

В. А. Солодкий, Ю. В. Синева, О. В. Иванова, И. Б. Грунин, П. Б. Коломацкая*

ВОЗМОЖНОСТИ КОНФОКАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ЭНДОМИКРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА

Отделение эндоскопических и рентгенохирургических методов диагностики и лечения хирургического отдела ФГБУ Российский научный центр рентгенодиагностики Минздрава России, Москва

*Коломацкая Полина Борисовна, врач отделения
117997, Москва, ул. Профсоюзная, д. 86
E-mail: annkol02@mail.ru

♦ У 51 пациента с подозрением на пищевод Барретта (ПБ) во время стандартной эзофагогастродуоденоскопии проведена эндомикроскопия с помощью конфокальной лазерной сканирующей системы Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция). Это новая неинвазивная методика позволяет посредством миниатюрного конфокального эндомикроскопа в режиме реального времени визуализировать различные типы эпителиальных клеток и выявлять характерные для ПБ и связанные с ним неопластические трансформации эпителия клеточные и сосудистые изменения. В статье сопоставлены данные эндомикроскопических исследований и морфологических заключений. ПБ и ассоциированные с ним неоплазии могут быть определены с чувствительностью 97,1 и 92,7% и специфичностью 94,1 и 98,2% соответственно (точность 96,6 и 97,2%).

Ключевые слова: пищевод Барретта, кишечная метаплазия, аденокарцинома пищевода, конфокальная лазерная эндомикроскопия, Cellvizio

V.A. Solodkiy, Yu.V. Sinev, O.V. Ivanova, I.B. Grunin, P.B. Kolomatskaya

THE POSSIBILITIES OF CONFOCAL LASER ENDOMICROSCOPY IN DIAGNOSTICS OF BARRETT ESOPHAGUS

The Russian research center of radiology and nuclear medicine of Minzdrav of Russia, Moscow

♦ The endomicroscopy using confocal laser scanning system Cellvizio (Mauna Kea Technologies, France) was applied to 51 patients with suspicion on Barrett esophagus during standard esophagogastroduodenoscopy. This is a new non-invasive technique which by the use of diminutive confocal endomicroscope in the real-time mode provides an opportunity to visualize various types of epithelium cells and to detect cell and vessel alterations typical for Barrett esophagus and related with it neoplastic transformations of epithelium. The data is compared concerning the endomicroscopic and morphologic reports. The Barrett esophagus and associated neoplasia can be detected with sensitivity of 97.1 and 92.7% and specificity of 94.1 and 98.2% correspondingly (accuracy 96.6 and 97.2%).

Key words: Barrett esophagus, intestinal metaplasia, adenocarcinoma of esophagus, confocal laser endomicroscopy, Cellvizio

Согласно современным представлениям, пищевод Барретта (ПБ) — приобретенное заболевание, основным морфологическим проявлением которого является замещение многослойного плоского неороговевшего эпителия нижней трети пищевода цилиндрическим, что рассматривается как факультативное предраковое состояние. Рак кардиоэзофагеальной зоны пищевода ассоциируется с ПБ в 40% случаев [6, 8, 9]. Заболевание возникает в среднем у 8—15% пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью [3, 6, 8, 9]. Аденокарцинома пищевода развивается в год у 0,5% пациентов с ПБ при дисплазии эпителия низкой степени, у 6% — при дисплазии высокой степени [6]. Рост показателей заболеваемости аденокарциномой дистального отдела пищевода и проксимального отдела желудка в последние годы превышает рост таковой при любых других злокачественных опухолях [4, 5]. Прогноз после такого диагноза неблагоприятный — 5-летняя выживаемость при раке пищевода составляет лишь 10% (результаты скрининга населения EUROCARE-2 в Европе) и не зависит от гистологического типа опухоли и степени ее дифференцировки [1]. Частота выявления аденокарциномы пищевода в России в настоящее время оценивается как 6–8 новых случаев на 100 тыс. населения в год [2].

Диагноз ПБ предполагает морфологическое подтверждение наличия в дистальном сегменте пищевода эпителия, перестроенного по кишечному типу. Патогномичным признаком ПБ являются бокаловидные клетки, содержащие кислый муцин и окрашивающиеся красителем алциановым голубым при pH 2,5. Именно наличие этих клеток определяет возможную трансформацию ПБ в аденокарциному [3,10]. Если при гистологическом исследовании выявляются только клетки фундального или кардиального

типа, то это состояние следует рассматривать лишь как цилиндроклеточную метаплазию пищевода, не связанную с высоким риском развития аденокарциномы пищевода [3]. Таким образом, выбор места забора биопсии приобретает решающее значение. Невзирая на широкие диагностические возможности новых эндоскопических методик улучшенной визуализации, эндоскопическое исследование с выполнением «слепых» биопсий в четырех точках по окружности пищевода и на протяжении каждого сантиметра по длине сегмента до сих пор является золотым стандартом в установлении диагноза ПБ. Точность такой диагностики очаговой кишечной метаплазии, однако, составляет лишь 48,2% [10].

Конфокальная лазерная эндомикроскопия — confocal endomicroscopy (CEM) или Confocal Laser Endomicroscopy (CLE) как раз и нацелена на преодоление этих недостатков. CLE — это недавно разработанная неинвазивная и постоянно совершенствующаяся методика, которая позволяет получать микроскопические изображения слизистой оболочки (СО) органов желудочно-кишечного тракта посредством миниатюрного конфокального эндомикроскопа во время рутинной эндоскопической процедуры in vivo в режиме реального времени в разрешении, приближенном к обычной световой микроскопии [7].

Таким образом, цель настоящего исследования заключалась в оценке возможностей конфокальной эндомикроскопии для прижизненной диагностики ПБ и ассоциированных с ним дисплазии и неоплазий.

В период с 2009 по 2012 г. обследован 51 пациент с подозрением на ПБ. Использовали метод комплексной эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) с применением видеэндоскопической системы Olympus GIF-150 и систе-

Таблица 1

Распределение пациентов по направлению диагноза

Диагноз	Число больных	
	абс.	%
Пищевод Барретта и подозрение на него	28	54,90
Полип пищевода	3	5,88
Опухоли различных локализаций	15	29,41
Неопухолевые заболевания	5	9,80
Всего ...	51	100,0

мы конфокальной лазерной визуализации тканей *in vivo* Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция). У всех пациентов одновременно осуществляли забор биопсийного материала. В исследование включены пациенты с длительными (более 13 лет) симптомами гастроэзофагеального рефлюкса и подозрением на ПБ, а также пациенты с установленным диагнозом ПБ (табл. 1).

Пациенты соответствовали следующим критериям: возраст 18—75 лет, протяженность выявленного сегмента ПБ как минимум соответствовала C0M1 (согласно Пражским критериям 2004 г.) при подозрении на наличие интраэпителиальной неоплазии, площадь пораженной СО составляла менее 1 см².

Для уменьшения вероятности получения ложноположительных результатов при эндомикроскопическом и гистологическом исследовании все пациенты получали консервативную терапию ингибиторами протонной помпы в среднетерапевтической дозе в течение по крайней мере 2 нед до CLE (омепразол 40 мг/сут, поддерживающая терапия 20 мг/сут). Особое внимание уделялось получению четких конфокальных видеозаписей. Для исключения артефактов, вызванных кашлем, перистальтикой и непреднамеренными движениями пациентов во время исследований применялась глубокая седация с внутривенным гипнотиком — 1% пропופолом.

Конфокальная лазерная эндомикроскопия (CLE). Основные принципы и методика выполнения. Морфологическое исследование

Для получения конфокальных изображений СО пищевода использовали эндомикроскопическую систему Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция). В зарубежных источниках литературы за этой методикой закрепилось сокращенное обозначение pCLE — от probe-based Confocal Laser Endomicroscopy [7]. Система Cellvizio состоит из трех частей: конфокального лазерного сканирующего блока (включает лазерный источник, излучающий электромагнитные волны длиной 488 нм), рабочей станции с программным обеспечением и конфокальных мини-зондов (рис. 1). Мини-зонды, содержащие десятки тысяч фиброволокон и миниатюрный оптический объектив, передают сканирующий лазерный луч определенной длины волны и низкой мощности излучения в зону наблюдения внутри пищевода и фиксируют флуоресцентный свет, отражаемый тканью (рис. 2). Через 2—3 мин после внутривенного введения 2,5 мл 10% раствора флуоресцеина натрия приступают к получению конфокальной видеозаписи продолжительностью 30 с (12 кадров в 1 с). После применения флуоресцеина возможно идентифицировать эпителиоциты, капилляры, эритроциты, межклеточное вещество. Ядра клеток и муцин не окрашиваются флуоресцеином и на конфокальных изображениях визуализируются в виде темных пятен.

После определения уровня кардиоэзофагеального перехода (КЭП) pCLE выполняли по всей окружности пищевода и протяженности визуально измененной СО дистального отдела пищевода (бархатисто-красной, «желудочно-подобной» или пестрой с подчеркнутым со-



Рис. 1. Эндомикроскопическая система Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция).

судистым рисунком), а также в области так называемых языков пламени. Интересующие участки СО пищевода маркировали и из них бралась прицельная биопсия. Для гистологического исследования использовали парафиновые срезы толщиной 5—7 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином.

Статистическая обработка данных выполнена на персональном компьютере с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 6.0, StatSoft Inc. (США). Рассчитывали показатели точности эндомикроскопической диагностики ПБ и связанных с ним неоплазий: показатели специфичности, чувствительности, положительной и отрицательной прогностической ценности, являющиеся весьма объективными критериями качества. Также при постановке отсроченного гистологического диагноза рассчитывали коэффициент согласия наблюдателей (коэффициент, показывающий степень совпадения данных, полученных одновременно разными наблюдателями в разное время).

Мы обследовали 51 пациента (36 мужчин и 15 женщин) в возрасте от 18 до 74 лет. Обследованные соответствовали всем критериям протокола исследования. Исследование проводили в период с мая 2010 г. по март 2012 г. Средний возраст пациентов составлял $56,8 \pm 16,1$ года и принципиально не различался у мужчин и женщин. Средняя продолжительность комплексной ЭГДС с pCLE и записью составила 30 ± 19 мин. После внутривенного введения флуоресцеина у всех пациентов возникло незначительное желтушное окрашивание кожных покровов и видимых слизистых оболочек, которое исчезло во всех случаях в течение 60—90 мин. У 24 (47%) пациентов отмечалось темное окрашивание мочи в течение 2 сут после

исследования. Никаких других побочных эффектов не зафиксировано.

У 9 из 12 пациентов с диспластическими изменениями, связанными с ПБ, имелись видимые характерные очаговые изменения СО. У 3 пациентов (у 2 дисплазия тяжелой степени, у 1 преинвазивная карцинома) СО была без видимых очаговых изменений.

В общей сложности получена 571 конфокальная запись (средняя продолжительность 3 мин 20 с ± 1 мин 5 с) из 350 различных участков верхних отделов желудочно-кишечного тракта (пищевод с СО, покрытой многослойным плоским эпителием, — 90 участков, дистальный отдел пищевода — 126 участков, кардия — 80 участков, антральный отдел желудка — 54 участка). В целом с хорошим качеством были признаны 200 (35%) записей из полученных. Снижение качества получаемых конфокальных изображений происходило в основном из-за артефактов, возникающих вследствие движений пациентов (смазанные, нечеткие картинки), а также из-за неправильно подобранной дозы флюоресцеина натрия: при превышении оптимальной дозы (2,5 мл) изображение получалось слишком светлым.

При pCLE нормального многослойного плоского неороговевающего эпителия дистального отдела пищевода визуализировались характерные темные однотипные полигональные клетки в виде так называемых пчелиных сот с четкими границами между отдельными клетками. Капилляры собственно пластинки СО, образующие петли и ориентированные по направлению от базального слоя в сторону слоя плоских клеток, легко идентифицировались благодаря яркому свечению из-за находившегося в их просвете высококонтрастного флюоресцеина в высокой концентрации (рис. 3 на 4-й полосе обложки).

Цилиндрические эпителиоциты кардиального и антрального отделов желудка были представлены в виде темных клеток правильной формы, формирующих желудочные ямки, в которые открываются выводные протоки желудочных желез, имеющих округлую форму в области кардиального отдела и тела желудка и продолговатую, вытянутую форму в антральном отделе (рис. 4 на 4-й полосе обложки).

Рыхлая, волокнистая соединительная ткань, располагающаяся между желудочными ямками и клетками стромы, была богато васкуляризована и выглядела очень светлой, яркой. Внутренняя поверхность желудка, покрытая однослойным высокопризматическим эпителием, при pCLE имела характерный вид булыжной мостовой: светлые клетки с темными краями (см. рис. 4).

При ПБ определялся цилиндрический эпителий (кишечный тип эпителия) с темными бокаловидными клетками, содержащими муцин. Эти патогномичные для ПБ клетки легко идентифицировались в поверхностном слое СО (рис. 5 на 4-й полосе обложки). Эпителий, характерный для ПБ, имел при pCLE характерную villous структуру, что позволяло с легкостью отличить его от так называемой желудочной метаплазии СО пищевода, для которой в свою очередь характерно наличие призматиче-



Рис. 2. Конфокальный мини-зонд Gastro-Flex™ (Mauna Kea Technologies, Франция) вставляется в рабочий канал эндоскопа

ского эпителия с типичными округлой формы выводными протоками желез желудочного типа и с капиллярами правильной формы только в глубоких частях СО (см. рис. 5).

Важно учитывать, что, так как флюоресцеин из-за своих фармакологических свойств не окрашивает ядра клеток, то дифференцировать степень дисплазии эпителия, ранний рак не представлялось возможным, поэтому изменения эпителия характеризовались обобщенно как неопластические. При неоплазии выявлялись хаотично расположенные полиморфные и бесформенные крупные темные клетки. Извитые капилляры неправильной формы определялись как в поверхностных, так и в более глубоких слоях СО. Характерной являлась утечка флюоресцеина кровеносных сосудов, которая приводила к возникновению резко гетерогенного и яркого излучения в пределах собственной пластинки СО (рис. 6 на 4-й полосе обложки).

У 41 (80%) пациента при pCLE определялся характерный для кишечной метаплазии СО пищевода цилиндрический эпителий villous структуры, у 10 (20%) выявлено сочетание многослойного плоского эпителия дистальной части пищевода в виде полигональных клеток с четкими границами и цилиндрических эпителиоцитов кардиального типа в виде темных клеток правильной формы с округлыми отверстиями выводных протоков желудочных желез, что характерно для неизмененного КЭП. В общей сложности 126 участков СО терминального отдела пищевода были исследованы с помощью pCLE (табл. 2). ПБ был обнаружен в 63 участках, неопластические изменения были выявлены в 23 участках изучаемой СО, а эпителий, подобный желудочному (при гистологическом исследовании соответствующие кардиальным и фундальным типам метаплазии), — в 17 участках СО пищевода. У пациентов с неизмененным КЭП при pCLE была диагностирована только желудочная метаплазия эпителия (23 участка СО).

Все 149 записей конфокальных изображений, полученных из терминального отдела пищевода в области

Таблица 2

Распределение морфологических данных, полученных при лазерной конфокальной эндомикроскопией и гистологическом исследовании (126 участков СО дистального отдела пищевода у 51 больного)

Конфокальная лазерная эндомикроскопия (pCLE)	Количество участков СО дистального отдела пищевода	Гистологическое исследование				
		фундальный и кардиальный типы метаплазии	кишечная метаплазия неполного типа (ПБ)	дисплазия легкой степени	дисплазия тяжелой степени	рак
Желудочная метаплазия	40	38	2	0	0	0
Кишечная метаплазия неполного типа (ПБ)	63	2	59	1	1	0
Неоплазия	23	0	2	8	7	6

Z-линии (126 участков СО), были сохранены в цифровом виде и через 7 дней после проведенного комплексного ЭГДС также повторно оценивались без учета личности пациента, данных анамнеза, жалоб и эндоскопической картины. Проведен анализ соответствия морфологических заключений, сделанных в результате интерпретации конфокальных изображений, в сравнении с конечными гистологическими заключениями после исследования биоптатов, полученных в результате прицельных биопсии из участков СО дистального отдела пищевода, которые были промаркированы как участки СО с цилиндрической метаплазией эпителия (526 биопсий; см. табл. 2).

Сопоставление показало, что ПБ можно предсказать при помощи pCLE с чувствительностью 97,1% и специфичностью 94,1% соответственно (точность 96,6%, положительная прогностическая ценность 97,2%, отрицательная прогностическая ценность 96%). Помимо этого, неопластические изменения эпителия пищевода, ассоциированные с ПБ, могут быть предсказаны с чувствительностью 92,7% и специфичностью 98,2% соответственно (точность 97,2%, положительная прогностическая ценность 91,97%, отрицательная прогностическая ценность 98,2%). При отсроченном анализе конфокальных записей и изображений с использованием эндомикроскопической классификации эпителия дистального отдела пищевода (через 7 дней после ЭГДС было выбрано наугад 45 конфокальных записей у 20 пациентов, просмотр осуществлялся трижды), коэффициент согласия наблюдателей составил 0,843.

Таким образом, микроскопический анализ клеточной и сосудистой архитектоники обеспечил высокий уровень как чувствительности (97,1%), так и специфичности (94,1%) диагностики как самого ПБ, так и этапов его неопластической прогрессии. Более того, при отсроченном анализе конфокальных записей также воспроизводятся высокие значения показателей чувствительности и специфичности метода, что демонстрирует полученное значение коэффициента согласия наблюдателей. Примечательно, что ни одна из существующих методик улучшенной визуализации СО пищевода не обеспечивает одновременно такой высокой чувствительности и специфичности

диагностики ПБ и развивающихся на его фоне неопластических изменений.

Методика конфокальной лазерной эндомикроскопии, несомненно, чрезвычайно полезна как при первичной диагностике ПБ, так и в процессе динамического наблюдения за пациентами с ПБ (в том числе за получавшими эндоскопическое лечение), позволяя своевременно и точно обнаружить неопластическую трансформацию неполной кишечной метаплазии плоского эпителия пищевода и безотлагательно приступить к лечебным мероприятиям, что, несомненно, экономит временные и материальные ресурсы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е. М. Состояние онкологической помощи населению России и стран СНГ в 2004 г. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина. 2006; 14 (3; прил. 1): 11—44.
2. Чиссов В. И., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2008 г. (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росмедтехнологий»; 2010: 18—19.
3. Давыдов М. И., Тер-Ованесов М. Д., Стилиди И. С. и др. Пищевод Барретта: от теоретических основ к практическим рекомендациям. Практическая онкология. 2003; 4 (2): 109—119.
4. Blot W. J., Devesa S. S., Kneller R. W. et al. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. J.A.M.A. 1991; 265: 1287—9.
5. Devesa S. S., Blot W. J., Fraumeni J. F. Jr. Changing pattern in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. Cancer. 1998; 83: 2049—53.
6. Haggitt R. C. Pathology of Barrett's esophagus. J. Gastrointest. Surg. 2000; 4 (2): 117—8.
7. Kiesslich R., Gossner L., Goetz M. et al. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2006; 4 (8): 979—87.
8. Mueller J., Werner M., Stolte M. Barrett's esophagus (histopathologic definitions and diagnostic criteria). World J. Surg. 2004; 28: 148—54.
9. Murray L., Watson P., Johnston B. et al. Risk of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: population based study. Br. Med. J. 2003; 327: 534—35.
10. Sharma P., McQuaid K., Dent J. et al. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus (the AGA Chicago Workshop). Gastroenterology. 2004; 127: 310—30.

Поступила 29.05.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 612.015:577.118|064.08

Н. И. Медведкова^{1,*}, В. Д. Медведков¹, С. В. Аширова²

ХРОМОНИКЕЛЕВАЯ РАЗГРУЗКА ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

¹Чайковский государственный институт физической культуры; ²чайковская детская поликлиника

*Медведкова Наталья Ивановна, д-р педагогических наук, проф.
617764, Пермский край, г. Чайковский, ул. Ленина, д. 67
E-mail: medvedkovani@yandex.ru

♦ В результате проведенных фундаментально-прикладных исследований установлена возможность хромоникелевой разгрузки организма человека мышечными нагрузками, используемыми в экологически относительно чистом месте. Эффект заключается в следующем. Излишки никеля и хрома в организме человека обуславливают канцерогенез. Накопление в организме человека хрома и никеля приводит к «поломке» микроэлементного гомеостаза. Внедрение в практику хромоникелевой разгрузки организма защитит его от химического канцерогенеза, обусловленного указанными металлами.

Ключевые слова: хромоникелевая разгрузка организма, физические нагрузки, дети, реабилитация

N.I. Medvedkova, V.D. Medvedkov, S.V. Ashirova

THE CHROME NICKEL UNLOAD OF HUMAN ORGANISM

The Chaikovskiy state institute of physical culture, Chaikovskiy, The Chaikovskiy children hospital, Chaikovskiy

♦ The article deals with the results of fundamental applied studies concerning the possibility of chrome nickel unload of human organism through muscle exercises applied in relatively ecological clean place. The surplus of nickel and chrome in human