

# ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДОПУХОЛЕВОЙ И ОПУХОЛЕВОЙ ПАТОЛОГИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Е.В. Филоненко, О.В. Чулкова, Е.Г. Новикова, Л.Г. Серова

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена»  
МЗ РФ, г. Москва

## Резюме

Технология флюоресцентной гистероскопии с препаратом аласенс включает визуальную оценку флюоресценции аласенс-индуцированного протопорфирина IX и локальную флюоресцентную спектроскопию. Технология позволяет повысить эффективность ранней диагностики патологии эндометрия, в том числе ранних форм рака эндометрия, достоверно оценить распространенность предопухолевого и опухолевого процесса. Чувствительность флюоресцентной гистероскопии составляет 100%, специфичность 98%.

**Ключевые слова:** флюоресцентная диагностика, 5-аминолевулиновая кислота, рак эндометрия, атипическая гиперплазия эндометрия.

## Введение

На современном этапе развития медицинской науки по-прежнему остается острой проблема своевременной диагностики злокачественных опухолей. Вероятность излечения пациентов с онкологическими заболеваниями существенно возрастает при выявлении рака на самых начальных фазах его развития.

Рак эндометрия занимает 1 место среди злокачественных новообразований органов репродуктивной системы у женщин. Представление о раке эндометрия, как о болезни женщин пожилого возраста, постепенно меняется. Доля заболевших в пременопаузальном и репродуктивном возрасте составляет 40% женщин. Таким образом, рак эндометрия у молодых женщин такая же актуальная проблема, как и у пациенток возрастной группы старше 55 лет. Наиболее перспективным направлением профилактики рака тела матки является ранняя диагностика предопухолевой патологии эндометрия [1].

Эффективный диагностический поиск начальных этапов гинекологической патологии способствует сохранению генеративной функции, улучшению качества жизни женщины, профилактике злокачественных заболеваний, а при наличии новообразований – повышает вероятность благоприятного прогноза после лечения. Многие методы визуализации (ультразвуковое исследование, цветовое доплеровское картирование, гистероскопия, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография), цитогенетические и другие исследования уже произвели революцию в диагностике предраковых заболеваний и рака тела матки. В связи с вышеизложенным, проблема ранней и уточняющей диагностики в онкогинекологии представляет значительный интерес, и в этом направлении идет поиск принципиально новых диагностических возможностей [2–3]. Основное внимание в разработке современных технологий диагностики уделяется эндоскопическим методам в виду их высокой чувствительности и специфичности. В настоящее время одним из прогрессивных методов ранней

диагностики патологии эндометрия является флюоресцентная диагностика (ФД) [4–6]. ФД злокачественных новообразований основана на избирательности накопления фотосенсибилизатора в опухоли и возможности его обнаружения по флюоресценции при освещении светом определенной длины волны. Большие перспективы развития ФД связывают с отечественным препаратом аласенс – 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛК). Избыточное введение в организм 5-АЛК, являющейся промежуточным продуктом синтеза гемма, приводит к индукции синтеза протопорфирина IX (ППИХ) – эндогенного фотосенсибилизатора, интенсивно флюоресцирующего в красной области спектра, что помогает визуализировать опухоль. Накопление ППИХ в опухоли происходит в течение нескольких часов, в то время как в нормальных клетках ППИХ быстро утилизируется путем превращения его в фото-неактивный гемм. Результатом этого является высокий флюоресцентный контраст накопления ППИХ в опухоли и окружающей неизменной ткани, достигающий 10–15 кратной величины, что является важным фактором для демаркации опухоли [7–10].

В МНИОИ им. П.А. Герцена разработана и научно обоснована оригинальная методика флюоресцентной первичной и уточняющей диагностики предрака и начального рака тела матки, включающая внутриматочное введение препарата аласенс, гистероскопию в белом свете и в режиме флюоресценции, локальную флюоресцентную спектроскопию. Установлена возможность мониторинга за состоянием эндометрия у больных с предраком и начальным раком эндометрия на фоне и после проведения гормонального лечения для раннего выявления неизлеченности или рецидива заболевания.

## Показания к использованию новой медицинской технологии

- дисфункциональные маточные кровотечения в репродуктивном и пременопаузальном периоде;
- маточные кровотечения в постменопаузальном периоде;

- гиперплазия эндометрия по данным УЗИ;
- подозрение на атипичную гиперплазию или рак эндометрия по данным аспирационной биопсии эндометрия.

### **Противопоказания к использованию новой медицинской технологии**

- индивидуальная непереносимость препарата аласенс;
- тяжелые соматические заболевания, не поддающиеся коррекции, являющиеся противопоказаниями к проведению наркоза;
- острые воспалительные заболевания половых органов.

### **Материально-техническое обеспечение новой медицинской технологии**

1. Аласенс (аминолевулиновая кислота), ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» (Россия), порошок для приготовления раствора для приема внутрь и инстилляций, РУ ЛП-001848 от 21.09.2012.
2. Оборудование эндоскопическое с принадлежностями, например, «Karl Storz GmbH & Co. KG» (Германия), РУ 2006/1364 от 31.08.2006.
3. Инструменты эндоскопические с принадлежностями, например, «Karl Storz GmbH & Co. KG» (Германия), РУ 2006/1142 от 25.07.2006.
4. Установка лазерная электронно-спектральная для флюоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии ЛЭСА-01-Биоспек, ЗАО «Биоспек» (Россия), РУ ФСР 2008/03784 от 12.12.2008.
5. Видеофлюоресцентный комплекс для операционных микроскопов, и эндоскопов, включающий установку лазерную ЛФТ-630/675-01-Биоспек, ЗАО «Биоспек» (Россия), РУ ФСР 2009/04649 от 26.03.2009 и устройство светодиодное видеофлюоресцентное УФФ-630/675-01-Биоспек, ЗАО «Биоспек» (Россия), РУ ФСР 2009/04648 от 26.03.2009.

### **Описание медицинской технологии**

Процедура проведения флюоресцентной гистероскопии состоит из двух этапов: местное введение аласенса и гистероскопия с осмотром полости матки в белом свете и в режиме флюоресценции, которая выполняется через 1,5–2,0 ч после введения препарата.

Первый этап выполняют в условиях процедурного кабинета, оснащенного гинекологическим креслом и приборами для проведения гинекологического осмотра. В асептических условиях под местной аппликационной анестезией (лидокаин, спрей 10%), шейку матки берут на пулевые щипцы и с помощью маточного зонда измеряют длину полости матки. Аласенс в дозе 10 мл 3%-го раствора, приготовленного непосредственно перед исследованием, вводят в полость матки с помощью шприца Брауна и, во избежание

оттока его из полости матки, в нижнюю треть цервикального канала вводят турунду из слабовпитывающего тканевого материала. С учетом местного, внутривлагалищного введения аласенса соблюдение светового режима не требуется.

В течение 1,5–2,0 ч после введения аласенса пациентка находится в палате, в строго горизонтальном положении под наблюдением медицинского персонала. После окончания времени экспозиции аласенса пациентку подают в малую операционную для проведения флюоресцентной гистероскопии.

Флюоресцентную гистероскопию проводят под внутривенным кратковременным наркозом. Тампон из нижней трети цервикального канала удаляют. Слизистую оболочку влагалища и шейки матки обрабатывают антисептическим раствором, после этого шейку матки берут на пулевые щипцы и измеряют длину полости матки с помощью маточного зонда. Расширение внутреннего зева цервикального канала производят с помощью расширителей Гегара до №8,5. Для диагностической гистероскопии в качестве средства, расширяющего полость матки, используют изотонический раствор хлорида натрия, который не оказывает раздражающего действия на ткани, обеспечивает оптимальное изображение в окуляре телескопа, хорошо смешивается с кровью и является идеальной средой при смотровой гистероскопии.

#### **Стандартная гистероскопия**

Вначале производят осмотр всех отделов полости матки в режиме белого света (стандартная гистероскопия). Визуализацию внутренней поверхности матки осуществляют с использованием жесткого гистероскопа с наружным диаметром тубуса 7 мм (рис. 1а), имеющего специальный канал для биопсийных щипцов, с помощью которых возможно выполнять прицельную биопсию. В тубусе гистероскопа предусмотрены два изолированных канала для ирригации и аспирации жидкости.

Расширение полости матки осуществляют с помощью аппарата для инстилляций жидкости – (например, HAMOU ENDOMAT, Германия), который обеспечивает высокую точность скорости и давления потока жидкости (рис. 1б).

В качестве осветительного прибора применяют ксеноновый источник света (например, XENON Video Cold Light Fountain Германия) (рис. 1в), обеспечивающий электронную регуляцию и повышенную интенсивность освещения (особенно в области трубных углов), что создает оптимальные условия для фото- и видеодокументации.

При стандартной гистероскопии оценивают состояние эндометрия, включая цвет, рельеф, толщину эндометрия, состояние устьев маточных труб, также регистрируют видимые очаговые изменения. При детальном осмотре выявляют и фиксируют очаги, подозрительные на наличие опухолевого процесса.



а



б



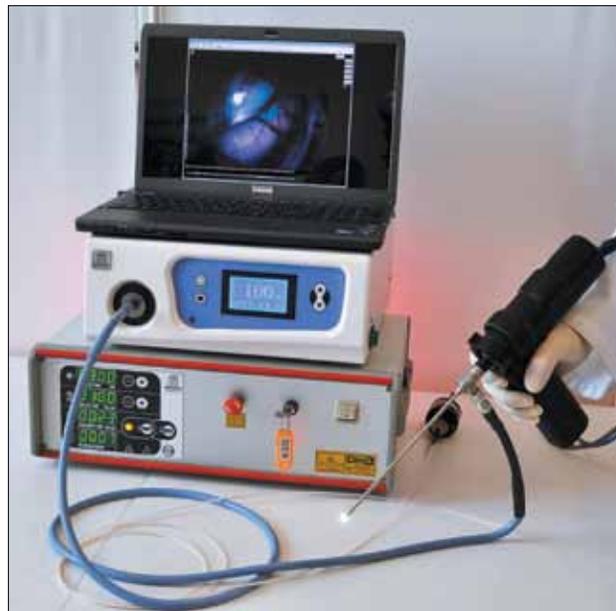
в

**Рис. 1.** Гистероскоп для стандартной гистероскопии: а – ригидная оптика; б – прибор для инстиляции жидкости; в – источник света

### Флюоресцентная гистероскопия

После стандартной гистероскопии производят осмотр полости матки в режиме флюоресценции. Возможно проведение флюоресцентной гистероскопии с использованием двух вариантов методик в зависимости от используемого флюоресцентного оборудования.

Для первого варианта используют видеофлюоресцентный комплекс, производства ЗАО «Биоспек» (Россия), который адаптирован для работы с любым стандартным ригидным или гибким эндоскопическим оборудованием (рис. 2). Видеофлюоресцентную камеру прибора фиксируют на используемый для стандартного исследования гистероскоп. Данный видеофлюоресцентный комплекс позволяет проводить сеанс флюоресцентной диагностики с одновременной визуализацией и фиксацией трех параметров: осмотр



**Рис. 2.** Видеофлюоресцентный комплекс ЗАО «БИОСПЕК»

в белом свете, осмотр в режиме флюоресценции, локальная флюоресцентная спектроскопия. На экране монитора одновременно отображаются: эндоскопическая картина в белом свете, эндоскопическая флюоресцентная картина и цифровой показатель диагностического параметра, измеренный в определенной точке поверхности эндометрия.

Для проведения второго варианта исследования необходимо наличие двух приборов: флюоресцентного гистероскопа и прибора для локальной флюоресцентной спектроскопии. В качестве флюоресцентного гистероскопа можно использовать эндоскопическую технику фирмы «Karl Storz GmbH & Co. KG» (Германия) (рис. 3).

Осветительная система прибора оснащена специальным фильтром, позволяющим пропускать синий диапазон спектра света (380–460 нм). Система фильтров, путем их последовательного переключения, позволяет наблюдать изображение либо в белом свете, либо в режиме флюоресценции. Для локальной флюоресцентной спектроскопии с целью определения количества фотосенсибилизатора в тканях применяют спектроанализаторы, например, ЛЭСА-01-Биоспек производства ЗАО «Биоспек» (Россия) (рис. 4).

При флюоресцентной гистероскопии оценивают наличие или отсутствие флюоресценции опухолевых очагов, определяемых при осмотре в белом свете; уточняют границы флюоресценции опухоли и совпадение или несовпадение последних с границами опухоли, определяемыми при осмотре в белом свете; проводят осмотр всех отделов слизистой полости матки с определением дополнительных очагов флюоресценции на участках эндометрия, визуально не измененного при осмотре в режиме белого света (рис. 5).

После осмотра слизистой цервикального канала и полости матки в белом свете, в режиме флюорес-



**Рис. 3.** Видеоэндоскопическая аппаратура с возможностью проведения флюоресцентной гистероскопии, производства Karl Storz GmbH, Германия



**Рис. 4.** Спектроанализатор «ЛЭСА-01-Биоспек»

ценции и локальной флюоресцентной спектроскопии производят прицельное выскабливание или биопсию эндометрия из зон флюоресценции с последующим морфологическим исследованием препаратов. Завершается исследование раздельным диагностическим выскабливанием (РДВ) цервикального канала и полости матки. Материал РДВ также направляют для морфологического исследования.

Для маркировки очаговых образований эндометрия, выявляемых в процессе проведения флюоресцентной гистероскопии, применяют классификацию, разработанную в МНИОИ им П.А. Герцена [4]: V «+» – опухоль определяется визуально при осмотре в белом свете, V «-» – при стандартной гистероскопии нет данных за опухоль, F«+» – очаг флюоресценции, F«-» – флюоресценции нет.

#### **Возможные осложнения и способы их устранения**

Болевой синдром (тянущие боли внизу живота). Осуществляют обезболивающую терапию.

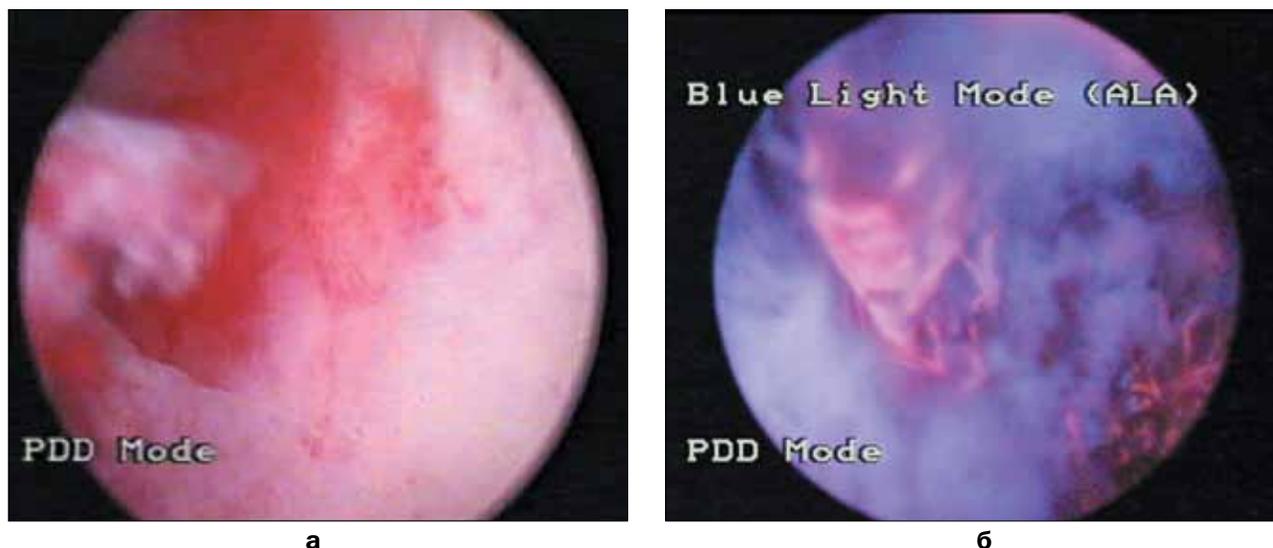
#### **Эффективность использования новой медицинской технологии**

В МНИОИ им. П.А. Герцена с 2006 по 2013 гг. проведена флюоресцентная гистероскопия 91 пациентке. Возраст больных колебался от 22 до 66 лет. Средний возраст пациенток составил  $30 \pm 1,5$  лет, из них в возрасте до 40 лет было 64,3% больных.

У 64 (70,3%) женщин основной причиной обращения к гинекологу были ациклические маточные кровотечения, у 27 (29,7%) – обследование перед планированием ЭКО по поводу первичного или вторичного бесплодия. При обследовании перед обращением в МНИОИ им. П.А. Герцена, по данным аспирационной биопсии эндометрия у 51 (56,0%) пациентки был диагностирован доброкачественный процесс (у 12 – полип эндометрия, у 39 – железистая гиперплазия эндометрия), у 7 (7,7%) – атипическая гиперплазия эндометрия, у 33 (36,3%) – рак эндометрия.

Всем пациенткам проведена флюоресцентная гистероскопия по разработанной методике. В группе женщин, у которых до поступления в МНИОИ им Герцена был диагностирован доброкачественный процесс в полости матки, по данным планового морфологического исследования биоптатов, взятых под контролем флюоресцентной гистероскопии только у 12 (23,5%) пациенток диагноз полипоз эндометрия был подтвержден. У 39 (76,5%) больных, поступивших с железистой гиперплазией эндометрия, диагноз был изменен: у 12 (30,8%) женщин диагностирована атипическая гиперплазия эндометрия, у 27 (69,2%) – рак эндометрия. В группах больных с предварительным диагнозом атипическая гиперплазия эндометрия (7 женщин) и рак эндометрия (33 женщины) диагноз после проведения флюоресцентной гистероскопии остался прежним.

Таким образом, по данным обследования до поступления в МНИОИ им. П.А. Герцена, у 56,0% (51) больных был диагностирован доброкачественный процесс в эндометрии, у 7,7% (7) – атипическая гиперплазия эндометрия, у 36,3% (33) – рак эндометрия. После проведения флюоресцентной диагностики с прицельной биопсией из зон флюоресценции и морфологическим исследованием биоптатов у 13,2% (12) больных был диагностирован доброкачественный процесс, у 20,9% (19) – атипическая гиперплазия эндометрия,



**Рис. 5.** Начальный рак эндометрия:  
а – осмотр в режиме «белого света»;  
б – осмотр в режиме флюоресценции: определяется очаг красной флюоресценции (по данным морфологического исследования биоптата из данной зоны – рак эндометрия)

у 65,9% (60) – рак эндометрия. По результатам раздельного диагностического выскабливания у 80,2% (73) больных диагностирован доброкачественный процесс в эндометрии, у 4,4% (4) – атипичная гиперплазия эндометрия, у 15,4% (14) – рак эндометрия.

Таким образом, метод флюоресцентной гистероскопии с прицельной биопсией из зон флюоресценции существенно повышает эффективность диагностики за счет выявления микроочагов атипичной гиперплазии или рака эндометрия. В нашем исследовании правильный диагноз рака или атипичной гиперплазии эндометрия был установлен у 39 больных, у которых по данным других методов исследования (аспирационная биопсия и раздельное диагностическое выскабливание) не было получено данных за наличие предрака или злокачественного новообразования.

Определение чувствительности, специфичности, диагностической точности флюоресцентной гистероскопии проводили при сопоставлении данных флюоресцентной диагностики с данными планового морфологического исследования. Чувствительность метода ФД с препаратом аласенс составила 100%, специфичность 98%, диагностическая точность 98%.

#### Приводим клиническое наблюдение:

Пациентка Р., в возрасте 51 год, обратилась в МНИОИ им П.А.Герцена в мае 2008 г., в связи с жалобами на мажущие кровянистые выделения из половых путей на фоне 1 года менопаузы. Впервые кровянистые выделения появились в марте 2008 г., пациентка обратилась к гинекологу по месту жительства. Выполнено раздельное диагностическое выскабливание под контролем гистероскопии. Эндоскопическая картина соответствовала железистой гиперплазии эндометрия, по данным морфологического исследования диагноз был подтвержден. Лече-

ние не проводилось. Однако кровянистые выделения продолжались, и пациентка обратилась в МНИОИ им П.А. Герцена. При осмотре в зеркалах слизистая оболочка влагалища и шейки матки не изменена. При бимануальном обследовании шейка матки обычной плотности, тело матки подвижное, безболезненное, придатки не пальпируются. По данным УЗИ малого таза: матка четких, ровных контуров, 62x43x52мм, структура миометрия гетерогенная, М-эхо 7 мм, с точечными экзогенными включениями, при ЦДК очаги неоваскуляризации не определялись. Яичники не изменены. Заключение: подозрение на патологию эндометрия. 25 мая 2008 г. выполнена ФД (с препаратом аласенс, введенным в полость матки за 2 ч до обследования) с прицельной биопсией и последующим раздельным диагностическим выскабливанием: полость матки не деформирована, слизистая утолщена, в виде полиповидных образований в области устьев маточных труб, бледно-розового цвета, во флюоресцентном режиме отмечались очаги флюоресценции в области правого трубного угла (рис. 6). Была взята прицельная биопсия из данных очагов и выполнено РДВ. По данным гистологического заключения прицельной биопсии под контролем ФД: в флюоресцирующем очаге из полости матки – участки эндометрия с микроочагами рака эндометрия. По данным РДВ: в соскобе из полости матки – железистая гиперплазия эндометрия.

Как видно из приведенного наблюдения, гистероскопия, проведенная только в белом свете, не всегда позволяет диагностировать патологические очаги из-за сопутствующего гиперпластического фона окружающей слизистой оболочки. В связи с этим возникает необходимость в проведении флюоресцентного исследования с выполнением прицельной биопсии из флюоресцирующих очагов для установления правильного диагноза.



**Рис. 6.** Начальный рак эндометрия:

а – осмотр в режиме «белого света»;

б – осмотр в режиме флюоресценции: определяется очаг красной флюоресценции (по данным морфологического исследования биоптата из данной зоны – рак эндометрия)

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашрафян Л.А., Харченко Н.В., Огрызкова В.Л. Современные принципы первичной и уточняющей диагностики рака эндометрия // Практическая онкология. – 2004. – Т. 5, №1. – С. 16–24.
2. Чиссов В.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. Флюоресцентная эндоскопия, дермаскопия и спектрофотометрия в диагностике злокачественных опухолей основных локализаций // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – №4. – С. 45–56.
3. Hurnung R., Fehr M., Major A., Tadir Y. Uptake of the photosensitizer benzoporphyrin derivative in human endometrium after topical application in vivo // J. Am Assoc Gynecol. Laparosc. – 1998. – Vol. 5, No 4. – P. 367–74.
4. Fehr M.K., Wyss P., Tadir Y. Selective photosensitizer localization in the human endometrial after intrauterine application of 5-aminolevulinic acid // Obstetrics Am J Obstet Gynecol. – 2003. – Vol. 175, No 5. – P. 1253–9.
5. Sabban F., Collinet P., Cosson M., Mordon S. Fluorescence imaging technique: diagnostic and therapeutic interest in gynecology // J.Gynecol. Biol. Reprod. – 2004. – Vol. 33, No 8. – P. 734–8.
6. Лукин В.А., Филоненко Е.В., Ватакмадзе Л.А. Флюоресцентная лапароскопия у больных раком желудка // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – С. 17–25.
7. Lang K, Lehmann P, Bolsen K. Aminolevulinic acid pharmacological profile and clinical indication // Obstetrics Expert Opin Investig Drugs. – 2001. – Vol. 72, No 10. – P. 829–37.
8. Malik E., Berg C., Meyhofer-Malik A., Buchweitz O. et al. Fluorescence diagnosis of endometriosis using 5-aminolevulinic acid // Surg. Endosc. – 2000. – Vol. 14, No 5. – P. 452–455.
9. Nowis D., Makowski M., Legat M., Golab J. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy // Obstetrics Acta Biochim Pol. – 2005. – Vol. 52, No 2. – P. 339–52.
10. Wyss P, Haller U, Berns MW. Accumulation of 5-aminolevulinic acid – induced protoporphyrin IX in normal and neoplastic human endometrial epithelial cell // Obstetrics Biochim Bihys Res Commun. – 2006. – Vol. 224, No 3. – P. 819–24.

## FLUORESCENCE DIAGNOSIS OF PRE-TUMOR AND TUMOR PATHOLOGY OF ENDOMETRIUM

E.V. Filonenko, O.V. Chulkova, E.G. Novikova, L.G. Serova  
P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute

The technique of fluorescence hysteroscopy with Alasens includes visual assessment of fluorescence of Alasens-induced protoporphyrin IX and local fluorescence spectroscopy. The technique allows to improve the efficacy of early diagnosis for endometrial pathology including early endometrial cancer, to assess definitely an extent of pre-tumor and tumor process. The sensitivity of fluorescence hysteroscopy accounts for 100%, the specificity – 98%.

**Keywords:** fluorescence diagnosis, 5-aminolevulinic acid, endometrial cancer, atypical endometrial hyperplasia.

**Контакты:** Филоненко Е.В., e-mail: derkul23@yandex.ru