

ВОЗМОЖНОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ЛАЗЕРНОЙ БИОСПЕКТРОФОТОМЕТРИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

Е.В. Великанов¹, С.Г. Терещенко¹, Л.Г. Лапаева¹, Л.Е. Гаганов¹, А.А. Титаева¹, И.Е. Свинцов²

¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

² Луховицкая центральная районная больница, Московская область, Россия

POSSIBILITIES OF AN ENDOSCOPIC LASER BIOSPECTROFOTOMETRY IN DISEASES OF DIGESTION SYSTEM

E.V. Velikanov¹, S.G. Tereschenko¹, L.G. Lapaeva¹, L.E. Gaganov¹, I.E. Svinzov²

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI) named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russia

² Central Regional Hospital, Lkhovitsy, Russia

РЕЗЮМЕ

Исследованы возможности использования эндоскопической лазерной биоспектрофотометрии для изучения флуоресценции эндогенных порфиринов при доброкачественных и некоторых злокачественных заболеваниях пищеварительного тракта. Оценена эффективность флуоресцентной диагностики при различных поражениях желудка и толстой кишки. Разработаны критерии оценки коэффициентов флуоресцентной контрастности, полученных в зоне поражения и в интактной слизистой. Определена корреляция изменений коэффициентов флуоресцентной контрастности и морфологических изменений патологического очага, зарегистрированных при динамическом наблюдении.

Ключевые слова:

лазерная биоспектрофотометрия, предраковые заболевания пищеварительного тракта, неспецифический язвенный колит, эндогенные порфирины, коэффициент флуоресцентной контрастности, спектроанализатор ЛЭСА-01.

ABSTRACT

Possibilities of use of an endoscopic laser biospectrofotometry for studying fluorescence of endogenous porphyrins are investigated at benign and some malignant diseases of a digestive path. The effectiveness of fluorescent diagnostics is estimated at various defeats of a stomach and a colon. Criteria of an assessment of factors of the fluorescent contrast are developed which were received in a zone of defeat and in the intact mucous. Correlation of changes of factors of fluorescent contrast and the morphological changes of the pathological center registered at dynamic supervision is defined.

Keywords:

laser biospectrofotometry, precancer diseases of digestion system, nonspecific ulcer colitis, endogenous porphyrins, factor of the fluorescent contrast, spectroanalysator LASA-01.

ВОК — волоконно-оптический кабель
ЛИ — лазерное излучение
НЯК — неспецифический язвенный колит

СОЖ — слизистая оболочка желудка
СОЖКТ — слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта

Своевременная и эффективная диагностика неопластических заболеваний слизистой оболочки пищеварительного тракта относится к актуальной проблеме клинической медицины [1–3].

В настоящее время принято различать предраковые (или фоновые) заболевания и предраковые изменения слизистой оболочки желудка (СОЖ). Предраковые заболевания представляют собой патологические состояния, которые при соответствующих условиях могут привести к развитию рака (например, хронические гастриты, язвы, полипы желудка, оперированный желудок, неспецифический язвенный колит — НЯК), т.е. ассоциируются с повышенным риском развития неоплазии [4]. Предраковые изменения — это морфологически доказанные изменения слизистой оболоч-

ки, достоверно свидетельствующие о развитии процесса в сторону злокачественного роста. Основные предраковые изменения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (СОЖКТ) становятся этапами «каскада Correa»: атрофия, кишечная метаплазия и дисплазия эпителия [5].

Раннее выявление предраковых изменений может реально способствовать предотвращению развития онкопроцесса или его диагностике на курабельных стадиях развития.

При эрозиях, длительно незаживающих язвах, полиповидных образованиях пищеварительного тракта, рубцовых изменениях, НЯК, несмотря на кажущуюся простоту их визуальной диагностики, встречаются ошибки, обусловленные сложностью оценки состо-

яния тканей в зоне этих патологических процессов. Клинические методы диагностики — гистологический и цитологический позволяют решить проблему с достаточной степенью точности лишь в случае выраженной визуализации процесса. Их возможности ограничены ложнопозитивными (от 4 до 33%) и ложнонегативными результатами (от 5 до 62%). Кроме того, информативность биопсийного материала зависит от качества его забора врачом-эндоскопистом [6].

Поиск новых способов выявления предраковых изменений СОЖКТ обусловлен желанием улучшить диагностические возможности при оценке различной патологии пищеварительного тракта. Диагностика и мониторинг патофизиологических изменений эпителия пищевода, желудка, толстой кишки могут быть осуществлены с помощью использования технологий, позволяющих, минимально травмируя объект исследования, получать о нем необходимую и достоверную информацию. Одним из направлений поиска становится биоспектрофотометрическая диагностика, в частности, оценка эндогенной флуоресценции биоткани [7–11], которая основана на регистрации и анализе спектральных характеристик патологических и интактных (здоровых) зон. Оптимальной для такой диагностики считается длина волны 600–1200 нм, которую дает лазерное излучение в красной области спектра (630–750 нм) [1, 3, 9, 10]. На этих длинах волн флуоресцируют эндогенные порфирины, которые накапливаются в опухоли в концентрации, в 3–5 раз превышающей таковую в нормальных тканях [3]. Порфирины обладают способностью к флуоресценции под воздействием лазерного излучения (ЛИ) — так называемая аутофлуоресценция. При этом для пораженных участков характерно наличие двух пиков флуоресценции — в диапазонах волн 630 и 690 нм. Порфирины могут накапливаться не только в злокачественных опухолях, но и в некротических, лимфоидных и других измененных, а также в пролиферирующих тканях, т.е. во всех растущих популяциях клеток, но при этом селективность поглощения порфиринов в этих случаях ниже, чем для раковых клеток [2, 9, 12, 13].

Цель данного исследования — изучить возможности биоспектрофотометрии в оценке флуоресценции эндогенных порфиринов при заболеваниях пищеварительного тракта.

Лазерное биоспектрофотометрическое исследование слизистой оболочки выполнено у 490 больных. Различные заболевания желудка были у 423 пациентов, НЯК — у 67.

Исследована эндогенная флуоресценция слизистой оболочки, при этом обнаружены 576 различных патологических процессов желудка (множественные эрозии — 27, хроническая язва — 187, термическая язва после полипэктомии — 23, гиперпластические полипы — 132, аденомы — 49, фовеолярные гиперплазии — 28, гетеротопии поджелудочной железы — 12, хронический гастрит — 48), оперированного желудка (эрозии — 5, язва гастроэнтероанастомоза — 43, послеязвенный рубец — 22) и толстой кишки (язвенное поражение при НЯК — 67). Кроме того, в 20 случаях изучена неизменная слизистая оболочка желудка и в 23 — неизменная слизистая толстой кишки.

Все патологические изменения на основании проведенного комплексного обследования изначально рассматривались как доброкачественные процессы.

Мужчин было 244, женщин — 246. Возраст больных колебался от 14 до 86 лет. Длительность анамнеза заболевания варьировала от 1 года до 15 лет.

Для исследования применяли лазерный эндоскопический спектроанализатор ЛЭСА–01. Он представляет собой компактную лазерную диагностическую медицинскую систему, которая позволяет регистрировать спектр диффузного отражения и вынужденной флуоресценции тканей в оптическом диапазоне длин волн от 500 до 690 нм с минимальным интервалом времени, равным 0,5 с.

Для определения критериев патологических изменений необходимо проведение калибровки прибора по интенсивности флуоресценции, поскольку величина амплитуды именно флуоресцентной составляющей определяет наличие или отсутствие патологии. С этой целью использовали устройство для амплитудной калибровки [14]. После калибровки системы проводили эзофагогастроскопию или колоноскопию по стандартной методике. После нахождения патологического процесса волоконно-оптический кабель (ВОК) спектроанализатора располагали в биопсийном канале эндоскопа и под визуальным контролем подводили к слизистой оболочке исследуемой патологической поверхности до легкого контакта с ней. Исследование эндогенной флуоресценции осуществляли лазерным светом при выключенном эндоскопическом источнике света (галогеновая лампа осветителя), чтобы избежать его влияния на флуоресценцию. Затем вновь включали эндоскопический источник света и под визуальным контролем подводили ВОК к следующей исследуемой точке. Измерения проводили в центре патологического процесса и в области его края, особенно в зоне изменений его слизистой оболочки (гиперемия, эрозия, изъязвление и т.д.), а также в интактной слизистой оболочке на расстоянии 1–5 см.

В ходе проведения исследования на экране дисплея в режиме реального времени отображался график интенсивности флуоресценции (длина волн от 600 до 900 нм).

Для количественной оценки эндогенной флуоресценции использовался коэффициент флуоресцентной контрастности — K_f [8], который определяли по формуле:

$$K_f = \frac{I_f - I_l}{I_f + I_l} + 1,$$

где: I_f — интенсивность в максимуме спектра флуоресценции, I_l — интенсивность в максимуме отраженного ЛИ, определенные непосредственно по экрану монитора компьютера.

Эффективность флуоресцентной диагностики определяли на основании сравнения данных биоспектрофотометрии с результатами плановых гистологических исследований биопсийного и операционного материалов.

При сопоставлении результатов гистологического исследования и соответствующих им коэффициентов флуоресцентной контрастности были рассчитаны средние коэффициенты флуоресцентной контрастности для различных патологических процессов, представленные (таблица).

В процессе проведенных клинических исследований были рассчитаны величины K_f . Для визуальной неизменной СОЖ он составил $0,25 \pm 0,07$, для толстой кишки — $0,24 \pm 0,05$, при гастрите — $0,26 \pm 0,08$.

Эти данные позволили выделить контрольную группу, разработать методологические подходы для выполнения исследований при патологических образованиях, определить оптимальную последовательность процедуры, а также провести расчет параметров, имеющих значение для количественной характеристики состояния слизистой оболочки при различной патологии.

Таблица

Средние значения коэффициентов флуоресцентной контрастности исследуемых патологических процессов слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта

Патологический процесс	Число наблюдений	Коэффициент флуоресцентной контрастности	Коэффициент интактной слизистой оболочки
Заболевания желудка			
Гастрит	48	0,26±0,08	0,23±0,05
Фовеолярная гиперплазия	28	0,27±0,04	
Хронические эрозии	32	0,48±0,08	
Послеязвенный рубец	22	0,26±0,06	
Эктопия поджелудочной железы	12	0,25±0,04	
Язва желудка	187	0,50±0,09	
Язва оперированного желудка	43	0,52±0,09	
Термическая язва после полипэктомии	23	0,52±0,06	
Полип желудка			
гиперпластический	132	0,24±0,05	0,37±0,04
аденома	49	0,44±0,06	0,28±0,05
Неизменная слизистая желудка	20	0,25±0,07	
Заболевания толстой кишки			
Язвенный колит			
Стадия обострения	35	0,54±0,07	0,32±0,05
Стадия ремиссии	32	0,36±0,05	0,31±0,04
Неизменная слизистая толстой кишки	23	0,24±0,05	

Анализ биоспектрограмм слизистой оболочки при заболеваниях желудка (фовеолярных гиперплазиях, хронических эрозиях, послеязвенных рубцах) и 12 эктопий поджелудочной железы показал, что спектры аутофлуоресценции по своим характеристикам не отличаются от спектров друг друга и контрольной группы. Средние значения коэффициента флуоресцентной контрастности в точках, находящихся в области поражения, составили 0,27±0,04 и достоверно не отличались от показателей в интактной слизистой (0,23±0,05) и слизистой оболочке контрольной группы.

Анализ биоспектрограмм язвенного процесса любой локализации показал, что спектры аутофлуоресценции слизистой оболочки в язве по своим характеристикам значительно превышают спектры в контрольной группе. K_f язвенного поражения составил в желудке 0,5±0,09, в области анастомоза — 0,52±0,09, в области термического дефекта после полипэктомии — 0,52±0,06, в толстой кишке — 0,54±0,07 и статистически достоверно ($p<0,05$) отличался от контрольной группы. Динамические наблюдения в процессе лечения показали обратное развитие язвенного процесса, что выразилось в динамике стабилизации K_f .

При эндоскопической биоспектрофотометрии слизистой оболочки гиперпластических полипов желудка установлено, что спектры аутофлуоресценции в этих

случаях не отличались от спектров в контрольной группе, но имели различие со спектрами в интактной слизистой оболочке. В среднем K_f слизистой оболочки гиперпластического полипа составил 0,24±0,05 и был достоверно ($p<0,05$) ниже аналогичного в интактной слизистой — 0,37±0,04.

При эндоскопической биоспектрофотометрии слизистой оболочки аденом желудка выявлено, что спектры аутофлуоресценции отличались от спектров контрольной группы и имели различие со спектрами в интактной слизистой оболочке. В среднем K_f слизистой аденом составил 0,44±0,06 и был статистически достоверно ($p<0,05$) выше аналогичного в интактной слизистой — 0,28±0,05.

Обнаруженные изменения показателя флуоресцентной контрастности соответствуют литературным данным о различии морфологических изменений в СОЖ при различных полипах [15–20].

Результаты исследования 390 патологических процессов показали, что K_f варьировал в пределах от 0,15 до 1,1. Анализ этих данных позволил отметить, что при значениях $K_f=0,6$ и более нарастает вероятность обнаружения злокачественного процесса.

Были выделены две группы пациентов: с K_f меньше 0,6 (1-я) и с K_f , равным и более 0,6 (2-я группа).

В 345 случаях (88%) значение K_f не превышало 0,6. У этих пациентов были получены однородные спектры аутофлуоресценции, одинаковые по интенсивности, не зависящие от локализации патологических образований. Среднее значение K_f составило 0,48±0,09. При дальнейшем динамическом наблюдении в 9 случаях (2,3%) в данной группе был выявлен злокачественный характер роста. Этот результат был расценен как ложноотрицательный.

Значение K_f было равно или превышало 0,6 в оценке 46 наблюдений (12%). В этой группе были получены спектры аутофлуоресценции, значительно отличающиеся от таковых в 1-й группе. Обнаружены также существенные различия между интенсивностью аутофлуоресценции в интактной слизистой оболочке и в патологическом очаге. Значение K_f у больных данной группы в среднем составило 0,79±0,1 с колебаниями от 0,6 до 1,1, что статистически достоверно выше ($p<0,001$) значений в интактной слизистой. В 37 наблюдениях (9,4%) при гистологическом исследовании обнаружен злокачественный характер образования, в том числе в 32 случаях выявлена аденокарцинома.

Комплексное динамическое обследование 9 пациентов, у которых значение K_f превышало 0,6, не выявило злокачественного роста. Гистологически была обнаружена дисплазия эпителия разной степени. Увеличение интенсивности флуоресценции эндогенных порфиринов при тяжелой дисплазии обусловлено изменением метаболизма атипичных клеток и значительным накоплением эндогенных порфиринов при поражении всего эпителиального пласта. Эти наблюдения представляют значительный интерес, так как дисплазия, в особенности тяжелая, служит не только маркером риска развития карциномы, но и этапом морфогенеза рака [5, 13]. Поэтому пациенты нуждаются в комплексном динамическом наблюдении.

Следует отметить, что в данное исследование были включены больные с длительно протекающими патологическими процессами в желудке и толстой кишке, с чем, по нашему мнению, связана высокая специфичность метода.

Таким образом, оценка эндогенной флюоресценции позволяет анализировать тонкие биоспектрофотометрические эффекты и может быть использована в эндоскопическом диагностическом исследовании, особенно для решения вопроса о необходимости и выборе места прицельной биопсии в случае сомнительной визуальной и морфологической картины. Относительная дешевизна и малая инвазивность, отсутствие побочных эффектов и необходимости предварительной подготовки делают эндоскопичес-

кую биоспектрофотометрию методом выбора при динамическом наблюдении больных с хроническими заболеваниями желудка и кишечника.

Использование флюоресцентного метода в эндоскопии наряду с высокоспециализированной морфологической диагностикой позволяет значительно увеличить выявляемость злокачественных новообразований на ранних стадиях, тем самым своевременно определить показания к радикальному оперативному вмешательству.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сотников В.Н., Дубинская Т.К., Никишина Е.И. Полипы и доброкачественные подслизистые опухоли пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки // Современные принципы эндоскопической диагностики и лечения новообразований желудочно-кишечного тракта. – М., 1999. – С. 7–8.
2. Черноусов А.Ф., Поликарпов С.А., Годжелло Э.А. Ранний рак и предопухольные заболевания желудка. – М.: ИздАТ, 2002. – 256 с.
3. Онкология. Клинические рекомендации / под ред. В.И. Чиссова, С.Л. Дарьяловой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 701 с.
4. Пасечников В.Д., Чуков С.З. Эпидемиология рака желудка // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. – № 3. – С. 18–26.
5. Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process-First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention // Cancer Res. – 1992. – Vol. 52, N 24. – P. 6735–6740.
6. Faigel D.O., Eisen G.M., Baron T.H. et al. Tissue sampling and analysis // Gastrointest. Endosc. – 2003. – Vol. 57, N 7. – P. 811–816.
7. Кузин Н.М., Харнас С.С., Мерзляков А.Е. Флюоресцентная эндоскопия в диагностике рака желудка // Хирургия. – 1997. – № 6. – С. 70–71.
8. Рогаткин Д.А., Моисеева Л.Г., Барыбин В.Ф., Черный В.В. Современные методы лазерной клинической биоспектрофотометрии. Часть 1. Введение в биоспектрофотометрию. Используемые методики и аппаратное оснащение. – М.: Изд-во ВИНТИ, 1997. – 55 с.
9. Laxen F. Gastric polyps and gastric carcinoma // Ann. Clin. Res. – 1981. – Vol. 13, N 3. – P. 154–155.
10. Cothren R.M., Richards-Kortum R., Sivak M.V. et al. Gastrointestinal tissue diagnosis by laser-induced fluorescence spectroscopy at endoscopy // Gastrointest Endosc. – 1990. – Vol. 36, N 2. – P. 105–111.
11. Beck T., Stepp H., Wittig R. et al. A fluorescence diagnostic system detecting cancer-specific enzymatic activities: preliminary results // Proceedings of the SPIE. – 2009. – Vol. 7169. – 71691G–7176.
12. Золотаревский Б.Б., Склянская О.А. Сравнительная оценка дисплазии и раннего рака желудка по данным определения содержания ДНК // Архив патологии. – 1984. – № 5. – С. 59–66.
13. Рогаткин Д.А., Присяжкова О.А., Моисеева Л.Г., Черкасов А.С. Оценка точности лазерной клинической флюоресцентной диагностики // Измерительная техника. – 1998. – № 7. – С. 58–61.
14. Лапаева Л.Г. Закономерности взаимодействия лазерного излучения с биологической тканью, создание на их основе специализированного биофотометра: автореф. дис. ... канд. мед.наук. – М., 1999. – 24 с.
15. Коваленко В.Л., Куренков Е.Л., Кокшаров В.Н. Морфологическая характеристика гиперпластических и аденоматозных полипов желудка // Архив патологии. – 1998. – № 2. – С. 18–23.
16. Куренков Е.Л. Морфогенез и прогрессирование приобретенных эпителиальных полипов // Актуальные проблемы внутренней патологии: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рождения и 60-летию трудовой, творческой, научной и педагогической деятельности проф. П.Д. Синицына. – Челябинск, 2001. – С. 120–121.
17. Минушкин О.Н., Бурков С.Г., Бурдина Е.Г., Сербин А.М. Некоторые аспекты взаимосвязи геликобактерной инфекции, полипоза желудка и рака желудка // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. – № 3. – С. 7–11.
18. Минушкин О.Н., Арутюнов А.Г., Бурков С.Г. О взаимосвязи гиперпластических процессов в слизистой оболочке желудка и хеликобактерной инфекции // Терапевтический архив. – 2002. – № 1. – С. 37–40.
19. Самсонов В.А. Опухоли и опухолеподобные образования желудка. – М.: Медицина, 1989. – 240 с.
20. Серов В.В., Аруин Л.И. Дисплазия и ранний рак желудка // Архив патологии. – 1985. – № 11. – С. 6–13.
21. Поддубный Б.К., Нечинай А.М., Роттенберг В.И. Эпителиальная дисплазия и рак желудка // Советская медицина. – 1989. – № 3. – С. 34–38.
22. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии / под ред. Б.В. Гнеденко. – 2-е изд. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1980. – 150 с.

Поступила 07.08.2012

Контактная информация:

Великанов Евгений Викторович,
к.м.н., ведущий научный сотрудник
эндоскопического отделения
ГУ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского
e-mail: evg-velikanov@yandex.ru