

ENDOSKOPICKÁ MIKROSKOPIE A JEJÍ VYUŽITÍ PŘI VYŠETŘENÍ TRÁVICÍ TRUBICE

MUDr. Zdeněk Beneš, CSc.

II. interní klinika, Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha

Dnešní endoskopické techniky zobrazují velice precizně povrch sliznice trávicího traktu do velmi jemných detailů. Nicméně nedokáží zobrazit povrch vyšetřované oblasti do morfologických jemností. Proto se v posledních letech rozvíjejí techniky tzv. endoskopické mikroskopie – mezi ně řadíme endoskopickou cytoskopii a konfokální laserovou endomikroskopii. Obě mikroskopické endoskopické metody mohou in vivo souběžně s rutinním endoskopickým vyšetřením zobrazit příslušnou oblast včetně pozorování jejich histologických struktur. To může pomoci v rychlejší a přesnější diagnostice, pravděpodobně k menšímu počtu biopsií a použití této techniky u nemocných, kde nelze provést biopsii.

Klíčová slova: endoskopie, endoskopická cystoskopie, konfokální laserová endomikroskopie.

ENDOMICROSCOPY AND ITS APPLICATION IN EXAMINATIONS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

Modern endoscopic techniques enable acquisitions of very accurate images of surfaces of the gastrointestinal mucosa down to very subtle details. These techniques nonetheless do not allow for displaying images of surfaces of the examined area in morphological detail. This is why in recent years we have seen advanced development of techniques of so-called endomicroscopy – including endoscopic cystoscopy and laser-scanning confocal endomicroscopy. Both endomicroscopic techniques enable in vivo images of the respective area during a concurrent routine endoscopic examination including observation of histological structures. These techniques could facilitate faster and more accurate diagnostics, they may possibly result in a decrease of biopsies and this technique can also be applied with patients where biopsy can not be executed.

Key words: endoscopy, endoscopic cystoscopy, laser-scanning confocal endomicroscopy.

Interní Med. 2008; 10 (7 a 8): 348–349

Úvod

Endoskopické metody, které se používají při vyšetření gastrointestinálního traktu (GIT), prodělaly v posledním období velký pokrok. Snahou těchto vyšetření je zobrazit povrch sliznice velmi přesně až do nejmenších detailů. Tak byly do klinické praxe postupně zavedeny např. chromoendoskopie, zvětšovací endoskopie, optická koherentní tomografie, autofluorescence, NBI – narrow banding image apod. (1, 2, 4, 5, 9, 11, 14). Všechny tyto techniky dokáží velice detailně zobrazit povrch sliznice, včetně zachytu různých slizničních afekcí, které by při rutinním endoskopickém vyšetření mohly uniknout.

Spolu s následnou biopsií se pak může stanovit diagnóza. Nicméně žádná z výše uvedených metod nedokáže detekovat na povrchu vyšetřované oblasti detaily sliznice až do jejího morfologického zobrazení. Proto došlo v posledních letech k rozvoji endoskopicko-mikroskopických metod, které nám umožňují histologické vyšetření in vivo, souběžně při endoskopickém vyšetření. Vzhledem k tomu, že se při nich užívají speciální sondy, které se při vyšetření dotýkají sliznice, mluví se někdy o tzv. kontaktní endoskopii.

Konfokální laserová endomikroskopie (KLE)

Tato mikroskopická metoda je založena na tom, že se pomocí laserového paprsku o různé vlnové délce dá zobrazit velmi detailně vyšetřovaná sliznice. V praxi se nejvíce užívá endomikroskopická jednotka firmy Pentax. Vlastní konfokální mikroskop je umístěn přímo na endoskopu, jehož koncem je možno detekovat

jednak rutinní obraz povrchu GIT a souběžně zobrazit i morfologii sliznice. Touto jednotkou lze zvětšit sliznici 1000x, zobrazené pole je 500x500 µm a hloubka zobrazení je 0–250 µm. Je nutné podotknout, že před vyšetřením se musí venózně aplikovat fluorescein, jehož světlo je pak laserem detekováno a přenášeno do konfokálního mikroskopu. Konfokální mikroskop je v současné době umístěn pouze na některých specializovaných pracovištích a je nutné podotknout, že je k správnému morfologickému vyšetření třeba značné šikovnosti a zkušenosti s prací s konfokálním mikroskopem (8). Zobrazit takto detailně povrch není jednoduché, histologický obraz je černobílý a zvláště detekce jader v buňkách je nemožná. Konfokální laserová endomikroskopie se v současné době nejvíce používá u diagnostiky Barretova jícnu a u vyhledávání neoplastických změn u ulcerózní kolitidy.

Existují také nyní ojedinělé práce, které zjišťují dobrou korelaci mezi histologickým vyšetřením a obrazem KLE u celiakie (15).

Endoskopická cytoskopie

Další metodou, která umožňuje velmi precizní morfologické vyšetření povrchu sliznice u GIT, je endoskopická cytoskopie (ECS – endoscopic cytoscopy), někdy se zkráceně nazývá endocytoskopie. Tato metoda byla známá v otorhinolaryngologii, kdy se pomocí kontaktního rigidního endoskopu dala zobrazit sliznice vyšetřované oblasti. Toto vyšetření je založeno na principu světelné kontaktní endoskopie. Pomocí speciálních sond, které lze zasunout do pracovního kanálu endoskopů, lze zvětšit povrch sliznice 450–1100x, hloubka zobrazení je 0–30 µm. Délka sond je 250 cm, takže lze endocytoskop použít u gastrokopu i kolonoskopu. U ECS není nutné aplikovat venózně fluorescein. Sondou se vyšetřuje přímo slizniční léze. Je nutné, aby byla sliznice při vyšetření čistá, bez obsahu a aby byl odstraněn z mukózy hlen. Vyšetřovaný povrch je nutné obarvit nejlépe 1% methylenovou modří. S odstupem několika minut pak lze vyšetřovat sliznici a hodnotit morfo-

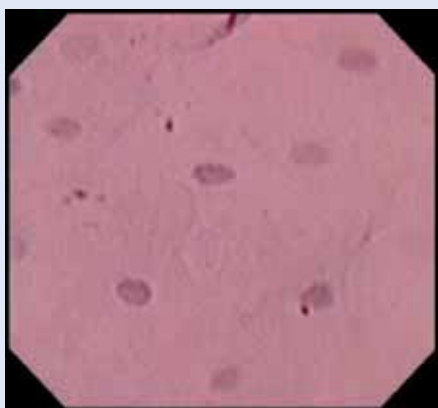
Obrázek 1. Endocytoskopická sonda



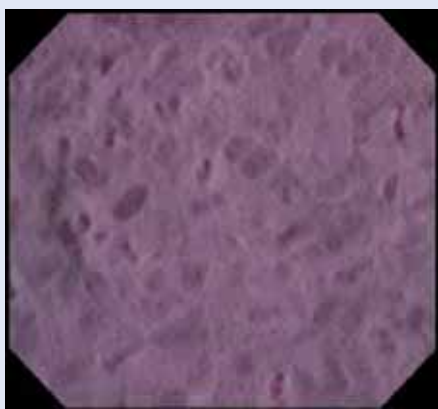
Obrázek 2. Endocytoskopická sonda umístěná v endoskopu



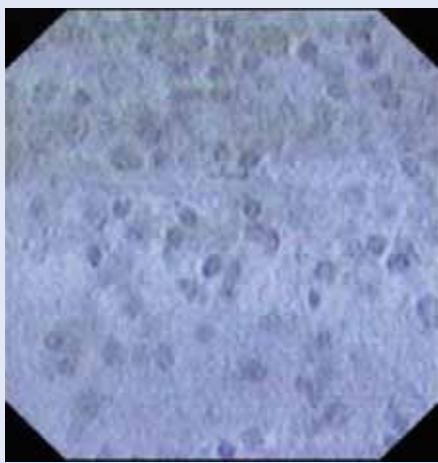
Obrázek 3. Endocytoskopický obraz normální sliznice jícnu



Obrázek 4. Endocytoskopický obraz karcinomu jícnu



Obrázek 5. Endocytoskopický obraz karcinomu kolon



logickou strukturu slizničního povrchu, souběžně s „klasickým“ endoskopickým obrazem in vivo. Tak lze pozorovat jednotlivé buňky, jejich jádra i jádérka, buněčnou membránu, vaskularizaci apod. Při tom je znázorněn obraz barevný a můžeme jej i digitalizovat, takže histopatologické výsledky můžeme hodnotit buď ihned on line, či později. Zatím jsou k dispozici prototypy endocytoskopu firmy Olympus XEC-120 a XEC-300-U. Endocytoskopie se nejvíce používá při vyšetření jícnu – detekci Barrettova jícnu

a karcinomu jícnu, u žaludečních lézí, kde je však pro peristaltiku a poměrně velký žaludeční obsah situace nejobtížnější. Endocytoskopie může být nápomocná při vyhledávání premaligních a maligních změn u onemocnění tlustého střeva (6, 7, 9, 10, 12, 13).

Endoskopická mikroskopie, současnost a perspektivy

Endoskopická mikroskopie představuje dnes nové kvalitativní možnosti vyšetření morfologických detailů sliznice.

Jak KLE, tak endoskopická cytoskopie mohou přinést morfologickou verifikaci afekce hned souběžně s endoskopickým vyšetřením in vivo. Nicméně jsou to metody poměrně náročné v přípravě sliznice, ve zručnosti endoskopistů a k tomu je naprosto nutná spolupráce s fundovaným patologem. I tyto metody mají svá úskalí. Jsou to hlavně peristaltika, respirační a kardiální afekce, obsah na sliznici a slizniční mikrokrevčení. Nevýhodou KLE je černobílý obraz a nemožnost zobrazit jádra, nutnost aplikovat venózně fluorescein a je nutné při použití této metody spolupracovat s odborníkem, který má zkušenosti s konfokálním mikroskopem. Výhodná je pak možnost KLE zobrazení morfologických detailů v hloubce. U ECS je nutné velmi kvalitní očištění sliznice od obsahu a hlenu, aby sonda měla těsný kontakt se sliznicí. Lze předpokládat, že se tyto metody budou možná postupně zavádět do praxe. Nicméně je předtím nutné provést mnoho srovnávacích studií, aby se zjistilo, jaká je korelace mezi endoskopickou mikroskopií a biopsií. V budoucnu by mohl počet biopsií klesat. Endoskopickou mikroskopií bude možno pravděpodobně použít nejen u histologické detekce slizničních efakcí, ale i u nemocných, u kterých nemůžeme odebrat biopsii. Počet pacientů, kteří berou antikoagulantia a antiagregantia, přitom stále přibývá. Dalším zajímavým a důležitým aspektem je i rychlost stanovení diagnózy. Jako perspektivní se ukazuje i možnost detekce *Helicobacter pylori* pomocí endoskopické mikroskopie (3).

Závěr

Konfokální laserová endomikroskopie a endoskopická cytoskopie představují kvalitativně nové endoskopické metody, které nám umožní provedení histomorfologického vyšetření GIT souběžně při rutinní endoskopii in vivo. Tyto kontaktní endoskopické techniky mohou zobrazit na rozdíl od současně používaných endoskopických postupů morfologické detaily sliznice a rozeznat tak zánětlivou, preneoplastickou a maligní strukturu vyšetřované oblasti.

Dnešní endoskopické techniky zobrazují velice precizně povrch sliznice trávicího traktu do velmi jemných detailů, nicméně nedokáží zobrazit povrch vyšetřované oblasti do morfologických jemností. Proto se v posledních letech rozvíjejí techniky tzv. endoskopické mikroskopie

– mezi ně řadíme endoskopickou cytoskopii a konfokální laserovou endomikroskopii. Obě mikroskopické endoskopické metody mohou in vivo souběžně s rutinním endoskopickým vyšetřením zobrazit příslušnou oblast včetně pozorování jejich histologických struktur. To může pomoci v rychlejší a přesnější diagnostice, pravděpodobně k menšímu počtu biopsií a použití této techniky u nemocných, kde nelze provést biopsii.

MUDr. Zdeněk Beneš, CSc.

II. interní klinika, Fakultní Thomayerova nemocnice
Václavská 800, 149 50 Praha
e-mail: beneszdenek@atlas.cz

Literatura

1. Eberl T, Jechart G, Probst A, Golczyk M, Bittinger M, Scheubel R, Arnoldt H, Knuechel R, Messmann H. Can an endocytoscope system (ECS) predict histology in neoplastic lesions? *Endoscopy* 2007; 39: 497–501.
2. Fuji T, Iishi H, Tatsuta M, Hirasawa R, Uedo N, Hifumi K, Ornori M. Effectiveness of premedication with pronase for improving visibility during gastroendoscopy: a randomized controlled trial. *Gastrointest. Endosc* 1998; 47: 382–387.
3. Gotoh A, Akamatsu T, Shimizu T, Shimodaira K, Kaneko T, Kiyosawa K, Ishida K, Ikeno T, Sugiyama A, Kawakami Y, Ota H, Katsuyama T. Additive Effect of Pronase on the Efficacy of Eradication Therapy Against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2007; 3: 183–191.
4. Chiu PWY, Inoue H, Satodate H, Kazawa T, Yoshida T, Sakashita M, Kudo SE. Validation of the quality of histological images obtained of fresh and formalin-fixed specimens of esophageal and gastric mucosa by laser-scanning confocal microscopy. *Endoscopy* 2006; 38: 236–240.
5. Inoue H, Kudo S, Shiokawa A. Novel endoscopic imaging techniques toward in vivo observation of libiny cancer cells in the gastrointestinal tract. *Dig. Dis* 2004; 22: 334–337.
6. Inoue H, Sasajima K, Kaga M, Sugaya S, Sato Y, Wada Y, Inui M, Satodate H, Kudo SE, Kimura S, Hamatani S, Shiokawa A. Endoscopic in vivo evaluation of tissue atypia in the esophagus using a newly designed integrated endocytoscope: a pilot trial. *Endoscopy* 2006; 38: 891–895.
7. Kakeji Y, Yamaguchi S, Yoshida D, Tanoue K, Ueda M, Masunari A, Utsunomiya T, Imamura M, Honda H, Maehara Y, Hashizum M. Development and assessment of morphologic criteria for diagnosing gastric cancer using confocal endomicroscopy: an ex vivo and in vivo study. *Endoscopy* 2006; 38: 886–890.
8. Kieslich R, Burg J, Vieth M, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosis intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology* 2004; 127: 706–713.
9. Kumagai Y, Monma K, Kawada K. Magnifying chromoendoscopy of the esophagus: In vivo pathological diagnosis using an endocytoscopy system. *Endoscopy* 2004; 36: 590–594.
10. Meroni E, Gatteschi B, Fasoli A, Munizzi F, Frascio F, Pugliese V, Truini M. Detection of tissue abnormalities in normal mucosa surrounding colorectal cancer using an endocytoscopy system. *Endoscopy* 2007; 39: 369–370.
11. Saito N, Sato F, Oda A, Kato M, Takeda H, Sugiyama T, Asaka M. Removal of mucus for ultrastructural observation of the surface of human epithelium using pronase. *Helicobacter* 2002; 7: 112–115.
12. Sakashita M, Inoue H, Kashida H, Tahala J, Cho JY, Satodate H, Hidaka E, Yoshida T, Fukami N, Tamagai Y, Shikawa A, Kudo S. Virtual histology of colorectal lesions using laser-scanning confocal microscopy. *Endoscopy* 2003; 35: 1033–1038.
13. Sano Y, Saito Y, I Fu K, Matsuda T, Uraoka T, Kobayashi N, Machida H, Iwasaki J, Emura F, Hanafusa M, Yoshino T, Kato S, Fuji T. Efficacy of magnifying chromoendoscopy for the differential diagnosis of colorectal lesions. *Digestive Endoscopy* 2005; 17: 105–116.
14. Sasajima K, Kudo S, Inoue H, Takeuchi T, Kashida H, Hidaka E, Kawachi H, Sakashita M, Tahala J, Shiokawa A. Real-time in vivo virtual histology of colorectal lesions when using the endocytoscopy system. *Gastrointest. Endosc* 2006; 63: 1010–1017.
15. Zambelli A, Villanacci V, Buscarini E, Bassotti G. Confocal laser endomicroscopy assessment of coeliac disease: a preliminary report. Poster UEGW Paris October 2007.