

Князев Михаил Викторович

**РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ
ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ И В
ВЫБОРЕ МЕТОДА ИХ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.17 - Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена в

ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины
Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации» .

Научный консультант:

Дуванский Владимир Анатольевич

доктор медицинских наук, зав. кафедрой эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии
ФПК МР МИ РУДН, 14.01.17.- Хирургия

Официальные оппоненты:

Коржева Ирина Юрьевна

доктор медицинских наук, профессор кафедры эндоскопии ГБОУ ДПО «Российская
медицинская академия последипломного образования» Минздрава РФ, 14.01.17.- Хирургия

Балалыкин Алексей Степанович

доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии института усовершенствования
врачей ФКУ «Медицинский учебно-научный клинический центр им. П.В. Мандрыка»
Министерства обороны РФ, 14.01.17.- Хирургия

Королёв Михаил Павлович

доктор медицинских наук, зав. кафедрой общей хирургии с курсом эндоскопии Санкт-
Петербургского государственного педиатрического медицинского университета Минздрава
РФ, 14.01.17.- Хирургия

Ведущая организация:

Московский Клинический Научно-практический центр департамента здравоохранения г.
Москвы (МКНЦ)

Защита диссертации состоится « » 2016 года в 14.00 часов на заседании
Диссертационного совета Д 212.203.37 на базе ФГАОУ ВО «РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ДРУЖБЫ НАРОДОВ» по адресу: 117198, г. Москва, улица Миклухо-Маклая 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «РОССИЙСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, .
Полный текст диссертации размещается на сайте "Диссертационные советы РУДН" в сети
интернет (<http://dissovet.rudn.ru>)

Автореферат разослан « » 2016 года

Ученый секретарь диссертационного Совета

кандидат медицинских наук, доцент

Персов Михаил Юрьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Понятие эпителиальное новообразование объединяет в себе различные виды полипов и ранний рак желудочно-кишечного тракта. По мнению российских и зарубежных исследователей диспластические изменения в клетках тканей переходят в рак или являются маркером существующего процесса канцерогенеза [Аруин Л.И., 2002, Correa P., 1988]

Эпителиальные новообразования могут располагаться в любом отделе пищеварительного тракта и относятся к числу распространенных заболеваний этой системы [Золотаревская В.Б., 1989]. Полипы желудка составляют 5 – 10% всех опухолей желудка [Ивашкин В.Т., 2002]. По обобщенным данным многолетних наблюдений, малигнизация полипов желудка наблюдалась в 12 – 68%, что дало основание отнести аденоматозные полипы желудка к категории истинных предраков [Лукиных А.К., 1997, Далидович К.К., 2003]. Установлено [Березов Ю.Е., 1975], что наиболее часто подвергаются малигнизации полипы кардиального отдела желудка – 35%. Малигнизация может развиваться не только в полипе, но и в окружающей слизистой оболочке, в которой, как и в самом полипе, обнаруживаются фокусы мультицентрической пролиферации и рака *in situ* [Волова А.В., 2005, Франк Г.А., 2000]

Согласно классификации ВОЗ 2010 года [Snover D.C., 2010] все новообразования толстой кишки делятся на 2 группы: незубчатые (аденомы) и зубчатые. В последней группе определены три варианта строения зубчатых поражений, имеющие тонкие архитектурные различия. Все они обладают канцерогенным потенциалом: гиперпластический полип (HP), зубчатое образование на широком основании (SSA/P – sessile serrated adenoma/polyp) и традиционная зубчатая аденома (TSA- traditional serrated adenoma). Аденокарцинома толстой кишки, возникшая из зубчатых поражений (SSL- sessile serrated lesions) и имеющая зубчатые изменения в структуре, называется зубчатой аденокарциномой [Jass J., 1992, Leggett B., 2010]. Две трети всех колоректальных раков развиваются из аденом, одна треть исходит из зубчатых образований [Shimoda T., 1989]. К незубчатым новообразованиям относятся тубулярная, тубуло-ворсинчатая, villous аденома. Аденомы выявляются примерно в 25 % от всех выполненных колоноскопий [Van Rijn J.C. 2006, Rabeneck L., 2008]. Проведение дифференциальной диагностики между зубчатыми и аденоматозными новообразованиями и выявление в них канцероматозных изменений *in vivo* остается трудной задачей и требует разработки дополнительных методов детекции и верификации [Massimiliano di Pietro., 2014]

Основным методом лечения эпителиальных новообразований, в т.ч. рака желудка и толстой кишки, остается их удаление. Успех лечения которых напрямую зависит от стадии заболевания. Появляются все больше данных о том, что ранние формы рака желудка и толстой кишки без признаков инвазии в подслизистые структуры могут быть успешно излечены эндоскопическими методами – резекцией слизистой с\без диссекции подслизистого слоя.

Однако, среди них до 5% случаев отмечаются рецидивы роста опухоли с метастазированием в регионарные лимфоузлы. Несмотря на то, что этот показатель соизмерим с частотой возникновения рецидивов после открытых операций при этой же стадии рака, ведутся поиски путей снижения его до минимума [Hanaoka N., 2009., Li H., 2010]. Одним из таких подходов является определение диспластического и канцерогенетического потенциалов в эпителиальных новообразованиях желудка и толстой кишки на ранних стадиях их развития и при их минимальных размерах. Для установления наличия и выраженности диспластических и неопластических изменений при проведении эндоскопического исследования применяются описательные критерии оценки особенностей ямочного строения и микроваскулярного рисунка слизистой оболочки в критической зоне. С этой целью используются эндоскопы с высоким оптическим разрешением, увеличение изображения в 115 и более раз, различные световые режимы [J.Cohen, K.Yao 2006]. На основании особенностей строения микроархитектоники ямочного рисунка и микроваскулярной сети слизистой выработаны критерии визуальной дифференциальной и уточняющей диагностики, предложены и применяются авторские классификации, но определение патогномоничных признаков перехода эпителия от нормального к метапластическому, диспластическому и, в итоге, к его канцероматозной трансформации продолжает оставаться окончательно нерешенной задачей [Takafumi O, Yoshida T. 2012]. Возможным методом объективной детекции инициации злокачественного перерождения могла бы стать аутофлуоресценция. Применение феномена аутофлуоресценции при выполнении эндоскопического исследования позволило бы получить дополнительные данные о биологических свойствах тканей слизистой и возможность оптимизировать дифференциальную диагностику и выбрать адекватный метод лечения [Krauss E., 2012].

Были получены обнадеживающие результаты применения аутофлуоресценции при бронхоскопии в диагностике трахеобронхиальных раков. Вопросы применения эндоскопической аутофлуоресценции в желудочно-кишечном тракте изучены недостаточно и в деталях не разработаны [Moghissi K 2008., Wang Y. 2013., van der Heijden E.H. 2015].

При злокачественных новообразованиях желудка и толстой кишки определяются различные вирусы. Вирус Эпштейна Бара (ЭБВ) был первым вирусом, выделенным из опухоли в 1964г. Затем ЭБВ был выделен в назофарингеальной карциноме (Pathmanathan et al., 1995), при аденокарциноме желудка [Shibata and Weiss, 1992]. При раке желудка в 6-16% определяется вирус ЭБВ, он чаще поражает мужчин и ассоциируется с низкодифференцированным типом рака [Tokunaga M., 1993].

Вирус папилломы человека вызывает аденокарциному пищевода [Togawa Z., Rustgi A. 2005]. В 47% случаев при плоскоклеточном раке пищевода и в 29% случаев аденокарциномы кардии присутствует 16 тип этого вируса. Вирус JCV (John Cunningham virus) и боковир (БКВ) относятся к семейству polyomavirus human virus. Эти вирусы, а так же

Эпштейна Бара, не так часто, определяются при аденокарциноме пищевода и при плоскоклеточном раке пищевода. Экспрессию онкогенного JCV протеина E-Ag выделили раке желудка [Murai Y. 2007]. Вирус JCV T-Ag вызывает каскад хромосомных нарушений при колоректальном раке. JCV T-обнаружен в 82% аденоматозных полипах кишки, причем вирус поражает ядро аденоматозной клетки и никогда не поражает нон- неопластическую клетку [Jung W.T. 2008]. При раке кишки полуколичественным методом обнаружено в 10 раз больше этого вируса, чем в нормальной ткани [Laghi L. 2005].

В Японии из всех диагностированных опухолей желудка только 10% составляют ранние раки, и это самый высокий показатель в мире, но еще явно недостаточный [Ахон А., 2006]. Поэтому эндоскопическая аутофлуоресценция рассматривается как еще один высокотехнологичный инструмент в повышении выявляемости раннего рака желудочно-кишечного тракта [A.Sieron 2013].

Степень разработанности темы исследования. Природа трансформации нормальной ткани в канцероматозную содержит в себе много нерешенных вопросов. Роль и значение аутофлюоров в этом процессе также не полностью понятны, на каком этапе они появляются в ткани, связано ли их появление с гистологическим строением и диспластическими изменениями, зависит ли от размера новообразования и локализации в различных отделах органов желудочно-кишечного тракта. В литературе нет данных о применении аутофлуоресценции при новообразованиях желудка и толстой кишки, инфицированных какими-либо вирусами. Вопрос, зависит ли вид аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований от поражения их вирусами и другие вопросы остаются открытыми, что и явилось основанием провести данную работу. Практическая важность перечисленных вопросов определила цель и задачи данного диссертационного исследования.

Цель исследования: совершенствование диагностики и лечения предраковых новообразований желудка и толстой кишки путем разработки методологии, систематизации и комплексной оценки применения методики аутофлуоресцентной эндоскопии заболеваний желудка и толстой кишки.

Задачи исследования.

1. Усовершенствовать метод применения аутофлуоресцентной эндоскопии в диагностике эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки.
2. Установить зависимость вида аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований от гистологического строения, размера и локализации по отделам желудка и толстой кишки.
3. Определить зависимость вида аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки от их вирусной инвазии цитомегало-, герпеса 1 и 2

типов, боко, бычьей диареи и адено вирусами.

4. Установить значение аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки в выборе метода эндоскопического лечения.
5. Разработать лечебно-диагностические алгоритмы выявления, верификации и выбора метода лечения эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки на основе аутофлуоресцентной эндоскопии.

Научная новизна. Впервые проведено исследование по сравнению вида и частоты распределения аутофлуоресценции в диапазоне света с длиной волны 540-560 нм, полученного при освещении светом с длиной волны 390-470 нм опухолевой, аденоматозной, гиперпластической и воспалительной ткани в желудке и толстой кишке в зависимости от вирусной инвазии этих тканей, их размера, локализации по отделам. Определены значимые диапазоны распределения частот пурпурного вида аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки при воспалительных, гиперпластических, аденоматозных и канцероматозных изменениях слизистой.

Доказано, что частота аутофлуоресцентного окрашивания не зависит от наличия вирусов в новообразованиях, так же не зависит от локализации новообразований по разным отделам толстой кишки. Установлено, что вид эндоскопической аутофлуоресценции зависит от гистологического строения и размера эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки.

Усовершенствован и внедрен метод аутофлуоресцентной дифференциальной диагностики в выборе эндоскопического метода лечения эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки и доказана его эффективность.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Для применения в повседневной клинической практике предложен алгоритм определения диспластического и канцерогенного потенциала эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки во время эндоскопического исследования на основе их аутофлуоресценции, а также показания к их эндоскопическому удалению. Разработанный метод, позволяет повысить эффективность первичной и уточняющей диагностики эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки с диспластическими и канцероматозными изменениями в них, уточняет показания и выбор метода эндоскопического лечения.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Вид и частота распределения аутофлуоресцентного свечения ткани зависит от её гистологической структуры.
2. Аутофлуоресцентное окрашивание в пурпурный цвет свойственно тканям с диспластическими изменениями, частота распределения возрастает по мере их

выраженности и достигает максимума при канцероматозных изменениях.

3. Присутствие цитомегало-, герпеса 1 и 2 типов, боко-, бычьей диареи и адено- вирусов в эпителиальных новообразованиях толстой кишки не вызывает увеличение частоты распределения аутофлуоресцентного окрашивания в пурпурный цвет.
4. Аутофлуоресцентное окрашивание в пурпурный цвет эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки может служить дополнительным критерием для их эндоскопического удаления вне зависимости от размера и локализации в отделах этих органов.

Степень достоверности и апробация результатов. При анализе результатов использовали методы математической статистики. Достоверным считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Основные результаты диссертационной работы доложены: на конференциях Российской гастроэнтерологической недели, Москва, октябрь 2014, 2013, 2012г.г.; на Российско-Японском симпозиумах «Современные достижения эндоскопии пищеварительного тракта», Москва, февраль 2014, 2013, 2010г.г.; на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии» Санкт-Петербург, март 2014, 2012г.г.; на международной конференции «Гастроэнтерология на стыке дисциплин». Минск, май 2011г. Опубликовано 26 работ по материалам диссертации, из них 17 публикаций в ведущих рецензируемых научных журналах из перечня ВАК РФ.

Личное участие автора было полное на всех этапах создания этой работы: от выработки концепции и дизайна исследования, формирования цели и задач исследования, подбора метода и инструментария, выбора методов статистической обработки и проведения самих расчетов. Автор лично проводил все эндоскопические исследования и оперативные вмешательства, писал протоколы этих вмешательств, проводил фотографирование этапов эндоскопии и удаления эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки, проводил забор биопсийного материала для гистоморфологического и вирусологического исследований. Автором написаны все главы и разделы данной работы, выступал соавтором статей и публикаций, выступал с докладами по результатам диссертационной работы и проводил презентации на конференциях, симпозиумах и т.д.

Диссертационная работа написана по национальному стандарту РФ ГОСТ Р 7.0.11-2011. Работа изложена на 227 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 74 таблицами, 52 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 223 источника, в том числе 205 зарубежных.

Научные и практические вывод данного исследования легли в основу практической работы отделения эндоскопии ФБЛПУ «филиал №2 лечебно-реабилитационного центра министерства экономического развития Российской Федерации» и ФГБУ «Государственный

научный центр лазерной медицины ФМБА России».

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика клинических наблюдений больных с эпителиальными новообразованиями желудка и толстой кишки. За период 2009 по 2014 годы обследованы 5362 пациента, обратившихся с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и направленные гастроэнтерологами для проведения эзофагогастровideosкопии (ЭГДС) и/или колоноvideosкопии (КС). в отделение эндоскопии и дневной стационар ФБЛПУ «Филиал №2 лечебно-реабилитационного центра Минэкономразвития России». Эндоскопические вмешательства проводили в плановом порядке. Пациенты отбирались случайным образом для проведения эндоскопии ЖКТ в режиме аутофлуоресценции.

Пациенты направлялись для проведения эндоскопии терапевтами, гастроэнтерологами по поводу различной патологии желудочно-кишечного тракта. Основными направлятельными диагнозами были желудочная диспепсия, обострение хронического гастрита, гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь, исключение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. В 78% случаев проводилась биопсия слизистой желудка в теле и антральном отделе для дополнительной верификации инфекции *Helicobacter pylori*. У 455 пациентов эндоскопическое исследование проводилось по поводу симптома ускоренной скорости оседания эритроцитов (СОЭ), анемии неясного генеза.

Основными направлятельными диагнозами для проведения колоноvideosкопии выступали синдром раздраженного кишечника, хронический геморрой, а так же анемия неясного генеза и синдром ускоренного СОЭ. Пациенты предварительно обследовались у колопроктолога, гастроэнтеролога.

Эндоскопическое обследование с применением аутофлуоресценции было проведено 5362 пациентам обоих полов от 22 до 89 лет ($57 \pm 13,6$), 3688 (68%) пациентам была проведена эзофагогастродуоденоvideosкопия, 1674 (32%) - эндоскопическое обследование нижнего отдела желудочно-кишечного тракта. В 7,3% (392 пациента) случаев от общего числа обратившихся были выявлены эпителиальные новообразования желудка и толстой кишки.

При аутофлуоресцентной эзофагогастродуоденоvideosкопии эпителиальные новообразования желудка обнаружены у 123 (3,3%) из 3688 пациентов (возраст 22-83 года ($52 \pm 5,9$) м-46, ж-77). При видеоколоноскопии с применением режима аутофлуоресценции эпителиальные новообразования толстой кишки были обнаружены у 269 (16%) из 1674 больных (средний возраст - $58 \pm 9,9$ лет, м – 163, ж – 106). В 167 случаях проведено эндоскопических удалений эпителиальных новообразований различными способами – в 29 случаях из желудка, в 138 – из толстой кишки.

Методика и техника исследования. Аутофлуоресцентную эндоскопию желудка и толстой

кишки (AutoFluorescence Imaging – AFI). Проводили на аппаратно-инструментальном эндоскопическом комплексе Люцера (Olympus Lucera System) позволивший получить аутофлуоресцентные изображения слизистой оболочки исследуемых органов. Слизистая оболочка освещалась попеременно светом от ксенонового источника через ротационный фильтр, пропускающий зеленый и синий (395-475нм) спектры света. Возникающая естественная аутофлуоресценция характеризуется зеленым свечением (длина волны 500 нм). Для регистрации отраженного аутофлуоресцентного света сверхчувствительной CCD-матрицей на дистальном конце эндоскопа установлен специальный световой фильтр, пропускающий свет с длиной волны 490-625 нм. При отражении от слизистой и подслизистого слоев световых волн данного диапазона, матрица фиксирует полученное изображение, при этом электронная система искусственно окрашивает, полученное в синем спектре аутофлуоресцентное изображение, в зеленый цвет. Отраженное аутофлуоресцентное изображение, полученное в зеленом спектре, искусственно перекрашивается в пурпурный цвет [Кашин С.В. и соавт. 2012]. Полученные изображения суммируются, усиливаются и отображаются на экране монитора. Включение режима аутофлуоресценции осуществляется нажатием специализированной функциональной кнопки на рабочей части эндоскопа. Использовали видеогастроскопы фирмы Олимпас (Япония) модели GIF-Q 260 Н, колоноскопы GF-260 AL, оснащенные функцией высокого разрешения изображения (HD), увеличения изображения до 115 раз (ZOOM), осмотра в узком спектре света (NBI) и аутофлуоресценции (AFI).

Функция высокого разрешения изображения (HD) является усовершенствованным методом эндоскопической визуализации, обеспечивающей получение изображения высокого качества путем значительного увеличения количества пикселей (более миллиона), в сравнении с обычными эндоскопами. Данная методика позволила улучшить детализацию поверхностных структур ямочного рисунка слизистой оболочки.

Исследование в узком спектре света (Narrow Band imidging – NBI) – технология, позволяющая селективно улучшать контрастность кровеносных сосудов слизистой оболочки (СО) и подслизистого слоя. Визуализацию тонких капилляров СО обеспечивает узкоспектральное освещение с длиной волны 415 нм, более крупных сосудов – 540 нм. Узкоспектральная эндоскопия обладает эффектом, подобным хромоэндоскопии. Эндоскопическое исследование в режиме NBI, HD и увеличение изображения в 1,2-1,5 раз (ZOOM) позволили оценивать тонкую структуру слизистой оболочки. В своей работе использовали классификацию строения ямочного рисунка и микроваскулярной сети неизменной (нормальной) слизистой оболочки и очагов ее неопластических поражений, разработанной японскими учеными [Yao K. и соавт. 2002].

Исследование слизистой оболочки желудка и толстой кишки проводили с

помощью эндоскопов, на дистальном конце которых устанавливали специальные прозрачные колпачки MB-162 и D-201-15004, (Olympus, Tokyo) выступающие на 3 мм в просвет исследуемого органа. Колпачок позволяет сохранять расстояние в 3 мм между слизистой оболочкой и дистальным концом эндоскопа, что обеспечивает получение хорошо сфокусированного и устойчивого изображения. Кроме того, колпачок, путем упора в исследуемый участок слизистой оболочки давал возможность зафиксировать поле зрения и рассмотреть последний в деталях. Эндоскопические исследования проводили как под местной анестезией (спрей-раствором лидокаина 10%) путем орошения ротоглотки, так и под медикаментозной седацией, проводимой врачом-анестезиологом в условиях дневного стационара поликлиники.

Эзофагогастродуоденовидеоскопия. Для устранения слизи со стенок желудка пациенты перед исследованием верхних отделов ЖКТ принимали внутрь 15 мл раствора семитикона «Эспумизан» с 15 мл физиологического раствора. Видеогастроскопию выполняли сначала в белом свете: поэтапно осматривали пищевод, пищеводно-желудочный переход, тело и антральный отделы желудка, привратник, луковицу двенадцатиперстной кишки, горизонтальную и вертикальную части двенадцатиперстной кишки по общепринятой методике. Затем гастроскоп возвращали в полость желудка и проводился осмотр тела, дна желудка и кардии в положении ретрофлексии. Таким же образом проводили осмотр в узкоспектральном и аутофлуоресцентном режимах света.

При выявлении эпителиального новообразования дополнительно проводили детальный осмотр данной области в режимах: а) оптического увеличения, б) в узком спектре света, в) в аутофлуоресцентном режиме. Оценивали рисунок строения поверхности (pit pattern) ямок желез патологического новообразования в режиме увеличения, микрососудистый рисунок (vascular pattern), затем - особенности аутофлуоресцентного окрашивания новообразования в пурпурный или зеленый цвет. Далее производили прицельную щипцовую биопсию эпителиального новообразования стандартными щипцами для биопсии, которые проводились по биопсийному каналу эндоскопа.

Для индикации неопластических изменений по эндоскопической картине, полученной в режимах увеличения и специализации изображения, учитывали как появление участков нерегулярного строения ямочного рисунка, так и нарушенного рисунка микроваскулярной сети, появление сосудов штопорообразного вида, изолированных капилляров, не соединённых между собой, обрывистых, расширенных, разного калибра. В неизменной слизистой микроваскулярная сеть сохраняла сетчатое строение, петли соединялись между собой, имели равный диаметр.

Дифференциальную диагностику очаговых изменений воспалительного характера от неопластических поражений проводили по критериям оценки строения микроструктуры

ямочного рисунка, микроваскулярной сети, наличия и выраженности демаркационной линии между измененной и нормальной слизистой. Для очагов хронического воспаления с депрессией слизистой характерно присутствие отчетливой демаркационной линии, с четким, упорядоченным ямочным рисунком и рисунком микроваскулярных структур. (Kenshi Yao, 2013). Для более детальной характеристики микрососудистого рисунка при дифференциальной диагностике неопластических поражений слизистой желудка применяли критерии, разработанные Yagi K в соавторстве (2008). Авторы выделяли три основных рисунка микроваскулярной сети: сетчатый, петлевой и обрывчатый. Обрывчатый тип строения микроваскулярной сети слизистой желудка чаще всего ассоциирован с инвазивным ростом аденокарциномы.

Колоновидеоскопия. Колоноскоп проводили в купол слепой кишки, с использованием режима осмотра в белом свете детально исследовалась слизистая оболочка всех отделов толстой кишки, по возможности – и терминальная часть подвздошной кишки. При выявлении эпителиального новообразования проводили его осмотр в трех режимах: а) увеличения, б) узкого спектра света, в) аутофлуоресценции. Биопсию образования проводили щипковым способом или путем «стрип-биопсии». Биопсийный материал направляли для гистоморфологического и вирусологического исследований. В протоколе эндоскопического исследования отображали характеристику макроскопического строения ямок (pit pattern) и васкулярный узор (vascular pattern) по классификации Кудо [Kudo S.1996], а так же тип новообразования согласно Парижской классификации неоплазий 2002 года (Gastrointestinal endoscopy 2002). Контрольным методом выступали данные гистологического исследования эпителиальных новообразований.

Гистологическое исследование Биоптаты ткани исследуемого патологического новообразования помещали в контейнер с 10% раствором формалина для гистологического исследования. Дополнительный фрагмент, по необходимости, помещали в пробирку с раствором для вирусологического исследования. На бланках направления образцов ткани на гистоморфологическое и вирусологическое исследования, создавали иллюстрацию с топографией расположения новообразования в отделах ЖКТ, размер и форма новообразования, согласно Парижской классификации неоплазий 2002 года (Gastrointestinal endoscopy 2002).

Материал фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине в течении 24-48 часов. Фиксированные кусочки ткани подвергали гистологической проводке по стандартному протоколу с использованием этилового спирта восходящей концентрации, ксилола и парафина. Далее изготавливали парафиновые блоки. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3-4 мкм, которые монтировали на предметные гистологические стекла (Thermo Scientific; UK). Для последующей окраски гематоксилином и эозином проводили депарафинирование в спиртах нисходящей концентрации и ксилоле. После окраски срезы

заклучали в бальзам. Препараты изучали под световым микроскопом Leica DM 4000 с использованием системы Leica Application Suite 8.0 и цифровой камеры высокого разрешения Leica.

После гистоморфологического исследования биопсийного материала проводилось распределение диагностических заключений по категориям, согласно Венской классификации гастроинтестинальных эпителиальных неоплазий 2000 года (Schlemper R. 2000).

Вирусологическую диагностику эпителиальных образований желудка и толстой кишки проводили в ФБГУ НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского министерства здравоохранения РФ. Вирусные антигены определяли путем постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, используя сертифицированную тест-систему «АмплиСенс» (Россия) с ДНК выделенной из суспензии биопсийного материала, полученного из эпителиальных образований при эндоскопических исследованиях желудочно-кишечного тракта. Для выделения ДНК аденовируса (аднв), боковруса (бкв), вируса герпеса 1 и 2 типов (герп1,2) и цитомегаловирусов (цмв) применяли коммерческие тест-системы «Рибо-сорб» и «Рибо-преп» (производство «АмплиСенс» - Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Проведение амплификации с гибридизационно-флюоресцентной детекцией в режиме «реального времени» осуществляли с тест-системами «Ампли Сенс- ОРВИ-FL» в соответствии с инструкцией производителя на амплификаторе планшетного типа ДТ. ПЦР проводили в режиме автоматической амплификации на приборах ДТ –322 и ДТ-96 в режиме реального времени. Результат ПЦР считали положительным, если продукт ПЦР соответствовал положительному контролю тест-системы. Выделение РНК вируса диареи крупного рогатого скота из суспензии биопсийного материала проводили методом ОТ- ПЦР. Реакцию проводили с использованием «Тест системы для обнаружения вируса диареи (ВД) крупного рогатого скота методом ПЦР» («Ветбиохим», Россия) согласно производственному протоколу.

Эндоскопические методы удаления эпителиальных новообразований верхнего и нижнего отделов ЖКТ: петлевая полипэктомия преимущественно новообразований типа 0-Ip; эндоскопическая петлевая резекция, оптимизированная предварительным гидравлическим лифтингом новообразований типов 0-Is, 0-Ips, 0-IIa, 0-IIb, 0-IIc, LST-G и различных комбинаций этих типов, эндоскопическая резекция слизистой с диссекцией в подслизистом слое новообразований типов 0-Is, 0-IIa, 0-IIb, 0-IIc, LST-NG.

Полипэктомию проводили по общепринятой методике, которая заключалась в наложении полипэктомической петли на ножку полипа, затягивании петли до полного обхвата ножки новообразования, контроля корректности наложения петли во избежание захвата окружающей полип слизистой, проведении электроэксцизии в смешанном режиме с чередованием режимов коагуляции и резания, извлечении отсеченного новообразования для гистоморфологического исследования. Для удаления крупных полипов толстой кишки

применяли так же методику с использованием двухканального эндоскопа Олимпас 2Т-160. По одному из инструментальных каналов эндоскопа проводили диатермическую полипэктомическую петлю, по другому – щипцы с крупными браншами. В просвете кишки раскрывали петлю, через неё проводили щипцы, захватывали верхушку полипа, затем диатермическая петля низводилась на ножку полипа, после чего осуществляли все описанные выше этапы полипэктомии.

Метод петлевой резекции слизистой с новообразованием заключался в предварительном введении под основание новообразования в подслизистый слой специального раствора для поднятия и гидравлического отслоения слизистой с новообразованием от глубоких слоев стенки органа. Использовали эндоскопический инъектор с длиной иглы 3 мм, количество вводимого в подслизистый слой раствора варьировало от 10 до 40 мл. В качестве раствора для гидравлической препаровки использовали растворы гидроксиэтилового крахмала «Хес», «Рефортан» (ГЭК 130/0.4), теоретическая осмолярность 308 мосм/л; pH 4,0-5. За счет своей способности связывать и удерживать воду препарат обладает волемическим действием, позволяя создать в подслизистом слое гидравлическую прослойку между слизистой и мышечной оболочками. Раствор крахмала является плохим проводником электрического тока, что дополнительно защищает структуры стенки органа за пределами зоны непосредственного воздействия от повреждений электрохирургическим током в режимах резания и/или коагуляции в ходе эндоскопической резекции слизистой. Добавление 0,2 мл 0.1% раствора адреналина гидрохлорида к 400 мл раствора ГЭК позволяло увеличить время рассасывания гидравлической прослойки и, вызывая спазм сосудов подслизистого слоя, предупреждать кровоточивость из мелких сосудов во время эндоскопической резекции, тем самым косвенно обеспечивать хорошую видимость в зоне электрохирургического воздействия. Для улучшения условий осуществления контроля безопасности (предупреждение перфорации стенки органа) лучшей визуализации подслизистого пространства и краев новообразования раствор Хес подкрашивали метиленовым синим. Наложение полипэктомической петли проводили таким образом, чтобы захватывалась слизистая вокруг новообразования, отступя примерно 0.5 см от его краев. Проводили эвакуацию воздуха из просвета органа через эндоскоп, новообразование с окружающей слизистой входило в открытую петлю в виде полусферы, и появлялась возможность обхватить его петлей, которая смыкалась вокруг основания новообразования, полностью охватывая его вместе с «ободком» неизменной окружающей слизистой. Проводили электроэксцизию в смешанном режиме тока с постепенным смыканием диатермической петли вплоть до полного отсечения новообразования. На месте удаления образовывалась раневая поверхность с ровными коагулированными краями слизистой, ровным дном которой являлась собственная мышечная пластинка слизистой. Удаленное новообразование эвакуировали из просвета органа для гистологического исследования.

Использовались петли малого и большого диаметров. При раневой поверхности более 1 см в диаметре накладывали эндоскопические клипсы для сведения краев раны и профилактики возможного отсроченного кровотечения.

Эндоскопическая резекция слизистой вместе с патологическим новообразованием, выполняемая путем диссекции в подслизистом слое. Начинали с нанесения вокруг основания эпителиального новообразования желудка через каждые 0.5 см. точечных коагуляционных меток на поверхности слизистой оболочки, отступя от краев новообразования не менее 0.5 см. Для этого применяли электрохирургический инструмент Dual (Олимпас, Япония). Следующим этапом была инъекция в подслизистый слой осмолярного раствора для лифтинга новообразования. С этой целью использовали растворы 6% гидроксиэтилкрахмала в 0,9% растворе натрия хлорида («Хес», «Рефортан») с добавлением 0,2 мл 0.1% адреналина гидрохлорида в разбавлении 1:200, а также красителя индигокармина 1.0 мл или метиленового синего. Электрохирургическим ножом, имеющим вид крючка «L-hook» (Олимпас, Япония) начинали рассечение слизистой оболочки протяженностью 2-3 мм до подслизистого слоя. «L-hook» нож заменяли шаровидным электрохирургическим ножом, на конце режущей части которого имеется керамическое шаровидное утолщение, выполняющее роль протектора от неконтролируемого проникновения ножа в глубокие слои стенки во время выполнения операции. С помощью этого ножа проводили окаймляющий разрез слизистой через всю ее толщу до подслизистого слоя по коагуляционным меткам, предварительно нанесенным вокруг новообразования. Затем проводили последовательное отслоение слизистой оболочки вместе с патологическим новообразованием от мышечной оболочки путем контролируемого рассечения структур подслизистого слоя. Сосуды подслизистого слоя коагулировались и затем пересекались, при необходимости осуществлялся эндоскопический гемостаз с помощью коагуляционных щипцов. Резецированный участок слизистой с новообразованием извлекали наружу и направляли для гистологического исследования. Края операционной раны после осмотра раневой поверхности, исключения перфорации стенки, сводили наложением эндоскопических клипс, количество которых зависело от протяженности ушиваемого дефекта слизистой оболочки.

Статистический анализ полученных данных. Применяли методы статистического анализа качественных признаков с вычислением абсолютных и относительных частот распределения, границы доверительного интервала. Для сравнения различия частот в двух независимых группах применяли расчеты критерия Фишера, хи-квадрат по Пирсону. Расчеты проводились по методикам, изложенным в руководствах под редакцией О.Ю. Ребровой [2003] и В.И. Юнкерова [2011].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование аутофлуоресценции слизистой оболочки желудка проведено у 3688

пациентов. Эпителиальные новообразования были выявлены у 123 (3,3 %) пациентов (возраст 22-83 года ($52 \pm 5,9$) м-46, ж-77). Для выяснения зависимости вида АФ окрашивания (зеленое или пурпурное) эпителиальных новообразований желудка от их гистологического строения, все новообразования разделили на 4 группы (табл. 1), включающие в себя:

1 группа – все виды гистоморфологически подтвержденных инвазивных и неинвазивных карцином; 2 группа – аденоматозные новообразования с диспластическими изменениями 1-3 степени; 3 группа – образования с неуточненной дисплазией, смешанным аденоматозно-гиперпластическим гистологическим строением; 4 группа (контрольная) – образования воспалительного характера и негативные по диспластическим изменениям.

В 1 группе ($n=12$) карциномы в т.ч. 9 высокодифференцированных и 3 низкодифференцированных, 11 новообразований характеризовались пурпурным АФ окрашиванием, 9 были представлены макроскопическим строением типа 0-Is, 0-Ips, 2 неоплазии имели форму строения 0-IIa-IIc, в 1 случае – 0-IIc.

Во 2 группе ($n=30$) аденомы, 22 из них имели пурпурное-, 8 – зеленое АФ окрашивание. 18 новообразований имели макроскопическое строение типа 0-IIa, 12 – типа 0-Is..

В 3 группе ($n=60$) новообразований смешанного (аденоматозно-гиперпластического) строения: из них пурпурным АФ окрашиванием проявились 37, зеленым – 23. По макроскопическому строению преобладали новообразования типа 0-Is, 0-Ips (41). 19 новообразований имели строение типа 0-IIa, 0-IIb.

Контрольная группа насчитывала ($n=21$) случаев: пурпурное АФ окрашивание отмечено в 6 случаях, зеленое – в 15. Преобладали (14) очаги макроскопического строения типов 0-Is и 0-IIa, строение типа 0-IIb отмечено в 7 случаях.

Таблица 1

Абсолютные частоты распределения эпителиальных новообразований желудка по виду АФ окрашивания и по гистологическому строению

группа	гистологическое строение	пурпурное АФ	зеленое АФ	к-во (n)
1	карциномы	11	1	12
2	аденомы	22	8	30
3	аденоматозно-гиперпластическое	37	23	60
4	контрольная	6	15	21
	итого:	76	47	123

Вычислены диагностические возможности аутофлуоресценции эпителиальных новообразований желудка. Чувствительность 0,69 показывает, что в 69% случаях эпителиальные новообразования желудка окрашиваются в пурпурный цвет. Специфичность 0,71 показывает, что в 71% случаях слизистая без эпителиальных новообразований (контроль) имеет зеленое АФ окрашивание. Прогностическая ценность положительного результата – 0,92. Прогностическая ценность отрицательного результата – 0,31. Отношение правдоподобия –

+LR- 2,4 и -LR-0,43.

На основании расчета показателей количественной характеристики метода видно, что эпителиальные новообразования желудка вне зависимости от их гистологического строения в 69% случаев окрашиваются в пурпурный цвет. При отсутствии этих новообразований слизистая в 71% случаях окрашивается в зеленый цвет. Вычисленные показатели отношения правдоподобия +LR = 2,4 и -LR = 0,43 показывают, что пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований в 2,4 раза вероятнее, чем в контрольной группе, а в зеленый цвет эпителиальные новообразования окрашиваются в 0,43 раза реже, чем новообразования контрольной группы.

На основании построения характеристической кривой (A_{ROC}) графика зависимости чувствительности (Se) от доли ложноположительных результатов ($1 - Sp$), видно что кривая 5 данного расчета расположена между кривыми 2 и 3 (интервал AUC 0,7-0,8), что соответствует хорошему качеству теста, и метод может быть использован для дальнейшего анализа (рис.1а).

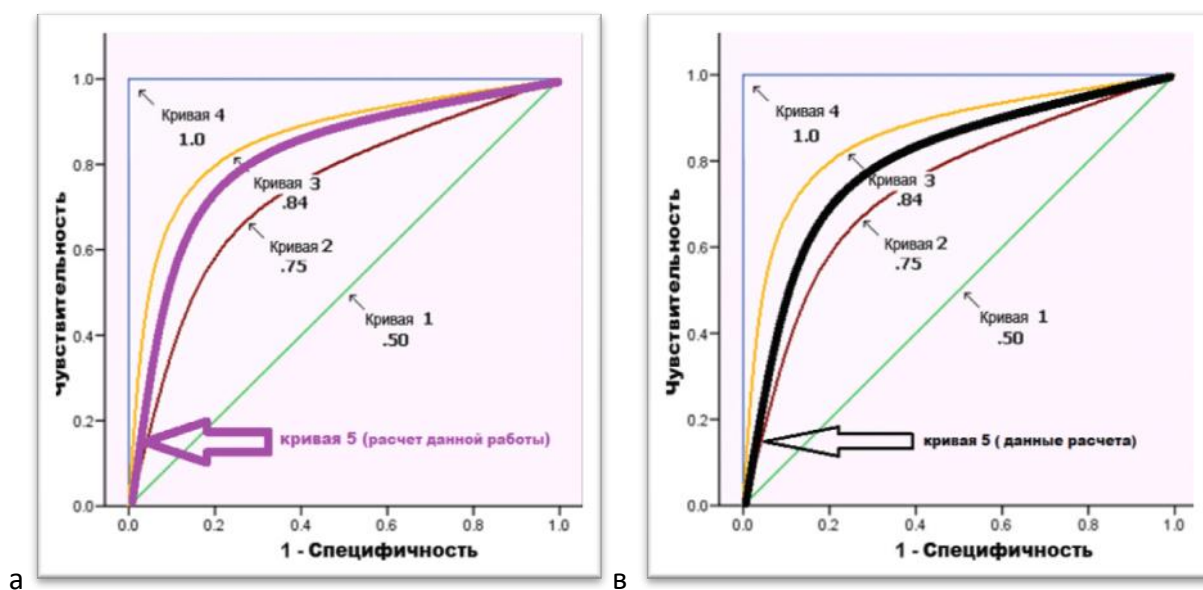


Рис. 1. График характеристической кривой (A_{ROC}) зависимости показателей чувствительности от процента ложноположительных результатов выявления эпителиальных новообразований а) в желудке, в) в толстой кишке.

Для определения различий в АФ окрашивании эпителиальных новообразований между гистологическими группами применен метод анализа распределения относительных частот. Относительная частота (Р) распределения АФО в пурпурный или зеленый цвета эпителиальных новообразований желудка в зависимости от гистологического строения представлена (табл. 2). Частота окрашивания в пурпурный цвет в 11, 2,7 и 1,6 раз выше для карцином, аденом и гиперпластических новообразований желудка соответственно. В контрольной группе аналогичный показатель 0,38.

С целью оценки точности и надежности распределения относительной величины частоты АФО эпителиальных новообразований провели расчеты доверительного интервала

(ДИ) при 95% совпадении и средней квадратичной ошибки для каждой группы анализа и внутри каждой группы по соответствующим формулам: в ситуации, когда относительная частота признака выходила за границы $0.25 \leq p \leq 0.75$, тогда для более точной оценки точности и надежности применяли расчет с переменной Фишера в радианной мере.

Таблица 2

Распределение относительных частот АФО эпителиальных новообразований желудка в гистологических группах

группа	гистологическое строение образований	пурпурное АФО	зеленое АФО	Соотнош.
1	карциномы	0,92	0,08	11
2	аденомы	0,73	0,27	2.7
3	аденоматозно-гиперпластическое	0,61	0,39	1.6
4	контрольная	0,28	0,72	0.38

Сводные данные вычисления доверительных интервалов частот АФ окрашивания в пурпурный и зеленый цвета новообразований желудка 1-4 групп представлены в сводной таблице (табл.3).

Таблица 3

Сводная таблица ДИ частот АФ окрашенных эпителиальных новообразований желудка в пурпурный и зеленый цвета в группах 1-4.

группа	АФО в пурпурный цвет	АФО в зеленый цвет
1	0,7-0,84	0-0,01
2	0,56-0,89	0,44-0,1
3	0,48-0,73	0,25-0,5
4	0,08-0,48	0,5-0,91

Внутри каждой группы провели статистический анализ достоверности различия по признаку АФ окрашивания в пурпурный или зеленый цвета эпителиальных новообразований желудка по перекрытию их доверительных интервалов.

Доверительные интервалы в контрольной группе (4) не перекрываются и составляют [0,08-0,48] и [0,5-0,91] для пурпурного и зеленого АФ окрашивания, т.е. между ними существует статистически значимое различие, поэтому эта группа подходит в качестве сравниваемой контрольной группы. И все последующие сравнения с ней были корректными.

В группе карцином так же доверительные интервалы не перекрываются [0,7-0,84] и [0-0,01] по виду АФ окрашивания и различия по этому признаку статистически достоверные. Особенно важно, что доверительные интервалы между группами карцином и контрольной не перекрываются как по признаку пурпурного АФ окрашивания [0,7-0,84] и [0,08-0,48], так и по признаку АФ окрашивания в зеленый цвет [0,5-0,91] и [0-0,01]. Налицо статистическое достоверное различие между окрашиванием в пурпурный цвет карцином, по сравнению с

воспалительными эпителиальными новообразованиями желудка. Поэтому этот признак можно применять для верификации диспластических и канцероматозных изменений в новообразованиях. В 2,3 группах различие в виде АФ окрашивания аденом статистически не значимы.

Доверительные интервалы по признаку пурпурного АФ окрашивания не перекрывают друг друга между 4 (контрольной) и 1,2,3 группами, т.е. между ними существуют статистически значимые различия. Различия между 2 и 3, а также 2 и 1 группами, статистически недостоверные.

Для выявления степени различия относительных частот АФО эпителиальных новообразований желудка в пурпурный цвет провели попарный анализ между группами наблюдений неоплазий разного морфологического строения на основе четырехпольной таблицы и показателей сравнительного анализа бинарных признаков. Признаки рассчитывались по соответствующим формулам и были следующими: относительная частота -ОЧ, разность относительных частот -РОЧ, отношение относительных частот- ООЧ, повышение относительной вероятности- ПОВ, отношение шансов- ОШ. Сравнение проводили с контрольной группой, сравниваемый признак - окрашивание в пурпурный цвет. Были сформированы пары сравнения 4\1, 4\2, 4\3, 2\1, 3\1, 3\2 и произведены расчеты (табл.4).

Таблица 4

Сводная таблица вычислений сравнительных показателей наглядности степени различия относительных частот АФ окрашенных в пурпурный цвет новообразований желудка между группами.

показатели	Группы сравнения (пары)					
	4\1	4\2	4\3	3\1	2\1	3\2
РОЧ	0,63	0,44	0,33	0,3	0,19	0,11
ООЧ	3,17	2,52	2,13	1,48	1,26	1,17
ПОВ	2,17	1,52	1,13	0,48	0,26	0,17
ОШ	27,5	6,87	4,02	6,84	4	1,7

Наибольшее различие относительных частот (РОЧ) распределения АФ окрашивания в пурпурный цвет наблюдается между группами 4 (контроль) и 1 (карциномы) – 0,63 и эта тенденция сохраняется во всех других показателях, далее выраженность различий при сравнении контроля с группами 2 (аденомы) и 3 (гиперпластические) постепенно уменьшается.

Показатель отношения относительных частот (ООЧ) показывает вероятность того, во сколько раз пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований превалирует над зеленым окрашиванием в сравниваемых группах. Так пурпурное окрашивание в группе карцином (1) в 3.17 раза превалирует над частотой пурпурного АФ окрашивания в контрольной группе (4). Практически нет различий по этому показателю между группами аденом (2) и аденоматозно-гиперпластических новообразований (3). В $\approx 2,5$ и в 2 раза

пурпурное окрашивание превалирует в 2 и 3 группах соответственно над пурпурным окрашиванием эпителиальных новообразований в контрольной группе.

Показатель повышения относительной вероятности (ПОВ) обнаруживает, во сколько раз изменится (повысится) различие относительных частот пурпурного АФ окрашивания эпителиальных новообразований между сравниваемыми группами, если в контрольной группе относительная частота пурпурного окрашивания будет равна 1 (100%). В группах 1 (карциномы) и 2 (аденомы) этот показатель равен 2.17 и 1.52, соответственно. Во всех других парах сравнения показатель ПОВ равен 1 или ниже. Это позволяет утверждать, что если даже в контрольной группе все эпителиальные новообразования «стремились бы» иметь пурпурное АФ окрашивание, то в группах 1 (карцином) и 2 (аденом), как наиболее важных объектах исследования, обладающих признаками злокачественности и потенциально злокачественных, вероятность окрашивания в пурпурный цвет новообразований желудка была бы в 2,17 и 1,52 раза выше, соответственно.

Показатель отношения шансов (ОШ) показывает во сколько раз количество АФ окрашенных в пурпурный цвет новообразований больше, чем АФ окрашенных в зеленый цвет новообразований в сравниваемой группе по сравнению с контрольной группой, где количество пурпурно- и зелено- АФ окрашенных эпителиальных новообразований равно и отсутствуют различия по этим признакам. Т.е. в группе (1) карцином , (2) аденом шанс превышения АФ окрашивания в пурпурный цвет в 27,5 и 6,87 раза выше соответственно, чем в (4) контрольной группе. Анализируя эти показатели, можно утверждать, что максимальные различия среди пурпурно окрашенных новообразований желудка существуют между карциномами, аденомами и воспалительными новообразованиями. Вероятность АФ окрашивания в пурпурный цвет карцином и аденом в разы выше шансов аналогичного окрашивания воспалительных и гиперпластических новообразований желудка. Эти показатели достаточно высокие и убедительные, чтобы утверждать, что пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований проявляется чаще, по мере формирования диспластических изменений в них.

С помощью сравнения доверительных интервалов определена зависимость АФ окрашивания новообразований в пурпурный цвет от их локализации в теле или антральном отделах желудка. Всего было исследовано 85 эпителиальных новообразований желудка (41 в теле органа и 44 в его антральном отделе). Пурпурное АФ окрашивание имели 47 новообразований, зеленое – 38). Распределение случаев АФО в пурпурный и зеленый цвета в зависимости от расположения по отделам желудка представлено (табл. 5):

С целью оценки точности и надежности относительной величины частоты распределения АФО эпителиальных новообразований провели расчеты средней квадратичной ошибки и доверительного интервала (ДИ) при 95% совпадении для каждой локализации новообразований в теле и антральном отделах желудка по соответствующим формулам.

Результат вычисления ДИ для новообразований тела желудка, имеющих АФ окрашивание в пурпурный цвет - $[0.4-0.81]$, для новообразований антрального отдела желудка – $[0.3-0.66]$. Диапазоны перекрывают друг друга, что свидетельствует о незначимости различий между сравниваемыми признаками.

Таблица 5

Распределение абсолютных частот АФ окрашенных новообразований в пурпурный и зеленый цвета в зависимости от локализации по отделам желудка

отдел желудка	АФО в пурпурный цвет	АФО в зелёный цвет
тело желудка	26	15
антральный отдел	21	23

Таким образом, пурпурное окрашивание эпителиальных новообразований желудка не зависит от уточненной локализации в отделах желудка, а зависит от их гистологического строения. Карциноматозные и аденоматозные структурные изменения придают новообразованиям АФ пурпурный цвет. Данная аутофлуоресцентная характеристика позволяет во время эндоскопического исследования получить дополнительную диагностическую информацию, предполагать с определенной достоверностью вероятное гистологическое строение новообразований и избирать адекватную тактику лечения.

Выделение гистологических групп среди эпителиальных новообразований желудка примерно соответствует этапам патогенеза развития рака желудка, так называемый «каскад Корреа». Согласно этой гипотезе развитие рака желудка начинается с воспаления слизистой, затем появления метаплазии эпителия, нарастающей по степени выраженности дисплазии и, в итоге, формируется рак желудка. Воспалительные изменения слизистой желудка обусловлены, чаще всего, инвазией *Helicobacter pylori*. Четкое разграничение между собой этих, нередко сосуществующих, морфологических нарушений, каждое из которых многовариантно и в различной степени выражено, было и остается непростой задачей. Собственно, эта же тенденция просматривается и в полученных нами данных по проявлению пурпурного АФ окрашивания в эпителиальных новообразованиях желудка, представленных разными морфологическими типами. Тем не менее, полученные нами данные доказательно подтверждают, что пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований при эндоскопическом исследовании с применением функций специализации изображения проявляется чаще в зоне очаговых изменений эпителия слизистой, обладающих злокачественным потенциалом (дисплазия) или представляющих собой злокачественные поражения.

Аутофлуоресценция эпителиальных новообразований толстой кишки при видеоколоноскопии была проведена у 1674 пациентов. Возраст пациентов составил 58 ± 13.9 , мужчин было 761(45,5%), женщин 913 (54,5%). Эпителиальные новообразования были

выявлены у 269 пациентов (16%). Для выяснения зависимости вида АФ окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки от их гистологического строения, все новообразования разделили на 4 группы (табл. 6), включающие в себя:

1 группа – все виды гистоморфологически подтвержденных инвазивных и неинвазивных карцином); 2 группа – аденоматозные новообразования с диспластическими изменениями 1-3 степени; 3 группа – новообразования с неуточненной дисплазией, смешанным аденоматозно-гиперпластическим гистологическим строением; 4 группа (контрольная) – новообразования воспалительного характера и негативные по диспластическим изменениям.

Таблица 6

Абсолютные частоты распределения эпителиальных новообразований толстой кишки по виду АФ окрашивания и по гистологическим группам

группа	гистологическое стр-е новообразований	пурпурное АФ	зеленое АФ	n
1	карциномы	26	3	29
2	аденомы	135	16	151
3	аденоматозно-гиперпластическое	23	16	39
4	контрольная	19	31	50
	итого:	203	66	269

В 1-й группе (n=29) 13 новообразований представляли собой высокодифференцированные аденокарциномы, 1 – лимфому, 15 – умеренно дифференцированные карциномы. Определялся приподнятый тип новообразований 0-Ip, 0-Ips, 0-Is, в 5 случаях опухоли были представлены латерально стелющимися новообразованиями (LST). По локализации опухоли чаще обнаруживались в дистальных отделах толстой кишки - в 18 случаях. 26 из 29 новообразований при осмотре в режиме АFI имели пурпурное АФ окрашивание, 3 – зеленое. Зеленое окрашивание имели высокодифференцированные опухоли, одна из них макроскопически соответствовала типу 0-Is, две - типу LST.

Во 2-й группе (n=151), преобладали тубулярные (132) и тубуло –ворсинчатые (19) аденомы. 135 тубулярных новообразований окрасились в пурпурный цвет, 16 – в зеленый.

В 3-й группе образования смешенного аденоматозно-гиперпластического строения с неуточнённой дисплазией (n=39): 23 новообразований имели пурпурное АФ окрашивание, 16 –зеленое.

В 4 группе (n = 50) 31 новообразование проявлялось зеленым свечением, остальные 19 – пурпурным: 38 патологических очагов характеризовались гиперпластическими изменениями эпителия, в 12 случаях – изменениями воспалительного характера.

Диагностические возможности аутофлуоресцентной диагностики эпителиальных новообразований толстой кишки оценены с помощью показателей: чувствительность – 0,84

показывает, что в 84% эпителиальные новообразования толстой кишки окрашиваются в пурпурный цвет. Специфичность – 0,62 показывает, что в 62% случаях слизистая толстой кишки без эпителиальных новообразований (контроль) имеет зеленое АФ окрашивание.

Прогностическая ценность положительного результата – 0,9. Прогностическая ценность отрицательного результата – 0,46. Отношение правдоподобия – $+LR= 2,21$ и $-LR=0,25$. Из вычисленных показателей видно, что пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований толстой кишки в 2,21 раза вероятнее, чем в контрольной группе. Вероятность окрашивания эпителиальных новообразований в зеленый цвет в 0,25 раза выше, чем в контрольной группе.

На основании построения характеристической кривой (A_{ROC}) графика (рис.1 в) зависимости чувствительности (Se) от доли ложноположительных результатов ($1- Sp$), видно что кривая 5 данного расчета расположена между кривыми 2 и 3 (интервал $AUC\ 0,7-0,8$), что соответствует хорошему качеству теста.

Для определения различий в АФ окрашивании эпителиальных новообразований между гистологическими группами применен метод анализа распределения относительных частот (табл. 7).

Как видно из таблицы, пурпурное АФ окрашивание карцином и аденом встречается соответственно в 9 и 8 раз чаще зеленого. Новообразования третьей группы в 1,4 раза чаще окрашиваются в пурпурный цвет. В контрольной группе почти в 2 раза чаще наблюдается зеленое АФ окрашивание.

Таблица 7

Распределение относительных частот в зависимости от АФО эпителиальных новообразований толстой кишки

группа	гистологическое строение новообразований	пурпурное АФО	зеленое АФО	Соотнш.
1	карциномы	0,90	0,10	9
2	аденомы	0,89	0,11	8
3	аденоматозно-гиперпластическое	0,59	0,41	1,4
4	контрольная	0,38	0,62	0,6

С целью оценки информационной точности и надежности относительной величины частоты распределения АФ-окрашивания эпителиальных образований провели расчеты средней квадратичной ошибки и доверительного интервала при 95% совпадении для каждой группы исследования и внутри каждой группы по соответствующим формулам, и эти расчеты представлены в сводной таблице (табл.8).

Перекрытие доверительных интервалов внутри групп между АФ окрашенных в пурпурный и зеленый цвета образований отмечаются в 3 и контрольной 4 группах и статистически не значимы. В группах 1 и 2 перекрытия доверительных интервалов внутри

групп нет, что свидетельствует о статистической значимости характера АФ окрашивания эпителиальных образований в этих группах для проведения дифференциального диагноза.

Таблица 8

Сводная таблица данных доверительных интервалов АФ окрашенных новообразований толстой кишки в пурпурный и зеленый цвета для каждой группы

группа	гистологическое строение образований	пурпурное АФО	зеленое АФО
1	карциномы	0.76-0.96	0.01-0.23
2	аденомы	0.84-0.94	0.06-0.16
3	аденоматозно-гиперпластическое	0.4-0.78	0.22-0.6
4	контрольная	0.22-0.54	0.46-0.78

Статистические значимые различия обнаруживаются между контрольной 4 группой и группами 1,2 по признаку АФ окрашивания новообразований этих групп в пурпурный цвет. Не перекрывающиеся доверительные интервалы отмечены между 2 и 3 группами по признаку пурпурного АФ окрашивания. По признаку зеленого АФ окрашивания ДИ не перекрываются между 1 и 3, 4 группами, различия статистически значимы

Было изучено существование различий в частотах АФ окрашивания эпителиальных образований между группами сразу по двум признакам: АФ окрашивания в пурпурный или зеленый цвета. Варианты и последовательность попарного сравнения групп следующие: 4\3, 4\2, 4\1, 3\2, 3\1 и 2\1 (табл. 9) Оценки значимости различия частот проводили с помощью χ^2 -критерия Пирсона. Решение основано на сравнении рассчитанного χ^2 с критическими значениями $\chi^2_{0.5}$ $\chi^2_{0.1}$ $\chi^2_{0.01}$, которые берутся из соответствующей стандартной таблицы.

Таблица 9

Сводные данные уровня значимости Р сравнения групп между собой с помощью χ^2 - критерия Пирсона

группа		2	3	4 (контрольная)
1	карциномы	$p > 0,1$ $\chi^2 = 0,01$	$p < 0,01$ $\chi^2 = 7,8$	$p < 0,01$ $\chi^2 = 8,9$
2	аденомы		$p < 0,001$ $\chi^2 = 20,5$	$p < 0,001$ $\chi^2 = 55,4$
3	аденоматозно-гиперпластическое строение			$p < 0,05$ $\chi^2 = 3,86$

Статистическое значимое различие сразу по двум признакам наблюдается между контрольной группой, сравниваемой с группами карцином и аденом. Между всеми группами, сравниваемыми в означенной последовательности наблюдается значимое статистическое различие за исключением сравниваемых между собой групп аденом и карцином толстой кишки. Учитывая то, что χ^2 -критерий Пирсона носит приближенный характер, сравнение

относительных частот АФ окрашивания между группами проведено с помощью показателей, позволяющих определить степень и наглядность различий, рассчитываемых на основании четырёхпольной таблицы и формул.

Сравнение проводилось с контрольной группой, сравниваемым признаком было пурпурное АФ окрашивание новообразований. Сформированы пары сравнения 4/1, 4/2, 4/3, 2/3, 1/3. Результаты вычислений по каждой паре групп сравнения занесены в сводную таблицу (табл. 10). Как видно из таблицы, наибольшее различие относительных частот (РОЧ) распределения АФ окрашенных в пурпурный цвет новообразований наблюдается между контрольной группой (4) и карциномами (1)- 0,51, а так же между группами аденом (2) и контрольной (4). Наглядное различие относительных частот пурпурного окрашивания наблюдается между карциномами, аденомами и воспалительными очагами; выраженность этого различия уменьшается в группе аденоматозно-гиперпластических новообразований (3).

Таблица 10

Сводная таблица вычисления сравнительных показателей различия относительных частот АФ окрашенных новообразований толстой кишки в пурпурный цвет между группами

показатель	Группы сравнения (пары)				
	1\4	2\4	3\4	2\3	1\3
РОЧ	0,51	0,51	0,21	0,3	0,3
ООЧ	2,34	2,34	1,55	1,51	1,51
ПОВ	1,34	1,1	0,55	0,51	0,51
ОШ	14,1	13,7	2,34	5,87	5,87

Показатель отношения относительных частот (ООЧ) показывает вероятность, во сколько раз пурпурное АФ окрашивание эпителиальных новообразований превалирует над зеленым окрашиванием в сравниваемых группах. Так пурпурное окрашивание в каждой из групп карцином и аденом в 2,34 раза превалирует над контрольной группой. Примерно в 1,5 раза частота АФ окрашивания в пурпурный цвет превалирует в группе аденоматозно-гиперпластических новообразований над частотой АФ окрашивания в пурпурный цвет эпителиальных новообразований в контрольной группе. Точно так же, примерно в 1,5 раза, частота пурпурного окрашивания новообразований в группе аденом преобладает над частотой аналогичного окрашивания новообразований аденоматозно-гиперпластического строения.

Показатель повышения относительной вероятности (ПОВ) демонстрирует во сколько раз изменилась бы разница относительных частот пурпурного АФ окрашивания эпителиальных новообразований между сравниваемыми группами, если в контрольной группе относительная частота пурпурного окрашивания будет равна 1 (100%). Этот показатель равен 1,34 в группе карцином. Во всех других парах сравнения этот показатель примерно равен 1 или ниже этой величины. Обнаруженные закономерности позволяют утверждать, что если даже в

контрольной группе все эпителиальные новообразования стремились бы иметь пурпурное АФ окрашивание, то в группе карцином вероятность окрашивания новообразований в пурпурный цвет была бы в 1,34 раза выше.

Показатель отношения шансов (ОШ) свидетельствует во сколько раз количество пурпурно АФ окрашенных новообразований больше, чем АФ окрашенных в зеленый цвет образований в сравниваемой группе по сравнению с контрольной группой, где количество пурпурно и зелено АФ окрашенных эпителиальных новообразований равно и, тем самым, отсутствуют различия по этим признакам. Т.е., в группе карцином и группе аденом вероятность АФ окрашивания новообразований в пурпурный цвет в 14,1 и 13,7 раза выше (соответственно), чем в контрольной группе. Полученные данные позволяют полагать, что максимальные различия в вероятности пурпурного АФ окрашивания новообразований толстой кишки существуют между карциномами и аденомами против изменений воспалительного характера.

Была изучена зависимость характера АФ окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки от особенностей их локализации в анатомических отделах кишки. В исследование включены 269 эпителиальных новообразований толстой кишки, которые условно разделили по локализации на 2 группы.

Группу 1 (проксимальные отделы кишки) составили 141 новообразования, группу 2 (дистальные отделы кишки) – 128 новообразования, расположенные в прямой и сигмовидной отделах кишки. В 1 группе АФ окрашивание в пурпурный цвет имели 105 новообразований, в зеленый – 36. Во 2 группе 103 эпителиальных новообразования имели пурпурный цвет, 25 новообразований были АФ окрашены в зеленый цвет. Для вычисления различий в частоте распределения АФ окрашенных новообразований в пурпурный или зеленый цвета применили метод анализа частот на основе вычисления χ^2 -критерия Пирсона. На основании вычисления χ^2 -критерия Пирсона = 1,37 (данный критерий меньше критического табличного значения χ^2 = 2,71 уровень значимости $P > 0.1$), установлено, что различий в АФ пурпурном окрашивании эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от особенностей их локализации (дистальная или проксимальная) – нет. Этот результат подтверждает, что аутофлуоресценция эпителиальных новообразований зависит только от особенностей их морфологического строения. Появление пурпурного АФ окрашивания, а значит и соответствующих аутофлюоров обусловлено фактом и выраженностью гистоморфологической перестройки тканей.

Изучена зависимость АФ окрашивания в пурпурный цвет эпителиальных новообразований от их размера и особенностей макроскопического строения. В основу анализа взята Парижская классификация неоплазий 2002г. (Gastrointestinal endoscopy 2002), которая объединяет макроскопический вид и размер новообразования. Новообразования разделили на

3 группы. В 1 группу вошли новообразования меньше 0,5 см, это новообразования типов 0-Пб, 0-Пс. Во 2 группу вошли новообразования типа 0-Па размером от 0,5 до 1 см. В 3 группу вошли большие новообразования типов 0-Ір, 0-Іс, 0-Ірс и LST, размер которых равен или больше 1 см.

1 группу составили 68 новообразований, 38 из которых имели АФ окрашивание в пурпурный цвет, 30 – в зеленый. 2 группа включала 98 новообразований (69 окрасились в пурпурный, 29 – в зеленый АФ цвета). В 3 группе – 103 новообразования (96 окрасились в пурпурный и 7 – в зеленый АФ цвета) (табл. 11).

Таблица 11

Распределение эпителиальных новообразований толстой кишки по группам по размеру и виду АФ окрашивания.

Группы	размер	пурпурное АФО	зеленое АФО	всего
1	< 0.5 см	38	30	68
2	0,5-1 см	69	29	98
3	>1 см	96	7	103
Итого:		203	66	269

Соотношения количества АФ пурпурно окрашенных к АФ зелено окрашенным новообразованиям в первой группе составило 1,27, во второй – 2,38, в третьей – 13,7. По мере увеличения размера новообразований отмечено увеличение относительной частоты АФ окрашивания в пурпурный цвет.

Для сравнения групп между собой применили метод вычисления χ^2 -критерия Пирсона. Образовали пары сравнения групп 1/2, 2/3, 1/3, сравниваемый признак – пурпурное АФ окрашивание новообразований (табл. 12).

Таблица 12

Сводная таблица показателей χ^2 в группах 1-3 по признакам размеров эпителиальных новообразований и их пурпурного АФ окрашивания

Группы сравнения	2	3
1 (<0,5 см)	$\chi^2=3,7$ $p<0,1$	$\chi^2=33,6$ $p<0,001$
2 (0.5-1 см)		$\chi^2=17,7$ $p<0,001$

Статистическим методом на основе вычисления χ^2 -квадрат критерия Пирсона доказали высокую степень различия между 1 и 3, а так же между 3 и 2 группами ($p<0,001$). Различие между группами 1 и 2 статистически значимо, но недостаточно при заданном нижнем пределе надежности ($P<0.05$). Чем больше эпителиальное новообразование толстой кишки, тем выше вероятность его АФ пурпурного окрашивания. По-видимому, концентрация аутофлоров растет, а выраженность их накопления представляется пропорциональной наличию и выраженности диспластических изменений эпителия исследуемых эпителиальных

новообразований. Существующие модели канцерогенеза предполагают развитие карцином из новообразований-предшественников: формирование абберантных крипт, затем микроаденом, аденом, больших аденом, которые затем трансформируются в карциномы (Lambert R., Kudo S., Vieth M. et al. 2009).. Появление АФ пурпурного окрашивания в новообразовании вне зависимости от его размера может указывать на наличие диспластических изменений эпителия в нем.

Аутофлуоресценция эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от факта их вирусной инвазии изучали у 68 пациентов, которым проводилось определение 6 видов вирусов (цитомегало-, герпес 1 и 2 типов, боко-, бычьей диареи и адено-вирусы) в биопсийном материале из эпителиальных новообразований толстой кишки.

У 26 из 68 пациентов присутствие вирусов в тканях эпителиальных новообразований толстой кишки не было обнаружено, у 42 пациентов была выявлена контаминация новообразований хотя бы одним видом вируса. Распределение абсолютных частот эпителиальных новообразований в зависимости от вида аутофлуоресцентного окрашивания, инфицированности вирусами и гистологического строения представлены (табл. 13).

Таблица 13

Распределение абсолютных частот эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от вида АФ окрашивания, инфицированности их вирусами и гистологического строения

Инфицир. вирусами - да/нет	Да -42		Нет -26		Всего
Аф окрашивание	29-пурпурное	13-зеленое	22	4	
Карцинома	3	-	1	-	4
Аденома	25	4	15	1	45
Аденоматозно-гиперпласт.	1	7	5	1	14
Воспалит.	-	2	1	2	5
Всего	29	13	22	4	68

Пурпурное АФ окрашивание имели 51 из 68 эпителиальных новообразований, из них 29 были инфицированы вирусами и 22 – не инфицированы. Зеленое АФ окрашивание имели 17 из 68 новообразований, в т.ч. 13 были инфицированы и 4 – не инфицированы. Из 4 карцином были инфицированы 3, а новообразования аденоматозного строения (45), гиперпластического строения (14) и воспалительного характера (5) по признаку вирусного инфицирования (да/нет) в каждой из этих групп распределились приблизительно поровну. Распределение эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от инфицированности их различными вирусами, гистологического строения и характера АФ окрашивания приведено (табл. 14). Ни в одном случае не было выявлено инфицированности эпителиальных новообразований толстой кишки вирусами бычьей диареи и боковимирусами.

Можно предположить, что эти вирусы не обладают тропностью к эпителию толстой кишки человека. В эпителиальных новообразованиях обнаруживались ЦМВ, вирусы герпеса 1,2 типов и аденовирус.

Таблица 14

Распределение абсолютных частот эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от видов вирусов, от гистологического строения и от вида АФ окрашивания

Инф.	Инфицированные (n = 42)										Не инф. (n = 26)	
Вид АФО	Пурпурное (n = 29)					Зеленое (n = 13)					Пурп	Зел
Вид вирусов	цмв	герп1,2	бкв	аднв	вбд	цмв	герп 1,2	бкв	аднв	вбд		
Карцинома	3	2	-	3	-	-	-	-	-	-	1	-
Аденома	18	15	-	9	-	4	1	-	3	-	15	1
Гиперпласт.	3	1	-	-	-	2	3	-	2	-	5	1
Воспалит.	-	-	-	-	-	2	-	-	2	-	1	2
итого	24	18	-	12		8	4	-	7	-	22	4

Для сравнения частот пурпурного АФ окрашивания между группами эпителиальных новообразований толстой кишки, инфицированных и неинфицированных вирусами применялся метод сравнения χ^2 - критерия Пирсона и сравнительный анализ показателей частот. Установленное значение критерия ($\chi^2 = 0,03$) меньше критического табличного значения $\chi^2 = 2,71$, уровень значимости – $P > 0,1$, свидетельствуют о том, что различия между сравниваемыми по виду АФ окрашивания группами наблюдений незначимы, следовательно, вид аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки не зависит от их инфицированности цитомегало-, герпес 1и 2 типов, боко-, бычьей диареи и адено- вирусами.

Результаты эндоскопического оперативного лечения проанализированы в 167 случаях эндоскопического удаления эпителиальных новообразований различными способами – в 29 случаях из желудка, в 138 – из толстой кишки. Полипэктомию выполнили в 25 случаях (в желудке – в 6, в толстой кишке – в 19), петлевую резекцию слизистой – у 137 пациентов (у 19 – в желудке, у 118 – в толстой кишке), резекцию слизистой с диссекцией в подслизистом слое – в 5 случаях (4 – в желудке и 1 – в толстой кишке). Удаленные очаговые новообразования слизистой оболочки при предварительном проведении эндоскопического исследования в режиме специализации изображения (AFI) имели различное АФ окрашивание: а) из желудка были удалены 16 новообразований, окрашенных в пурпурный цвет, и 13 – в зеленый, б) из

толстой кишки – 89 и 49, соответственно (табл. 15).

Таблица 15

Распределение наблюдений в зависимости от характера АФ окрашивания, особенностей локализации и способа эндоскопического удаления эпителиальных новообразований ЖКТ

Локализация Способ удаления/АФО	Полипэктомия		Петлевая резекция слизистой		Резекция слизистой с диссекцией в подслизистом слое		Всего:
	АФО пурпур.	АФО зеленое	АФО пурпур.	АФО зеленое	АФО пурпур.	АФО зеленое	
Желудок	5	1	7	12	4	0	29
Толстая кишка	11	8	77	41	1	0	138
Всего	16	9	84	53	5	0	167

Эндоскопическое удаление эпителиальных новообразований желудка было предпринято в соответствии с показаниями к их удалению, установленными на основании результатов морфологического исследования образцов ткани, полученных путем эндоскопической щипцовой биопсии.

Аденоматозные новообразования с эпителиальной дисплазией 2-3 степени на фоне кишечной метаплазии (11 случаев) в 8 имели пурпурное АФ окрашивание, в 3 – зеленое. В 16 случаях гиперпластических новообразований имели 6- пурпурный и 10 зеленый цвета АФ окрашивания. В 2 случаях карциномы имели пурпурный цвет АФ окрашивания. Размер новообразований был от 0.5 до 1,4 см. В результате проведенного эндоскопического удаления этих новообразований и повторного гистоморфологического исследования удаленных препаратов произведена переквалификация диагнозов, причем во всех случаях в пурпурно АФ окрашенных новообразованиях. Так, в 2 случаях удаленных аденом было подтверждено высокодифференцированное опухолевое строение, в одном случае удаленного гиперпластического образования оказалось аденоматозное строение. Таким образом, распределение удаленных эпителиальных образований после выставления окончательного диагноза приобрело следующий вид (табл. 16), где в скобках показано количество случаев переквалификации диагноза, а стрелкой указано направление изменения морфологического диагноза. На рисунке 2 представлены этапы удаления высокодифференцированного новообразования желудка методом эндоскопической резекции с диссекцией подслизистого слоя.

Переквалификация морфологических диагнозов происходила в сторону усугубления степени диспластических и канцероматозных изменений по результатам морфологического исследования удаленных новообразований в 3 из 29 всех случаев (10,3%) ,

или в 3 из 16 всех пурпурно окрашенных новообразований желудка, что составило 19 %. Этот факт также может служить еще одним доказательством, что пурпурное окрашивание эпителиальных новообразований свойственно диспластическим и канцероматозно измененным структурам.

Таблица 16

Распределения удаленных эпителиальных новообразований желудка в зависимости от их гистологического строения, вида АФ окрашивания, метода удаления и переквалификации морфологического диагноза

Желудок N= 29	Полипэктомия		Петлевая резекция слизистой		Резекция слизистой с диссекцией подсл.слоя	
АФ окрашив.	Пурп.	Зелен.	Пурп.	Зелен.	Пурп.	Зелен.
Гиперпл. 15	3(-1)	1	3	9	-	-
Аденомы 10	↓2(+1)	-	4	3	↓2(-2)	-
Карциномы 4	-	-	-	-	↓2(+2)	-
Всего:	5	1	7	12	4	-

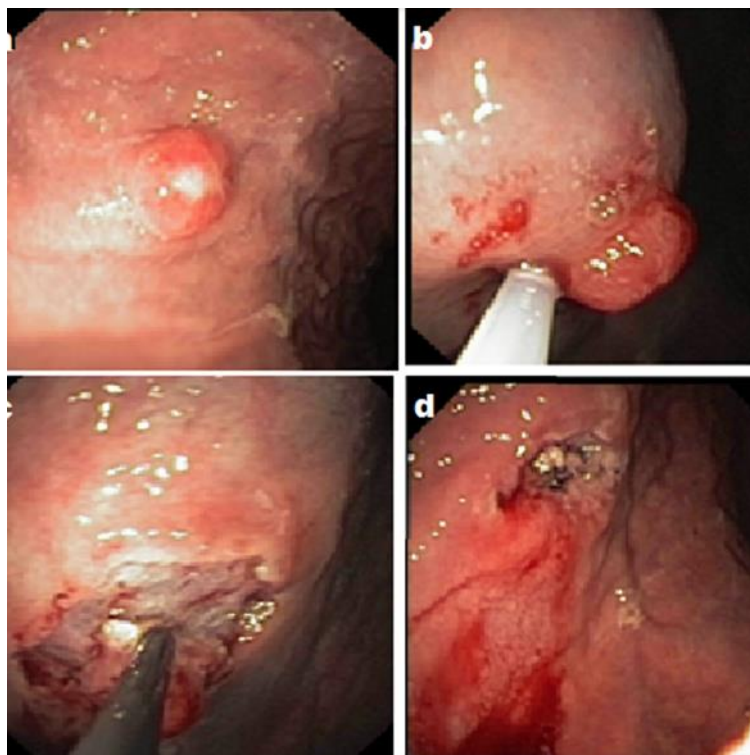


Рис.2. Этапы эндоскопической резекции с диссекцией подслизистого слоя высокодифференцированной опухоли желудка. а) общий вид опухоли, б) этап введения в подслизистый слой раствора для создания гидравлической прослойки, с) этап резекции с диссекцией, d) вид стенки желудка после удаления опухоли.

Эндоскопическое оперативное лечение эпителиальных новообразований толстой кишки было проведено у 138 пациентов. В толстой кишке были установлены диагнозы на основании

эндоскопии с щипцовой биопсией: аденоматозные образования у 93 пациентов, гиперпластические в т.ч. зубчатые образования в 45 случаях. Полипэктомия была выполнена в 19 случаях, петлевая резекция слизистой в 118 случаях, резекция слизистой с диссекцией в подслизистом слое – в 1 случае. Последующее цитоморфологическое исследование удаленных образований позволило установить истинный характер удаленных опухолей, что привело к переквалификации диагностических выводов, сделанных на основании морфологического исследования по материалу эндоскопической щипцовой биопсии: в 3 случаях были выявлены ранее не идентифицированные очаги аденокарциномы

Уточненный таким образом диагноз относился к 3 (2.1%) из 138 эпителиальных образований толстой кишки и все эти 3 (3.3%) наблюдения относились исключительно к пурпурно окрашенным при аутофлуоресцентном исследовании опухолям толстой кишки (n=89). Этот факт усиливает наше предварительное мнение о том, что пурпурный АФ цвет эпителиальных образований может служить признаком, позволяющим предположить в исследуемом новообразовании наличие диспластической трансформации. На рисунке 3 представлены этапы применения эндоскопической резекции слизистой с аденомой толстой кишки. Размер около 0,8 см, ямочный рисунок (pit pattern) 2 типа, фокальное расширение микрососудистой сети и пурпурное АФ окрашивание новообразования стали основанием для проведения резекции слизистой с предварительным гидравлическим лифтингом слизистой и иссечением основания новообразования. По гистологическому строению – тубулярная аденома с дисплазией 3 степени.

Распределение удаленных эпителиальных новообразований толстой кишки в зависимости от характера АФ окрашивания, гистологического строения и переквалификации окончательного морфологического диагноза представлены (табл. 17), где в скобках указаны количество, а стрелкой направление переквалификации диагноза.

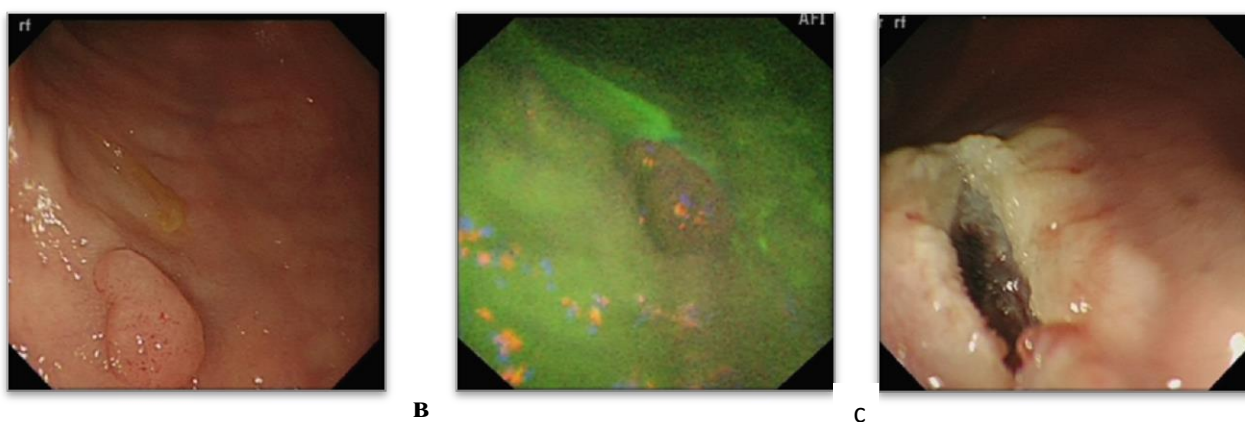


Рис.3 . Эндофотографии аденомы толстой кишки с дисплазией эпителия 3 степени. Вид эпителиального новообразования в: а) белом режиме света в) при аутофлуоресценции новообразование имеет ярко-пурпурный цвет, с) окончательный вид ложа и краев раны после удаления новообразования путем резекции слизистой.

Способ эндоскопического лечения больных с эпителиальными новообразованиями

толстой кишки выбирается в зависимости от особенностей гистологического строения новообразования и не должен противоречить общепринятым онкологическим принципам. Латерально стелющиеся опухоли гранулярного типа (LST-G) удаляются методом резекции слизистой, негранулярного типа (LST-NG) – резекцией слизистой единым блоком с новообразованием путем диссекции в подслизистом слое. Диагностика этих макроскопических типов LST трудная и носит субъективный характер. Применение аутофлуоресценции позволило получить дополнительную информацию о наличии и степени выраженности диспластических изменений в новообразовании и определило показания к выбору метода резекции подобных эпителиальных новообразований.

Таблица 17

Распределение удаленных эпителиальных новообразований толстой кишки по характеру их АФ окрашивания, морфологическому строению и переквалификации диагностического вывода после окончательного морфологического исследования

Кишка N=138	Полипэктомия		Петлевая резекция слизистой		Резекция слизистой с диссекцией подслизистого слоя		Всего
	Пурп.	Зелен.	Пурп.	Зелен.	Пурп.	Зелен.	
Гиперпл (SSL). 45	2	3	23	17	-	-	45
Аденомы 90	9(-1) ↓	5	54(-1) ↓	24	1 ↓	-	90
Карциномы 3	(+1) ↓	-	(+1) ↓	-	(+1) ↓	-	3
Всего:	11	8	77	41	1	-	138

При диагностике эпителиальных новообразований типов 0-Is, 0-Па, 0-Па-Пс, 0-Пб важным и, как правило, сложным является определение глубины поражения и инвазии опухоли в подслизистый слой. Щипцовая биопсия позволяет уточнить лишь гистологическое строение новообразования в его поверхностных слоях, поэтому при выявлении пурпурного аутофлуоресцентного окрашивания такого рода эпителиальных новообразований, проводили резекцию слизистой одним блоком с означенными новообразованиями в пределах здоровых тканей.

На рисунке 4 проиллюстрированы этапы пофрагментной петлевой резекции слизистой с латерально растущей опухолью гранулярного типа размером более 8 см в сигмовидном отделе толстой кишки. При аутофлуоресценции новообразование характеризовалось зеленым свечением, по гистологическому строению представляло собой аденому с дисплазией эпителия 1 степени выраженности. Дальнейшее эндоскопическое наблюдение на протяжении 43 месяцев после эндоскопического удаления новообразования показало отсутствие рецидива опухоли. На месте резецированной слизистой определяется нормальная слизистая.

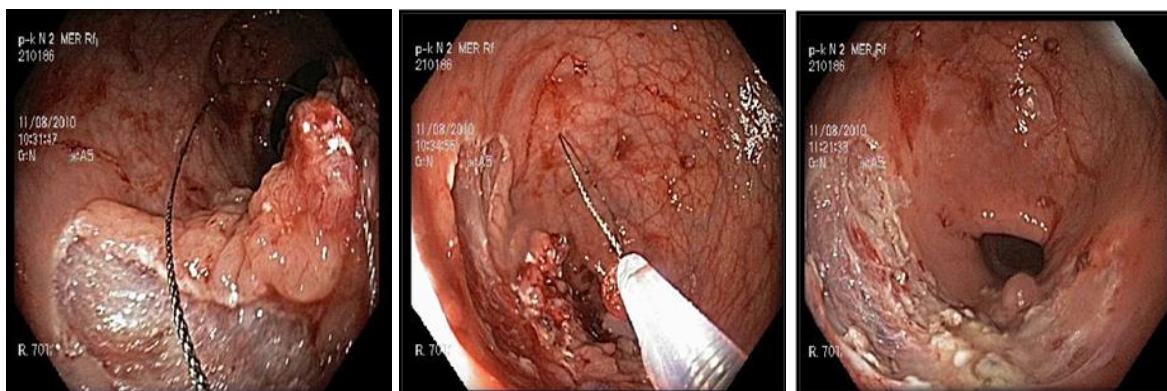


Рис. 4. Эндофотографии этапов фрагментной петлевой резекции аденоматозной латерально стелющейся гранулярной опухоли толстой кишки

При выявлении новообразования типа LST-(G)-Is толстой кишки, имеющее пурпурное АФ окрашивание, удаление проводилось методом резекции слизистой с диссекцией в подслизистом слое (рис 5).

Отмечено одно осложнение на весь объем эндоскопических вмешательств, направленных на удаление новообразований слизистой оболочки желудка: кровотечение при петлевой резекции слизистой по поводу эпителиального новообразования типа 0-Ips, расположенного в нисходящем отделе толстой кишки, которое было остановлено консервативными методами в условиях стационара. В 3 случаях возникало кровотечение во время выполнения резекции слизистой, которые удалось остановить коагуляцией сосудов во время выполнения вмешательств. По указанной причине мы не рассматриваем такие кровотечения в качестве осложнений эндоскопических вмешательств. Отдаленные результаты удалось проследить у 133 (79,6%) пациентов.

Отмечен случай рецидива гиперпластического новообразования типа 0-IIa-Is антрального отдела желудка. Пациент 63 лет на протяжении 4 предшествующих лет наблюдался по поводу этого гиперпластического новообразования слизистой желудка. Со временем пациент стал предъявлять жалобы на болевые ощущения в эпигастрии. При эндоскопическом обследовании был отмечен прогрессирующий рост новообразования и его пролабирование в привратник на высоте перистальтической волны, его ущемление спазмирующимся привратником, приводящее к появлению болевых ощущений. При исследовании в режиме аутофлуоресценции новообразование окрашивалось в зеленый цвет. Была выполнена эндоскопическая петлевая резекция слизистой с новообразованием. Гистологическое исследование подтвердило гиперпластический характер полипа. Рецидив гиперпластического полипа был отмечен через год при контрольном эндоскопическом обследовании, признаков пролабирования в привратник не наблюдалось, гистологическое исследование показало рост гиперпластической слизистой. Пациент жалоб не предъявляет, находится на динамическом наблюдении.

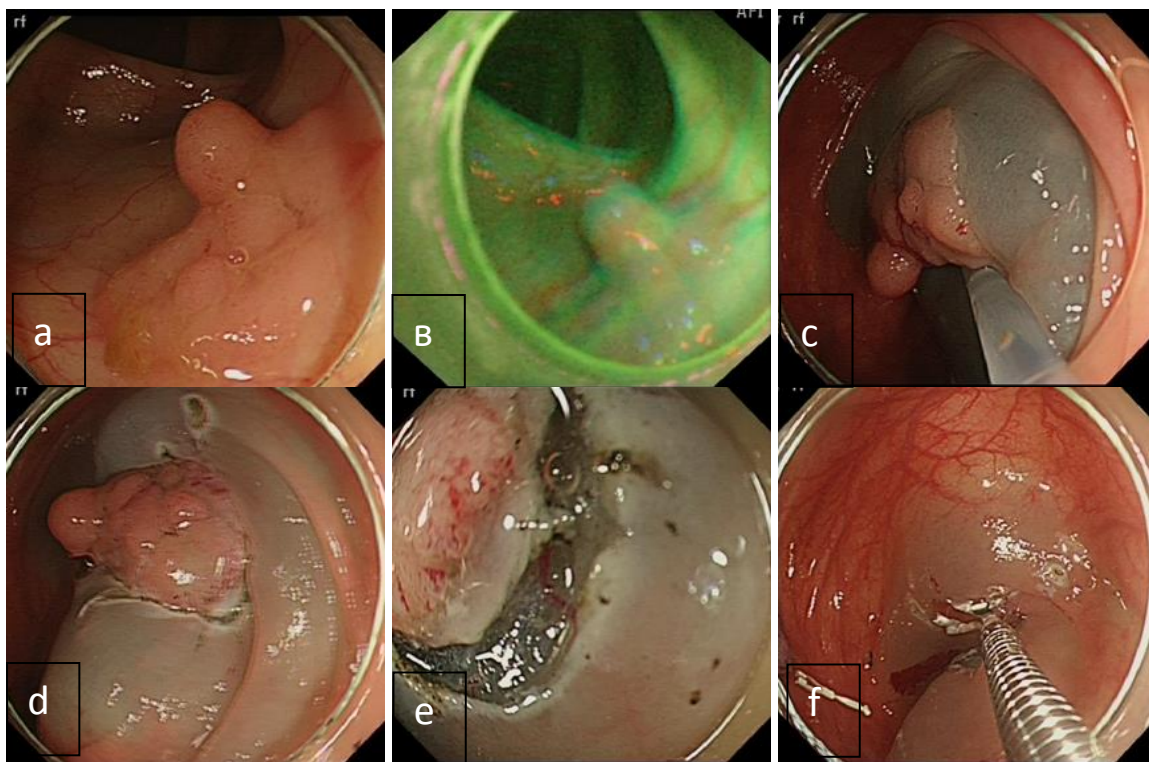


Рис.5. Этапы удаления эпителиального возвышающегося новообразования типа LST-(G) –Is поперечного отделов толстой кишки а) в белом свете, в) вид в режиме аутофлуоресценции, новообразование имеет пурпурное АФ окрашивание, с) и d) этап инъекции раствора в подслизистое пространство, е) выполнение окаймляющего разреза вокруг новообразования, f) клипирование краев разреза.

В 3 (2,2%) из 138 в удаленных новообразований в толстой кишке, и в 3 (10,2%) из 29 новообразований желудка выявлены более тяжелые морфологические (диспластические и канцероматозные) изменения, чем предварительно установленные на основании щипцовой биопсии (во всех случаях это были новообразования, окрашиваемые при исследовании в режиме аутофлуоресценции в пурпурный цвет). Переквалификация диагностического вывода в направлении усугубления тяжести морфологических нарушений происходила только среди пурпурно АФ окрашенных новообразований и составила 19% и 3,3% от общего числа пурпурно окрашенных новообразований желудка и толстой кишки, соответственно. Диагнозы карциномы желудка в 2-х- и карциномы толстой кишки в 3-х случаях были установлены лишь после морфологического исследования полностью удаленных эндоскопическим способом новообразований, во всех этих случаях новообразования имели пурпурное АФ окрашивание

На основании данной работы были разработаны лечебно-диагностические алгоритмы выявления, верификации и выбора метода лечения эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки на основе аутофлуоресцентной эндоскопии (рис.6,7).

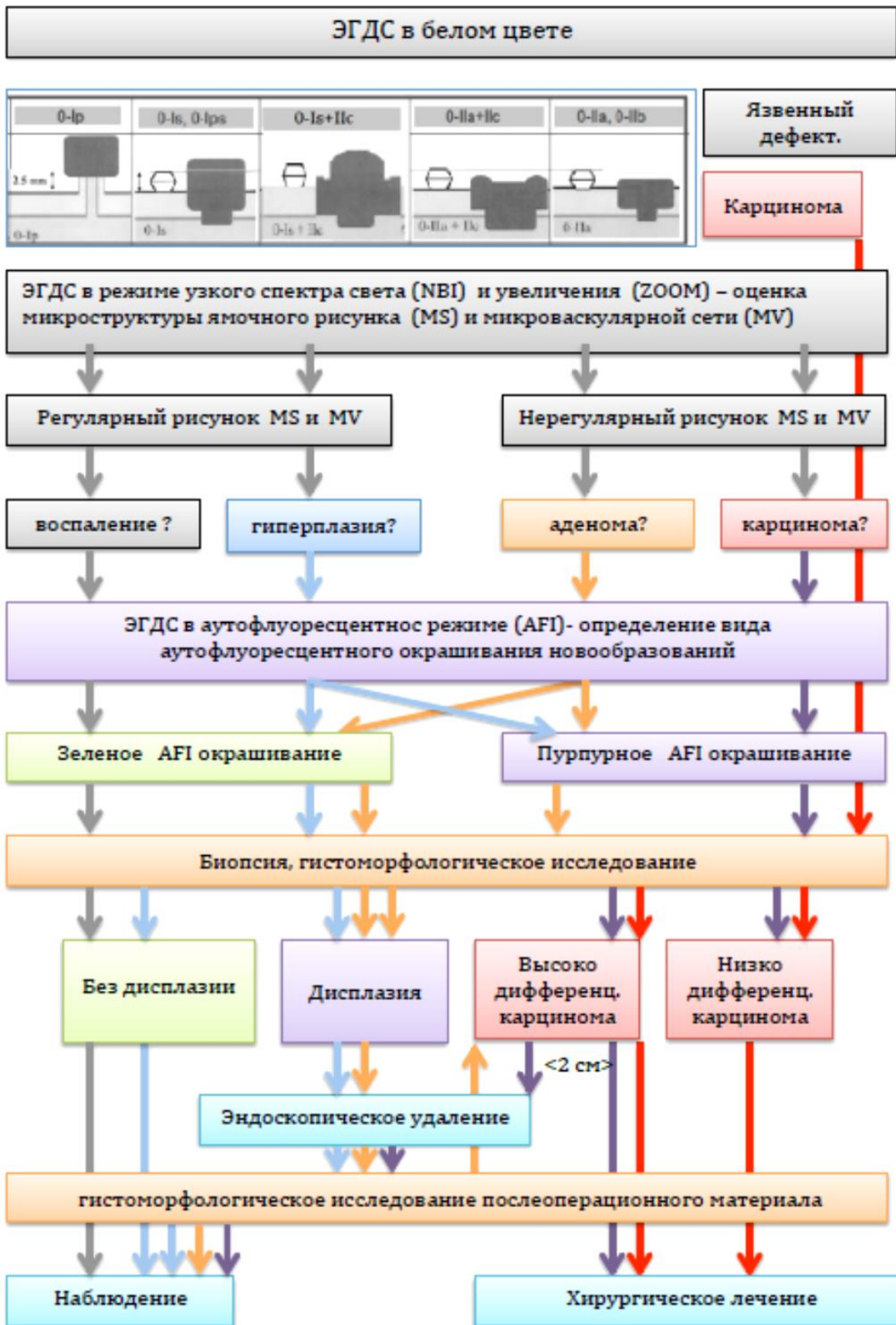


Рис.6. Лечебно-диагностический алгоритм диагностики, верификации и выбора метода лечения новообразований желудка .

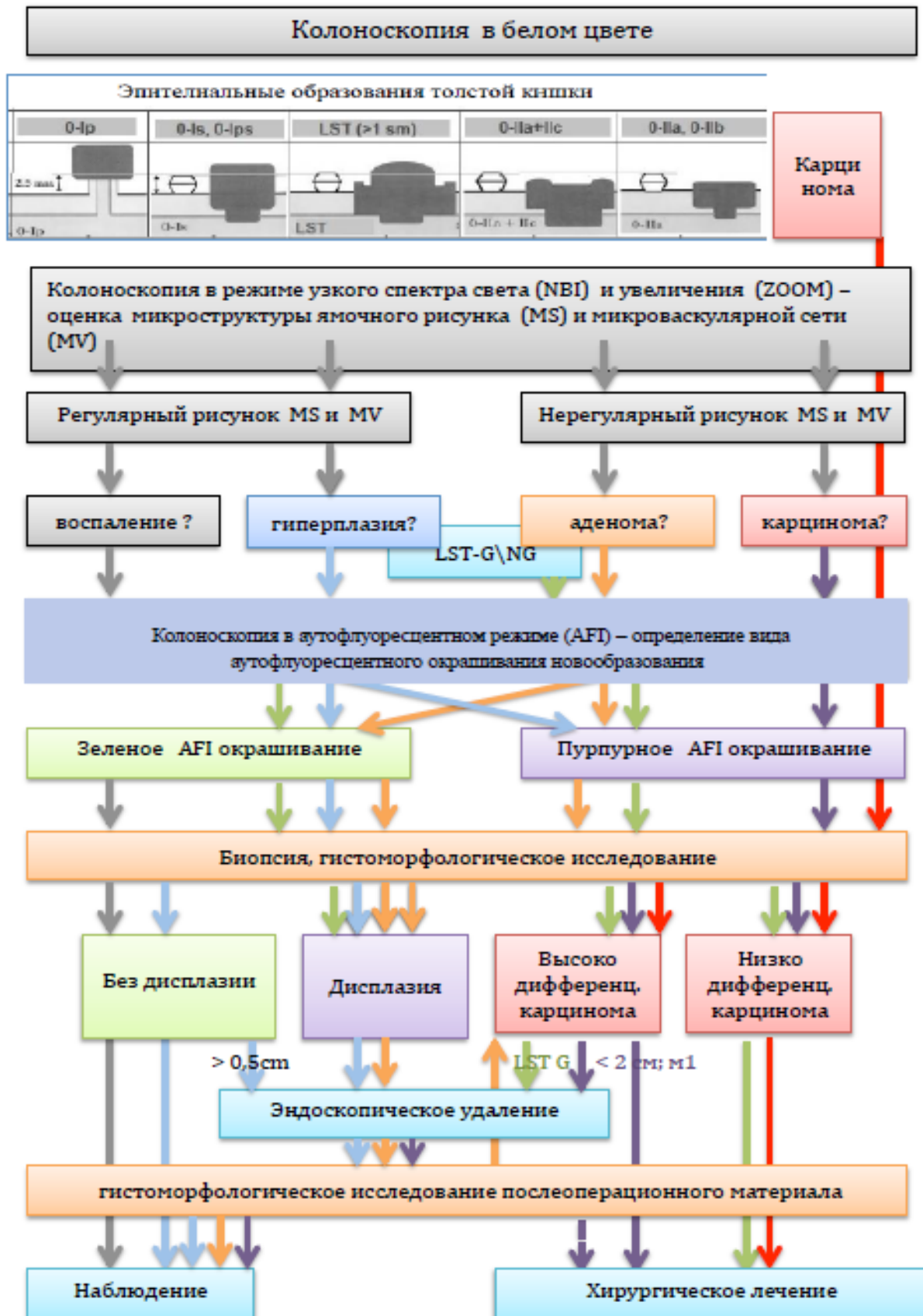


Рис.7. Алгоритм диагностики, верификация и выбора метода лечения эпителиальных новообразований толстой кишки.

ВЫВОДЫ

1. Усовершенствованный метод применения аутофлуоресцентной эндоскопии является простым по выполнению и позволяет получить данные, имеющие дифференциальное значение о наличии диспластических и канцероматозных изменений в эпителиальных новообразованиях желудка и толстой кишки.
2. Метод аутофлуоресцентной эндоскопии является эффективным в диагностике эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки: для желудка её чувствительность составляет 69,0%, специфичность – 71%, положительная предсказательная ценность – 92,0%, отрицательная предсказательная ценность – 31,0%; для толстой кишки её чувствительность составляет 71,0%, специфичность – 62,0%, положительная предсказательная ценность – 90,0%, отрицательная предсказательная ценность – 46,0%.
3. Анализ показателей различия относительных частот аутофлуоресцентного окрашивания новообразований желудка показывает, что вероятность окрашивания в пурпурный цвет злокачественных эпителиальных и аденоматозных новообразований в 27,5 и 6,9 (соответственно) раза выше по сравнению с контрольной группой.
4. Анализ показателей различия относительных частот аутофлуоресцентного окрашивания новообразований толстой кишки показывает, что вероятность окрашивания в пурпурный цвет злокачественных эпителиальных и аденоматозных новообразований в 14,1 и 13,7 (соответственно) раза выше по сравнению с контрольной группой.
5. Частота пурпурного аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований в желудке и в толстой кишке не зависит от особенностей их уточненной локализации по отделам этих органов: перекрывание доверительных интервалов для новообразований тела [0.4-0.81] и антрального отделов желудка [0.3-0.66], а также показатели «кси-квадрат критерия Пирсона» для проксимальной и дистальной локализации новообразований в толстой кишке ($\chi^2=1,37$, при $P>0,1$), доказывают незначимость различий между сравниваемыми объектами.
6. Частота пурпурного аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки размером более 1 см и в диапазоне от 0,5 до 1,0 см достоверно возрастает пропорционально их размеру ($\chi^2=33,6$ и $\chi^2=17,7$, соответственно, $p<0,001$).
7. Аутофлуоресцентное пурпурное окрашивание эпителиальных новообразований толстой кишки не зависит от инвазии цитомегаловируса, вирусами герпеса 1 и 2 типов, боковимирусами, вирусом бычьей диареи и аденовирусами (кси-квадрат Пирсона $\chi^2=0,03$). Воспалительная реакция при вирусной контаминации не сопровождается различиями в частоте аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных новообразований толстой кишки в пурпурный цвет.

8. Аутофлуоресцентное окрашивание в пурпурный цвет эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки, наряду с другими признаками, достоверно служит маркером эпителиальной дисплазии и выступает дополнительным аргументом при обосновании показаний для их эндоскопического удаления.
9. На основе аутофлуоресцентной эндоскопии разработаны лечебно-диагностические алгоритмы выявления, уточняющей диагностики и выбора метода лечения эпителиальных гастроинтестинальных новообразований.

Практические рекомендации

1. При проведении эндоскопического исследования органов желудочно-кишечного тракта необходимо использовать в полной мере возможности современных эндоскопов и применять все световые режимы и опции: осмотр в белом свете, в узкоспектральном и аутофлуоресцентном режимах, увеличение изображения.
2. Эндоскопические исследования с применением функции аутофлуоресценции проводятся пациентам со стандартной подготовкой органов желудочно-кишечного тракта. Для лучшей визуализации непосредственно перед исследованием пациентам необходимо принять 20-30 мл пеногасителя.
3. При проведении эндоскопических исследований с функцией аутофлуоресценции рекомендуется соблюдать следующие приемы:
 - Исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта рекомендуется начинать в режиме белого света, затем в режиме аутофлуоресценции, в режиме узкого спектра света и увеличения по каждому органу и их отделам. Световые режимы нужно чередовать для достижения максимального понимания строения новообразования. Поверхность новообразований при необходимости можно дополнительно очистить струей воды с пеногасителем, с помощью подачи ее шприцами или помпой через биопсийный или специальный оросительный канал эндоскопа.
 - Начинать осмотр пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки в режиме аутофлуоресценции рекомендуется при извлекательном движении эндоскопа. Необходимо учитывать фоновое аутофлуоресцентное свечение этих органов - равномерное, в виде мелкой мозаики слабо-пурпурного и серо-зеленого цветов. Слизь, примесь желчи, крови и пищевых масс при аутофлуоресценции приобретают серый цвет.
 - Исследование нижних отделов желудочно-кишечного тракта рекомендуется начать в белом свете, провести эндоскоп в купол слепой кишки. Затем исследовать каждый отдел кишки поочередно применяя аутофлуоресцентный, узкоспектральный режимы и увеличение изображения. Новообразования толстой кишки так же рекомендуется осматривать под различным углом и приближении к нему.
4. Новообразования могут иметь как пурпурный, так и зеленый цвет при аутофлуоресцентной

эндоскопии. Необходимо учитывать тот факт, что атрофированная слизистая желудка приобретает зеленый аутофлуоресцентный цвет и затрудняет детекцию новообразований на своем фоне. Рекомендуется проводить осмотр в режиме аутофлуоресценции под разным углом и приближении к слизистой, что позволяет так же определить контуры новообразования.

5. Рекомендуется учитывать не только пурпурное аутофлуоресцентное окрашивание самого новообразования, но и окружающей вокруг слизистой. Рекомендуется проводить эндоскопическую резекцию слизистой с новообразованием отступя 0,5 см от границ пурпурно окрашенной окружающей слизистой.
6. Рекомендуется удалять эндоскопическими методами пурпурно окрашенные эпителиальные новообразования вне зависимости от размера и локализации по органам желудочно-кишечного тракта т.к. пурпурное окрашивание является проявлением диспластических изменений.
7. Фокусы пурпурного цвета на фоне зеленого аутофлуоресцентного окрашивания новообразования рекомендуется рассматривать как очаги диспластических изменений и проводить эндоскопическое удаление этих новообразований.
8. При проведении эндоскопических исследований, при наблюдении за результатами эндоскопического удаления с целью определения рецидива роста новообразования, рекомендуется применять режим аутофлуоресценции. При обнаружении участков пурпурного окрашивания в зоне удаления новообразования рекомендуется производить из них множественную биопсию для гистоморфологического исследования. При выявлении признаков опухолевого роста направлять на хирургическое лечение.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Князев М.В., Дуванский В.А./ Эндоскопическое лечение гастроинтестинальных неоплазий-эволюция метода. Вестник хирургии им. В.Е.Грекова.2015-№2,Т.184.-С.130-134.
2. Князев М.В., Дуванский В.А./ Эндоскопическая резекция слизистой с диссекцией подслизистого слоя-20 лет спустя. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015.-№4.В116.-С.53-58.
3. Князев М.В., Дуванский В.А./Эндоскопическая аутофлуоресцентная диагностика колоректальных неоплазий. Российский биотерапевтический журнал.2014-№1.-С. 93.
4. Князев М.В., Дуванский В.А., Агейкина Н.В./Аутофлуоресцентная диагностика эпителиальных образований желудка.//Лазерная медицина. 2014- № 2. Т. 18. -С. 20-26.
5. Князев М.В., Дуванский В.А./Аутофлуоресцентная эндоскопическая диагностика эпителиальных новообразований желудка.//Лазерная медицина.2014.т.18.-С.41.
6. Князев М.В., Дуванский В.А./Эндоскопическая диагностика и лечение плоско возвышающихся образований толстой кишки.//Альманах Института хирургии им. А.В. Вишневского, 2012-№ 1, Т. 7, –С. 152.
7. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П./Эндоскопическая оптическая когерентная томография в визуализации гастроинтестинальных неоплазий.//Лазерная медицина. 2014-№ 4.Т18.-С.73.

8. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П./Узкоспектральная эндоскопия в визуализации колоректальных неоплазий.//Лазерная медицина. 2014-№4.Т18. -С.73.
9. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П./Лазерная доплеровская флоуметрия в гастроинтестинальной эндоскопии.//Лазерная медицина. 2014-№4.Т.18.С.18.
10. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П./Фотодинамическая терапия в эндоскопическом лечении гастроинтестинальных опухолей.//Лазерная медицина. 2014-№ 2 Т. 18. -С. 49-53.
11. Дуванский В.А., Князев М.В./Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке микроциркуляции слизистой желудка и двенадцатиперстной.//Ангиология и сосудистая хирургия. М., 2011- №3, Т.14, -С. 156.
12. Дуванский В.А., Князев М.В., Осин В.Л., Краев Г.П./Оптическая когерентная томография как метод визуализации гастроинтестинальных неоплазий.//Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2013, №5, Т. 22.-С. 104.
13. Дуванский В.А., Князев М.В., Шулешова А.Г., Осин В.Л./ Узкоспектральная эндоскопия и оптическая когерентная томография в эндоскопической диагностике новообразований желудка.//Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2011. №5.Т21.-С.156.
14. Дуванский В.А., Князев М.В., Праведников П.В./Современные аспекты фотодинамической терапии заболеваний пищевода. //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. -2011, №10. -С. 111-116.
15. Дуванский В.А., Князев М.В./Эндоскопическая аутофлюоресценция в диагностике неопластических образований желудка и толстой кишки.//Лазерная медицина. 2011. - Т. 15(2), -С. 62.
16. Дуванский В.А., Князев М.В., Осин В.Л./Оптическая когерентная томография в эндоскопической диагностике новообразований желудочно-кишечного тракта//Лазерная медицина. 2011. Т. 15(2), - С. 117.
17. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П., Белков А.В./ Современные методики визуализации колоректальных неоплазий. Альманах института имени А.В.Вишневского. 2015-№2.-С.684-685.
18. Агейкина Н.В., Дуванский В.А., Князев М.В./Альтернативный путь развития колоректального рака. Эндоскопические и морфологические особенности зубчатых поражений.//Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013. № 8. -С. 3-10.
19. Агейкина Н.В., Дуванский В.А., Князев М.В./Альтернативный путь развития колоректального рака. Гистогенетические и молекулярные особенности зубчатых поражений (продолжение).//Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014. № 7. -С. 4-12.
20. Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Агейкина Н.В., Князев М.В. / Зубчатые образования (Serrated Lesions) толстой кишки // Архив патологии. – 2015. – № 1. -С. 60-68
21. Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Агейкина Н.В., Князев М.В. / Клинико-морфологические особенности зубчатых образований толстой кишки // Архив патологии. – 2015. – № 4. Т.77 -С. 24-32.
22. Лопатина О.А., Исаева Е.И., Подчерняева Р.Я., Бакланова О.В., Князев М.В., Селиванова Т.К./Обнаружение бока, аденовирусов и микоплазм в биопсийном материале у больных с поражением желудочно-кишечного тракта.//Сборник материалов конгресса XIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарства», Москва. 2012.-С 145.
23. Лопатина О.А., Меченцева М.В., Подчерняева Р.Я., Шаповал И.М., Фирсова Е.Л., Лопатина И.А., Князев М.В./ Селиванова Т.К./Экспрессия генов цитокинов в биоптатах желудочно-кишечного тракта при неопластических процессах.//Сборник материалов конгресса XIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарства», Москва. 2012.-С. 529.
24. Lopatina O.A., Isaeva E.I., Knyazev M.V., Baklanova O.V./ Detection of viral infection markers in colon.// The First International Conference on Eurasian scientific development. Vienna,

2014,p.85-91.

25. Knyazev M.V.,Douvansky V.A./ The features trimodal endoscopy diagnosis of the metaplastic atrophy in the gastric incisura.//Journal of Gastroenterology and Hepatology. DW 2012, P20-38.2012.p.414.
26. Knyazev M.V.,Douvansky V.A./Autofluorescence of the epithelial neoplasia in the stomach.//Journal of Gastroenterology and Hepatology (JGH). PR0062 , APDW/WCOG2013, p. 687.

Список сокращений.

АФ	- аутофлуоресценция
АФИ	-аутофлуоресцентное эндоскопическое исследование
АФО	- аутофлюорисцентное окрашивание
БКВ	- боко вирус
ВБД	- вирус бычьей диареи
ДИ	- доверительный интервал
ЖКТ	- желудочно-кишечный тракт
ООЧ	- отношение относительных частот
ОЧ	- относительная частота
ОШ	- отношение шансов
ПОЧ	- повышение относительных частот
РОЧ	- разница относительных частот
ЦМВ	- цитомегаловирус
ЭБВ	-Эпштейна-Бара вирус
ЭБС	-эндоскопия в белом свете
EMD	- эндоскопическая диссекция мышечного слоя
EMR	- эндоскопическая резекция слизистой
ESD	-эндоскопическая резекция слизистой с диссекцией подслизистого слоя
EFR	- эндоскопическая резекция на всю толщу стенки
NBI	-эндоскопия в режиме узкого спектра света
Нр	- гиперпластический полип
LST	- латерально стелющиеся опухоли
TSA	- традиционная зубчатая аденома
SSA/P	- зубчатое новообразование на широком основании
JCV	-Джон Коннингам вирус
χ^2	- кси квадрат

**«РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ
ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ И В
ВЫБОРЕ МЕТОДА ИХ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ»**

Князев Михаил Викторович

Аннотация

В автореферате диссертации приводятся результаты изучения аутофлуоресценции 392 эпителиальных новообразований желудка и толстой кишки, выявленных при эндоскопическом обследовании 5362 пациентов. Установлена относительная частота присутствия аутофлоров, проявляющаяся пурпурным свечением, в зависимости от гистологического строения новообразования, их размера, локализации по отделам желудочно-кишечного тракта и инфицированности 6 видами вирусов. Установлена роль аутофлуоресценции в диагностике и верификации диспластических и канцероматозных изменений в эпителиальных новообразованиях желудка и толстой кишки. Уточнено значение пурпурного окрашивания эпителиальных новообразований как дополнительного диагностического фактора в комплексе показаний и выборе метода эндоскопического лечения. Предложен лечебно-диагностический алгоритм при эпителиальных новообразованиях этих органов.

«The role and the value of autofluorescence in the diagnosis of epithelial neoplasms of the stomach and colon and in selecting the methods for their endoscopic treatment»

Knyazev Mikhail Viktorovich

Annotation

The abstract of the thesis presents the results of the study of autofluorescence of 392 epithelial neoplasia of the stomach and colon revealed by endoscopy of 5,362 patients. The relative frequency of autofloras was established, manifested by purple glow, depending on the histological structure of neoplasia, their size, localization in gastrointestinal tract and infection by 6 types of viruses. The role of autofluorescence in diagnosis and verification of dysplastic and cancerous changes in epithelial neoplasia of the stomach and colon has been established. The meaning of purple coloring of epithelial neoplasia as an additional factor in the diagnostic and in the choice of endoscopic treatment has been clarified. The algorithm for the diagnostic and treatment of the epithelial neoplasia of these organs has been proposed.