

А.А. Шавров (мл.)¹, А.А. Шавров², А.Ю. Харитонов², Д.А. Морозов¹, А.Г. Талалаев¹, А.Е. Гайдаенко¹,
Н.А. Калашникова³

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Российская Федерация

³ Ивановская государственная медицинская академия, Российская Федерация

Конфокальная лазерная эндомикроскопия пищеварительного тракта: история развития, проблемы и перспективы у детей

В обзоре современных литературных данных описаны история развития, принцип, методика и клиническое применение конфокальной лазерной эндомикроскопии. Реализация данной технологии позволяет не только дополнить и расширить возможности диагностики с помощью традиционных внутрископических методов исследования, но и определить эффективность лечебных мероприятий при терапии различных болезней пищеварительного тракта. Представлены новые экспериментальные и клинические данные диагностического применения конфокальной лазерной эндомикроскопии в оценке барьерной функции тонкой и подвздошной кишки как предиктора обострения патологического процесса при воспалительных заболеваниях кишечника. Обсуждаются проблемы, связанные с использованием технологии оптической биопсии органов пищеварительного тракта, и перспективы ее применения в педиатрической практике.

Ключевые слова: педиатрия, конфокальная лазерная эндомикроскопия, заболевания пищеварительного тракта.
(Вестник РАМН. 2014; 11–12: 60–66)

60

История развития и современные системы для проведения конфокальной лазерной эндомикроскопии

История конфокальной лазерной микроскопии берет начало в 1955 г. в США, когда американский профессор М. Minsky представил первый опытный образец конфокального микроскопа для исследования нейронной сети в препаратах ткани головного мозга, а также нервных окончаний клеток кожи без предварительного окрашивания. В его основе лежали 2 взаимодействующие и связанные друг с другом оптические линзы, а полученные изображения фиксировались на фотопленку. Изобретение намного опередило свое время, и потому было оставлено без внимания, поскольку тогда просто не существовало компьютерного

оборудования, способного обрабатывать полученную информацию [1, 2].

В конце 60-х – начале 70-х гг. XX в. впервые были опубликованы изображения ткани головного мозга, однако технические возможности конфокального микроскопа того времени все еще не позволяли получать высокоточные изображения из-за низких скоростей сканирования, слабости источников света и сложности фиксации результатов исследования на киноплёнку [3]. Развитие телевизионных, компьютерных и лазерных технологий в 80-х – 90-х гг. способствовало новому витку в развитии конфокальной микроскопии и позволило впервые представить конфокальные изображения тканей *in vivo* животных, роговицы глаза и головного мозга человека [4–6]. В 1995 г. были получены первые гистологические изображения кожи человека *in vivo*,

А.А. Shavrov (Jr.)¹, А.А. Shavrov², А.Ю. Kharitonova², Д.А. Morozov¹, А.Г. Talalaev¹, А.Е. Gaidenko¹,
Н.А. Kalashnikova³

¹ Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

² Moscow Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Traumatology, Russian Federation

³ Ivanovo State Medical Academy, Russian Federation

Confocal Laser Endomicroscopy of Gastrointestinal Tract: History, Problems and Perspectives in Children

In this review history, principles, technique and clinical applications of confocal laser endomicroscopy are briefly described. This technology allows to expand the diagnostic ability of traditional white light endoscopy and to assess effectiveness of therapeutic procedures in different gastrointestinal diseases. New experimental and clinical data in assessing small bowel barrier dysfunction as a predictor of relapse for inflammatory bowel disease is presented. Problems and perspectives regarding application of optical biopsy for gastrointestinal tract in pediatric practice are discussed.

Key words: pediatrics confocal laser endomicroscopy, gastrointestinal diseases.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 11–12: 60–66)

и конфокальная микроскопия нашла клиническое применение в дерматологии [7].

Впервые в гастроэнтерологии конфокальная лазерная эндомикроскопия была использована в 2000 г. при исследовании препаратов ткани желудочно-кишечного тракта [8]. В 2004 г. впервые при проведении колоноскопических исследований были представлены *in vivo* микроскопические изображения слизистой оболочки толстой кишки с выявлением неоплазии и колоректального рака у взрослых больных [9]. Двумя годами позже конфокальная лазерная эндомикроскопия была использована в диагностике неоплазии при пищевом Барретта у взрослых больных [10].

Существует несколько видов конфокальной лазерной эндомикроскопии: отражательная в дерматологии и флуоресцентная — в офтальмологии и гастроэнтерологии. В настоящее время проведение конфокальной лазерной эндомикроскопии пищеварительного тракта доступно с помощью двух систем. Одна — производства Pentax (Япония) — помещена в дистальную часть эндоскопа и называется «эндоскопическая конфокальная лазерная эндомикроскопия» (ЭКЛЭМ). Другая — производства Mauna Kea Technologies (Франция), — имеющая мини-зонд, проведенный через инструментальный канал большинства гибких эндоскопов, получила название «зондовая конфокальная лазерная эндомикроскопия» (ЗКЛЭМ). Среди недостатков ЭКЛЭМ — возможность ее применения только для слизистой оболочки пищеварительного тракта, а размер дистальной части эндоскопа (12,8 мм) при ЭКЛЭМ может стать существенным ограничением при эндоскопии верхнего отдела пищеварительного тракта, особенно у детей младшей возрастной группы. Главным преимуществом ЗКЛЭМ следует признать использование мини-зондов, малый размер которых позволяет применять их при внутрипросветном исследовании не только слизистой оболочки органов пищеварительного тракта, но и бронхолегочной системы, выводных протоков печени и поджелудочной железы.

В последние годы прошли апробацию и готовятся к серийному производству зонды для исследования паренхиматозных органов. Миниатюрный зонд выдвигается из иглы и может быть использован для выполнения оптической биопсии паренхимы печени, поджелудочной железы и других внутренних органов, а также кистозных образований во время лапароскопического исследования или под контролем эндоскопической ультрасонографии.

Контрастные средства

Для получения высококонтрастных изображений гистологической структуры слизистой оболочки пищеварительного тракта необходимо использование диагностических средств, обладающих эффектом флуоресценции. Их можно применять как местно, так и внутривенно. В клинической практике у взрослых наиболее широко используют 10% раствор флуоресцеина натрия, и, по данным мировой литературы, он практически не имеет серьезных побочных эффектов.

В офтальмологической практике, где данное контрастное средство начали применять значительно раньше, такие серьезные осложнения, как анафилактический шок, тромбофлебит, а также неврологические нарушения, по различным данным, составляют от 0,05 до 1,1% [11, 12]. Аллергические реакции составляют 1 случай на 22 тыс. больных [13].

В исследованиях, посвященных применению флуоресцеина у взрослых больных с гастроэнтерологической

патологией, серьезных побочных эффектов выявлено не было. Среди прочих отмечены кратковременная гипотензия, легкая тошнота, воспаление в месте инъекции, самокупирующаяся сыпь и незначительные эпигастральные боли, которые наблюдали в 1,4% случаев. Частота их возникновения не была связана с дозами (2,5–5 мл 10% и 0,1 мг/кг 1% раствора флуоресцеина) и торговыми названиями препаратов. У всех больных имело место кратковременное пожелтение кожных покровов и/или мочи, которое бесследно проходило в течение 2–3 ч [14]. Другие исследователи определили оптимальную дозу и время между внутривенным введением флуоресцеина для получения качественного изображения. Установлено, что высококонтрастное изображение можно получить в течение 0–8 мин после инъекции и наблюдать его картину до 30 мин после введения препарата [15, 16].

Единственным недостатком флуоресцеина является отсутствие прямой визуализации ядер клеток. Его пытались компенсировать местным применением 0,2% акрифлавина гидрохлорида, однако препарат запретили к применению после выявления его мутагенных свойств. Акрифлавин связывается с нуклеиновыми кислотами и влияет на ДНК клетки [17]. В последнее время акрифлавин пытаются заменить 2% кризилвиолетом, но в мировой литературе описаны удачные опыты только с участием животных [18].

До настоящего времени в педиатрической практике отсутствуют прямые показания для внутривенного применения флуоресцеина у детей. Авторам недавнего исследования из Научного центра здоровья детей (Москва) пришлось обращаться в независимый локальный этический комитет и внести на рассмотрение членов ученого совета вопрос о возможности использования этого контрастного средства у подростков, а при удовлетворительных результатах его применения — также и у детей младшей возрастной группы. Флуоресцеин вводили из расчета 5 мг на 1 кг массы тела и исключали пациентов, предрасположенных к аллергическим реакциям, и больных с тяжелыми заболеваниями печени и почек. Было обследовано 124 ребенка с различной патологией желудочно-кишечного тракта, которым для выполнения зондовой конфокальной лазерной эндомикроскопии внутривенно вводили 10% раствор флуоресцеина натрия в вышеуказанной дозе. Всех детей после введения диагностического средства наблюдали на предмет развития нежелательных явлений, которые разделяли на серьезные и незначительные. Серьезными считали осложнения, несущие угрозу для жизни, и они не были отмечены в этой группе исследованных больных. Все остальные побочные эффекты расценивали как незначительные; они проявлялись кратковременной желтушностью кожи и/или видимых слизистых оболочек и ярко желтым окрашиванием мочи, которые бесследно проходили в течение 2–6 ч. Строгое выполнение протокола отбора для проведения исследования помогает избежать каких-либо серьезных осложнений при введении препарата, что позволяет авторам рекомендовать 10% раствор флуоресцеина из расчета 5 мг на 1 кг массы тела как диагностическое средство при проведении ЗКЛЭМ пищеварительного тракта в педиатрической практике [19].

Методика проведения конфокальной лазерной эндомикроскопии пищеварительного тракта и проблемы интерпретации полученных изображений

Методика ЗКЛЭМ пищеварительного тракта описана только у взрослых больных. Согласно рекомендациям

по ее применению, необходимо осуществить настройку оборудования в соответствии с предписанием, выполнить калибровку зонда и подготовить его к работе. В целях минимизации артефактов, обусловленных контактной кровоточивостью и минимальным повреждением тканей, зонд во время исследования должен аккуратно соприкасаться с поверхностью слизистой оболочки без излишнего давления или травматизации тканей. Наиболее оптимальным следует считать перпендикулярное расположение зонда к ее поверхности. Как только патологическая область при эндоскопическом осмотре идентифицирована, к ней подводят дистальную часть эндоскопа при ЭКЛЭМ или зонд при ЗКЛЭМ и, скользя по ее поверхности, выполняют процесс лазерного сканирования. Это сопровождается появлением на экране динамически меняющейся монохромной микроскопической картины структуры слизистой оболочки, которая может быть записана и воспроизведена для детального анализа. Учитывая увеличение продолжительности периода диагностической процедуры в интервале от 15 до 30 мин и необходимость поддержания стабильности получаемых изображений, исследование следует выполнять при хорошей седации или общем обезболивании.

Визуальная картина при конфокальной эндомикроскопии отлична от эндоскопической и в большей степени понятна специалистам-гистологам, поэтому для интерпретации полученных данных необходимо привлекать морфологов. Эндоскопист, который выполняет конфокальную эндомикроскопию, должен обладать фундаментальными знаниями для оценки неизменной и патологически измененной слизистой оболочки пищеварительного тракта. Он не может заменять морфолога, но должен дифференцировать нормальную и патологически измененную слизистую оболочку, чтобы взять из нее биопсию для последующего гистологического исследования. По мнению ряда авторов, чтобы стать достаточно опытным специалистом в области ЗКЛЭМ, необходимо разобрать от 50 до 70 случаев и пройти двухчасовую тренировку [20].

Важной следует считать выработку стандартов в интерпретации конфокальных изображений слизистой оболочки пищеварительного тракта, чтобы свести к минимуму оценку вариабельности этих изменений. В мировой литературе предложены различные классификации конфокальных изображений слизистой оболочки пищеварительного тракта, наблюдаемые во время проведения традиционного эндоскопического исследования. Все они показали хорошую корреляционную взаимосвязь с традиционным гистологическим исследованием биоптатов слизистой оболочки пищеварительного тракта у взрослых пациентов. Впервые эндомикроскопические конфокальные признаки неизменной, регенеративной и неопластической структуры слизистой оболочки толстой кишки были приняты в 2004 г., они были названы критериями Майнца [9]. Позже их дополнили описанием структуры колоректальных полипов [21]. В 2010 г. по данным ЭЛКЭМ была предложена классификация эндомикроскопических признаков *Helicobacter pylori*-ассоциированного гастрита у взрослых пациентов [22]. Годом позднее специально для ЗКЛЭМ разработали классификацию Майами, в которой описаны неизменная и патологическая структура слизистой оболочки всего пищеварительного и билиарного тракта, эндомикроскопические признаки гиперпластических и аденоматозных полипов [23]. В 2012 г. для оценки степени нарушения барьерной функции кишки при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) были пред-

ложены ее конфокальные критерии, названные шкалой Уотсон [24].

Клиническое применение и перспективы развития конфокальной лазерной эндомикроскопии

Конфокальная лазерная эндомикроскопия успешно и широко применяется в офтальмологии, дерматологии, а в последнее время — в гастроэнтерологии, пульмонологии, урологии, гинекологии и хирургии у взрослых пациентов.

Пищевод Барретта (ПБ) — это замещение цилиндрическим эпителием слизистой оболочки в дистальном отделе пищевода с гистологическим подтверждением кишечной метаплазии [25]. Интерес к данному осложнению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни среди взрослых пациентов вызван высоким уровнем развития аденокарциномы, диагностируемой на неизлечимой стадии болезни. По мнению ряда авторов, при пищеводе Барретта риск возникновения аденокарциномы увеличивается в 20–60 раз [26]. Основным методом диагностики пищевода Барретта является эндоскопическое исследование с множественными биопсиями пораженного участка слизистой оболочки, что приводит к дополнительной ее травматизации, психологической нагрузке на больного, увеличению необходимого времени и финансовых расходов, связанных с гистологическим исследованием. В 2006 г. впервые были опубликованы данные о применении метода конфокальной эндомикроскопии при пищеводе Барретта у 63 взрослых пациентов. Пищевод Барретта и неопластическое перерождение с помощью оптической биопсии были диагностированы с чувствительностью 98,1 и 92,9% и специфичностью 94,1 и 98,4%, соответственно [10]. В другом двойном слепом рандомизированном исследовании по диагностике дисплазии при пищеводе Барретта у 38 взрослых больных чувствительность и специфичность метода составили, соответственно, 80 и 94% [27].

Эозинофильный эзофагит — воспалительное хроническое иммуно- / антигенопосредованное заболевание, характеризующееся выраженной эозинофильной инфильтрацией слизистой оболочки пищевода [28]. Всего лишь 15 лет назад оно считалось редкой патологией, однако в последнее время, по данным мировой литературы, частота его диагностирования возросла и составляет от 0,01 до 0,1% в популяции педиатрических и взрослых больных. Этиология данного состояния полностью не раскрыта, а длительное его течение приводит к повреждению стенки пищевода, сужениям и стриктурам. Диагноз ставят после проведения эндоскопического исследования с серией биопсий слизистой оболочки пищевода, число которых особенно важно, поскольку чувствительность гистологического исследования к эозинофильному эзофагиту по результатам одной биопсии составляет лишь 55%, в то время как 5 фрагментов дают 100% результат [29]. В связи с этим определенный интерес представляет роль ЗКЛЭМ в диагностике эозинофильного эзофагита. Недавнее исследование показало расширение межклеточных пространств и капилляров, при этом сохранялась структура «сквамозного» эпителия, отмечены капиллярные утечки флуоресцеина и скопление в межклеточных пространствах мелких клеток, схожих с эозинофилами [30]. На данный момент это единственная опубликованная в мировой литературе работа, посвященная диагностике эозинофильного эзофагита *in vivo*.

H. pylori является одной из основных причин развития патологических изменений слизистой оболочки желудка, приводящих к хроническому гастриту, язвенной болезни и раку желудка [25, 31, 32]. ЭКЛЭМ при гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, у 118 взрослых больных показала, что данный метод позволяет выявлять возбудителя с чувствительностью 82,9% и специфичностью 90,9%, кишечную метаплазию — в 98,6 и 100% случаев, атрофию желез — в 92,9 и 95,2% случаев, соответственно [22].

Глютен при целиакии является медиатором энтеропатии, приводящей к диффузной атрофии ворсинок и гипертрофии крипт тонкого кишечника. Поражение слизистой оболочки может быть очаговым, поэтому для гистологического подтверждения диагноза необходимо взять не менее 4 биопсий [33]. Учитывая вышесказанное, конфокальная эндомикроскопия у таких пациентов может оказаться потенциально полезным методом диагностики. Leong и соавт. описали конфокальные изменения при целиакии у 31 взрослого больного, отметив хорошую корреляцию ЭКЛЭМ с гистологической классификацией степени атрофии по Марш. Чувствительность составила 94%, специфичность — 92%. Полученные данные подтвердили роль конфокальной эндомикроскопии в установлении диагноза целиакии и позволили оценить эффективность проводимых лечебных мероприятий [34].

Скрининг программы при колоноскопии ВЗК у взрослых больных направлен на взятие как прицельных, так и случайных биопсий четырехквadrантным методом через каждые 10 см от слепой до прямой кишки, прежде всего на выявление раннего рака, особенно при диффузном поражении кишечника, протекающие более 8 лет [25, 31, 35]. В связи с этим в недавнем проспективном рандомизированном исследовании 161 больного с неспецифическим язвенным колитом сравнили результаты традиционной колоноскопии со взятием биоптатов слизистой оболочки, дополненной хромоэндоскопией и ЗКЛЭМ. Последний метод исследования позволил обнаружить в 4,75 раза больше диспластических изменений, чем обычный протокол взятия биопсий. При этом комбинирование хромоэндоскопии и ЗКЛЭМ дало возможность вдвое снизить число необходимых биопсий без увеличения времени, затраченного на проведение процедуры [36].

В настоящее время ведутся активные исследования по определению факторов, способствующих обострению ВЗК. В числе прочих рассматривают и теорию о том, что нарушение барьерной функции кишечника инициируется провоспалительными цитокинами, в особенности фактором некроза опухоли (ФНО) α , что ведет к выпадению эпителиальных клеток, разрыву щеточной каймы ворсин, изъязвлению слизистой оболочки и рецидиву заболевания [37–43]. Эти предположения были подтверждены оптической биопсией позвздошной кишки у больных с ВЗК, которая, в отличие от группы сравнения, при ЭКЛЭМ показала нарушение целостности структуры щеточной каймы ворсин в виде точечных затеков флуоресцеина и микроэрозий. Все это позволило авторам составить шкалу степени тяжести этих повреждений, позволяющей предсказывать обострение ВЗК с чувствительностью, специфичностью и точностью 62,5; 91,2 и 79%, соответственно [24]. Другие авторы, отмечая, что эти разрывы могут наблюдаться и группе здоровых лиц при физиологическом обновлении эпителия слизистой оболочки тонкой кишки [44], с помощью конфокальной эндомикроскопии разработали более точную числовую

меру обострения ВЗК: плотность разрывов щеточной каймы, которую расценили как общее число клеточных разрывов на 1000 клеток, подсчитанных в видимой ворсине [45].

Clostridium difficile является одной из наиболее значимых причин диарей, вызываемых внутрибольничной флорой. Диагностика, основанная на сборе анамнеза и лабораторных исследованиях, включающих выращивание токсигенных культур, остается «золотым стандартом» верификации этой патологии [46]. ЗКЛЭМ позволяет определить *in vivo* присутствие *C. difficile* и ассоциированные с ними гистологические изменения слизистой оболочки. Чувствительность метода составила 88,9%, специфичность — 97,2%, точность — 96,2% [47].

Иммунная реакция отторжения является одним из тяжелых осложнений при трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток [48, 49]. Ее ранняя диагностика основана на эндоскопии со взятием биоптата слизистой оболочки и подтверждением наличия апоптотных клеток в просвете крипт, что позволяет вовремя дифференцировать причину диареи и увеличить дозу иммуносупрессивной терапии [50, 51]. Гистологическое исследование 35 больных с острой диареей после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток показало признаки иммунной реакции отторжения трансплантата у 19 больных, из которых у 14 эти изменения были подтверждены конфокальной эндомикроскопией. При этом в половине наблюдений макроскопическая картина соответствовала эндоскопической семиотике неизмененной слизистой оболочки. Помимо единичных клеток с признаками апоптоза, эндомикроскопически признаками ранней иммунной реакции отторжения трансплантата были капиллярные утки флуоресцеина, очаговая деструкция или отсутствие крипт. Чувствительность метода конфокальной эндомикроскопии по отношению к гистологической картине составила 74%, специфичность — 100% [52].

Колоректальный рак занимает 4-е место в мире в структуре всех онкологических заболеваний и находится на 2-м месте по смертности от рака в развитых странах мира [53]. Его диагностика чрезвычайно важна на ранней стадии развития болезни, поэтому первое применение конфокального метода в гастроэнтерологии, было посвящено именно колоректальному раку. Сопоставление результатов конфокальной эндомикроскопии и гистологического исследования биоптатов у 42 взрослых пациентов показало, что оптическая биопсия позволяет определить наличие неопластических клеток с точностью 99,2%, специфичностью 99,4% и чувствительностью 97,4% [9]. Нередко колоректальный рак развивается из полиповидных образований, поэтому основной задачей колоноскопии является верификация полипов на стадии предрака и их удаление. Ряд авторов описали применение ЗКЛЭМ для дифференциальной диагностики колоректальных полипов. Исследование 32 мелких полипов размером от 1 до 9 мм у 20 взрослых больных позволило диагностировать неоплазию с чувствительностью 100% и специфичностью 85% [54]. Сочетание этого метода с другими внутрископическими технологиями улучшило точность диагностики неопластического перерождения при исследовании 130 полипов более 10 мм в диаметре [20, 55].

Дифференцировать доброкачественные и злокачественные стриктуры желчевыводящих протоков довольно сложно, поэтому постановка диагноза, как правило, затягивается и требует либо хирургического вмешательства, либо длительного наблюдения [56–58]. Злокачественные изменения с помощью ЗКЛЭМ могут быть определены

с точностью 86%, чувствительностью 83% и специфичностью 88% [59]. Недавнее исследование 37 больных с подозрением на стеноз желчевыводящих протоков с помощью холангиоскопии и ЗКЛЭМ подтвердило его у 30 пациентов; у 7 причиной были камни, которые были успешно удалены. Результаты оптической биопсии показали, что в структуре стенотического поражения желчевыводящих протоков преобладало злокачественное перерождение, которое подтвердилось у 23 больных. Неопластические изменения с помощью ЗКЛЭМ определялись с точностью 86%, чувствительностью 83% и специфичностью 75% [60].

Число исследований с применением ЗКЛЭМ при болезнях пищеварительного тракта в мировой педиатрической практике невелико. В одном из них для диагностики осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни обследовали 46 пациентов, из которых 17 детей составили группу контроля. Проведенные исследования показали, что оптическая биопсия в диагностике воспалительных изменений слизистой оболочки пищевода помогает определить эзофагит с чувствительностью 93% и специфичностью 94%; метапластические изменения — 83 и 100%, соответственно. Чувствительность в дифференциальной диагностике полипов кардиоэзофагеального перехода составила 89% [61]. Годом позднее данный коллектив авторов определил значение ЗКЛЭМ в оценке хирургического лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. Полученные данные позволили авторам утверждать, что уменьшение степени выраженности воспалительных изменений и увеличение числа наблюдений неизменной слизистой оболочки пищевода в отдаленные сроки могут быть объективным показателем адекватного хирургического лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, а эндомикроскопическое подтверждение ее осложнений может стать абсолютным показанием к проведению лапароскопической фундопликации по Ниссену [62].

В другом комплексном обследовании эндоскопия толстой кишки была дополнена оптической биопсией у 29 детей с ВЗК: обнаружено, что у 20,7% пациентов клинические и эндоскопические признаки ремиссии не соответствуют выявленным эндомикроскопическим изменениям, полученным при ЗКЛЭМ. При сопоставлении с результатами традиционных морфологических

исследований чувствительность метода составила 100%, специфичность — 67%, что позволяет использовать его в качестве скринингового для гистологического диагноза и динамического мониторинга активности ВЗК у детей с целью оценки эффективности терапии [63].

Заключение

Конфокальная лазерная эндомикроскопия может стать весомым дополнением к традиционному внутрипросветному исследованию пищеварительного тракта, поскольку позволит в реальном времени осмотреть слизистую оболочку на клеточном уровне и поможет в постановке диагноза. В отличие от гистологического метода, исследующего образцы слизистой оболочки, ограниченные размерами биоптата, данная технология дает возможность оценить состояние слизистой оболочки на протяженных участках пищеварительного тракта и выполнить неограниченное число оптических биопсий пищеварительного тракта. Возможность этого метода дифференцировать нормальное дисплазированное и метаплазированное состояние слизистой оболочки поможет в постановке гистологического диагноза и в решении объема необходимой резекции участков ее патологических изменений во время традиционного эндоскопического исследования. Это позволит избежать ненужных биопсий и уменьшить рабочую нагрузку на гистолога. Несомненно, что конфокальная лазерная эндомикроскопия — многообещающая оптическая технология, которая, вероятно, изменит взгляды на традиционную внутрипросветную эндоскопию, но пока она доступна только для хорошо укомплектованных эндоскопических центров с соответствующей морфогистологической поддержкой. Вместе с тем усовершенствование технологий в ближайшем будущем, вероятно, даст возможность найти для нее более широкое практическое применение.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscopy. *Scanning*. 1988; 10: 128–138.
2. Minsky M. Microscopy apparatus. Pat. US № 3013467 A on 19.12.1961.
3. Egger M.D., Petran M. New reflected-light microscope for viewing unstained brain and ganglion cells. *Science*. 1967; 157: 305–307.
4. Brakenhoff G.J., Blom P., Barends P. Confocal scanning light microscopy with high aperture immersion lenses. *J. Microscopy*. 1979; 117: 219–232.
5. Hamilton D.K., Wilson T. Scanning optical microscopy by objective lens. *Scanning J. Physics*. 1986; 19: 52–54.
6. Cavanagh H.D., Jester J.V., Essepian J., Shields W., Lemp M.A. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J*. 1990; 16: 65–73.
7. Rajadhyaksha M., Grossman M., Esterowits D., Webb R.H., Anderson R.R. *In vivo* confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J. Invest. Dermatol*. 1995; 104: 946–952.
8. Innoue H., Igari T., Nishikage T., Ami K., Yoshida T., Iwai T. A novel method of virtual histopathology using laser-scanning confocal microscopy *in vitro* with untreated fresh specimens from the gastrointestinal mucosa. *Endoscopy*. 2000; 32: 439–443.
9. Kiesslich R., Burg J., Vieth M., Gnaendiger J., Enders M., Delaney P. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer *in vivo*. *Gastroenterology*. 2004; 3: 706–713.
10. Kiesslich R., Gossner L., Goetz M., Dahlmann A., Vieth M., Stolte M., Hoffman A., Neurath M.F. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin. Gastroent. Hepatol*. 2006; 4: 979–987.
11. Kwan A.S., Barry C., McAllister I.L., Constable I. Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: the Lions Eye experience. *Clin. experiment ophthalmol*. 2006; 34: 33–38.
12. Lopez-Saez M.P., Ordoqui E., Tornero P., Baeza A., Sainza T., Zubeldia J.M., Baeza M.L. Fluorescein-induced allergic reaction. *Ann. Allergy Asthma Immunol*. 1998; 81: 428–430.
13. Yannuzzi L.A., Rohrer K.T., Tindel L.J., Sobel R.S., Costanza M.A., Shields W., Zang E. Fluorescein angiography complication survey. *Ophthalmology*. 1986; 93: 611–617.

14. Wallace M.B., Meining A., Canto M.I., Fockens P., Miehke S., Roesch T., Lightdale C.J., Pohl H., Carr-Locke D., Lohr M., Coron E., Filoche B., Giovannini M., Moreau J., Schmidt C., Kiesslich R. The safety of intravenous fluorescein for confocal laser endomicroscopy in the gastrointestinal tract. *Alimen. Pharmacol. and Ther.* 2010; 31 (5): 548–552.
15. Becker V., von Delius S., Bajbouj M., Karagianni A., Schmid R.M., Meining A. Intravenous application of fluorescein for confocal laser scanning microscopy: evaluation of contrast dynamics and image quality with increasing injection to imaging time. *Gastrointest. Endosc.* 2008; 68: 319–323.
16. Wallace M., Bucher A., Becker V., Meining A. Determination of the optimal fluorescein dose of probe based confocal endomicroscopy in colonic imaging. *Gastrointest. Endosc.* 2009; 69 (5): 375.
17. De Palma G.D. Confocal laser endomicroscopy in the *in vivo* histological diagnosis of the gastrointestinal tract. *World J. Gastroenterol.* 2009; 15 (46): 5770–5775.
18. George M., Meining A. Cresyl violet as a fluorophore in confocal laser scanning microscopy for future *in vivo* histopathology. *Endoscopy.* 2003; 35: 1033–1038.
19. Шавров (мл.) А.А., Александров А.Е., Шавров А.А., Харитонов А.Ю., Волинец Г.В., Талалаев А.Г. Безопасность внутривенного введения флуоресцеина при конфокальной лазерной эндомикроскопии пищеварительного тракта у детей. *Педиатрическая фармакология.* 2013; 10 (5): 56–58.
20. Buchner A.M., Gomez V., Heckman M.G., Shahid M.W., Achem S., Gill K.R., Jamil L.H., Kahaleh M., Lo S.K., Picco M., Riegert-Johnson D., Raimondo M., Sciemeca D., Wolfsen H., Woodward T., Wallace M.B. The learning curve of *in vivo* probe-based confocal laser endomicroscopy for prediction of colorectal neoplasia. *Gastrointest. Endosc.* 2011; 73 (3): 556–560.
21. Wallace M.B., Ussui V.M. Confocal endomicroscopy of colorectal polyps. *Gastroenterol. Res. & Practice.* 2012; 6.
22. Wang P., Ji R. Classification of histological severity of *Helicobacter pylori* associated gastritis by confocal laser endomicroscopy. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16 (41): 5203–5210.
23. Wallace M., Lauwers G.Y., Chen Y., Dekker E., Fockens P., Sharma P., Meining A. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy.* 2011; 43 (10): 882–891.
24. Kiesslich R., Duckworth C.A., Moussata D., Gloeckner A., Lim L.G., Goetz M., Pritchard D.M., Galle P.R., Neurath M.F., Watson A. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2012; 61 (8): 1146–1153.
25. Баранов А.А., Климанская Е.В., Римарчук Г.В. Детская гастроэнтерология. М. 2002. 592 с.
26. Di Pietro M., Fitzgerald R.C. Screening and risk stratification for Barrett's esophagus: how to limit the clinical impact of the increasing incidence of esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2013; 42 (1): 155–173.
27. Pohl H., Rosch T., Vieth M., Koch M., Becker V., Anders M., Khalifa A.C., Meining A. Miniprobe confocal laser microscopy for the detection of invisible neoplasia in patients with Barrett's esophagus. *Gut.* 2008; 57: 1648–1653.
28. Ивашкин В.Т., Баранская Е.К., Кайбышева В.О., Иванова Е.В., Федоров Е.Д. Эозинофильный эзофагит: обзор литературы и описание собственного наблюдения. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2012; 1: 71–81.
29. Putnam P.E., Rothenberg M.E. Eosinophilic esophagitis: concepts, controversies, and evidence. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2009; 11: 220–225.
30. Neumann H., Veith M., Atreya R., Mudter J., Neurath M.F. Description of eosinophilic esophagitis using confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy.* 2011; 43: 66.
31. Лазебник Л.Б., Щербakov П.Л. Гастроэнтерология. М.: Издание медицинских книг. 2011. 357с.
32. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. *Am. J. Surg. Pathol.* 1996; 20: 1161–1181.
33. Harris L., Park J., Vologgi L., Lam-Himlin D. Celiac disease: clinical, endoscopic and histopathologic review. *Gastrointest. Endosc.* 2012; 76 (3): 625–640.
34. Leong R., Humphris J., Swartz D., Egan B. Status of confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal disease. *Tropical Gastroenterology.* 2012; 33 (1): 9–20.
35. Cheon J.H., Kim W.H. Recent advances of endoscopy in inflammatory bowel diseases. *Gastrointest. Endosc.* 2008; 18: 451–466.
36. Kiesslich R., Goetz M., Lammersdorf K. Chromoscopy guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2007; 132: 874–882.
37. Kiesslich R., Goetz M., Manges E.M. Identification of epithelial gaps in human small and large intestine by confocal laser endomicroscopy. *Gastroenterology.* 2007; 133: 1769–1778.
38. Meddings J. The significance of the gut barrier dysfunction in disease. *Gut.* 2008; 57 (4): 438–440.
39. Watson A.J., Chu S., Sieck L., Gerasimenko O. Epithelial barrier function *in vivo* is sustained despite gaps in epithelial layer. *Gastroenterology.* 2005; 129: 902–912.
40. Shih D.Q., Targan S.R. Insights into IBD pathogenesis. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2009; 11: 473–480.
41. Rutgeerts P., Feagan B.G., Lichtenstein G.R., Mayer L.F., Wolf D.C., Bao W. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's Disease. *Gastroenterology.* 2004; 126: 402–413.
42. Nenci A., Becker C., Wullaert A., Gareus R., van Loo G., Danese S., Huth M. Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation. *Nature.* 2007; 446: 557–461.
43. Garret W.S., Lord G.M., Punit S., Lugo-Villarino G., Mazmanian S.K., Ito S. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell.* 2007; 131: 33–45.
44. Liu J.J., Wong K., Thiesen A.L., B. Claggett, Mah S.J. Increased epithelial gaps in the small intestines of patients with inflammatory bowel disease: density matters. *Gastrointest. Endosc.* 2011; 73: 1174–1180.
45. Liu J.J., Madsen K.L., Boulanger P., Dieleman L.A., Meddings J. Mind the gaps: confocal endomicroscopy showed increased density of small bowel epithelial gaps in inflammatory bowel disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2011; 45: 240–245.
46. Crobach M.J., Dekkers O.M., Wilcox M.H., Kuijper E.J. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease: data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile* infection. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (12): 1053–1066.
47. Neumann H., Vieth M., Grauer M., Grauer M., Wittkopf N. Confocal laser endomicroscopy for *in vivo* diagnosis of *Clostridium difficile* associated colitis a pilot study. *Gastrointest. Endosc.* 2011; 73 (4): 142.
48. Glucksberg H., Storb R., Fefer A., Buckner C.D., Neiman P.E. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA matched sibling donors. *Transplantation.* 1974; 18: 295–304.
49. Geeg H.J. How to treat acute GVHD. *Blood.* 2007; 109: 4119–4126.
50. Cox G.J., Matsui S.M., Lo R.S., Hinds M., Bowden R.A., Hackman R.C. et al. Etiology and outcome of diarrhea after marrow transplantation: a prospective study. *Gastroenterology.* 1994; 107: 1398–1407.
51. Shulman H.M., Kleiner D., Lee S.J., Morton T., Pavletic S.Z. et al. Histopathologic diagnosis of chronic graft versus host disease. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft versus Host Disease. II Pathology Working Group Report. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006; 12: 31–47.

52. Bojarski C., Gunther U., Rieger K., Heller F., Zeitz M. *In vivo* diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by confocal endomicroscopy. *Endoscopy*. 2009; 41: 433–438.
53. Wang J., Jiang J., Zhao Y., Kuriki K., Suzuji S., Nagaya T. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes and susceptibility to colorectal cancer: a case control study in an Indian population. *Cancer Epidemiology*. 2011; 35 (1): 66–72.
54. De Palma G.D., Staibano S., Siciliano S., Persico M., Masone S., Malone F. *In vivo* characterisation of superficial colorectal neoplastic lesions with high resolution probe based confocal laser endomicroscopy in combination with video mosaicing: a feasibility study to enhance routine endoscopy. *Digestive and Liver Disease*. 2010; 42 (11): 791–797.
55. Sanduleanu S., Driessen A., Gomez-Garsia E., Hemeeteman W. et al. *In vivo* diagnosis and classification of colorectal neoplasia by chromoendoscopy guided confocal laser endomicroscopy. *Clin. Gastroent. Hepatol.* 2010; 8 (4): 371–378.
56. Benneth J.J., Green R.H. Malignant masquerade: dilemmas in diagnosing biliary obstruction. *Surgical Oncology Clin. North Am.* 2009; 18 (2): 207–214.
57. Fockens P., Wallace M.B. Probe based confocal laser endomicroscopy. *Gastroenterology*. 2009; 136 (5): 1509–1513.
58. Loeser C.S., Robert M.E., Mennone A., Nathanson M.H., Jami-dar P. Confocal endomicroscopic examination of malignant biliary strictures and histologic correlation with lymphatics. *J. Clin. Gastroenterol.* 2011; 45 (3): 246–252.
59. Meining A., Saur D., Bajbouj M., Becker V. *In vivo* histopathology for detection of gastrointestinal neoplasia with a portable, confocal miniprobe: an examiner blinded analysis. *Clin. Gastroent. Hepatol.* 2007; 5: 1261–1267.
60. Giovannini M., Bories E., Monges G., Pesenti C., Cailot F., Delpe-ro J.R. Results of a phase I–II study on intraductal confocal microscopy (IDCM) in patients with common bile duct (CBD) stenosis. *Surg. Endosc. & Other Intervent. Techniq.* 2011; 25 (7): 2247–2253.
61. Шавров (мл.) А.А., Киргизов И.В., Вольнец Г.В., Талалаев А.Г., Харитонов А.Ю., Шавров А.А. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике осложнений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2013; 4: 10–15.
62. Шавров А.А. (мл.), Киргизов И.В., Шавров А.А., Талалаев А.Г., Харитонов А.Ю., Вольнец Г.В., Джилаван М.Г. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в оценке результатов хирургического лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. *Детская хирургия*. 2014; 2: 16–19.
63. Венедиктова М.М., Шавров А.А. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике воспалительных заболеваний кишечника у детей. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2012; 4: 17–21.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Шавров Антон Андреевич, врач-эндоскопист эндоскопического отделения Научного центра здоровья детей
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-04-12, **e-mail:** shavrovnczd@yandex.ru

Шавров Андрей Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения гнойной хирургии НИИ неотложной детской хирургии и травматологии
Адрес: 119180, Москва, ул. Большая Полянка, д. 22, **тел.:** +7 (495) 959-51-20, **e-mail:** shavrovAA@yandex.ru

Харитонов Анастасия Юрьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения гнойной хирургии НИИ неотложной детской хирургии и травматологии
Адрес: 119180, Москва, ул. Большая Полянка, д. 22, **тел.:** +7 (495) 959-51-20, **e-mail:** anastesia08@mail.ru

Морозов Дмитрий Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением общей хирургии Научного центра здоровья детей
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-13-17, **e-mail:** morozov@nczd.ru

Талалаев Александр Гаврилович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий патологоанатомической лабораторией Научного центра здоровья детей
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495)237-07-72, **e-mail:** talalaev@mail.ru

Гайдаенко Андрей Евгеньевич, врач-эндоскопист эндоскопического отделения Научного центра здоровья детей
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-04-12, **e-mail:** amniot@yandex.ru

Калашикова Наталья Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии ИвГМА
Адрес: 153012, Иваново, Шереметьевский пр-т, д. 8, **тел.:** +7 (4932) 300-622, **e-mail:** anesthesia08@mail.ru