



**Лазерная конфокальная
эндомикроскопия (оптическая
биопсия) – новые
диагностические возможности**

Забозлаев Ф.Г., Данилевская О.В, Сазонов Д.В.



Г.Г.Автандилов



- Грядущий век будет характеризоваться нарастающей консолидацией и использованием высокотехнологичных результатов исследований, обладающих надежностью, достоверностью, точностью и воспроизводимостью



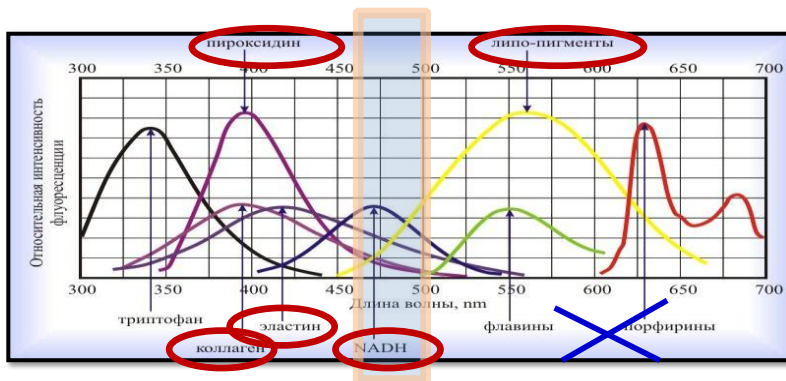
Cellvizio®



Mauna Kea Technologies



Что мы можем увидеть?

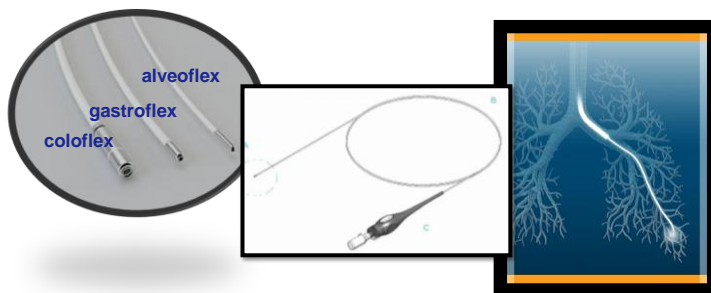


Спектры эмиссии основных флуорофоров биологических тканей

ОСНОВНЫМ СУБСТРАТОМ ИССЛЕДОВАНИЯ ЯВЛЯЮТСЯ КОЛЛАГЕН, ЭЛАСТИН И ТКАНИ, БОГАТЫЕ NADH

ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ

- ✦ ТОЛЩИНА ЗОНДА ALVEOFLEX – 1,4 мм
- ✦ РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ – 3,5 мкм
- ✦ ДИАМЕТР ОПТИЧЕСКОГО ПОЛЯ – 600 мкм
- ✦ ГЛУБИНА ИССЛЕДОВАНИЯ – 0–50 мкм
- ✦ МИНИМАЛЬНЫЙ ДИАМЕТР ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО КАНАЛА БРОНХОСКОПА – 2,2 мм





ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ

ColoFlex™ - Colon

CholangioFlex™ - Bile and
Pancreatic Ducts

GastroFlex™ - esophagus, stomach, duodenum,
sternocleidomastoid muscle,, thyroid, parathyroid,
vocal fold, Pharynx

AQ Flex™ 19 - Pancreatic Cysts

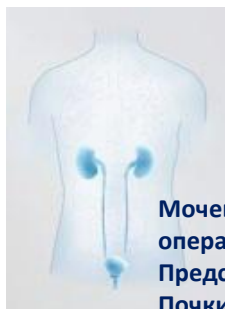
ИНТЕРВЕНЦИОННАЯ ПУЛЬМОНОЛОГИЯ

AlveoFlex™ -
Lungs

УРОЛОГИЯ

CystoFlex™ - Bladder

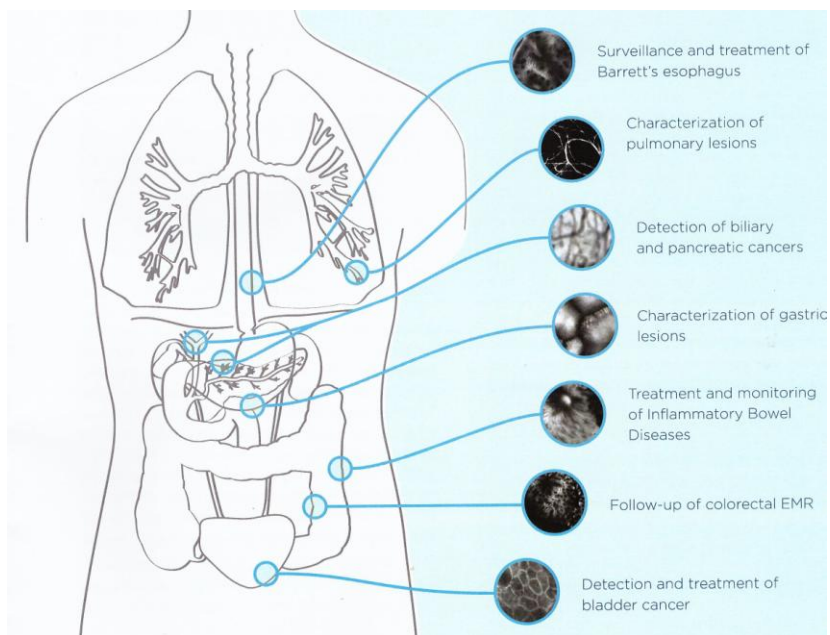
UroFlex™ - Upper urinary
tract



Мочевой пузырь и мочеточники при открытых
операциях

Предстательная железа при трансректальной биопсии

Почки при чрескожной пункционной биопсии





Проблемы витальной микроскопии

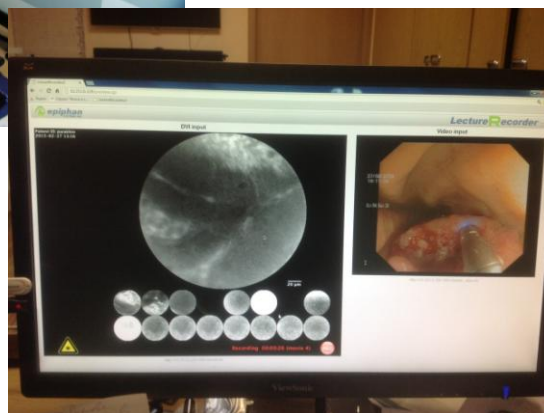
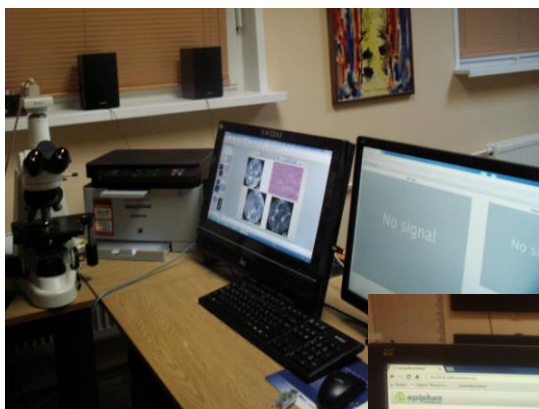
- Большую научную проблему составляет трактовка изображений
- Способность читать, интерпретировать и анализировать **не фокальные, а конфокальные** изображения с тем, чтобы выделить полезную клиническую и гистологическую информацию



Проблемы витальной микроскопии

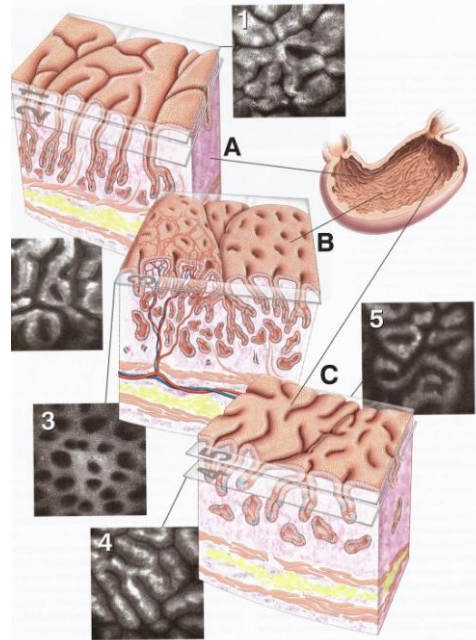
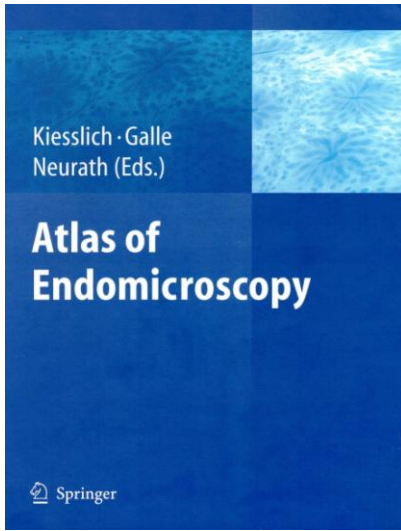
- Одной из важных проблем остается определение чувствительности и специфичности данного метода исследования в диагностике
- Несколько групп ученых по всему миру выполняют детальные исследования, чтобы характеризовать конфокальные изображения и провести их корреляцию с гистологией (L.Thiberville, D.Wilson, F.Lacombe «The Persée Project» N.Ayache «Smart Atlas»





Преимущества витальной микроскопии

Конфокальный микроскоп дает две неоченимые возможности - исследование тканей на клеточном уровне в состоянии физиологической жизнедеятельности и демонстрации результатов исследования (т.е. клеточной активности) в четырех измерениях - высота, ширина, глубина и время!!!



J. 6.5. Microarchitecture of the gastric mucosa. A Antrum, C corpus, F fundus, Gland gastric gland with different cell types

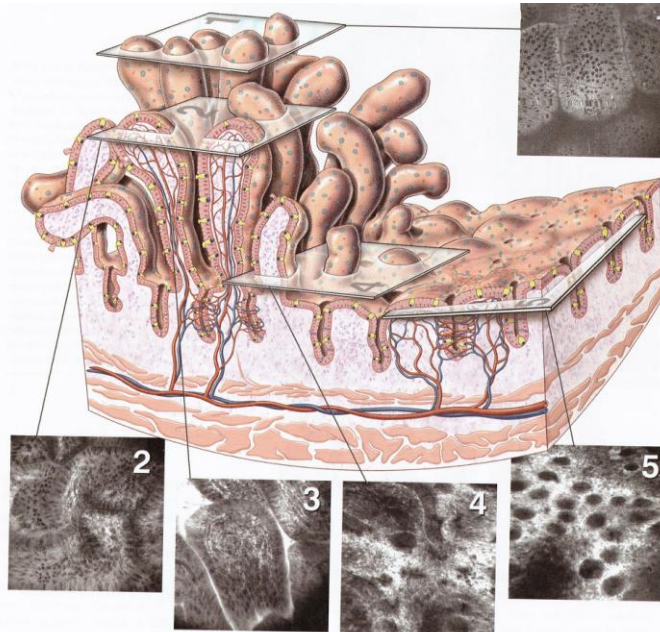
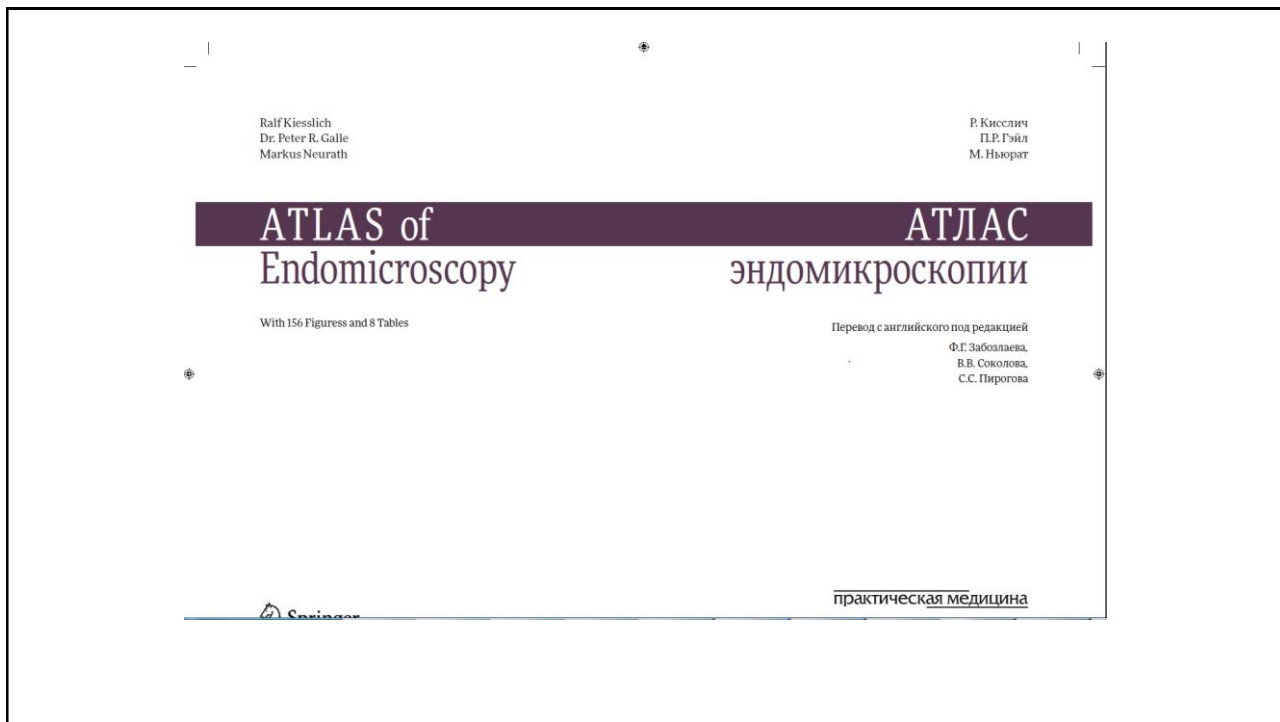


Fig. 6.8. Microarchitecture of the small bowel



Meningioma - Characteristic psamoma bodies

© Galvazif 20 µm

Human biopsy probes (Acriflavin nucleous labeling)

Healthy brain tissue	Glioblastoma

Healthy neuron's nuclei

Glioblastoma's nuclei

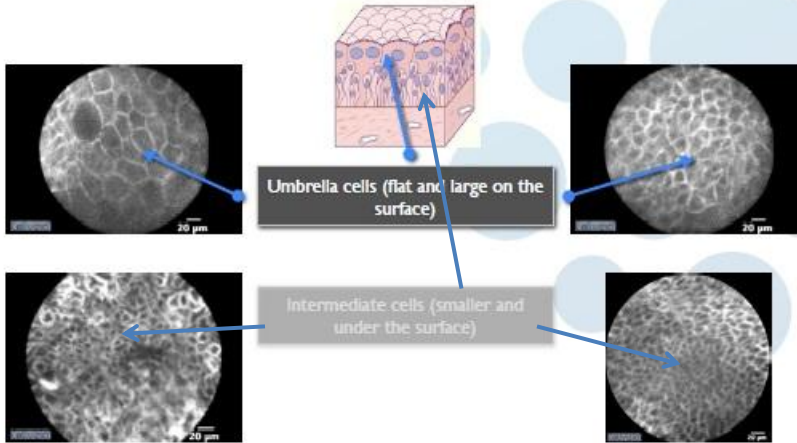
methods

© Prepared by Your Name ©2014 Mauna Kea Technologies

Mauna Kea Technologies

Healthy Bladder

Courtesy of Pr. Liao, VA Palo Alto, USA

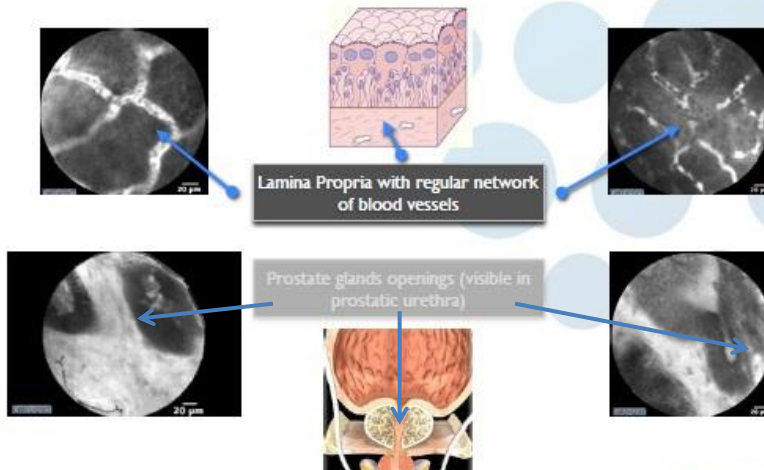


26 Urology presentation February 2014 © Mauna Kea Technologies 2014 Internal use only

Mauna Kea Technologies

Healthy Bladder

Courtesy of Pr. Liao, VA Palo Alto, USA

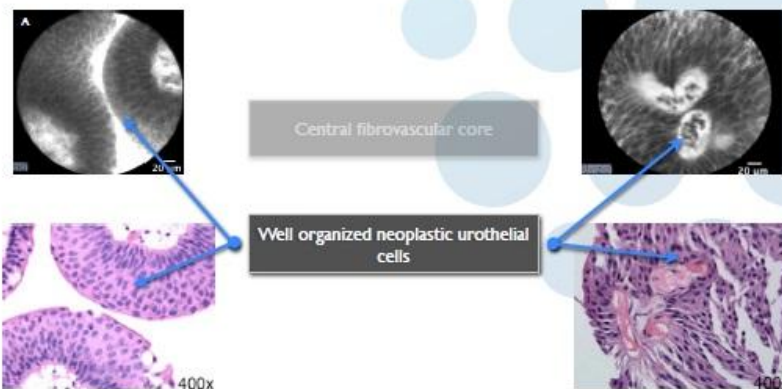


28 Urology presentation February 2014 © Mauna Kea Technologies 2014 Internal use only

Mauna Kea Technologies

Bladder Cancer: Low-grade

Courtesy of Pr. Liao, VA Palo Alto, USA

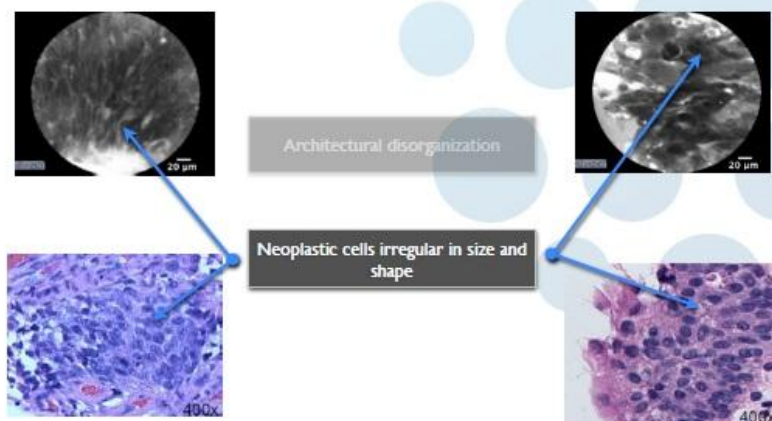


31 Urology presentation February 2014 © Mauna Kea Technologies 2014 Internal use only

Mauna Kea Technologies

Bladder Cancer: High-grade

Courtesy of Pr. Liao, VA Palo Alto, USA



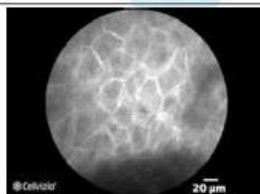
33 Urology presentation February 2014 © Mauna Kea Technologies 2014 Internal use only

Mauna Kea Technologies

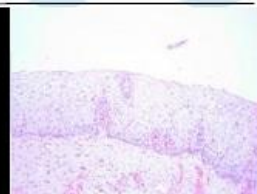
Conization - Exocervix



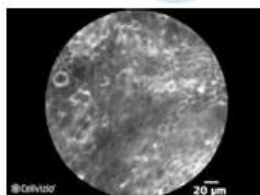
Healthy



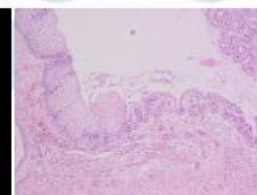
Squamous epithelium



Lesion



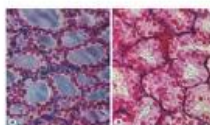
Disorganized Squamous cells (shape, size of cells) and glands



32 Project Review - Go/NoGo ORACLE - July 2nd, 2015 - Confidential

CHU St-Pierre Mauna Kea Technologies

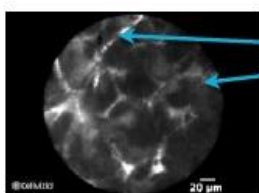
Bilateral Thyroidectomy



Thyroid: composed of spherical follicles. Inside (follicular lumen): reservoir of materials for thyroid hormone production

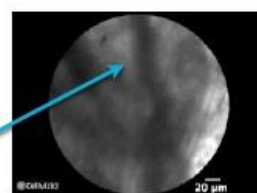


Parathyroid: densely packed cells, in contrast with the follicle structure of the thyroid



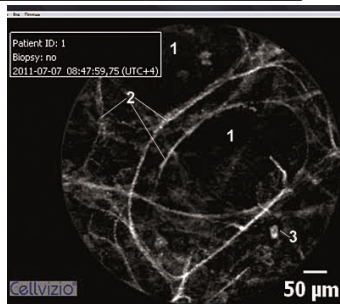
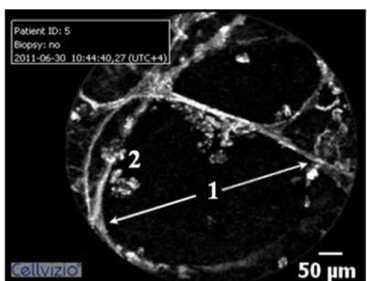
Parathyroid gland:
- Vessels
- Dark lobular structures

Surface of the Thyroid
- Follicles

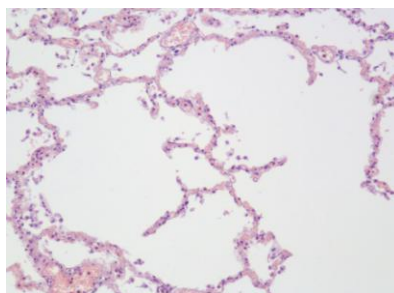
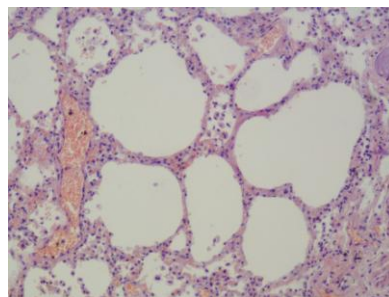


Морфология неизменной ткани легкого

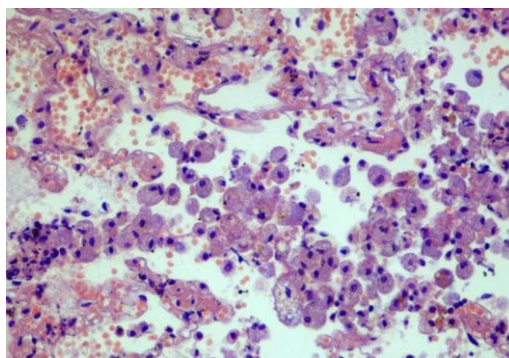
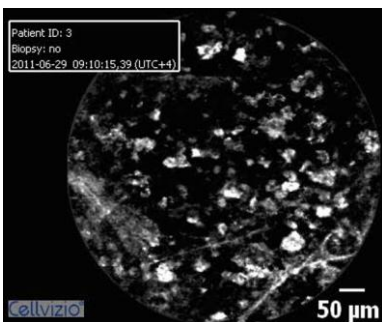
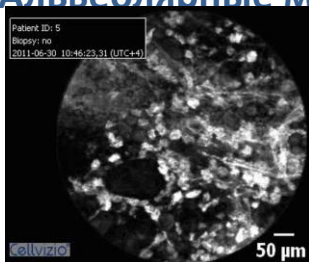
In vivo



In vitro

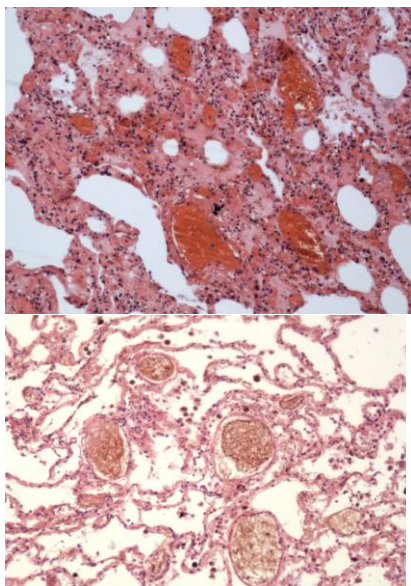


Альвеолярные макрофаги в просвете альвеол

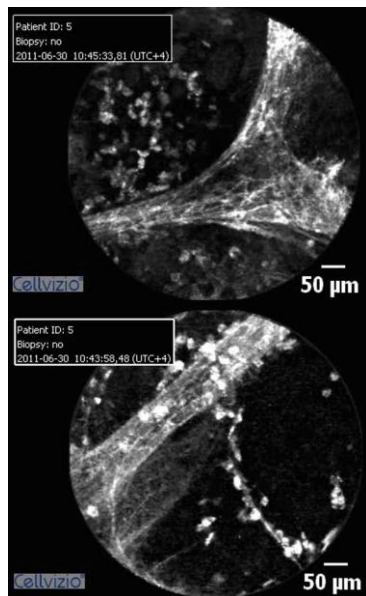


Вид легочных сосудов

In vitro

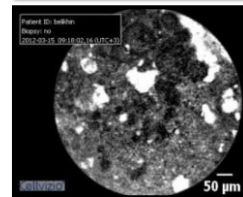
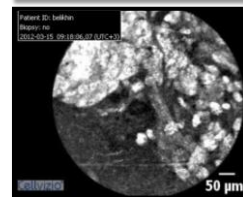
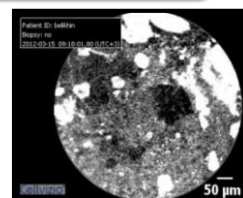
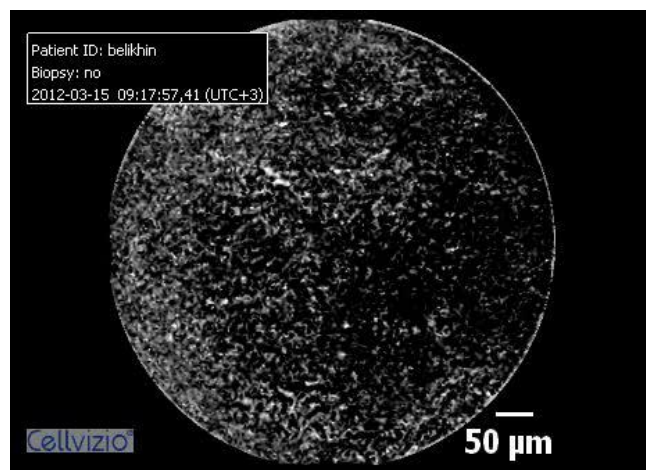


In vivo



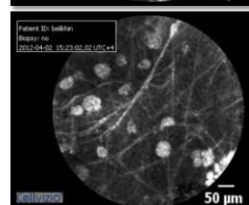
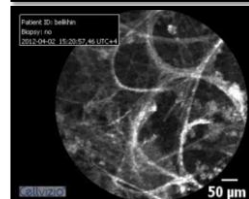
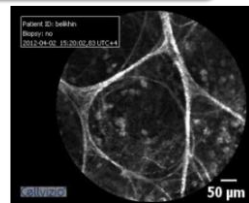
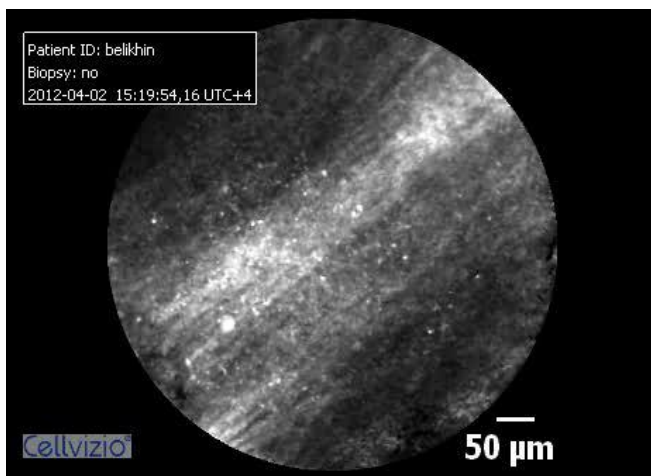
Альвеолярный легочный протеиноз Пациент Н., 41 года

АЛЬВЕОСКОПИЯ ДО ЛАВАЖА

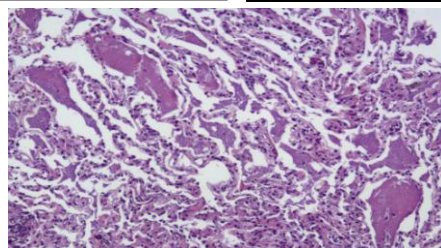
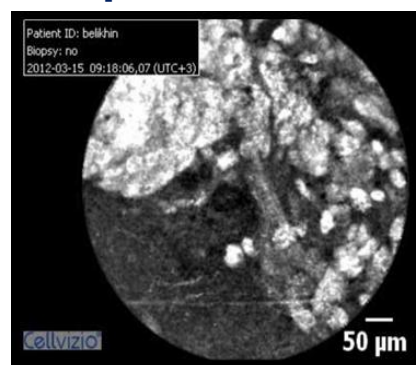
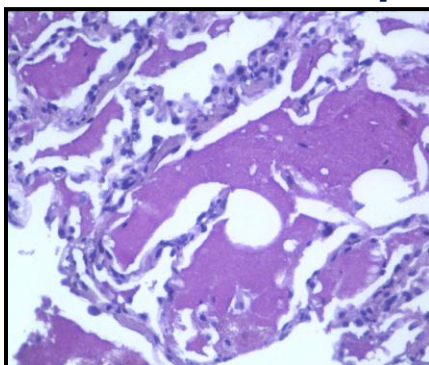


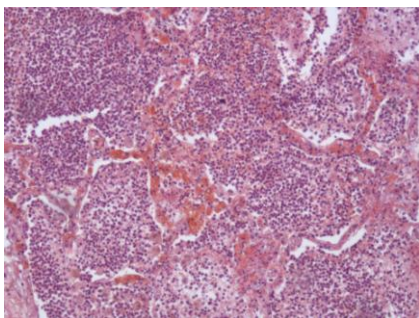
Альвеолярный легочный протеиноз Пациент Н., 41 года

АЛЬВЕОСКОПИЯ ПОСЛЕ ЛАВАЖА

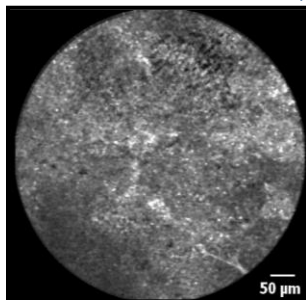


Альвеолярный протеиноз

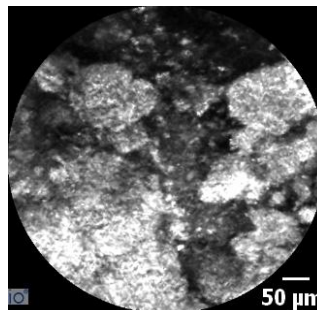
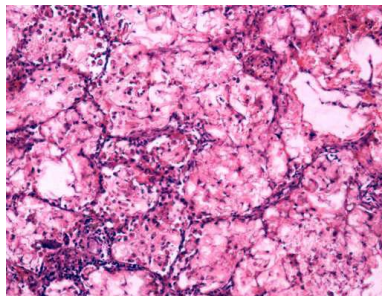




Лобарная пневмония(окр.
Гематоксилином и эозином, x100)

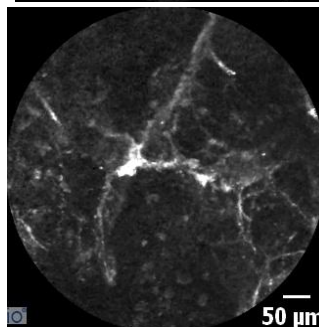
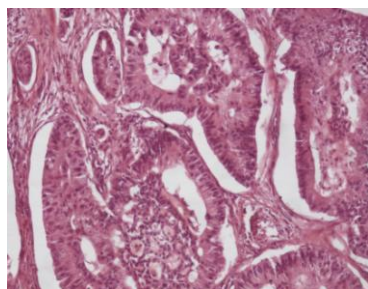
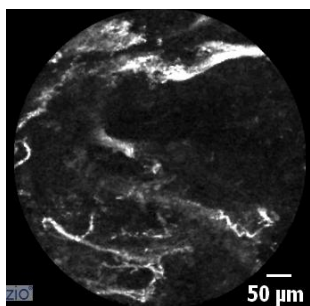
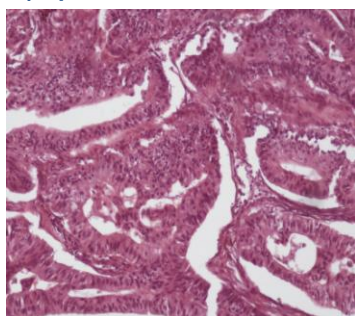


Пневмоцистная пневмония(окр.
Гематоксилином и эозином, x100)

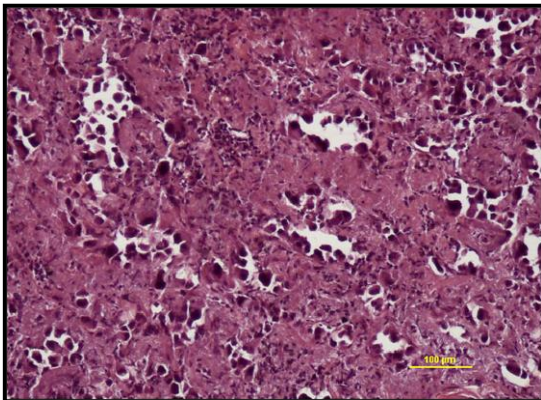


Аденокарцинома с крибриформным компонентом
(окр.гематоксилином и эозином, x100)

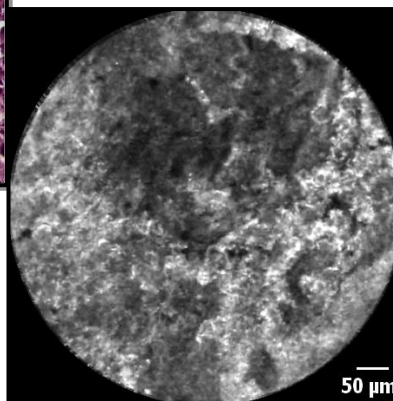
pCLE



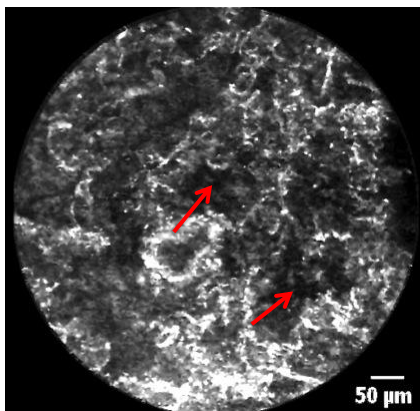
Ацинарная аденокарцинома (окр.гематоксилином и эозином, x100)
Выражена десмопластическая реакция стромы



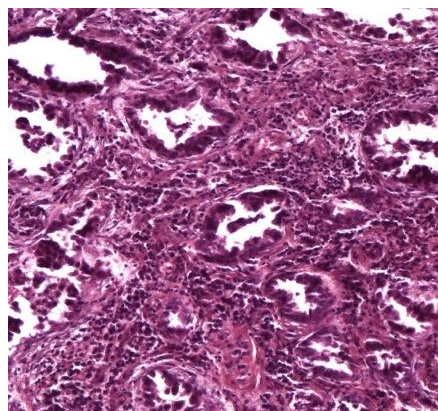
pCLE



Аденокарцинома легкого

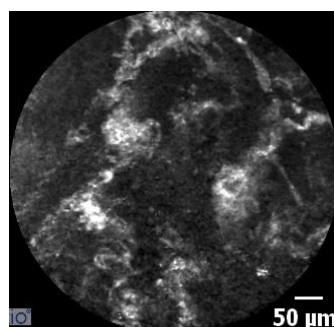
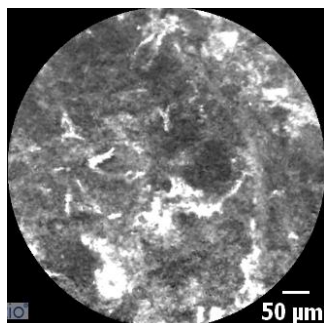
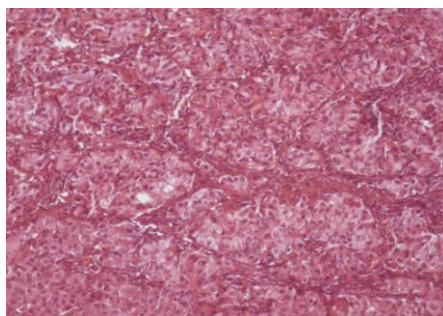
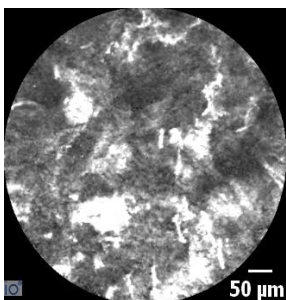


Аденокарцинома легкого. Аморфный оптически плотный тканевой фон, пенетрированный негативными углублениями аденоматозных структур опухоли. Cellvizio.

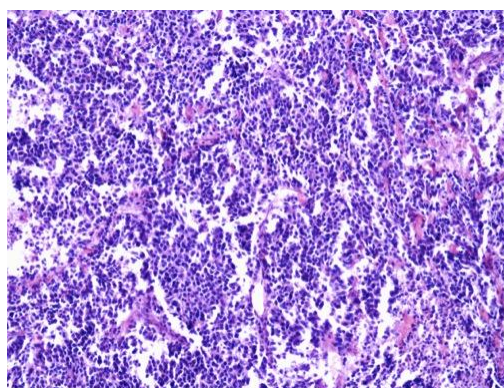
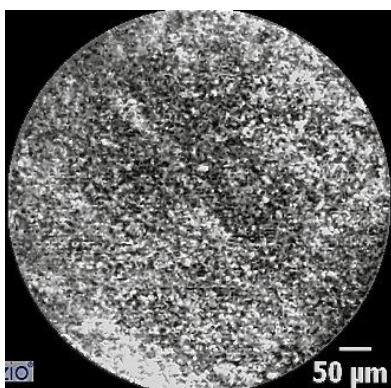


Аденокарцинома легкого. Окраска гематоксилином и эозином, x100.

Плоскоклеточный рак (окр. гематоксилином и эозином, x100)



Мелкоклеточный рак легкого

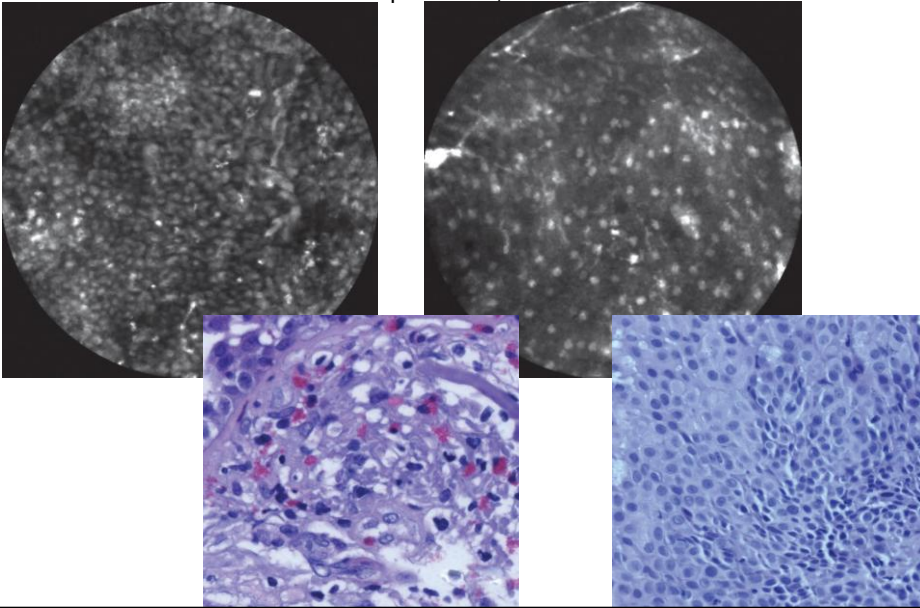


Мелкоклеточный рак легкого.
Стромальный компонент отсутствует. Эффект темной и яркой «пестроты» (Dark-and-bright “jazz”).
Cellvizio.

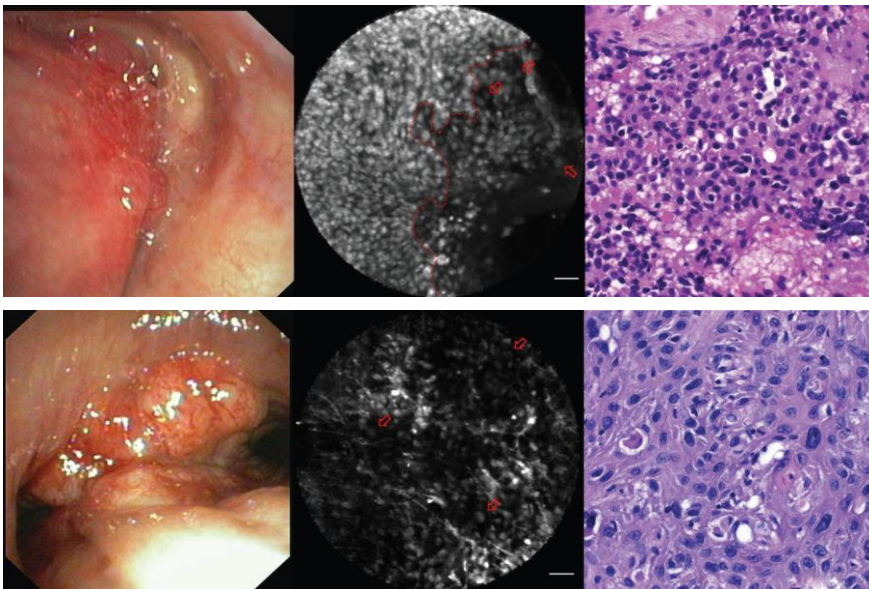
Мелкоклеточный рак легкого. Опухоль преимущественно клеточного строения, представлена лимфоцитоподобными клетками. Окраска гематоксилином и эозином, x40.

**Confocal laser endomicroscopy for
diagnosing lung cancer in vivo**

Florian S. Fuchs et al. Eur Respir J 2013; 41: 1401–1408

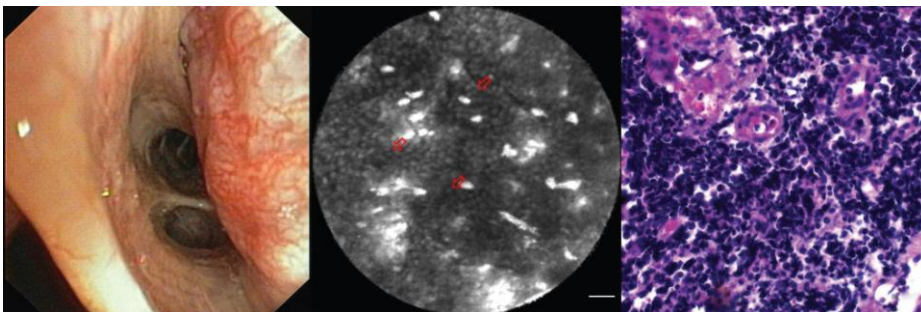
**Confocal laser endomicroscopy for
diagnosing lung cancer in vivo**

Florian S. Fuchs et al. Eur Respir J 2013; 41: 1401–1408



Confocal laser endomicroscopy for diagnosing lung cancer in vivo

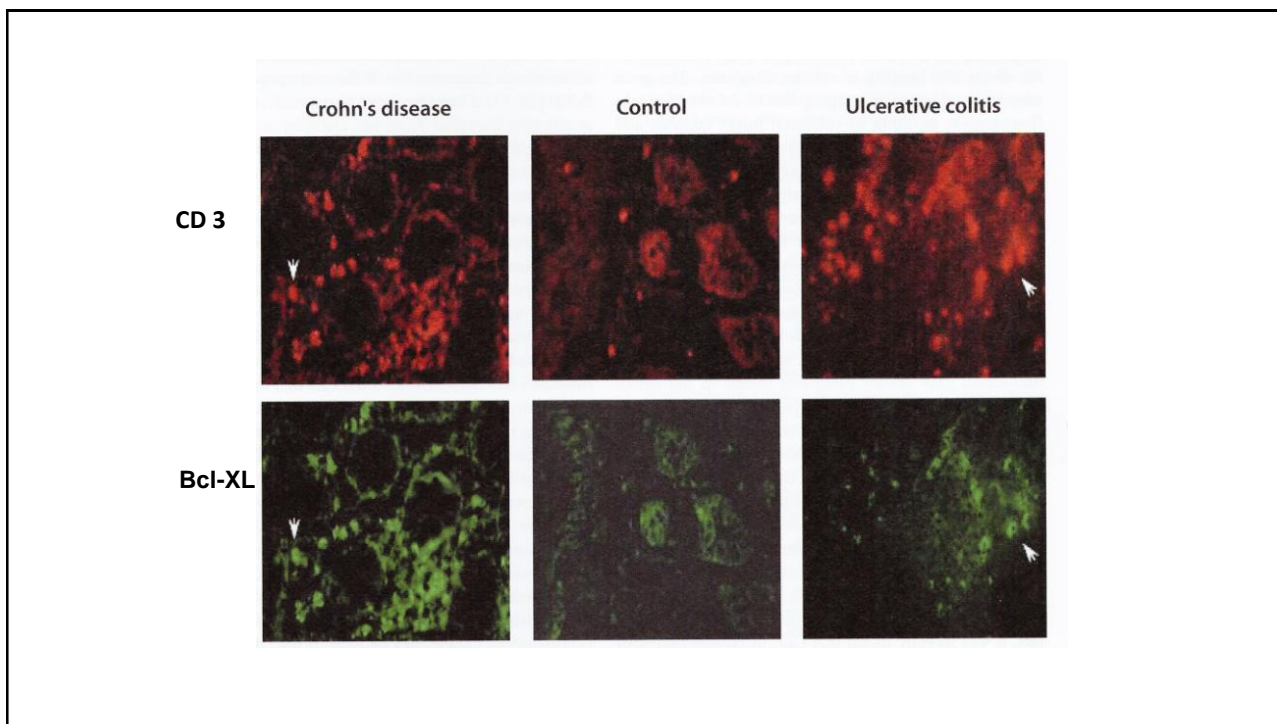
Florian S. Fuchs et al. Eur Respir J 2013; 41: 1401–1408



Neoplastic changes could be predicted with high accuracy (sensitivity 96.0%, specificity 87.1%, accuracy 91.0%). Confocal laser endomicroscopy with acriflavine is a novel diagnostic tool for the analysis of living cells during bronchoscopy and permits virtual histology of neoplastic changes in the airways with high accuracy. This technique may enable the rapid diagnosis of neoplasia during ongoing endoscopy in patients with suspected lung cancer.

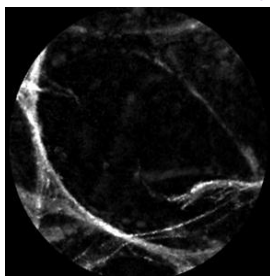
Иммуноэндомикроскопия (FLIV)(Fluorescent in vivo)

- Развитие конфокальной лазерной эндомикроскопии уже позволяет (пока в эксперименте) проводить определение специфических белков мечеными антителами
- Преимущества – полное сохранение иммунологической активности АГ и гистоструктуры и цитологии клеток в их «natural» окружении
- Возможность выполнения неинвазивного метода *in situ* для иммунофлуоресцентного исследования слизистой без риска ее повреждения, возможного кровотечения и пр.

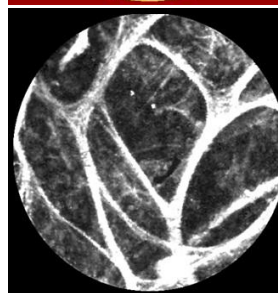


Оптическая плотность объектов

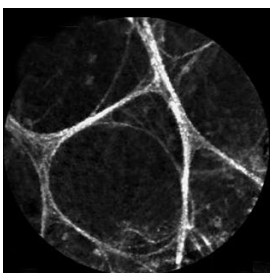
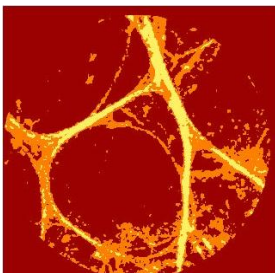
- Метод основан на определении относительной оптической плотности объектов с использованием трехуровневого алгоритма «Positive pixel count v9» Programm ImageScope v11.2.0.78 для оценки линейных и объемных характеристик структурных компонентов при диффузных и солитарных образованиях в легких.

Панлобулярная булезная эмфизема

I avg = 19,224

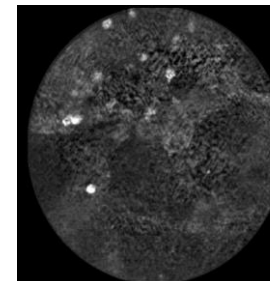
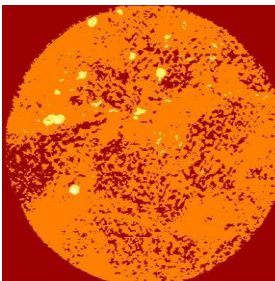
Идиопатический легочный фиброз

I avg = 77,1451

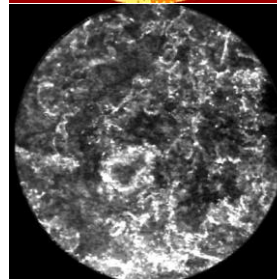
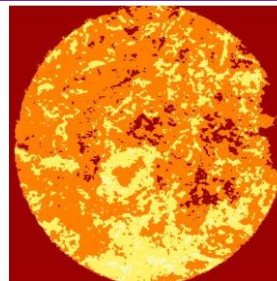
Неизменная ткань легких

I avg = 32,8656

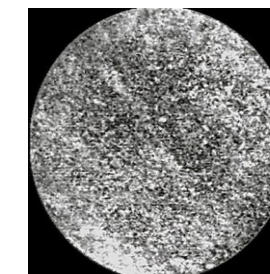
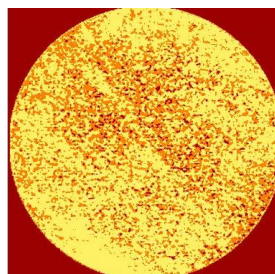
41

Муцинозная аденокарцинома, коллоидный тип

I avg = 44,4986

Ацинарная аденокарцинома с преобладанием десмопластической стромы

I avg = 75,9532

Мелкоклеточная карцинома

I avg = 110,139

42

Результаты

- Предустановленная градация относительной оптической плотности ткани легких позволяет определиться со степенью фиброза и склероза легочной ткани.; с большей долей специфичности и чувствительности обеспечивает диагностику железистого компонента опухолевого роста среди фибрированной ткани; диффузные изменения при развитии пневмоний; альвеолярных повреждениях

43

ICCU 2014 Provence
International Conference of Cellvizio Users



Pathologist in the Endomicroscopy

Program

Objective of the working group:

- Explore the role of the pathologist in endomicroscopy
- **Participants (name and country):**
 - Emanuele Meroni (Italy), Renato Cannizzaro (Italy), Muriel Abbaci (France), Vani Konda (USA), Fedor Zabolzaev (Russia), Dmitry Sazonov (Russia)

• Интеграция действий патологоанатома и эндоскописта на практике

- Последовательность в обучении витальной микроскопии - эндомикрорпатологии
- Привлечение к данному направлению микробиологов
 - Патолог наиболее подробно, четко и правильно оценивает эндомикроскопические изменения

• Пункты действия

- Не замена патологии - "Collaboration is essential-Сотрудничество необходимо"
- Специальная сессия патолог-эндоскопист на ICCU 2013



1. Интерпретация критериев оптической биопсии при трансплантации легких
2. Модель изучения молекулярных биомаркеров для таргетной терапии и выявления инфекций
3. Роль оптической биопсии в диагностике рака легкого
4. Альвеоскопия в диагностике и лечении легочного альвеолярного протеиноза
5. Лазерная конфокальная эндомикроскопия пневмоцистной пневмонии

ICCU 2014 Provence

6th International Conference of Cellvizio® Users

1st Confocal Laser Endomicroscopy certification class in Russia 03 – 15 March 2014

14 lectures, performed by:

prof. M. Giovannini	prof. F. Zabozlaev
prof. P. Scherbakov	prof. M. Chernyaev
Dr. S. Pirogov, MD	Dr. D. Sazonov, MD
Dr. O. Danilevskaya, MD	Dr. A. Shavrov, MD
Dr. Yu. Lysikov	A. Osdoit



Federal Medical-
Biological Agency
(FMBA of Russia)



P.A. Herzen Moscow
Cancer Research
Institute



Federal Clinical
Research Center
FMBA of Russia



ICCU 2014 Provence

6th International Conference of Cellvizio® Users

1st Confocal Laser Endomicroscopy certification class in Russia 03 – 15 March 2014

14 clinical cases
master-class performed by

prof. M. Giovannini (international expert)
prof. P. Scherbakov
Dr. S. Pirogov, MD
Dr. D. Sazonov, MD



Federal Medical-
Biological Agency
(FMBA of Russia)



P.A. Herzen Moscow
Cancer Research
Institute



Federal Clinical
Research Center
FMBA of Russia



ICCU 2014 Provence
6th International Conference of Cellvizio® Users

1st Confocal Laser Endomicroscopy certification class in Russia
03 – 15 March 2014



Federal Medical-Biological Agency (FMBA of Russia)



P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute



Federal Clinical Research Center FMBA of Russia

Participants:

13 Cellvizio users (obtained certificate)

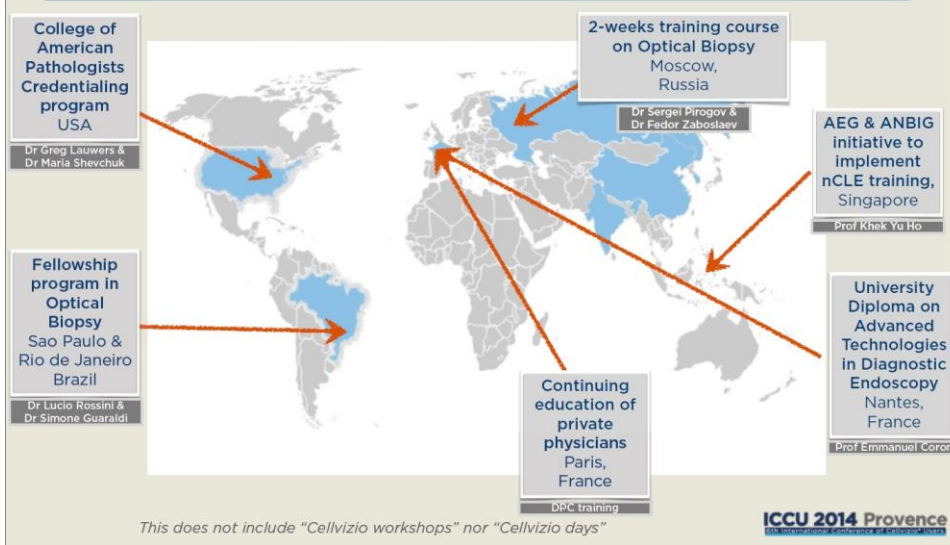
6 future Cellvizio users

10 interested in Cellvizio endomicroscopy doctors



Government-approved official certification in confocal laser endomicroscopy

Institutional training programs



**Мы живем в эпоху, когда расстояние
от самых безумных фантазий до
совершенно реальной
действительности сокращается
с невероятной
быстротой.**

М.Горький

