

КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ ЭНДОМИКРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ НЕОПЛАЗИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ

В.А. Дуванский^{1,2}, Я.О. Чесалина²

¹ ФГБУ «ГНЦ ЛМ им. О.К. Скобелкина ФМБА России», Москва, Россия

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Резюме

В обзоре литературы проведен анализ возможностей современной диагностической технологии конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике неоплазий толстой кишки. Представлены технические принципы конфокальной лазерной эндомикроскопии – получение изображений слизистой оболочки толстой кишки с большим увеличением (в 1000 раз) и разрешением. Основной принцип заключается в иллюминации тканей при помощи голубого лазера малой мощности с последующим выявлением флуоресценции света, отраженного от тканей. Освещен вопрос применяемых для исследования контрастных средств. Описаны принципы интерпретации полученных изображений. При помощи конфокальной эндомикроскопии можно отличить здоровую ткань от ткани с регенеративными или опухолевыми изменениями, но на сегодняшний день невозможно установить степень дисплазии. Врач-эндоскопист должен дифференцировать нормальную гистологическую картину от патологически измененной, для того чтобы определить место для забора биопсийного материала. При конфокальной лазерной эндомикроскопии возможно произвести прижизненную оценку выявленных образований на клеточном уровне – так называемую «оптическую биопсию».

Ключевые слова: колоректальный рак, эндоскопия, лазерная диагностика, эндомикроскопия.

Контакты: Дуванский Владимир Анатольевич, e-mail: iva4583@yandex.ru

Для цитирования: Дуванский В.А., Чесалина Я.О. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике неоплазий толстой кишки // Лазерная медицина. – 2018. – Т. 22. – № 3. – С. 38–43

CONFOCAL LASER ENDOMICROSCOPY IN DIAGNOSTICS OF COLON NEOPLASIA

Duvansky V.A.^{1,2}, Chesalina Ya.O.²

¹ Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine (SSC LM), Moscow, Russia

² Peoples' Friendship University, Moscow, Russia

Abstract

In the review, the researchers analyze possibilities of modern diagnostic technology – confocal laser endomicroscopy – in the diagnostics of colon neoplasia. Technical principles of confocal laser endomicroscopy, namely, images of colon mucous membrane with large magnification (1,000 times) and resolution, are presented. The main principle is tissue illumination with blue laser light of low-level power and subsequent detection of fluorescence reflected from tissues. The authors discuss contrast agents which are used for investigations. Principles of image interpretation are described as well. Using confocal endomicroscopy, one can differentiate healthy tissue from tissue with regenerative or neoplastic changes; however, nowadays, one cannot define the degree of dysplasia. An endoscopist is to differentiate the normal histological picture from the pathologically altered one in order to determine the place for sampling the biopsy material. With confocal laser endomicroscopy, it is possible to make a lifetime evaluation of detected lesions at the cellular level – so-called «optical biopsy».

Keywords: colorectal cancer, endoscopy, laser diagnostics, endomicroscopy.

Contacts: Vladimir Duvansky, e-mail: iva4583@yandex.ru

For citation: Duvansky V.A., Chesalina Ya.O. Confocal laser endomicroscopy in diagnostics of colon neoplasia. *J. Laser Medicine*. 2018; 22 (3): 38–43 (in Russian)

Введение

На сегодняшний день колоректальный рак является одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения. Согласно данным статистики Международного агентства по изучению рака (IARC), колоректальный рак в структуре онкологической заболеваемости занимает 3-е место в мире (9,7%); в структуре смертности от онкологических заболеваний – 4-е место (8,5%) [22].

По эпидемиологическим данным за 2016 год, в Российской Федерации в общей (оба пола) структуре онкологической заболеваемости колоректальный рак занимает 2-е место (11,6%), уступая злокачественным новообразованиям кожи (14,2%). Среди заболевших мужчин данная локализация занимает 3-е место после опухолей трахеи, бронхов и легкого (17,6%) и рака предстательной железы (14,0%); среди женщин – 2-е место (11,6%) после опухолей кожи (16,4%). В структуре смертности от онкологических заболеваний колоректальный рак занимает 2-е место как среди мужчин (11,4%), так и среди женщин (15,9%) [4]. Необходимо отметить, что

прирост заболеваемости раком ободочной кишки за 10 лет составил 28,5% [4, 7, 22].

Эти данные свидетельствуют о необходимости внедрения и применения современных методик ранней диагностики неопластических изменений толстой кишки.

Колonosкопия – «золотой стандарт» диагностики рака толстой и прямой кишки, она является наиболее информативным методом исследования при колоректальном раке, позволяющим непосредственно визуализировать опухоль, определить ее размеры, локализацию и макроскопический тип [1, 2, 8]. Метод позволяет также произвести забор материала для гистологического исследования.

На сегодняшний день существует ряд следующих дополнительных уточняющих методик диагностики неоплазий толстой кишки: узкоспектральная эндоскопия (NBI), увеличительная эндоскопия, аутофлуоресцентная эндоскопия (AFI). При использовании перечисленных современных технологий чувствительность и специфичность колonosкопии при выявлении образований возрастает [3, 5, 6, 21].

Однако остается открытым вопрос получения ложно-отрицательных результатов биопсии [15, 25, 29]. Среди причин необходимо отметить субъективную визуальную оценку, и следовательно, неправильно выбранный участок для взятия биопсии, а также недостаточное количество тканей и технические трудности при исследовании.

В случае крупных аденом на ножках возможна эндоскопическая полипэктомия в качестве тотальной биопсии, тогда морфолог может оценить каждый участок удаленного материала. Но в случае крупных аденом на широком основании для гистологической верификации малигнизации приходится прибегать к методу фрагментации, чтобы сделать расширенную биопсию. Как раз в таких случаях возможно получение ложноотрицательных результатов (ограниченное количество материала, выраженный коагуляционный некроз на границе фрагментов, отсутствие раковых комплексов по границе резекции).

Таким образом, возникает необходимость применения метода, позволяющего наиболее точно локализовать зону выявленных изменений и осуществить прицельную биопсию. Таким методом является конфокальная лазерная эндомикроскопия, при которой возможно произвести прижизненную оценку выявленных образований на клеточном уровне – так называемую «оптическую биопсию» [24, 25, 26].

Технические принципы конфокальной лазерной эндомикроскопии

Конфокальная лазерная эндомикроскопия – относительно новый метод диагностики в эндоскопии; впервые для исследования тканей желудочно-кишечного тракта ее использовали в 2000 году, а в 2004 году впервые были представлены *in vivo* микроскопические изображения слизистой оболочки толстой кишки с выявленным колоректальным раком.

Существует два вида конфокальной лазерной эндомикроскопии: эндоскопическая и зондовая. Первая система помещена в дистальную часть эндоскопа (Pentax); вторая имеет мини-зонд, который можно провести через инструментальный канал (Cellvizio) [18].

Суть методики – получение изображений слизистой оболочки толстой кишки с большим увеличением (в 1000 раз) и разрешением. Основной принцип заключается в иллюминации тканей при помощи голубого лазера малой мощности и последующем выявлении флюоресценции света, отраженного от тканей. Особенностью конфокальной оптической системы является наличие специальной диафрагмы – пинхола, которая отсекает поток фонового рассеянного света, что позволяет получить микроскопическое изображение высокого разрешения [11, 15]. Это достигается следующим образом: сгенерированный на рабочей станции лазерный луч длиной волны 488 нм передается с помощью взаимперпендикулярно расположенных зеркал и на выходе из рабочей станции проходит через фиброоптический зонд, проводимый через инструментальный канал эндоскопа (зондовая конфокальная лазерная эндомикроскопия), либо интегрируется непосредственно в эндоскоп. Далее луч фокусируется на слизистой оболочке, часть света поглощается тканями, а индуцированный лазером эффект

флюоресценции вызывает свечение тканей, и этот свет проходит через точечное гнездо (пинхол), регистрируясь микроскопом. Таким образом, отраженный и рассеянный свет от исследуемого объекта, не проходящий через пинхол, не регистрируется устройством вообще.

Полученные данные регистрируются компьютером, и на мониторе видно динамическое монохромное изображение на клеточном уровне с микроструктурой тканей [9, 10].

Контрастные средства

Для получения высококонтрастных изображений гистологической структуры тканей необходимо предварительно нанести флюоресцентные вещества: на сегодняшний день в клинической практике наиболее широко используется 10% раствор флуоресцеина натрия, вводимый внутривенно. Ядра клеток при применении флуоресцеина не окрашиваются, для этого используются местный флюоресцентный краситель. Ранее местно использовался 0,2% раствор акрифлавина гидрохлорида, но препарат запретили из-за обнаружения его мутагенных свойств [31]. В последнее время для местного применения стали использовать 2% раствор крезвиолета [23].

Методика проведения исследования

Подготовка к исследованию не отличается от подготовки к обычной эндоскопической процедуре: премедикация включает внутримышечное введение 1 мл 0,1% раствора атропина и 2 мл 2% папаверина. Но даже после премедикации качество изображений может быть низким из-за двигательных артефактов (перистальтика желудочно-кишечного тракта, сердечный и дыхательный ритмы, наконец движения самого пациента), поэтому лучше проводить исследование под общим внутривенным обезболиванием. Флюоресцентный краситель (5 мл 10% флуоресцеина натрия) вводится в периферический катетер либо до начала колоноскопии, либо непосредственно перед проведением конфокальной микроскопии. Для выбора времени следует помнить, что качественное изображение можно получить в интервале 0–8 минут, и оно сохраняется до 30 минут после введения препарата. Рабочую станцию эндомикроскопической системы необходимо включить за 20 минут до исследования. После определения измененных участков слизистой оболочки с помощью других эндоскопических уточняющих методик (узкоспектральная, увеличительная эндоскопия, аутофлюоресцентная эндоскопия) можно приступить к конфокальной микроскопии. Аппарат или зонд должен располагаться перпендикулярно определяемым тканям и легко их касаться, но без лишнего давления и травматизации тканей, так как это может вызвать кровоточивость и появление артефактов [13].

Интерпретация изображений

Изображение, полученное с помощью конфокального эндомикроскопа, отличается от эндоскопической картины, для его оценки необходимо привлекать патоморфологов. Следует помнить, что при помощи конфокальной эндомикроскопии можно отличить здоровую ткань от ткани с регенеративными или опухолевыми изменени-

ями, но на сегодняшний день невозможно установить степень дисплазии. Врач-эндоскопист должен дифференцировать нормальную гистологическую картину от патологически измененной, для того чтобы определить место для забора биопсийного материала (сама биопсия берется в конце процедуры).

Для адекватной оценки полученных конфокальных изображений и минимизации субъективизма необходимо пользоваться общепринятыми критериями и классификациями. В настоящее время при конфокальной эндомикроскопии толстой кишки используются критериями Майнца [23], которые показали корреляционную взаимосвязь полученных конфокальных изображений с гистологическим исследованием биоптатов. Также описана структура колоректальных полипов. Специально для зондовой конфокальной лазерной эндомикроскопии разработана классификация Майами с описанием нормальной и пораженной слизистой оболочки, а также описаны конфокальные критерии для гиперпластических и аденоматозных полипов [30].

Чтобы обнаружить регенеративные и опухолевые изменения, можно использовать классификацию R. Kiesslich и соавт. (2007) [25]:

1. Нормальная слизистая характеризуется округлой структурой крипт, бокаловидные клетки темные, так как не накапливают контраст; крипты окружены регулярными микрососудами.
2. Участки регенерации характеризуются гексагональным ячеистым видом за счет звездчатой формы крипт, окруженных нормальным или увеличенным количеством сосудов, нормальным или уменьшенным количеством бокаловидных клеток, клеточной инфильтрацией.
3. При неопластических изменениях наблюдаются такие дезорганизационные изменения, как потеря крипт и бокаловидных клеток, деформированные нерегулярные сосуды.

Согласно классификации Майами (2011) [30], при проведении конфокальной лазерной эндомикроскопии полученные изображения интерпретируются следующим образом:

1. Нормальная слизистая оболочка характеризуется округлой структурой крипт, бокаловидные клетки темные, так как не накапливают контраст; крипты окружены регулярными микрососудами.
2. При гиперпластических полипах крипты расширены, имеют звездчатую форму, вокруг них крипты и эпителий не изменены, имеются удвоенные железы.
3. При аденоматозных полипах крипты деформированы, появляются тубулярные и ворсинчатые структуры, эпителиальная выстилка утолщена.
4. Для аденокарциномы характерна полная дезорганизация и потеря структурных элементов ткани [14].

Клиническое применение

R. Kiesslich создал классификацию на основе своего исследования, в котором соотносил результаты конфокальной эндомикроскопии и гистологического иссле-

дования биоптатов. У 42 пациентов неопластические изменения были диагностированы с точностью 99,2%, специфичностью 99,4%, чувствительностью 97,4% [25].

Поскольку колоректальный рак часто развивается из полипов, существует необходимость верификации и удаления полипов на стадии предрака. G.D. De Palma и соавт. оценили диагностическую точность конфокальной эндомикроскопии в дифференциальной диагностике аденоматозных полипов. Было исследовано 32 полипа размером 1–9 мм у 20 человек, неопластические изменения были установлены с чувствительностью 100%, специфичностью – 85% [20].

X.J. Xie и соавт. в 2011 году также оценивали полипы с целью разработки критериев дифференциальной диагностики (всего 35 полипов, 15 из них – гиперпластические, 20 – аденоматозные; подтверждено гистологическим исследованием). Диагностические критерии включали: 1) истощение бокаловидных клеток; 2) архитектонику ворсинок; 3) микрососудистые изменения. Затем было проведено проспективное исследование с целью оценки практического применения установленных критериев. В исследовании приняли участие 115 пациентов со 115 полипами; полученные конфокальные изображения сравнивались с результатами гистологического исследования. В итоге чувствительность конфокальной лазерной эндомикроскопии составила 93,9%, специфичность – 95,9%. Также в отдельности был оценен критерий истощения бокаловидных клеток: чувствительность и специфичность составили 84,9 и 87,8% соответственно; на основании этого авторы пришли к выводу, что этот критерий может использоваться для дифференциальной диагностики гиперпластических и аденоматозных полипов [32].

Целесообразно сочетать несколько дополнительных уточняющих методик при колоноскопии: это позволяет повысить точность диагностики колоректальных новообразований.

Так, V.M. Ussui и M.B. Wallace в 2012 году провели исследование с целью сравнить диагностическую ценность конфокальной лазерной эндомикроскопии и узкоспектральной эндоскопии (NBI) по отдельности, а также в сочетании. Было изучено 130 полипов размером менее 10 мм. Конфокальная эндомикроскопия показала большую чувствительность, чем NBI (86 и 64% соответственно), но более низкую специфичность (78 и 92% соответственно). В то же время сочетание двух методик повышает чувствительность до 94% и специфичность до 97% [29].

M.W. Shahid и соавт. в 2012 году провели проспективное исследование с целью оценки и сравнения виртуальной хромоскопии и конфокальной лазерной эндоскопии в диагностике резидуальных неоплазий после эндоскопической петлевой резекции. Эталоном для сравнения служили результаты гистологии. В исследовании включили 92 пациента, которым через год после петлевой резекции была назначена колоноскопия. Всего было осмотрено 129 рубцов, среди них резидуальная неоплазия была подтверждена гистологически в 29 случаях. Для виртуальной хромоскопии точность, чувствительность и специфичность составили 77, 72 и 77%;

для конфокальной лазерной эндомикроскопии – 81, 97 и 77% соответственно; при сочетании методик – 90, 100, 87%. Авторы пришли к заключению, что конфокальная лазерная эндомикроскопия существенно повышает чувствительность в диагностике резидуальной неоплазии; при сочетании конфокальной лазерной эндомикроскопии с виртуальной хромоэндоскопией точность чрезвычайно высока [27]. Поэтому, по мнению этих и ряда других авторов, вместе эти две технологии могут снизить необходимость гистологического исследования и позволить сразу принять решение о тактике лечения, избегая повторных процедур [16, 27].

Среди отечественных исследований следует отметить работу А.Г. Шулешовой, Е.В. Потехиной и соавт., целью которой являлась оценка комплексного применения конфокальной лазерной эндомикроскопии, NBI и ZOOM (увеличительная эндоскопия). Чувствительность и общая точность для диагностики гиперпластических полипов составили 100 и 99,2% (без применения конфокальной эндомикроскопии – 93 и 97,7% соответственно); для диагностики аденом – 100 и 96,2% (91 и 93,4% без применения конфокальной эндомикроскопии) [12].

В 2013 году Р. Су и соавт. провели систематический обзор 15 исследований с 2000 г. по 2012 г., суммарно включавших 719 пациентов и 2290 образцов. По результатам анализа общая чувствительность конфокальной лазерной эндомикроскопии составила 94%, общая специфичность – 95%. Также исследователи посчитали, что чувствительность и специфичность конфокальной лазерной эндомикроскопии в реальном времени значительно выше, чем при «слепой» (когда оценка изображений проводится уже после исследования) – 96 и 97% по сравнению с 85 и 82% соответственно [18].

Поскольку опухолевый неоангиогенез является ключевым фактором в развитии рака, важно определить новые морфометрические параметры сосудов колоректальных новообразований, которые можно визуализировать *in vivo* с помощью конфокальной лазерной эндомикроскопии.

Этой проблеме посвящены исследования А. Сіо-сăтеу и соавт. (2014) [17], а также G.D. De Palma и соавт. (2016) [19].

Целью этих исследований было определение специфических морфологических характеристик сосудов нормальной слизистой и злокачественных образований толстой кишки.

В первом исследовании у пяти пациентов была взята биопсия из карциномы толстой кишки (Т3) и из участков неизменной слизистой; образцы были помечены флуоресцентными анти-CD31 антителами. По результатам конфокальной эндомикроскопии средний диаметр сосудов в опухоли был существенно больше, чем в нормальной ткани; плотность сосудов также была выше в опухолевых тканях [17].

Для второго исследования было отобрано 14 пациентов с колоректальным раком. Сосуды оценивались по следующим характеристикам: 1) форма (ровные/неровные); 2) диаметр; 3) разветвленность; 4) проницаемость (по просачиванию флуоресцентных); 5) кровоток (нормальный/дефективный). На конфокальных изобра-

жениях сосуды опухоли были неровными, извитыми, эктазированными, чрезмерно разветвленными; их диаметр и проницаемость были выше, чем в нормальной ткани [19].

Результаты как первого, так и второго исследования были подтверждены иммуногистохимией. Таким образом, конфокальная лазерная эндомикроскопия позволяет в режиме реального времени *in vivo* визуализировать микрососудистую архитектуру и охарактеризовать ее согласно описанным критериям.

Конфокальная лазерная эндомикроскопия может использоваться не только в качестве вспомогательной диагностической методики. Z. Zhang и соавт. в 2016 году в своем исследовании продемонстрировали, что лазерная эндомикроскопия позволяет отслеживать мезенхимальные стволовые клетки *in vivo* и оценивать экспрессию TRAIL-гена (Tumor necrosis factor ligand superfamily member 10; TNF-related apoptosis-inducing ligand – цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз) в карциноме. В исследовании были использованы мезенхимальные стволовые клетки мышей, в которых одновременно происходила экспрессия 2 генов: TRAIL-гена и зеленого флуоресцентного белка (используется в качестве светящейся метки при микроскопии). С помощью конфокальной эндомикроскопии было определено количество этих клеток, что позднее было подтверждено иммуногистохимией и количественной ПЦР. Таким образом, авторы показали, что конфокальная эндомикроскопия может эффективно использоваться для контроля генной терапии [33].

Заключение

Конфокальная лазерная эндомикроскопия – новая технология, представляющая собой связующее звено между эндоскопией и гистологическим исследованием. Методика позволяет *in vivo* произвести оценку клеточных структур – виртуальную биопсию. Ее достоинствами являются неинвазивность, и вследствие этого возможность проведения неограниченного числа оптических биопсий и оценки протяженных участков слизистой; высокая диагностическая точность, быстрота получения результата. Используя конфокальную лазерную эндомикроскопию, можно быстро поставить морфологический диагноз, предельно точно выбрать место для прицельной биопсии, что существенно снижает необходимость выполнения повторных биопсий, а в будущем методика потенциально даст возможность немедленно принимать решение о дальнейшей лечебной тактике.

На сегодняшний день в диагностике неоплазий толстой кишки конфокальная лазерная эндомикроскопия показала высокую чувствительность, специфичность и диагностическую точность как при самостоятельном использовании, так и в комбинации с другими диагностическими методиками, тем самым повышая качество проводимого исследования, и в будущем обещает значительно расширить возможности традиционной колоноскопии.

Литература

1. Агейкина Н.В., Дуванский В.А., Князев М.В. Альтернативный путь развития колоректального рака. Эндоскопические и

- морфологические особенности зубчатых поражений // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 8. – С. 3–10.
2. Агейкина Н.В., Дуванский В.А., Князев М.В. и др. Альтернативный путь развития колоректального рака. Гистогенетические и молекулярные особенности зубчатых поражений // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 7 (107). – С. 4–12.
 3. Дуванский В.А., Князев М.В., Краев Г.П., Осин В.Л. Эндоскопия в узком спектре и оптическая когерентная томография в диагностике толстокишечных неоплазий // Эндоскопическая хирургия. – 2013. – Т. 1. – С. 206.
 4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. – 250 с.
 5. Князев М.В., Дуванский В.А., Агейкина Н.В. Тримодальная эндоскопия в диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта // Клиническая эндоскопия. – 2012. – Т. 4. – С. 2.
 6. Князев М.В., Дуванский В.А. Аутофлуоресцентная эндоскопия в диагностике колоректальных неоплазий // Эндоскопическая хирургия. – 2014. – № 1. – С. 186.
 7. Петрова Г.В., Каприн А.Д., Грецова О.П., Старинский В.В. Злокачественные новообразования в России: обзор статистической информации за 1993–2013 гг. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2015. – 511 с.
 8. Практическое руководство Всемирного гастроэнтерологического общества (ВГО) и Международного союза по профилактике рака пищеварительной системы: Скрининг колоректального рака // WGO Practice Guidelines – World Gastroenterology Organisation, 2008.
 9. Шапиро Н.А., Шабанова А.И., Елеубаева Ж.Б. Цитологическая диагностика заболеваний пищевода, желудка и кишечника: Цветной атлас. – М., 2011. – С. 140–157.
 10. Штейн Г.П. Руководство по конфокальной микроскопии. – СПб., 2007. – 86 с.
 11. Шулешова А.Г., Брехов Е.И., Завьялов М.О. и др. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике неоплазий желудка // Эндоскопическая хирургия. – 2014. – № 5. – С. 24–30.
 12. Шулешова А.Г., Потехина Е.В., Завьялов М.О. и др. Применение сочетанных эндоскопических методик в диагностике очаговых изменений слизистой оболочки толстой кишки // Лазерная медицина. – 2016. – Т. 20. – № 4. – С. 42–46.
 13. Щербаков П.Л., Кирова М.В. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике заболеваний толстой кишки: критерии интерпретации изображений // Альманах клинической медицины. – 2016. – Август–сентябрь. – 44 (6). – С. 744–750.
 14. Щербаков П.Л., Кирова М.В. Рекомендации научного общества гастроэнтерологов России по конфокальной лазерной эндомикроскопии / Материалы XII съезда Научного общества гастроэнтерологов России, 2 марта 2012. – М., 2012. – С. 126–130.
 15. Brakenhoff G.J., Blom P., Barends P. Confocal scanning light microscopy with high aperture immersion lenses. *J. Microscopy*. 1979; 117: 219–232.
 16. Buchner A.M. Comparison of probe-based confocal laser endomicroscopy with virtual chromoendoscopy for classification of colon polyps. *Gastroenterology*. 2010; 138 (3): 834–842.
 17. Ciocâlțeu A., Săftoiu A., Cârțână T. et al. Evaluation of new morphometric parameters of neoangiogenesis in human colorectal cancer using confocal laser endomicroscopy (CLE) and targeted panendothelial markers. *PLoS One*. 2014, Mar 10; 9 (3).
 18. De Palma G.D. Confocal laser endomicroscopy in the *in vivo* histological diagnosis of gastrointestinal tract. *World J. Gastroenterol*. 2009; 15 (46): 5770–5775.
 19. De Palma G.D., Maione F., Esposito D. et al. *In vivo* assessment of tumour angiogenesis in colorectal cancer: the role of confocal laser endomicroscopy. *Colorectal Dis*. 2016 Feb; 18 (2): O66–73.
 20. De Palma G.D., Staibano S., Siciliano S. et al. *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. *Dig Liver Dis*. 2010 Nov; 42 (11): 791–797.
 21. Duvansky V.A., Kniazev M.V. Autofluorescent endoscopic diagnostics of epithelial neoplasms in the colon. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015; 30 (Suppl. 4): 211.
 22. Estimated number of deaths, Russian Federation (top 10 cancer sites) // International Agency for Research on Cancer. – URL: http://geo.iarc.fr/today/online-analysis-pie?mode=cancer&mode_population=world&population=643&sex=0&cancer=6&type=1&statistic=1&prevalence=0&color_palette=default (дата обращения: 15.03.2018).
 23. George M., Meining A. Cresyl violet as a uorophore in confocal laser scanning microscopy for future *in vivo* histopathology. *Endoscopy*. 2003; 35 (7): 585–589.
 24. Innoe H., Igari T., Nishikage T. et al. 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.
 25. Kiesslich R., Burg J., Vieth M. et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer *in vivo*. *Gastroenterology*. 2004; 3: 706–713.
 26. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscopy. *Scanning*. 1988; 10: 128–138.
 27. Shahid M.W., Buchner A.M., Coron E. et al. Accuracy of probe-based confocal laser endomicroscopy in detecting residual colorectal neoplasia after EMR: a prospective study. *Gastrointest Endosc*. 2012 Mar; 75 (3): 525–533.
 28. Su P., Liu Y., Lin S. et al. Efficacy of confocal laser endomicroscopy for discriminating colorectal neoplasms from non-neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*. 2013 Jan; 15 (1): e1–12.
 29. Ussui V.M., Wallace M.B. Confocal endomicroscopy of colorectal polyps. *Gastroenterol Res. Pract*. 2012; 2012: 545–679.
 30. Wallace M., Lauwers G.Y., Chen Y. et al. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011; 43 (10): 882–891.
 31. Wallace M.B., Meining A., Canto M.I. et al. The safety of intravenous fluorescein for confocal laser endomicroscopy in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2010; 31 (5): 548–552.
 32. Xie X.J., Li C.Q., Zuo X.L. et al. Differentiation of colonic polyps by confocal laser endomicroscopy // *Endoscopy*. 2011 Feb; 43 (2): 87–93.
 33. Zhang Z., Li M., Chen F. et al. Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy for Imaging TRAIL-Expressing Mesenchymal Stem Cells to Monitor Colon Xenograft Tumors *In Vivo*. *PLoS One*. 2016 Sep 12; 11 (9).

References

1. Ageikina N.V., Duvansky V.A., Kniazev M.V. An alternative way in developing colorectal cancer. Endoscopic and morphological features of serrated lesions. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2013; 8: 3–10.
2. Ageikina N.V., Duvansky V.A., Kniazev M.V. et al. An alternative way in developing colorectal cancer. Histogenetic and molecular features of serrated lesions. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2014; 7 (107): 4–12.
3. Duvansky V.A., Kniazev M.V., Kraev G.P., Osin V.L. Endoscopy in the narrow spectrum and optical coherence tomography in the diagnostics of colonic neoplasia. *Endoscopic surgery*. 2013; 1: 206.
4. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality rates). Moscow: Hertenzen MNIIOI, 2018: 250.
5. Kniazev M.V., Duvansky V.A., Ageikina N.V. Trimodal endoscopy in the diagnosis of diseases of the gastrointestinal tract. *Clinical endoscopy*. 2012; 4: 2.
6. Kniazev M.V., Duvansky V.A. Autofluorescent endoscopy in the diagnosis of colorectal neoplasia. *Endoscopic surgery*. 2014; 1: 186.
7. Petrova G.V., Kaprin A.D., Gretsova O.P., Starinsky V.V. Malignant neoplasms in Russia: overview of statistical information for 1993–2013. Moscow: Hertenzen MNIIOI, 2015: 511.

8. Practical guidance of World Gastroenterological Organization (WGO) and International Union for the Prevention of Cancer of the Digestive System: Screening for colorectal cancer. *WGO Practice Guidelines*. 2008.
9. Shapiro N.A., Shabanova A.I., Yeleubayeva Zh.B. Cytological diagnostics of esophageal, gastric and intestinal diseases. *Color Atlas*. Moscow, 2011: 140–157.
10. Stein G.P. Manual for confocal microscopy. St. Petersburg, 2007: 86.
11. Shuleshova A.G., Brekhov E.I., Zavyalov M.O. et al. Confocal laser endomicroscopy in diagnostics of gastric neoplasia. *Endoscopic surgery*. 2014; 5: 24–30.
12. Shuleshova A.G., Potekhina E.V., Zavyalov M.O. et al. Combined endoscopic techniques in the diagnostics of focal changes in colon mucous. *J. Laser Medicine*. 2016; 20 (4): 42–46.
13. Shcherbakov P.L., Kirova M.V. Confocal laser endomicroscopy in the diagnosis of colon diseases: criteria for interpreting images. *Almanac of Clinical Medicine*. 2016, August–September 44 (6): 744–750.
14. Shcherbakov P.L., Kirova M.V. Recommendations of the Scientific Society of Gastroenterologists of Russia on confocal laser endomicroscopy. *Proceedings of XII Congress of Scientific Society of Gastroenterologists of Russia*, March 2, 2012. Moscow, 2012: 126–130.
15. Brakenhoff G.J., Blom P., Barends P. Confocal scanning light microscopy with high aperture immersion lenses. *J. Microscopy*. 1979; 117: 219–232.
16. Buchner A.M. Comparison of the probe-based confocal laser endomicroscopy and virtual chromoendoscopy for classification of colon polyps. *Gastroenterology*. 2010; 138 (3): 834–842.
17. Ciocâlțeu A., Săftoiu A., Cârjână T. et al. Evaluation of new morphometric parameters of neoangiogenesis in human colorectal cancer using confocal laser endomicroscopy (CLE) and targeted panendothelial markers. *PLoS One*. 2014, Mar 10; 9 (3).
18. De Palma G.D. Confocal laser endomicroscopy in *in vivo* histological diagnosis of gastrointestinal tract. *World J. Gastroenterol*. 2009; 15 (46): 5770–5775.
19. De Palma G.D., Maione F., Esposito D. et al. *In vivo* assessment of tumour angiogenesis in colorectal cancer: role of confocal laser endomicroscopy. *Colorectal Dis*. 2016, Feb; 18 (2): 66–73.
20. De Palma G.D., Staibano S., Siciliano S. et al. *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. *Dig Liver Dis*. 2010, Nov; 42 (11): 791–797.
21. Douvansky V.A., Kniazev M.V. Autofluorescent endoscopic diagnostics of epithelial neoplasms in the colon. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015; 30 (Suppl. 4): 211.
22. Estimated number of deaths (Russian Federation – top 10 cancer sites). International Agency for Research on Cancer. – URL: http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?mode=cancer&mode_population=world&population=643&sex=0&cancer=6&type=1&statisitic=1&prevalence=0&color_palette=default.
23. George M., Meining A. Cresyl violet as a uorophore in confocal laser scanning microscopy for future *in vivo* histopathology. *Endoscopy*. 2003; 35 (7): 585–589.
24. Innoe H., Igari T., Nishikage T. et al. 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.
25. Kiesslich R., Burg J., Vieth M. et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer *in vivo*. *Gastroenterology*. 2004; 3: 706–713.
26. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscopy. *Scanning*. 1988; 10: 128–138.
27. Shahid M.W., Buchner A.M., Coron E. et al. Accuracy of probe-based confocal laser endomicroscopy in detecting residual colorectal neoplasia after EMR: a prospective study. *Gastrointest Endosc*. 2012, Mar; 75 (3): 525–533.
28. Su P., Liu Y., Lin S. et al. Efficacy of confocal laser endomicroscopy for discriminating colorectal neoplasms from non-neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*. 2013, Jan; 15 (1): 11–12.
29. Ussui V.M., Wallace M.B. Confocal endomicroscopy of colorectal polyps. *Gastroenterol Res. Pract*. 2012; 2012: 545–679.
30. Wallace M., Lauwers G.Y., Chen Y. et al. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011; 43 (10): 882–891.
31. Wallace M.B., Meining A., Canto M.I. et al. The safety of intravenous fluorescein for confocal laser endomicroscopy in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2010; 31 (5): 548–552.
32. Xie X.J., Li C.Q., Zuo X.L. et al. Differentiation of colonic polyps by confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011, Feb; 43 (2): 87–93.
33. Zhang Z., Li M., Chen F. et al. Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy for Imaging TRAIL-Expressing Mesenchymal Stem Cells to Monitor Colon Xenograft Tumors *In Vivo*. *PLoS One*. 2016, Sep 12, 11 (9).