

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ПРИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО РАКА ЛЁГКОГО

Желбунова Е.А.

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

Санкт-Петербург; 197758; п. Песочный, ул. Ленинградская д. 68; 8-921-943-33-51;

andrey.arseniev@mail.ru

Резюме. В статье обобщён опыт использования нового комбинированного бронхоскопического метода диагностики центрального рака лёгкого, основанного на качественной и количественной оценке изображений, получаемых в обычном и аутофлуоресцентном режимах с измерением отраженных и аутофлуоресцентных спектров у 167 больных. При построении характеристических (ROC) кривых с измерением площадей (AUC) под ними установлено, что метод характеризуется высокой чувствительностью - 94,74% (95%CI:80,9%-99%), при достаточной специфичности - 79,95% (95%CI:75,8%-83,6%). Использование спектрометрических коэффициентов позволяет повысить специфичность метода, снизить количество ненужных биопсий и минимизировать травматичность процедуры. При иммуногистохимическом исследовании установлены статистически значимые различия в уровне экспрессии ряда антител на различных этапах канцерогенеза - CD31 и CD34 ($p<0,05$), EGFR ($p<0,05$), Ki-67 ($p<0,001$) и p53 ($p<0,001$).

Ключевые слова: центральный рак лёгкого, аутофлуоресцентная бронхоскопия, спектрометрия, характеристические кривые, иммуногистохимическое исследование.

MORPHOLOGIC AND ENDOSCOPIC PARALLELS IN EARLY CENTRAL LUNG CANCER DIAGNOSTICS

Zhelbunova E.A.

N.N. Petrov Research Institute of Oncology

Synopsis. This article summarizes the experience of application of the new combined endoscopic method for early central lung cancer diagnosis. Method is based on the qualitative and quantitative assessment of the bronchoscopic images obtained in the autofluorescence and white light modes combined with measurement of reflected and autofluorescence spectra in 167

patients. AUC of receiver operating characteristic (ROC) curves showed good discrimination with maximum sensitivity - 94.74% (95% CI: 80,9% -99%) and specificity - 79.95% (95% CI: 75,8% -83,6%). The use of spectral coefficients can improve the specificity of the method and reduce the number of unnecessary biopsies and minimize trauma during the procedure. Immunohistochemistry showed significant differences in expression levels of several antibodies - CD31 и CD34 ($p<0,05$), EGFR ($p<0,05$), Ki-67 ($p<0,001$) - and p53 ($p<0,001$) in different stages of dysplasia.

Keywords: central lung cancer, autofluorescence bronchoscopy, spectrometry, ROC curves, immunohistochemistry.

Введение. Рак лёгкого (РЛ) занимает одно из первых мест по показателям заболеваемости злокачественными новообразованиями. Ежегодно в мире регистрируется более 1,3 миллиона случаев РЛ, что составляет 12% от всех злокачественных новообразований, при этом погибает от него более 1,2 миллиона человек (18% всех смертей от рака и 2,2% общей смертности). В России ежегодно выявляется более 56000 новых случаев РЛ, при этом в первый год после установления диагноза от этого заболевания умирает более 54% больных. Аналогичная ситуация складывается и в других странах [1,2,4]. Соотношение «заболеваемость - смертность» при раке лёгкого самое неблагоприятное – рано или поздно умирают более 95% заболевших [1,4]. До сих пор не решена проблема ранней диагностики рака лёгкого, поэтому основная масса больных (более 75%) поступает в специализированные лечебные учреждения в III-IV стадиях заболевания [2,4,8]. При этом 5-летняя выживаемость напрямую зависит от стадии заболевания, составляя при преинвазивных карциномах более 90%, при I-II стадии - 60-70%, а при III-IV менее 15% [3,6,11]. Несмотря на постоянное совершенствование методов диагностики и лечения в онкологии общий прогноз пятилетней выживаемости на настоящий момент сохраняется на уровне 70-х годов прошлого века - не более 15% [1,2,4]. Проблема РЛ перестала быть только медицинской и приобрела социальный характер, что обусловлено как уровнем заболеваемости, так и неудовлетворительными отдалёнными результатами лечения [4,9,12].

Диагностика раннего РЛ, особенно его центральной клиничко-анатомической формы с использованием даже самой современной аппаратуры, включая методы рентгеновской,

эмиссионной и мультимодальной компьютерной томографии весьма затруднительна (чувствительность 50-65%; специфичность 55-65%) [3,6,5,10]. Эндоскопическая диагностика – один из основных способов выявления центрального РЛ, при котором частота морфологической верификации инвазивных форм достигает 96-98% [6,11]. Однако большинство исследователей критически оценивают эффективность бронхологического исследования в целенаправленном выявлении преинвазивного и микроинвазивного рака респираторного эпителия [5,7,8,11]. Для повышения чувствительности и специфичности метода с 80-х годов XX века в практику стали внедряться эндоскопические системы, основанные на различиях в флуоресценции нормальных и злокачественных тканей. В настоящее время в ряде стран (Канада, Япония, Германия) для клинического применения разработаны различные системы, использующие как аутофлуоресценцию, так и лекарственно-индуцированную флуоресценцию. Однако мнения в отношении целесообразности использования их в рутинной практике остаются противоречивыми [7,9,12].

Цель исследования: оценить эффективность метода комбинированной аутофлуоресцентной бронхоскопии со спектрометрией (АФБС) при диагностике центрального рака лёгкого, изучить эндоскопические и морфологические параллели (гистологические, иммуногистохимические и спектрометрические).

Материал и методы: В клинике НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова выполнено 167 комбинированных бронхоскопических исследований при подозрении на центральный РЛ, при этом получено 620 биоптатов бронхиальных стенок. Научные исследования выполнялись совместно с Противораковым Агентством Британской Колумбии и компанией Perceptronix Medical Inc. Интегрированная система формирования изображения и спектрометрии «ClearVu Elite» подключалась к стандартному оптическому фибробронхоскопу достаточного разрешения (Olympus BF-60, или эквивалентному) и давала возможность получать изображение и производить спектроскопические измерения интересующих областей в обычном и аутофлуоресцентном режимах. Изменения режимов достигались простым электронным переключением позиции специального волоконного зеркала клавишей на камере, а информация об изображении поступала для обработки в системный блок. При обнаружении патологических изменений в трахее или бронхах, изображения этих участков и спектральная информация с них обязательно фиксировались в электронном виде (эндофотографии и видеофайлы). Кроме регистрации отраженных и

аутофлуоресцентных спектров из подозрительных участков выполнялась щипцевая биопсия с зон интереса.

Эффективность системы оценивалась сравнением полученных в исследовании визуальных, спектрометрических и морфологических данных (гистологическое и иммуногистохимическое исследование бронхиобиопсийного материала). Гистологические исследования проводились как в патоморфологической лаборатории НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, так и в лаборатории при Противораковом Агенстве Британской Колумбии (г. Ванкувер, Канада) с сопоставлением полученных данных и независимом пересмотре при расхождении результатов.

Для каждого изображения содержащего спектральные измерения определялись следующие показатели: 1) доля объема крови в ткани (BI-V); 2) параметр насыщения крови кислородом ($O_2\text{sat}$); 3) содержание сатурированного гемоглобина ($BI-V * O_2\text{sat}$); 4) содержание десатурированного гемоглобина ($BI-V * (1 - O_2\text{sat})$); 5) показатель InfraRed-Green Ratio (IRG) - отношение средней интенсивности флуоресцентного спектра в около-инфракрасной области (715-835 нм) к средней интенсивности в зеленой области (495-515 нм). Дополнительный аналитический показатель был получен с помощью линейного регрессионного анализа. При определении этих показателей использовалась математическая модель Y. Fawzy [6]. Биномиальный доверительный интервал (95 и 99%) для представленных значений был рассчитан по методу Клоппера-Пирсона. Точный тест Фишера применялся при установлении критерия независимости для таблиц сопряженности признаков. Для расчета корреляций между показателями был использован коэффициент Спирмена.

Изготовление и изучение микропрепаратов, полученных при бронхоскопическом исследовании сопряжено с трудностями, обусловленными малыми размерами участков бронхиальной стенки, их артефициальными изменениями при щипцевой биопсии. Материал для гистологического изучения обезживали в спиртах, заливали в парафин, затем изготавливали серийные срезы толщиной 3 мкм на санном микротоме и окрашивали гематоксилином и эозином, по стандартной методике. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 4 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые полилизинном. Срезы инкубировали с антителами к CD 31, CD 34, EGFR, P53 и Ki-67 с демаскировкой антигенов на водяной бане. В качестве системы детекции применялись полимерная система En Vision + (DACO, США) и

универсальный КИТ (RTU) (NOVOCASTRA, Великобритания). Для выявления иммунного окрашивания был использован стрептавидин-биотиновый пероксидазный метод.

Результаты: В соответствии с современными представлениями канцерогенез опухолей легких проходит несколько этапов: 1) обратимая гиперплазия респираторного эпителия (бокаловидных клеток, базальноклеточная и смешанная); 2) метаплазия; 3) дисплазия (легкой, средней и тяжелой степени); 4) преинвазивная карцинома (carcinoma in situ - CIS); 4) инвазивный рак. Исходя из этой модели, в нашем исследовании был произведён сравнительный анализ гистологических и иммуногистохимических характеристик каждого из последовательных этапов канцерогенеза респираторного эпителия. Микропрепараты биоптатов, не подходящих ни к одному из этих этапов (воспаление, фиброз, грануляции) были исключены из исследования. Таким образом, отдельному углублённому морфологическому исследованию был подвергнут 201 биоптат - 32,4% от общего количества (n=620). В большинстве микропрепаратов (70,6%; n=142) выявлены различные варианты гиперплазии слизистой бронхов; 6,9% (n=14) биоптатов пришлось на метаплазию, 4,5% (n=9) на дисплазию различной тяжести и CIS, а 17,9% (n=36) - на инвазивный рак бронхов (таб. 1).

Таблица 1. Структура данных, полученных при морфологическом исследовании микропрепаратов, изготовленных из биоптатов, соответствующих одному из этапов канцерогенеза респираторного эпителия.

Характеристика биоптата		Количество биопсий (n)	Доля, %
Гиперплазия	1. Бокаловидных клеток	39	19,4
	2. Базально-клеточная	74	36,8
	3. Смешанная	29	14,4
	Всего	142	70,6
Метаплазия		14	6,9
Дисплазия	1. Дисплазия лёгкой степени	2	1,0
	2. Дисплазия средней степени	1	0,5
	3. Дисплазия тяжёлой степени/CIS	6	3,0
	Всего	9	4,5
Инвазивный рак	1. Аденокарцинома	17	8,5
	2. Плоскоклеточный рак	12	6,0
	3. Крупноклеточный рак	2	1,0
	4. Мелкоклеточный рак	3	1,5
	5. Карциноидная опухоль	2	1,0
	Всего	36	17,9
ВСЕГО		201	100,0

Гиперплазия бронхиального эпителия была представлена тремя вариантами, доли каждого из которых составили: 1) гиперплазия бокаловидных клеток – 27,5% (n=39); 2) базально-клеточная гиперплазия - 52,1% (n=74) и 3) смешанная форма – 20,4% (n=29). Таким образом, из 3 вариаций гиперплазий статистически значимо преобладала базальноклеточная ($p<0,001$), в то время как существенных различий между частотой встречаемости гиперплазии бокаловидных клеток и смешанной формы не установлено ($p>0,1$).

Диспластические изменения были зарегистрированы в 9 биоптатах (4,5%), включая 6 биоптатов (3,0%) с выраженной дисплазией/CIS. На первую, слабо выраженную степень дисплазии пришлось 22,2% (n=2), а на вторую - среднюю степень дисплазии 11,1% (n=1), т.е. существенных различий в частоте встречаемости их не было ($p>0,1$). При этом статистически значимо преобладала доля случаев с выраженной дисплазией, включая CIS – 66,7% (n=6; $p<0,05$) (таб. 1).

Среди всех исследованных биоптатов было зафиксировано 17,9% (n=36) случаев инвазивного рака. Из них 8,5% пришлось на аденокарциномы, 6,0% на плоскоклеточный рак, 1,5% на мелкоклеточный рак и по 1,0% на крупноклеточный и другие варианты рака. Таким образом, при определении доли каждого морфологического типа рака среди всех инвазивных вариантов опухоли установлено, что статистически значимо ($p=0,00005-0,02$) преобладали аденокарциномы (47,2%; n=17) и плоскоклеточный рак (33,3%; n=12), но между ними в частоте встречаемости достоверных различий не было ($p=0,09$). Крупноклеточный (5,6%; n=2), мелкоклеточный (8,3%; n=3), и карциноидные опухоли (5,6%; n=2) также определялись одинаково часто ($p=0,3$) (таб. 1).

Таблица 2. Результаты иммуногистохимического исследования при различных вариантах патологии стенки бронха.

Антитело/ Патология		Ki-67 (%)	P 53 (%)	CD 34 (баллы)	CD 31 (баллы)	EGFR (баллы)
Гиперплазия		2-6	< 1	1	1	1
Метаплазия		32	5	1,5	1,5	2
Дисплазия	Слабая	40	20	1,5	1,5	2
	Умеренная	20	30	1,5	1,5	2
	Тяжёлая	20	45	2	2	2
	Всего	30	30	1,5	1,5	2
CIS		60	80	2	2	2
Инвазивный рак	Плоскоклеточный	80	80	3	3	3
	Аденокарцинома	40	60	2	2,5	3
	Всего	60	70	2,5	2,5	3

Проведённое иммуногистохимическое исследование показало, что при оценке тенденций ангиогенеза, отмечено симметричное нарастание уровня экспрессии антител CD31 и CD34 от этапа к этапу канцерогенеза, в зависимости от степени выраженности патологии бронхиальной стенки. Так, если при гиперплазии респираторного эпителия уровень экспрессии этих антител оценивался в 1 балл, то при метаплазии и дисплазии он достигал 1,5 баллов, при CIS – 2 баллов, а при инвазивном раке увеличивался до 2,5 баллов ($p<0,05$) (таб. 2). Уровень экспрессии EGFR при гиперплазии был минимальным (1 балл). Для процессов метаплазии, дисплазии и CIS был характерен одинаковый уровень в 2 балла, а при инвазивных карциномах увеличивался до 3 баллов ($p<0,05$).

Прослежена чёткая динамика нарастания пролиферативной активности, по мере усугубления патологических процессов в бронхиальной стенке. Если при гиперплазии слизистой оболочки бронхов уровень Ki-67 не превышал 2-6%, то на этапе метаплазии и дисплазии он статистически значимо ($p<0,001$) повышался до 32% и 30%, соответственно. Причём существенных различий в уровне экспрессии Ki-67 между метаплазией и дисплазией не было ($p>0,1$). Однако на этапе собственно опухолевого процесса вновь отмечено значительное увеличение ($p<0,001$) пролиферативной активности (Ki-67 - 60%), в равной степени для CIS и инвазивного рака (таб. 2).

Ещё более показательными оказались данные, полученные при оценке уровня апоптоза в биоптатах бронхиальной стенки. Так, если при гиперплазии респираторного эпителия уровень экспрессии P53 был менее 1%, то при метаплазии он несколько увеличивался (до 5%; $p=0,08$), на этапе дисплазии стремительно нарастал до 30% ($p<0,001$), а при CIS и инвазивном раке вновь делал резкий статистически значимый ($p<0,001$) скачок до 80% и 70%, соответственно. Причём уровень апоптоза после завершения опухолевого развития существенно не различался между CIS и инвазивным раком ($p=0,07$) (таб. 2).

Проведённый анализ безопасности диагностической эндоскопической системы «ClearVu Elite», продемонстрировал, что ни у одного пациента не было клинически значимых побочных явлений, потребовавших прекращения бронхоскопии, либо последующего проведения лечебных мероприятий, а метод, соответственно, не сопряжен с каким-либо дополнительным риском для пациентов. Чувствительность метода составила 94,74% (95%CI:80,9%-99%), специфичность - 79,95% (95%CI:75,8%-83,6%), при весьма высокой прогностической ценности отрицательного эндоскопического диагноза - 99,4%

(95%CI:97,7%-99,9%). В то же время прогностическая ценность положительного результата оказалась невысокой - всего 29,3% (95%CI:21,6%-38,3%), что вполне согласовывалось с полученным значением специфичности метода АФБС. Этим показателям соответствуют и представленные в таблице 3 отношения правдоподобия положительного - 4,73 (95%CI:3,9-5,8) и отрицательного - 0,07 (95%CI:0,02-0,25) результатов.

Таблица 3. Чувствительность и специфичность метода АФБС, рассчитанные по результатам анализа общего количества биопсий.

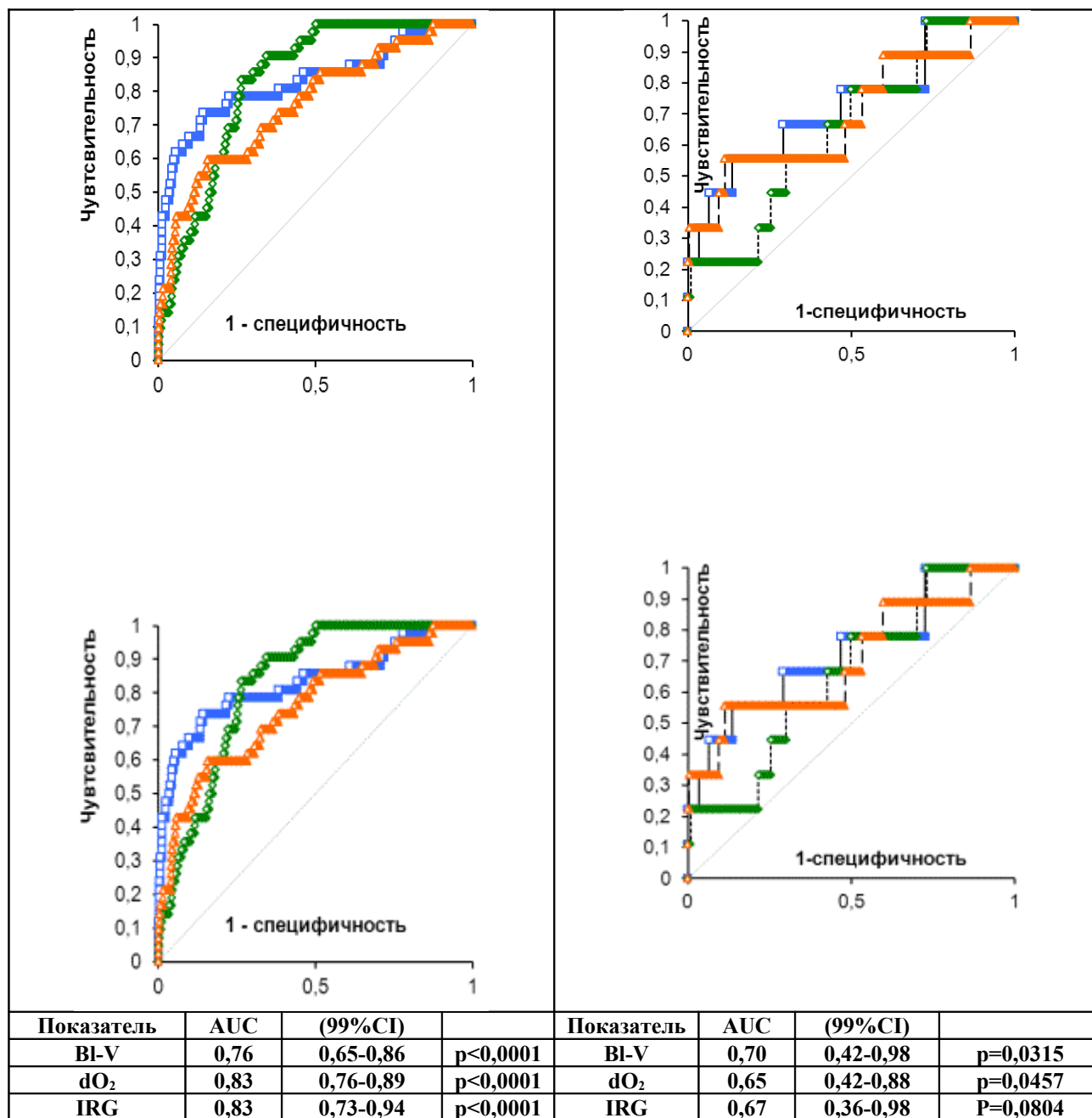
	Значение	95%CI
Чувствительность	94,74 %	80,9%-99%
Специфичность	79,95 %	75,8%-83,6%
Прогностическая ценность положительного результата	29,3 %	21,6%-38,3%
Прогностическая ценность отрицательного результата	99,4 %	97,7%-99,9%
Отношение правдоподобия для положительного исследования	4,73	3,9-5,8
Отношение правдоподобия для отрицательного исследования	0,07	0,02-0,25

Анализ полученных в ходе эндоскопического исследования спектральных показателей, выявил однозначные, статистически значимые различия средних значений между участками бронхиальных стенок с опухолевыми и диспластическими изменениями с одной стороны и прочими патологиями, а также нормальным состоянием бронхов, с другой, для всех предложенных спектрометрических коэффициентов ($p < 0,0001$).

Для наиболее информативных спектрометрических коэффициентов BI-V, dO₂ и IRG были построены по две характеристические ROC-кривые: первая демонстрировала возможность использования анализируемого показателя в дифференциальной диагностике инвазивных опухолей/CIS/дисплазии, а вторая показывала возможность применения коэффициента для выявления группы состоящей из CIS и дисплазии эпителия слизистой бронхов различной степени (т.е. при исключении инвазивных опухолей (рис. 1).

Рисунок 1. Сравнение характеристических кривых показателей BI-V, dO₂ и IRG для групп «опухоли/CIS/дисплазии» (А) и «только CIS и дисплазии» (Б).

А.	Б.
-----------	-----------



Все три показателя были достаточно информативны для диагностики инвазивного РЛ, но что особенно важно, удалось доказать возможность использования спектральных характеристик в диагностике ранних форм центрального рака. В качестве перспективной математической модели возможно использование регрессионного анализа, где в уравнении использованы два основных спектрометрических параметра dO₂, определяемого при обычном освещении и IRG, измеряемого в режиме аутофлуоресценции. Построенная на основании этой модели характеристическая кривая (Logistic Regression Score – LRS), продемонстрировала наибольший из представленных

выше результатов измерения площади под кривой AUC $s=0,89$ (99%CI:0,83-0,95), статистически значимо отличаясь от случайных показателей ($p<0,0001$; H_0 : Area ≤ 0.5 . H_1 : Area > 0.5).

Обсуждение. По литературным данным при выявлении дисплазии эпителия и CIS чувствительность флуоресцентной бронхоскопии в среднем в два раза выше (1,5-6,3), чем бронхоскопия в белом свете. Проведённые исследования показали, что с помощью аутофлуоресценцентной бронхоскопии может быть локализовано до 80% всех опухолевых поражений (43-100%), а при обычной – лишь 40% (9-78%). Метод был апробирован в больших многоцентровых клинических исследованиях, которые показали эффективность при выявлении дисплазий и CIS (68,8% против 21,9%), со снижением специфичности с 81% до 60% [5,6,7,9,11,12].

Использование метода АФБС со спектрометрией позволит снизить количество ненужных биопсий, минимизировать травматичность эндоскопического метода и снизить нагрузку на морфологические подразделения. Например, показатель dO_2 характеризующий степень гипоксии ткани позволяет уменьшить число необязательных биопсий на 65% при потере в чувствительности в 10%. А применение аналитического показателя, полученного в результате регрессионного логистического анализа (LRS), снизило бы количество ненужных биопсий на 40% без потери чувствительности (т.е. вовсе без пропуска патологических изменений) и на 70% при 10% потере чувствительности. Очевидно, что возможность количественной оценки состояния бронхиальных стенок с помощью АФБС со спектрометрией позволит избежать субъективности заключений, свойственных визуальной оценке при обычном эндоскопическом исследовании и отчасти устранить «человеческий фактор».

Иммуногистохимическое исследование, как правило, скудного материала, полученного при бронхобиопсии, позволяет сделать правильные выводы о наличии и степени тяжести патологии бронхиальной стенки. При этом можно утверждать, что существуют статистически значимые различия в уровне экспрессии ряда антител между различными этапами канцерогенеза респираторного эпителия – гиперплазией, метаплазией, дисплазией, CIS и инвазивным раком, в частности: характеризующих тенденции ангиогенеза (CD31 и CD34; $p<0,05$), EGFR ($p<0,05$), пролиферативную активность (Ki-67; $p<0,001$) и уровень апоптоза (p53; $p<0,001$).

Выводы. Таким образом, результаты изучения эффективности комбинированной аутофлуоресцентной бронхоскопии со спектрометрией при выявлении РЛ, в том числе раннего, свидетельствуют о целесообразности внедрения метода в существующий диагностический арсенал. Метод отличается высокой диагностической информативностью, безопасностью и возможностью математической обработки цифровых (спектрометрических) показателей, что позволяет преодолеть субъективность трактовки визуальных данных. Использование предлагаемых спектрометрических коэффициентов (BI-V, O₂sat, HbO₂, Hb, IGR) позволяет снизить количество ненужных биопсий и минимизировать травматичность процедуры. Учитывая, что морфологическое изучение участков бронхиальных стенок, полученных при эндоскопическом исследовании, затруднено в связи с их малыми размерами и повреждениями при щипцевой биопсии, в ряде случаев необходимо их иммуногистохимическое исследование, позволяющее добиться правильной интерпретации полученных данных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Давыдов М.И., Волков С.М., Полоцкий Б.Е. Совершенствование хирургического лечения больных немелкоклеточным раком лёгкого // Рос. онкол. журн. - 2001. – № 5. – С. 14 - 17
2. Мерабишвили В.М., Щербук Ю.А. Онкологическая служба в Санкт-Петербурге и районах города в 2008 году (заболеваемость, смертность, выживаемость). Ежегодник Популяционного ракового регистра // СПб. - 2009. – 240 с. ISBN 978-5-91258-113-7
3. Чернеховская Н.Е. Современные технологии в эндоскопии. – М.: Российская медицинская академия постдипломного образования, 2004. – 136 с.
4. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность) // М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – 256 с.: ил. ISBN 5-85502-024-X
5. Banerjee A.K., Rabbitts P.H., George J. Lung cancer. Fluorescence bronchoscopy: clinical dilemmas and research opportunities // Thorax. – 2003. - 58(3). – P. 266-271.

6. Fawzy Y.S., Zeng H. Determination of scattering volume fraction and particle size distribution in the superficial layer of a turbid medium by using diffuse reflectance spectroscopy // *Appl. Opt.* – 2006. - 1;45(16). – P. 3902-3912.
7. George P., Banerjee A.K., Read C.A. et al. Surveillance for the detection of early lung cancer in patients with bronchial dysplasia // *Thorax*. 2007. - Jan; 62 (1). – P. 43-50.
8. Gilbert S., Luketich J.D., Christie N.A. Fluorescent bronchoscopy // *Thorac. Surg. Clin.* – 2004. - Feb; 14 (1). – P. 71-77.
9. Häussinger K., Becker H., Stanzel F., Kreuzer A. et al. Autofluorescence bronchoscopy with white light bronchoscopy compared with white light bronchoscopy alone for the detection of precancerous lesions: a European randomised controlled multicentre trial // *Thorax*. – 2005. - Jun; 60 (6). P. 496-503.
10. Hirsch F.R., Prindiville S.A., Miller Y.E. et al. Fluorescence versus white-light bronchoscopy for detection of preneoplastic lesions: a randomized study // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2001. – 93. – P. 1385–1391.
11. Kennedy T.C., Miller Y., Prindiville S. Screening for lung cancer revisited and the role of sputum cytology and fluorescence bronchoscopy in a high-risk group // *Chest*. - 2000 Apr; 117 (4 Suppl. 1). – P. 72S-79S.
12. Lam S., MacAulay C., leRiche J.C., Palcic B. Detection and localization of early lung cancer by fluorescence bronchoscopy // *Cancer*. – 2000. – Dec. 1;89 (11 Suppl). – P. 2468-2473.