

В.Ф. Саєнко
С.Д. Мясоєдов
О.М. Бурий
І.В. Гомоляко
О.Ю. Йоффе
Т.О. Дубович

Інститут клінічної та експериментальної хірургії АМН України, Київ, Україна

Ключові слова: *стравохід Барретта, діагностика, хромоендоскопія, оптична біопсія, фотосенсибілізатор гіперфлаву.*

ХРОМОЕНДОСКОПІЯ ТА ОПТИЧНА БІОПСІЯ В ДІАГНОСТИЦІ СТРАВОХОДУ БАРРЕТТА

Резюме. *Методику хромоендоскопії та оптичної біопсії застосовані у 27 пацієнтів з хронічною рефлюксною хворобою стравоходу (РХС) для вдосконалення традиційної щипцевої біопсії в діагностиці стравоходу Барретта (СБ). Оптичну біопсію проводили з використанням вітчизняного фотосенсибілізатора гіперфлаву та діагностичного комплексу, який складався з гелієво-кадмієвого лазера, спектроаналізатора з комп'ютерною підтримкою та двох світловодів. Криві аутофлуоресценції та флуоресценції гіперфлаву візуалізувалися на екрані монітора комп'ютера, протягом 2–3 с здійснювали їх спектрометричний аналіз та оцінювали тип тканини ділянки слизової оболонки, що збільшувало швидкість, чутливість та адекватність процедури ендоскопічного виявлення СБ у 2 (7,4%) хворих.*

ВСТУП

Аналіз епідеміологічних спостережень, проведених у багатьох розвинутих країнах світу, дозволяє стверджувати, що в неендемичних щодо раку кардіоезофагеальної локалізації регіонах аденокарциномі стравоходу передує хвороба, яка найчастіше виникає на тлі циліндроклітинної метapлазії епітелію з ознаками інтестиналізації, для назви якої використовують епонім «стравохід Барретта» (СБ) [2, 4, 11]. Найчастіше проявом цього патологічного стану вважають рефлюксну хворобу стравоходу (РХС) [4, 8].

У наш час зусилля широкого загалу дослідників спрямовані на пошук методик раннього виявлення злоякісних новоутворень стравоходу та передпухлинних змін, до яких належать спеціалізована метapлазія епітелію, або СБ, та дисплазія [2, 3, 11]. На жаль, візуальна оцінка цих змін здійснена навіть досвідченим ендоскопістом, не може вважатися інформативною внаслідок слабко виражених макроскопічних особливостей процесу, який нерідко має дрібно- та мультифокальний мозаїчний тип розподілу у слизовій оболонці з вогнищами аномального епітелію [2, 4]. Тому одними з сучасних перспективних методик діагностики СБ, а також диспластичних змін у слизовій оболонці стравоходу вважають хромоендоскопію та спектроскопічний аналіз індукованої лазером флуоресценції [1, 5, 7, 10].

З метою покращання діагностики передпухлинних процесів та передінвазивних форм раку стравоходу було поставлено завдання підвищення її чутливості, швидкості та адекватності. Основною метою було вдосконалення ендоскопічного обстеження як головного з сучасних методів виявлення СБ та його неопластичної трансформації. Разом з інформацією щодо факторів ризику прогресування, податливості консервативному лікуванню СБ та РХС ендоскопічні та морфо-

логічні дані визначають тактику і методику моніторингу та лікування хворих.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У клініці обстежено 27 пацієнтів з РХС I–IV стадії за класифікацією Savary–Miller. Слід зазначити, що рентгенологічне обстеження з подвійним контрастуванням, сцинтиграфічна методика з внутрішньовенним введенням технецію пертехнітату не дали очікуваних результатів в діагностиці СБ. Оскільки важливим питанням обстеження цих хворих вважали виявлення на передклінічній стадії передпухлинних та пухлинних процесів на підґрунті СБ, тому головне місце в діагностиці зайняла ендоскопія з прицільним взяттям щипцевої біопсії згідно з рекомендованим протоколом [2] та з наступним гістологічним дослідженням одержаних зразків.

Використовували ендоскоп GIF-1T10 фірми «Olympus» з торцевою оптикою. Процедуру виконували натще. Премедикацію здійснювали шляхом ін'єкції димедролу з атропіном, а анестезії досягали фарингеальним розпорошенням 10% розчину лідокаїну.

У типових випадках огляд виявляв циліндричний епітелій у стравоході у вигляді оксамитової червоного кольору поверхні, яка контрастувала з блискучою блідо-рожевого кольору поверхнею плоского епітелію. Однак значно частіше ендоскопічна картина внутрішньої оболонки стравоходу не була такою чіткою внаслідок наявності езофагіту, що ускладнювало визначення локалізації анатомічного стравохідно-шлункового переходу та Z-лінії.

Тому з метою вдосконалення ендоскопічного обстеження пацієнтів з хронічною РХС застосовували методику, що передувала проведенню щипцевої біопсії, комбінованої хромоендоскопії з оптичною біопсією для покращання візуалізації слизової оболонки стравоходу, а також для уточ-

нення місць взяття біопсійних зразків для морфологічного дослідження.

Спочатку використовували методику хромоендоскопії — йодне забарвлення за допомогою 3–5% розчину Люголя. Через катетер, введений у стравохід по біопсійному каналу ендоскопа, за допомогою шприца розчин впорскували, починаючи з дистального відрізка органа у проксимальному напрямку. До того як через 3–16 хв після початку процедури відбувався кліренс барвника, вивчали морфологію епітелію, феномен його забарвлення. Інтенсивність забарвлення залежно від вмісту в епітелії глікогену [7] оцінювали згідно з чотирьохступеневою градацією — від гіперзабарвлення до його відсутності. Визначали також ступінь маргінальної чистоти, який залежить від різкості переходу між різнозабарвленими ділянками слизової оболонки. За наявності дисплазії покривного епітелію, його атрофії, у разі езофагіту межа між плоским та циліндричним епітелієм була нерізкою і визначалася важко. Безпосередньо після впорскування барвника неуразена слизова оболонка набувала рівномірного темно-коричневого кольору із зеленуватим відтінком, а патологічна тканина, навіть субепітеліально розташована, залишалася слабкозабарвленою. Завдяки застосуванню цієї процедури покращувалася візуалізація деталей поверхні слизової оболонки, яка мала ніжну, зморшкувату структуру. Відзначали більш інтенсивне, ніж у неуразеному епітелії, забарвлення ділянок акантозу та лейкоплакії. Фокуси епітелію з дисплазією забарвлювалися слабо. Враховуючи переважно мультифокальний, мозаїчний тип поширення метаплазованого епітелію з явищами дисплазії, біопсію брали з усіх слабкозабарвлених та незабарвлених ділянок, а у разі припущення про наявність циркулярного покриву внутрішньої поверхні стравоходу аномальним епітелієм — в кожному квадранті кожні 2 см впродовж усього органа.

Підвищує чутливість ендоскопії в діагностиці СБ методика оптичної біопсії, яка визначає індуковану лазером флуоресценцію досліджуваної тканини і заснована на здатності фотосенсибілізатора накопичуватися у морфологічно змінених клітинах (рак, дисплазія, метаплазія) і затримуватися в них довше, ніж в неуразених тканинах. Використання лазерів під час проведення процедури зумовлено необхідністю досягнення високої потужності випромінювання. Спектри флуоресценції визначали у діапазоні 500–700 нм. Використовували гелієво-кадмієвий лазер потужністю 20 мВт, який випромінює світло з такою самою довжиною хвилі, як у гіперфлаву. Як фотосенсибілізатор використовували гіперфлав (гіперіцинвмісний препарат з групи непорфіринових фотосенсибілізаторів). Препарат виробляється Борщагівським хімфармзаводом (Київ, Україна) та застосовується з розрахунку 0,1–0,15 мг гіперіцину на 1 кг маси тіла. Одна

капсула гіперфлаву містить 4 мг гіперіцину. Критерієм диференціації неуразеної та патологічно зміненої слизової оболонки є визначення кривих аутофлуоресценції (535–550 нм) та кривих флуоресценції гіперфлаву (600–645 нм). Для проведення дослідження пацієнтам з масою тіла 70–80 кг призначали 2 капсули (8 мг гіперіцину) препарату. За результатами проведених експериментальних та клінічних досліджень було встановлено, що через 4 год після введення гіперфлаву утримується лише морфологічно зміненими клітинами протягом наступних 4–12 год. Діагностичний комплекс складався з двох світловодів, проведених через біопсійний канал езофагогастроскопа, по одному з яких випромінювання гелієво-кадмієвого лазера подавалося на слизову оболонку, по іншому — відображений флуоресцентний сигнал надходив у спектроаналізатор [4]. Раніше методику успішно використовували для проведення диференціальної діагностики доброякісних та злоякісних процесів у шлунку і визнали як таку, що має значну діагностичну широту [4]. Ці дані були підтвержені нами під час обстеження 5 хворих на рак стравоходу.

Крива флуоресценції візуалізувалася на екрані монітора комп'ютера. Гіперфлав має піки абсорбції 550 і 595 нм та піки флуоресценції 600 і 645 нм. Заміри флуоресценції, індукованої лазером, проводили шляхом прикладання кінця світловода до місця на імовірного ураження слизової оболонки стравоходу. Зареєстровані флуоресцентні спектри оцінювали у специфічних для гіперіцину діапазонах довжини хвилі. Для неуразеної слизової оболонки характерною була наявність кривої аутофлуоресценції, а для слизової оболонки з морфологічними змінами — кривої флуоресценції гіперіцину. Аналізували інформацію щодо специфічного бімодального розподілу флуоресцентного спектра гіперіцину. Комп'ютерну оцінку спектрометричної характеристики слизової оболонки здійснювали протягом 2–3 с. З ділянок зміненої слизової оболонки стравоходу, обраних на основі даних оптичної біопсії, здійснювали прицільну щипцеву біопсію. Визначали гістологічні характеристики біоптатів та порівнювали їх з флуоресцентними спектральними даними з цих місць. Діагностична цінність традиційної біопсії, яку виконували разом з оптичною, збільшувалася за рахунок підвищення її чутливості.

Значно спрощувало вибір місць для взяття щипцевої біопсії слизової оболонки з метою створення ендоскопічних карт топографії вогнищ та зон поширення метаплазованого епітелію впровадження методики маркування — татуювання тушшю. Як відомо, методика добре зарекомендувала себе у хірургії товстої кишки [9] як безпечний, простий, точний, дешевий метод, що забезпечував топічний гістологічний моніторинг стравоходу. Імплантована у глибокі шари слизової або підслизової оболонки забарвлена позначка зберігалася протягом декількох років та визначалася під

час огляду через ендоскоп у місці введення туші у вигляді зони синьо-чорного кольору. За допомогою голки для склеротерапії варикозно-розширених вен стравоходу, оголеної на 4–5 мм і розташованої тангенціально, 0,2–0,3 мл розчину туші у воді вводили в стінку органа.

За допомогою стандартних ендоскопічних щипців у 27 пацієнтів взято 75 зразків слизової оболонки стравоходу. Зразки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, обробляли за загальноприйнятою методикою, зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При обстеженні 27 хворих ми не виявили передінвазивних та інших форм раку стравоходу. Ці висновки підтверджені даними контрольних ендоскопічних обстежень усіх пацієнтів, проведених в терміни від 1 до 2 років. Циліндроклітинна метаплазія епітелію з ознаками інтестиналізації діагностована у 2 (7,4%) пацієнтів, що є високим показником виявлення цієї патології [4]. Вогнища метаплазії у вигляді окремих острівців були розташовані на 3 см проксимальніше від анатомічного стравохідно-шлункового переходу. У біопсійних зразках слизової оболонки дисплазії не виявлено.

Використання під час проведення ендоскопічного обстеження методик хромоскопії та індукованої лазером флуоресценції з непорфіриновим туморальним маркером гіперіцином допомагає охарактеризувати патологію слизової оболонки стравоходу. Збагаченість фотосенсибілізатором патологічної тканини дає можливість відповідно до виявлення особливої форми флуоресцентного спектра реєструвати ті ділянки слизової оболонки, в яких є висока вірогідність виявлення СБ та особливо дисплазії і раку. Жоден з досі відомих діагностичних тестів не може вважатися таким, який за більшістю показників відповідає потребам скринінгу поширених та макроскопічно невизначених передпухлинних процесів у стравоході при СБ на тлі хронічної РХС.

Слід зазначити, що для з'ясування відповідності результатів вимірювання флуоресценції та визначення гістології біопсійного матеріалу під час диференціювання різновидів метаплазії та дисплазії стравохідного епітелію доцільно було би продовжити накопичення досвіду у цьому напрямку. Під час реєстрації індукованої лазером флуоресценції в ділянках з різним накопиченням гіперфлаву, можна констатувати значну відмінність сигналів неураженої та передпухлинно зміненої тканини, що має важливе практичне значення.

Отже методики хромоендоскопії та флуоресцентної діагностики на сьогодні є ефективним доповненням до рутинного ендоскопічного дослідження при виборі місця взяття множинних біоптатів для моніторингу, який рекомендований при СБ. Використання комплексу зазначених методів є виправданим, тому що термін виконання

процедури не подовжується, збільшується чутливість звичайної ендоскопії та її адекватність, зменшується необхідна кількість біопсійних зразків і зростає вірогідність виявлення СБ та інших передпухлинних та ранніх пухлинних процесів слизової оболонки, що не візуалізуються за допомогою звичайних методів дослідження.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Bigio AJ.** Overview of spectroscopic technique for tissue diagnostics. In: Proc SPIE Conf Optical Biopsies. Stockholm, Sweden, 1996: 30.
2. **Dent J, Bremner CG, Collen MJ, et al.** Barrett's esophagus. In: Working Party Rep IX World Congr Gastroenterol. Melbourne: Blackwell Scientific Publications, 1990: 17–26.
3. **Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JI.** Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinomas in the United States. *Cancer* 1998; **15**: 2049–53.
4. **Falk GW.** Reflux disease and Barrett's esophagus. *Endoscopy* 1999; **31**: 9–16.
5. **Harigsmas J, Tytgat GNJ.** Fluorescence and autofluorescence. *Best Pract & Res Clin Gastroenterol* 1999; **13**: 1–10.
6. **Joffe AY, Buryi AN, Sayenko VF, et al.** Early diagnosis of stomach cancer with laser-induced fluorescence. In: Proc SPIE Conf Optical Biopsies. Stockholm, Sweden, 1996: 10–17.
7. **Jung M, Kiesslich R.** Chromoendoscopy and intravital staining techniques. *Best Pract & Res Clin Gastroenterol* 1999; **13**: 11–20.
8. **Lagergren J, Bergstrom R, Lingren A, Nyren O.** Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999; **340**: 825–31.
9. **Nizam R, Siddifi N, Landas SK, et al.** Colonic tattooing with India ink: benefits, risks and alternatives. *Amer J Gastroenterol* 1996; **91**: 1804–8.
10. **Stael von Holstein C, Nilsson AM, Andersson-Engels S, et al.** Detection of adenocarcinoma in Barrett's esophagus by laser induced fluorescence. *Gut* 1996; **39**: 711–7.
11. **Stein HJ, Siewert JR.** Endobrachysophagus. Pathogenesis, Epidemiologie und maligne Degeneration. *Dtsch Med Wschr* 1993; **118**: 511–9.

CHROMOENDOSCOPY AND OPTICAL BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF BARRETT'S ESOPHAGUS

V.F. Sayenko, S.D. Myasoedov, O.M. Buriy, I.V. Gomolyako, O.J. Joffe, T.O. Dubovich

Summary. The methods of chromoendoscopy and optical biopsy were applied in 27 patients with chronic gastroesophageal reflux disease to improve the conventional forceps biopsy in diagnosis of Barrett's esophagus. Optical biopsy was performed using photosensibilizer hyperflav and the diagnostic unit, consisting of He-Cd laser, spectroanalyser with computer support, and two light fiberoptics. The curves of autofluorescence and the hyperflav fluorescence were visualized on the monitor screen with computerized spectrometric analysis and estimation of the mucosal tissue specimen pattern for 2–3 s, enhancing the speed, sensitivity and adequacy of endoscopic diagnosis of the Barrett's esophagus in 2 (7.4%) patients.

Key Words: Barrett's esophagus, diagnosis, chromoendoscopy, optical biopsy, photosensibiliser hyperflav.