

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-21-26

Возможности аутофлуоресцентной диагностики эпителиальных образований толстой кишки*

Князев М. В.^{2,3}, Дуванский В. А.^{1,2}, Белков А. В.^{1,3}

¹ ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины имени О. К. Скобелкина ФМБА России», Москва, Россия

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

³ Филиал № 2 ЛРЦ Минэкономразвития РФ, Москва, Россия

Possible autofluorescent diagnostics of epithelial structures in the colon*

M. V. Knyazev^{2,3}, V. A. Duvanskiy^{1,2}, A. V. Belkov^{1,3}

¹ RUDN University, Moscow, Russia

² Skobelkin state scientific center of laser medicine, Moscow, Russia

³ Branch № 2 «Medical Rehabilitation Centre of the Ministry of Economic Development of Russia», Moscow, Russia

Для цитирования: Князев М. В., Дуванский В. А., Белков А. В. Возможности аутофлуоресцентной диагностики эпителиальных образований толстой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;164(4): 21–26. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-21-26

For citation: Knyazev M. V., Duvanskiy V. A., Belkov A. V. Possible autofluorescent diagnostics of epithelial structures in the colon. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;164(4): 21–26. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-21-26

Князев Михаил Викторович, заведующий отделением эндоскопии; профессор кафедры эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии

Дуванский Владимир Анатольевич, Заместитель директора по научной работе, руководитель отделения эндоскопической хирургии; заведующий кафедрой эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии

Белков Артур Владимирович, врач-эндоскопист

Mikhail V. Knyazev, Head of Endoscopy Department; Professor, Department of Endoscopy, Endoscopic and Laser Surgery

Vladimir A. Duvanskiy, Deputy Director for Research, Head of the Department of Endoscopic Surgery;

Head of the Department of Endoscopy, Endoscopic and Laser Surgery

Artur V. Belkov, endoscopist

✉ **Corresponding author:**

Белков Артур Владимирович

Artur V. Belkov

ezrasx@gmail.com

+7 (964) 578 1759

Резюме

Цель исследования: определить зависимость аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных образований толстой кишки в зависимости от гистоморфологического строения.

Материалы и методы: Видеоколоноскопия с применением режима аутофлуоресценции была проведена у 1674 пациентов. Возраст пациентов составил 58±13,9, мужчин было 761(45,5%), женщин 913(54,5%). Были выявлены эпителиальные образования у 269 пациентов (16%). Эндоскопические осмотры проводились по стандартной методике, с применением видеоколоноскопов фирмы Олимпас, GF-260 AL.

Результаты: Установлено, что присутствие АФ окрашивания в пурпурный цвет эпителиальных образования толстой кишки, как маркера дисплазии, может служить дополнительным критерием в комплексе показаний для их эндоскопического удаления.

Заключение: Разработанный метод применения аутофлуоресцентной эндоскопии является простым по выполнению и позволяет получить данные, имеющие дифференциальное значение о наличии диспластических изменений в эпителиальных образованиях толстой кишки.

Ключевые слова: эндоскопия, толстая кишка, скрининговая колоноскопия, аутофлуоресценция, полипы, дисплазия, ранний рак

* Иллюстрации к статье – на цветной вклейке в журнал.

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal.

Summary

Objective: to determine the dependence of autofluorescent staining of epithelial colon lesions, depending on the histomorphological structure.

Material and Methods: Video colonoscopy using autofluorescence was performed in 1674 patients. The patients' age was 58 ± 13.9 , men were 761 (45.5%), women 913 (54.5%). Epithelial lesions were detected in 269 patients (16%). Endoscopic examinations were carried out according to a standard procedure using Olympus video colonoscopes, GF-260.

Results: It was established that the presence of AF staining in the purple color of the epithelial colon lesions, as a marker of dysplasia, can serve as an additional criterion in the complex indications for their endoscopic removal.

Conclusion: The developed method of using autofluorescent endoscopy is simple to perform and allows obtaining data that have a differential value on the presence of dysplastic changes in the epithelial colon lesions.

Введение

По эпидемиологическим данным за 2016 год в Российской Федерации в общей (оба пола) структуре онкологической заболеваемости колоректальный рак занимает 2 место (11,6%), уступая злокачественным новообразованиям кожи (14,2%). Среди заболевших мужчин данная локализация занимает 3 место после опухолей трахеи, бронхов и легкого (17,6%) и рака предстательной железы (14,0%); среди женщин – 2 место (11,6%) после опухолей кожи (16,4%). В структуре смертности от онкологических заболеваний колоректальный рак занимает 2 место как среди мужчин (11,4%), так и среди женщин (15,9%) [1].

К эпителиальным образования толстой кишки относятся ранний рак и полипы толстой кишки. Согласно классификации ВОЗ 2010 года все неоплазии/образования толстой кишки делятся на 2 группы: незубчатые (аденомы) и зубчатые [2]. В последней группе определены три варианта строения зубчатых поражений, имеющие тонкие архитектурные различия, но все они обладают канцерогенным потенциалом: гиперпластический полип (HP), зубчатое образование на широком основании (SSA/P) и традиционная зубчатая аденома (TSA). В дополнении аденокарциномам толстой кишки, возникающая из зубчатых поражений (SSL) и имеющая зубчатые изменения в структуре, называется зубчатой аденокарциномой [3,4]. К незубчатым образованиям относятся тубулярная, тубуло-ворсинчатая, villous аденома. Частота выявления аденом составляет примерно 25% от всех выполненных колоноскопий [5]. Две трети всех колоректальных раков развиваются из аденом, одна треть исходит из зубчатых образований [6,7].

Знание истинной частоты HP, TSA и SSA важно, потому что это позволит оценить истинную скорость злокачественного преобразования этих поражений. В одном исследовании резидуальные зубчатые полипы наблюдались рядом с 5,8% колоректальных раков [8].

Около 20% колоректального рака продемонстрировало распространенные дефекты в метилировании ДНК (так называемые CIMP-положительные), и что многие (если не все) из этих могут возникнуть в рамках зубчатых эпителиальных образований [9].

Гиперпластические полипы составляют 80–90% от всех зубчатых полипов [10] и до настоящего

времени считаются безобидными образованиями, зачастую обнаруживаются в левой половине толстой кишки (ТК) и прямой кишке (75–80%) [11], не более 5 мм, по данным авторов до 10 мм, симметричные и равномерные [12,13,14]. При морфологическом исследовании HP определяется зубчатость в верхней части крипт до верхней трети крипт в большинстве случаев, зубчатый или звездчатой формы просвет, нижняя часть крипты остается узкой, прямой, трубчатой (тубулярной), без горизонтального или нерегулярного ветвления, без появления дилатации. Проплиферативная зона занимает базальную треть нижней части крипты, и зона является симметричной, в глубине крипт часто визуализируется расширение пролиферативной зоны [15]. Большие HP встречаются редко, их строение отличается усиленной зубчатостью и дилатацией просвета крипт. В них нормальная пролиферация. Значительный риск злокачественного развития в гиперпластическом полипе повышен при наличии синхронных аденом или SSA [16,17].

Основным методом лечения эпителиальных новообразований, в том числе рака толстой кишки остается хирургический метод. Успех лечения напрямую зависит от стадии заболевания. Появляется все больше данных, что ранние формы рака толстой кишки без признаков инвазии в подслизистые структуры могут быть успешно излечены эндоскопическими методами- резекция слизистой с или без диссекции подслизистого слоя. Однако до 5% случаев отмечаются рецидивы с метастазированием в региональные лимфоузлы. Хотя этот процент соизмерим с данными возникновения рецидивов при открытых операциях при этой же стадии рака, ведутся поиски причин и методов снизить этот показатель до минимума [18]. Одним из таких подходов является определение диспластического и неопластического потенциалов в эпителиальных образованиях и толстой кишки на ранних этапах развития при их минимальных размерах. Для установления диспластических и неопластических изменений во время эндоскопического исследования применяются описательные критерии строения ямочного рисунка слизистой толстой кишки. С этой целью используются эн-

доскопы с высоким разрешением, увеличением изображения в 115 и более раз, различные световые режимы [19]. На основании этих работ созданы классификации вида строения микроархитектоники ямочного рисунка и микроваскулярной сети слизистой желудка, но определить патогномоничные симптомы перехода от нормальной к метапластической, затем диспластической и канцероматозной измененной слизистой остается трудной задачей. Таким методом диагностики диспластических и канцероматозных изменения могла бы выступать аутофлуоресценция. Применение эндоскопической аутофлуоресценции позволило бы получить дополнительные данные о состоянии тканей слизистой и возможно, позволило бы про-

вести дифференциальную диагностику и выбрать адекватный метод лечения.

Были получены очень 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. Поэтому аутофлуоресценция рассматривается как еще один инструмент в повышении выявляемости раннего рака желудочно-кишечного тракта

Цель исследования: определить зависимость аутофлуоресцентного (АФ) окрашивания эпителиальных образований толстой кишки в зависимости от гистоморфологического строения.

Материалы и методы

Видеоколоноскопия с применением режима аутофлуоресценции была проведена у 1674 пациентов. Возраст пациентов составил $58 \pm 13,9$, мужчин было 761 (45,5%), женщин 913 (54,5%). Были выявлены эпителиальные образования у 269 пациентов (16%). Эндоскопические исследования проводились по общепринятой методике в плановом порядке. Использовались видеоколоноскопы фирмы Олимпас (Япония) модели, 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). Применение данных функций проводилось во время эндоскопического исследования путем нажатия соответствующей кнопки на рабочей части блока управления эндоскопа. Колоноскоп проводился в купол слепой кишки с использованием белого спектра света. Осуществлялся осмотр всех отделов толстой кишки, по возможности проводилась интубация подвздошной кишки, осматривалась терминальная часть кишки. В случае выявления эпителиального

образования проводился детальный осмотр его в трех режимах: увеличения, в узком спектре света и аутофлуоресценции. Биопсия образования проводилась щипковым методом или методом стрип-биопсии. В протоколе отражалась характеристика макроскопического строения ямок (pit pattern) и васкулярный узор (vascular pattern) по классификации Кудо, а также тип образования согласно Парижской классификации неоплазий 2002 года. После получения гистоморфологического заключения биопсийного материала проводилось их распределение по категориям, согласно Венской классификации гастроинтестинальных неоплазий 2000 года.

Для анализа полученных данных применялись методы статистического анализа качественных признаков, с вычислением абсолютных и относительных частот распределения, границы доверительного интервала. Так же для сравнения различия частот в двух независимых группах применялись расчеты критерия Фишера, χ^2 (хи-квадрат) по Пирсону.

Результаты

Видеоколоноскопия с применением режима аутофлуоресценции была проведена у 1674 пациентов. Возраст пациентов составил $58 \pm 13,9$, мужчин было 761 (45,5%), женщин 913 (54,5%). Были выявлены эпителиальные образования у 269 пациентов (16%). Для выяснения зависимости вида АФ окрашивания эпителиальных образований толстой кишки от гистологического строения, все образования разделили на 4 группы по категориям в соответствие с Венской классификацией гастроинтестинальных неоплазий.

1 группа включала в себя все виды гистоморфологически подтвержденных инвазивных и неинвазивных карцином (категории 4.2–5.2 по Венской классификации);

2 группа включала аденоматозные образования с диспластическими изменениями 1–3 степени (категории 3–4.1)

3 группа включала в себя образования с неопределенной дисплазией, смешанным аденоматоз-

но-гиперпластическим гистологическим строением (категория 2)

4 группа контрольная включала в себя образования негативные по диспластическим изменениям, воспалительного характера (категория 1)

В таблице № 1 представлены данные по распределению эпителиальных образований по группам и АФ окрашиванию.

В 1 группе было диагностировано 29 злокачественных новообразований, из них 13 высоко дифференцированные аденокарциномы, 1 случай лимфомы слепой кишки, 15 случаев умеренно дифференцированных карцином. Преобладал приподнятый тип образований 0-Ip, 0-Ips, 0-Is, в 5 случаях форма опухоли была (LST) латерально стелющейся опухоли (3 в восходящей кишки, 2 в сигмовидном отделе). По локализации опухоли чаще обнаруживались в дистальных отделах толстой кишки 18 случаев. В 26 случаях опухоли имели пурпурное АФ окрашивание, в 3 случаях - зеленое. В последнем случае

Доверительный интервал для образований 3 группы окрашенных в пурпурный цвет составил 0.4–0.78. Доверительный интервал для образований 3 группы, окрашенных в зеленый цвет, составил 0.22–0.6. С вероятностью 95% можно утверждать, что вероятность АФ окрашивания в зеленый цвет образований 3 группы находится в интервале в этом интервале и включают полученные данные.

Доверительный интервал для АФ окрашивания в пурпурный цвет эпителиальных образований контрольной 4 группы составил 0.22–0.54. Доверительный интервал АФ окрашивания в зеленый цвет эпителиальных образований контрольной 4 группы составил 0.46–0.78. С вероятностью 95% можно утверждать, что вероятность АФ окрашивания в зеленый цвет образований контрольной группы находится в этом интервале и включают полученные данные.

Доверительные интервалы АФ окрашенных в пурпурный и зеленый цвета для каждой группы представлены в сводной таблице 3.

В группах 1 и 2 перекрытия доверительных интервалов внутри группы нет, т.е. можно говорить о статистической значимости различий в АФ окрашивании эпителиальных образований в этих группах.

Статистические значимые различия обнаруживаются между контрольной 4 группой и группами 1, 2 по признаку АФ окрашивания в пурпурный цвет образований этих групп. Не перекрывающиеся доверительные интервалы между группами по признаку пурпурного АФ окрашивания указаны черной стрелкой в таблице 3. Пунктирной красной стрелкой указаны перекрывающиеся ДИ между 4 и 3 группами.

На основании расчета показателей количественной характеристики метода можно говорить о том, что эпителиальные образования толстой кишки вне зависимости от их гистологического строения в 84% случаев окрашиваются в пурпурный цвет. При отсутствии этих образований слизистой в 62% случаев будет иметь зеленое АФ окрашивание. Из вычисленных показателей отношение правдоподобия – +LR- 2,4 и -LR-0,43 видно, что пурпурное АФ окрашивание эпителиальных образований толстой кишки в 2,21 раза вероятнее, чем в контрольной группе. На основании построения характеристической кривой (AROC) графика № 6 зависимости чувствительности (Se) от процента ложноположительных результатов (1- Sp), видно что кривая 5 данного расчета расположена между кривыми 2 и 3 (интервал AUC0,7–0,8), что соответствует хорошему качеству теста.

Обсуждение

Разработанный метод применения аутофлуоресцентной эндоскопии является простым по выполнению и позволяет получить данные, имеющие дифференциальное значение о наличии диспластических изменений в эпителиальных образованиях толстой кишки. Выявлено, что аденокарциномы, аденомы с дисплазией толстой кишки имеют пурпурное АФ

окрашивание, которое не зависит от размера образования и их расположения по отделам этих органов. Установлено, что присутствие АФ окрашивания в пурпурный цвет эпителиальных образования толстой кишки, как маркера дисплазии, может служить дополнительным критерием в комплексе показаний для их эндоскопического удаления.

Литература | References

1. van Rijn JC, Reitsma JB, Stoker J, et al. Polyp miss rate determined by tandem colonoscopy: a systematic review. *Am J Gastro* 2006;101(2):343–350
2. Snover DC, Ahnen DJ, Burt RW, Odze RD Serrated polyps of the colon and rectum and serrated polyposis. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds) WHO classification of tumours of the digestive system, 4th edn. IARC, Lyon, (2010), pp. 160–165.
3. Jass J, Smith M. Sialic acid and epithelial differentiation in colorectal polyps and cancer – a morphological, mucin and lectin histochemical study. *Pathol* 1992;24(4):233–42
4. Агейкина Н. В., Дуванский В. А., Князев М. В. и соавт. Альтернативный путь развития колоректального рака. Гистогенетические и молекулярные особенности зубчатых поражений // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 7 (107). – С. 4–12
Ageikina NV, Duvanskii VA, Kniazev MV, Mal'kov PG, Danilova NV, Kharlova OA. The alternative way of colorectal cancer developing. The histogenetic and molecular features of serrated lesions (review, continued). *Eksp Klin Gastroenterol*. 2014;(7):4–12.
5. Rabeneck L, Paszat LF, Hilsden RJ, et al. Bleeding and perforation after outpatient colonoscopy and their risk factors in usual clinical practice. *Gastro* 2008;135(6):1899–1906. 1906. e1;
6. Shimoda T, Ikegami M, Fujisaki J, et al. Early colorectal carcinoma with special reference to its development de novo. *Cancer* 1989;64(5):1138–1146
7. Агейкина Н. В., Дуванский В. А., Князев М. В. Альтернативный путь развития колоректального рака. Эндоскопические и морфологические особенности зубчатых поражений (обзор литературы) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 8. – С. 3–10
Ageikina NV, Duvanskii VA, Kniazev MV. An alternative pathway of colorectal cancer development. Endoscopic and morphological features of serrated lesions. Review. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2013;(8):3–10.
8. Mäkinen MJ, George SM, Jernvall P, et al. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma – prevalence, histological features, and prognosis. *J. Pathol* 2001; 193:286–294
9. Hawkins N, et al. CpG island methylation in sporadic colorectal cancer and its relationship to microsatellite instability. *Gastroenterology* 2002; 122:1376–87
10. Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology* 2007; 50:131–150

11. *Spring K J, Zhao Z Z, Karamatic R, et al.* High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastro* 2006; 131:1400–1407
12. *Weston AP, Campbell DR.* Diminutive colonic polyps: histopathology, spatial distribution, concomitant significant lesions, and treatment complications. *Am. J. Gastro* 1995; 90; 24–28
13. *Higuchi T, Sugihara K, Jass JR.* Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histo* 2005; 47; 32–40
14. *Haws AL.* Pathology of Serrated Colon Adenomas. Ed. Mamoun Younes, 2012 <http://emedicine.medscape.com/article/1731536-overview>
15. *Никушаев В. И., Патий А. Р., Тумак И. Н. и соавт.* Эндоскопическая диагностика раннего колоректального рака. *Український журнал малоінвазивної та ендоскопічної хірургії* 2012; 16 (1):35–55
Nikishaev V. I., Patiy A. R., Tumak I. N. et al. Endoscopic diagnosis of early colorectal cancer. *Ukrainian Journal of Minimally Invasive and Endoscopic Surgery*. 2012, vol. 16, no. 1, 35–55.
16. *Князев М. В., Дуванский В. А.* Эндоскопическая резекция слизистой с диссекцией подслизистого слоя – 20 лет спустя (обзор зарубежной литературы) // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015. № 4 (116). - С. 53–58
Knyazev MV, Duvanskiy VA. Endoscopic mucosal resection with submucosal dissection esd and the first long-term results of applying this method. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2015;(4):53–8.
17. *Дуванский В. А., Князев М. В.* Эндоскопическое лечение гастроинтестинальных неоплазий – эволюция метода // *Вестник хирургии им. И. И. Грекова*. 2015. Т. 174. № 2. - С. 130–134
Nikishaev V. I., Patiy A. R., Tumak I. N. et al. Endoscopic diagnosis of early colorectal cancer. *Ukrainian Journal of Minimally Invasive and Endoscopic Surgery*. 2012, vol. 16, no. 1, 35–55.
18. *Князев М. В., Дуванский В. А., Агейкина Н. В.* Три-модальная эндоскопия в диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта // *Клиническая эндоскопия*. 2012. Т. 4. – С. 2
Knyazev M. V., Duvanskii V. A., Ageikina N. V. Trimodal'naya endoskopiya v diagnostike zabolevanii zheludchno-kishechnogo trakta. *Klin. endoskop*. 2012. vol. 4. p. 2.
19. *Douvansky V. A. Knyazev M. V.* Autofluorescent endoscopic diagnostics of epithelial neoplasms in the colon // *Journal of Gastro and Hep* 2015; 30 (Suppl. 4): 211.2

К статье

Возможности аутофлуоресцентной диагностики эпителиальных образований толстой кишки(стр. 21–26)

To article

Possible autofluorescent diagnostics of epithelial structures in the colon (p. 21–26)

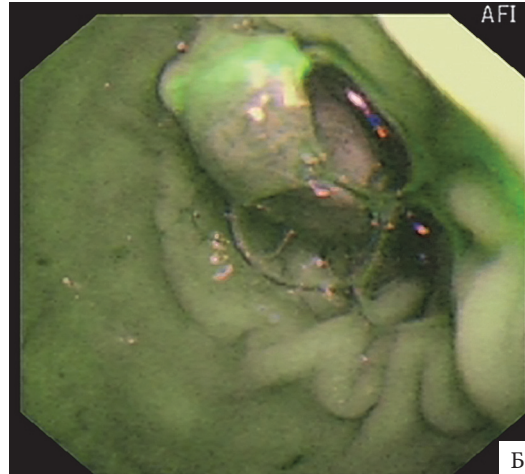
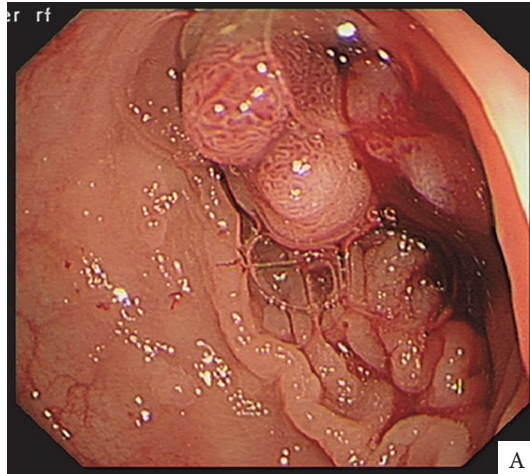


Рисунок 1.

Карцинома нисходящего отдела толстой кишки в белом свете и в аутофлуоресцентном режиме, опухоль имеет пурпурное АФ окрашивание (изображение без увеличения).

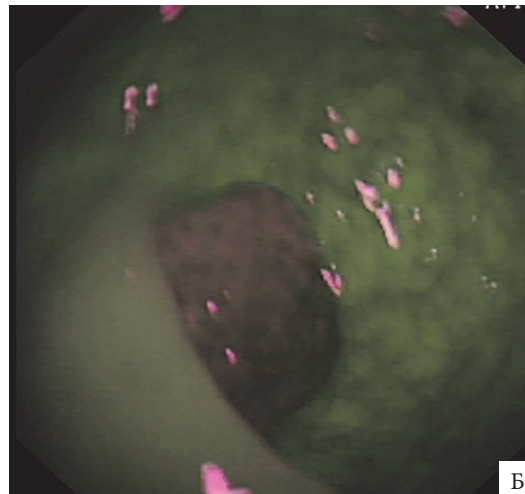
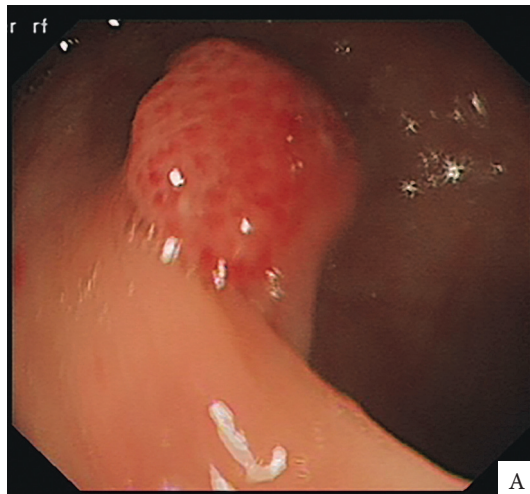


Рисунок 2.

Тубуло-ворсинчатое образование типа 0-Is толстой кишки в белом свете и в режиме аутофлуоресценции имеет пурпурное окрашивание (изображение без увеличения).

Рисунок 3.

Тубулярная аденома типа 0-Па толстой кишки в белом свете и в режиме аутофлюоресценции имеет зеленое окрашивание (изображение без увеличения).

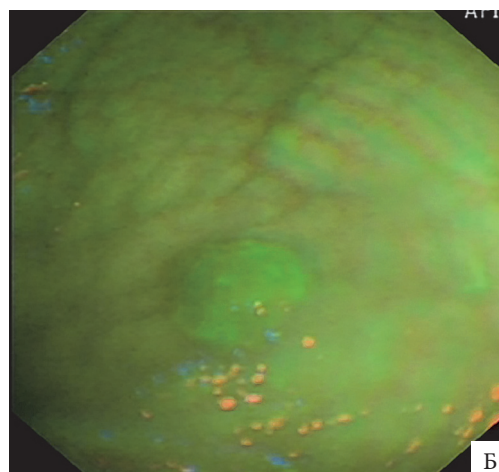
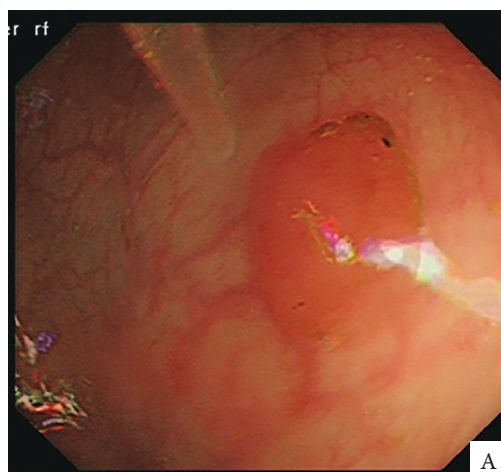


Рисунок 4.

Эпителиальное возвышающееся образование типа 0-Па толстой кишки гиперпластического зубчатого строения в белом свете и в режиме аутофлюоресценции, имеет слабо-пурпурное окрашивание (изображение без увеличения).

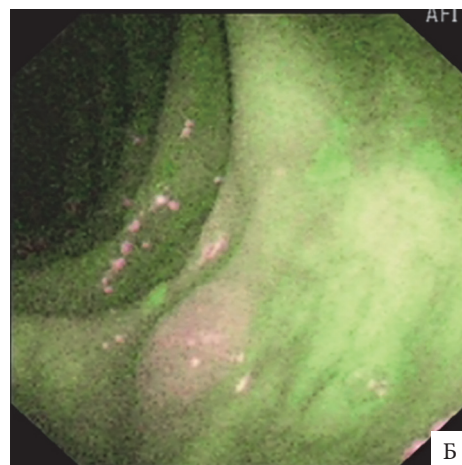
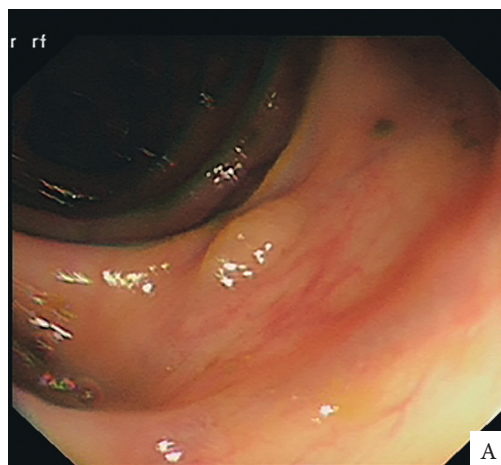


Рисунок 5.

Эпителиальное возвышающееся образование типа 0-Па толстой кишки гиперпластического зубчатого строения в белом свете и в режиме аутофлюоресценции, имеет зеленое окрашивание (изображение без увеличения).

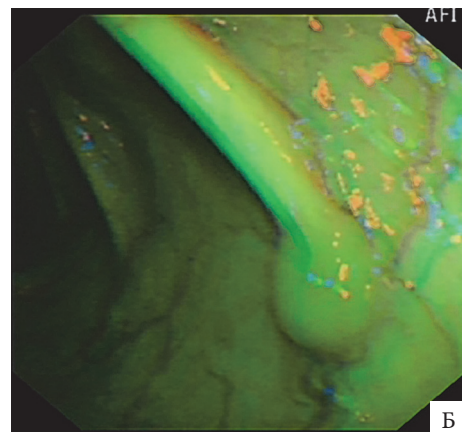
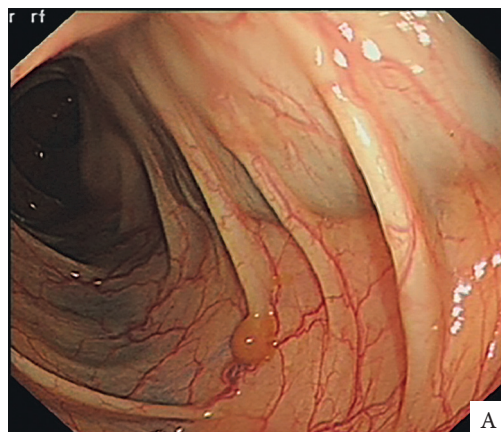


Рисунок 6.

График характеристической кривой (A_{ROC}) зависимости показателей чувствительности от процента ложноположительных результатов.

