© Коллектив авторов, 2015
УДК 616.24-006.6-089:616.428-003.2-07:535.15

А. Л. Акопов, Г. В. Папаян, И. В. Чистяков, А. Карлсон, А. В. Герасин, А. С. Агишев

ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ «СИГНАЛЬНЫХ» ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ПОМОЩИ СИСТЕМЫ ИНФРАКРАСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЁННОМ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЁГКОГО

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова» (ректор — академик РАН проф. С. Ф. Багненко)

Ключевые слова: рак легкого, «сигнальный» лимфатический узел, индоцианин зеленый, флюоресценция, диагностика

Введение. Под термином «сигнальные» («сторожевые») лимфатические узлы (СЛУ) понимают первые лимфатические узлы, к которым оттекает лимфа от злокачественной опухоли. Концепция биопсии СЛУ базируется на двух основных принципах: 1) существование упорядоченного и предсказуемого дренажа лимфы в региональные лимфатические узлы; 2) функционирование СЛУ как эффективного фильтра для опухолевых клеток [10, 13]. Из этого, теоретически, следует, что если СЛУ не поражены метастатическим процессом, то и все остальные регионарные лимфатические узлы должны быть интактны. Интраоперационное выявление СЛУ может позволить ограничить объем лимфодиссекции у пациентов без поражения лимфатических узлов [1]. Также биопсия выявленных СЛУ дает возможность их досконального изучения путем целенаправленного применения наиболее чувствительных патоморфологических и молекулярных методов для обнаружения микрометастатического поражения, определения тактики лечения и прогноза. Выявление и последующее патоморфологическое исследование СЛУ является сегодня стандартом в хирургическом лечении рака молочной железы и меланомы кожи, однако практически не применяется при раке

легкого. Причинами этого являются технические сложности выявления узлов, нередкие антракозные поствоспалительные изменения, не всегда удовлетворительная интраоперационная визуализация зон лимфогенного метастазирования [2]. Определенное значение имеют и особенности анатомии легкого, грудной полости.

Новые возможности определения СЛУ связаны с развитием инфракрасной флюоресцентной диагностики [14, 15]. Методика флюоресцентной визуализации лимфатических сосудов и лимфатических узлов предложена Н. Lim и N. Soter еще в 1993 г. [11]. Однако клиническое использование метода начато совсем недавно. К настоящему времени опубликованы всего 4 англоязычные работы, посвященные флюоресцентной визуализации СЛУ при раке легкого [6, 8, 12, 15].

В настоящей статье представлены результаты первого отечественного опыта интраоперационной флюоресцентной диагностики СЛУ при раке легкого.

Материал и методы. В проспективное исследование включены 10 больных с центральным немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ), которым произведены резекционные оперативные вмешательства с сентября 2013 г. по май 2014 г. В предоперационном периоде выполняли стандартное клиническое исследование, включающее компьютерную томографию (КТ) грудной клетки, брюшной полости и головного мозга, функциональное обследование, бронхоскопию и гистологическое исследование биоптатов. При наличии массивного увеличения в размерах лимфатиче-

Сведения об авторах:

Акопов Андрей Леонидович (e-mail: akopovand@mail.ru), Папаян Гарри Вазгенович (e-mail: papayan.garry632@gmail.com),
Чистяков Иван Владимирович (e-mail: iofann@yandex.ru), Карлсон Арулдас (e-mail: arulcarlson@gmail.com),
Герасин Алексей Валерьевич (e-mail: avgerasin@inbox.ru), Агишев Алексей Сергеевич (e-mail: asagishev@yandex.ru),
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

ских узлов средостения по данным КТ и(или) вовлечении в опухоль бифуркации трахеи проводили неоадьювантную полихимиотерапию (ПХТ) по схеме паклитаксел (175 мг/м^2), карбоплатин (AUC 5–6). Для решения вопроса о прекращении химиотерапии, операбельности и резектабельности проводили контрольное клиничко-рентгенобронхологическое исследование через каждые два курса, и при достижении ремиссии пациента оперировали. Обязательным условием для проведения операции было отсутствие увеличения максимальных размеров внутригрудных лимфатических узлов более 1 см по результатам КТ.

В качестве флюоресцирующего агента применяли индоцианин зеленый (ИЦЗ) производства компании «PULSION MEDICAL SYSTEMS, AG» (Германия). Сразу после торакотомии, выполняемой стандартным образом, ИЦЗ в количестве 2 мл и концентрации 0,1 мг/мл вводили перитуморально в 3–4 точках. Затем в реальном времени оценивали ИЦЗ-флюоресценцию путем облучения поверхности легкого, корня легкого и средостения инфракрасным излучением длиной волны 808 нм. С целью определения инфракрасной (ИК) флюоресценции ИЦЗ применяли оригинальный видеофлюоресцентный торакоскоп, созданный в центре лазерной медицины нашего университета совместно с Российским научным центром в Сеуле. Благодаря наличию двух телевизионных каналов для параллельной работы в ИК и видимой в областях спектра видеофлюоресцентный торакоскоп обеспечивает цветную визуализацию локального распределения ИЦЗ на фоне обычного изображения. С его помощью возможно исследование ИЦЗ-флюоресценции в выделенных лимфатических узлах и операционном материале, а также контроль ИЦЗ-флюоресценции при выполнении эндоскопических и открытых операций (рис. 1).

Фиксацию флюоресцентного изображения выполняли каждые 5 мин после введения ИЦЗ до появления признаков распространения ИЦЗ и(или) визуализации первых лимфатических узлов. Выделение элементов корня легкого, тем самым пересечение путей лимфооттока в средостение, начиналось через 10 мин после инъекции ИЦЗ, после чего проводили стандартную резекцию легкого в необходимом объеме. Выполняли полную прикорневую и медиастинальную ипси-

латеральную лимфодиссекцию. После удаления препарата, перед ушиванием раны проводили заключительную фиксацию флюоресцентного изображения в плевральной полости и средостении.

Удаленные лимфатические узлы как флюоресцирующие, так и нет, маркировали и подвергали плановому патоморфологическому исследованию. В операционной сразу же после удаления препарата тщательно оценивали флюоресценцию зоны первичной опухоли, легочной паренхимы, всех удаленных лимфатических узлов и жировой клетчатки. Все лимфатические узлы, которые флюоресцировали во время или сразу после операции, расценивали как «сторожевые».

Результаты и обсуждение. У всех 10 больных диагностирован центральный местно-распространенный немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак — у 9, аденокарцинома — у 1 больного. У 7 больных имел место рак правого легкого, у 3 — рак левого легкого. Клиническая стадия заболевания IIIa диагностирована у 7 больных, IIIb — у 3 больных. Неоадьювантная ПХТ проведена 6 больным, 2 курса — 4 больным, 4 курса — 2 пациентам. Оставшимся 4 больным предоперационную химиотерапию не проводили. Пневмонэктомия выполнена 9 пациентам, лобэктомия — 1 больному.

Первые флюоресцентные признаки распространения ИЦЗ по лимфатической системе (флюоресцентная визуализация путей лимфооттока) зафиксированы через 5 мин после введения препарата у 3 больных (больные № 2, 4, 7). Еще у трех пациентов (№ 1, 5, 10) интраоперационно визуализировать пути лимфооттока удалось в течение 20 мин после инъекции ИЦЗ. ИЦЗ-визуализация путей лимфооттока была представлена в виде тонких светящихся флюоресцирующих линий, направленных от опухоли (места инъекции ИЦЗ) к корню легкого у 4 больных (рис. 2) и в виде

Рис. 1. Интраоперационный контроль флюоресценции с помощью видеофлюоресцентной камеры (торакоскопа)

Рис. 2. Интраоперационная индоцианиновая флюоресцентная визуализация путей лимфооттока от опухоли легкого

Результаты флюоресцентной диагностики

№ пациента	Скорость визуализации флюоресценции	Предоперационная химиотерапия	Визуализация путей лимфооттока	Визуализация СЛУ (число СЛУ)	Клиническая стадия	Наличие метастазов в СЛУ
1	20	Да	Да	Да (2)	IIIa	СЛУ (+)
2	5	Нет	Да	Да (3)	IIb	СЛУ (–)
3	–	Да	Нет	Нет	–	–
4	5	Нет	Да	Да (1)	IIIa	СЛУ (+)
5	20	Да	Да	Да (2)	IIa	СЛУ (–)
6	После операции	Да	Нет	Да (2)	IIb	СЛУ (–)
7	5	Нет	Да	Да (2)	IIa	СЛУ (–)
8	–	Да	Нет	Нет	–	–
9	После операции	Да	Нет	Да (2)	IIa	СЛУ (–)
10	20	Нет	Да	Да (2)	IIIb	СЛУ (+)

диффузного флюоресцентного свечения всей легочной паренхимы пораженной доли легкого — еще у 2 больных. У оставшихся 4 пациентов (№ 3, 6, 8, 9) визуализация лимфооттока не зафиксирована в течение всей операции. Всем больным, у которых не удалось методом ИЦЗ-флюоресценции визуализировать пути лимфооттока, проводили неоадьювантную химиотерапию (таблица).

Интраоперационно первые СЛУ удалось визуализировать в свете флюоресценции уже через 5 мин после инъекции ИЦЗ у 1 больного, а у 6 больных — в течение 20 мин. Интраоперационно визуализация СЛУ имела место у 6 больных из 10, причем у одного из пациентов (№ 5) раком верхней доли правого легкого после удаления легкого и ипсилатеральной лимфодиссекции завершающая попытка флюоресцентной визуализации зон накопления ИЦЗ позволила установить наличие СЛУ за верхней полой веной в месте слияния плечеголовных вен. При флюоресцентном исследовании удаленных лимфатических узлов и жировой клетчатки сразу после удаления их из плевральной полости удалось выявить флюоресцентное свечение СЛУ еще у 2 пациентов (№ 6, 9). Таким образом, обнаружить СЛУ путем флюоресцентной диагностики удалось у 8 из 10 пациентов. У 2 пациентов (№ 3, 8) ни визуализации путей лимфооттока, ни визуализации СЛУ достичь не удалось.

В общей сложности визуализировано 16 узлов у 8 пациентов. Три СЛУ обнаружены у 1 пациента, 2 — у 6, 1 — у 1, и СЛУ путем флюоресценции не обнаружены у 2. В корне легкого локализовались 11 лимфатических узлов (10-я группа — 5 узлов, 11-я группа — 6 узлов), в средостении — 5 (2-я группа — 1 узел, 4-я группа — 2 узла, 6-я группа — 1 узел, 8-я группа — 1 узел). Максимальные

размеры всех узлов, расцененных как СЛУ, не превышали 1 см, у 7 — лимфатические узлы были менее 5 мм в диаметре. Макроскопически однозначно высказаться за наличие в них метастазов ни в одном наблюдении не представлялось возможным.

При плановом патоморфологическом исследовании наличие метастазов рака легкого диагностировано в 5 СЛУ из 16 (у 3 больных), в корне легкого — в 2, в средостении — в 3. Исследование всех удаленных лимфатических узлов позволило установить, что при отсутствии метастазов в СЛУ и остальные лимфатические узлы во всех наблюдениях оказались интактными, т.е. специфичность определения СЛУ составила 100%. В двух наблюдениях (№ 3, 8) при отсутствии флюоресцентного обнаружения СЛУ диагностирован полный патологический патоморфоз опухоли после неоадьювантной химиотерапии, у этих же пациентов отсутствовала ИЦЗ-визуализация путей лимфооттока. У остальных больных диагностирована следующая стадия рака легкого: IIa — у 3, IIb — у 2, IIIa — у 2, IIIb — у 1. Ни в одном наблюдении побочные эффекты введения ИЦЗ не отмечены.

Развитие концепции о СЛУ базируется на работах R. Virchow, который высказал мысль, что лимфатические узлы являются первым барьером на пути распространения опухоли, и W. Halsted, разработавшего технику радикальной мастэктомии [7].

Наличие метастазов в лимфатических узлах является наиболее важным прогностическим фактором при резектабельной форме немелкоклеточного рака легкого [3]. Это дополнительно подтверждает актуальность выявления и оценки СЛУ при раке легкого. Кроме того, знание о

«сторожевом» характере узла может быть особенно полезным, так как позволит на одном лимфатическом узле сконцентрировать временные и материальные ресурсы иммуногистохимического и молекулярно-биологического исследования.

До настоящего времени опубликовано очень небольшое число работ по выявлению СЛУ при раке легкого [2]. Результаты исследований чрезвычайно противоречивы. В 2013 г. представлен мета-анализ 47 исследований [14]. Средний уровень обнаружения СЛУ при использовании красителей составил 64,4%, а при использовании радионуклидных методик — 84,4%. Максимальной оказалась чувствительность при сочетании применения красителя и радиоизотопа, достигая 95%, однако такая технология достаточно сложно воспроизводима, причем разброс информативности оказался очень большим. Авторы мета-анализа справедливо делают вывод о необходимости поиска новых путей выявления СЛУ.

Флюоресцентная визуализация скрытых от глаз особенностей состояния тканей в функционирующих органах, основанная на использовании флюоресцирующих свойств ИЦЗ, применяется в разных областях хирургии благодаря сильному поглощению в ближней инфракрасной области спектра (790–810 нм), низкой токсичности и энергичному выведению ИЦЗ из организма [4]. ИЦЗ быстро мигрирует по лимфатическим сосудам, накапливаясь в лимфатических узлах, которые и являются «сторожевыми». Визуализация таких узлов при наличии соответствующего оборудования возможна интраоперационно в реальном времени. Возбуждающее флюоресценцию инфракрасное излучение способно проникать в ткани на глубину до 1 см, т.е. для детекции могут быть доступны и глубоколежащие лимфатические узлы. Преимуществом применяемой нами аппаратуры является возможность совмещения изображения, полученного в свете флюоресценции, с изображением в белом свете для того, чтобы хирург мог проводить операцию, в том числе и выделение СЛУ, максимально безопасно.

Клиническое использование такого подхода начато совсем недавно. S.Yamashita и соавт. в 2011 г. [15] представили результаты применения флюоресцентной ИЦЗ-диагностики СЛУ при раке легкого cI стадии. Выявляемость СЛУ составила 81% у 31 пациента. Американские исследователи D.M.Gilmore и соавт. [6] отмечают простоту методики флюоресцентной визуализации ИЦЗ, отсутствие недостатков, характерных для применения радиоизотопного метода. Ни у одного из пациентов без метастатического поражения СЛУ метастазы в других лимфатических узлах

выявлены не были. Авторы, однако, акцентируют внимание на необходимости тщательного анализа методики, ставят вопрос о кратковременной искусственной вентиляции легкого после инъекции ИЦЗ для лучшего его распространения по лимфатическим сосудам, необходимости выждать до 5 мин после инъекции для профилактики повреждения лимфатических протоков и др.

Следует отметить, что развитие флюоресцентной ИЦЗ-диагностики напрямую связано с наличием соответствующего оборудования. Для визуализации инфракрасного флюоресцентного изображения, не видимого невооруженным глазом, требуются специальные телевизионные камеры, а для отображения — мониторы. Поскольку исходная картина распределения ИЦЗ в ткани монохромная, они могут быть черно-белыми [9]. Однако для правильной ориентации в операционном поле хирургу требуется одновременно с ИЦЗ-изображением видеть обычную картину (в белом свете). Для этого используются различные технические приемы, позволяющие отображать на одном цветном экране изображение флюоресцентное и в белом свете [5].

Первые полученные нами результаты свидетельствуют о том, что биопсия и гистологическое исследование СЛУ, обнаруженных интраоперационно путем ИЦЗ-флюоресценции, могут быть полезными для предупреждения напрасной лимфодиссекции у больных с НМКРЛ, способствовать выявлению групп больных, которым будет показано проведение адъювантной терапии, позволяют изучать особенности лимфогенного метастазирования НМКРЛ. Последующие исследования должны уточнить информативность и эффективность методики.

Выводы. Биопсия и гистологическое исследование СЛУ, обнаруженных интраоперационно путем ИЦЗ-флюоресценции, могут быть полезными для предупреждения напрасной лимфодиссекции у больных с НМКРЛ. Применение флюоресцентной лимфографии позволяет изучать особенности лимфогенного метастазирования НМКРЛ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Акопов А.Л. Операционная диагностика степени лимфогенного метастазирования рака легкого // Вестн. хир. 2007. № 2. С. 105–109.
2. Акопов А.Л., Папаян Г.В., Чистяков И.В. Интраоперационное определение сторожевых лимфатических узлов при раке легкого // Вестн. хир. 2015. № 1. С. 96–102.
3. Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е., Аллахвердиев А.К. Систематическая медиастинальная лимфатическая диссекция — стандарт в хирургическом лечении больных немелко-

- клеточным раком легкого I, II и IIIa стадии // Пульмонология. 2007. № 3. С. 72–76.
4. Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A. et al. Review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery // *Int. J. Biomed. Imaging*. 2012. Vol. 12. P. 1–26.
 5. Chen Z., Zhu N., Pacheco S. et al. Single camera imaging system for color and near-infrared fluorescence image guided surgery // *Biomed. optics express*. 2014. Vol. 5. P. 2791–2797.
 6. Gilmore D.M., Khullar O.V., Jaklitsch M.T. et al. Identification of metastatic nodal disease in a phase 1 dose-escalation trial of intraoperative sentinel lymph node mapping in non-small cell lung cancer using near-infrared imaging // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2013. Vol. 146. P. 562–570.
 7. Halsted W.S. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894 // *J. Hopkins Hosp. Bull.* 1894. № 4. P. 297–323.
 8. Ichinose S., Usuda J., Maehara S. et al. Sentinel node navigation surgery (SNNS) using indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy in lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2009. № 4. P. 563.
 9. Jain V., Phillips B.T., Conkling N. et al. Sentinel lymph node detection using laser-assisted indocyanine green dye lymphangiography in patients with melanoma // *Int. J. Surg. Oncol.* 2013. Vol. 13. P. 1–4.
 10. Kapteijn B.A.E., Nieweg O.E., Peterse J.L. et al. Identification and biopsy of the sentinel lymph node in breast cancer // *Eur. J. Surg. Oncol.* 1998. Vol. 24. P. 427–430.
 11. Lardinois D., Brack T., Gaspert A. et al. Bronchoscopic radioisotope injection for sentinel lymph-node mapping in potentially resectable non-small cell lung cancer // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2003. Vol. 23. P. 824–827.
 12. Matsuoka H., Kondo K., Takizawa H. et al. Sentinel lymph nodes detection using indocyanine green in patients with lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2009. Vol. 4. P. S562–563.
 13. Reintgen D.S., Cruse C.W., Wells K.E. et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases // *Ann. Surg.* 1994. Vol. 220. P. 759–767.
 14. Taghizadeh Kermania A., Bagheri R., Tehranian S. et al. Accuracy of sentinel node biopsy in the staging of non-small cell lung carcinomas: systematic review and meta-analysis of the literature // *Lung Cancer*. 2013. Vol. 80. P. 5–14.
 15. Yamashita S.I., Tokuishi K., Miyawaki M. et al. Sentinel node navigation surgery by thoracoscopic fluorescence imaging system and molecular examination in non-small cell lung cancer // *Ann. Surg. Oncol.* 2012. Vol. 19. P. 728–733.

Поступила в редакцию 08.04.2015 г.

A.L.Akopov, G.V.Papayan, I.V.Chistyakov, A.Karlson,
A.V.Gerasin, A.S.Agishev

INTRAOPERATIVE DETECTION OF SENTINEL LYMPH NODES USING INFRARED IMAGING SYSTEM IN LOCAL NON-SMALL CELL CARCINOMA OF LUNG

Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University

The article presents the results of the first domestic experience of intraoperative fluorescence mapping of sentinel lymph nodes in lung cancer. The research included 10 patients, who underwent surgery over the period of time from September 2013 to May 2014. After performing thoracotomy, the solution of indocyanine green (ICG) was injected using subpleural position above the tumor in 3–4 points. Fluorescence (ICG) image guided surgery was carried out by using infrared radiation (wave length 808 nm) on lung surface, root of lung, mediastinum in real time. Fluorescence lymph nodes were mapped. In case that metastatic lesions weren't revealed in sentinel lymph nodes, they weren't noted in other nodes. Method specificity consisted of 100%. Biopsy and histological study of sentinel lymph nodes mapped during fluorescence (ICG) image guided surgery could be useful for prevention of lymphodissection in patients with non-small cell carcinoma of lung.

Key words: lung cancer, sentinel lymph node, indocyanine green, fluorescence, diagnostics