

# Оценка метода конфокальной лазерной эндомикроскопии для диагностики альвеолярного протеиноза

О.В.Данилевская, В.Н.Лесняк, А.В.Сорокина, А.Г.Сотникова

ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России: 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28

## Резюме

**Актуальность.** Конфокальная лазерная эндомикроскопия нижних дыхательных путей (КЛЭМ) – новая технология, позволяющая визуализировать клетки и структуры, обладающие свойством аутофлуоресценции. Эндомикроскопическая картина ряда редких заболеваний легких, включая альвеолярный протеиноз (АП), до настоящего времени остается неизученной. **Цель.** Определение эндомикроскопических особенностей АП до и после тотального бронхоальвеолярного лаважа (тБАЛ). **Материалы и методы.** КЛЭМ выполнялась во время бронхоскопии пациентам ( $n = 6$ ), страдающим АП, до и после тБАЛ. В определенных легочных сегментах КЛЭМ производилась под контролем компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР). Проводилась полуколичественная оценка внутриальвеолярных включений на  $\geq 1\ 300$  качественных эндомикроскопических изображениях. **Результаты.** У всех пациентов обнаружены следующие изменения: флотирующие флуоресцентные аморфные массы, слипающиеся в просвете альвеол в конгломераты с альвеолярными макрофагами. Эти признаки становились менее выраженными после тБАЛ. При КЛЭМ выявлены характерные для АП альвеолярные включения не только в сегментах в виде "бульжной мостовой", но также и в участках без каких-либо изменений на КТВР. **Заключение.** При помощи КЛЭМ у больных АП выявляются характерные признаки заболевания как при наличии, так и в отсутствие изменений на КТВР, что свидетельствует о диффузном поражении паренхимы легких. КЛЭМ – полезный инструмент для диагностики и оценки эффективности лечения пациентов с АП.

**Ключевые слова:** конфокальная лазерная эндомикроскопия, альвеоскопия, альвеолярный протеиноз, компьютерная томография высокого разрешения, дистальные дыхательные пути.

DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-1-33-40

# A role of probe-based confocal laser endomicroscopy for diagnosis of pulmonary alveolar proteinosis

O.V.Danilevskaya, V.N.Lesnyak, A.V.Sorokina, A.G.Sotnikova

Federal Institution "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia: 28, Orekhovyy bul'var, Moscow, 115682, Russia

## Summary

**Introduction.** Probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) of distal airways is a new technology allowing visualization of cells and structures that have autofluorescence. Endomicroscopic features of a number of rare lung diseases including pulmonary alveolar proteinosis (PAP) has not been yet investigated. The purpose of the study was to describe endomicroscopic features of PAP before and after the whole lung lavage (WLL). **Methods.** pCLE was performed during bronchoscopy in 6 PAP patients before and after the WLL. In certain lung segments, pCLE was done under the HRCT control. More than 1 300 endomicroscopic images have been evaluated using a semiquantitative method. **Results.** We found floating fluorescent amorphous aggregates sticking with alveolar macrophages in all the patients. These changes reduced after the WLL. pCLE allowed to reveal PAP characteristic features not only in lung segments with "crazy paving" HRCT sign but also in lung zones without any HRCT changes. **Conclusions.** pCLE can detect specific PAP features both at presence and absence of HRCT signs that confirms diffuse injury of the lung parenchyma. pCLE could be a helpful tool for diagnosis and assessment of treatment efficacy in patients with PAP.

**Key words:** probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE), alveoscopy, pulmonary alveolar proteinosis, high-resolution computed tomography, distal airways.

Альвеолярный протеиноз (АП) относится к редким заболеваниям легких, характеризующимся накоплением белково-липидного материала в просвете альвеол в результате сниженного клиренса компонентов сурфактанта альвеолярными макрофагами и альвеолоцитами 2-го типа [1–3].

Заболеваемость АП составляет  $\approx 0,5$ –1 случай на 1 млн человек в год с преобладанием лиц среднего возраста [4]. Мужчины (особенно курильщики) болеют чаще, чем женщины (3 : 1) [5].

Диагностика АП основывается на данных компьютерной томографии (КТ) грудной клетки, бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и гистологического исследования. Также может быть полезно определение антител к гранулоцитарно-макрофагальному коло-

ниестимулирующему фактору (ГМКСФ) [6]. Лечение АП включает тотальный БАЛ (тБАЛ), применение рекомбинантного ГМКСФ (в случаях аутоиммунного АП) и трансплантацию легких при тяжелом необратимом поражении легочной паренхимы [7].

Относительно новая технология в респираторной медицине – конфокальная лазерная эндомикроскопия (КЛЭМ) (альвеоскопия) – позволяет в режиме реального времени минимально инвазивно визуализировать интраацинарные структуры. Методика разработана для проведения так называемой оптической биопсии при проведении мини-зонда через рабочий канал эндоскопа. Роль КЛЭМ в диагностике и мониторинге пациентов с АП после лечения до сих пор не установлена.

Известно, что с помощью КЛЭМ визуализируются эластический каркас центральных и периферических дыхательных путей (ДП), структура альвеол, кровеносные сосуды и альвеолярные макрофаги [8–11]. В результате исследований разработаны КЛЭМ-критерии для различных воспалительных и онкологических заболеваний легких [12–14]. Однако применение КЛЭМ при АП описано лишь у 1 пациента [15].

Целью исследования явилось определение эндомикроскопических особенностей АП в сравнении с данными КТ высокого разрешения (КТВР) до и после тБАЛ.

## Материалы и методы

Данное исследование, зарегистрированное на сайте *ClinicalTrials.gov*, № NCT02006940, одобрено Этическим комитетом ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России.

С 2010 по 2013 гг. пролечены пациенты (мужчины) с АП ( $n = 6$ ; возраст – 34–59 лет), у 5 имелся длительный анамнез курения, 1 никогда не курил (табл. 1). От всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

У всех пациентов отмечались прогрессирующая одышка при физической нагрузке и продуктивный кашель. На КТВР определялись двусторонние диффузные области "матового стекла" с утолщением междольковых перегородок в виде "булыжной мостовой". Диагноз аутоиммунный АП был верифицирован посредством ТББЛ или ВАТС биопсии легкого. **тБАЛ.** Под общей анестезией выполнялось промывание сначала правого, а через 1 нед. – левого легкого теплым (37 °С) физиологическим раствором. Производились заливки по 1 л в позиции анти-Тренделенбурга (с опущенным ножным концом), затем в позиции Тренделенбурга мутная опалесцирующая жидкость под действием силы тяжести вытекала обратно. Обычно выполнялось 12–15 заливок в 1 легкое до отхождения чистой промывной воды. При этом нелаважируемое легкое вентилировалось [16].

**Таблица 1**  
**Характеристика пациентов с АП**  
**Table 1**  
**Characterization of patients with PAP**

Пациент	Возраст, годы	Анамнез курения, пачко-лет	Метод подтверждения диагноза
1-й	36	19	ВАТС
2-й	42	24	ТББЛ
3-й	45	23	ТББЛ
4-й	47	29	ВАТС
5-й	34	27	ТББЛ
6-й	59	не курил	ВАТС

Примечание: ТББЛ – трансбронхиальная, ВАТС – видеоассистированная торакоскопическая биопсия легкого.

У 5 пациентов выполнялся БАЛ обоих легких, тогда как 1-й пациент (см. табл. 1) отказался от 2-й процедуры, и у него было промыто только правое легкое. Во всех процедурах лаважная жидкость от 1-й и последней порций заливки была направлена на цитологическое исследование.

**Альвеоскопия.** Альвеоскопия (КЛЭМ дистальных ДП – ДДП) выполнялась после местной анестезии лидокаином после рутинной бронхоскопии с использованием гибкого бронхоскопа EV-530T model диаметром 5,9 мм (*Fujinon*, Япония). Для исследования бронхолегочной системы применяется мини-зонд *Alveoflex* аппарата *Cellvizio* (*Mauna Kea Technologies*, Франция) диаметром 1,4 мм, разрешающая способность которого составляет 3,5 мкм, диаметр оптического поля – 600 мкм, глубина исследования – 0–50 мкм с фиксацией 12 изображений в секунду. Важно, что при альвеоскопии, в отличие от обследования желудочно-кишечного тракта, не используются дополнительные флюорофоры, исследование базируется на естественной аутофлуоресценции структур бронхов и легочной паренхимы.

Мини-зонд вводился в инструментальный канал бронхоскопа, осторожно проводился вперед до визуализации альвеолярных мешочков и ходов. В данном исследовании последовательно анализировались все сегменты и субсегменты (в случае их эндоскопической визуализации) обоих легких, за исключением RB1 и LB1+2 у 1-го, 2-го, 3-го и 5-го пациентов ввиду их технической недостижимости. В среднем полное КЛЭМ-исследование для 1 пациента длилось  $14,1 \pm 5,3$  мин. Далее видеоряд анализировался с помощью программного обеспечения системы *Cellvizio viewer, version 1.6.0* (*Mauna Kea Technologies*). Всего было проанализировано 113 522 эндомикроскопических изображения из 262 локализаций. Для каждой локализации (сегмент или субсегмент) информативными и диагностически ценными были  $10,3 \pm 2,1$  изображения.

Альвеоскопия выполнялась до и на 2-й день после тБАЛ. В 3-й раз альвеоскопия выполнялась в различные сроки после тБАЛ с целью оценки отдаленных результатов у 4 пациентов: у 1-го – через 18 мес., у 3-го – через 6 мес., у 4-го и 5-го – через 3 мес. К сожалению, не удалось повторно обследовать 2-го пациента после выписки из клиники ввиду смены места его жительства и потери контактов.

Количество флотирующих внутриаальвеолярных субстанций и макрофагов оценивалось 2 независимыми исследователями по разработанной 6-балльной шкале (0 баллов – отсутствие признака, 5 баллов – его максимальная выраженность) (рис. 1).

**КТВР.** Так же, как и альвеоскопия, для оценки эффективности лечения КТВР выполнялась всем пациентам ( $n = 6$ ) вместе с альвеоскопией до БАЛ легкого и на 2-й день после него.

Все сканы были получены на компьютерном томографе *128 Philips Ingenuity* (*Philips*, Нидерланды). У 3-го и 4-го пациентов 1 КЛЭМ-исследование выполнялось одновременно с КТВР грудной клетки для контроля дистальной позиции мини-зонда в процессе записи эндомикроскопических изображений.

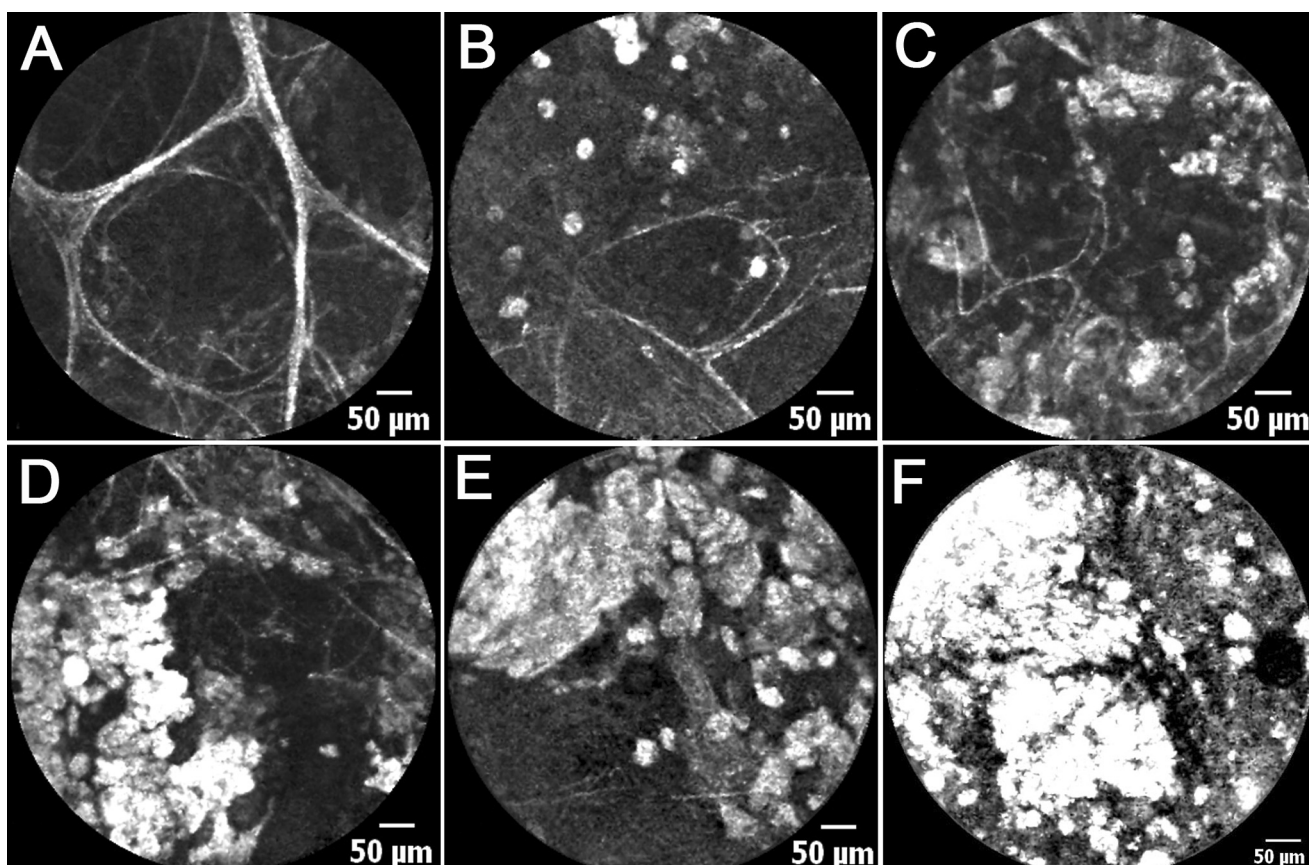


Рис. 1. Полуколичественная оценка количества флотирующих интраальвеолярных комплексов: А – комплексы отсутствуют (0 баллов); В – единичные комплексы (1 балл); С – заполнено < 50 % поля зрения (п. з.) (2 балла); D – заполнено 50 % п. з. (3 балла); E – заполнено > 50 % п. з. (4 балла); F – п. з. полностью заполнено (5 баллов)

Fig. 1. Semiquantitative assessment of floating intraalveolar fluorescent aggregates: A, no aggregates (score 0); B, scarce aggregates (score 1); C, aggregates fill less than half of field-of-view (score 2); D, aggregates fill a half of field-of-view (score 3); E, aggregates fill more than half of field-of-view (score 4); F, aggregates fill a whole field-of-view (score 5)

Использовался следующий протокол: пациент находился в позиции лежа на спине; толщина срезов 0,5–1,0 мм с использованием кластерного сканирования зон интереса для уменьшения лучевой экспозиции, в конце глубокого вдоха; применялся реконструктивный алгоритм с высоким пространственным разрешением.

Для полной уверенности, что на КТВР-сканах визуализируется именно мини-зонд, а не какая-либо анатомическая структура (сосуд), использовался принцип отслеживания зонда на последовательных сканах с измерением оптической плотности его наконечника. Ввиду содержания металла в наконечнике мини-зонда его плотность была очень высокой ( $\approx 3\ 000$  HU). Таким образом, он хорошо отличался от всех легочных структур. КТВР-снимки при КЛЭМ-исследовании выполнялись в установленных ранее 2 легочных сегментах с участками "матового стекла" и "бульжной мостовой" и в 2 сегментах с неизменной легочной паренхимой.

### Результаты и обсуждение

**Анализ жидкости, полученной при тБАЛ.** 1-я порция лаважной жидкости была молочного цвета, мутной и опалесцирующей. При цитологическом исследовании в ней определялось большое количество

аморфного гранулированного эозинофильного PAS-позитивного (*Periodic Acid Schiff*) материала. Таким образом, наблюдаемые при КЛЭМ изменения были подтверждены цитологически.

В последней порции промывных вод отмечены лишь следы этой субстанции. На основании этих данных можно сделать вывод о том, что тБАЛ довольно эффективен у пациентов с АП.

Однако при контрольной КТВР, выполненной на 2-й день после тБАЛ, не отмечалось значительной динамики в уменьшении зон "бульжной мостовой", несмотря на существенное уменьшение числа флотирующих комплексов (рис. 2); это свидетельствует о том, что основной вклад в формирование КТ-картины при АП вносит утолщение межальвеолярных перегородок и фиксированный на стенках альвеол неутилизованный сурфактант.

### Результаты альвеоскопии у пациентов с АП до тБАЛ.

Перед проведением лечебных БАЛ проанализированы изображения из 121 альвеолярной области, полученные *in vivo* у больных АП ( $n = 6$ ). В 112 альвеолярных областях были обнаружены характерные для АП изменения. В 90 (74,4 %) из них визуализировались флюоресцирующие интраальвеолярные комплексы (3–5 баллов) на фоне неизменных альвеолярных структур (рис. 3А). Некоторые из них были зернистыми, другие представляли собой скопление альвео-



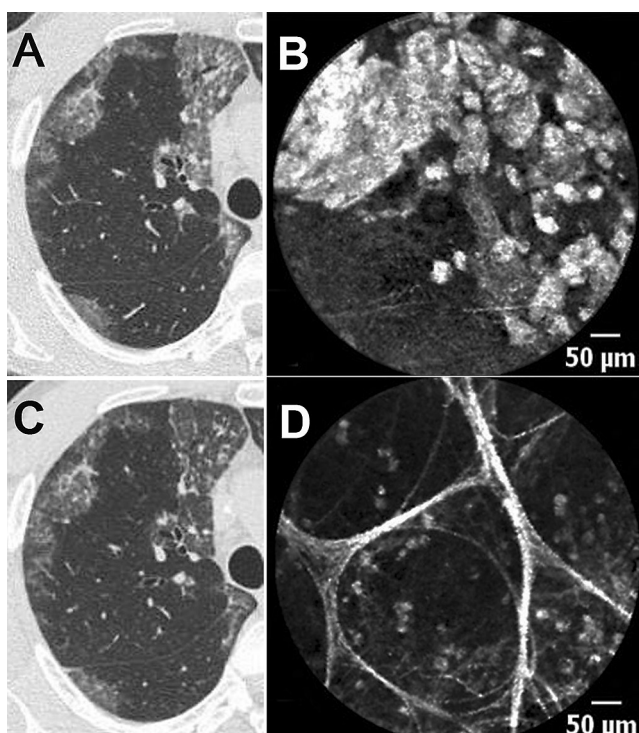


Рис. 2. Сопоставление результатов КТВР- и КЛЭМ-изображений у пациентов с АП: А, В – до, С, D – на 2-й день после тБАЛ. На эндомикроскопических изображениях отмечено значительное уменьшение количества флотирующих внутриальвеолярных субстанций со слабовыраженной динамикой в соответствующих зонах правого легкого на КТВР в виде уменьшения затемнения (рис. 2). А сопоставление результатов КТВР- и КЛЭМ-изображений у пациентов с АП: А, В – до, С, D – на 2-й день после тБАЛ. На эндомикроскопических изображениях отмечено значительное уменьшение количества флотирующих внутриальвеолярных субстанций со слабовыраженной динамикой в соответствующих зонах правого легкого на КТВР в виде уменьшения затемнения

лярных макрофагов, склеенных между собой умеренно флюоресцирующей жидкостью (1–3 балла) (см. рис. 3В). В 22 (18,2 %) альвеолярных областях нашлась лишь эта умеренно флюоресцирующая жидкость (1 балл) без каких-либо дополнительных элементов (см. рис. 3С). Кроме того, аналогичная жидкость, не встречающаяся при КЛЭМ нормальных ДДП, была отмечена не только в просвете альвеол, но и в дистальных бронхиолах.

В 9 (7,4 %) альвеолярных областях не выявлено никаких изменений, на альвеоскопических изображениях фиксировались лишь единичные альвеолярные макрофаги (0 баллов), которые, как известно,

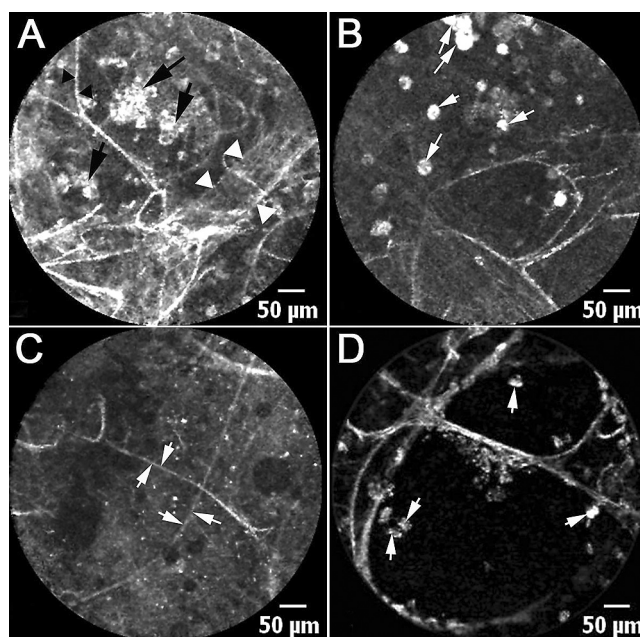


Рис. 3. При КЛЭМ ДДП у пациентов с АП определяются следующие структуры: А – флотирующие интраальвеолярные комплексы (черные стрелки) на фоне сохранной альвеолярной структуры эластических волокон (черные треугольники) и сосудов (белые треугольники); В – альвеолярные макрофаги (стрелки), визуализирующиеся отдельно или слипшиеся в конгломерат; С – умеренно флюоресцирующая жидкость в просвете альвеол (стрелками показаны волокна эластина); D – нормальные альвеолы с единичными альвеолярными макрофагами (стрелки)

Fig. 3. The following pCLE changes were found in the distal airways of PAP patients: (A), floating intraalveolar fluorescent aggregates (black arrows) under the unchanged alveolar elastic fibre structure (black triangles) and vessels (white triangles); (B), alveolar macrophages (arrows), visualized as single structures or sticking together; (C), moderately fluorescent intraalveolar liquid (elastin fibres are shown by arrows); (D), normal alveoli with scarce alveolar macrophages (arrows)

хорошо визуализируются при КЛЭМ у курящих и бывших курильщиков ввиду накопления в них табачных смол (см. рис. 3D).

**Результаты альвеоскопии у пациентов с АП после тБАЛ.** После тБАЛ при КЛЭМ ДДП обнаружено значительное (0–2 балла) уменьшение количества флотирующих внутриальвеолярных флюоресцирующих комплексов в 63 (70,0 %) из 90 альвеолярных областей, заполненных ими до лечения при сравнении идентичных зон (см. рис. 2В, D).

Отдаленные результаты лечения больных АП. Через 1,5 года после тБАЛ был обследован единственный пациент (1-й), у которого было промыто легкое

**Таблица 2**  
**Результаты альвеоскопии (внутриальвеолярные флюоресцирующие комплексы, баллы) у пациентов с АП до и после тБАЛ**

**Table 2**  
**Alveoscopy result (intraalveolar fluorescent aggregates scoring) in PAP patients before and after the WLL**

Пациент	До БАЛ	На 2-й день после БАЛ	Через 3 мес. после БАЛ	Через 6 мес. после БАЛ	Через 18 мес. после БАЛ
1-й	3,3 ± 1,0	1,2 ± 0,3	–	–	2,3 ± 1,0
2-й	3,7 ± 0,4	0,9 ± 0,8	–	–	–
3-й	4,0 ± 1,0	0,8 ± 0,7	–	2,2 ± 0,9	–
4-й	3,9 ± 0,7	1,0 ± 0,3	1,8 ± 0,7	–	–
5-й	2,9 ± 1,2	1,1 ± 0,8	2,0 ± 0,9	–	–
6-й	4,1 ± 0,8	0,9 ± 0,5	–	–	–

справа. На КТВР отмечались лишь 2 очага "матового стекла": один – в RB4 размерами 34 × 38 мм, другой – в LB8 диаметром 12 мм. Однако результаты альвеоскопии существенно отличались от томографических данных. Специфические изменения фиксировались не только в этих сегментах (2–5 баллов), но и в тех (0–4 балла), где по данным КТВР не было никаких изменений. Этот феномен был подтвержден также у 3-го, 4-го и 5-го пациентов (табл. 2).

**Результаты альвеоскопии у больных АП, выполненной под контролем КТВР грудной клетки.** Для подтверждения гипотезы о более высокой чувствительности метода КЛЭМ по сравнению с КТВР у 3-го и 4-го пациентов выполнялась альвеоскопия под контролем КТВР через 3 и 6 мес. после тБАЛ соответственно.

При сравнении КТВР- и КЛЭМ-изображений выявлено, что в тех отделах легких, в которых не было изменений на томограммах, отмечались ярко

флюоресцирующие липопротеиновые комплексы, в различной степени (0–3 балла) заполняющие просвет альвеол (рис. 4), однако они были менее выражены, чем в тех отделах, где на КТВР присутствовали симптомы АП (2–5 баллов) (рис. 5).

АП является редким легочным заболеванием, характеризующимся накоплением белково-липидного материала в просвете альвеол, что приводит к клинической манифестации, наиболее характерным симптомом которой является одышка. Без высокой клинической настороженности и на ранних стадиях этот диагноз обычно ставится с запозданием [17]. Поэтому любой новый диагностический инструмент, позволяющий получить дополнительную информацию, безусловно, является полезным и ценным.

При проведении КЛЭМ ДДП *in vivo*, как при новом методе диагностики, требуется проведение сопоставления с данными, полученными с помощью

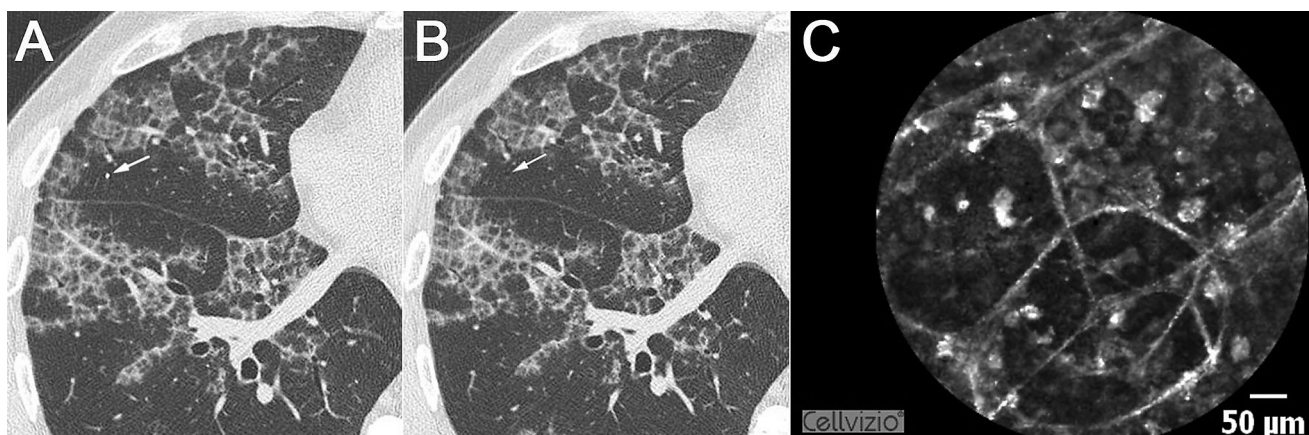


Рис. 4. Соответствие между КТВР- и КЛЭМ-изображениями: А – последний скан VIII сегмента справа, где мини-зонд (стрелка) еще виден, и 1-й следующий 1-миллиметровый скан без мини-зонда (стрелка); В – демонстрация типичных КТВР-симптомов для заболевания, сопровождающегося накоплением белково-липидных субстанций в просвете альвеол. КЛЭМ: С – большое количество флотирующих внутриальвеолярных комплексов (2–5 баллов по оценочной шкале)

Fig. 4. A correspondence between HRCT and pCLE images. A mini-probe (arrow) is seen at the last scan (A) of the VIII right segment and disappeared (arrow) at the next 1-mm scan (B); this demonstrates typical HRCT signs of intraalveolar lipoprotein substance accumulation. A large amount of floating intraalveolar fluorescent aggregates is seen during pCLE (C) (score 2 to 5)

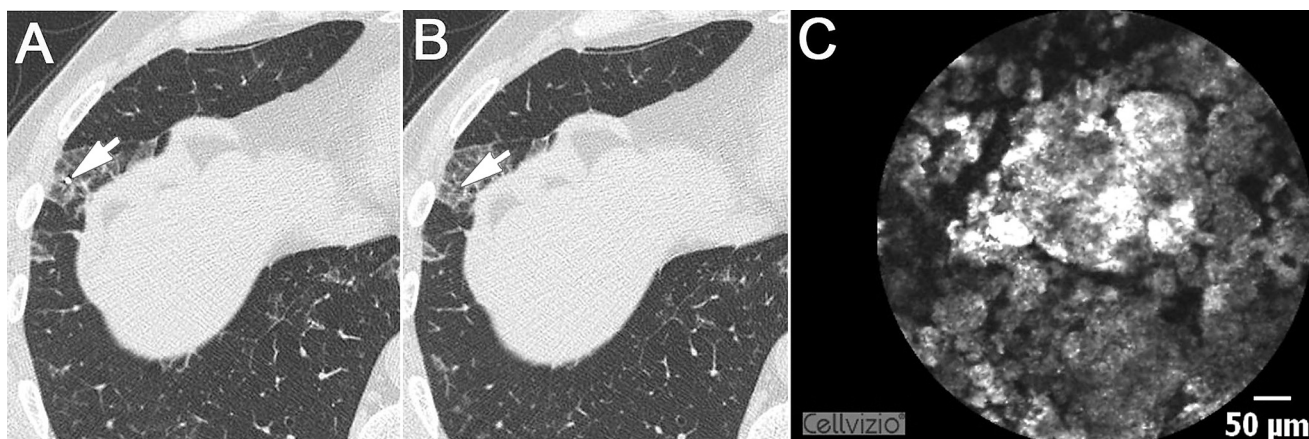


Рис. 5. Соответствие между КТВР- и КЛЭМ-изображениями: А – последний скан IV сегмента справа, где мини-зонд (стрелка) еще виден и 1-й следующий 1-миллиметровый скан без мини-зонда (стрелка); В – демонстрация отсутствия КТВР-симптомов заболевания. КЛЭМ: С – флотирующие внутриальвеолярные комплексы на фоне сохраненной альвеолярной структуры, менее выраженные (0–3 балла по оценочной шкале), чем при наличии КТВР-признаков патологии

Fig. 5. A correspondence between HRCT and pCLE images. A mini-probe (arrow) is seen at the last scan (A) of the IV right segment and disappeared (arrow) at the next 1-mm scan (B); this demonstrates normal HRCT. A moderate amount of floating intraalveolar fluorescent aggregates, which is less than in lung zones with HRCT pathology, is seen during pCLE under the unchanged alveolar structure (C) (score 0 to 3)



референсных методов (таких как КТВР или гистологическое исследование), а также углубленный анализ для лучшего понимания в интерпретации эндомикроскопических изображений.

В настоящем исследовании установлено, что у пациентов с АП при *in vivo* КЛЭМ ДДП встречаются специфические ярко флюоресцирующие комплексы (100–450  $\mu\text{m}$ ), представляющие собой гранулированный липопротеиновый материал, накапливающийся в просвете альвеол ввиду нарушения клиренса сурфактанта, а также альвеолярные макрофаги, "нагруженные" этим материалом. Обнаружены также ярко флюоресцирующие гигантские альвеолярные макрофаги, образовавшиеся вследствие агрегации нескольких клеток нормального размера для обеспечения максимально эффективного фагоцитоза липопротеиновых комплексов.

Данный диагностический признак впервые описан в единственной опубликованной работе *M.Salaiin et al.*, в которой лишь 1 пациенту с АП было выполнено *in vivo* КЛЭМ ДДП [15]. В данном исследовании подтверждается соответствие флюоресцирующих структур, видимых при *in vivo* КЛЭМ, липопротеиновым комплексам, визуализирующимся при эпифлюоресцентном микроскопическом анализе лаважной жидкости. Специфичность данного симптома подтверждена отсутствием аналогичных находок в 173 альвеолярных областях, исследованных методом КЛЭМ у курящих ( $n = 24$ ), не страдающих АП, включая пациентов с различными интерстициальными заболеваниями легких ( $n = 9$ ) и здоровых добровольцев ( $n = 15$ ) [15].

В поддержку этих наблюдений, основываясь на опыте эндомикроскопического обследования курящих и некурящих пациентов ( $n = 54$ ), отмечено также, что подобные комплексы не встречаются при хроническом бронхите, саркоидозе легких, периферическом и центральном раке легких, бактериальной пневмонии, эмфиземе, идиопатическом легочном фиброзе, экзогенном аллергическом альвеолите, синдроме Черджа–Стросс, синдроме Картагенера, а также при патологии, сопровождающейся КТ-паттерном "булыжная мостовая", такой как бронхоальвеолярная карцинома и пневмоцистная пневмония [18].

Однако похожие гигантские ярко флюоресцирующие альвеолярные макрофаги найдены при альвеоскопии у 1 пациента с еще одной редкой патологией – инвазивным легочным аспергиллезом [19]. Данные наблюдения совпадают с результатами исследования *H.Morisse et al.*, в котором при использовании КЛЭМ *in vivo* и *in situ* для исследования экспериментального инвазивного легочного аспергиллеза у крыс с иммуносупрессией описаны специфические фибриллярные флюоресцирующие структуры и флюоресцирующие альвеолярные макрофаги в инфицированных зонах [20].

Таким образом, очевидно, что альвеоскопия у пациентов с АП является весьма чувствительным диагностическим методом, с помощью которого выявляются варьирующие по размеру ярко флюорес-

цирующие внутриальвеолярные комплексы и гигантские альвеолярные макрофаги с незавершенным фагоцитозом.

Весьма интересные данные были получены при анализе отдаленных результатов лечения пациентов с АП: у 1 больного спустя 1,5 года после тБАЛ только правого легкого при КТВР были выявлены лишь 2 небольших очага с зонами "матового стекла". Это говорит о том, что процессы по восстановлению клиренса сурфактанта произошли после отмыывания только 1 легкого. Другое возможное объяснение – спонтанное разрешение заболевания без лечения, которое встречается в 7,9 % наблюдений у пациентов с АП [2].

Еще более неожиданные и интересные факты получены при альвеоскопии измененных и интактных зон по данным КТВР. Оказалось, что специфические изменения в легких отмечались не только в отделах с "матовым стеклом" и "булыжной мостовой", но и в участках без каких-либо изменений на КТВР. Принимая во внимание неравномерное распределение патологических изменений в легких, подтверждается гипотеза о более высокой чувствительности метода КЛЭМ у 2 пациентов с АП с сохранившимися специфическими изменениями в легких на КТВР через 3 и 6 мес. после двустороннего тБАЛ. КТВР у этих пациентов выполнялась прямо во время КЛЭМ-исследования для установления точной позиции мини-зонда. В пораженных и неизмененных областях легких были получены идентичные данные, несколько отличающиеся лишь количественно. Это означает, что при АП диффузно поражается практически весь объем легочной паренхимы, и метод КЛЭМ позволяет визуализировать минимальные изменения в виде накопления аморфных масс в альвеолах, неуловимые на КТВР. В литературе отсутствуют публикации, описывающие подобные находки. Согласно полученным данным, сделан вывод о том, что КЛЭМ ДДП у больных АП является более чувствительным методом, чем КТВР, а клиренс сурфактанта при АП нарушен хотя и неравномерно, но диффузно.

Предполагается, что изображение на КТ-скане формируется за счет той части липопротеиновых масс, которые фиксированы на стенках альвеол и не видны в их просвете, а также утолщенных межальвеолярных перегородок. Этим можно объяснить отсутствие значительной динамики в уменьшении выраженности симптомов "матового стекла" и "булыжной мостовой" на 2-й день после тБАЛ.

В исследовании принимали участие бывшие курьшики с длительным анамнезом курения ( $n = 5$ ), и лишь 1 никогда не курил. Данные *in vivo* КЛЭМ у 1 некурящего пациента в целом не отличались от таковых у курьшиков как в данном исследовании, так и в наблюдении *M.Salaiin et al.* [15]. Единственным отличием у 1 некурящего было полное отсутствие или очень малое количество макрофагов в просвете альвеол в тех областях, где не было отмечено характерных для АП эндомикроскопических изменений.

Что касается ограничений в данном исследовании, то, во-первых, это малое число пациентов, поэтому для статистической оценки использовались данные, полученные в среднем из 230 альвеоскопических изображений от каждого больного. Во-вторых, объемы альвеолярных областей, обследованных в каждом легочном сегменте и субсегменте, были неполными, а продвижение мини-зонда осуществлялось вслепую по пути наименьшего сопротивления, что делает невозможным точный статистический анализ степени накопления аморфных липопротеиновых масс в различных альвеолах.

Полученные данные об изменениях в альвеолах пациентов с АП свидетельствуют о том, что альвеоскопия может быть очень полезным инструментом в понимании взаимосвязей между выраженностью накопления аморфной субстанции в альвеолах и клиническими проявлениями заболевания.

Важным результатом данной работы является доказательство того, что КЛЭМ ДДП у пациентов с АП — это новая уникальная технология, позволяющая получить ценную диагностическую информацию, дополняя КТВР.

Установленный в данной работе факт исчезновения КТ-признаков заболевания в обоих легких после одностороннего лечебного БАЛ требует дополнительного изучения возможности инициации таким способом механизма восстановления клиренса сурфактанта, поэтому запланированы дополнительные исследования для изучения роли КЛЭМ в диагностике и мониторинге АП. Будущие работы, возможно, помогут найти ответ на вопрос, сохраняется ли визуальный субстрат заболевания у пациентов с АП в отсутствие каких-либо клинических и рентгенологических симптомов.

## Заключение

У пациентов с АП при *in vivo* КЛЭМ ДДП выявляются ярко флюоресцирующие комплексы гранулированного липопротеинового материала как в дистальных бронхиолах, так и в просвете альвеол. Максимально выраженным признаком был в тех легочных сегментах, где отмечались КТ-симптомы "матового стекла" и "булыжной мостовой". Однако такой материал присутствовал в меньшем количестве и в неизмененных, согласно данным КТВР, отделах легких. После тБАЛ количество флотирующих интраальвеолярных комплексов значительно уменьшалось. Таким образом, при АП происходит диффузное поражение легочной паренхимы с накоплением в различной степени аморфных масс в просвете альвеол, что может протекать не просто субклинически и не проявляться рентгенологически. Альвеоскопия может быть полезным методом в диагностике АП и при оценке результатов стандартной и экспериментальной терапии заболевания.

Исследование выполнено за счет средств Федерального медико-биологического агентства России. Конфликты интересов отсутствуют.

Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России: зав. эндоскопическим отделением к. м. н. Д.В.Сазонову, анестезиологам О.В.Гавриловой и Н.С.Масловой, зав. отделением пульмонологии к. м. н. Т.А.Турусиной.

Sponsorship information: the study was performed using the Federal Medico-biological Agency funds. No conflict of interest.

The authors thank Head of Endoscopic Department, PhD, D.V.Sazonov; anaesthetists O.V.Gavrilova and N.S.Maslova; Head of Department of Pulmonology, PhD, T.A.Turusina working for the Federal Institution "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia.

## Литература

- Borie R., Danel C., Debray M.-P. et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur. Respir. Rev.* 2011; 20: 98–107.
- Seymour J.F., Preseneill J.J. Pulmonary alveolar proteinosis: Progress in the first 44 years. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 215–235.
- Khan A., Agarwal R. Pulmonary alveolar proteinosis. *Respir. Care.* 2011; 56 (7): 1016–1028.
- Inoue Y., Trapnell B.C., Tazawa R. et al. Characteristics of a large cohort of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis patients in Japan. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177: 752–762.
- Чучалин А.Г., ред. Руководство по респираторной медицине. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. Т. 2.
- Greenhill S.R., Kotton D.N. Pulmonary alveolar proteinosis: a bench-to bedside story of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor dysfunction. *Chest.* 2009; 136 (2): 571–577.
- Sarac S, Milić R, Zolotarevski L. et al. Primary pulmonary alveolar proteinosis. *Vojnosanit Pregl.* 2012; 69 (11): 1005–1008.
- Thiberville L., Bourg-Heckly G., Peltier E., Cave C. Per-endoscopic alveolar imaging using fluorescent confocal fibered microscopy. *J. Eur. Respir.* 2006; 28 (Suppl. 50): 155s–156s.
- Thiberville L., Moreno-Swiric S., Vercauteren T. et al. In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy. *J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 22–31.
- Thiberville L., Salaün M., Lachkar S. et al. Human in vivo fluorescence microimaging of the alveolar ducts and sacs during bronchoscopy. *J. Eur. Respir.* 2009; 33: 974–985.
- Pauly J.L., Allison E.M., Hurley E.L. et al. Fluorescent human lung macrophages analyzed by spectral confocal laser scanning microscopy and multispectral cytometry. *J. Microsc. Res. Tech.* 2005; 67: 79–89.
- Black P.N., Ching P.S., Beaumont B. et al. Changes in elastic fibres in the small airways and alveoli in COPD. *J. Eur. Respir.* 2008; 31: 998–1004.
- Weibel E.R., Hsia C.C., Ochs M. How much is there really? Why stereology is essential in lung morphometry. *J. Appl. Physiol.* 2007; 102: 459–467.
- Newton R.C., Kemp S.V., Yang G.Z. et al. Imaging parenchymal lung diseases with confocal endomicroscopy. *Respir. Med.* 2012; 106 (1): 127–137.
- Salaün M., Roussel F., Hauss P.-A. et al. In vivo imaging of pulmonary alveolar proteinosis using confocal endomicroscopy. *J. Eur. Respir.* 2010; 36: 451–453.
- Michaud G., Reddy C., Ernst A. Whole-lung lavage for pulmonary alveolar proteinosis. *Chest.* 2009; 136 (6): 1678–1681.

17. McDonnell M.J., Reynolds C., Tormey V. et al. Pulmonary alveolar proteinosis: report of two cases in the West of Ireland with review of current literature. *Ir. J. Med. Sci.* 2014; 183 (1): 123–127.
18. Данилевская О.В., Сорокина А.В., Аверьянов А.В. и др. Особенности проведения конфокальной лазерной эндомикроскопии дистальных дыхательных путей и принципы морфометрического анализа. *Эндоскопическая хирургия.* 2013; 5: 28–36.
19. Danilevskaya O., Averyanov A., Klimko N. et al. A case of diagnostics of invasive pulmonary aspergillosis using in vivo probe-based confocal laser endomicroscopy of central and distal airways. *Med. Mycol. Case Reports.* 2014; 5: 35–39.
20. Morisse H., Heyman L., Salaün M. et al. In vivo and in situ imaging of experimental invasive pulmonary aspergillosis using fibered confocal fluorescence microscopy. *Med. Mycol.* 2012; 50: 38

Поступила 25.02.15  
УДК 616.235-903.811-073

## Refereces

1. Borie R., Danel C., Debray M.-P. et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur. Respir. Rev.* 2011; 20: 98–107.
2. Seymour J.F., Preseneill J.J. Pulmonary alveolar proteinosis: Progress in the first 44 years. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 215–235.
3. Khan A., Agarwal R. Pulmonary alveolar proteinosis. *Respir. Care.* 2011; 56 (7): 1016–1028.
4. Inoue Y., Trapnell B.C., Tazawa R. et al. Characteristics of a large cohort of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis patients in Japan. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177: 752–762.
5. Chuchalin A.G., ed. Practical Handbook on Respiratory Medicine. Moscow, *GEOTAR-Media*; 2007; V. 2 (in Russian).
6. Greenhill S.R., Kotton D.N. Pulmonary alveolar proteinosis: a bench-to bedside story of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor dysfunction. *Chest.* 2009; 136 (2): 571–577.
7. Sarac S, Milić R, Zolotarevski L. et al. Primary pulmonary alveolar proteinosis. *Vojnosanit Pregl.* 2012; 69 (11): 1005–1008.
8. Thiberville L., Bourg-Heckly G., Peltier E., Cave C. Perendoscopic alveolar imaging using fluorescent confocal fibered microscopy. *J. Eur. Respir.* 2006; 28 (Suppl. 50): 155s–156s.
9. Thiberville L., Moreno-Swiric S., Vercauteren T. et al. In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy. *J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 22–31.
10. Thiberville L., Salaün M., Lachkar S. et al. Human in vivo fluorescence microimaging of the alveolar ducts and sacs during bronchoscopy. *J. Eur. Respir.* 2009; 33: 974–985.
11. Pauly J.L., Allison E.M., Hurley E.L. et al. Fluorescent human lung macrophages analyzed by spectral confocal laser scanning microscopy and multispectral cytometry. *J. Microsc. Res. Tech.* 2005; 67: 79–89.
12. Black P.N., Ching P.S., Beaumont B. et al. Changes in elastic fibres in the small airways and alveoli in COPD. *J. Eur. Respir.* 2008; 31: 998–1004.
13. Weibel E.R., Hsia C.C., Ochs M. How much is there really? Why stereology is essential in lung morphometry. *J. Appl. Physiol.* 2007; 102: 459–467.
14. Newton R.C., Kemp S.V., Yang G.Z. et al. Imaging parenchymal lung diseases with confocal endomicroscopy. *Respir. Med.* 2012; 106 (1): 127–137.
15. Salaün M., Roussel F., Hauss P.-A. et al. In vivo imaging of pulmonary alveolar proteinosis using confocal endomicroscopy. *J. Eur. Respir.* 2010; 36: 451–453.
16. Michaud G., Reddy C., Ernst A. Whole-lung lavage for pulmonary alveolar proteinosis. *Chest.* 2009; 136 (6): 1678–1681.
17. McDonnell M.J., Reynolds C., Tormey V. et al. Pulmonary alveolar proteinosis: report of two cases in the West of Ireland with review of current literature. *Ir. J. Med. Sci.* 2014; 183 (1): 123–127.
18. Danilevskaya O.V., Sorokina A.V., Aver'yanov A.V. et al. Particularities of distal airway confocal laser endomicroscopy and the morphometric analysis. *Endoskopicheskaya khirurgiya.* 2013; 5: 28–36 (in Russian).
19. Danilevskaya O., Averyanov A., Klimko N. et al. A case of diagnostics of invasive pulmonary aspergillosis using in vivo probe-based confocal laser endomicroscopy of central and distal airways. *Med. Mycol. Case Reports.* 2014; 5: 35–39.
20. Morisse H., Heyman L., Salaün M. et al. In vivo and in situ imaging of experimental invasive pulmonary aspergillosis using fibered confocal fluorescence microscopy. *Med. Mycol.* 2012; 50: 38.

Received February 02, 2015  
UDC 616.235-903.811-073

## Информация об авторах

Данилевская Олеся Васильевна – к. м. н., врач-эндоскопист отделения эндоскопии, старший научный сотрудник НИИ клинической хирургии ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России, тел.: (916) 981-98-53; e-mail: danless@mail.ru  
Лесняк Виктор Николаевич – к. м. н., зав. отделением рентгенологии ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России; тел.: (916) 135-50-52; e-mail: lesnyak\_kb83@mail.ru  
Сорокина Анастасия Викторовна – научный сотрудник отдела современных морфологических исследований ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России; тел.: (916) 971-68-97; e-mail: sorokina\_ana@mail.ru  
Сотникова Анна Геннадьевна – врач пульмонолог отделения пульмонологии ФГБУ "Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий" ФМБА России; тел.: (910) 446-50-83; e-mail: sotnikoffaa@rambler.ru

## Author information

Danilevskaya Olesya Vasil'evna, PhD, an endoscopist of Endoscopy Department, Senior Researcher of the Scientific and Research Institute of Clinical Surgery, Federal Institution "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia, tel.: (916) 981-98-53; e-mail: danless@mail.ru  
Lesnyak Viktor Nikolaevich, PhD, Head of Department of Roentgenology, "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia, tel.: (916) 135-50-52; e-mail: lesnyak\_kb83@mail.ru  
Sorokina Anastasiya Viktorovna, a Researcher of Division of Modern Morphological Research, "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia, tel.: (916) 971-68-97; e-mail: sorokina\_ana@mail.ru  
Sotnikova Anna Gennad'evna, a pneumologist of Department of Pulmonology, "Federal Scientific and Clinical Center of Tertiary Care and Medical Technology", Federal Medical and Biological Agency of Russia, tel.: (910) 446-50-83; e-mail: sotnikoffaa@rambler.ru