Makari J. H. et al. Evaluation of Superficial Bladder Transitional-Cell Carcinoma by Optical Coherence Tomography // J. of Endourol. — 2005. — Vol. 19, N 5. — P. 570—574.

12. Swinn M. J., Walker M. M., Harbin L. J. et al. Biopsy of the Red Patch at Cystoscopy: Is It Worthwhile? // Eur. Urology. — 2004. — Vol. 45, N 4. — P. 471—474.

13. Zaak D., Kriegmair M., Stepp M. Endoscopic detection of transitional cell carcinoma with 5-aminolevulinic acid: results of 1012 fluorescence endoscopies // Urology. — 2001. — Vol. 57. — P. 690—694.

14. Zagaynova E. V., Streltsova O. S., Gladkova N. D. et al. In vivo optical coherence tomography feasibility for bladder disease // The J. of Urology. — 2002. — Vol 167. — P. 1492—1496.

15. Zagaynova E. V., Streltsova O. S., Gladkova N. D. et al. Optical coherence tomography in diagnostics of precancer and cancer of human bladder // Proc. of SPIE. — 2004. — Vol. 5312. — P. 75—81.

Поступила 31.07.2007

E. V. Zagaynova¹, O. S. Streltsova², A. G. Orlova^{1,3}, E. E. Yunusova¹
COMBINATION OF FLUORESCENT CYSTOSCOPY AND OPTICAL COHERENT TOMOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS OF EARLY BLADDER CANCER

¹ Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod

² N. A. Semashko Regional Clinical Hospital, Nizhny Novgorod

³ Applied Physics Institute RAS, Nizhny Novgorod

The paper describes results of combination examination involving optical coherent tomography and fluorescent cystoscopy in the diagnosis of early bladder cancer. We studied 107 fluorescent areas in 26 patients. Addition of optical coherent tomography to endoscopy of the bladder helped to detect malignization areas among flat zones of fluorescence. Statistical analysis of optical coherent tomography and fluorescent cystoscopy findings was made. Endoscopy using the two above mentioned techniques had a 86% sensitivity and a 79% specificity. Prognostic value of positive test increased to 43%. This approach increases considerably diagnostic accuracy of examination and allows biopsy or resection of regions with false fluorescence to be avoided.

Key words: bladder cancer, optical coherent tomography, fluorescent cystoscopy, 5-aminolevulinic acid, cancer *in situ*.