

# КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ ЭНДОМИКРОСКОПИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ

Шавров А. А. (мл.)<sup>1</sup>, Вольнец Г. В.<sup>2</sup>, Шавров А. А.<sup>3,4</sup>, Морозов Д. А.<sup>1,2</sup>, Харитонов А. Ю.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, (Москва, Россия)

<sup>2</sup> НИКИ педиатрии и детской хирургии им. Ю. Е. Вельтищева, (Москва, Россия)

<sup>3</sup> НИИ Неотложной детской хирургии и травматологии ДЗ г. Москвы, (Москва, Россия)

<sup>4</sup> РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, (Москва, Россия)

**Вольнец Галина Васильевна**, руководитель отдела гастроэнтерологии, главный научный сотрудник, д. м. н.

**Шавров Андрей Александрович**, д. м. н., профессор кафедры, главный научный сотрудник

**Морозов Дмитрий Анатольевич**, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой, директор

**Харитонов Анастасия Юрьевна**, к. м. н., заведующая эндоскопическим отделением

Для переписки:

Шавров

Антон

Андреевич

e-mail:

shavrovnczd

@yandex.ru

## РЕЗЮМЕ

В обзоре современной литературы описаны история развития, принцип, методика и клиническое применение конфокальной лазерной эндомикроскопии у детей. Реализация данной технологии позволяет не только дополнить и расширить возможности диагностики с помощью традиционных внутрипросветных методов исследования, но и определять эффективность лечебных мероприятий различных болезней пищеварительного тракта. Представлены новые экспериментальные и клинические данные диагностического применения конфокальной лазерной эндомикроскопии в оценке воспалительных изменений

пищеварительного тракта, барьерной функции тонкой и подвздошной кишки как предиктора обострения патологического процесса при воспалительных заболеваниях кишечника, применении технологии при синдроме раздраженного кишечника и болезни Гиршпрунга. Приведены примеры научных исследований у взрослых пациентов, которые потенциально могут быть крайне полезны и у педиатрических больных. Обсуждаются проблемы связанные с использованием технологии оптической биопсии органов пищеварительного тракта и перспективы ее применения в педиатрической практике.

EDN: QJGZBL



**Ключевые слова:** конфокальная лазерная эндомикроскопия, заболевания пищеварительного тракта, педиатрия.

Информация о конфликте интересов: конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве: данная работа не финансировалась.

**Для цитирования:** Шавров А. А. (мл.), Вольнец Г. В., Шавров А. А., Морозов Д. А., Харитонов А. Ю. Конфокальная лазерная эндомикроскопия пищеварительного тракта у детей. Клиническая эндоскопия. 2024;66(4):41-53. doi: 10.31146/2415-7813-endo-66-4-41-53

## CONFOCAL LASER ENDOMICROSCOPY OF THE DIGESTIVE TRACT IN CHILDREN

A. A. Shavrov (Jr)<sup>1</sup>, G. V. Volynets<sup>2</sup>, A. A. Shavrov<sup>3,4</sup>, D. A. Morozov<sup>1,2</sup>, A. Yu. Kharitonova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, (Moscow, Russia)

<sup>2</sup> Y. E. Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, (Moscow, Russia)

<sup>3</sup> Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, (Moscow, Russia)

<sup>4</sup> Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, (Moscow, Russia)

**Galina V. Volynets**, MD, Head of the Gastroenterology Department, Chief Researcher; ORCID: 0000-0002-5413-9599, SPIN: 5529-2970

**Andrey A. Shavrov**, MD, professor, chief researcher; ORCID: 0000-0003-3666-2674, SPIN: 3455-9611

**Dmitriy A. Morozov**, MD, professor, director; ORCID: 0000-0002-1940-1395, SPIN: 8779-8960

**Anastasia Yu. Kharitonova**, PhD, Head of Endoscopy Department; ORCID: 0000-0001-6218-3605, SPIN: 1251-5150

### SUMMARY

Corresponding author:  
Anton A. Shavrov

e-mail:  
shavrovnczd@yandex.ru

In this review article briefly described history, principles, technique and clinical applications of confocal laser endomicroscopy. 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 inflammatory changes of the digestive tract, small bowel barrier

dysfunction as a predictor of relapse for inflammatory bowel disease, applying of the technology in irritable bowel syndrome and Hirschsprung disease is presented. Examples of reports in adult patients are given, which can potentially be extremely useful in pediatric patients. Problems and perspectives regarding application of optical biopsy for gastrointestinal tract in pediatric practice are discussed.

**Key words:** confocal laser endomicroscopy, gastrointestinal diseases, pediatrics.

Information on conflicts of interest: there is no conflict of interest.

Sponsorship Information: This work was not funded.

**For citation:** Shavrov A. A. (Jr), Volynets G. V., Shavrov A. A., Morozov D. A., Kharitonova A. Yu. Confocal laser endomicroscopy of the digestive tract in children. *Filin's Clinical endoscopy*. 2024;66(4):41-53. (in Russ.)  
doi: 10.31146/2415-7813-endo-66-4-41-53

## ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КОНФОКАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ЭНДОМИКРОСКОПИИ

История конфокальной лазерной микроскопии берет начало в 1955 году в США, когда американский профессор Marvin 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 две 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 в то время просто не существовало компьютерного оборудования, способного обрабатывать полученную информацию [1, 2].

В конце 60х начале 70х годов впервые публикуются 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 возникновению нового витка в развитии конфокальной микроскопии и позволило впервые представить конфокальные изображения тканей *in vivo* у животных, роговицы глаза и головного мозга человека [4, 5, 6]. В 1995 получены первые гистологические изображения кожи человека *in vivo* и конфокальная микроскопия находит клиническое применение в дерматологии [7].

Впервые в гастроэнтерологии конфокальная лазерная эндомикроскопия (КЛЭМ) была использована 2000 году, при исследовании препаратов ткани желудочно-кишечного тракта [8]. В 2004 году первый раз 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 позднее конфокальная лазерная эндомикроскопия была использована в диагностике неоплазии при пищеводе Барретта у взрослых больных [10].

В сравнении с клинической практикой взрослого возраста, КЛЭМ в педиатрической

гастроэнтерологии начала применяться немного позже, а первая публикация увидела свет в 2009 г. [11].

Существует несколько видов конфокальной лазерной эндомикроскопии — отражательная в дерматологии и флюоресцентная, в офтальмологии и гастроэнтерологии. На сегодняшний день проведение конфокальной лазерной эндомикроскопии пищеварительного тракта доступно с помощью всего лишь одной системы. Ранее существовала система производства Pentax (Токио, Япония) где миниатюрный сканирующий микроскоп был помещен в дистальную часть эндоскопа и называлась эндоскопическая конфокальная лазерная эндомикроскопия (ЭКЛЭМ), однако компания Pentax в 2014 г. прекратила выпуск этого оборудования. Другая система производства Mauna Kea Technologies (Париж, Франция), проводит конфокальное лазерное сканирование с помощью мини зонда, проведенного через инструментальный канал большинства гибких эндоскопов, и получила название зондовая конфокальная лазерная эндомикроскопия (ЗКЛЭМ). Среди недостатков ЭКЛЭМ оказались возможность применения только для слизистой оболочки пищеварительного тракта, к тому же размер дистальной части эндоскопа, 12,8мм мог 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 использовать их при внутрисветном исследовании не только слизистой оболочки органов пищеварительного тракта, но и бронхолегочной системы, выводных протоков печени и поджелудочной железы.

## КОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА

Для достижения высококонтрастных изображений гистологической структуры слизистой оболочки пищеварительного тракта необходимо использование диагностических средств, обладающих эффектом флюоресценции. Их можно использовать как местно, так и внутривенно. В клинической эндоскопической практике у взрослых наиболее широко используется 10% раствор флюоресцеина натрия и по данным мировой литературы он практически не имеет серьезных побочных эффектов [12].

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 0,05 до 1,1% [13, 14]. Аллергические реакции составляют 1 случай на 22 000 больных [15].

В публикациях, посвященных применению флюоресцеина у взрослых больных с гастроэнтерологической патологией серьезных побочных эффектов выявлено не было. Среди других отмечены кратковременная гипотензия, легкая тошнота, воспаление в месте инъекции, самокупирующаяся сыпь и незначительные эпигастральные боли, которые наблюдались в 1,4% случаев [16]. Частота их возникновения не была связана с дозой диагностического средства (2,5–5мл 10% и 0,1мг/кг 1% раствора флюоресцеина) и торговыми названиями препарата [16]. У всех больных наблюдалось кратковременное пожелтение кожных покровов и/или мочи, которые бесследно проходили в течение 2–3 часов [16]. Другие исследователи определили оптимальную дозу и время между внутривенным введением флюоресцеина для получения качественного изображения. Установлено, что высококонтрастное изображение можно получить в течение от 0 до 8 минут после инъекции, и, наблюдать его картину до 30 минут после введения препарата [17, 18].

Единственным недостатком флюоресцеина является отсутствие прямой визуализации ядер клеток. Его пытались компенсировать местным применением 0,2% акрифлавин гидрохлорида, однако, препарат запретили к применению после выявления его мутагенных свойств. Акрифлавин связывается с нуклеиновыми кислотами и влияет на ДНК клетки [17]. В последствии акрифлавин был заменен 2% крезоловым фиолетовым. Сначала были проведены удачные опыты *in vivo* с участием животных [19], а затем *ex vivo* на хирургически удаленных образцах тканей человека [20].

До настоящего времени в педиатрической практике нет прямых показаний для внутривенного применения флюоресцеина у детей. Авторами одного педиатрического исследования было обследовано 124 ребенка с различной патологией желудочно-кишечного тракта, которым для выполнения зондовой конфокальной лазерной эндомироскопии внутривенно вводили 10% раствор флюоресцеина натрия из расчета 5 мг на кг массы тела и исключали пациентов предрасположенных к аллергическим реакциям и с тяжелыми заболеваниями печени и почек [21]. Все дети после введения диагностического средства наблюдались на наличие побочных эффектов, которые разделялись на серьезные и незначительные. Серьезными считались осложнения, несущие угрозу для жизни,

и они не были отмечены в этой группе исследованных больных. Все остальные побочные эффекты расценивались как не значительные и проявлялись кратковременной желтушностью кожи и/или видимых слизистых оболочек и ярко желтым окрашиванием мочи, которые бесследно проходили в течение 2–6 часов, незначительная тошнота и позывы на рвоту отмечались у 2 детей (1,7%) [21]. Строгое выполнение протокола отбора для проведения исследования помогает избежать каких-либо серьезных осложнений на введение препарата, что позволяет авторам рекомендовать 10% раствор флюоресцеина из расчета 5 мг на кг массы тела как диагностическое средство при проведении ЗКЛЭМ пищеварительного тракта в педиатрической практике [21].

## КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ КОНФОКАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ЭНДОМИРОСКОПИИ

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

Цели применения КЛЭМ у детей и у взрослых сильно отличаются. Изначально технология использовалась для диагностики раковых и предраковых заболеваний пищеварительного тракта во взрослой практике [22–28], однако данная патология у детей встречается крайне редко.

Тем не менее методика может потенциально применяться в педиатрической практике при других нозологиях, которые актуальны как в детском, так и во взрослом возрасте: эозинфильный и рефлюкс-эзофагит, диагностика *H. pylori*, целиакия, воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), синдром раздраженного кишечника (СРК), дифференциальная диагностика полипов, реакция трансплантат против хозяина и других. Кроме того, протокол взятия биопсий для гистологического исследования при эндоскопических процедурах у взрослых и у детей значительно отличается [29, 30, 31]. Во взрослой практике не принято брать биопсию из неизменной слизистой оболочки пищеварительного тракта при ЭГДС и колоноскопии, в то время как в педиатрической практике это считается стандартом [30, 31]. Однако, по некоторым наблюдениям большинство биопсий у детей, например после колоноскопии, представляют собой неизменные ткани, которые дают мало или вообще никакой новой

диагностической информации о пациенте [32]. Даже при самых консервативных оценках и признании того, что существует всего лишь несколько публикаций на эту тему, это предполагает тысячи рутинных биопсий с неизменной слизистой оболочкой желудочно-кишечного тракта у детей в год. Эти наблюдения наводят на мысль о чрезмерном использовании ресурсов и дополнительных затратах здравоохранения на таких пациентов, связанные как с эндоскопическими процедурами и временем их проведения, так и с обработкой образцов ткани и их гистологической оценкой, тем самым создавая дополнительные нагрузки на гистологические службы. В то же время КЛЭМ позволяет проводить неограниченное количество оптических биопсий без травматизации слизистой оболочки, что потенциально может уменьшить количество традиционных биопсий, а возможно в некоторых случаях и полностью отказаться от них, уменьшив тем самым рабочую нагрузку на гистологов.

Количество публикаций на тему применения КЛЭМ при болезнях пищеварительного тракта у детей с каждым годом увеличивается. Первое исследование как ранее упоминалось было выполнено в 2009 г. с целью выявления выполнимости и полезности метода при описании нормальной слизистой оболочки ЖКТ и диагностике патологических состояний пищеварительного тракта у детей [32]. Исследование включало 45 пациентов (средний возраст 10,9 лет, 0,7–16,6 лет) с подозрением или ранее диагностированной патологией ЖКТ, которым была выполнена ЭГДС ( $n = 36$ ) или колоноскопия ( $n = 31$ ) дополненная КЛЭМ с использованием в качестве контрастного средства флюоресцеина натрия и акрифлавина [11]. Авторы выявили, что конфокальные изображения были сопоставимы с традиционной гистологией как при нормальной слизистой оболочке, так и при патологических состояниях, таких как эзофагит, гастрит, *H. pylori*, целиакия, ВЗК, гетеротопия толстой кишки и реакции трансплантат против хозяина, сделав вывод, что КЛЭМ позволяет брать прицельные биопсии при патологически измененной слизистой оболочке, тем самым увеличивая диагностическую ценность традиционных внутрипросветных эндоскопических исследований, сокращая количество биопсий, уменьшая нагрузку на гистологические службы и сокращая затраты на проведение процедуры [11].

Тот же коллектив авторов годом позже опубликовал работу, посвященную применению КЛЭМ при целиакии у детей. Было обследовано 9 детей (средний возраст 8,35 лет, 2–12,6 лет)

с подозрением на целиакию и 10 пациентов в группе контроля, а гистологические и конфокальные изображения одних и тех же участков сравнивали по 2 опытных эндоскописта и гистолога, не знавших об изначальном диагнозе [33]. Чувствительность, специфичность и положительная прогностическая ценность конфокальных изображений по сравнению с гистологией составили 100%, 80% и 81% соответственно [33]. Авторы сделали вывод, что КЛЭМ дает возможность диагностировать целиакию непосредственно во время ЭГДС, что позволяет брать прицельные биопсии измененной слизистой оболочки, увеличивая тем самым диагностическую ценность исследования, особенно когда атрофия ворсинок в двенадцатиперстной кишке является неоднородной [33].

Следующая работа была опубликована в 2012 г. и касалась применения КЛЭМ при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей (ГЭРБ). Диагноз ГЭРБ выставляется на основе комбинации клинических симптомов, pH мониторинга, эндоскопического исследования и гистологии [34]. Гистологические изменения включают гиперплазию базальных клеток и удлинение сосочков [34]. КЛЭМ позволяет получать изображения на клеточном уровне *in vivo* в режиме реального времени на поверхности и вглубь на 250 мкм под поверхностью слизистой оболочки. Авторы измеряли расстояние от поверхности слизистой оболочки до кончика сосочков в пищеводе при помощи КЛЭМ и сравнили показатели у больных ГЭРБ и пациентов из группы контроля, используя гистологию в качестве золотого стандарта. В исследование включили 7 пациентов с ГЭРБ (средний возраст 7,6 лет, 1,8–15,5 лет) и 16 детей с неизменной слизистой оболочкой пищевода (средний возраст 12 лет, 2,2–15,3 лет) [34]. Среднее значение расстояния от поверхности слизистой оболочки до кончика сосочков на КЛЭМ и гистологическом исследовании с поправкой на рост пациента у детей с ГЭРБ составили 0,19 мкм/см (0,10–0,49 мкм / см) и 0,58 мкм/см (0,29–0,76 мкм/см), соответственно, а для группы контроля — 0,44 мкм/см (0,20–0,93 мкм/см) и 1,07 мкм/см (0,76–1,57 мкм/см) соответственно [34]. Авторы сделали вывод, что КЛЭМ позволяет в режиме реального времени во время эндоскопического исследования диагностировать рефлюкс-эзофагит при помощи измерения расстояния от поверхности слизистой оболочки до кончика сосочков [34].

Однако стоит отметить, что все эти исследования были выполнены на оборудовании фирмы Pentax (ЭКЛЭМ), которое было снято с производства в 2014 г. Таким образом после 2014г

осталась всего одна система для проведения КЛЭМ в гастроэнтерологии — зондовая конфокальная лазерная эндомикроскопия (ЗКЛЭМ).

Первое исследование по применению ЗКЛЭМ у детей было выполнено в России и посвящено диагностике осложнений ГЭРБ. Было обследовано 46 пациентов, из которых 17 детей составили группу контроля. Проведенные исследования показали, что оптическая биопсия в диагностике воспалительных изменений слизистой оболочки пищевода может определить эзофагит с чувствительностью 93% и специфичностью 94%; метапластические изменения 83% и 100% соответственно. Чувствительность в дифференциальной диагностике полипов кардиоэзофагеального перехода составила 89% [35]. Годом позднее, данный коллектив авторов определил значение ЗКЛЭМ в оценке хирургического лечения ГЭРБ у детей. Полученные данные позволили авторам утверждать, что уменьшение воспалительных изменений и увеличение числа наблюдений неизменной слизистой оболочки пищевода в отдаленные сроки, могут быть объективным показателем адекватного хирургического лечения ГЭРБ, а эндомикроскопическое подтверждение ее осложнений может быть показанием к проведению лапароскопической фундопликации по Ниссену [36].

В другой работе исследователи попытались определить значимость конфокальной эндомикроскопии в диагностике изменений слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у детей. Было обследовано 116 детей в возрасте от 3 до 18 лет эндоскопическим методом, дополненным КЛЭМ и биопсией слизистой оболочки с последующим гистологическим исследованием [37]. С целью определения прогностической значимости метода зондовой КЛЭМ в оценке неизменной и патологической структуры слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, проведено сопоставление результатов оптической биопсии с данными, полученными при проведении стандартного гистологического исследования. В диагностике гастритов КЛЭМ показала чувствительность 83,7%, специфичность 87,5%, положительная прогностическая ценность 93,9%, отрицательная прогностическая ценность 70,0%, точность 84,9% [37]. При дуоденитах чувствительность зондовой КЛЭМ составила 86,7%, специфичность 81,8%, положительная прогностическая ценность 90,7%, отрицательная прогностическая ценность 75,0%, точность 85,1% [37].

Основная проблема при ведении детей с ВЗК заключается в том, что клиническое течение

заболевания может сильно варьироваться [38]. Существует ограниченная корреляция между клинической активностью, биохимическими параметрами, эндоскопической и гистологической картиной у пациентов с ВЗК [39, 40].

В комплексном обследовании эндоскопия толстой кишки была дополнена оптической биопсией у 29 детей с ВЗК, которое показало, что у 20,7% пациентов клинические и эндоскопические признаки ремиссии не соответствуют выявленным эндомикроскопическим изменениям, полученным при ЗКЛЭМ [41]. При сопоставлении с результатами традиционных гистологических 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 [41].

В последние годы ведутся активные исследования по выявлению факторов, способствующих обострению ВЗК. Несмотря на интенсивный поиск предикторов рецидива ВЗК, существующие на сегодняшний день биохимические параметры могут ограниченно предсказать рецидив заболевания (С-реактивный белок и фекальный кальпротектин), а значительная индивидуальная вариабельность уровней этих биомаркеров ограничивает их полезность при лечении и прогнозировании рецидивов [42]. Исследования, проведенные в течение последних двух десятилетий, убедительно продемонстрировали, что нарушение барьерной функции тонкой кишки играет значительную и важную роль в патогенезе воспаления кишечника и тяжести заболевания при ВЗК. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечной стенки позволяет обитающим там микроорганизмам проникать в слизистую оболочку, что вызывает ее воспаление и секрецию провоспалительных цитокинов, в частности фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) [43], что может приводить к рецидиву заболевания. Появление КЛЭМ позволило непосредственно во время эндоскопического исследования *in vivo* оценивать барьерную функцию слизистой оболочки тонкого кишечника [44, 45].

Впервые эпителиальные разрывы слизистой оболочки в результате выпадения эпителиальных клеток у здоровых пациентов, проходящих скрининговую колоноскопию, *in vivo* при помощи КЛЭМ были описаны в 2007 г. R. Kiesslich [43]. В 2011 г. вышеуказанный автор обследовал 47 больных с язвенным колитом (ЯК) и 11 пациентов с болезнью Крона (БК) в стадии ремиссии, 12 больных, проходивших программу скрининга колоректального рака,

но не страдающих ВЗК или не имеющих каких-либо кишечных симптомов, были включены в группу контроля [45]. Всем больным выполнялось традиционное эндоскопическое исследование, КЛЭМ и биопсия слизистой оболочки подвздошной кишки с последующим гистологическим исследованием. У больных ВЗК по сравнению с группой контроля, авторы обнаружили множественные эпителиальные разрывы (зоны экструзии в слизистой оболочке) слизистой оболочки подвздошной кишки и составили шкалу, которая характеризовала тяжесть этих повреждений, варьирующую от точечных затеков флюоресцеина до микроэрозий [45]. Чувствительность, специфичность и точность данной шкалы в способности предсказывать обострение ВЗК у взрослых составила 62,5%, 91,2% и 79%, соответственно [45].

Другие авторы предложили количественную оценку распространенности эпителиальных разрывов слизистой оболочки тонкого кишечника и разработали специальную числовую меру: плотность разрывов (зон экструзии) [46]. Плотность клеточных разрывов расценивали как общее число клеточных разрывов на 1000 клеток, подсчитанных в видимой ворсине [46]. В своем пилотном исследовании авторы сравнили плотность эпителиальных разрывов у пациентов с установленной БК и у лабораторных мышей, у которых отсутствовал интерлейкин-10, получив схожие показатели плотности клеточных разрывов [47].

У детей первое исследование на эту тему было выполнено в 2016г, с целью определения значения плотности эпителиальных разрывов с помощью ЗКЛЭМ как предиктора клинического рецидива (клинических обострений с эндоскопическими признаками воспаления) ВЗК у детей [48]. В исследование было включено 24 ребенка с ВЗК (13 с болезнью Крона, 11 с язвенным колитом), средний возраст составил 14 лет (диапазон 10–21 год), а период наблюдения длился 13 месяцев (4–33 месяца) [48]. Средняя продолжительность заболевания составила 2,9 года (диапазон 0–9лет). В отсутствие видимых воспалительных признаков на эндоскопическом исследовании было обнаружено, что увеличение плотности эпителиальных разрывов в терминальном отделе подвздошной кишки было значимым предиктором клинического рецидива в течение следующих 13 месяцев [49]. Заболевание обострялось не менее чем через 6 месяцев у больных с повышенным показателем плотности эпителиальных разрывов при соблюдении критериев подсчета, в то время как дети с нормальным показателем не обострялись в течение следующих 13 месяцев [48].

В другой работе у детей с ВЗК при помощи ЗКЛЭМ оценивали плотность эпителиальных разрывов в двенадцатиперстной кишке, сравнивая значения с группой контроля (16 БК, 10 ЯК, 17 в группе контроля) [49]. Было выявлено, что плотность эпителиальных разрывов была увеличена в двенадцатиперстной кишке у педиатрических пациентов с ВЗК и коррелировала с уровнями С-реактивного белка у пациентов с ЯК, но не у пациентов с БК [49]. Увеличение плотности эпителиальных разрывов было обнаружено даже у пациентов с ВЗК без эндоскопических изменений слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, что позволило авторам сделать предположение, что образование эпителиальных разрывов и нарушение функции эпителиального барьера являются важным системным признаком ВЗК у детей, а не вторичным проявлением воспаления [49].

Изменения сосудистого русла описаны при ВЗК, хотя неясно, как они связаны с патогенезом заболевания [50]. Основная проблема при изучении патогенеза ВЗК заключается в том, что многие признаки, включая усиление сосудистого кровотока, могут быть результатом текущего воспаления, а не его причиной, а их роль остается плохо изученной [51]. Оценка изменений кровообращения не пораженных участков при ЯК (например, двенадцатиперстной кишки) при отсутствии воспаления может выявить сосудистые изменения, связанные с патогенезом [51]. Целью недавнего исследования было измерение скорости капиллярного кровотока в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки с помощью ЗКЛЭМ непосредственно во время эндоскопического исследования у детей с ВЗК. Было обследовано 45 пациентов (22 в группе контроля, 14 БК, 9 ЯК). Скорость дуоденального капиллярного кровотока была значительно выше у пациентов с ЯК ( $0,75 \pm 0,07$  мм/с) по сравнению с пациентами без ВЗК ( $0,57 \pm 0,03$ ) и БК ( $0,65 \pm 0,04$ ) [52]. Не было выявлено корреляционной зависимости между гемоглобином и альбумином в сыворотке крови, индексами активности заболевания, маркерами воспаления в сыворотке крови и скоростью капиллярного кровотока у пациентов. Авторы впервые показали усиление капиллярного кровотока в двенадцатиперстной кишке у детей с ЯК, не связанное с воспалительными маркерами или активностью заболевания [51].

Болезнь Гиршпрунга — это врожденная аномалия нервной системы кишечника, характеризующаяся отсутствием ганглиозных клеток и проявляющаяся тяжелым запором вскоре

после рождения [52]. Хирургическое лечение болезни Гиршпрунга требует интраоперационной гистологической диагностики для оценки степени аганглиоза [53]. В этой связи определенный интерес представляет роль ЗКЛЭМ в диагностике этой патологии. Японские исследователи в недавней работе оценили возможность применения КЛЭМ для визуализации нервной системы кишечника в режиме реального времени у детей с болезнью Гиршпрунга при хирургической резекции кишечника [20]. Было прооперировано 9 пациентов по поводу болезни Гиршпрунга, а образцы толстой кишки были окрашены 0,1% крезильным фиолетовым, оценены с помощью КЛЭМ и сравнивались с результатами гистологического исследования [20]. Нервная система кишечника четко визуализировалась как лестничная структура в ганглионарном сегменте и не наблюдалась в аганглиозном сегменте [20]. При сравнении результатов КЛЭМ с гистологическими данными чувствительность составила 78,6% и специфичность 95,1%, положительная прогностическая ценность 91,7%, а отрицательная прогностическая ценность — 86,7% [20]. Кроме того, при помощи КЛЭМ визуализировались уникальные волнистые структуры, содержащие толстые нервные пучки, характерные для аганглионарной/ переходной зоны при болезни Гиршпрунга [20]. Спустя год тот же коллектив авторов выполнил ЗКЛЭМ двум педиатрическим пациентам с болезнью Гиршпрунга для подтверждения наличия поражения нервной системы кишечника непосредственно во время оперативного лечения [54]. Крезильный фиолетовый был осторожно введен с серозной стороны в мышечный слой кишечника, и в течение 30 минут было проведено конфокальное сканирование. Затем отсканированный кишечник удалялся, и была проведена гистологическая оценка визуализируемой области. Ядра ганглиозных клеток и нейронная сеть кишечника были четко визуализированы во время операции в обоих случаях. Конфокальные данные были аналогичны гистологическим данным нервной системы кишечника в обоих случаях, хотя период наблюдения был коротким [54]. Авторы сделали вывод, что в качестве инновационного инструмента для визуализации нервной системы кишечника человека, КЛЭМ может произвести революцию в том, как детские хирурги определяют уровень аганглиоза во время операции по поводу болезни Гиршпрунга, а также потенциально стать превосходной альтернативой интраоперационной гистологической диагностике [20, 54].

Так же существует ряд интересных исследований по применению КЛЭМ у взрослых пациентов, которые могли бы быть столь же актуальными и в педиатрической практике.

Эозинофильный эзофагит — воспалительное хроническое иммуно/антиген опосредованное заболевание, характеризующееся выраженной эозинофильной инфильтрацией слизистой оболочки пищевода [55]. Всего лишь 15 лет назад это считалось редкой патологией, однако в последнее время, по данным мировой литературы частота, его выявления возросла и составляет от 0,01% до 0,1% в популяции педиатрических и взрослых больных. Этиология данного заболевания полностью не раскрыта, а длительное течение заболевания приводит к повреждению стенки пищевода, сужениям и стриктурам. Диагноз ставится после проведения эндоскопического исследования с биопсией слизистой оболочки пищевода количество которых особенно важно, поскольку чувствительность гистологического исследования к эозинофильному эзофагиту по результатам 1 биопсии составляет лишь 55%, в то время как 5 фрагментов дают 100% результат [56]. В этой связи 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 [57].

*Helicobacter pylori* является одной из основных причин развития патологических изменений слизистой оболочки желудка, приводящих к хроническому гастриту, язвенной болезни и раку желудка [58]. ЭКЛЭМ при гастрите ассоциированным с *H.pylori* у 118 взрослых больных показала, что данный метод позволяет выявлять *H.pylori* с чувствительностью 82,9% и специфичностью 90,9%, кишечную метаплазию 98,6% и 100% соответственно, атрофию желез — 92,9% и 95,2% соответственно [59].

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 [60]. Учитывая вышесказанное, конфокальная эндомикроскопия у таких пациентов может быть потенциально полезным методом диагностики. Leong с соавт. описал конфокальные изменения при целиакии у 31 взрослого больного, отметив хорошую корреляцию ЭКЛЭМ с гистологической

классификацией степени атрофии по Marsh. Чувствительность составила 94%, специфичность 92%. Полученные данные подтвердили роль конфокальной эндомироскопии в установлении диагноза целиакии и позволили оценить эффективность проводимых лечебных мероприятий [61].

Синдром раздраженного кишечника (СРК) — распространенное и глобальное заболевание, характеризуется хронической или повторяющейся болью в животе, связанной с изменением ритма опорожнения кишечника, если исключить другую этиологию [62]. Надежные биомаркеры СРК отсутствуют. Долгое время считалось, что принятие определенных видов пищи вызывает симптомы у пациентов с СРК [63], но различные диетологические исследования не могут ни надежно доказать патогенную роль пищи, ни дать представление о клеточных или физиологических изменениях, которые приводят к появлению симптомов. Недавно острые изменения слизистой оболочки после приема пищи, визуализируемые с помощью КЛЭМ, были связаны с симптомами СРК [64]. Интересно, что наблюдаемые реакции выявлялись у пациентов без явной аллергической сенсибилизации к пище. Группа авторов исследовала подозрения на пищевую непереносимость у пациентов с СРК при помощи КЛЭМ для визуализации в реальном времени структурных и функциональных изменений слизистой оболочки кишечника после пищевых проб [64]. Группа авторов исследовала подозрения на пищевую непереносимость у пациентов с СРК при помощи КЛЭМ для визуализации в реальном времени структурных и функциональных изменений слизистой оболочки кишечника после пищевых проб [64]. Пациенты с функциональными изменениями после пищевой провокации придерживались индивидуальной диеты с исключением определенных типов продуктов питания и наблюдались на наличие долгосрочного облегчения симптомов. В исследование с применением КЛЭМ включили 36 пациентов с СРК и подозрением на пищевую непереносимость, и сравнили результаты с 10 пациентами без симптомов СРК в группе контроля [64]. Разбавленные пищевые антигены наносили непосредственно на слизистую двенадцатиперстной кишки через рабочий канал эндоскопа. Эпителиальные разрывы, нарушение целостности щеточной каймы ворсин и количество интраэпителиальных лимфоцитов измеряли до и после провокации пищевой пробой. КЛЭМ выявила реакцию на пищевые антигены в режиме реального времени у 22/36 пациентов (КЛЭМ+); никакого ответа не наблю-

дилось у 14/36 пациентов или у кого-либо из контрольной группы (КЛЭМ-) [64]. Исходное количество интраэпителиальных лимфоцитов было значительно выше у КЛЭМ+ пациентов, чем у КЛЭМ- пациентов ( $P = 0,004$ ); число значительно увеличилось после пищевой провокации ( $P = 0,0008$ ) [64]. В течение 5 минут после воздействия пищевых антигенов на КЛЭМ+ пациентов, количество интраэпителиальных лимфоцитов увеличивалось, образовались эпителиальные разрывы, дефекты щеточной каймы ворсин [64]. Соответствие количества интраэпителиальных лимфоцитов измеренного с помощью КЛЭМ и традиционной гистологии, составило 70,6%; корреляционной зависимости выявлено не было ( $P = 0,89$ ;  $r2 = 0,027$ ) [64]. Симптоматика улучшилась у > 50% КЛЭМ+ пациентов после 4 недель диеты и увеличилась до 74% через 12 месяцев; Симптомы продолжались у КЛЭМ- пациентов [64].

Тот же коллектив авторов в последствии подтвердил свои данные на более масштабном проспективном исследовании 155 пациентов, а также проанализировал биопсии двенадцатиперстной кишки на гистологическом исследовании и промывные жидкости пациентов [65]. Из 108 пациентов, завершивших исследование, 76 были CLE+ (70%), а 46 из них (61%) имели реакцию на пшеницу [65]. Пациенты с CLE+ имели 4-кратное увеличение распространенности атопических расстройств по сравнению с контрольной группой ( $P=0,001$ ) [65]. Количество интраэпителиальных лимфоцитов было значительно выше в образцах биопсий двенадцатиперстной кишки у КЛЭМ+ пациентов по сравнению с КЛЭМ- или контрольной группой ( $P < 0,001$ ) [65]. Экспрессия клаудина-2 увеличивалась на кончике криптоворсинок ( $P < 0,001$ ) и повышалась у КЛЭМ+ пациентов по сравнению с КЛЭМ- пациентами или контрольной группой ( $P 0,023$ ) [65]. Уровни окклюдина были ниже в образцах биопсий двенадцатиперстной кишки у КЛЭМ+ пациентов по сравнению с группой контроля ( $P 0,022$ ) и были самыми низкими на кончиках ворсинок ( $P < 0,001$ ) [65]. Уровни информационных РНК, кодирующих воспалительные цитокины, не изменялись в тканях двенадцатиперстной кишки после провокации во время КЛЭМ, но дегрануляция эозинофилов увеличилась, а уровни эозинофильного катионного белка были выше в промывных жидкостях двенадцатиперстной кишки у КЛЭМ+ пациентов, в сравнении с группой контроля ( $P 0,03$ ) [65]. Авторы сделали вывод что, в ходе проведения КЛЭМ у пациентов с СРК было обнаружено, что более 50% пациентов могут иметь

неклассическую пищевую аллергию с немедленным нарушением барьерной функции кишечника при воздействии пищевых антигенов [65]. В тканях двенадцатиперстной кишки пациентов с ответом на пищевые компоненты во время КЛЭМ немедленно увеличивалась экспрессия клаудина-2 и снижалась концентрация окклюдина [65]. У КЛЭМ+ пациентов также наблюдалась повышенная дегрануляция эозинофилов, что указывает на атипичную пищевую аллергию, характеризующуюся активацией эозинофилов [65].

Иммунная реакция трансплантат против хозяина является одним из тяжелых осложнений при трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток [66, 67]. Ранняя ее диагностика основана на эндоскопии с забором биоптата слизистой оболочки и подтверждением наличия апоптозных клеток в просвете крипт, что позволяет вовремя дифференцировать причину диареи и увеличить дозу иммуносупрессивной терапии [68, 69]. Гистологическое исследование у 35 больных с острой диареей после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток показало признаки иммунной реакции трансплантат против хозяина у 19 больных, из которых у 14 эти изменения были подтверждены конфокальной эндомикроскопией [70]. При этом в половине наблюдений макроскопическая картина соответствовала эндоскопической семиотике неизменной слизистой оболочки. Помимо единичных клеток с признаками апоптоза, эндомикроскопическими признаками ранней иммунной реакции отторжения трансплантата были капиллярные утечки флуоресцеина, очаговая деструкция или отсутствие крипт. Чувствительность метода конфокальной эндомикроскопии по отношению

к гистологической картине составила 74%, а специфичность 100% [70].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Конфокальная лазерная эндомикроскопия может стать весомым дополнением к традиционному внутрисветному исследованию пищеварительного тракта, поскольку позволяет в реальном времени осмотреть слизистую оболочку на клеточном уровне и помогает в постановке диагноза болезни. В отличие от гистологического метода, исследующего образцы слизистой оболочки, ограниченные размеры биоптата, данная технология обеспечивает возможность оценить состояние слизистой оболочки на протяженных участках пищеварительного тракта, и проводить неограниченное количество оптических биопсий пищеварительного тракта. Способность этого метода дифференцировать нормальное и патологически измененное 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 лишних биопсий и уменьшить рабочую нагрузку на гистолога. Несомненно, что конфокальная лазерная эндомикроскопия — многообещающая оптическая технология, которая вероятно изменит взгляды на традиционную внутрисветную эндоскопию, но пока она доступна только для хорошо укомплектованных эндоскопических центров с соответствующей гистологической поддержкой, вместе с тем усовершенствование технологий в недалеком будущем, вероятно, найдет для нее более широкое практическое применение.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscopy. *Scanning*. 1988;(10): 128-138.
2. Minsky M. Microscopy apparatus. *US Pat.* 1961. 467.
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. of Physics*. 1986; 19: 52-54.
6. Cavanagh H.D., Jester J.V., Essepian J. et al. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J.* 1990 Jan-Mar;16(1):65-73. PMID: 2407380.
7. Rajadhyaksha M., Grossman M., Esterowits D. et al. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J. Invest. Dermatol.* 1995 Jun;104(6):946-52. doi: 10.1111/1523-1747.ep12606215.
8. Inoue 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 Jun;32(6):439-43. doi: 10.1055/s-2000-654.
9. Kiesslich R., Burg J., Vieth M. et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology*. 2004 Sep;127(3):706-13. doi: 10.1053/j.gastro.2004.06.050.
  10. Kiesslich R., Gossner L., Goetz M. et al. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Aug;4(8):979-87. doi: 10.1016/j.cgh.2006.05.010.
  11. Venkatesh K., Cohen M., Evans C. et al. Feasibility of confocal endomicroscopy in the diagnosis of pediatric gastrointestinal disorders. *World J Gastroenterol*. 2009 May 14;15(18):2214-9. doi: 10.3748/wjg.15.2214.
  12. 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 Mar;31(5):548-52. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04207.x.
  13. Kwan A.S., Barry C., McAllister I.L. et al. Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: the Lions Eye experience. *Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jan-Feb;34(1):33-8. doi: 10.1111/j.1442-9071.2006.01136.x.
  14. López-Sáez 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 Nov;81(5):428-30. doi: 10.1016/S1081-1206(10)63140-7.
  15. Yannuzzi L.A., Rohrer K.T., Tindel L.J. et al. Fluorescein angiography complication survey. *Ophthalmology*. 1986 May;93(5):611-7. doi: 10.1016/s0161-6420(86)33697-2.
  16. 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. *Gastrointestinal Endosc*. 2008 Aug;68(2):319-23. doi: 10.1016/j.gie.2008.01.033.
  17. Wallace M., Bucher A., Becker V., Meining A. Determination of the optimal fluorescein dose of probe-based confocal endomicroscopy in colonic imaging. *Gastrointestinal Endosc*. 2009; 69(5):AB375.
  18. De Palma G.D. Confocal laser endomicroscopy in the «in vivo» histological diagnosis of the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol*. 2009 Dec 14;15(46):5770-5. doi: 10.3748/wjg.15.5770.
  19. George M., Meining A. Cresyl violet as a fluorophore in confocal laser scanning microscopy for future in-vivo histopathology. *Endoscopy*. 2003 Jul;35(7):585-9. doi: 10.1055/s-2003-40245.
  20. himojima N., Kobayashi M., Kamba S. et al. Visualization of the human enteric nervous system by confocal laser endomicroscopy in Hirschsprung's disease: An alternative to intraoperative histopathological diagnosis? *Neurogastroenterol Motil*. 2020 May;32(5):e13805. doi: 10.1111/nmo.13805.
  - Shavrov (Junior) A.A., Alexandrov A.E., Shavrov A.A., Kharitonova A.Y., Volynets G.V., Talalaev A.G. Intravenous Fluorescein Administration Safety at Confocal Laser Endomicroscopy of Gastrointestinal Tract in Children. *Pediatric pharmacolog*. 013;10(5):56-58. (in Russ.)  
Шавров (мл) А.А., Александров А.Е., Шавров А.А., Харитонов А.Ю., Волынец Г.В., Талалаев А.Г. Безопасность внутривенного введения флуоресцеина при конфокальной лазерной эндомикроскопии пищеварительного тракта у детей. *Педиатрическая фармакология*. -2013 -Т 10 -№ 5 -С. 56-58.
  22. Wallace M, Lauwers GY, Chen Y, Dekker E, Fockens P, Sharma P, Meining A. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011 Oct;43(10):882-91. doi: 10.1055/s-0030-1256632.
  23. Pohl H., Rösch 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 oesophagus. *Gut*. 2008 Dec;57(12):1648-53. doi: 10.1136/gut.2008.157461.
  24. Kiesslich R., Goetz M., Lammersdorf K. et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2007 Mar;132(3):874-82. doi: 10.1053/j.gastro.2007.01.048.
  25. 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):791-7. doi: 10.1016/j.dld.2010.03.009.
  26. 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 Gastroenterol Hepatol*. 2010 Apr;8(4):371-8. doi: 10.1016/j.cgh.2009.08.006.
  27. Benneth J.J., Green R.H. Malignant masquerade: dilemmas in diagnosing biliary obstruction. *Surg Oncol Clin N Am*. 2009 Apr;18(2):207-14, vii. doi: 10.1016/j.soc.2008.12.005.
  28. Loeser C.S., Robert M.E., Mennone A. et al. Confocal endomicroscopic examination of malignant biliary strictures and histologic correlation with lymphatics. *J Clin Gastroenterol*. 2011 Mar;45(3):246-52. doi: 10.1097/MCG.0b013e3181fdbc38.
  29. Dahshan A, Rabah R. Correlation of endoscopy and histology in the gastroesophageal mucosa in children: are routine biopsies justified? *J Clin Gastroenterol*. 2000 Oct;31(3):213-6. doi: 10.1097/00004836-200010000-00005.
  30. Sheiko M.A., Feinstein J.A., Capocelli K.E., Kramer R.E. Diagnostic yield of EGD in children: a retrospective single-center study of 1000 cases. *Gastrointestinal Endosc*. 2013 Jul;78(1):47-54.e1. doi: 10.1016/j.gie.2013.03.168.

31. ASGE Standards Of Practice Committee; Lee K.K., Anderson M.A., Baron T.H. et al. Modifications in endoscopic practice for pediatric patients. *Gastrointest Endosc.* 2008 Jan;67(1):1-9. doi: 10.1016/j.gie.2007.07.008.
32. Manfredi M.A., Jiang H, Borges, Lawrence F, Deutsch, A. J, Goldsmith J.D, Lightdale J.R. Good Agreement Between Endoscopic Findings and Biopsy Reports Supports Limited Tissue Sampling During Pediatric Colonoscopy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Jun;58(6):773-8. doi: 10.1097/MPG.0000000000000317.
33. Venkatesh K., Abou-Taleb A., Cohen M., Evans C., Thomas S., Oliver P., Taylor C., Thomson M. Role of confocal endomicroscopy in the diagnosis of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Sep;51(3):274-9. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181d1b02c.
34. Venkatesh K, Cohen M, Abou-Taleb A, Thomas S, Taylor C, Thomson M. A new method in the diagnosis of reflux esophagitis: confocal laser endomicroscopy. *Gastrointest Endosc.* 2012 Apr;75(4):864-9.
35. Shavrov A.A. jr., Kirgizov I.V., Volynets G.V., Talalaev A.G., Kharitonova A.Yu., Shavrov A.A. Confocal laser endomicroscopy in the diagnosis of complications of gastroesophageal reflux disease in children. *The Russian Pediatric Journal.* 2013;(4): 10-15. (in Russ.)  
Шавров (мл.) А.А., Киргизов И.В., Волынец 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.
36. Shavrov (Jr.) A.A., Kirgizov I.V., Shavrov A.A., Talalaev A.G., Kharitonova A.Yu., Volynets G.V., Dzhilavyan M.G. [Confocal laser endomicroscopy in assessing the results of surgical treatment of gastroesophageal reflux disease in children]. *Pediatric Surgery.* 2014; 2: 16-19. (in Russ.)  
Шавров (мл.) А.А., Киргизов И.В., Шавров А.А., Талалаев А.Г., Харитонов А.Ю., Волынец Г.В., Джилаван М.Г. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в оценке результатов хирургического лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. *Детская Хирургия.* 2014; 2: 16-19.
37. Shavrov A. A. Jr., Volynets G. V., Shavrov A. A., Venediktova M. M., Talalaev A. G., Khomeriki S. G. Optical Biopsy in Detecting Changes in Gastric and Duodenal Mucosa. *Doctor.Ru.* 2016; 1(118): 19–23. (in Russ.)  
Шавров А.А., Волынец Г.В., Шавров А.А., Венедиктова М.М., Талалаев А.Г., Хомерики С.Г. Оптическая биопсия в диагностике изменений слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у детей. *Доктор.Ру.* 2016. № 1 (118). С. 19-23.
38. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition; Colitis Foundation of America; Bousvaros A, Antonioli DA, Colletti RB, Dubinsky MC, Glickman JN, Gold BD, Griffiths AM, Jevon GP, Higuchi LM, Hyams JS, Kirschner BS, Kugathasan S, Baldassano RN, Russo PA. Differentiating ulcerative colitis from Crohn disease in children and young adults: report of a working group of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 May;44(5):653-74. doi: 10.1097/MPG.0b013e31805563f3.
39. Cellier C., Sahnoud T., Froguel E. et al. Correlations between clinical activity, endoscopic severity, and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicentre study of 121 cases. The Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. *Gut.* 1994 Feb;35(2):231-5. doi: 10.1136/gut.35.2.231.
40. Jones J., Loftus E.V. Jr., Panaccione R. et al. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008 Nov;6(11):1218-24. doi: 10.1016/j.cgh.2008.06.010.
41. Venediktova M.M., Shavrov A.A. Confocal laser endomicroscopy in diagnostics of inflammatory bowel diseases in children. *Diagnostic issues in pediatrics.* 2012;(4):17-21. (in Russ.)  
Венедиктова М.М., Шавров А.А. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике воспалительных заболеваний кишечника у детей. *Вопросы диагностики в педиатрии – 2012 – № 4. – С. 17–21.*
42. Neish A. S. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology.* 2009 Jan;136(1):65–80. doi: 10.1053/j.gastro.2008.10.080.
43. Kiesslich R., Goetz M., Angus E. M. et al. Identification of epithelial gaps in human small and large intestine by confocal endomicroscopy. *Gastroenterology.* 2007 Dec;133(6):1769–78. doi: 10.1053/j.gastro.2007.09.011.
44. Liu J. J., Davis E. M., Wine E. et al. Epithelial cell extrusion leads to breaches in the intestinal epithelium. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 Apr;19(5):912–21. doi: 10.1097/MIB.0b013e3182807600.
45. Kiesslich R., Duckworth C. A., Moussata D. et al. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2012 Aug;61(8):1146–53. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300695.
46. Liu J. J., Madsen K. L., Boulanger P., Dieleman L. A., Meddings J., Fedorak R. N. Mind the gaps: confocal endomicroscopy showed increased density of small bowel epithelial gaps in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol.* 2011 Mar;45(3):240–5. doi: 10.1097/MCG.0b013e3181fbd8a.
47. Liu J. J., Madsen K. L., Boulanger P. et al. Mind the gaps: confocal endomicroscopy showed increased density of small bowel epithelial gaps in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol.* 2011 Mar;45(3):240–5. doi: 10.1097/MCG.0b013e3181fbd8a.

48. Shavrov A., Kharitonova A. Y., Davis E. M. et al. A Pilot Study of Confocal Laser Endomicroscopy to Predict Barrier Dysfunction and Relapse in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Jun;62(6):873–8. doi: 10.1097/MPG.0000000000001022.
49. Zaidi D., Bording-Jorgensen M., Huynh H. Q. et al. Increased Epithelial Gap Density in the Noninflamed Duodenum of Children With Inflammatory Bowel Diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Dec;63(6):644–650. doi: 10.1097/MPG.0000000000001182.
50. Cromer W. E., Mathis J. M., Granger D. N. et al. Role of the endothelium in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2011 Feb 7;17(5):578–93. doi: 10.3748/wjg.v17.i5.578.
51. Zaidi D., Churchill L., Huynh H. Q., Carroll M. W., Persad R., Wine E. Capillary Flow Rates in the Duodenum of Pediatric Ulcerative Colitis Patients Are Increased and Unrelated to Inflammation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017 Sep;65(3):306–310. doi: 10.1097/MPG.0000000000001495.
52. Ralls M. W., Freeman J. J., Rabah R. et al. Redo pull-through for Hirschsprung disease: a single surgical group's experience. *J Pediatr Surg.* 2014 Sep;49(9):1394–9. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2014.04.009.
53. Maia D. M. The reliability of frozen-section diagnosis in the pathologic evaluation of Hirschsprung's disease. *Am J Surg Pathol.* 2000 Dec;24(12):1675–7. doi: 10.1097/0000478-200012000-00013.
54. Harada A., Shimojima N., Kobayashi M. et al. Visualization of the human enteric nervous system by probe confocal laser endomicroscopy: a first real-time observation of Hirschsprung's disease and allied disorders. *BMC Med Imaging.* 2021;(21)118. doi: 10.1186/s12880-021-00648-7.
55. Iuliano S., Minelli R., Vincenzi F. et al. Eosinophilic esophagitis in pediatric age, state of the art and review of the literature. *Acta Biomed.* 2018 Dec 17;89(8-S):20–26. doi: 10.23750/abm.v89i8-S.7866.
56. Putnam P. E., Rothenberg M. E. Eosinophilic esophagitis: concepts, controversies, and evidence. *Curr Gastroenterol Rep.* 2009 Jun;11(3):220–5. doi: 10.1007/s11894-009-0034-2.
57. Neumann H., Vieth M., Atreya R., Mudter J., Neurath M. F. First description of eosinophilic esophagitis using confocal laser endomicroscopy (with video). *Endoscopy.* 2011;43 Suppl 2 UCTN: E66. doi: 10.1055/s-0030-1255904.
58. Jones N. L., Koletzko S., Goodman K., Bontems P., Cadranet S., Casswall T., Czinn S., Gold B. D., Guarner J., Elitsur Y., Homan M., Kalach N., Kori M., Madrazo A., Megraud F., Papadopoulou A., Rowland M.; ESPGHAN, NASPGHAN. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of *Helicobacter pylori* in Children and Adolescents (Update 2016). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017 Jun;64(6):991–1003. doi: 10.1097/MPG.0000000000001594.
59. Wang P., Ji R., Yu T. Classification of histological severity of *Helicobacter pylori*-associated gastritis by confocal laser endomicroscopy. *World J Gastroenterol.* 2010 Nov 7;16(41):5203–10. doi: 10.3748/wjg.v16.i41.5203.
60. Harris L., Park J., Voltaggio L. et al. Celiac disease: clinical, endoscopic and histopathologic review. *Gastrointest Endosc.* 2012 Sep;76(3):625–40. doi: 10.1016/j.gie.2012.04.473.
61. Humphris J., Swartz D., Egan B. J., Leong R. W. Status of confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal disease. *Trop Gastroenterol.* 2012 Jan-Mar;33(1):9–20. doi: 10.7869/tg.2012.3.
62. Soares RL. Irritable bowel syndrome: a clinical review. *World J Gastroenterol.* 2014 Sep 14;20(34):12144–60. doi: 10.3748/wjg.v20.i34.12144.
63. Böhn L., Störsrud S., Törnblom H., Bengtsson U., Simrén M. Self-reported food-related gastrointestinal symptoms in IBS are common and associated with more severe symptoms and reduced quality of life. *Am J Gastroenterol.* 2013 May;108(5):634–41. doi: 10.1038/ajg.2013.105.
64. Fritscher-Ravens A, Schuppan D, Ellrichmann M, Schoch S, Röcken C, Brasch J, Bethge J, Böttner M, Klose J, Milla PJ. Confocal endomicroscopy shows food-associated changes in the intestinal mucosa of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology.* 2014 Nov;147(5):1012–20.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2014.07.046.
65. Fritscher-Ravens A., Pflaum T., Möisinger M. et al. Many Patients With Irritable Bowel Syndrome Have Atypical Food Allergies Not Associated With Immunoglobulin E. *Gastroenterology.* 2019 Jul;157(1):109–118.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2019.03.046.
66. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974 Oct;18(4):295–304. doi: 10.1097/00007890-197410000-00001.
67. Geeg H. J. How to treat acute GVHD. *Blood.* 2007 May 15;109(10):4119–26. doi: 10.1182/blood-2006-12-041889.
68. Cox G. J., Matsui S. M., Lo R. S. et al. Etiology and outcome of diarrhea after marrow transplantation: a prospective study. *Gastroenterology.* 1994 Nov;107(5):1398–407. doi: 10.1016/0016-5085(94)90542-8.
69. Shulman H. M., Kleiner D., Lee S. J. 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 Jan;12(1):31–47. doi: 10.1016/j.bbmt.2005.10.023.
70. Bojarski C., Gunther U., Rieger K. et al. In vivo diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by confocal endomicroscopy. *Endoscopy.* 2009 May;41(5):433–8. doi: 10.1055/s-0029-1214604.