

# Laserowa endomikroskopia konfokalna – zasada działania, zastosowania, możliwości rozwoju

## Confocal laser endomicroscopy – principles, clinical practice, future trends

Janusz Milewski, Krystian Żuk, Maciej Kierzkiewicz, Grażyna Rydzewska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie

Przegląd Gastroenterologiczny 2011; 6 (1): 1–16  
DOI: 10.5114/pg.2011.20098

**Słowa kluczowe:** konfokalna laserowa endomikroskopia, histologia *in vivo*, wykrywanie neoplazji.

**Key words:** confocal laser endoscopy, confocal endomicroscope, *in vivo* microscopy, *in vivo* histology, detection of neoplasms.

---

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Janusz Milewski, Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie, ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa, tel. +48 22 508 12 40, e-mail: janusz.milewski@post.pl

### Streszczenie

Laserowa endomikroskopia konfokalna jest nową techniką umożliwiającą w trakcie badania endoskopowego ocenę błony śluzowej z dokładnością zbliżoną do badania histopatologicznego. Aby uzyskać obrazy endomikroskopowe niezbędne jest przed badaniem podanie dożylnie czynników fluorescencyjnych. Mikroskop konfokalny zintegrowany z końcówką endoskopu emituje wiązkę światła laserowego, która wzbudza podany przed zabiegiem środek fluorescencyjny do emisji światła, które odpowiednio przetworzone tworzy obrazy konfokalne porównywalne do obrazów mikroskopowych. Metoda ta okazała się pomocna w rozpoznawaniu neoplazji u chorych z przełykiem Barretta, polipami oraz z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Endomikroskopia konfokalna może być także ważną metodą diagnostyczną w chorobie trzewnej i wczesnym raku żołądka. W pracy zawarte zostały własne wstępne doświadczenia z wykorzystania mikroskopii konfokalnej.

### Wprowadzenie

Początki rozwoju nowoczesnej endoskopii z zastosowaniem włókien światłowodowych sięgają lat 50. ubiegłego wieku, kiedy badano przede wszystkim pacjentów z objawami chorób przewodu pokarmowego lub weryfikowano rozpoznania uzyskiwane na podstawie badań radiologicznych. Postęp technologiczny umożliwił rozwój aparatury endoskopowej: wprowadzenie wideoendoskopii, chromoendoskopii oraz endoskopii z powiększeniem, co pozwoliło precyzyjnie oceniać powierzchnię błony śluzowej, a więc lepiej i wcześniej rozpoznawać choroby przewodu pokarmowego. Wykrycie zmian wczesnych, kluczowe w walce z chorobami nowotworowymi, pozwała na zastosowanie terapii endoskopowej lub małoinwazyjnej chirurgii. Poprawa wizualizacji nie zmienia faktu,

### Abstract

Confocal laser endomicroscopy (CLE) is a new technique allowing during ongoing endoscopy microscopic subsurface examination of the digestive mucosa. CLE is based on tissue fluorescence after intravenous injection of a fluorescent marker. A confocal microscope integrated into the distal tip of the endoscope generates images of the mucosa with a high level of magnification (1000 ×) comparable with histological examination. Confocal endomicroscopy can be helpful for the early diagnosis of dysplasia in patients with Barrett's oesophagus, neoplastic changes in colonic polyps and in patients with ulcerative colitis. CLE can also be used for diagnosis of coeliac disease and early gastric cancer. This article summarizes our own experience with this revolutionary method.

że dopiero badanie histopatologiczne wymagające odpowiedniego czasu pozwala na podjęcie decyzji terapeutycznych. Laserowa endomikroskopia konfokalna (*confocal laser endomicroscopy* – CLE), umożliwiającą obrazowanie struktur wielkości do 250 μm pod powierzchnią błony śluzowej z 1000-krotnym powiększeniem, jest próbą jednoczesnego badania endoskopowego z oceną zbliżoną do rozpoznań histopatologicznych. Przydatność endomikroskopii w świetle aktualnie dostępnych danych autorzy starali się ocenić na podstawie własnego doświadczenia z wykorzystaniem tej nowatorskiej metody.

### Zasada działania

Podstawy działania mikroskopii konfokalnej zostały opracowane przez Marviną Minskiego w latach 50.

XX wieku [1]. Obraz mikroskopowy charakteryzuje się dużym powiększeniem, odbywa się to jednak kosztem zmniejszenia głębi ostrości. Ocena żywej tkanki, nawet jeżeli przenika przez nią światło, jest praktycznie niemożliwa z powodu artefaktów świetlnych ze struktur leżących poza ogniskową aparatu. Ocena tkanki pod mikroskopem wymaga jej pocięcia na bardzo cienkie warstwy o grubości odpowiadającej głębi ostrości dla danego powiększenia. W mikroskopii konfokalnej za pomocą źródła światła laserowego, specjalnego układu optycznego oraz procesora komputerowego uzyskuje się odpowiednio ostre obrazy kolejnych płaszczyzn tak daleko w głąb, jak możliwe jest przenikanie światła lasera, a odpowiedni układ optyczny odcina zakłócenia świetlne z tkanki poza ogniskową. Początkowe ograniczenia techniczne, uniemożliwiające konstrukcję odpowiedniej aparatury, zostały przezwyciężone dzięki miniaturyzacji i zastosowaniu przez Dalaneya i wsp. [2] jednego włókna optycznego przewodzącego światło lasera docierające w głąb tkanki, a także obrazy emitowane z kolejnych płaszczyzn. Zastosowanie mikroskopii konfokalnej w endoskopii stało się możliwe. Pierwszy system endoskopii konfokalnej składający się z kolonoskopu Pentax EC 3830FK wyposażonego w skaner konfokalny, system kalibracji i konektor łączący endoskop z procesorem konfokalnym powstał w 2004 r. [3]. Procesor konfokalny składa się ze źródła światła laserowego i detektora stanowiącego złożony system optyczno-elektroniczny. Światło laserowe o długości fali 488 nm, emitowane przez źródło i przesyłane następnie przez włókno optyczne, przechodzi w obrębie skanera przez system elektromagnesów sterujących kierunkiem wiązki w trzech płaszczyznach. Wiązka światła przechodzi na kolejnym etapie przez układ soczewek, trafia w obręb tkanki, gdzie wzbudza środek fluorescencyjny do emisji światła dostarczanego tym samym systemem, ale w przeciwnym kierunku do fotodetektora przetwarzającego dane na obrazy mikroskopowe. Odpowiedni układ filtrujący na kilku poziomach ogniskuje wiązkę światła (stąd określenie „konfokalna” – współogniskowa) i eliminuje artefakty, zachowując wyłącznie fale w dokładnie zdefiniowanej płaszczyźnie poziomej, co pozwala uzyskać obraz o wysokiej rozdzielczości. Pojedyncze pole obrazowania błony śluzowej obejmuje obszar  $475 \mu\text{m} \times 475 \mu\text{m}$ , z którego w zależności od szybkości skanowania uzyskuje się obrazy o rozdzielczości  $1024 \times 1024$  pikseli (0,8 kadru na sekundę) lub  $1024 \times 512$  pikseli (1,6 kadru na sekundę). Skanowanie do  $250 \mu\text{m}$  w głąb tkanki z osiową rozdzielczością  $7 \mu\text{m}$  (grubość pojedynczego skanu optycznego odpowiadająca 1–2 warstwom komórek) odbywa się skokowo co  $4 \mu\text{m}$ . Ograniczeniem zasięgu badania jest przenikanie światła laserowego niepowodujące

uszkodzenia tkanek, co zapewnia użycie lasera o mocy do 1 mW – zwykle stosowany zakres mocy nie przekracza  $300\text{--}700 \mu\text{W}$  [4].

## Technika badania

Stosowane obecnie endomikroskopy umożliwiają zarówno wykonanie panendoskopii, jak i kolonoskopii. Końcówka aparatu o średnicy 12,8 mm zawiera wbudowany zminiaturyzowany skaner światła laserowego o średnicy 5 mm, soczewkę obiektywu kamery CCD, dysze powietrza i wody, światłowód, kanał operacyjny 2,8 mm i dodatkową dyszę systemu sputkiwania. Na głowicy endoskopu znajdują się dwa dodatkowe przyciski służące do obsługi mikroskopu konfokalnego, w tym do kontroli i sterowania kierunkiem i głębokością skanowania warstw błony śluzowej. Endoskop połączony jest standardowo z procesorem i monitorem obrazu światła białego oraz dodatkowo poprzez konektor z jednostką konfokalną wyposażoną w osobny monitor. Konstrukcja aparatu i przyłączy umożliwia ich dezynfekcję w konwencjonalnych myjniach.

Do badania zarówno górnego, jak i dolnego odcinka przewodu pokarmowego pacjent przygotowywany jest jak do standardowej endoskopii. Ważne jest szczególnie staranne przygotowanie jelita grubego, ponieważ resztki kału mogą być źródłem artefaktów. Zastosowanie chromoendoskopii z endomikroskopią może być zalecane [5] w odniesieniu do błękitu metylenowego i karminu indygo, natomiast kwas octowy zakłóca odbiór fluorescencji tkankowej i nie powinien być używany.

Technika badania endomikroskopem w zakresie oceny makroskopowej nie różni się zasadniczo od konwencjonalnej endoskopii. Pewne ograniczenie stanowi dość długie usztywnienie końcówki aparatu, w którą wbudowany jest skaner, co w naszych obserwacjach wiąże się z utrudnieniem oceny wpustu od strony żołądka i inwersji na wysokości kąta, w mniejszym stopniu natomiast stanowi przeszkodę w intubacji zastawki krętniczo-kątniczej. Soczewka okna obrazu konfokalnego wystaje nieco ponad płaszczyznę końcówki, co – w połączeniu z emisją niebieskiego światła laserowego – pozwala na łatwe umiejscowienie okna na badanej zmianie. Końcówkę aparatu należy ustawić prostopadle do badanej powierzchni, aby osiągnąć pełny i stabilny kontakt z błoną śluzową. Dobre przyleganie okna obrazu konfokalnego wymaga z reguły dociśnięcia i zagięcia końcówki, jak również przysiania do błony śluzowej, co jednak jest przyczyną wynacynienia fluoresceiny i związanych z tym artefaktów. Z drugiej strony ułatwia to celowane biopsje, które należy pobierać ok. 5 mm w lewo od widocznego obszaru wybroczyn. Czas badania zależy od zaawansowania operato-

ra i zwykle w przypadku doświadczonego endoskopisty jest wydłużony o ok. 30% w stosunku do badania konwencjonalnego.

### Środki kontrastujące i podstawy interpretacji obrazów

Warunkiem uzyskania obrazów endomikroskopowych jest użycie czynników fluorescencyjnych, z których najczęściej stosuje się fluoresceinę (dożylna iniekcja 5–10 ml 10% roztworu) i akryflawinę (aplikacja 10–50 ml 0,02% roztworu na powierzchnię błony śluzowej przy użyciu specjalnego cewnika). Fluoresceina ulega dystrybucji poprzez kapilary w obręb błony śluzowej, gdzie stymulowana laserem o długości fali 465–490 nm emituje światło o długości fali 520–530 nm, przetwarzane następnie na obrazy endomikroskopowe. Zakontrastowane naczynia włosowate z cieniami erytrocytów usytuowane w blaszce właściwej śluzówki, a także macierz pozakomórkowa (*connective tissue matrix*) i cytoplazma komórek nabłonka widoczne są jako struktury jasne, „świecące” oraz o różnym odcieniu szarości w odróżnieniu od jąder komórkowych oraz cew i ujść gruczołów (struktury ciemne) [6]. Niewybarwione fluoresceiną jądra komórkowe można zakontrastować przy użyciu akryflawiny, jednak barwnik ten powinien być używany ostrożnie z uwagi na potencjalną mutagenność [7]. Istotną cechą fluoresceiny jest wrażliwość na zmiany pH – im bardziej kwaśny odczyn, tym mniej wybarwione (ciemniejsze) komórki. Zjawisko to jest istotne przy identyfikacji neoplazji charakteryzującej się obecnością komórek o niskim pH [8]. Uzyskane obrazy endomikroskopowe ukazujące charakterystyczną morfologię prawidłowej błony śluzowej przełyku, dołeczków żołądkowych, kosmków jelitowych i krypt błony śluzowej jelita grubego dobrze korelują z konwencjonalnymi histopatologicznymi bioptatami barwionymi hematoksyliną i eozyną [6, 9]. Oceniając obrazy kofokalne, endoskopista powinien dysponować co najmniej podstawową wiedzą na temat budowy histologicznej błony śluzowej poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego.

### Przełyk i połączenie przełykowo-żołądkowe

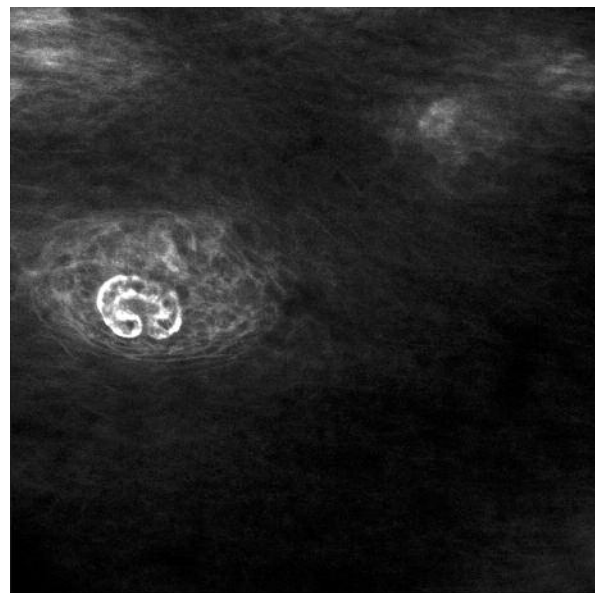
Charakterystyczny obraz skanów endomikroskopowych odzwierciedla mikroarchitekturę poszczególnych warstw błony śluzowej przełyku, poczynając od powierzchni usytuowanych wielokątnych komórek nabłonka płaskiego, oddzielonych siatką przestrzeni międzykomórkowych. Skanowanie głębszych warstw uwidacznia horyzontalne przekroje brodawkowatych wypukleń blaszki właściwej śluzówki z włosniczkowymi pętlami śródbrodawkowymi (ryc. 1). Obrazowanie połączenia przełykowo-żołądkowego pozwala uwidocznić mozaiko-

wate obszary bezpośredniej styczności komórek nabłonka płaskiego i walcowatego, typowego dla gruczołów wpustu [6] (ryc. 2.).

### Przełyk Barretta

Przełykiem Barretta nazywa się obecność powyżej górnego brzegu fałdów żołądkowych segmentu błony śluzowej pokrytej nabłonkiem walcowatokomórkowym z histopatologicznie potwierdzoną metaplastją jelitową lub metaplastją typu żołądkowego [10]. Złotym standardem w diagnostyce przełyku Barretta oraz związanej z nim dysplazji i wczesnego raka pozostaje histopatologiczna ocena materiału uzyskanego za pomocą biopsji kleszczykowej wg protokołu z Seattle, co związane jest z koniecznością pobrania licznych wycinków, często z przypadkowych miejsc. Zastosowanie CLE w przypadku makroskopowego podejrzenia przełyku Barretta stwarza możliwość identyfikacji komórek kubkowych, patognomicznych dla wyspecjalizowanej metaplastji jelitowej.

W 2006 r. Kisslich i wsp. [11] w pierwszym przeprowadzonym badaniu z użyciem endomikroskopii, w któ-



**Ryc. 1.** Przekrój horyzontalny przez prawidłowe uwypuklenie blaszki właściwej śluzówki z centralnie umiejscowionym śródbrodawkowym splotem kapilarnym z cieniami erytrocytów. Otaczające wielokątne komórki nabłonka płaskiego przedzielone „siatką” przestrzeni międzykomórkowych

**Fig. 1.** CLE image of surface of squamous epithelium with intracapillary capillary loops and the surrounding epithelial cells. Erythrocytes are in the lumen of the vessels

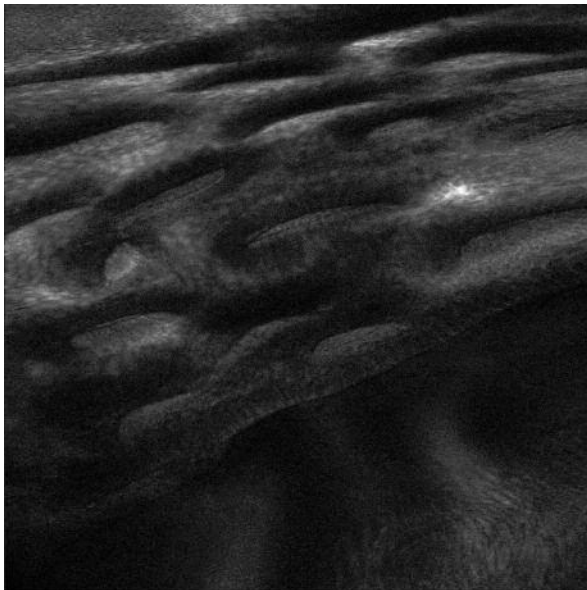
rym analizowano 63 pacjentów z przełykiem Barretta, wyróżnili poszczególne rodzaje nabłonek i oceniali zmiany w obrębie komórek, gruczołów i naczyń włosowatych. Opierając się na analizie porównawczej obrazów konfokalnych z histopatologicznymi, zaproponowali endomikroskopową klasyfikację wyróżniającą trzy rodzaje nabłonka: typu żołądkowego, nabłonek Barretta oraz neoplazję towarzyszącą nabłonkowi Barretta. Pierwszy z nabłoneków charakteryzuje się regularnym układem komórek walcowatych tworzących okrągłe lub owalne ujścia gruczołów, regularne kapilary widoczne są jedynie podczas skanowania głębszych warstw błony śluzowej (ryc. 3.). Obecność w miejscu typowym dla śluzówki przełyku ujść i światła gruczołów utworzonych przez komórki nabłonka walcowatego z patognomicznymi komórkami kubkowymi (ciemne plamki odpowiadające niewysyczonej fluoresceiną mucynie) jest charakterystyczne dla nabłonka Barretta (ryc. 4.). Kosmkowata struktura i podnabłonkowe naczynia włosowate widoczne są już w powierzchniowych skanach (ryc. 5.).

Ponadto własne obserwacje autorów wskazują, że w przypadku braku komórek kubkowych w obrębie

segmentu śluzówki gruczołowej istnieje możliwość wstępnej identyfikacji metaplazji typu żołądkowego błony śluzowej przełyku, co w świetle aktualnych wytycznych upoważnia do rozpoznania przełyku Barretta (ryc. 6.).

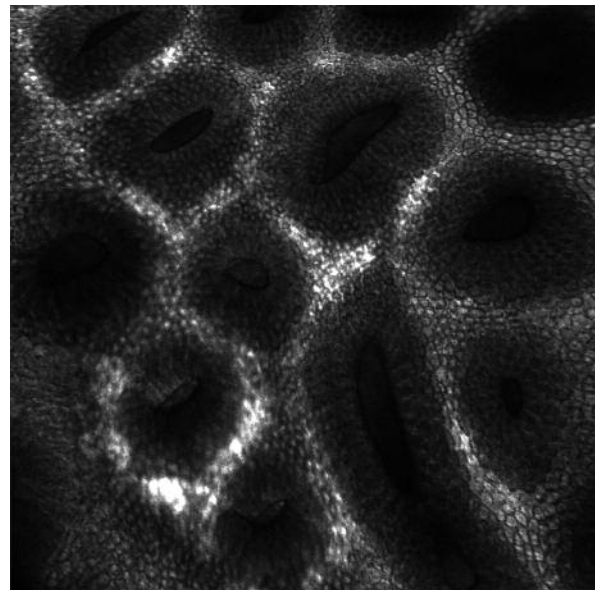
Charakterystyczny obraz neoplazji towarzyszącej przełykowi Barretta to nieregularne światło i przerwanie ciągłości gruczołów, bardzo ciemne komórki nabłonka walcowatego (niewybarwione, hiperchromatyczne jądra) o zróżnicowanej wysokości i kształcie, bez wyraźnych granic oraz z wielopoziomowym rozmieszczeniem jąder komórkowych i przerwaniem ciągłości błony podstawnej. Nieregularny przebieg włóścierek oraz pozakapilarne wylewy barwnika (intensywne jasne plamy) przekraczające błonę podstawną świadczą o neoangiogenezie.

Kisslich i wsp. [11], wykorzystując powyższą klasyfikację, ponownie porównali 3012 obrazów endomikroskopowych ze 411 histopatologicznymi uzyskanymi z celowanych biopsji. Stwierdzili, że charakterystyczny obraz konfokalny wskazuje na obecność przełyku Barretta z 98,1-procentową czułością oraz 94,1-procentową



**Ryc. 2.** Odpowiadająca linii Z granica pomiędzy wielokątnymi komórkami nabłonka płaskiego (dolny fragment obrazu) a śluzówką gruczołową (owalne i podłużne przekroje gruczołów oddzielone unaczynioną, „jasną” blaszką właściwą – górna część obrazu)

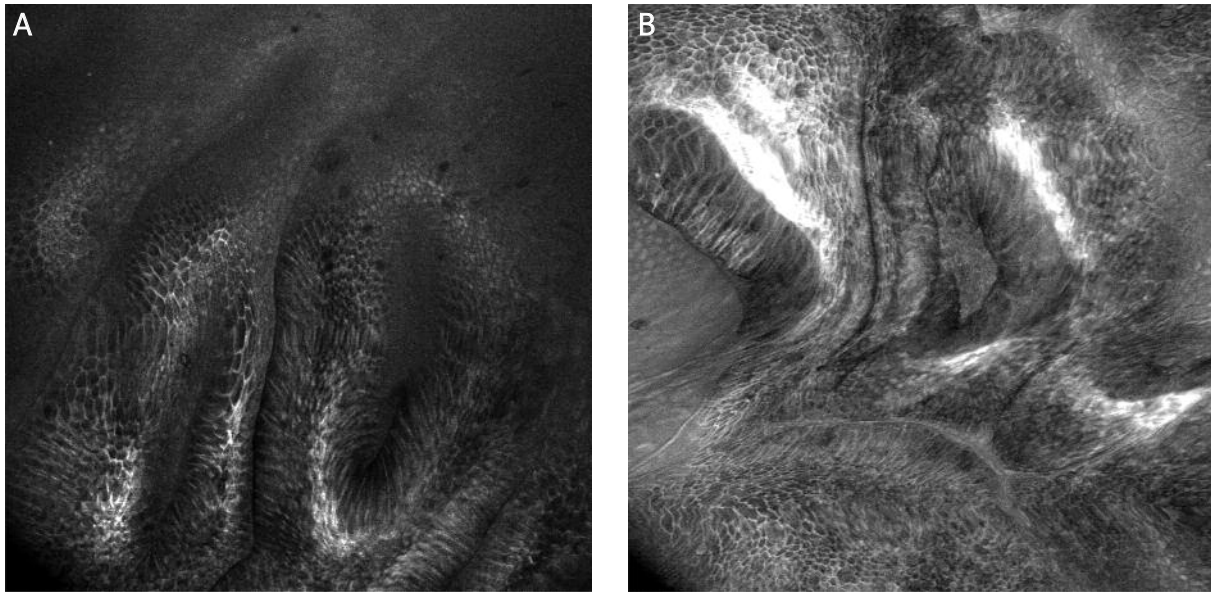
**Fig. 2.** Zone between the oesophageal squamous epithelium (lower part of the picture) and gastric glandular epithelium



**Ryc. 3.** Endomikroskopowa charakterystyka śluzówki typu żołądkowego. Okrągłe i owalne światła cew gruczołowych utworzonych przez komórki walcowate oraz dobrze unaczyniona kapilarami (intensywnie wysyczona fluoresceiną) oddzielająca je blaszka właściwa o układzie „plastra miodu”

**Fig. 3.** Endomicroscopy of the normal gastric mucosa. The internal surface of the stomach appears honeycombed by round, slightly irregular gastric glands





**Ryc. 4.** Obraz endomikroskopowy sugerujący przełyk Barretta. W sąsiedztwie wielokątnych komórek nabłonka płaskiego widoczne są struktury gruczołowe utworzone przez komórki walcowate i komórki z okrągłymi, ciemnymi plamkami odpowiadającymi mucynie niewysyczonej fluoresceiną. Obecność komórek kubkowych charakteryzuje metaplazję typu jelitowego

**Fig. 4.** Confocal imaging of Barrett's oesophagus. The border between squamous and columnar-lined epithelium. Goblet cells, which are pathognomonic for Barrett's epithelium can be easily identified, the mucin in goblets cells appears as dark spots

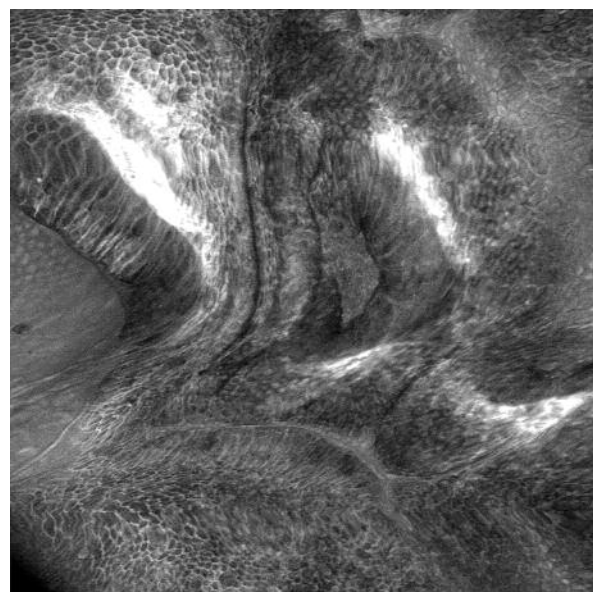
specyficznością. W przypadku neoplazji wartości te wynosiły odpowiednio 92,9% oraz 98,4%.

Z kolei Dunbar i wsp. [12], opierając się na klasyfikacji endomikroskopowej, przeprowadzili pierwsze prospektywne badanie z randomizacją, z podwójnie ślepą próbą, w grupie 39 pacjentów z przełykiem Barretta, w tym 23 poddawanych rutynowemu nadzorowi endoskopowemu oraz 16 z podejrzeniem neoplazji towarzyszącej przełykowi Barretta (grupa wysokiego ryzyka). Wykazali, że endomikroskopia z celowaną biopsją zmniejsza o 60% liczbę wycinków niezbędnych do wykrycia neoplazji w porównaniu z klasyczną endoskopią z biopsją z czterech kwadrantów, przy czym w grupie bez wysokiego ryzyka odsetek biopsji możliwych do

uniknięcia wynosił aż 86%. W związku z powyższym prawie 2/3 pacjentów poddanych rutynowemu nadzorowi nie wymagałyby biopsji w związku z niestwierdzeniem podejrzanych zmian w badaniu endomikroskopowym. Ponadto zaobserwowali, że w grupie wysokiego ryzyka endomikroskopia z celowaną biopsją prawie

**Ryc. 5.** Endomikroskopowy obraz powierzchniowych skanów sugerujący przełyk Barretta. Kosmkowata struktura złożona z dobrze uznaczynionej blaszki właściwej otoczonej komórkami walcowatymi, z obecnością komórek kubkowych patognomicznych dla metaplazji jelitowej

**Fig. 5.** The villous Barrett's epithelium with the presence of brush border. Goblet cells within columnar epithelium are seen and Barrett's oesophagus can be diagnosed



dwukrotnie poprawia wykrywalność makroskopowo niewidocznej dysplazji dużego stopnia w porównaniu z klasycznym protokołem (33,7% vs 17,2%).

### Nienadżerkowa choroba refluksowa

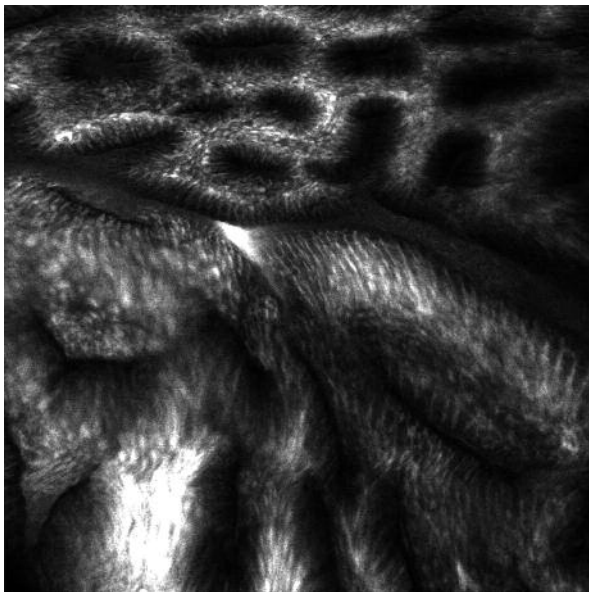
Osobnym zagadnieniem pozostaje nienadżerkowe zapalenie błony śluzowej przełyku, gdzie pomimo niewidocznych makroskopowo zmian zapalnych stwierdza się charakterystyczne odchylenia w badaniu histopatologicznym w postaci wydłużenia brodawek, proliferacji komórek warstwy podstawnej oraz poszerzenia przestrzeni międzykomórkowych. Obecność zmian mikroskopowych wydaje się zatem stwarzać możliwości zastosowania obrazowania konfokalnego w nienadżerkowej chorobie refluksowej (*non-erosive reflux disease – NERD*).

W pilotażowym badaniu [13] obejmującym pacjentów z objawami refluksu i makroskopowo prawidłowym obrazem błony śluzowej dystalnej części przełyku oceniano obrazy endomikroskopowe z czterech kwadrantów linii Z oraz obszarów położonych 2 cm proksymal-

nie. U prawie połowy pacjentów stwierdzono zmiany w postaci wydłużenia i zwiększenia liczby brodawek, wzmocnienia ich unaczynienia oraz poszerzenia przestrzeni międzykomórkowych. Wykazano, że obecność powyżej pięciu śródbrodawkowych splotów włośniczkowych w pojedynczym endomikroskopowym polu widzenia oraz odległości międzykomórkowe przekraczające 3  $\mu\text{m}$  pozwalają przewidywać typowe zapalne zmiany w obrazie histopatologicznym z 94,9-procentową czułością i 85,4-procentową specyficznością (ryc. 7.).

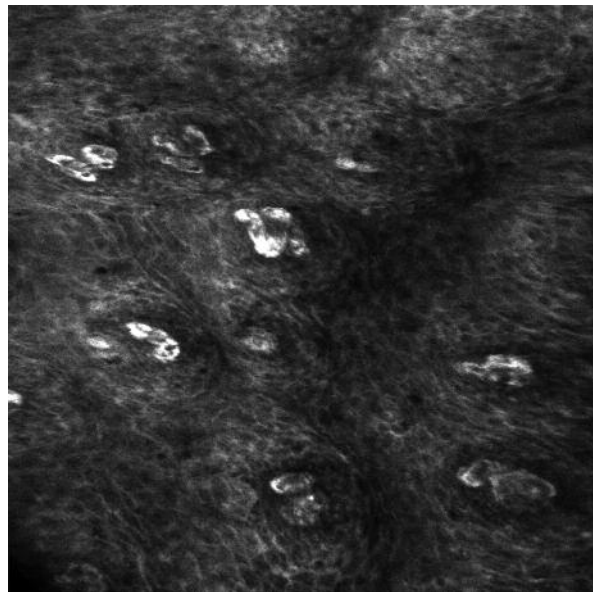
### Wczesny rak płaskonabłonkowy przełyku

Dotychczasowe wyniki przemawiają za tym, że CLE może być pomocna w identyfikacji wczesnego raka płaskonabłonkowego przełyku. Istotne podejrzenie nowotworzenia w obrębie błony śluzowej przełyku nasuwa zanik typowego obrazu i proporcjonalnych odstępów między brodawkami, skrajnie nieregularny układ i kształt komórek nabłonka oraz pozakapilarna obecność fluoresceiny, będąca rezultatem nowotworzenia



**Ryc. 6.** Obraz endomikroskopowy sugerujący przełyk Barretta z metaplazją typu żołądkowego. W sąsiedztwie struktur odpowiadających gruczołom wpustu (górną część obrazu) zamiast nabłonka płaskiego typowego dla śluzówki przełyku widoczne są struktury gruczołowe utworzone z komórek walcowatych, ale bez komórek kubkowych

**Fig. 6.** Confocal image of cylindrical epithelial cells within the distal oesophagus defining metaplasia. There are no goblet cells within columnar epithelium



**Ryc. 7.** Obraz endomikroskopowy sugerujący nienadżerkową chorobę refluksyjną. Zwiększenie gęstości śródbrodawkowych splotów kapilarnych (powyżej 5 w polu widzenia) i poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych

**Fig. 7.** CLE image of non-erosive reflux disease. Increased vascularity (more than 5 intrapapillary loops) and dilatation of intercellular spaces

naczyń, jak również wynacznienia poza uszkodzone włóściszki [7]. Autorzy jednej z prac [14] oceniali przydatność metody poprzez analizę skanów konfokalnych z podejrzanych zmian przez dwóch zaślepionych (w zakresie histopatologii i obrazów makroskopowych) endoskopistów. Ogólna trafność rozpoznania w stosunku do potwierdzonych histologicznie raków wyniosła 95% przy czułości i specyficzności odpowiednio 100% i 87%.

Z kolei chińscy badacze [15] porównywali wygląd komórek i śródbrodawkowych splotów kapilarnych prawidłowej błony śluzowej przetyku z obrazami endomikroskopowymi potwierdzonych histopatologicznie raków płaskonabłonkowych. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w zakresie proporcji obszarów o nieregularnym układzie komórek – powiększenie splotów kapilarnych (26,0  $\mu\text{m}$  vs 19,2  $\mu\text{m}$ ) oraz nieregularnym kształcie splotów w raku płaskonabłonkowym.

## Żołądek

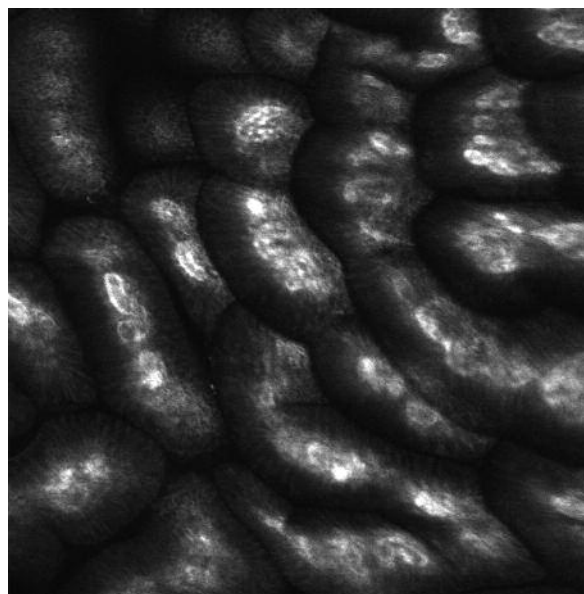
Powierzchnia błony śluzowej i ujścia cew gruczołowych (dołeczki żołądkowe) wyścielane są nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym utworzonym przez komórki śluzowe, natomiast cieśń, część główną i podstawę gruczołów tworzą w przeważającej części komórki główne i okładzinowe. Cewy gruczołowe usytuowane w obrębie unaczynionej blaszki właściwej sięgają do blaszki mięśniowej śluzówki.

Dołeczki żołądkowe możliwe do uwidocznienia w endoskopii z powiększeniem są podstawową jednostką mikroarchitektury powierzchni błony śluzowej żołądka [16]. W sklepieniu i trzonie cewy gruczołowe uchodzą pojedynczo na powierzchnię, stąd ich ujścia mają postać dołeczków okrągłych. W części przedodźwiernikowej kilka cew gruczołowych dzieli jedno wspólne ujście, które ma kształt pręcika.

Podczas CLE w warunkach prawidłowych uwidacznia się powierzchownie usytuowane komórki nabłonka oraz dołeczki żołądkowe, w głębszych warstwach silnie wysyconą środkiem kontrastowym blaszkę właściwą, oddzieloną pojedynczą warstwą komórek od światła cew gruczołowych. Dołeczki żołądkowe w antrum charakteryzują się linijnym, szczelinowatym układem, podczas gdy w trzonie żołądka ujścia gruczołów przyjmują okrągły lub owalny, regularny kształt. Naczynia włosowate otaczające krypty gruczołowe w trzonie żołądka przyjmują układ „plastra miodu” (ryc. 3.), w antrum siatka naczyń utworzona jest przez spiralnie poskręcane kapilary (ryc. 8.) [6, 7].

## Infekcja *Helicobacter pylori*

W 2005 r. po raz pierwszy wykazano możliwość wykrycia infekcji *Helicobacter pylori* podczas endomikroskopii z użyciem akryflawiny, wykorzystując zjawisko



**Ryc. 8.** Endomikroskopowy obraz prawidłowych gruczołów antrum. Szczelinowate i linijne ujścia i światła cew gruczołowych oddzielone pojedynczą warstwą komórek walcowatych od blaszki właściwej śluzówki unaczynionej kapilarami o spiralnym układzie

**Fig. 8.** CLE image of normal pyloric antrum: there are many gastric folds, openings of the glands are long and slit-like

akumulacji tego powierzchniowego barwnika przez bakterię [17]. Komórki patogenu widoczne są jako silnie wybarwione, jasne punkty w obrębie komórek nabłonka i charakteryzują się typowym kształtem oraz możliwością do uwidocznienia wicią. Precyzyjne określenie miejsca największego zagęszczenia komórek bakteryjnych umożliwia celowaną biopsję i może zmniejszać odsetek fałszywie ujemnych wyników.

## Zapalenie zanikowe błony śluzowej, metaplasja jelitowa i wczesny rak żołądka

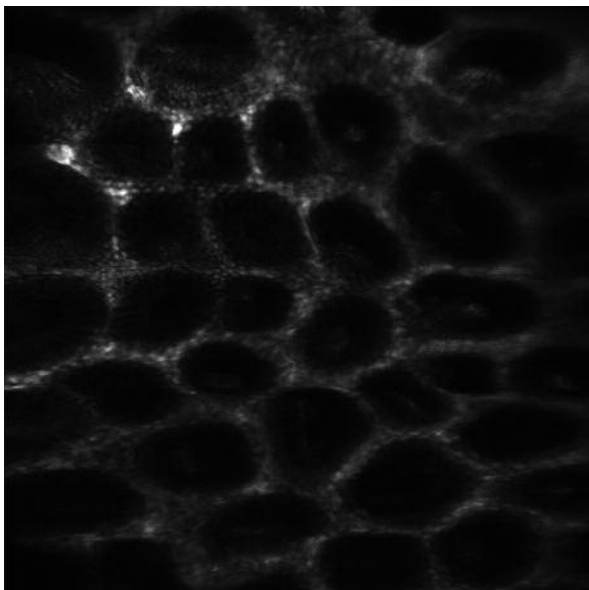
Wymienione zmiany w obrębie śluzówki żołądka występują z odmienną częstością, mogą natomiast zarówno współistnieć ze sobą, jak i następować kolejno po sobie. Wykrycie wczesnych postaci raka żołądka jest wyzwaniem dla endoskopisty, szczególnie w przypadku zmian płaskich i zapadniętych, dyskretnie różniących się od otaczającej śluzówki. Szczególnego znaczenia nabiera możliwość zastosowania CLE w wykrywaniu i ocenie ognisk podejrzanych o wystąpienie wczesnego raka żołądka (*early gastric cancer* – EGC), kwalifikowanych do leczenia endoskopowego w sytuacji, gdy pojawiają się



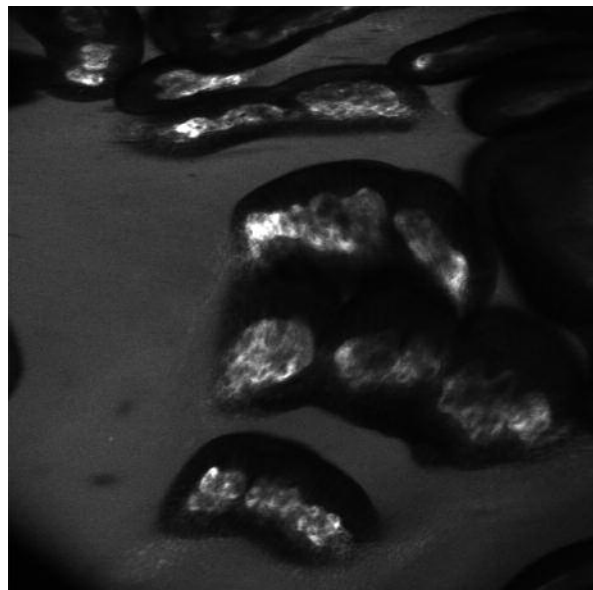
opinie o niepobieraniu biopsji kleszczykowej ze zmian z uwagi na włóknienie utrudniające endoskopową śluzówkową resekcję (EMR) lub endoskopową podśluzówkową dysekcję (ESD).

Grupa chińskich badaczy [9], opierając się na analizie porównawczej obrazów konfokalnych z histopatologicznymi oraz dostępnych publikacjach, w 2008 r. po raz pierwszy podjęła próbę stworzenia klasyfikacji endomikroskopowej wzoru dołeczek żołądkowych, a następnie oceniła jej przydatność w prospektywnym badaniu obejmującym grupę 132 osób. Dwóch doświadczonych endoskopistów przeanalizowało 10 123 obrazy konfokalne, porównując następnie uzyskane wyniki z równoległymi rozpoznaniem zaślepionego patologa, oceniającego biopaty z 521 odpowiednich lokalizacji. Stworzona klasyfikacja w odniesieniu do prawidłowej błony śluzowej wyróżnia dołeczki okrągłe (typ A), odpowiadające gruczołom dna żołądka (ryc. 9.), oraz podłużne, szczelinowate, ciągłe (typ C), korespondujące z gruczołami odźwiernikowymi (ryc. 8.). Dołeczki pręcikowate, nieciągłe, krótkie (typ B) odpowiadały łagodnym zmianom zapalnym błony śluzowej trzonu żołądka, dodatkowo przy współistnieniu poszerzenia światła dołeczek i odmiennym wyglądzie tworzących je komórek wyróż-

niono podtyp B', wskazujący na nasilone leukocytarne zmiany zapalne. Ujścia gruczołów znacznie wydłużone, rozgałęzione, o krętym przebiegu (typ D) korelowały ze zmianami zapalnymi śluzówki antrum o łagodnym nasileniu; współistnienie poszerzenia przestrzeni między dołeczkami (pogrubienie blaszki właściwej) i powiększenie komórek (podtyp D') wskazywały na zapalenie średnio ciężkiego lub ciężkiego stopnia. Stopień nasilenia zmian zapalnych określony histopatologicznie był istotnie wyższy ( $p < 0,01$ ) dla typu D niż C. Znaczne poszerzenie światła dołeczek na rzecz blaszki właściwej, skutkujące zmniejszeniem ich liczby w polu widzenia, oraz kapilary widoczne już w powierzchniowych skanach (typ E) wskazywały na obecność zanikowego zapalenia błony śluzowej z dokładnością 97,5% (ryc. 10.). Kosmkowaty wygląd, ze strukturami blaszki właściwej potężnymi centralnie, ciemne, homogenne, okrągłe plamki odpowiadające depozytom mucyny oraz wysmukłe komórki nabłonka (typ F) były wysoce specyficzne dla metaplazji jelitowej z patognomonicznymi komórkami kubkowymi (ryc. 11.). Wysoką czułość i specyficzność (odpowiednio 90,0% i 99,4%) przy dokładności 97,1% stwierdzono dla korelacji typu G z rakiem żołądka. Brak układu dołeczek zastąpiony rozlanym, zdeorganizowa-



**Ryc. 9.** Endomikroskopowy obraz gruczołów typowych dla dna żołądka. Okrągłe lub owalne dołeczki przedzielone unaczynioną blaszką właściwą przyjmującą układ „plastra miodu”  
**Fig. 9.** CLE image of the corpus of the stomach – the glands are round and slightly irregular with cobblestone appearance (honeycombs)



**Ryc. 10.** Obraz endomikroskopowy sugerujący zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka w antrum. Znaczne poszerzenie światła cew gruczołowych, ścieńczenie warstwy komórek walcowatych i silnie wysyczone kapilary widoczne już w powierzchniowych skanach  
**Fig. 10.** CLE image of chronic atrophic gastritis: the columnar cells are dilated, there are fewer glands and vascularity is increased



wanym obszarem bardzo ciemnych komórek (podtyp G1) sugeruje niskozróżnicowanego raka. Znacznie nieregularny kształt oraz destrukcja gruczołów, z ciemnymi, wielokątnymi komórkami o nieregularnym, chaotycznym, sznurowym układzie (podtyp G2) przemawia za obecnością raka gruczołowego, co potwierdza analizowany przez autorów niniejszej publikacji materiał (ryc. 12.–17.).

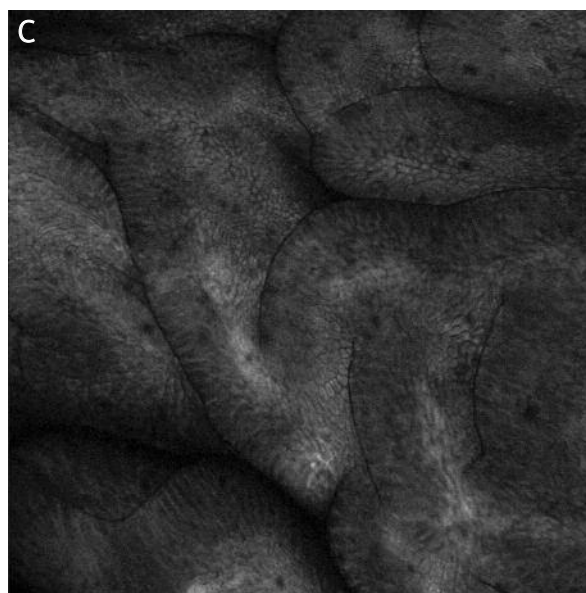
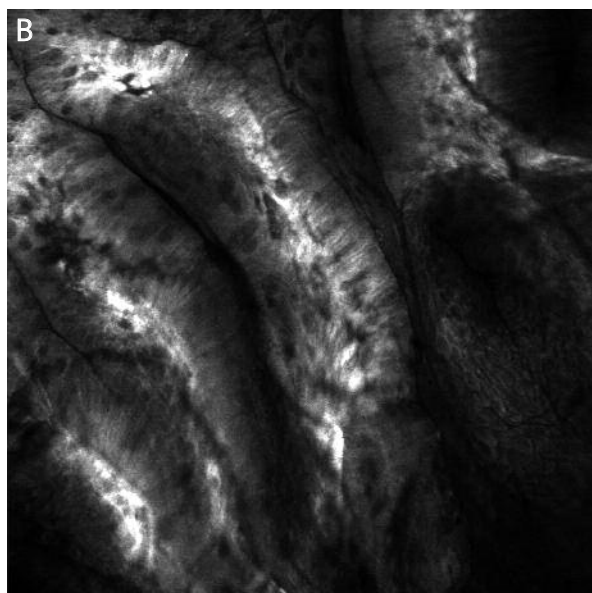
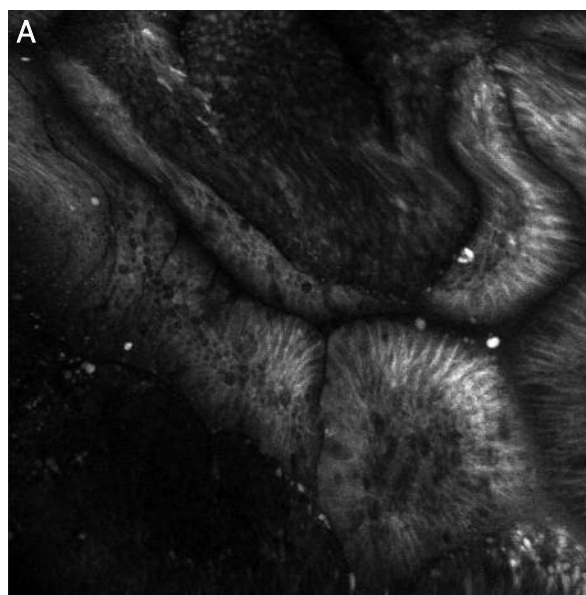
Naczynia krwionośne zwykle zlokalizowane są w głębszych partiach EGC, stąd brak typowego unaczynienia w obrazach konfokalnych powierzchniowych warstw sugeruje obecność neoplazji [7].

Wcześniejsze obserwacje dotyczące możliwości zastosowania obrazowania konfokalnego w diagnostyce wczesnego raka żołądka również były obiecujące [18]. W jednym z badań [19] obecność bardzo ciemnych komórek (chiperchromatyczne, niewybarwione jądra komórkowe) o nieregularnym układzie i kształcie oraz znaczna przewaga wielkości jądra w stosunku do cytoplazmy wskazywały na obecność raka w badaniu histologicznym z 80-procentową dokładnością (czułość 84%, specyficzność 95%).

Wydaje się zatem, że CLE może być pomocna w diagnostyce zanikowego zapalenia i metaplazji jelitowej błony śluzowej żołądka, zwiększać prawdopodobieństwo wykrycia infekcji *H. pylori* oraz różnicować zmiany łagodne od złośliwych.

## Jelito cienkie

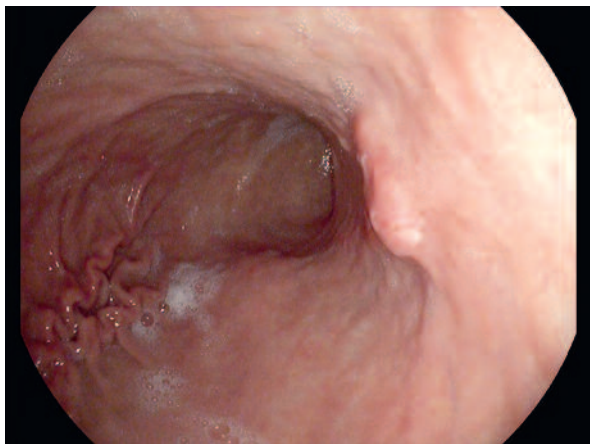
Błona śluzowa jelita cienkiego przyjmuje postać palczastych lub liściastych kosmków długości 0,5–1 mm, pomiędzy którymi znajdują się ujścia gruczołów Lieberkühna. Powierzchnia kosmków wyścielana jest nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym, w obrębie którego



**Ryc. 11.** Obraz endomikroskopowy sugerujący metaplazję jelitową błony śluzowej żołądka. Kosmkowaty wygląd, struktury blaszki właściwej położone centralnie oraz wysmukłe komórki nabłonka gruczołów. Ciemne, okrągłe plamki odpowiadające depozytom niewybarwionej fluoresceiną mucyny w komórkach kubkowych są patognomoniczne dla rozpoznania

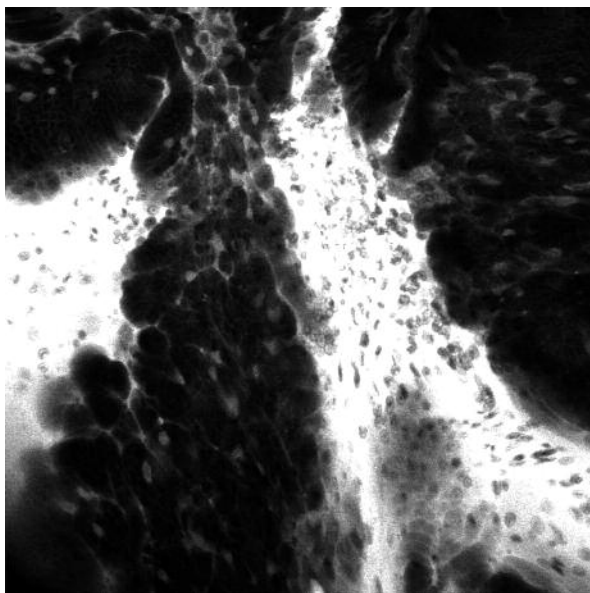
**Fig. 11.** CLE image of intestinal metaplasia in the stomach: there are cylindrical epithelial cells with goblet cells (mucin appears as homogenous dark spots) pathognomonic for intestinal metaplasia

pomiędzy enterocytami znajdują się komórki kubkowe. Szkielet każdego z kosmków stanowi blaszka właściwa z siatką naczyń włosowatych i naczyniem mleczowym.



**Ryc. 12.** Obraz endoskopowy sugerujący wczesnego raka żołądka

**Fig. 12.** Endoscopic appearance of early gastric cancer



**Ryc. 13.** Obraz endomikroskopowy sugerujący raka żołądka. Skany powierzchniowych warstw zmiany przedstawionej na rycinie 12. uwidaczniają destrukcję gruczołów, brak typowego unaczynienia kapilarnego, bardzo ciemne komórki (hiperchromatyczne, niewybarwione jądra komórkowe) o sznurowym układzie

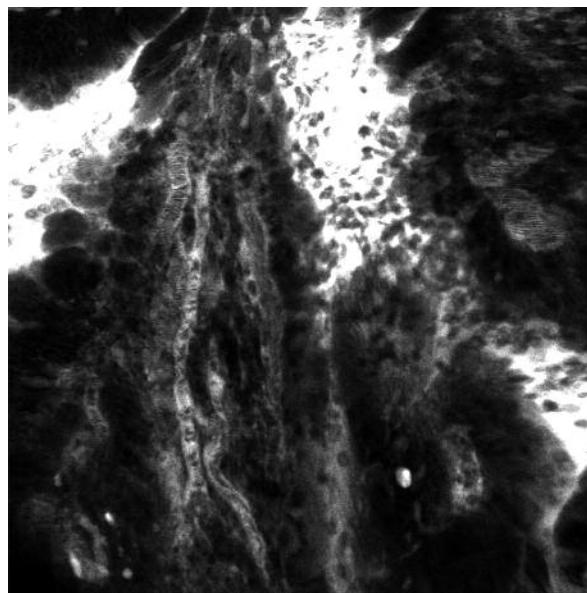
**Fig. 13.** CLE image of gastric cancer: disorganised cell architecture with dark, neoplastic polygonal cells, changes in microvessel architecture

Obrazowanie konfokalne dwunastnicy i *ileum terminale* umożliwia wizualizację poszczególnych kosmków jelitowych, komórek nabłonka z rąbkami szczoteczkowym włócznie oraz komórek kubkowych zawierających mucynę (ciemne punkty) [8]. Skanowanie głębszych warstw uwidacznia dobrze zakontrastowane kapilary z cieniami erytrocytów [6, 7] (ryc. 18.).

## Choroba trzewna

Pomimo często typowego obrazu endoskopowego choroby trzewnej (mozaikowana powierzchnia błony śluzowej, karbowanie na szczytach i wygładzenie fałdów, zaznaczony rysunek naczyniowy), złotym standardem rozpoznania jest ocena histologiczna biopatów jelita cienkiego (zwiększona limfocytoza śród nabłonkowa, hiperplazja krypt, zanik kosmków). Problemem pozostaje odsetek wyników fałszywie ujemnych, który jest efektem pobrania z niereprezentatywnych miejsc, niskiej jakości materiału oraz zbyt powierzchownych biopsji.

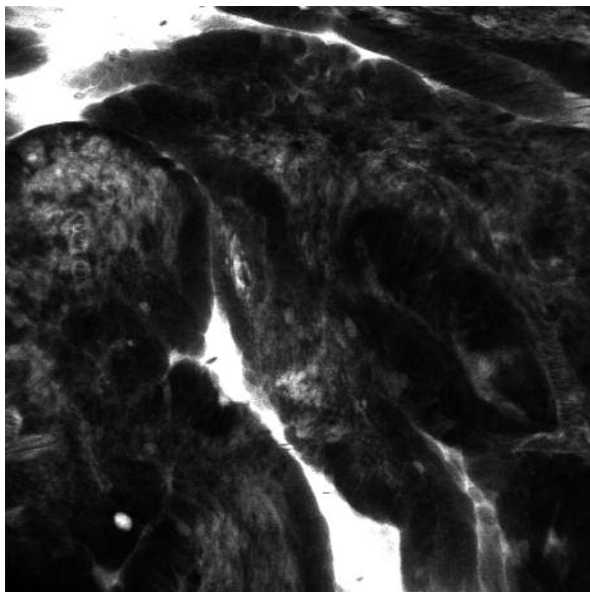
Wydaje się, że zastosowanie obrazowania konfokalnego może poprawić wykrywalność celiakii [20]. W zależności od stopnia zaawansowania choroby i głą-



**Ryc. 14.** Obraz endomikroskopowy sugerujący raka żołądka. Skanowanie głębszych w stosunku do przedstawionych na rycinie 13. warstw uwidacznia pomiędzy destrukcyjnie zmienionymi gruczołami naczynia krwionośne o nietypowym, chaotycznym układzie, będące wynikiem neoangiogenezy

**Fig. 14.** CLE image of gastric cancer: gastric glands are completely destroyed, vessels located in the deeper part of the tumour are irregular (neoangiogenesis)



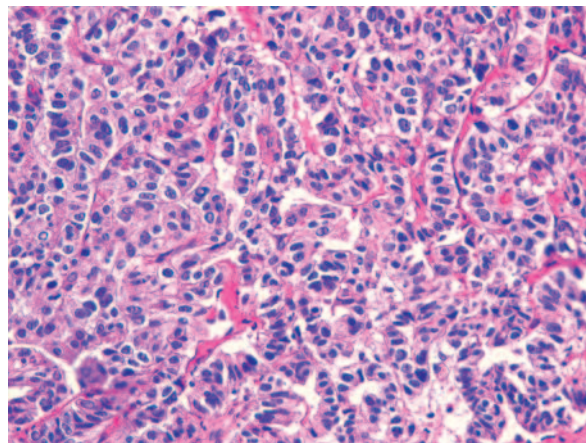


**Ryc. 15.** Obraz endomikroskopowy sugerujący raka inwazyjnego w sąsiedztwie dysplazji dużego stopnia. Widoczna destrukcja cewy gruczolowej z przerwaniem ciągłości błony podstawnej i bezpośrednim sąsiedztwem bardzo ciemnych komórek (hiperchromatyczne jądra) z naczyniami krwionośnymi. Pozostałe gruczoly o nieregularnym kształcie utworzone przez bardzo ciemne komórki o zróżnicowanej wysokości

**Fig. 15.** CLE image of invasive gastric cancer: the tissue pattern is destroyed without visible duct morphology, cell architecture with dark, neoplastic polygonal cells, microvascular network is destroyed

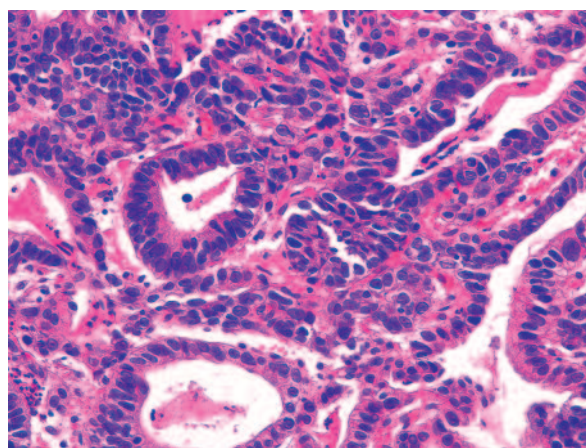
bokości skanowania endomikroskopia ukazuje redukcję długości lub zupełny brak kosmków, z uwidocznieniem ujścia krypt gruczolowych (okrągłe struktury z radiacyjnym układem enterocytów otaczających ujście), a w niektórych przypadkach jest możliwa identyfikacja zwiększonej limfocytozy śródnamionkowej [21].

W prospektywnym badaniu [22] obejmującym 31 osób (11 z rozpoznaną chorobą trzewną leczonych dietą bezglutenową, 6 nieleczonych, 14 w grupie kontrolnej) oceniano przydatność metody w rozpoznawaniu celiakii, ocenie stopnia zaawansowania choroby i odpowiedzi na leczenie w porównaniu z klasyczną histopatologią bipotatów kleszczykowych. Na potrzeby analizy stworzono konfokalny wskaźnik celiakii (*confocal celiac score* – CCS), oceniający stopień zaniku kosmków w powierzchniowych skanach (*villous atrophy* – VA) oraz stopień hipertrofii krypt w głębszych warstwach (*crypt hypertrophy* – CH). Zdefiniowano VA jako obecność 5 lub mniejszej liczby skróconych kosmków, natomiast CH jako obecność co najmniej 1 krypty w pojedynczym



**Ryc. 16.** Histopatologiczny obraz raka żołądka. Materiał z biopsji kleszczykowej zmiany przedstawionej na rycinie 12.

**Fig. 16.** Gastric cancer, corresponding histopathology (biopsy specimen) to CLE image on figure 12

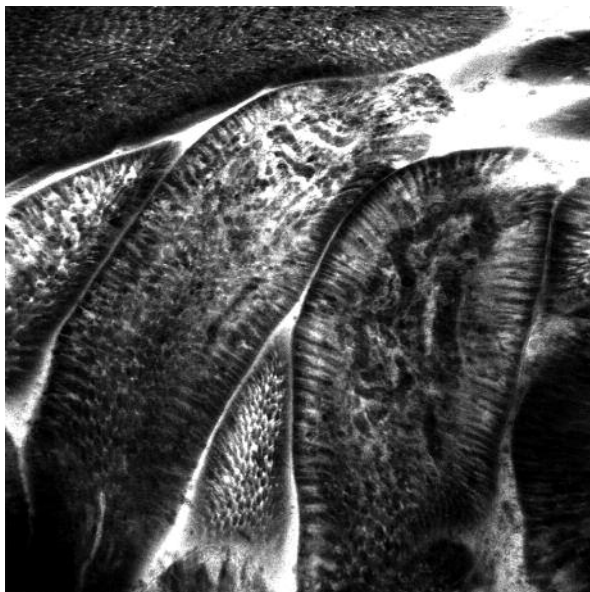


**Ryc. 17.** Histopatologiczny obraz dysplazji dużego stopnia w sąsiedztwie ognisk raka gruczolowego. Materiał z biopsji kleszczykowej zmiany przedstawionej na rycinie 12.

**Fig. 17.** High grade neoplasia and gastric cancer, corresponding histopathology to CLE image on figure 12

polu endomikroskopowym. Wartość CCS kalkulowano oddzielnie dla każdego parametru oraz łącznie (oceniając tym samym wszystkie warstwy) w dwustopniowej skali, zależnie od stopnia nasilenia zmian. Stopień nasilenia zmian histologicznych określano wg klasyfikacji Marsha. Porównano rozpoznania dwóch zaślepionych endoskopistów (analiza 7019 skanów konfokalnych) z ocenami dwóch zaślepionych patologów (326 biopłatów z odpowiadających miejsc). Wykazano wysoką czułość (94%) i specyficzność (92%) endomikroskopii w rozpoznawaniu





**Ryc. 18.** Endomikroskopowy obraz prawidłowych kosmków jelita cienkiego. Kosmki jelitowe długości ok. 0,5 mm z podłużnymi komórkami nabłonka i komórkami kubkowymi (ciemne plamki odpowiadające depozytom mucyny niewysyczonej fluoresceiną). Czarna linia na szczycie komórek odpowiada rąbkowi szczoteczki. Szkielet kosmka stanowi blaszka właściwa z naczyń włosowatymi z cieniami erytrocytów

**Fig. 18.** CLE image of the villi of the small intestine. Villi are generally 0.5 mm in length. Villus contains capillary network, the muscularis mucosa forms the base of the mucosa. Small bowel mucosa contains goblets cells, which interrupt the brush border

celiakii oraz dobrą korelację CCS z klasyfikacją Marsha. Obrazowanie konfokalne pozwalało jednoznacznie odróżnić pacjentów z celiakią od grupy kontrolnej ( $p < 0,0001$ ) oraz wykazywało się wysoką czułością w rozpoznawaniu zmian w grupie pacjentów leczonych dietą bezglutenową ( $p < 0,012$ ). Znamienne jest, że u 94% chorych z celiakią postawiono prawidłowe rozpoznanie endomikroskopowe, podczas gdy odsetek ten dla histopatologii wyniósł jedynie 76%. Brak możliwości jednoznacznego stwierdzenia limfocytozy śródnamionkowej (gdzie pomocne mogłoby się okazać zastosowanie znakowanych limfocytów CD4) nie stanowił ograniczenia metody. Autorzy pracy wykazali wysoką korelację rozpoznań endomikroskopowych z histopatologicznymi celiakii i sugerują przydatność metody w rozpoznawaniu mało nasilonych zmian u leczonych chorych. Wysoka trafność rozpoznań może mieć potencjalne kliniczne

znaczenie w diagnostyce choroby trzewnej *in vivo* i zmniejszać liczbę, a nawet pozwalać uniknąć zbędnych biopsji.

## Jelito grube

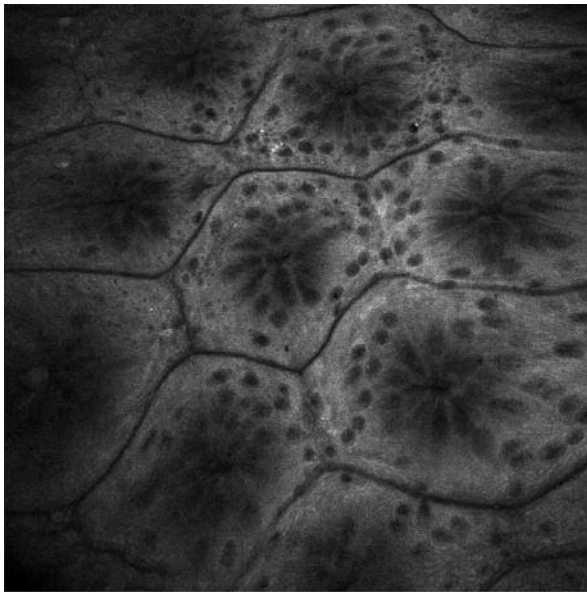
Błona śluzowa jelita grubego składa się z układu krypt będących tubularnymi strukturami w obrębie blaszki właściwej, które uchodzą na powierzchnię, a w głębszych warstwach otoczone są siatką naczyń włosowatych. Jednowarstwowy nabłonek, złożony z komórek cylindrycznych i kubkowych, wyścięła krypty, ujścia i powierzchnię śluzówki.

Przy zastosowaniu CLE można z powodzeniem zobrazować ujścia (czarne punkty) krypt otoczone pojedynczą warstwą komórek walcowatych i kubkowych (ryc. 19.). Skanowanie głębszych warstw uwidacznia poziome, okrągłe przekroje krypt (ryc. 20.), otoczone i przedzielone siatką naczyń włosowatych w blaszce właściwej śluzówki, które przyjmują charakterystyczny układ „plastra miodu” [6, 8] (ryc. 21.).

## Rak jelita grubego

Rak jelita grubego, pomimo szerokiej akceptacji skринingowych programów kolonoskopowych, nadal stanowi jedną z głównych przyczyn umieralności z powodu nowotworów w krajach rozwiniętych. Szansa na wyleczenie jest ściśle związana z głębokością infiltracji nowotworu w chwili rozpoznania i istotnie wzrasta w przypadku wykrycia zmiany we wczesnym stopniu zaawansowania (przedinwazyjnym).

W 2004 r. przeprowadzono pierwsze prospektywne badanie z użyciem endomikroskopu, którego celem była ocena przydatności obrazowania konfokalnego w diagnostyce śródnamionkowej neoplazji i raka jelita grubego [3]. Analizą objęto grupę 42 pacjentów zakwalifikowanych do badania przesiewowego lub objętych nadzorem kolonoskopowym. Na potrzeby badania stworzono klasyfikację na podstawie konfokalnego wzoru zmian jelita grubego, oceny architektury krypt i naczyń kapilarnych, bazując na wcześniejszych doświadczeniach endomikroskopii. Za prawidłowy wzór uznano regularnie rozmieszczone, okrągłe ujścia i przewody wyprowadzające krypt, otoczone pojedynczą warstwą homogenicznych komórek walcowatych i kubkowych; otaczająca krypty siatka naczyń włosowatych przyjmuje sześciokątny układ „plastra miodu”. Zmiany regeneracyjne zgodnie z ww. klasyfikacją charakteryzują się gwiazdkowatymi ujściami krypt lub ogniskowym zagęszczeniem prawidłowych gruczołów, czasami o zmniejszonej liczbie komórek kubkowych; architektura naczyń jest prawidłowa, ewentualnie ze zwiększeniem liczby kapilar. Neoplazja jest wysoce prawdopodobna, gdy obserwuje się



**Ryc. 19.** Endomikroskopowy obraz prawidłowych krypt jelita grubego. Powierzchnowe skany błony śluzowej uwidaczniają ujścia (czarne punkty) krypt otoczone pojedynczą warstwą komórek walcowatych i kubkowych

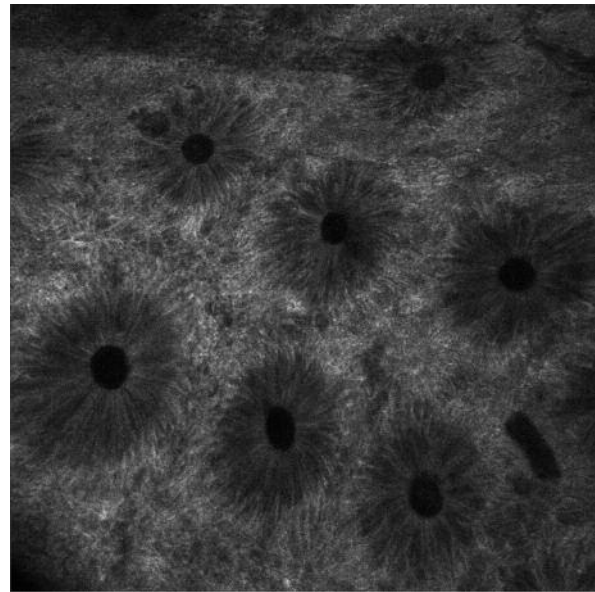
*Fig. 19. CLE image of the mucosal surface of the colon: the luminal opening of the crypts are observed as black holes, with epithelial cell types (columnar and goblet cells)*

grzebieniaste, nieregularne warstwy nabłonka bez widocznych krypt i komórek kubkowych, z bardzo zaburzonym, nieregularnym układem komórek i redukcją ilości śluzu; brak typowego heksagonalnego układu, który zastąpiony jest poszerzonymi naczyńiami o krętym przebiegu, oraz pozakapilarne wylewy barwnika sugerują neoangiogenezę.

W cytowanym badaniu [3] 13 020 obrazów konfokalnych z 390 podejrzanych zmian (256 trudno zauważalnych i 134 dobrze odgraniczonych) porównano odpowiednio z wynikami histopatologicznymi 1038 biopsji. Wykazano, że przy zastosowaniu ww. klasyfikacji możliwe jest przewidywanie obecności neoplazji z dokładnością 99,2% przy czułości 97,4% i specyficzności 99,4%. Makroskopowa identyfikacja zmian podejrzanych z jednoczesną weryfikacją obrazowaniem konfokalnym pozwala trafnie przewidywać obecność neoplazji. Autorzy sugerują stosowanie endomikroskopii rutynowo w badaniach przesiewowych i nadzorze kolonoskopowym w specjalistycznych ośrodkach endoskopowych.

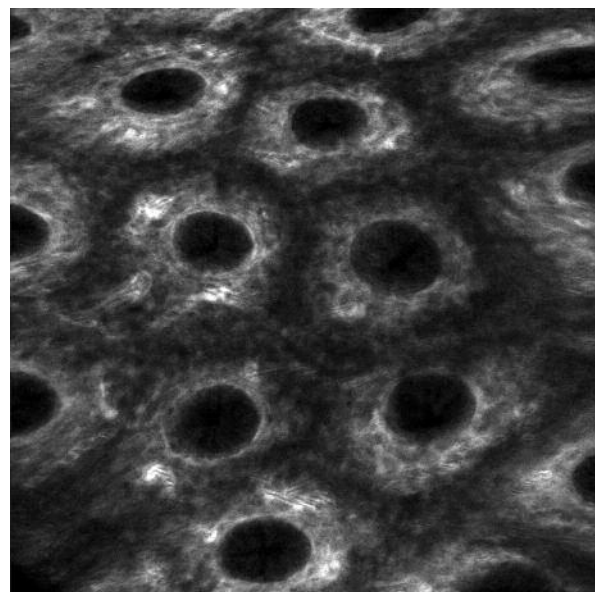
### Wrzodziejące zapalenie jelita grubego

Endomikroskopowy obraz zmian we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (WZJG) zależy od stopnia cięż-



**Ryc. 20.** Endomikroskopowy obraz prawidłowych krypt jelita grubego. Skanowanie głębszych warstw błony śluzowej uwidacznia regularny układ okrągłych krypt przedzielonych unaczynioną blaszką właściwą

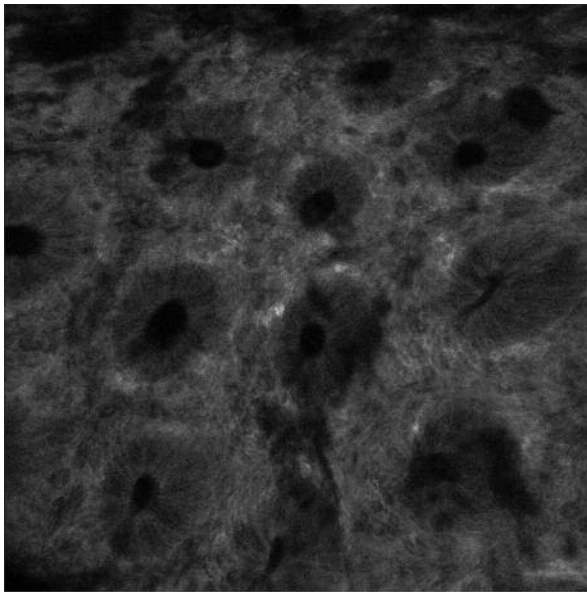
*Fig. 20. CLE image of colon crypts: regular architecture of colonic crypts and the lamina propria with capillaries*



**Ryc. 21.** Endomikroskopowy obraz prawidłowych krypt jelita grubego. Charakterystyczny układ „plastra miodu” kapilarnego unaczynienia w obrębie blaszki właściwej błony śluzowej

*Fig. 21. CLE image of colonic crypts: the capillaries of the colonic mucosa are within the lamina propria and form a honeycomb-like network*





**Ryc. 22.** Obraz endomikroskopowy sugerujący łagodne zmiany zapalne w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Rozsunięcie krypt, zmiana ich kształtu na bardziej wydłużony przy zachowanym prawidłowym układzie komórek w ich obrębie

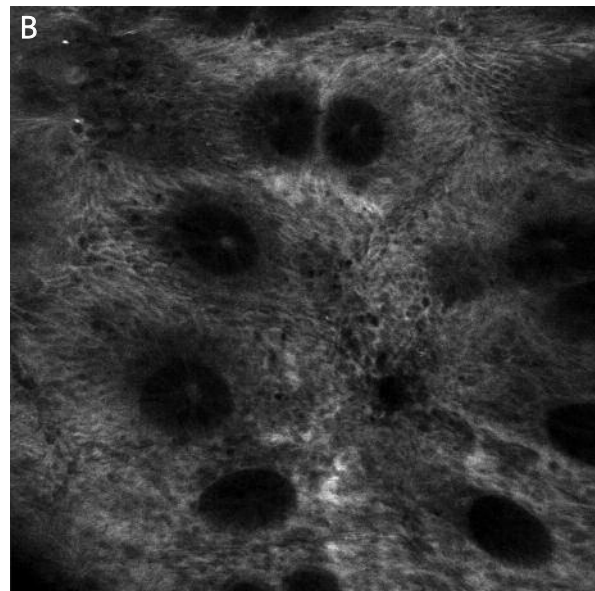
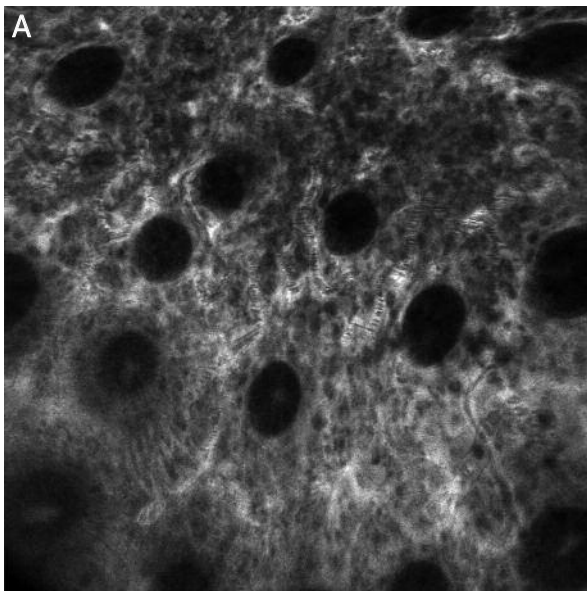
**Fig. 22.** CLE image of ulcerative colitis with mild inflammatory activity: the intercryptal distance is larger, the architecture of crypts is normal

kości choroby. Zmiana kształtu krypt na bardziej wydłużony przy zachowanym prawidłowym układzie komórek w ich obrębie oraz pogrubienie blaszki właściwej i zwiększenie odległości między kryptami (wynik nacieków komórkowych) sugeruje łagodne zmiany zapalne (ryc. 22. i 23.). Destrukcja krypt i wyraźne wzmożenie unaczynienia są związane z ciężkim przebiegiem choroby [7] (ryc. 24.).

Chińscy autorzy [23] porównali obrazy histologiczne z konfokalnymi w grupie 73 pacjentów z WZJG objętych nadzorem endoskopowym. Ocena stopnia nasilenia zmian zapalnych na podstawie architektury krypt jelitowych i wylewów fluoresceiny łącznie dobrze korelowała z obrazem histologicznym ( $p < 0,001$ ), podobnie jak ocena zmian morfologii unaczynienia kapilarnego ( $p < 0,001$ ).

Chorzy z wieloletnim wywiadem WZJG obarczeni są istotnie większym ryzykiem rozwoju raka jelita grubego w porównaniu z populacją ogólną. Rozwijają się on często na podłożu wieloogniskowych zmian płaskich lub zapadniętych, trudnych do zauważenia w standardowej endoskopii z użyciem źródła światła białego. Ważnym narzędziem poprawiającym możliwości diagnostyki śródnałonkowej neoplazji stała się chromoendoskopia z użyciem błękitu metylenowego lub karminu indygo [24], a próby jej połączenia z endomikroskopią dają obiecujące rezultaty.

W pierwszym badaniu z randomizacją [5], obejmującym 153 pacjentów z wieloletnim wywiadem WZJG, cho-



**Ryc. 23.** Obraz endomikroskopowy sugerujący łagodne zmiany zapalne w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Wzmożenie unaczynienia blaszki właściwej błony śluzowej skutkujące wyraźnym rozsunięciem i utratą regularnego układu krypt

**Fig. 23.** CLE image of ulcerative colitis with mild inflammatory activity: increased vascularity with cryptal changes



rych przydzielono losowo do grupy poddanej konwencjonalnej kolonoskopii w ramach nadzoru lub do grupy, w której wykonywano chromoendoskopię z laserowym obrazowaniem konfokalnym. Pierwszorzędowy punkt końcowy stanowiło histologiczne potwierdzenie naopłazji. W pierwszej grupie pobierano biopsje błony śluzowej co 10 cm oraz ze zmian makroskopowo podejrzanych. W drugiej grupie zmiany wyodrębnione w chromoendoskopii z barwieniem błękitem metylenowym oceniano endomikroskopem pod kątem neoplazji (stosując konfokalną klasyfikację zmian opisaną powyżej) oraz pobierano z nich biopsje konwencjonalne. Zastosowanie naprowadzanej chromoendoskopowo CLE w porównaniu ze standardową kolonoskopią umożliwiło wykrycie istotnie większej liczby ognisk neoplazji ( $p = 0,007$ ) przy wysokiej czułości i specyficzności (odpowiednio 94,7% i 98,3%). Podsumowując – zastosowanie endomikroskopii połączonej z chromoendoskopią pozwala z dużą dokładnością przewidywać obecność neoplazji, umożliwiając tym samym redukcję liczby biopsji do zmian podejrzanych.

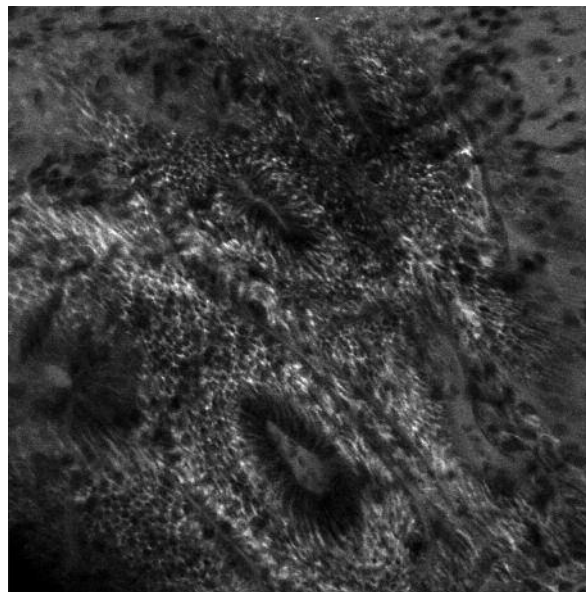
### Kolagenowe zapalenie jelita grubego

W ostatnich latach wzrasta liczba rozpoznań mikroskopowych zapaleń jelita grubego w grupie chorych z przewlekłą wodnistą biegunką o nieznannej etiologii. Przy prawidłowym makroskopowo wyglądzie śluzówki jelita grubego rozpoznanie zapalenia kolagenowego opiera się na obrazie histopatologicznym biopłatów, gdzie widoczne jest rozlane pogrubienie podnabłonkowej warstwy kolagenu dochodzące do 15–60  $\mu\text{m}$  (przy normie < 10  $\mu\text{m}$ ).

Kiesslich i wsp. [25] wykazali, że endomikroskopia umożliwia lokalizację i pomiar grubości warstw kolagenu u podstawy komórek nabłonka i pobranie celowanych biopsji z miejsc podejrzanych o zapalenie, co wydaje się szczególnie istotne w związku z ogniskowym występowaniem zmian w jelicie. W powierzchniowych skanach widoczna jest deformacja krypt jelitowych, natomiast w głębszych warstwach (ok. 150  $\mu\text{m}$  od powierzchni) wyraźnie zauważalne, ciemne pasma kolagenu w blaszce właściwej, o grubości znacznie przekraczającej 10  $\mu\text{m}$  (31  $\mu\text{m}$  w cytowanym opracowaniu). Pomimo dobrej korelacji z obrazem histopatologicznym określenie czułości i specyficzności metody wymaga dalszych perspektywnych badań.

### Podsumowanie

Laserowa endomikroskopia konfokalna jest nowo powstałym, rozwijającym się narzędziem diagnostycznym, umożliwiającym natychmiastową ocenę błony śluzowej zbliżoną do histologicznej w czasie badania endo-



**Ryc. 24.** Obraz endomikroskopowy sugerujący wysoką aktywność wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Wyraźne wzmożenie unaczynienia i destrukcja krypt błony śluzowej jelita grubego  
**Fig. 24.** CLE image of severe inflammatory changes: increased vascularity and cryptal destruction

skopowego. Przy obecnym stanie wiedzy oczywiste jest, iż nie może być stawiana na równi z histopatologiczną oceną biopłatów barwionych hematoksyliną i eozyną, jednakże opublikowane dotychczas badania, w tym prospektywne z randomizacją, potwierdzają wysoką trafność rozpoznań endomikroskopowych. Spektrum przydatności diagnostycznej w zakresie celowanych biopsji i prognozowania rozpoznań histologicznych rozszerza się począwszy od skринingu i nadzoru po leczeniu raka jelita grubego, poprzez przełyk Barretta i towarzyszącą neoplazję, infekcję *H. pylori*, do wczesnego raka żołądka i przełyku włącznie. Ponadto zastosowanie obrazowania konfokalnego jako narzędzia pomocniczego w ocenie stopnia ciężkości i wykrywaniu neoplazji u chorych z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, diagnostyce choroby trzewnej i kolagenowego zapalenia jelita grubego przynosi obiecujące rezultaty. Wydaje się, że endomikroskopia jest na najlepszej drodze do odegrania ważnej roli diagnostycznej w zakresie wielu patologii przewodu pokarmowego, jednakże konieczne są dalsze dobrze kontrolowane badania. Drzwi do wirtualnej histologii zostały otwarte.

### Piśmiennictwo

1. Minsky M. Microscopy Apparatus. US Patent 3013467, 1957.
2. Delaney PM, Harris MR, King RG. Fiber-optic laser scanning confocal microscope suitable for fluorescence imaging. *Appl Optics* 1994; 33: 573-7.

3. Kiesslich R, Burg J, Vieth M, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosis intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology* 2004; 127: 706-13.
4. Venkatesh K, Cohen M, Evans C, et al. Feasibility of confocal endomicroscopy in the diagnosis of pediatric gastrointestinal disorders. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2214-9.
5. Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 874-82.
6. Polglase AL, McLaren WJ, Skinner SA, et al. A fluorescence confocal endomicroscope for in vivo microscopy of the upper- and the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 686-95.
7. Kiesslich R, Galle PR, Neurath MF. Atlas of Endomicroscopy 2008.
8. Kiesslich R, Goetz M, Neurath MF. Virtual histology. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 883-97.
9. Jian-Na Z, Yan-Qing L, You-An Z, et al. Classification of gastric pit patterns by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 843-53.
10. Vakili N, van Zanten SV, Kahrilas P, et al. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1900-20.
11. Kiesslich R, Gossner L, Dahlmann A i wsp. In vivo histology of Barrett's oesophagus and associated neoplasias by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 8: 979-87.
12. Dunbar KB, Okolo P 3<sup>rd</sup>, Montgomery E, Canto MI. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 645-54.
13. Gossner L. Potential contribution of novel imaging modalities in non-erosive reflux disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 617-24.
14. Pech O, Rabenstein T, Manner H, et al. Confocal laser endomicroscopy for in vivo diagnosis of early squamous cell carcinoma in the esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 89-94.
15. Liu H, Li YQ, Yu T, et al. Confocal laser endomicroscopy for superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 2009; 41: 99-106.
16. Yang JM, Chen L, Fan YL, et al. Endoscopic patterns of gastric mucosa and its clinicopathological significance. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2552-6.
17. Kiesslich R, Goetz M, Burg J, et al. Diagnosing *Helicobacter pylori* in vivo by confocal laser endoscopy. *Gastroenterology* 2005; 128: 2119-23.
18. Kitabatake S, Niwa Y, Miyahara R, et al. Confocal endomicroscopy for the diagnosis of gastric cancer in vivo. *Endoscopy* 2006; 38: 1110-4.
19. Yeoh KG, Salto-Tellez M, Khor CJL, et al. Confocal laser endoscopy is useful for in vivo rapid diagnosis of gastric neoplazja and pre-neoplazja. Paper presented at DDW, Chicago, 14-19 May 2005.
20. Trovato C, Sonzogni A, Ravizza D, et al. Coeliac disease: in vivo diagnosis by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 1096-9.
21. Leong RWL, Koo JHK, Meredith CG, et al. Confocal Laser endomicroscopy in the diagnosis of coeliac disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: A1267.
22. Leong RWL, Nquyen NQ, Meredith CG, et al. In vivo confocal endomicroscopy in the diagnosis and evaluation of coeliac disease. *Gastroenterology* 2008; 135: 1870-6.
23. Li CQ, Xie XJ, Yu T, et al. Classification of inflammation activity in ulcerative colitis by confocal laser endomicroscopy. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1391-6.
24. Kiesslich R, Neurath MF. Surveillance colonoscopy in ulcerative colitis: magnifying chromoendoscopy in the spotlight. *Gut* 2004; 53: 165-7.
25. Kiesslich R, Hoffman A, Goetz M, et al. In vivo diagnosis of collagenous colitis by confocal endomicroscopy. *Gut* 2006; 55: 591-2.