

На правах рукописи

СТРЕЛЬЦОВА Ольга Сергеевна

**ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
ПОВЕРХНОСТНОГО РАКА
МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

**14.01.23 – урология
14.01.12 – онкология**

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Москва - 2013

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук, профессор
Николаевич

Крупин Валентин

Доктор медицинских наук
Вадимовна

Загайнова Елена

Официальные оппоненты:

Матвеев Всеволод Борисович, доктор медицинских наук, профессор
федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Российской академии медицинских наук, заведующий клиникой урологии

Теодорович Олег Валентинович, доктор медицинских наук, профессор,
государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования», заведующий кафедрой эндоскопической урологии

Алексеев Борис Яковлевич, доктор медицинских наук, профессор,
федеральное государственное бюджетное учреждение «Московский Научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена» Минздрава Российской Федерации, заведующий отделением онкоурологии

Ведущая организация: государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно – исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» Министерства здравоохранения Московской области, 129110, Москва, ул.Щепкина, дом 61/2

Защита состоится «17» сентября 2013г. в «13» часов
на заседании диссертационного совета Д 208.056.01 при ФГБУ «НИИ урологии» Минздрава России по адресу: 105425, г. Москва, 3-я Парковая улица, д.51.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИИ урологии» по адресу: 105425, г. Москва, 3-я Парковая улица, д.51

Автореферат разослан «___» _____ 2013 года.

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 208.056.01

Доктор медицинских наук, профессор

Т.С. Перепанова

Общая характеристика диссертации

Актуальность темы

Заболеваемость опухолями мочевыделительной системы в мире составляет по данным разных авторов от 260 000 до 330 тысяч новых случаев в год (J.N. Eble, 2004; Е.М. Аксель, 2005; К.М. Пожарисский, 2006) В России в 2007г. на учете состояло 70544 больных раком мочевого пузыря, а в 2010г. уже 79959 (М.И.Давыдов, 2008,2009). Динамика заболеваемости раком мочевого пузыря в России с 1991 года свидетельствует о приросте показателей с 9,8 человек на 100 тысяч населения до 12,6 в 2007 году. Так в 2010 году под наблюдением находилось 56,4 человек на 100 тысяч населения по сравнению с 36,7 в 2000 году (Е.М.Аксель, 2008; В.И. Чиссов с соавт., 2011).

Выявление рака на ранних стадиях развития под действием адекватного лечения ведёт к выздоровлению больного, позволяет производить органосохраняющее лечение.

Рак - болезнь не одного года, процесс перерождения нормальной ткани в опухолевую, зависящий от внешних и внутренних факторов, занимает от 3 до 20 лет (М.А. Пальцев с соавт., 2009). Основой для развития онкологической патологии могут быть заболевания, морфологически проявляющиеся дистрофиями, атрофиями, склерозом, гиперплазией уротелия, метаплазией и дисплазией эпителия. Кроме того, очаги гиперплазии и метаплазии с дисплазией рассматривают как собственно предопухолевые (А.И. Струков, В.В. Серов, 1995; Б.П. Матвеев, 2006, 2011). В фазах морфогенеза рака выделяют предраковые условия (облигатный предрак), предраковые состояния (факультативный предрак), преинвазивный рак, ранний инвазивный рак (Б.Е.Петерсон, В.И. Чиссов, 1985). Хронические заболевания, сопровождающиеся дистрофиями, атрофиями, метаплазией с возникновением очаговых пролифератов, среди которых могут возникнуть очаги неоплазии, требуют пристального контроля. Роль дисплазии в возникновении опухолей мочевого пузыря изучается и обсуждается многими исследователями (А.Ф. Возианов, 1994; Д.Л. Мак-Каллах, 1997; L.Cheng, 1999). Так дисплазию тяжелой

степени рассматривают как облигатный предрак – стадия ранней онкологической патологии, которая рано или поздно трансформируется в рак. Особая настороженность к раку *in situ* объясняется высоким риском развития инвазивных форм и прогрессирования заболевания - от 20 до 83%. (М.А.Hudson, Н.W. Herr, 1995, О.Б. Лоран, 2010). Тяжелую дисплазию и рак *in situ* относят к ранним стадиям/формам неоплазии (В.И.Чиссов, В.В. Старинский и др., 2002). Однако подобные ситуации могут возникать на фоне предшествующих изменений эпителия мочевого пузыря различного генеза. Практическая медицина отстает в возможности выявления ранних этапов малигнизации мочевого пузыря, несмотря на достижения теоретической онкобиологии. Одна из главных причин развития онкопроцесса - *несвоевременная диагностика и лечение*, недостаточно высокая эффективность методов уточняющей диагностики, несовершенство первичной и вторичной профилактики злокачественных новообразований (Р. И. Якубовская, 2000).

В 80-х гг. двадцатого века с появлением фемтосекундных лазеров и суперлюминесцентных полупроводниковых диодов зародился новый метод диагностики, позволяющий визуализировать внутреннюю структуру рассеивающих сред - оптическая когерентная томография (ОКТ). Оптическая когерентная томография наиболее информативна для анализа тканей, имеющих слоистую структуру. В начале 90-х гг. нижегородская исследовательская группа впервые применила данный метод в клинической практике (А.М.Sergeev, 1997). С 1997 года оптическая когерентная томография применяется в урологии, как метод визуализации состояния слизистой оболочки мочевого пузыря (В.Н. Крупин, 2001). В основе метода лежит использование низкоинтенсивного света ближнего инфракрасного диапазона в качестве зондирующего излучения. Традиционная оптическая когерентная томография не специализирована для визуализации соединительнотканых структур, в частности коллагена. Новая модификация ОКТ – кросс - поляризационная оптическая когерентная томография разработана и внедрена нами в клинику урологии, как метод

оптической диагностики предопухолевых состояний и раннего рака мочевого пузыря. В связи с вышеизложенным, тема является актуальной.

Цель работы: улучшение ранней диагностики и лечения неоплазии мочевого пузыря.

Задачи исследования

1. Проанализировать частоту плоских поражений эпителия мочевого пузыря, предопухолевых изменений и раннего рака мочевого пузыря у больных с поверхностным раком и подозрением на рак мочевого пузыря.
2. Изучить возможности нового метода кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в диагностике воспалительных и неопластических заболеваний слизистой оболочки мочевого пузыря.
3. Обосновать эффективность метода комбинированной диагностики предрака и раннего рака мочевого пузыря на основе одновременного использования флуоресцентной цистоскопии и кросс-поляризационной оптической когерентной томографии с последующим иммуногистохимическим контролем.
4. Провести сравнительный анализ микроциркуляторного русла слизистой оболочки мочевого пузыря при хронических воспалительных процессах и при неоплазии.
5. Изучить динамику показателей иммунитета в процессе лечения у пациентов, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями мочевого пузыря.
6. Обосновать необходимость включения иммуномодуляторов и препаратов, влияющих на микроциркуляторные процессы в патогенетическую терапию хронических воспалительных заболеваний слизистой оболочки мочевого пузыря у пациентов групп риска.
7. Разработать алгоритм диагностики и мониторинга предопухолевых заболеваний мочевого пузыря.

Научная новизна

1. Разработанный метод визуализирующей диагностики - кросс-поляризационная оптическая когерентная томография может быть максимально эффективен в дифференциальной диагностике раннего рака, предопухолевых и фоновых заболеваний мочевого пузыря.
2. Метод эндоскопической диагностики предопухолевых состояний и раннего рака мочевого пузыря на основе комбинированного использования флуоресцентной цистоскопии и кросс-поляризационной оптической когерентной томографии позволяет объективно дифференцировать ранний рак, предрак и фоновые состояния слизистой оболочки мочевого пузыря, исключить необоснованные биопсии в 82,9% случаев.
3. Создана модель для изучения патогенетических изменений в развитии пренеоплазии в мочевом пузыре – лучевой цистит, при которой на тканевом уровне возможно динамически проследить развитие воспалительных изменений в мочевом пузыре от ранних до поздних.
4. Включение иммуномодулирующих препаратов в лечение хронических циститов является обязательным, что позволяет увеличить показатель фагоцитарного резерва нейтрофилов, способствует в 2 раза большей эрадикации микроорганизмов из мочи по сравнению с пациентами, не получавшими иммуномодулятор.

Практическая значимость

1. Внедренный в урологическую практику метод визуализирующей диагностики – кросс - поляризационная оптическая когерентная томография позволяет в реальном времени объективно дифференцировать ранний рак, предопухолевые и фоновые заболеваний мочевого пузыря, выполнять прицельные биопсии.
2. Включение кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в диагностический процесс позволило корректировать лечение пациентов групп риска и ранее оперированных по поводу рака мочевого пузыря на амбулаторном этапе и исключить необоснованные повторные госпитализации.

3. Внедрена в клиническую практику методика интраоперационного кросс-поляризационного контроля полноты удаления опухоли, что позволило свести к минимуму количество рецидивов в области послеоперационного рубца (до 0).
4. Внедрение кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в диагностику послеоперационного состояния слизистой оболочки мочевого пузыря позволило ограничить выполнение повторных трансуретральных резекций (ре-ТУР) через 4-8 недель после первой операции по поводу рака из послеоперационной зоны в 78,2 % случаев.
5. Разработанный алгоритм диагностики для больных с дизурией, алгоритм мониторинга раннего послеоперационного ведения больных с поверхностным раком мочевого пузыря способствовал увеличению выявляемости поверхностных форм рака мочевого пузыря. По статистическим данным онкологического диспансера Нижегородской области выявляемость I-II стадий рака в 2010 году возросла до 50,4% по сравнению с 39,2% в 2007 году.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Необходимость выявления плоских поражений эпителия мочевого пузыря у пациентов с гематурией неясной этиологии, дизурией, у ранее леченных по поводу рака, как предшественников неоплазии. Диагностика изменений в мочевом пузыре на тканевом уровне может явиться «маркером» предопухолевых состояний.
2. Новый метод оптической диагностики - кросс-поляризационная оптическая когерентная томография позволяет в реальном времени дифференцировать структурные изменения слизистой оболочки мочевого пузыря и с высокой точностью верифицировать ранний рак, предопухолевые и доброкачественные процессы.
3. Новый метод комбинированной эндоскопической диагностики кросс-поляризационной оптической когерентной томографии и флуоресцентная диагностика с иммуногистохимическим контролем с высокой специфичностью позволяет дифференцировать зоны облигатного предрака.

4. Анализ микроциркуляции в слизистой оболочке мочевого пузыря свидетельствует о застойном типе кровообращения, как при воспалительных заболеваниях, так и при наличии опухоли.

5. Лечение хронических воспалительных заболеваний мочевого пузыря должно включать иммуномодулирующие препараты, препараты, влияющих на микроциркуляторные процессы в слизистой оболочке. Мониторинг и лечение по предложенным алгоритмам позволяет уменьшить развитие предопухолевых изменений уротелия и минимизировать количество рецидивов при раке мочевого пузыря.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в работу поликлинического уролога-онколога ГБУЗ «Нижегородский областной онкологический диспансер»; в работу радиологического отделения ГБУЗ «Нижегородский областной онкологический диспансер» при лучевом лечении больных с опухолями органов малого таза; в работу урологических отделений ГБУЗ «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А.Семашко»; в учебный процесс кафедры урологии им. Е.В. Шахова Нижегородской государственной медицинской академии при чтении лекций и проведении семинаров с врачами-курсантами факультета повышения квалификации, клиническими ординаторами, студентами.

Апробация и внедрение результатов исследования

Материалы диссертации доложены и обсуждались в рамках Европейской биооптической недели Bios '2000, (Amsterdam, 4-8.07.2000); на конференции по лазерным технологиям "LAT 2002" 22-27.06.2002; на международном биомедицинском оптическом симпозиуме BIOS '2003, (San Jose, California USA, 21 - 26.01. 2003); на 75 конференции BIOS' 2004 (San Jose, California USA, 24 - 29.01. 2004); на научно - практических конференциях "Лазерные и информационные технологии в медицине XXI века", Санкт-Петербург (21 - 22.06.2001) и "Диагностика и комбинированное лечение больных раком мочевого пузыря", Москва (4 - 5.12.2002); в рамках «Proceedings of ASCO

meeting», Новый Орлеан, 2004; на 3-х международных симпозиумах «Topical problems of biophotonics»- (4-11.08.2007, Нижний Новгород – Москва – Нижний Новгород; 19-24.07. 2009, Нижний Новгород – Самара – Нижний Новгород; 16-22.07.2011, Санкт-Петербург-Нижний Новгород); на трех научно – практических конференциях: "Диагностика и лечение рака мочевого пузыря", Нижний Новгород, 2005; «Инновации в медицине» Саров, 2006; «Современный взгляд на новые медицинские технологии в урологии и гинекологии» Ростов–на–Дону, 22-23.05.2006; на XIV научно-практической региональной с международным участием конференции урологов «Достижения и перспективы в онкоурологии» Харьков, 25-26.05.2006; на VIII Российской школе оперативной урологии, Ростов-на-Дону, 1-3.11.2006; на III Всероссийской научно – практической конференции «Актуальные вопросы урологии. Заболевания предстательной железы. Новые технологии в урологии», Абзаково, 19-21.04.2007; на XI съезде урологов России, Москва, 6-8.11.2007; на V Всероссийской школе-симпозиуме «Динамика и структура в химии и биологии», Москва, 16-18.04.2007г.; на III Конгрессе Российского общества урологов, Москва, 2-3.10.008; на Международном междисциплинарном симпозиуме «Хроническая тазовая боль», Нижний Новгород, 16-17.10.2008; на 27 конференции Европейского общества радиационной онкологии ESTRO, Швеция, Гетеборг, 14-18 сентября 2008; на Международной конференции «Туберкулез мочеполовой системы и другие урологические заболевания, резистентные к стандартной терапии», Новосибирск, 27-28.08.2008; на экспертном Совете по проблемам заболевания предстательной железы, Ницца, Франция, 21-26.04.2008; на международном форуме компании «Bionorica» «Phytoneering research & experience summit (PRES)»18-19.11.2008, Киев; на Всероссийской конференции «Рациональная фармакотерапия в урологии», Нижний Новгород, 12-13.02.09; на Международной научной конференции «Сексуальное здоровье», Ереван, 7-8.05.2009; на IV конгрессе Российского общества онкоурологов, Москва, 1-2.10.2009; на международном онкологическом научно-образовательном форуме Онкохирургия-2010 «В будущее через новые технологии», Москва, 31.05 –

02.06.2010; на IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты», Нижний Новгород, 18-19.05.2010г.; на региональной конференции с международным участием «Нарушение мочеиспускания у мужчин и женщин», Новосибирск, 12.04.2012; на VII Конгресс Российского общества онкоурологов, Москва, 03-05.10.2012; на 5 заседаниях Нижегородского научного общества урологов (13.11.2005, протокол №7; 21.03.2008, протокол №3; 06.11.2008, протокол №8; 25.11.2010, протокол №7; 22.03.2012, протокол №1); на совместном заседании кафедры урологии НижГМА и врачей урологических отделений Областной клинической больницы им. Н.А. Семашко (протокол №18 от 26.09.2012), а также на заседании Научно - координационного совета ФГБУ «НИИ урологии» Минздрава России (от 18.12.2012, протокол №6).

Связь с планом научно-исследовательских работ

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно – исследовательских работ государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации: регистрационный номер 01201158967.

Публикации: По материалам диссертации опубликовано 75 работ, из них 13 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, учебное пособие, 2 патента на изобретение.

Объем и структура диссертации: Диссертация изложена на 413 страницах машинописного текста, содержит 61 таблицу и 136 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследований, 5 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 180 отечественных и 98 иностранных источников.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы

В работу вошли данные обследования 2230 пациентов, получавших лечение с 2000 по 2011 г. в клинике урологии Нижегородской медицинской академии, на базах областной клинической больницы им. Н.А. Семашко и Нижегородского областного онкологического диспансера. Из них 1160 пациентов - группа ретроспективного анализа частоты выявления предраковых изменений и раннего рака мочевого пузыря по результатам гистологических исследований: 799 ТУР мочевого пузыря и 662 ТУ – биопсий – всего 1461 случаев исследования (5760 препаратов).

Основу работы составили клинические наблюдения за 1070 пациентами (2004-2012г.), которые были обследованы методами оптической диагностики и лазерной доплеровской флоуметрии. 745 получали лечение по поводу рака мочевого пузыря или обследовались в связи с подозрением на рецидив рака мочевого пузыря: группа Р- (n-733), 12 мочевого пузыря изучены *ex vivo* после экстирпации. У 561 пациента имел место мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря - pTa, T1. После ТУР мочевого пузыря изменение градации T1 на pT2 произошло у 172 пациентов. Мужчин - 589, женщин 144, соотношение м:ж – 4,1:1. В связи с временным интервалом изучения материала, в исследование вошли заключения патологоанатомов, базирующиеся на классификации рака мочевого пузыря ВОЗ как 1973, так и 2004 года.

Анализ роли фоновых заболеваний, которые морфологически могут проявляться дистрофиями, атрофиями, склерозом, гиперплазией уротелия, метаплазией и дисплазией, в развитии опухолей мочевого пузыря проведен на основании изучения состояния слизистой оболочки мочевого пузыря у 215 женщин с хроническими воспалительными заболеваниями (группа ХЦ). Максимальная длительность наблюдения за состоянием мочевого пузыря у этой группы пациентов составила 5 лет.

Моделью развития патологических процессов в слизистой оболочке мочевого пузыря, динамику которых можно проследить от ранних до поздних,

принят мочевой пузырь на фоне лучевого лечения органов малого таза. Сформирована группа пациенток с лучевыми изменениями мочевого пузыря после гамма терапии по поводу рака шейки матки и тела матки (группа Л, n=75). У 35 пациентов, которые получали лечение по поводу камней верхних мочевых путей, мочевой пузырь принят нормальным (группа Н). Перед обследованием все пациенты подписывали протокол информированного согласия. В результате сформировано 4 группы пациентов для изучения: Р, ХЦ, Л, Н. Всем больным произведено клиничко-лабораторное обследование, включая посевы мочи на флору, стандартное клиническое обследование: ультразвукография, диагностическая цистоскопия, при необходимости экскреторная урография для исключения поражения верхних мочевых путей. Компьютерную или магнитно-резонансную томографию выполняли по показаниям.

- В работе использованы уникальные и новейшие методы исследования мочевого пузыря: оптическая когерентная и кросс-поляризационная томография. Кросс - поляризационные исследования выполняли *ex vivo* (на послеоперационных образцах) и *in vivo* в процессе цистоскопии и операций. На основе разработанного нами алгоритма диагностики предопухолевых заболеваний проведен мониторинг состояния слизистой оболочки мочевого пузыря у пациентов изучаемых групп на фоне лечения и без такового.

Стандартная оптическая когерентная томография не специализирована для исследования изменений соединительнотканной стромы. Именно высокая организация коллагена обеспечивает его способность изменять поляризацию света, проходящего через биоткань. В институте прикладной физики Нижнего Новгорода разработан метод кросс-поляризационной ОКТ (КП ОКТ), основанный на изменении поляризации света при прохождении через биологическую ткань, позволяющий исследовать изменения соединительной ткани. В работе использовали двухканальный компактный переносной прибор «ОКТ 1300-У». Параметры прибора: мощность- 1Мвт, длина волны 1270 нм, пространственное разрешение 10-15 мкм, глубина сканирования 1-2 мм, время

получения двумерного изображения 1,5-2 сек. Внедрение нового метода оптической визуализации – КП ОКТ в урологическую практику предполагало экспериментальный и клинический этапы исследования.

Экспериментальный этап: проведена неповреждающая верификация коллагенсодержащих структур методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в слизистой оболочке мочевого пузыря при его заболеваниях с использованием в качестве «ориентира» хирургической нити; выполнено сравнение диагностических возможностей традиционного метода оптической когерентной томографии и нового метода кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в диагностике заболеваний мочевого пузыря, в выявлении раннего рака мочевого пузыря и предопухолевых изменений. Выполнены сопоставления КП ОКТ изображений (n-252) и гистологических препаратов (n-84), окрашенных по ван-Гизон и пикросириусом - красным, дифференцирующих волокна соединительной и мышечной ткани. Для минимизации изменений образцы ткани мочевого пузыря исследовались в первый час после экцизии. Совпадение участков КП ОКТ сканирования и гистологического исследования достигалось путем прошивания хирургической нитью определенного диаметра (от 100 до 300 мкм) на разной глубине относительно поверхности слизистой оболочки (в соединительнотканном и мышечном слоях). КП ОКТ сканирование проводили над местом прохождения нити в центре между местом входа и выхода нити. При трансвезикальных операциях (n - 30) зонд фиксировался непосредственно на интересующем участке рукой исследователя. Таким образом, на данном этапе выполнено 165 сопоставлений соответствия КП ОКТ изображений *in vivo* и морфологических препаратов после биопсии мочевого пузыря.

При сравнительном анализе гистологических данных и КП ОКТ изображений в прямой и ортогональной поляризациях, опирались на общие закономерности формирования изображений и разработанные нами признаки - характеристики КП ОКТ изображений.

Клинический этап исследования. Изучены данные состояний мочевого пузыря 265 пациентов, которым выполняли ОКТ исследования (получено 2445 изображений) до 2005 г. и 777 пациентов, которые обследованы методом КП ОКТ (8151 изображение). Всего получено и проанализировано 10596 изображений. В среднем при каждом исследовании получали информацию из 5 - 15 интересующих нас зон. Для исследования выполняли «прицельную» трансуретральную биопсию стенки мочевого пузыря, что позволяло выполнить след-отпечаток от зонда томографа. На клиническом этапе изучение оптических изображений выполнено параллельно 212 морфогистологическим препаратам из соответствующих зон, которые были подвергнуты компьютерной обработке и с них получено 435 изображений. Материал для гистологического исследования фиксировался в 10% забуференном водном растворе нейтрального формалина, проводился по спиртам восходящей концентрации, заливался в парафин. Препараты окрашивали гематоксилином с докрасиванием эозином, для визуализации коллагена применяли пикросириус – красный (ПСК) и окраску по ван - Гизон. Окрашенный ПСК образец биоткани оценивали в поляризационной микроскопии. Пациенткам группы лучевого цистита в течение курса облучения мониторинг состояния стенки мочевого пузыря проводился 1 раз в неделю, начиная с первого дня. В первый день КП ОКТ исследование совмещали с цистоскопией. Далее КП ОКТ выполняли без цистоскопа. На начальных этапах исследования положение зонда контролировали методом УЗИ с помощью вагинального датчика аппарата PHILIPS HD 11 XE, что позволяло выполнять исследование интересующих нас зон мочевого пузыря. В качестве стандартных зон сканирования были выбраны области, попадающие у всех пациенток в зону облучения - на задней, боковых стенках и в треугольнике Лъето. Получали по 2-3 изображения из каждой зоны.

Для анализа изображений на экспериментальном и раннем клиническом этапе, а также у пациенток группы лучевых изменений мочевого пузыря, применили *количественное измерение контраста* КП ОКТ изображений - показателя обратного рассеяния, что способствовало повышению

возможностей метода в идентификации патологических процессов. В КП ОКТ величина контраста изображения зависит от способности тканей по-разному отражать свет. Численный анализ проводился полуавтоматическим способом с помощью программы Image J. Полученное значение пересчитывалось в децибелы (дБ) с учетом физических характеристик томографа. Численный анализ КП ОКТ изображений проведен у 96 пациентов с плоскими подозрительными зонами в мочевом пузыре, у которых на КП ОКТ изображениях в прямой поляризации контраст слоев визуально был снижен, что затрудняло диагностику. Численный анализ КП ОКТ изображений различных состояний слизистой мочевого пузыря позволил показать универсальность метода КП ОКТ.

- Повысить диагностические возможности по выявлению ранних форм неоплазии мочевого пузыря позволила комбинация метода КП ОКТ и флуоресцентной цистоскопии у 54 пациентов. За 2 часа до исследования в мочевой пузырь через катетер вводили 5-аминолевулиновую кислоту - «Аласенс» 3% раствор. Во время исследований выполняли видеозапись, описывались все флуоресцирующие зоны. Из каждой флуоресцирующей зоны получали 1-2 КП ОКТ изображения. Для морфологической оценки изменений слизистой оболочки проводилась ТУ-биопсия флуоресцирующих участков мочевого пузыря.
- Изучена зависимость выраженности патологических процессов от гистологических и иммуногистохимических признаков 45 флуоресцентных плоских зон и 73 КП ОКТ данных из них же (от 18 пациентов). Используются антитела к антигенам человека: Ki-67, p-53 и p-63 - (Diagnostic BioSystems), CD-44v6 (Novocastra), к цитокератину 20 (Diagnostic BioSystems), к Т-антигену (Abcam), к АВО(Н) (Abcam). В качестве детекционной использована система «Peroxidase Detection System» («Novocastra»).
- Для изучения микроциркуляторного русла слизистой оболочки мочевого пузыря в исследуемых группах, а так же при проведении лечения мочевого пузыря химиопрепаратами и иммунопрепаратами, мы использовали лазерную

доплеровскую флоуметрию (ЛДФ). Применяли лазерный анализатор капиллярного кровообращения «ЛАКК-01» (у 72 пациентов) и «ЛАКК-02» (у 134 пациентов) (НПП «ЛАЗМА», Россия).

- Иммунный статус изучен у 118 больных хроническим рецидивирующим циститом. Им определяли уровень иммуноглобулинов, интерферонов крови (α и γ), субпопуляции иммунокомпетентных клеток, а так же показатели фагоцитарной активности нейтрофилов. Обсервационная норма уровня интерферонов получена у 20 здоровых сотрудников больницы. Определение ИНФ α , ИНФ γ выполняли, используя твердофазный иммуноферментный метод с применением пероксидазы хрена (ООО «Протеиновый контур» С-Петербург). Уровень измерения выражается в пикограммах в 1 мл (пг/мл) сыворотки крови. Определение иммуноглобулинов А, М, G осуществляли методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини. Субпопуляции иммунокомпетентных клеток определены с помощью мембранной иммуофлуоресценции с использованием моноклональных антител (ООО «Сорбент» г. Москва). Показатель фагоцитарной активности нейтрофилов оценивали по НСТ – тесту - тесту восстановления нитросинего тетразолия.

- Для представления полученной информации (видео- и фотоизображений, КПОКТ изображений и цифровых изображений гистологических слайдов) использована оригинальная программа для работы с оптическим томографом – «Presto 32» и ее модификации, а так же программы «Studio version 9» для работы с микроскопом и видеокамерой и оцифровки эндоскопических изображений. Статистическая обработка материала выполнена в программе «MEDCULC» (версия 7.3). Статистическая обработка числовых данных в работе проводилась так же с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Уровень статистической значимости был принят равным 0,05.

Результаты исследования

Анализ частоты предраковых изменений и раннего рака мочевого пузыря по результатам гистологических исследований

По ретроспективному анализу 1326 результатов гистологических исследований из визуально подозрительных зон, а также из околоопухолевых зон мочевого пузыря получено 646 случаев рака и 680 случаев доброкачественных состояний. Анализ доброкачественных состояний мочевого пузыря с сохраненным эпителием (n-613) показал, что плоские поражения эпителия мочевого пузыря, в том числе и предраковые изменения, составили **28,7%** (n-176). Состояний эпителия, относящихся к фоновым заболеваниям, зафиксировано 71,3% (n-437). Изменения воспалительного характера - лимфолейкоцитарная инфильтрация тканей - были выявлены в 82% биоптатов при доброкачественных процессах в мочевом пузыре, при наличии опухоли в перифокальных зонах – 43%. По данным F.K. Mostofi (1997) подобная гистологическая картина неизмененных зон в мочевом пузыре с опухолью - маркер вероятности неполного удаления неопластической или пренеопластической слизистой из краевых зон. Исследование показало, что у больных раком мочевого пузыря, пациентов с гематурией неясной этиологии и дизурией визуально измененная слизистая оболочка в 33,5% случаях является следствием плоских поражений эпителия мочевого пузыря, включая ранний рак (4,8%). Таким образом, своевременное выявление изменений в мочевом пузыре на *тканевом уровне* может явиться «маркером» предопухолевых состояний.

Характеристика исследуемых групп пациентов

Выяснено, что все пациенты исследуемых групп Р, ХЦ, Л, имели сопутствующие болезни - важное патогенетическое звено в процессах гомеостаза, иммунитета, иннервации. Сравнение групп свидетельствует о возрастании количества сопутствующей патологии у онкологических пациентов. Так в гр. Р в среднем на одного пациента приходилось 2,1 заболевание; в гр. Л-1,9; в гр. ХЦ -1,7. В гр. Р преобладали пациенты от 60 до 69 лет (44,8%), в гр. ХЦ - женщины периода менопаузы - после 50 лет (41,4%).

Средний возраст гр. ХЦ - 44,3 года, что согласуется с данными литературы о патогенезе развития мочевого инфекции, определяющейся недостатком эстрогенов, а также снижением иммунитета с возрастом. Больные с онкопатологией органов малого таза (гр. Л)- в возрасте 50-59 лет составили 54,7%. Таким образом, определена ведущая роль фактора возраста, сниженного гормонального статуса у всех групп пациентов.

Заболевания, влияющие на микроциркуляторные процессы в малом тазу - ИБС, гипертоническая болезнь, сахарный диабет,- выявлены у 87,8% (n-644) пациентов гр. Р, у 61,3% (n-46) гр. Л и у 30,75% (n-66) гр. ХЦ. Важно, что 62,7 % (n-135) пациенток гр. ХЦ имели сопутствующую гинекологическую патологию; патология желудочно-кишечного тракта у них же выявлена в 50,2% (n-108) случаев - причины, ведущие к иммунным нарушениям. На нарушения иннервации органов малого таза могли оказывать влияние сопутствующие процессы у 32% пациенток гр. Л, у 19,7% гр. Р и у 17,3% гр. ХЦ.

Гематурия наблюдалась у 55,4% пациентов гр.Р. В группах ХЦ и Л микрогематурия при отсутствии жалоб зафиксирована в 21,9% и 38,7% соответственно. Дизурия беспокоила 100% пациентов при обострении хронического рецидивирующего цистита. При раке мочевого пузыря этот симптом появлялся в случае локализации опухоли в зонах устьев или в области шейки мочевого пузыря, а также на фоне инфравезикальной обструкции и при вторичных поражениях мочевого пузыря - в 15,5%. Поллакиурия явилась характерным симптомом у пациенток с лучевыми поражениями мочевого пузыря в 58,7%. Сочетание дизурии и гематурии зафиксировано в 12% (у 88 пациентов).

Выявлено, что опухоли чаще возникали в нижней гемисфере - зоне наибольшего раздражения мочой, зоне обильно иннервируемой, на границе слияния зародышевых листков, формирующих мочевой пузырь. Наиболее частой локализацией опухолей являлись боковые стенки – 54,5%, чаще с локализацией ближе к устьям.

Цистоскопическое исследование пациентов всех групп показало, что компонентом визуальных изменений слизистой оболочки мочевого пузыря является система микроциркуляции, которая внесла свой вклад в формирование цистоскопической картины. Усиление сосудистого рисунка при опухоли pT1 выявлено в 86,9% (n-472); редкие же изменения, такие как буллезные изменения или отек в перифокальных зонах, выявлялись в 16,9% (n-92) случаев. В гр. ХЦ выраженное усиление сосудистого рисунка наблюдалось в 58,1% (n-125), отек и гиперемия в зоне треугольника Льюто на фоне усиления сосудистого рисунка были зафиксированы в 24,2% (n-52), а картина метаплазии в 47,4% (n-102). Бессимптомное течение опухолевого заболевания мочевого пузыря на начальной стадии отмечено в 34,2% случаев (n- 250).

Таким образом, при хронических воспалительных заболеваниях мочевого пузыря и при опухолевом поражении прослеживаются общие факторы, влияющие на патогенез заболеваний слизистой оболочки мочевого пузыря – возраст пациентов, обуславливающий гормональные нарушения, наличие сопутствующей патологии, влияющей на иммунитет и состояние микроциркуляторного русла.

Кросс - поляризационная оптическая когерентная томография в диагностике заболеваний мочевого пузыря

Экспериментальный этап изучения возможностей кросс – поляризационной оптической когерентной томографии в исследовании мочевого пузыря

Основной признак неоплазии, который регистрируется на традиционном ОКТ изображении, это нарушение контраста системы уротелий – соединительная ткань. Однако в некоторых случаях традиционные ОКТ изображения доброкачественных зон распознаются как ложноположительные злокачественные изображения, что снижает специфичность метода. Известно, что при развитии раковой опухоли происходят изменения в структуре белков внеклеточного матрикса слизистой оболочки мочевого пузыря, что, несомненно, влияет на оптические (в большей мере поляризационные) свойства ткани. Нами было сделано предположение, что новая модификация ОКТ –

кросс-поляризационная ОКТ (КП ОКТ) может стать высоко эффективным методом диагностики изменений слизистой оболочки мочевого пузыря.

Первые исследования выполняли на 12 мочевых пузырях после его экстирпации (*ex vivo*) и при трансвезикальных операциях/резекциях мочевого пузыря (n-30) путем сопоставления КП ОКТ – изображений (n-252) и гистологических препаратов (n-84), окрашенных по ван-Гизон и пикросуриусом - красным (ПСК), дифференцирующих волокна соединительной и мышечной ткани (рисунок 1в). Выполнен анализ соотношения размеров структур в слизистой оболочке мочевого пузыря, на КП ОКТ изображениях и гистологических препаратах (рисунок 1).

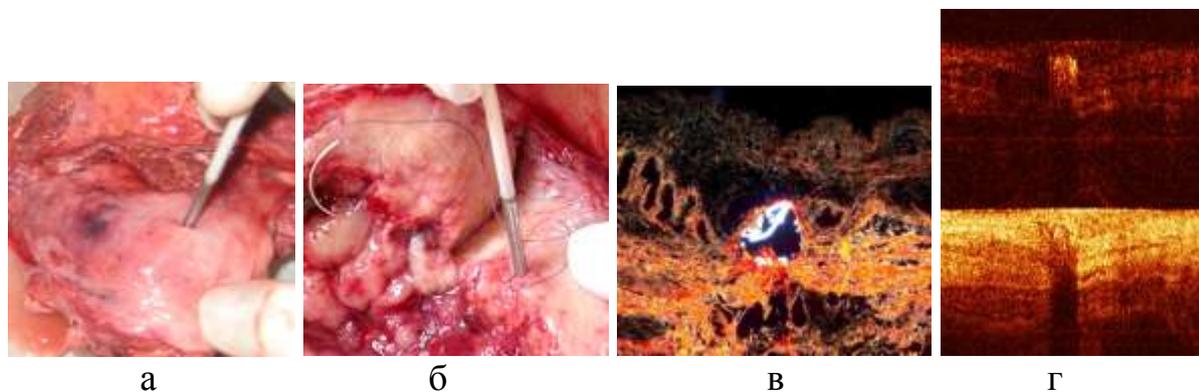


Рисунок 1-Послеоперационный препарат стенки мочевого пузыря

а - КП ОКТ исследование визуально неизмененного участка, (б) пример вшивания для маркировки хирургической нити «Safil» диаметром 150 мкм (нить прозрачна для КПОКТ зондирующего излучения); гистологический препарат, окраска ПСК в поляризационном свете (в), размер кадра – 1.7x1 мм. В центре - канал нити. (г) хронический цистит с клеточной инфильтрацией стромы - КП ОКТ изображение в прямой (снизу) и в ортогональной поляризации (сверху).

Установлено, что наличие сигнала в ортогональной поляризации при КП ОКТ исследовании коррелирует с уровнем организованного и хорошо структурированного коллагена I типа, который обладает выраженным свойством деполяризации и двулучепреломления. Это позволяет считать метод КП ОКТ прижизненным методом оценки состояния коллагена в биотканях. Выявлено, что уровень сигнала в ортогональной поляризации при КП ОКТ исследовании коррелирует с яркостью свечения коллагена I типа, окрашенного ПСК при его оценке в поляризационной микроскопии. При этом коллаген III типа дает слабый сигнал в ортогональную поляризацию, что связано с его низкой способностью к деполяризации. Была выполнена неповреждающая

верификация коллагенсодержащих структур методом КП ОКТ по поляризационным характеристикам в слизистой оболочке мочевого пузыря. В результате получены типы КП ОКТ изображений, отражающих основные патологические процессы мочевого пузыря. На рисунке 2 приведено изображение КП ОКТ и гистологических препаратов стенки мочевого пузыря в норме. В *прямой поляризации* изображение слоистое; отчетливо дифференцируются три оптических слоя - верхний слой (первый) со средним

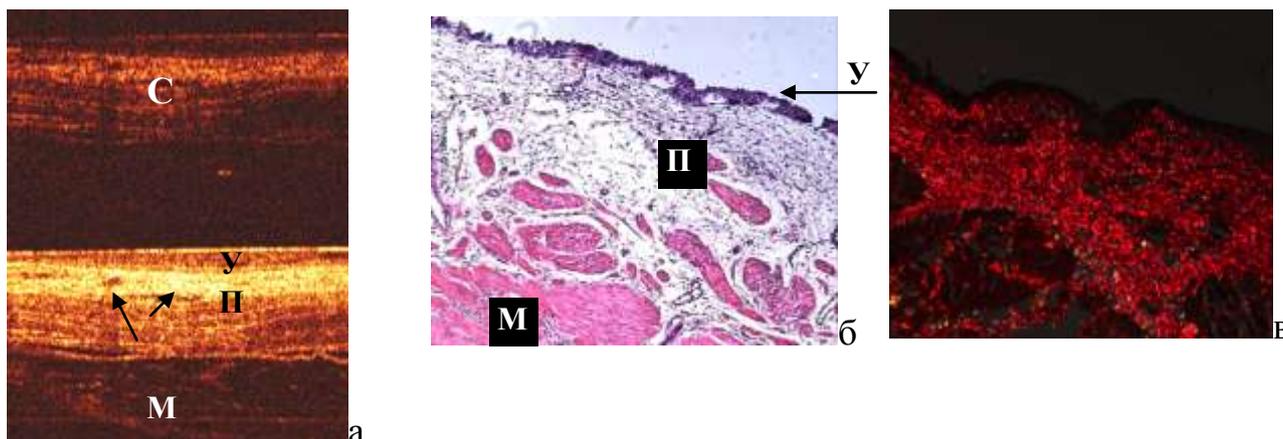


Рисунок 2- Стенка мочевого пузыря в норме

а - КП ОКТ изображение в прямой (нижнее) и ортогональной (верхнее) поляризации (У - уротелий, П – собственная пластинка слизистой оболочки и подслизистый слой, М - мышечный слой. Сосуды обозначены стрелкой. С – подэпителиальные соединительнотканые структуры); б - гистологический препарат, окраска гематоксилин и эозин, х100, в – гистологический препарат, окраска пикросириусом - красным в поляризованном свете, х 100.

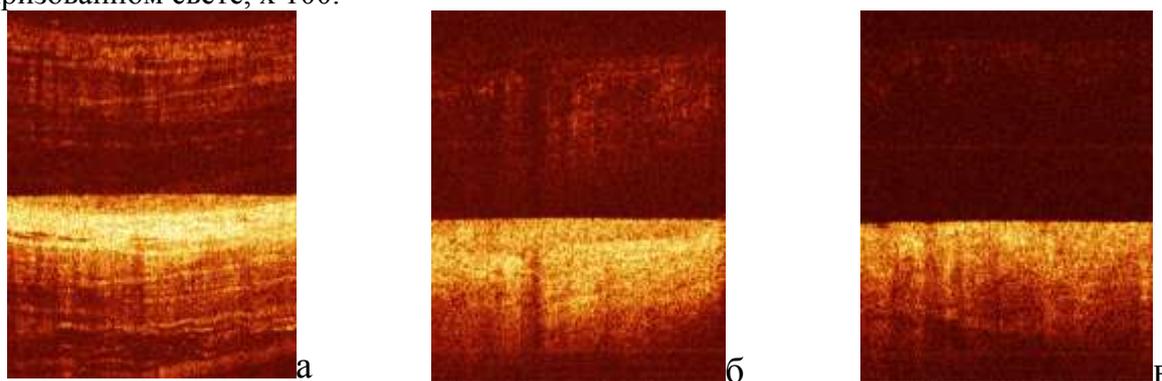


Рисунок 3-Три типа КП ОКТ изображений

а - «доброкачественный» тип (пример хронического цистита); б – «подозрительный» тип (пример инвертированной папилломы - участок, покрытый переходным эпителием с акантозом и очаговой дисплазией 2 ст.); в – «злокачественный» тип (пример уротелиальной опухоли без мышечно-инвазивного роста).
уровнем сигнала зондирующего излучения, соответствующий уротелию; второй слой с высоким уровнем сигнала, соответствующий соединительнотканым структурам (собственной пластинке слизистой

оболочки и подслизистому слоям) и нижний слой со средним уровнем интенсивности сигнала, соответствующий наблюдаемой части мышечного слоя; граница между контрастными верхним и вторым слоем непрерывная; верхний слой равномерной толщины; второй (подуротелиальный) слой имеет продольную/(горизонтальную) упорядоченность соединительнотканых структур; содержит включения низкой интенсивности сигнала (кровеносные сосуды); глубина изображения на весь кадр. В *ортогональной поляризации* сигнал средней интенсивности от коллагеновых волокон, находящихся в собственной пластинке и подслизистом слое. Отчетливо определяется продольная упорядоченность структур. Верхний слой (уротелиальный) не имеет видимого ОКТ сигнала, поскольку переходный эпителий не поляризует зондирующее излучение. При окрашивании ПСК коллагеновые волокна в поляризованном свете имеют интенсивный красный цвет – высокоорганизованные волокна I типа (рисунок 2 в). Выявлено, что всё множество получаемых КП ОКТ изображений можно отнести к одному из трех основных типов, характеризующих доброкачественные (преимущественно воспалительные процессы слизистой оболочки без предраковой перестройки эпителия - гиперплазии, дисплазии, метаплазии), злокачественные (уротелиальная карцинома) и подозрительные на новообразование состояния мочевого пузыря (рисунок 3). Сформулированы признаки, характеризующие типы КП ОКТ изображений.

Признаки «доброкачественного» типа КП ОКТ изображений: в *прямой поляризации* слоистая организация ОКТ изображений с продольной (горизонтальной) упорядоченностью подуротелиальных структур и контрастными слоями, где интенсивность сигнала верхнего слоя меньше, чем нижележащего (второго). В *ортогональной поляризации* наличие равномерного сигнала без очагов ослабления, который может иметь структуру контрастных тканевых слоев и продольную (горизонтальную) упорядоченность.

Признаки «злокачественного» типа КП ОКТ изображений: В *прямой поляризации* отсутствие (или слабое проявление) слоистой организации ОКТ

изображений без горизонтальной упорядоченности подуротелиальных структур. Если слои прослеживаются, то интенсивность сигнала верхнего слоя приближается к интенсивности сигнала второго слоя; сигнал при этом неравномерный. В *ортогональной поляризации* сигнал отсутствует, если присутствует, то слабый с очаговым исчезновением; возможна вертикальная ориентация участков с сигналом.

Признаки «подозрительного» типа КП ОКТ изображений содержат характеристики вышеуказанных типов (доброкачественного и злокачественного) в разной их комбинации. В *прямой поляризации* тканевые слои присутствуют, чаще дифференцируются с трудом; четкость границы верхнего и нижележащего (второго) слоев снижена, граница неконтрастная, может быть прерывистой; толщина и интенсивность сигнала верхнего слоя неравномерная; продольная упорядоченность подуротелиальных структур чаще отсутствует, как и включения низкой интенсивности сигнала; глубина изображения на весь кадр. В *ортогональной поляризации* сигнал на изображении присутствует, но неравномерный, с очаговым исчезновением.

Исследования позволяют утверждать, что наполнение мочевого пузыря, а также степень прижатия зонда к исследуемой области не оказывают принципиального влияния на заключение по КП ОКТ изображению исследуемой зоны, в отличие от УЗИ, фотодинамической диагностики и компьютерной томографии. В работе рассмотрены наиболее часто встречающиеся патологические процессы в мочевом пузыре.

В результате, впервые в урологической практике применен метод визуализирующей диагностики - КП ОКТ, который позволил решить задачу по выявлению раннего рака и предопухолевых состояний мочевого пузыря. Выработанные нами критерии дают возможность точно определить характер КП ОКТ - изменений в прямой и ортогональной поляризации при дисплазии уротелия и раке *in situ* в плоских подозрительных зонах мочевого пузыря. КП ОКТ за счет оценки состояния коллагена может стать верифицирующим методом для диагностики неэкзофитных подозрительных зон в мочевом

пузыре, которые не могут быть идентифицированы при помощи традиционной ОКТ и цистоскопии.

Сравнительный анализ возможностей КП ОКТ и ОКТ в диагностике заболеваний мочевого пузыря

Доказано, что КП ОКТ в отличие от традиционной ОКТ способна разрешить ряд проблем, которые включают дифференциальную диагностику рубца/рака; рака/язвы; плоскоклеточной метаплазии/метаплазии с кератинизацией (лейкоплакии), простой гиперплазии/гиперплазии с дисплазией II-III. При сравнительной оценке диагностической эффективности кросс-поляризационной и традиционной ОКТ по выявлению раннего рака мочевого пузыря методом «слепого» статистического исследования установлено, что КП ОКТ имеет высокие общие диагностические показатели в определении раннего рака: чувствительность метода 93,7%; специфичность – 84%; диагностическая точность – 85,3%. КП ОКТ имеет достоверно более высокие диагностические показатели в определении ранней малигнизации ($p \leq 0.01$), чем традиционная ОКТ. Таким образом, метод КП ОКТ, обладающий пространственным разрешением порядка 10-20 мкм, способен обнаруживать патологические процессы различной природы, изменяющие оптические свойства в стенке мочевого пузыря. На сегодняшний день это *единственный метод прижизненной диагностики состояния коллагена* в слизистой оболочке мочевого пузыря. Вышеизложенное позволяет считать метод КП ОКТ универсальным для диагностики различных заболеваний нижних мочевых путей.

Численный анализ метода КП ОКТ

Для исключения элементов субъективности в возможностях метода КП ОКТ верифицировать различные состояния слизистой оболочки мочевого пузыря в качестве дополнительного инструмента оценки КП ОКТ изображений был применен численный анализ. Вычислялся контраст между эпителием и соединительнотканной стромой в прямой поляризации или интенсивность сигнала (ИС) от стромы в ортогональном изображении с помощью программы Image J. Установлены значения низкой, средней и высокой интенсивности сигнала в дБ для прямой и ортогональной поляризаций. Выявлено, что

интенсивность сигнала от подслизистого слоя в *ортогональном* изображении в диапазоне 2,5-3,0 дБ является диагностической для выявления неоплазии - $p < 0,05$.

Комбинированная эндоскопическая диагностика рака мочевого пузыря

Впервые выполнена эндоскопическая диагностика заболеваний мочевого пузыря, основанная на одномоментном применении флуоресцентной цистоскопии - методики, позволяющей за короткий срок проанализировать всю поверхность слизистой оболочки мочевого пузыря, и КП ОКТ - методики, позволяющей получить в реальном времени структурное изображение из локального участка с высоким разрешением (n-54).

Из 186 плоских флуоресцирующих зон 152 (81,7%) были доброкачественными по результатам гистологического исследования и, следовательно, имели *ложноположительную флуоресценцию*. Методом КП ОКТ 126 зон из 152 были верно распознаны как доброкачественные (82,9%) Таким образом, эти зоны не требовалось резецировать. При этом 26 гистологически доброкачественных зон (17,1%) имели подозрительный тип КП ОКТ изображения, то есть были *ложноположительными по КП ОКТ* и требовали выполнения биопсии. *Ложноотрицательные по КП ОКТ* было 2 случая (5,9%) из 34 гистологически подтвержденной ранней неоплазии.

Таким образом, чувствительность метода диагностики рака мочевого пузыря на базе комбинированного использования КП ОКТ и флуоресцентной цистоскопии *для плоских подозрительных флуоресцирующих зон* составила – 94,1%, специфичность – 82,3%, диагностическая точность – 85%, что сопоставимо с результатами самостоятельной КП ОКТ. Недостаток метода ФДД был нивелирован - специфичность значительно возросла. Кроме того, при больших площадях флуоресценции слизистой оболочки мочевого пузыря применение метода КП ОКТ позволило объективизировать изменения в этих зонах и сохранить максимальное количество слизистой без оперативного вмешательства.

Иммуногистохимическое исследование подозрительных на неоплазию зон мочевого пузыря

Для определения степени выраженности неопластических изменений во флуоресцирующих зонах на генетическом уровне, недоступном стандартному морфологическому анализу, было проведено иммуногистохимическое исследование (ИГХ) с использованием специально отобранных маркеров.

Зонами интереса служили подозрительные на наличие рака плоские флуоресцирующие участки (n-45). Контрольными зонами являлись области без флуоресценции у тех же больных (n-4). Одновременно выполняли КП ОКТ исследование и биопсию всех флуоресцирующих и контрольных зон. Основой для окончательного диагноза в каждой зоне интереса и контрольных зонах служили данные гистологического анализа с окраской препаратов гематоксилином-эозином, с которыми соотносились данные оптических диагностик и результаты ИГХ исследований.

Количественный анализ ОКТ сигнала в ортогональной поляризации способствовал объективизации визуальных критериев КП ОКТ изображений и, таким образом, исключению ложноположительных по КП ОКТ изображений из исследования. Измерения проводились полуавтоматическим способом с помощью программы Image J. (версия 1.43 и). На каждом КП ОКТ изображении измеряли среднеквадратичное отклонение (СО) ОКТ сигнала от средней величины в ортогональной поляризации в 3 группах: в зонах воспаления (1 группа n-35), в зонах малигнизации (2 группа n-22) и в контрольной группе из несветящихся зон (3 группа n-16). Всего 73 КП ОКТ изображения. Для исключения влияния погрешностей (шумы и потеря "полезного" сигнала при прохождении через ткань), выполняли операцию нормирования интенсивности сигнала (ИС) в дБ. $K = \text{ИС (патология)} - \text{ИС (контрольная группа)}$. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Численный анализ КП ОКТ изображений позволил уменьшить число ложноположительных по КП ОКТ случаев (таблица 2). В результате комбинированное применение методов КП ОКТ и ФДД для плоских подо-

Таблица 1- Интенсивность сигнала в ортогональной поляризации при вычитании значений визуальной нормы в группах

	Контрольная 3 гр., дБ (Зоны без свечения)	1 гр., относ. ед.	2 гр., относ. ед.
Ср. значение, (дБ)	32,09	-0,63	-7,33
n (количество)	15	35	22
Ошибка среднего	0,65	0,64	0,80
Ттест-1мерный, p<0,01			2,24525E-08

Таблица 2 - Численный анализ среднеквадратичного отклонения ОКТ сигнала в ортогональном изображении в исследуемых группах

	1 группа (воспаление), дБ	2 группа (рак), дБ	3 группа (контроль), дБ
Среднее значение СО ОКТ сигнала	4,90±0,12 (n=35)	3,46±0,0 (n=22)	5,86±0,10 (n=16)
Доверительный интервал (ДИ- 99%)	4,60-5,21	3,33-3,60	-

(Критерий Стьюдента между группами p<0,0001)

зрительных зон в мочевом пузыре выявило чувствительность 94% (для самостоятельной КП ОКТ 94%, p <0.05), специфичность 99% (84% для самостоятельной КП ОКТ, p <0.001), диагностическую точность 96% (85,3% для самостоятельной КП ОКТ, p <0.001), предсказательную ценность отрицательного теста 95% и предсказательную ценность положительного теста 99% по сравнению с изолированным использованием КП ОКТ. Таким образом, эффективность метода КП ОКТ приближена к биопсии.

Результаты ИГХ исследований показали, что зоны рака мочевого пузыря имеют высокий уровень экспрессии p-53 и высокую пролиферативную активность (количество позитивно окрашенных на Ki-67, p-53 и p63 клеток больше 50%)(таблица 3).

Таблица 3 - Количество позитивно окрашенных клеток на Ki-67, p-53, p-63 в процентах в исследуемых группах

Группа	Ki-67 %	p-53 %	p-63 %
1 группа: активное воспаление	35,4±1,3* (n=27)	40,5±1,9* (n=23)	36,7±1,4 (n=22)
2 группа: рак	50,0±2,0 (n=17)	54,5±2,9 (n=16)	50,4±2,0 (n=17)
3 группа: контроль – неактивное воспаление	32,3±1,4 (n=4)	42,9±2,1 (n=3)	30,8±3,6 (n=4)

*Нет статистически значимого различия между группами (Манна-Уитни U-тест)

Эти показатели были достоверно выше ($p < 0,0001$), чем в участках с воспалением у этих же больных. Важно, что в контрольных зонах уровень показателей Ki-67, p-53, p-63 существенно не отличается от показателей зон с воспалением ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышенной «готовности» эпителиальных клеток у больных раком к пролиферации во всех участках мочевого пузыря и требует тщательного мониторинга и профилактического лечения.

В результате установлено, что снижение контраста тканевых слоев в КП ОКТ исследовании в сочетании с низким (меньше 3,4 дБ) СО ОКТ сигнала от средней величины в кросс-поляризационном исследовании с 99% вероятностью позволяют диагностировать поверхностный рак мочевого пузыря во флуоресцирующих зонах.

Обнаружена высокая обратная корреляция СО ОКТ сигнала в ортогональной поляризации с уровнем экспрессии маркеров p-63, Ki-67, p-53, CD-44v6 – ($r = -0.732, -0.647, -0.481, -0.454$ соответственно $p < 0,002$). То есть, чем выше экспрессия изученных маркеров на уротелиоцитах, тем интенсивнее идет потеря коллагеном стромы слизистой оболочки деполяризующих свойств, что может быть зафиксировано КП ОКТ и использовано для диагностики и мониторинга лечения поверхностного рака мочевого пузыря.

Таким образом, комбинированная диагностика позволяет дифференцировать флуоресцирующие области в мочевом пузыре на облигатный и факультативный патологические процессы. «Подозрительный» тип КП ОКТ изображения во флуоресцирующей зоне соответствует облигатному предраку.

Микроциркуляция при воспалительных и неопластических состояниях слизистой оболочки мочевого пузыря

Результаты исследования микроциркуляции в стенке мочевого пузыря

Кровоток в мочевом пузыре на уровне микроциркуляторного русла изучен у 206 пациентов (женщин - 152, мужчин - 54). Определено, что показатель микроциркуляции слизистой оболочки мочевого пузыря при физиологической норме составляет в среднем 22,93 перф.ед. (таблица 4). В гр. ХЦ наиболее

Таблица 4 - Показатели средних значений перфузии крови в мочевом пузыре при изучаемых состояниях (n – количество обследованных пациентов)

Анатомическая зона мочевого пузыря	ПМ	σ	K_v
Нормальный мочевой пузырь (n-15)			
Задняя стенка	23,3±0,7	6,3±0,8	27,03±3,6
Левая стенка	22,0±0,6	4,40±0,4	20,2±3,3
Правая стенка	21,7 ±0,7	4,56±0,5	21,01±3,5
Верхушка	19,7±0,9	3,3±0,7	17,2±3,2
Зона треугольника Лъето	24,7±2,5	5,8±0,7	23,48±1,0
Шеечная область	26,2±1,2	6,4±0,6	24,4±1,7
Средние показатели	22,93±0,95	5,12±0,6	22.22±2,7
Хронический цистит (n-32)			
Задняя стенка	17.4±1.97	5,51±0,45	27,2±3,41
Боковые стенки	14,1±2,09	3,87±0,44	27,9±3,46
Шеечная область	11,2±1,2	4,4±0,6	39,28±1,7
Средние показатели	14,23±1,75	4,59±0,49	31.46±2,85
Плоская подозрительная зона (n-32)			
Доброкачественные воспалительные изменения - n-16	24,88±0,9	4,62±0,41	18,56±2.9
Ранний рак: Дисплазия 3 n-9 Рак in situ n-7	16,28±1,77	4.98±0,63	30.58±1,45
Зона экзофитного опухолевого поражения мочевого пузыря (n-48)			
Опухоль	9,7±1,0	0,7±0,3	7,21±0,8
Основание опухоли	6,6±0,6	0,8±0,6	12,1±0,5
Уротелий в 1 см	12,8±0,7	1,4±0,8	10,93±1,8
Уротелий в 2 см	18,2±0,8	4,4±0,7	24,2±1,8

*ЛДФ при лучевом цистите n-46; при внутривезикулярной химио- и иммунотерапии - n-33.

выраженные изменения микроциркуляции выявлены в боковых стенках и в шеечной области мочевого пузыря. В то же время максимальное количество опухолей у пациентов гр. Р выявлено именно в нижней гемисфере мочевого пузыря (в шейке и в зоне треугольника Лъето 18,8%, на боковых стенках близко к устьям - 54,5%), что подтверждает роль фактора гипоксии для развития неоплазии, как одной из ведущих. При хроническом цистите процессы микроциркуляции в слизистой оболочке снижены в 1,6 раза по сравнению с нормой (в среднем 14,23 перф. ед.) и характеризуются застойным типом

кровотока со снижением активных компонентов микроциркуляторного русла, застоем крови в прекапиллярном и веноулярном звене.

В плоских подозрительных зонах воспалительного характера показатель микроциркуляции (ПМ) выше средних нормальных значений ($24,88 \pm 0,9$ перф.ед.), на фоне снижения σ (\downarrow) – $4,62 \pm 0,41$ перф. ед. - следствие присутствия в очагах воспаления/раздражения медиаторов воспаления, вызывающих вазодилатацию. В плоских подозрительных зонах, из которых гистологически был получен ранний рак, ПМ составил 70,73% от нормы ($16,22 \pm 1,77$ перф. ед.), $\sigma(\downarrow)$ - $4.98 \pm 0,63$ перф.ед. Подобные изменения связаны с резким повышением функционирования пассивных механизмов модуляции кровотока (сердечных и дыхательных ритмов) в системе микроциркуляции. Разбалансированность ритмической структуры колебаний тканевого кровотока выявлена как при хронических циститах - K_v превышает показатели нормы на 29,38 % ($31,46/22,22$), так и в плоских подозрительных зонах при выявлении раннего рака - на 37,62 % ($30,58/22,22$). Выяснено, что при хроническом воспалении, как и при раннем раке ПМ \downarrow $\sigma\downarrow$ $K_v \geq K_v$ норм., - наблюдается, как правило, в результате повышения нейрогенного тонуса, что свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях, и соответствует стазическому типу нарушений микроциркуляции.

При наличии экзофитного опухолевого процесса ПМ \downarrow $\sigma\downarrow$ $K_v < K_v$ норм. - характеризуется как спастический тип микроциркуляции. Показатели микроциркуляции уротелия мочевого пузыря в опухоли и её основании в среднем составляют 9,7 и 6,6 перф.ед. соответственно, что объясняется изменением ангиоархитектоники по центральному типу или может быть следствием недоразвития мышечного слоя в этих сосудах, уменьшением их эластичности. В перифокальных зонах - на расстоянии 1 и 2 см от опухоли - прослежено увеличение показателей микроциркуляции до субнормальных значений.

Амплитудно - частотный спектр ЛДФ при воспалительных заболеваниях, в плоских подозрительных зонах и при опухолях мочевого пузыря

При *экзофитных* опухолях выявлено угнетение амплитуды аperiодических низкочастотных флаксмоций за счет снижения миогенного вазомоторного механизма по сравнению с нормой ($8,04 \pm 1,9$ и $10,82 \pm 2,16$ соответственно), при этом амплитуда высокочастотных и пульсовых колебаний, напротив, была увеличенной $A_d \uparrow 9,58 \pm 2,1$, $A_c \uparrow 3,81 \pm 0,9$ ($A_d 5,45 \pm 0,7$, $A_c 2,43 \pm 1,15$ в нормальном мочевом пузыре).

При *хроническом воспалении* выявлено смещение спектра флаксмоций в высокочастотную область, отмечено увеличение амплитуд нейрогенных колебаний по сравнению с нормой до $24,31 \pm 6,03$, что является индикатором снижения сопротивления в прекапиллярном звене микрососудистого русла (симпатическая составляющая).

В плоских *подозрительных зонах/зонах ранней неоплазии*, как и при хроническом цистите, диапазон частот миогенной регуляции был значительно снижен, показатели практически равны ($8,78 \pm 2,03$ и $8,18 \pm 2,8$.) Зона приложения миогенной регуляции - прекапилляры и сфинктеры. Снижение амплитуды осцилляций в этих зонах вызывает повышение мышечного сопротивления и, следовательно, приводит к снижению нутритивного кровотока.

При всех изучаемых процессах в мочевом пузыре выявлено подавление вазомоторного механизма (симпатическая составляющая) и компенсаторное усиление парасимпатических влияний в регуляции микрокровотока - факт, который важно учитывать при проведении патогенетической терапии данных состояний. Таким образом, методом ЛДФ выявлено, что показатели состояния микроциркуляторного русла мочевого пузыря свидетельствуют о его угнетении при хронических воспалительных заболеваниях, предраковых состояниях и раке мочевого пузыря, что подтверждается снижением уровня перфузии тканей, функции механизмов модуляции кровотока и вазомоторной активности микрососудов.

Лучевой цистит – модель патогенетических изменений для развития пренеоплазии в мочевом пузыре

Результаты КП ОКТ исследования мочевого пузыря в процессе облучения

Известно, что морфологические изменения ткани при лучевом поражении не являются специфичным (Т. Альпер, 1979). Поэтому процесс развития воспалительных изменений в мочевом пузыре при терапевтическом облучении органов малого таза был принят нами как образец быстро возникших патогенетических изменений в мочевом пузыре, которые можно проследить с самого начала до выраженных тканевых изменений во временном интервале.

При биопсии плоские поражения уротелия у больных поздним лучевым циститом выявлены в 23,8% (n-25 из 105 фрагментов мочевого пузыря). Это свидетельствует о необходимости относить пациентов, получивших лучевое лечение, в группу риска для развития неоплазии мочевого пузыря.

Метод КП ОКТ позволил нам впервые проследить состояние подэпителиальных структур слизистой оболочки мочевого пузыря в процессе лучевого лечения органов малого таза (рака шейки матки и тела матки) (n-75) и в отдаленные сроки. Исследования проводили до начала лучевого лечения и 1 раз в неделю в процессе курса лечения. КП ОКТ сканирование выполняли в трех зонах: задней стенке, треугольнике Льео и шейке мочевого пузыря, получено 968 КП ОКТ изображений. Установлены определенные изменения на КП ОКТ изображениях, которые служат критериями начальных проявлений лучевой реакции со стороны слизистой мочевого пузыря, сроки их наступления. Первые изменения на КП ОКТ изображениях как в прямой, так и в ортогональной поляризации зафиксированы при достижении СОД 12-20 Гр. Они касались в первую очередь соединительной ткани: в *прямой поляризации* исчезали мелкие структуры с низким уровнем сигнала, соответствующие сосудам, снижался контраст продольных структур внутри соединительнотканых структур – признак тканевого отека. В *ортогональной поляризации* - интенсивность сигнала от соединительнотканых структур снижалась, они становились более однородными. Достижение СОД 30-50 Гр. сопровождалось резким ослаблением/исчезновением сигнала от коллагеновых

волокон в ортогональной поляризации вследствие их дезорганизации. Появление структурных изменений на КП ОКТ изображении хотя бы в одной избранной зоне свидетельствовало о начале лучевой реакции ткани - *развитии лучевого цистита*. Численный анализ КП ОКТ изображений позволил выявить вовлечение в процесс лучевых изменений всех отделов мочевого пузыря, несмотря на визуальное благополучие слизистой, а также объективно количественно оценить дозовые и временные зависимости лучевой реакции мочевого пузыря у больных с разной степенью тяжести развившихся осложнений.

Сравнительная характеристика гистологических изменений мочевого пузыря при лучевом и бактериальном цистите

В ходе исследования выявлено, что наибольшие изменения при хронических циститах как радиационной, так и бактериальной этиологии формируются во внутренних слоях стенки – слизистой и подслизистой. При лучевой реакции подэпителиальные очаговые клеточные инфильтраты расположены по большей части периваскулярно в отличие от хронических циститов, где инфильтрация, как правило, выявлялась диффузно, что подтверждено окраской препаратов пикросириусом - красным в поляризованном свете.

При позднем лучевом цистите наблюдалось незначительное уменьшение количества сосудов микроциркуляторного русла или разрежение мелких артериальных сосудов (от 50 до 80 в мм²) в сравнении с картиной хронического бактериального цистита (70-80 в мм²). (Использовали морфометрическую сетку Автандилова). Количество внутриорганных сосудов в сравниваемых образцах не отличалось. Анализ гистологических препаратов при цистите лучевой и бактериальной этиологии свидетельствует о сходной картине – наличии воспалительных изменений и фиброза ткани.

Особенности микроциркуляции слизистой оболочки мочевого пузыря при лучевой терапии

Микроциркуляция в слизистой оболочке мочевого пузыря в процессе лучевой терапии изучена у 31 пациентки и у 15 при поздних лучевых циститах (возраст от 34 до 79 лет). Всего 93 ЛДФ-граммы. Измерения выполняли до лучевой

терапии, в середине и в конце курса облучения. В середине курса лучевой терапии выявлено уменьшение перфузии ($\text{ПМ}\downarrow$, $\sigma\downarrow$, $K_v \geq K_{v\text{конт}}$), что приводило к снижению артерио - веноулярного давления, в связи с чем мы наблюдали увеличение дыхательных ритмов ($\text{Ад}\uparrow$). К концу курса лучевой терапии перфузия возросла ($\text{ПМ}\uparrow$, $K_v \leq K_{v\text{конт}}$), но снизился нейрогенный тонус. Считаем, что это связано с процессами вазодилатации сосудов, как ответом организма на повреждение, - функциональные изменения.

В результате исследований выявлены сходные гистологические и микроциркуляторные изменения мочевого пузыря при хронических воспалительных процессах и лучевой реакции. Установленный КП ОКТ факт ранней реакции на повреждение именно подэпителиальных структур свидетельствует, что традиционная внутрипузырная терапия при этом малоэффективна, доставка действующего вещества должна быть к подэпителиальным структурам через микроциркуляторное русло. Полученные в работе результаты важны для понимания развития патологических процессов в мочевом пузыре при воспалительном процессе любой этиологии.

Пути улучшения лечения хронических воспалительных, предопухолевых заболеваний и раннего рака мочевого пузыря

I. Для оптимизации лечения и методов динамического наблюдения за пациентами групп риска для развития неоплазии мочевого пузыря, у больных с дизурией, были разработаны специальные алгоритмы (пример - рисунок 4, 5). Методы ЛДФ и КП ОКТ были применены для контроля динамики состояния мочевого пузыря, соответственно для подтверждения эффективности выбранных препаратов, примененных нами в качестве патогенетических. В лечении опирались на собственную доказательную базу.

Объективное определение продолжительности патогенетической терапии хронических циститов.

Известно, что в период становления болезни структурные изменения опережают клинические проявления и наоборот, в процессе выздоровления нормализация нарушенных функций наступает раньше восстановления

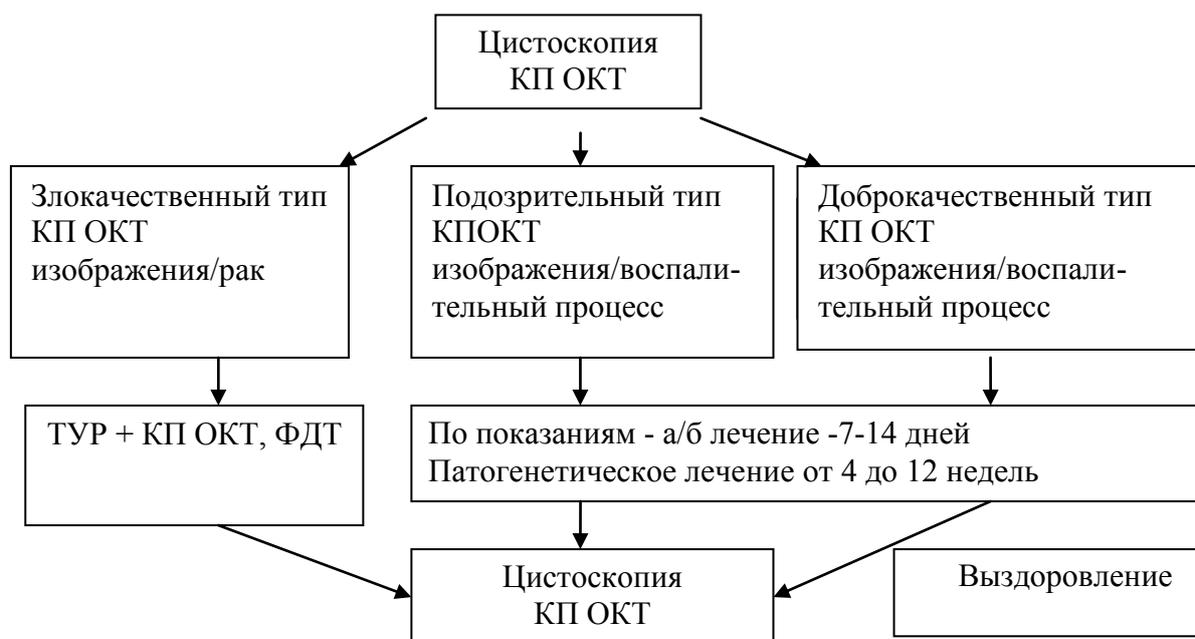


Рисунок 4 - Алгоритм ведения пациентов групп риска с подозрением на развитие неоплазии мочевого пузыря поврежденных структур, то есть морфологические проявления запаздывают по сравнению с клиническими (Саркисов Д.С.,1988). В то же время исследованиями А.Ф. Возианова, А.М. Романенко с соавт. (1994г.) было показано, что полное восстановление зрелых поверхностных клеток эпителия мочевого пузыря после их повреждения длится не менее 3 недель. Причем незрелый эпителий обладает повышенной способностью клеток к бактериальной адгезии.

С целью уточнения необходимой оптимальной продолжительности лечения динамика изменений в стенке мочевого пузыря в процессе и после лечения хронического рецидивирующего цистита была прослежена у 25 пациенток, давших согласие на исследование после окончания лечения - в период ремиссии. В среднем при каждом исследовании получали информацию из 10-15 зон мочевого пузыря. Всем пациенткам перед цистоскопией выполняли общий анализ мочи и посев мочи на флору. Контрольные цистоскопии с КПОКТ выполняли через 7-10 дней после завершения антибактериального лечения. По КПОКТ в *прямой поляризации* выявляли длительное сохранение изменений уротелиального слоя в виде утолщения в

нижней гемисфере мочевого пузыря, иногда в проксимальном отделе уретры. Подслизистый слой был утолщен, местами разволокнен. На КП ОКТ изображении слои определялись, но контраст между ними был снижен, что свидетельствует о сохранении инфильтративных процессов в слизистой оболочке. В ортогональной поляризации интенсивность сигнала от коллагенсодержащих структур была значительно снижена, сигнал равномерно ослаблен во всей толще. Через 10-12 недель - после завершения патогенетического лечения - на КП ОКТ изображениях выявлена нормализация толщины эпителия, в первую очередь в уретре и шейке мочевого пузыря, подэпителиальные структуры становились более компактными и контрастными. Таким образом, проведение терапии обострений хронического цистита в течение 10-14 дней недостаточно, поскольку патологические процессы в подслизистом слое мочевого пузыря, доказанные КП ОКТ, протекают значительно дольше.

Результаты исследований в процессе патогенетического лечения хронических рецидивирующих циститов. Иммуномодулирующая терапия

Отклонения в иммунном статусе в виде повышения или понижения показателей Ig G, Ig A, Ig M от среднестатистической нормы выявлены у 33,3% обследуемых пациенток с хроническим рецидивирующим циститом. При включении в лечение иммуномодулирующего препарата «тилорон» произошла нормализация показателей иммуноглобулинов в 90% случаях, в контрольной же группе, получавшей плацебо - в 77,7%. Оценка уровня интерферонов и субпопуляций иммунокомпетентных клеток выполнена простым слепым сравнительным рандомизированным плацебо - контролируемым клиническим исследованием у 118 пациенток.

Интерфероновый статус оценивали по уровню сывороточного интерферона и способности лейкоцитов периферической крови синтезировать ИНФ α и ИНФ γ в ответ на введение препарата тилорона. Была получена наблюдательная норма уровня интерферонов у 20 здоровых женщин: ИНФ α – 23,05 пг/мл и ИНФ γ -16,39 пг/мл. Уровень сывороточного ИНФ до лечения в группах был ниже средних результатов наблюдательной нормы: ИНФ α 14,14

пг/мл и 14,22 пг/мл, а ИНФ γ – 12,58 и 13,06 пг/мл соответственно (таблица 5). После приема 10 таблеток тилорона: ИНФ α повысился до 31,25 пг/мл, а ИНФ γ – до 27,29 пг/мл, что в 2 раза выше исходных цифр. После завершения лечения показатели оставались выше нормы (23,05 пг/мл и -16,39 пг/мл соответственно). В группе плацебо после лечения уровень ИНФ γ стал ниже исходных цифр - 11,33 пг/мл, что связано с антибактериальным лечением, уровень ИНФ α оставался без изменений. То есть показатели гуморального иммунитета улучшились у больных, получавших иммуномодулятор.

Таблица 5-Динамика уровня интерферонов в группах сравнения

Группы	Уровень интерферонов (пг/мл)					
	До лечения		На 17-й день		На 61-й день	
	ИНФ α пг/мл	ИНФ γ пг/мл	ИНФ α пг/мл	ИНФ γ пг/мл	ИНФ α пг/мл	ИНФ γ пг/мл
Тилорон (n-30)	14,14 \pm 6,6	12,58 \pm 5,1	31,25 \pm 10,7	27,29 \pm 8,3	25,84 \pm 5,6	24,4 \pm 5,7
Плацебо (n-28)	14,22 \pm 8,1	13,06 \pm 4,4	23,3 \pm 6,1	16,39 \pm 7,5	14,65 \pm 5,9	11,33 \pm 5,2
Норма (n-20)	23,05 \pm 3,8	16,39 \pm 4,2	23,05 \pm 5,4	16,39 \pm 5,3	23,05 \pm 4,2	16,39 \pm 3,8

Значения *субпопуляции иммунокомпетентных* клеток на протяжении исследования оставались в пределах нормы, выявлен исходный достаточный уровень биоцидности нейтрофилов в обеих группах. Стимулированный показатель *фагоцитарного резерва нейтрофилов* - (НСТ-тест-СТ) увеличился до 68% по сравнению с группой плацебо. Степень влияния иммуномодулятора на состояние нейтрофилов оценена по анализу *индекса активации фагоцитоза*. Получена достоверная положительная динамика в группах сравнения. Данные подтверждены посевом мочи на флору - эрадикация микроорганизмов у получавших комбинированное лечение в 2 раза больше (55,2%), чем у получавших плацебо (22,3 %). Общий срок лечения и наблюдения пациенток составил 180 дней. Доказано, что включение иммуномодулятора в схему лечения хронических циститов приводит к достоверному уменьшению частоты обострений заболевания во время терапии (базового курса) - до 20%, по сравнению с группой, не получавшей препарат - 36,6%. Профилактический прием препарата в течение 10 недель способствовал снижению обострений до

10% по сравнению с 36,6 % у группы контроля. Качество жизни пациенток и частота «выраженного» эффекта были выше у получающих иммуномодулятор ($p < 0,01$, точный тест Фишера). Таким образом, лечение хронических циститов с повышенным риском развития нового эпизода заболевания должно включать иммуномодулирующие препараты.

Модуляция кровотока в системе микроциркуляции мочевого пузыря

Коррекция микроциркуляции в слизистой оболочке мочевого пузыря была осуществлена и изучена при назначении биорегулятора - препарата «Витапрост» (n-32) и фитопрепарата «Канефрон» (n-30). Результаты исследований сравнивали с данными пациентов, не получавших препаратов. Всем больным была выполнена цистоскопия с ЛДФ и КП ОКТ в начале лечения и в конце срока наблюдения. «Витапрост® суппозитории ректальные 50 мг» назначали по 1 суппозиторию 1 раз в сутки ректально в течение 20 дней. Методом ЛДФ показано, что включение в комплексное лечение биорегулятора способствовало восстановлению функции микроциркуляторного русла. Получено статистически значимое увеличение показателя микроциркуляции (ПМ) у пациентов, получавших «Витапрост» - с 15,2 (8,74;23,10) до 21,48(17,37; 26,50) перф. ед. ($p \leq 0,05$); показателя Kv - с 29,88(25,10;35,90) до 19,99(16,45; 22,8) - ($p \leq 0,05$). Индекс эффективности микроциркуляции также имел статистически значимое увеличение с 1,37(1,09;1,50) до 2,29 (2,09;2,38) - ($p \leq 0,05$). В группе сравнения статистически значимых изменений не выявлено ($p > 0,05$). Об улучшении процессов трофики ткани, иннервации, микроциркуляции свидетельствуют данные КП ОКТ, лабораторные исследования - интенсивность исчезновения воспалительного процесса, элиминация микрофлоры.

«Канефрон'Н» (n-30) включали в курс этиопатогенетической терапии, назначая по 50 капель - 3 раза в день после еды в течение 42 дней (6 недель). Группа сравнения препарат не получала (n-20). Длительный прием фитопрепарата способствовал восстановлению функции микроциркуляторного русла, более интенсивному исчезновению бактериурии и воспалительного процесса. Отмечена тенденция к нормализации показателей ЛДФ-граммы,

выявлена статистически достоверная положительная динамика показателей ПМ, σ ($p \leq 0,05$).

Результаты мониторинга больных хроническим циститом

Цистоскопический контроль с КП ОКТ 122 пациенток с хроническим циститом, получающих патогенетическое лечение, направленное на восстановление иммунного статуса, микроциркуляции, иннервации мочевого пузыря, за 5 лет не выявил ни одной опухоли. Опухолевый рост зафиксирован в 2 случаях из 93 пациенток, не получавших профилактического патогенетического лечения (2,1%): в одном случае развилась папиллома мочевого пузыря на фоне лейкоплакии (1,07%), в другом - инфильтративный рак (1,07%).

II. Профилактика рецидивов рака мочевого пузыря. Изучение околоопухолевых зон в процессе операций при раке мочевого пузыря

В основу изучения возможностей метода ОКТ/КП ОКТ при оперативном лечении рака мочевого пузыря легли данные 88 пациентов (31 оперированы до 2004 года с ОКТ и 57 пациентов - после 2005 года с КП ОКТ), которым выполнялось изучение границ опухоли и околоопухолевых зон, а так же всех визуально подозрительных на неоплазию зон. Выполняли ТУР учётом данных ОКТ/КП ОКТ, из соответствующих зон было получено 267 гистологических препарата. Исследования методами оптической визуализации показали, что истинные границы опухоли не совпадают с визуальными. Неконтрастные бесструктурные изображения с малой глубиной сигнала, соответствующие неопластическому процессу по КП ОКТ, были выявлены на различном расстоянии от визуальной границы опухоли, чаще в 0,5 и 1 см. В околоопухолевых зонах выявляли состояния, соответствующие при морфологическом исследовании дисплазии средней и тяжелой степени. Считаем, что именно эти изменения играют роль в исходах оперативного лечения рака мочевого пузыря и требуют проведения длительной адьювантной внутрипузырной терапии. Из оперированных под контролем методов оптической визуализации 88 пациентов изменение объема планируемой резекции на основании оптических изображений было выполнено у 29,5% (n=26).

Послеоперационный мониторинг мочевого пузыря

Метод КП ОКТ применен для анализа зоны послеоперационного рубца с целью минимизации традиционно рекомендованной ре-ТУР (таблица 6). Основой анализа в срок от 2 до 144 недель (2,8 года) были данные о мочевом пузыре 66 пациентов, ранее оперированных под визуальным контролем и получавших послеоперационное лечение.

Таблица 6 - Анализ послеоперационных подозрительных зон в мочевом пузыре

Визуально подозрительные зоны, потребовавшие дополнительного исследования КП ОКТ абс.(%)		
165 (55,9%)		
Вне зоны операции	Перифокальная зона	Подозрительный рубец
54(32,7%)	41(24,8%)	38(23%)
Потребовалось оперативное вмешательство по результату КП ОКТ - 36(21,8%)		
18(33,3%)	8 (19,5%)	10 (26,3%)

В послеоперационном периоде изучалось состояние зоны бывшего оперативного вмешательства - рубца и перифокальных тканей вокруг на 2 - 2,5 см; визуально подозрительных на новообразование зон; рандомизированное КП ОКТ исследование визуально неизменной внутренней оболочки мочевого пузыря. Из зон сканирования по показаниям выполнялась трансуретральная биопсия. Для удобства анализа рубцы до 8 недель считали ранними, более 8 недель – поздними. По результатам КП ОКТ из 165 зон с подозрением на опухоль было иссечено 36 зон у 27 пациентов, что составило 21,8% (в 8 случаях – дисплазия, в 28-опухоль). То есть **78,2%** зон, визуально подозрительных на новообразование, не требовали оперативного вмешательства.

КП ОКТ исследование раннего рубца позволило дифференцировать опухоль и формирующуюся рубцовую ткань на фоне грануляций и эрозий (n-5), поскольку в ортогональной поляризации формирующиеся структуры рубцовой ткани отражают световой сигнал. Выполнять ре-Тур не потребовалось. В случаях язв в зоне операции (n-3), покрытых солями, слизью, некротической тканью, изучали края язвы методом КП ОКТ, что позволило отказаться от повторной ТУР при наличии структурного изображения и продолжить

наблюдение. Ре-ТУР рубца выполнили в 26,3% (10/38), в случаях, когда было получено бесструктурное изображение. В 73,7% продолжалось динамическое наблюдение за послеоперационным рубцом.

Таким образом, метод оптической визуализации КП ОКТ позволяет верифицировать опухолевую и рубцовую ткань, в результате минимизировать выполнение ре-ТУР мочевого пузыря.

*Патогенетический выбор препарата для внутривезикулярного лечения
поверхностного рака мочевого пузыря*

Трехлетний анализ результатов лечения 346 пациентов, имеющих поверхностные опухоли, которым выполнялась трансуретральная резекция мочевого пузыря под визуальным контролем, показал, что у пациентов, получавших только хирургический метод лечения под визуальным контролем (ТУР), выявлено 45,8% (91/201) новых случаев возникновения опухолей.

Наряду с вакциной БЦЖ, для послеоперационной внутривезикулярной терапии мы использовали препарат «Ронколейкин» - рекомбинантный ИЛ-2. Методом КП ОКТ прослежена реакция слизистой оболочки мочевого пузыря на введение вакцины «Имурон», химиопрепарата доксорубицин и иммунопрепарата «Ронколейкин». При лечении вакциной БЦЖ выявлена реакция подэпителиальных структур в виде усиления инфильтрации и отека ткани на фоне сниженной интенсивности обратного кросс-поляризационного сигнала. Изображение соответствовало картине острого воспаления слизистой оболочки.

Тканевые изменения и микроциркуляция в стенке мочевого пузыря при внутривезикулярных инстилляциях препарата «Ронколейкин» изучены у 16 больных, оперированных по поводу поверхностного рака мочевого пузыря T_{1p} in situ, T_{1a}, T_{1b}. Всего выполнено 68 ЛДФ измерений, получено и проанализировано 136 КП ОКТ изображения (по 2 с каждой зоны). ЛДФ и КП ОКТ выполнялась из одной и той же зоны (задней стенки мочевого пузыря). Это позволило анализировать данные ЛДФ и КП ОКТ параллельно. После инстилляций яркость КП ОКТ изображения в обеих поляризациях уменьшилась, что свидетельствовало о наличии клеточной инфильтрации слизистой оболочки и

реакции микроциркуляторного русла на инстилляции. Несмотря на наличие изменений в мочевом пузыре сходных по КП ОКТ с воспалительными, клинических проявлений цистита не зафиксировано ни у одной пациентки. При инстилляциях ронколейкина выявлены статистически значимые отклонения - повышение ПМ (\uparrow) ($p=0,004$), и σ (\uparrow) ($p=0,024$), и уменьшение K_v , $K_v \leq K_v$ исходная, то есть наблюдали гиперемический тип микроциркуляции. Установлено, что картина, похожая на воспалительную по КП ОКТ, не была идентична воспалительной по ЛДФ, когда развивался миопаралитический механизм гиперемии слизистой. Таким образом, при проведении местной терапии иммунным препаратом «Ронколейкин» возникало функциональное ограничение сократительной способности сосудистой стенки. Отсутствие статистических различий с показателями микроциркуляции у больных хроническим циститом вне обострения свидетельствует о том, что классического воспалительного процесса в стенке мочевого пузыря на фоне внутривезикулярной иммунотерапии препаратом «Ронколейкин» не было.

В исследовании выявлено, что механизм реализации воздействия на стенку мочевого пузыря химиопрепаратов и иммунных препаратов различен. В результате, при наличии гистологической микро инвазии опухоли в подслизистый слой и наличии воспалительной инфильтрации около опухоли, после операции мы отдавали предпочтение внутривезикулярному введению иммунопрепаратов перед химиопрепаратами.

Анализ частоты рецидивирования рака мочевого пузыря

Выполнен анализ частоты рецидивирования за 3 года у 321 пациента. Оперированных ТУР под визуальным контролем (ВК) без патогенетического лечения – 201 человек, с послеоперационным патогенетическим лечением - 66, и 54 человека, оперированных под контролем КП ОКТ с ФДД, с регулярным послеоперационным патогенетическим лечением, проводимым под контролем КП ОКТ - (таблица 7). Разработан алгоритм раннего послеоперационного ведения и необходимости биопсии у больных поверхностным раком мочевого пузыря (рисунок 5). При необходимости назначали внутривезикулярную терапию

Таблица 7- Количество рецидивов рака после ТУР мочевого пузыря в зависимости от метода лечения

	ТУР (ВК) (n-201)	ТУР (ВК) + послеоперационное патогенетическое лечение (n-66)	ТУР (КП ОКТ и ФДД) + регулярное патогенетическое лечение (n -54)
Рецидивы всего	91 (45,3%)	27 (40,9%)	10 (18,5%)
Рецидив в рубце	32 (15,9%)	9 (13,6%)	0
Рецидив вне зоны операции	59 (29,4%)	14 (27,3%)	10 (18,5%)



Рисунок 5 - Алгоритм раннего послеоперационного наблюдения больных поверхностным раком мочевого пузыря химио - и иммунопрепаратами, перорально иммуномодуляторы, антиоксиданты, препараты, улучшающие микроциркуляцию в мочевом пузыре. Обязательное условие для всех было исключение никотина. Выявлено, что интраоперационная диагностика состояния слизистой оболочки околоопухолевых зон и границ распространения патологического процесса позволяет радикально удалить поверхностную опухоль и свести к минимуму количество рецидивов в области послеоперационного рубца. То есть наиболее важным фактором, оказывающим влияние на результаты дальнейшего лечения,

является *качество первой TUR* мочевого пузыря. Комбинированный интраоперационный контроль КП ОКТ с ФДД и послеоперационное патогенетическое/профилактическое лечение являются резервом улучшения показателей лечения поверхностного рака мочевого пузыря.

ВЫВОДЫ:

1. В плоских визуально подозрительных зонах слизистой оболочки мочевого пузыря в 28,7% случаев выявлены плоские поражения эпителия мочевого пузыря, включая предраковые изменения и ранний рак (гиперплазия эпителия с дисплазией - 9,8%, плоскоклеточная метаплазия с дисплазией - 3,3%, лейкоплакия - 3,3%, железистая метаплазия с дисплазией - 1,4%, папиллярный цистит с дисплазией эпителия - 0,9%, инвертированная папиллома - 3,6%, уротелиальная папиллома - 6,4%, в 4,8% случаев - ранний рак).
2. Новый метод визуализации тканей – кросс - поляризационная оптическая когерентная томография характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью для выявления предрака и раннего рака мочевого пузыря в плоских подозрительных зонах. Чувствительность метода составила 93,7%; специфичность – 84%; диагностическая точность – 85,3%.
3. Комбинированное использование кросс - поляризационной оптической когерентной томографии с флуоресцентной цистоскопией повысило диагностическую эффективность в выявлении предрака и рака мочевого пузыря в плоских подозрительных зонах по сравнению с самостоятельной флуоресцентной цистоскопией, имеющей недостаточную специфичность. Чувствительность составила 94,1%, специфичность – 82,3%, диагностическая точность – 85%. Численный анализ кросс - поляризационных изображений повысил специфичность комбинированного использования методов до 99%, а диагностическую точность до 96%.
4. Выявлены общие закономерности в состоянии микроциркуляторного русла слизистой оболочки мочевого пузыря при хронических воспалительных процессах и при ранних стадиях неоплазии, которые характеризуются

застойным типом кровообращения со снижением уровня перфузии тканей, напряженностью метаболической и иннервационной регуляции микроциркуляции.

5. Отклонения в иммунном статусе выявлены у 33,3% пациентов, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями мочевого пузыря. Включение иммуномодулятора в схему этиопатогенетического лечения хронических циститов, как группы риска для развития неоплазий в мочевом пузыре, приводит к достоверному уменьшению частоты обострений заболевания во время терапии до 20%, после терапии до 10% по сравнению с пациентами, не получавшими иммуномодулятор, частота обострений цистита у которых составила 36,6% и 36,6% соответственно.

6. Больным групп риска показано проведение патогенетического лечения, направленного на восстановление иммунного статуса, микроциркуляции, иннервации мочевого пузыря с целью профилактики прогрессирования болезни и развития неоплазии. У пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, получавших патогенетическую профилактическую терапию в течение пяти лет, направленную на восстановление иммунного статуса, микроциркуляции, иннервации мочевого пузыря, неоплазия не выявлена ни у кого. В контрольной группе опухолевое поражение мочевого пузыря имело место в 2 случаях (2,1%).

7. Регулярное патогенетическое лечение с контролем состояния слизистой оболочки мочевого пузыря методами кросс - поляризационной оптической когерентной томографии с флуоресцентной цистоскопией способствует снижению рецидивов рака мочевого пузыря с 45,3% до 18,5%. Комбинированное лечение поверхностных опухолей мочевого пузыря с учетом состояния околоопухолевых зон и локализации истинной границы опухоли методом кросс - поляризационной оптической когерентной томографии позволяет снизить частоту местных рецидивов до минимума - с 13,6 % до 0 (срок наблюдения 3 года).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. In vivo endoscopic OCT imaging of precancer states of human mucosa / A.M. Sergeev, G.V. Gelikonov, V.M. Gelikonov, F.I. Feldchtein, R.V. Kuranov, N.D. Gladkova, N.M. Shakhova, L.B. Snopova, A.V. Shakhov, I.A. Kuznetzova, A.N. Denisenko, V.V. Pochinko, Yu.P. Chumakov, O.S. Streltsova // *Optics Express*. - 1997. - Vol. 1, No. 13. - P. 432-440.
2. Design and performance of an endoscopic OCT system for in vivo studies of human mucosa / F.I. Feldchtein, G.V. Gelikonov, V.M. Gelikonov, R.V. Kuranov, N.D. Gladkova, A.M. Sergeev, N.M. Shakhova, I.A. Kuznetzova, A.N. Denisenko, O.S. Streltsova // *CLEO, OSA*. – 1998. – P. 122-123.
3. Clinical study of bladder diseases using Optical Coherence Tomography / E.V. Zagainova, N.D. Gladkova, O.S. Streltsova, G.V. Gelikonov, A.I. Sumin, F.I. Feldchtein, R.R. Iksanov // *Progress in biomedical optics and imaging, SPIE*. - 2000. - Vol. 4160. - P. 69 - 76.
4. Оптическая когерентная томография в диагностике рака мочевого пузыря / В.Н. Крупин, Н.Д. Гладкова, Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, Г.В. Геликонов, А.Н. Морозов, Р.В. Куранов // *Актуальные проблемы урогинекологии: Материалы трудов IX Областной конференции урологов и гинекологов с международным участием (Харьков, 2001г.)*. - Харьков, 2001. - С. 159-160.
5. Оптическая когерентная томография в урологии / О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, В.Н. Крупин, Н.Д. Гладкова, Б.Е. Шахов, А.Н. Морозов // *Материалы Международной конференции Северо-западного региона Российской Федерации "Лазерные и информационные технологии XXI века" (Санкт-Петербург, 2001г.)*. - Санкт-Петербург, 2001. - С. 218-219.
6. Диагностика стадий поверхностного рака мочевого пузыря с использованием метода оптической когерентной томографии / В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, Г.В. Геликонов // *Тезисы научно-практической конференции "Диагностика и комбинированное лечение больных раком мочевого пузыря" (Москва, 2002г.)*. – Москва, 2002. - С. 19-20.
7. ОКТ - альтернатива биопсии мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, Г.В. Геликонов, В.Н. Крупин // *Паллиативная медицина и реабилитация*. – 2002. - № 2-3 - С. 17.
8. Study of OCT potentialities in clinical practice / V. Gelikonov, V. Kamensky, N. Shakhova, N. Gladkova, G. Petrova, A. Shakhov, A. Terentieva, E Zagainova, I. Kuznetzova, O.Streltsova // *Conference on Lasers, applications, and Technologies "LAT 2002"*. - 2002. - P. 137.
9. In vivo Optical Coherence Tomography feasibility for bladder disease / E. Zagainova, O.Streltsova, N. Gladkova, L. Snopova, G. Gelikonov, F. Feldchtein, A. Morozov // *J. of Urology*. - 2002. - Vol. 167. - P. 1492-1496.
10. OCT Features of pathological processes in different mucosae / E. Zagainova, N. Gladkova, O.Streltsova, G. Gelikonov, F. Feldchtein, V. Kamensky, G. Zuccaro, J. Richter, U.Seitz, N.Soehendra // *Conference on Lasers, applications, and Technologies "LAT 2002"*. – 2002. - P. 138.

11. Морфологическое обоснование оптической когерентной томографии-метода визуализации структур слизистых оболочек / Л.Б. Снопина, Н.Д. Гладкова, Н.М. Шахова, А.И. Абелевич, А.В. Шахов, А.Б. Терентьева, Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, И.А. Кузнецова, В.А. Каменский / **Успехи современного естествознания.** - 2003. - № 10 - С. 97-99.
12. Интраоперационная диагностика рака мочевого пузыря с использованием метода оптической когерентной томографии / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, Г.В. Геликонов // *Материалы третьего Международного урологического симпозиума "Диагностика и лечение рака предстательной железы"* (Нижний Новгород, 2003г.).- Н.Новгород, 2003. - С. 95-96.
13. Blinded recognition of optical coherence tomography images of human mucosa precancer / F. Feldchtein, N. Gladkova, L. Snopova, E. Zagaynova, O. Streltsova, A. Shakhov, A. Terentjeva, N. Shakhova, I. Kuznetsova, G. Gelikonov, V. Gelikonov, V. Kamenskiy, E. Donchenko // *Coherence Domain Optical Methods in Biomedical Science and Clinical Applications VII., Proc. of SPIE.* – 2003. - V. 4956. – P. 89-94.
14. Стрельцова, О.С. Органосохраняющие операции на мочевом пузыре с использованием метода оптической когерентной томографии / О.С. Стрельцова // *Ремедиум Приволжье.* – 2004. - № 4. - С. 41-42.
15. Multicentral study of optical coherence tomography for diagnosis and guided surgery of bladder cancer / E. Zagaynova, M. Manyak, O. Streltsova, N. Gladkova, F. Feldchtein, V. Kamenskiy // *Proceedings of ASCO meeting.* – New Orleans, 2004. – P. 645.
16. Optical coherence tomography in diagnostics and guided surgery of bladder cancer / E. Zagaynova, O. Streltsova, N. Gladkova, N. Shakhova, F. Feldchtein, V. Kamenskiy, V. Gelikonov, E. Donchenko / *Coherence Domain Optical Methods and Optical Coherence Tomography in Biomedicine VIII, Proc. of SPIE.* – 2004. – Vol. 5316. – P. 23–32.
17. Optical Coherence tomography in diagnostics of precancer and cancer of human bladder / E. Zagaynova, O. Streltsova, N. Gladkova, N. Shakhova, F. Feldchtein, V. Kamenskiy, G. Gelikonov, E. Donchenko // *Laser in surgery. Advanced characterization. Therapeutics and systems XIV Proc. of SPIE.* – San Jose, 2004. – P. 75–81.
18. Крупин, В.Н. Возможности органосохраняющего лечения рака мочевого пузыря / В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова // **Нижегородский медицинский журнал.** – 2005. – № 1. – С. 150–153.
19. Крупин, В.Н. Клиническая значимость оптической когерентной томографии при трансуретральных резекциях мочевого пузыря / В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова // *Здравоохранение Башкортостана, материалы конференции: Актуальные вопросы урологии: заболевания предстательной железы, новые технологии в урологии.* УФА. – 2005. – № 3. – С. 250–251.
20. Крупин, В.Н. Рак мочевого пузыря. Проблемы и перспективы / В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова // *Ремедиум Приволжье.* – 2005. - № 6. - С. 30-32.

21. Исследование границ опухоли и перифокальных зон методом ОКТ в процессе операций при раке мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова, Л.Б. Снопина, Е.А. Тарарова // *Материалы трудов IV Международного урологического симпозиума "Диагностика и лечение рака мочевого пузыря"* (Нижний Новгород, 2005г.). - Нижний Новгород, 2005. - С. 91-92.
22. Optical coherence tomography guided transurethral bladder cancer resection / E. Zagaynova, O. Streltsova, N. Gladkova, V. Kamensky, F. Feldshtein // *Journal of endourology*. – 2005. – Vol. 19, Suppl. 1. – P. A245.
23. Комбинированное использование флюоресцентной цистоскопии и оптической когерентной томографии для диагностики рака мочевого пузыря / Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, А.Г. Орлова, К.Э. Юнусова, Г.В. Геликонов, Н.М. Шахова // *Онкоурология. Материалы I Конгресса Российского общества онкоурологов*. – М., 2006. – С. 81–82.
24. Новые методы в диагностике раннего рака мочевого пузыря: оптическая когерентная томография и флюоресцентная цистоскопия / Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, А.Г. Орлова, Н.М. Шахова, Н.Д. Гладкова, В.М. Геликонов // *Материалы научно–практической конференции «Инновации в медицине»*. – Саров, 2006. – С. 115.
25. Оптическая когерентная томография и флюоресцентная диагностика при заболеваниях мочевого пузыря / Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, Н.М. Шахова, Н.Д. Гладкова, В.А. Каменский // *Альманах клинической медицины. Материалы II Троицкой конференции. Медицинская физика и инновации в медицине*. – 2006. – Т. XII. – С. 53.
26. Combined use of optical coherence tomography and fluorescence cystoscopy to detect bladder neoplasia / E. Zagaynova, O. Streltsova, N. Shakhova, N. Gladkova, K. Unusova., R. Iksanov, F. Feldchtein // *Laser in Surgery: Advanced Characterization, Therapeutics, and Systems XIV. Proc. of SPIE*. – 2006. – P. 60-78 F1-F8.
27. Оптическая когерентная томография в урологии / Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, Н.Д. Гладкова, Ф.И. Фельдштейн, А.Г. Орлова // *Руководство по оптической когерентной томографии* / под ред. Гладковой Н.Д., Шаховой Н.М., Сергеева А.М. – Москва: Физматлит, Медицинская книга, 2007. - С. 134-152.
28. Возможности Кросс-поляризационной ОКТ в верификации состояния слизистой послеоперационной зоны у больных, оперированных по поводу рака мочевого пузыря /О.С.Стрельцова, В.Н. Крупин, Г.В. Геликонов, Н.Д. Гладкова, Е.В. Загайнова, Л.Б. Снопина, Е.Б. Баландина, Е.А. Тарарова // *Материалы III Всероссийской научно – практической конференции. Актуальные вопросы урологии. Заболевания предстательной железы. Новые технологии в урологии*. – Уфа, 2007. - С. 252-256.
29. Кросс-поляризационная ОКТ в мониторинге рака мочевого пузыря /О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Г.В. Геликонов, Н.Д. Гладкова, Е.А. Тарарова // *Материалы XI съезда урологов России (Москва, 6-8 ноября 2007г.)*. - Москва, 2007. - С. 586-587.

30. Методы диагностики состояния слизистой оболочки мочевого пузыря. Учебное пособие для врачей /О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, В.Н. Крупин, Н.Д. Гладкова, Л.Б. Снопина, В.В. Власов. - Нижний Новгород: НГМА, 2007. - 56 с.
31. Трансуретральные резекции мочевого пузыря с использованием метода оптической когерентной томографии/ О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, В.А. Каменский, Л.Б. Снопина // Ремедиум Приволжье. – 2007. - № 5. - С. 43-44.
32. Identification of biotissue structure in polarization-sensitive optical coherence tomography images / E.V. Balandina, N.D. Gladkova, L.B. Snopova, E.V. Zagainova, O.S. Strelcova, I.A. Kuznetsova, Yu.V. Fomina, M.M. Karabut, V.M. Gelikonov, G.V. Gelikonov //Proceedings of International Symposium “Topical Promblems of Biophotonics” (Russia. Nizhny Novgorod, august 2007). – 2007. - P. 107-108.
33. Intraoperative verification of the state of urinary bladder mucosa in perifocal tumor regions during transurethral resection / O.S. Strelcova, E.V. Zagainova, N.D. Gladkova, D.P. Pochtin, L.B. Snopova // Proceedings of International Symposium “Topical Promblems of Biophotonics” (Russia. Nizhny Novgorod, august 2007). – 2007. - P. 351-352.
34. The possibility of minimizing the number of biopsies in the urinary bladder by use of optical coherence tomography / O.S. Strelcova, E.V. Zagainova, N.D. Gladkova, D.P. Pochtin, E.A. Tararova / Proceedings of International Symposium “Topical Promblems of Biophotonics” (Russia. Nizhny Novgorod, august 2007). – 2007. - P. 344-345.
35. Эндоскопическая оптическая когерентная томография в диагностике раннего рака мочевого пузыря / Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, О.С. Стрельцова, Ф.И. Фельдштейн // **Онкоурология. – 2008. - № 3. - С. 39-44.**
36. Комбинированное использование флюоресцентной цистоскопии и оптической когерентной томографии для диагностики раннего рака мочевого пузыря / Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, А.Г. Орлова, К.Э. Юнусова // **Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. - 2008. - Т. 19, № 2. - С. 28-34.**
37. Роль хронического воспаления в генезе склероза шейки мочевого пузыря./ Н.А. Нашивочникова, В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, А.А. Артифексова // Хроническая тазовая боль: Научные тезисы Международного междисциплинарного симпозиума. - Нижний Новгород , 2008. - С.18-19.
38. Исследование эффективности совместного применения ОКТ и флюоресцентной цистоскопии для диагностики рака мочевого пузыря / А.Г. Орлова, Е.В. Загайнова, О.С. Стрельцова, Е.Э. Юнусова // Отечественные противоопухолевые препараты: Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Москва, 2008. - С. 22.
39. Изменение ультраструктуры и микроциркуляции стенки мочевого пузыря у пациентов с неинвазивными формами рака / В.Н. Павлов, А.А. Казихинуров, В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, В.З. Галимзянов, А.Р. Загитов, Р.Р. Ишемгулов, А.Т. Мустафин, Е.В. Загайнова, Е. Б. Киселева // **Онкоурология. - 2008. - № 4. - С.57-60.**

40. Изменение ультраструктуры и микроциркуляции стенки мочевого пузыря у пациентов с неинвазивными формами рака / В.Н. Павлов, А.А. Казихинуров, В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, В.З. Галимзянов, Р.Р. Ишемгулов, А.Т. Мустафин // Материалы III Конгресса Российского общества урологов. - Москва, 2008. - С. 106-107.
41. Способ определения объема резекции мочевого пузыря при эндоскопическом лечении рака мочевого пузыря: получено положительное решение о выдаче **патента на изобретение РФ 2317009**, Рос. Федерация, МПК А 61 В 6/00, А 61 В 6/02, А 61 В 8/13, А 61 В 1/307. / Загайнова Е.В., Стрельцова О.С., Шахова Н.М., Гладкова Н.Д., Орлова А.Г.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «НиЖГМА Росздрава». - № 2006123591/14; заяв. 03.07.2006 ; опубл. 20.02.2008, Бюл. № 5.
42. Анализ кросс-поляризационных ОКТ-изображений мочевого пузыря при лучевом лечении / О.С. Стрельцова, Е.А. Тарарова, М.М. Карабут, Н.Д. Гладкова // Урология вчера, сегодня, завтра: Материалы научно-практической конференции. - Томск, 2008. - С. 164-167.
43. Стрельцова, О.С. Лавомакс в комплексном лечении хронического цистита / О.С. Стрельцова, Е.А. Тарарова, Е.Б. Киселева // **Урология. – 2008. - №5 - С. 19-23.**
44. Микроциркуляция в «горячих зонах» мочевого пузыря при лучевом цистите / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.А. Тарарова, А.А. Казихинуров, Р.Р. Ишемгулов // Хроническая тазовая боль: Научные тезисы Международного междисциплинарного симпозиума. - Нижний Новгород , 2008. - С. 21-23.
45. Оптическая когерентная томография - метод диагностики состояния слизистой оболочки мочевого пузыря /О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, В.Н. Крупин, Л.Б. Снопина, Е.А.Тарарова // Актуальные вопросы клинической медицины: Сборник научных трудов конференции. – Чебоксары, 2008. - С.129-138.
46. Объективизация выбора метода лечения больных с лейкоплакией мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.А. Тарарова, К.Э. Юнусова, Д.П. Почтин // Хроническая тазовая боль: Научные тезисы Международного междисциплинарного симпозиума. - Нижний Новгород , 2008. – С. 86-90.
47. Стрельцова, О.С. Применение препарата «Лавомакс» при хронических циститах / О.С. Стрельцова, Е.А. Тарарова, Е.Б. Киселева // Туберкулез мочеполовой системы и другие урологические заболевания, резистентные к стандартной терапии: Материалы международной конференции. – Новосибирск, 2008. – С. 89-96.
48. Стрельцова, О.С. Хронический цистит: новое в диагностике и лечении / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин // **Лечащий Врач. – 2008. - № 7. - С.12-18.**
49. Возможности кросс-поляризационной оптической когерентной томографии для оценки состояния слизистой мочевого пузыря в процессе лучевого лечения / Е.А. Тарарова, О.С. Стрельцова, А.В. Масленникова, Н.Д. Гладкова, М.М. Карабут, Е.Б. Киселева, Е.В. Ориничева, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова // Нижегородский медицинский журнал. - 2008. - № 4. – С. 60-68.

50. Динамика состояния слизистой оболочки мочевого пузыря в процессе лучевого лечения / Е.А. Тарарова, В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, М.М. Карабут, Е.Б. Киселева // Хроническая тазовая боль: Научные тезисы Международного междисциплинарного симпозиума. - Нижний Новгород, 2008. - С. 23-27.
51. Monitoring of radiation cystitis development using direct and polarization-sensitive optical coherence tomography / A. Maslennikova, O. Streltsova, N. Gladkova, E. Tararova, E. Kiseleva, M. Karabut, E. Zagaynova // *Radiotherapy & Oncology*. – 2008. – N. 88 (suppl.2). – P. 243.
52. Крупин, В.Н. Патогенетическое обоснование лечения лучевого цистита / В.Н. Крупин, Е.А. Тарарова, О.С. Стрельцова // *Материалы IV конгресса Российского общества онкоурологов*. - Москва, 2009. - С. 156-157.
53. Аспекты патогенетического лечения хронического рецидивирующего цистита / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова, Е.А. Тарарова, Е.Б. Киселева // *Фундаментальные исследования в уронефрологии: Материалы Российской научной конференции с международным участием*. - Саратов, 2009. - С. 261.
54. Изменения ультраструктуры и микроциркуляции стенки мочевого пузыря у пациентов с неинвазивными формами рака / В.Н. Павлов, А.А. Казихинуров, В.Н. Крупин, О.С. Стрельцова, Р.Р. Ишемгулов, А.Т. Мустафин, Е.В. Загайнова, Е.Б. Киселева // *Фундаментальные исследования в уронефрологии: Материалы Российской научной конференции с международным участием*. - Саратов, 2009. - С. 392-395.
55. Патогенетические аспекты лечения хронического цистита / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова, Е.А. Тарарова, В.В. Ключай, Е.Б. Киселева // **Саратовский научно-медицинский журнал. -2009. – Т. 5, № 3 - С. 424- 428.**
56. Прижизненная визуализация побочных эффектов лучевой терапии со стороны мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, А.В. Масленникова, Е.А. Тарарова, Н.Д. Гладкова, М.М. Карабут, Е.В. Загайнова, В.Н. Крупин // **Морфологические ведомости. - 2009. - №3 - С. 131-133.**
57. Патогенетические аспекты лучевых повреждений мочевого пузыря / Е.А. Тарарова, О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, М.М. Карабут, Е.Л. Вавилова // *Инновационные технологии в урологии: Материалы VIII межрегиональной научно-практической конференции урологов Сибири*. - Омск, 2009. - С. 173-174.
58. Will the polarization techniques expand the clinical scope of endoscopic OCT? / N.D. Gladkova, E.V. Kiseleva, M.M. Karabut, E.V. Orinicheva, O.S. Streltsova, I.A. Kuznetsova, L.B. Snopova, E.E. Yunusova, A.A. Muraev, Y.V. Fomina, V.V. Koslovsky, E.V. Zagaynova, N.M. Shakhova, V.M. Gelikonov // *Topical problems of biophotonics-2009: International Symposium*. - Nizhny Novgorod - Samara - Nizhny Novgorod, Russia, 2009. – P. 49-50.
59. Capabilities of numerical analysis of ocr images for assessing radiolesion of tunica mucosa of mouth and urinary bladder / М.М. Карабут, Е.В. Киселева, Е.В. Ориничева, I.V. Balalaeva, O.S. Streltsova, E.A. Tararova, A.V. Maslennikova, N.D.

Gladkova // Topical problems of biophotonics-2009: International Simposium. - Nizhny Novgorod - Samara - Nizhny Novgorod, Russia, 2009. - P. 101-102.

60. Polarization optical coherence tomography expands the diagnostic potential in urology / O.S. Streltsova, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, M.M. Karabut, E.V. Kiseleva, E.A. Tararova // Topical problems of biophotonics-2009: International Simposium. - Nizhny Novgorod - Samara - Nizhny Novgorod, Russia, 2009. - P. 117-118.

61. Способ диагностики побочных эффектов лучевой терапии со стороны мочевого пузыря: получено положительное решение о выдаче **патента РФ на изобретение 2393768**, Рос. Федерация МПК А 61 В 6/02. / Стрельцова О.С., Тарарова Е.А., Масленникова А.В., Загайнова Е.В., Гладкова Н.Д., Карабут М.М., Киселева Е.Б., Юнусова К.Э., Крупин В.Н.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «НижГМА Росздрава». - № 2008146468/14; заяв. 26.11.2008 ; опубл. 10.07.2010, Бюл. № 19. – 18 с. : ил.

62. Комбинированная оптическая и фотодинамическая диагностика рака мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, Л.Б. Снопина, А.Г. Орлова, К.Э. Юнусова, Е.В. Загайнова // Российский Биотерапевтический журнал. – 2010. - № 2. - С. 101-102.

63. Стрельцова, О.С. Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография (КП ОКТ) - неинвазивная диагностика рака мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова // В будущее через новые технологии: материалы международного онкологического научно-образовательного форума «Онкохирургия -2010». – Москва, 2010. - С. 205-206.

64. Неинвазивная диагностика рака мочевого пузыря методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии. Клинические результаты / О.С. Стрельцова, Н.Д. Гладкова, Е.Б. Киселева, М.М. Карабут, Е.А. Тарарова, К.Э. Юнусова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова // **Онкоурология. – 2010. - № 3. - С. 25-32.**

65. Стрельцова, О.С. Неинвазивная диагностика ранней неоплазии мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, Е.В. Загайнова, В.Н. Крупин // Материалы пленума правления Российского общества урологов. – Краснодар, 2010. - С. 211-212.

66. К вопросу о целесообразности ре-ТУР при лечении поверхностного рака мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин, Е.А. Тарарова, В.В. Клочай // **Медицинский вестник Башкортостана. - 2011. – Т. 6, № 2. - С. 138-142.**

67. Стрельцова, О.С. Метод оптической визуализации - кроссполяризационная оптическая когерентная томография в выборе тактики послеоперационного ведения больных поверхностным раком мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, В.Н. Крупин // Материалы пленума правления Российского общества урологов. - Кисловодск, 2011. - С. 406-407.

68. Неинвазивная диагностика рака мочевого пузыря методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (слепое статистическое исследование) / О.С. Стрельцова, Н.Д. Гладкова, Е.Б. Киселева, М.М. Карабут, Е.А. Тарарова, К.Э. Юнусова, В.Н. Крупин, Е.В. Загайнова // **Онкоурология. - 2011. - № 2. - С. 29-34.**

69. Cross-polarisation optical coherence tomography for early bladder-cancer detection: statistical study / N. Gladkova, O. Streltsova, E. Zagaynova, E. Kiseleva, V. Gelikonov, G. Gelikonov, M. Karabut, K. Yunusova // *Biophotonics*. – 2011. – V 4, N. 7-8. - P. 519-532.
70. Numerical analysis of CP-OCT images in clinical study / E.B. Kiseleva, N.D. Gladkova, O.S. Streltsova, N.S. Robakidze, I.B. Balalaeva, M.M. Karabut, E.V. Gubarkova, V.M. Gelikonov, G.V. Gelikonov // *Topical problems of biophotonics-2011: International Simposium*. - St. –Petersburg - Nizhny Novgorod, Russia, 2011. - P. 63-64.
71. Fluorescence cystoscopy, optical coherence tomography and immunohistochemistry for detection of early bladder cancer / A.G. Orlova, N.N. Prodanets, L.B. Snopova, E.V. Zagaynova, O.S. Streltsova // *Topical problems of biophotonics-2011: International Simposium*. - St. –Petersburg - Nizhny Novgorod, Russia, 2011. - P. 102-103.
72. Streltsova, O.S. Optical imaging for monitoring post-TUR patients / O.S. Streltsova, E.V. Zagaynova, E.A. Tararova // *Topical problems of biophotonics-2011: International Simposium*. - St. – Petersburg - Nizhny Novgorod, Russia, 2011. - P. 338-339.
73. Стрельцова, О.С. Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография - метод визуализации структуры ткани мочевого пузыря / О.С. Стрельцова, Е.Б. Киселева, К.Э. Юнусова // *Болезни мочевого пузыря / под ред. Кульчавеня Е.В., Краснова В.А. – Новосибирск: Наука, 2012 - С. 49-68.*
74. Chapter 24. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology /E.V. Zagaynova, N.D.Gladkova, N.M.Shakhova, O.S.Streltsova., I.A.Kuznetsova, I.A. Yanvareva, L.B.Snopova, E.E.Yunusova, E.B.Kiseleva, G. Gelikonov, V. Gelikonov and A.M.Sergeev // *Handbook of Biophotonics. Volume 2. Photonics for Health Care. First Edition. Edited by J. Popp, V. Tuchin, A. Chiou and S.H. Heinemann. Published by Wiley-VCH. – 2012. - P. 337-376.*
75. Combined use of fluorescence cystoscopy and cross-polarization OCT for diagnosis of bladder cancer and correlation with immunohistochemical markers/ N.Gladkova, E. Kiseleva, O. Streltsova, N. Prodanets, L. Snopova, M. Karabut, E. Gubarkova, E. Zagaynova // *Biophotonics*. - 2012. - 1–12.