

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
ПРАВИТЕЛЬСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ФТИЗИОПУЛЬМОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Маменко Игорь Сергеевич**

**Возможности конфокальной лазерной эндомикроскопии в инвазивной  
диагностике туберкулеза и других диссеминированных процессов в легких**

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель  
доктор медицинских наук, профессор  
Пётр Казимирович Яблонский

Санкт-Петербург

2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1 Понятие и классификация диссеминированных процессов в легких.....	12
1.2 Методы морфологической диагностики диссеминированных процессов в легких .....	16
1.2.1 Чрезбронхиальная биопсия легкого.....	16
1.2.2 Чрезбронхиальная игловая аспирационная биопсия лимфатических узлов под контролем ультразвука.....	19
1.2.3 Чрезбронхиальная криобиопсия легкого.....	19
1.2.4 Открытая и видеоторакоскопическая биопсия легкого .....	20
1.3 Метод конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике диссеминированных процессов в легких.....	21
1.4 Сравнение основных методик морфологической верификации диссеминированных процессов в легких.....	30
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	31
2.1 Материал исследования.....	31
2.2 Методы исследования.....	35
2.2.1 Методика конфокальной лазерной эндомикроскопии.....	36
2.2.2 Методика использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации при чрезбронхиальной биопсии .....	36
2.2.3 Оценка конфокальной эндомикроскопической картины.....	38
2.2.4 Методика видеоторакоскопической биопсии .....	38
2.2.5 Статистическая обработка материала.....	39
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ .....	41
3.1 Результаты обследования пациентов с диссеминированными процессами в легких .....	41
3.2 Морфометрический анализ и оценка паттернов в норме .....	43
3.3 Основные эндомикроскопические паттерны у пациентов с диссеминированными процессами в легких .....	44
3.4 Конфокальная эндомикроскопическая картина при различных диссеминированных процессах в легких и ее сравнение с гистологической.....	47

3.4.1 Результаты КЛЭМ у пациентов с диссеминированным туберкулезом легких и сопоставление с гистологической картиной .....	47
3.4.2 Результаты КЛЭМ у пациентов с саркоидозом легких и их сопоставление с гистологической картиной .....	49
3.4.3 Результаты КЛЭМ у пациентов с нетуберкулезным микобактериозом легких и их сопоставление с гистологической картиной .....	51
3.4.4 Результаты КЛЭМ у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом и их сопоставление с гистологической картиной .....	53
3.4.5 Результаты КЛЭМ при неспецифической интерстициальной пневмонии и их сопоставление с гистологической картиной .....	55
3.4.6 КЛЭМ-изображение при респираторном бронхиолите – интерстициальном заболевании легких (РБ-ИЗЛ) .....	57
3.4.7 КЛЭМ – изображение при десквамативной интерстициальной пневмонии и сопоставление с гистологической картиной .....	59
3.4.8 КЛЭМ-изображение при криптогенной организуемой пневмонии и сопоставление с гистологической картиной .....	61
3.4.9 Результаты КЛЭМ у пациентов с болезнями накопления .....	63
3.4.10 КЛЭМ-изображение при поражении легкого на фоне ревматоидного артрита и сопоставление с гистологической картиной .....	70
3.4.11 КЛЭМ-изображение при бактериальной пневмонии и сопоставление с гистологической картиной .....	72
3.4.12 КЛЭМ-изображение при лангергансочлеточном гистиоцитозе и сопоставление с гистологической картиной .....	74
3.4.13 КЛЭМ-изображение при лекарственно индуцированном ИЗЛ и сопоставление с гистологической картиной .....	76
3.4.14 КЛЭМ-изображение при COVID-19 и сопоставление с гистологической картиной .....	78
3.4.15 КЛЭМ-картина у пациентов с пневмофиброзом и сопоставление с гистологической картиной .....	80
3.4.16 Общие результаты КЛЭМ различных диссеминированных процессов в легких и сравнения с гистологической картиной .....	82
3.5 Результаты использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации чрезбронхиальной биопсии при диссеминированных процессах в легких .....	84

3.6 Результаты сравнения основных групп патологий по КЛЭМ-картине и определение диагностической значимости паттернов.....	88
3.7 Алгоритм использования конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике диссеминированных процессов в легких .....	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	95
ВЫВОДЫ .....	98
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	99
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	102

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Диссеминированные процессы в легких (ДПЛ) - это гетерогенная группа болезней, объединяемых на основании характерного рентгенологического синдрома легочной диссеминации, проявляющегося распространенными изменениями в обоих легких узелкового, сетчатого или смешанного характера, как правило, в начале своего развития имеющих бессимптомное течение [2, 23, 50].

Этот термин объединяет более 200 заболеваний различной этиологии, среди которых хирургические заболеваний такие как инвазивная аденокарцинома легких, лимфогенный карциноматоз легких и вторичное очаговое опухолевое поражение легких [11].

По данным научной литературы туберкулез может занимать в структуре ДПЛ до 35% [4].

Основной метод неинвазивной диагностики – компьютерная томография обладает невысокой чувствительностью (53-78%) и специфичностью (52-71%) в дифференциальной диагностике ДПЛ [12]. В связи с этим ключевым способом диагностики являются инвазивные методики, включающие чрезбронхиальную биопсии легкого и криобиопсию. Все они связаны с известными рисками легочного кровотечения (12-39%), пневмоторакса (1-6%), а информативность их составляет 16%-80% [36, 45]. Торакоскопическая биопсия позволяет достигнуть информативности 94%-100%, но при этом имеет достаточно высокий риск осложнений (2,9%-5%) и летальность (1,5%-1,7%) [2, 36, 66].

С 2007 года в пульмонологии применяется конфокальная лазерная эндомикроскопия (КЛЭМ), позволяющая оценить структуры паренхимы легкого («оптическая биопсия» или «альвеолоскопия») [1,79]. На настоящий момент в мире опубликовано всего 5 крупных оригинальных статей, посвященных дифференциальной диагностике диссеминированных процессов в легких [8, 56, 68,74, 89]. По использованию данного метода в дифференциальной диагностике

туберкулеза нет публикаций. Методика используется для навигации чрезбронхиальной биопсии при периферических новообразованиях легких, существует единичная публикация об использовании КЛЭМ в качестве навигации при криобиопсии легкого, но нет данных об ее применении для навигации при стандартной чрезбронхиальной биопсии при ДПЛ [9,40,88].

Таким образом, представляло интерес оценить возможности применения конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике туберкулеза и диссеминированных заболеваний легких.

### **Степень разработанности темы исследования**

Анализ литературы по электронным базам данных PubMed, eLibrary, Web of Science, Cochrane свидетельствует, что опытом применения КЛЭМ в диагностике диссеминированных процессов в легких обладают лишь несколько центров, при этом большинство публикаций представлено единичными клиническими случаями. Использование конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике туберкулеза ранее не изучалось.

### **Цель исследования**

Улучшение результатов диагностики диссеминированных процессов в легких путем выявления и систематизации основных характеристик легочной ткани, полученных с помощью конфокальной лазерной эндомикроскопии, а также ее возможностей в качестве метода навигации при выполнении чрезбронхиальной биопсии.

## **Задачи исследования**

1. Изучить визуальные признаки (паттерны), выявляемые во время проведения конфокальной лазерной эндомикроскопии, характерные для различных заболеваний, сопровождающихся синдромом легочной диссеминации.
2. Оценить эффективность и безопасность использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации при чрезбронхиальной биопсии у больных с диссеминированными процессами в легких по сравнению со стандартной методикой.
3. Определить значимость выявленных паттернов в дифференциальной диагностике туберкулеза и диссеминированных процессов в легких.
4. Создать алгоритм выбора метода инвазивной диагностики у больных с диссеминированными процессами в легких с использованием метода конфокальной лазерной эндомикроскопии.

## **Научная новизна исследования**

Впервые были описаны основные типы изменений легочной ткани, выявляемые при выполнении конфокальной эндомикроскопии при диссеминированном туберкулезе в сравнении с другими диссеминированными процессами в легких.

Впервые оценена диагностическая значимость конфокальной лазерной эндомикроскопии в качестве навигационной системы для улучшения результатов чрезбронхиальной биопсии легкого при диссеминированных процессах в легких.

По данным доступной литературы, впервые описана конфокальная эндомикроскопическая картина при метастатическом кальцинозе и новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

## **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Впервые показано, что использование конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации при чрезбронхиальной биопсии у пациентов с заболеваниями, сопровождающимися синдромом легочной диссеминации, значительно увеличивает чувствительность метода по сравнению с обычной биопсией под рентгеноскопическим контролем (80,8% и 61,6% соответственно,  $p < 0,05$ ). Впервые определены показатели информативности метода конфокальной лазерной эндомикроскопии при туберкулезе легких.

## **Методология и методы исследования**

Методологической основой диссертационной работы явилось последовательное применение общенаучных (эмпирических, теоретических и общелогических) методов познания. Для определения актуальности, цели и задач исследования выполнен анализ отечественной и зарубежной научной литературы. Объектом исследования явились 80 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России с рентгенологическим синдромом легочной диссеминации. Для получения необходимой информации применялись клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования. Предметом исследования были непосредственные результаты конфокальной лазерной эндомикроскопии при туберкулезе и диссеминированных процессах в легких. На первом этапе была описана методика и особенности выполнения конфокальной лазерной эндомикроскопии у исследуемых пациентов. Затем была адаптирована методика использования этого метода в качестве навигации при чрезбронхиальной биопсии легких. После чего был выполнен анализ и сопоставление результатов обычной чрезбронхиальной биопсии и чрезбронхиальной биопсии, выполненной по разработанной методике. При проведении данного исследования соблюдались требования Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» ГОСТ Р



52379-2005, использовались современные методы обработки информации и статистического анализа. Исследование одобрено решением Независимого этического комитета при «ФГБУ СПб НИИФ» Минздрава России (протокол от 16.10.2019 г. № 62).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. КЛЭМ – высокоинформативный метод исследования легочной ткани, позволяющий прижизненно оценить структуру и особенности альвеол, однако постоянное присутствие альвеолярных клеток у всех курящих больных, независимо от наличия или отсутствия патологии легких по данным компьютерной томографии, значительно ограничивает его возможности в диагностике ДПЛ.

2. Использование КЛЭМ в качестве метода навигации позволяет повысить диагностическую значимость чрезбронхиальной биопсии легкого у пациентов с диссеминированными заболеваниями легких без увеличения количества осложнений

3. Паттерн альвеолярных клеток является одним из самых частых КЛЭМ симптомов специфического поражения легких и может использоваться при дифференциальной диагностике туберкулеза и других ДПЛ у некурящих больных. Среди всех выявленных паттернов наибольшей диагностической ценностью обладает паттерн включений, что позволяет считать его патогномичным признаком болезней накопления.

4. Выявленные преимущества метода конфокальной лазерной эндомикроскопии позволяют включить его в алгоритм инвазивной диагностики диссеминированных процессов в легких

## **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточны количеством наблюдений, а также использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Результаты научного исследования внедрены в практику работы Центра торакальной хирургии ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России (г. Санкт-Петербург), а также используются учебным отделом ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России (г. Санкт-Петербург) и ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет» в программах циклов усовершенствования врачей-эндоскопистов, пульмонологов и торакальных хирургов. Материалы диссертации положены в основу протокола клинической апробации «Оказание специализированной медицинской помощи в рамках клинической апробации пациентам с патологией легких с применением метода конфокальной эндомикроскопии».

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 4-м и 5-ом Европейских конгрессах по бронхологии и интервенционной пульмонологии (Белград, 2017; Дубровник, 2019), 28-ом, 29-ом Международных конгрессах Европейского респираторного общества (Париж, 2018; Мадрид 2019), 30-ом и 31-ом виртуальных Международных конгрессах Европейского респираторного общества (2020; 2021), VIII Конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2019), на XII-ой Научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии» (Санкт-Петербург, 2021), на XXXII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2022), IX Московском Международном фестивале эндоскопии и хирургии Endofest (Москва, 2022).

Апробация диссертации состоялась на заседании Ученого совета ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России 21 ноября 2022 года (протокол №9/22).

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 2 статьи в журналах из Перечня рецензируемых научных изданий ВАК Министерства науки и образования Российской Федерации, 3 статьи в научных изданиях, которые входят в международные реферативные базы данных Scopus, PubMed и считаются включенными в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

## **Личный вклад автора**

Определена цель научной работы, поставлены задачи, разработан дизайн исследования, произведен поиск, а также анализ отечественной и зарубежной литературы. Автор самостоятельно выполнил все 80 конфокальных эндомикроскопических исследований. Все результаты исследования получены, статистически обработаны и проанализированы автором самостоятельно.

## **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 112 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы исследования и списка литературы. Работа иллюстрирована 33 таблицами, 24 рисунками. Список литературы включает 92 источников, среди которых 19 работ отечественных авторов и 73 зарубежных.

## Глава 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 Понятие и классификация диссеминированных процессов в легких

Диссеминированные процессы в легких (ДПЛ) – это обширная гетерогенная группа патологий, насчитывающая более 200 нозологических форм, при которых поражаются альвеолярные структуры, легочный интерстиций и мелкие дыхательные пути, обычно имеющих хроническое течение [2, 23, 50]. В отечественной научной литературе широко распространены термины «диссеминированные процессы в легких» и «диссеминированные заболевания легких», которые прежде всего указывают на наличие рентгенологического синдрома легочной диссеминации, общего для данной группы заболеваний [11,15]. В англоязычной научной медицинской литературе обычно используют термины «интерстициальные заболевания легких» или «диффузные паренхиматозные заболевания легких», что указывает на распространенность патологического процесса и преимущественное поражение интерстиция у большинства из этих заболеваний [20,22,51].

По мнению И.Е. Тюрина (2003) термин «диффузные заболевания легких» также не универсален, поскольку нередко распределение изменений в легочной ткани является неравномерным или даже локальным, а понятие «диссеминированных процессов в легком» не отражает многообразие морфологических изменений в легочной ткани. В связи с чем данный автор предлагает использование обозначения «интерстициальные заболевания легких» [19].

В то же время по мнению М.М. Ильковича (2016) термин «интерстициальные заболевания легких», применим только к патологическим состояниям, характеризующимся различной степенью паренхиматозного неинфекционного воспаления (по типу альвеолита и /или гранулематоза) с последующим развитием

фиброза. Другие диссеминированные процессы в легких, в частности болезни накопления и опухолевые диссеминации не характеризуются признаками поражения интерстиция и таким образом не могут быть отнесены к «интерстициальным заболеваниям». Термин «диффузные заболевания легких» по мнению М.М. Ильковича также не может быть применен ко всей группе диссеминированных процессов, поскольку поражение легких при многих из этих заболеваний в начальных стадиях имеет «мозаичный», а не «диффузный» характер [11].

В данной работе использован термин «диссеминированные процессы в легких» как один из наиболее часто употребляемых в отечественной научной литературе и объединяющий все заболевания с синдромом легочной диссеминации независимо от этиологии или особенностей распространения изменений в легочной ткани.

Современная общепринятая классификация интерстициальных заболеваний легких Европейского респираторного общества и Американского торакального общества (ERS/ATS 2002, пересмотр 2013 года) имеет в основе этиологический принцип: деление на заболевания с известной и неизвестной этиологией.

**Классификация интерстициальных заболеваний легких ERS/ATS (2002, пересмотр 2013) [20, 82]**

**I. Заболевания известной этиологии**

1. Ассоциированные с лекарственными средствами
2. Заболевания соединительной ткани / поражение легких при ревматоидном артрите

**II. Идиопатические интерстициальные пневмонии**

1. Хронические фиброзирующие идиопатические интерстициальные пневмонии
  - идиопатический легочный фиброз (ИЛФ)
  - неспецифическая интерстициальная пневмония
2. Ассоциированные с курением

- респираторный бронхолит-интерстициальное заболевание легких
- десквамативная интерстициальная пневмония
- 3. Острые/подострые пневмонии
  - острая интерстициальная пневмония
  - криптогенная организуемая пневмония
- 4. Редкие идиопатические интерстициальные пневмонии
  - лимфоидная интерстициальная пневмония
  - плевропаренхимальный фиброэластоз
- III. Гранулематозные интерстициальные заболевания
  - саркоидоз
  - гиперчувствительный пневмонит
  - бериллиоз
- IV. Другие формы
  - легочный альвеолярный протеиноз
  - эозинофильная пневмония
  - лимфангиолейомиоматоз
  - легочный гистиоцитоз из клеток Лангерганса

В отечественной научной литературе также распространена классификация М.М. Ильковича, основанная на морфологическом принципе [11]:

1. Интерстициальные заболевания легких.
  - 1.1 Фиброзирующие альвеолиты:
    - Идиопатический фиброзирующий альвеолит/идиопатический легочный фиброз (ИФА/ИЛФ)
      - Экзогенные аллергические альвеолиты (ЭАА)
      - Экзогенные токсические альвеолиты (ЭТА)
      - Синдром фиброзирующего альвеолита (ФА) при других заболеваниях (ДБСТ, хроническом гепатите, билиарном циррозе печени и т.д.)
  - 1.2 Гранулематозы легких:
    - Саркоидоз органов дыхания (СОД)

- Диссеминированный туберкулез легких
- Гистиоцитоз Х легких (ГХЛ) из клеток Лангерганса
- Пневмомикозы
- Пневмокониозы

### 1.3 Системные васкулиты с поражением легких.

- Гранулематоз Вегенера
- Синдром Черджа-Штрауса
- Микроскопический полиангиит (МПА)
- Синдром Гудпасчера
- Идиопатический гемосидероз легких (ИГЛ)

### 1.3 Болезни накопления

- Альвеолярный протеиноз легких
- Амилоидоз бронхолегочный (трахеобронхолегочный)
- Альвеолярный микролитиаз
- Оссификация (кальцификация) легких идиопатическая

### 1.4 Диссеминации легочные опухолевой природы

- Лимфогенный канцероматоз легких (ЛКЛ)
- Вторичное очаговое опухолевое поражение легких
- Слизеобразующая инвазивная аденокарцинома (СИА) легких
- Эпителиодная гемангиоэндотелиома легких
- Лимфангиолейомиоматоз

Дифференциальная диагностика диссеминированных процессов в легких является одной из наиболее сложных задач в пульмонологии и требует совокупности рентгенологических, молекулярно-биологических, бактериологических, морфологических методов исследования [11,20]. Стандартом считается мультидисциплинарный консенсус группы специалистов, обладающих опытом в диагностике этих заболеваний [51].

Особую актуальность в Российской Федерации, как в стране с высоким бременем по туберкулезу, имеет дифференциальная диагностика

интерстициальных заболеваний и диссеминированного туберкулеза, частота которого может занимать в структуре ДПЛ до 35%. Своевременная и точная диагностика туберкулеза помогает предотвратить дальнейшее распространение инфекции [4,14].

## **1.2 Методы морфологической диагностики диссеминированных процессов в легких**

В связи со сложностью в диагностике диссеминированных процессов в легких, решающую роль в постановке диагноза имеет морфологическое исследование [55]. На настоящий момент в пульмонологии распространены малоинвазивные методы получения легочной ткани и ткани лимфатических узлов средостения для верификации заболевания: чрезбронхиальная щипцовая биопсия легкого (ЧББЛ), чрезбронхиальная криобиопсия, классическая аспирационная игловая биопсия лимфатических узлов и биопсия лимфоузлов под контролем ультразвукографии (EBUS-TBNA) при сочетании ДПЛ с лимфаденопатией [13,30,33]. При неэффективности малоинвазивных методик применяется хирургическая (открытая или торакоскопическая) биопсия легкого [2, 36,66].

### **1.2.1 Чрезбронхиальная биопсия легкого**

Впервые чрезбронхиальная биопсия легкого была описана Н. А. Andersen et al. и применена в 1965 году в клинике Мейо с использованием ригидного бронхоскопа и ригидных щипцов у тринадцати пациентов с интерстициальными заболеваниями легких. В 11 случаях была получена легочная ткань, микроскопическое исследование которой позволило установить диагноз [21]. В 1978 году Н. А. Andersen et al. опубликовали данные уже на 939 пациентах, в том числе с использованием гибких эндоскопов [22]. В первых публикациях с



использованием гибких эндоскопов на небольших группах пациентов информативность составляла 82% [22,54].

Противопоказаниями к проведению ЧББЛ являются постоянная гипоксемия, некорригируемая коагулопатия, некорригируемая аритмия, ишемия миокарда, тяжелая легочная гипертензия, неконтролируемый бронхоспазм, отказ пациента от сотрудничества, невозможность контролировать кашель пациента, отсутствие реанимационного оборудования, патология тромбоцитарного звена (меньше  $50 \times 10^9/\text{л.}$ ) [55].

Большинство авторов рекомендуют выполнять чрезбронхиальную биопсию легкого под рентгеноскопическим контролем. Использование рентгеноскопического контроля не повышает информативность манипуляции при диссеминированных процессах в легких, но достоверно снижает частоту пневмотораксов, по данным P.G. Simpson et al. с 2,9% до 1,8% [55,75].

Методика заключается в том, что гибкие биопсийные щипцы под визуальным эндоскопическим контролем вводятся через канал бронхофиброскопа в нужный сегментарный, а затем в субсегментарный бронх, ведущий в наиболее пораженную область легкого, выявленную по данным КТ. Далее под рентгеноскопическим контролем щипцы проводятся в периферические отделы бронхиального дерева и устанавливаются на расстоянии 1-3 см от висцеральной плевры. Бранши щипцов открываются на вдохе и закрываются на выдохе, захватывая кусочек ткани легкого, который сразу же фиксируется в 10 % растворе формалина [55].

Наиболее часто встречающимися осложнениями методики являются пневмоторакс (1-6%) и легочное кровотечение (1-2%) [50,55].

Информативность чрезбронхиальной биопсии легкого отличается при различных заболеваниях из группы диссеминированных процессов.

*Чрезбронхиальная биопсия при саркоидозе.* Чрезбронхиальная биопсия рекомендована для морфологической верификации саркоидоза, поскольку имеет высокую информативность при данной патологии и в некоторых исследованиях достигает 90% [30,39]. Информативность методики при саркоидозе зависит от рентгенологической стадии заболевания: примерно 50-65% при стадии I, 63-82%

при стадии II, 80-85% при стадии III [30,84]. По данным отечественных авторов при I стадии - у 51,1%, при II - у 70,4%, при III – IV - 61,6% [6]. Также информативность напрямую зависит от количества взятых биоптатов. При стадии I рекомендовано брать 10 биоптатов, при стадиях II-III не менее 4-6 биоптатов [39, 67, 84]. Применение дополнительно эндобронхиальной биопсии и аспирационной биопсии лимфатических узлов, повышает информативность диагностики саркоидоза (чувствительность до 90% и специфичность 100%) [30,84].

*Чрезбронхиальная биопсия при гистиоцитозе Х.* Гистологическая верификация гистиоцитоза Х целесообразна только на I стадии заболевания, когда имеются специфичные гранулемы из пролиферирующих гистиоцитов, при II и III стадии заболевания поиски таких структур как правило безуспешны [11]. Чувствительность чрезбронхиальной биопсии при гистиоцитозе Х низкая и составляет 10-40%, это связано с неравномерным распределением патологических очагов в легком, из-за чего биоптаты небольших размеров обычно малоинформативны [16, 26, 81]. Обнаружение антител к CD1a (клон МТВ1) и белку S-100 при иммуногистохимическом исследовании позволяет подтвердить диагноз гистиоцитоза Х [26,81].

*Чрезбронхиальная биопсия при лимфангиолейомиоматозе.* В рекомендациях европейского респираторного общества по диагностике и лечению лимфангиолейомиоматоза не затронут вопрос предпочтительного способа гистологической верификации данного заболевания [46]. По данным последних исследований, информативность чрезбронхиальной биопсии при данном заболевании составляет 60-70% [49,57], при этом необходимо иммуногистохимическое исследование с выявлением антител к эстрогеновым рецепторам и маркеру HMB-45 [32].

*Чрезбронхиальная биопсия при идиопатическом легочном фиброзе и интерстициальных пневмониях.* В рекомендациях ATS/ERS/JRS/ALAT чрезбронхиальная биопсия легкого не рекомендуется для морфологической верификации идиопатического легочного фиброза и интерстициальных пневмоний в связи с низкой информативностью [65].

*Чрезбронхиальная биопсия при системных васкулитах с поражением легких.*

Чрезбронхиальная биопсия при васкулитах имеет низкую информативность. При болезни Вегенера из 17 чрезбронхиальных биопсий только 2 оказались информативны, в то же время из 21 эндобронхиальных оказались информативными 7 [71].

*Чрезбронхиальная биопсия при туберкулезе легких.* Чрезбронхиальная биопсия при туберкулезе легких имеет информативность от 16% до 77% [44, 77, 78, 90]. Такая широкая вариабельность объясняется различными диагностическими критериями (гистология, бактериология, и их комбинация), размерами инфильтратов и рентгенологическими особенностями [34,52]. Наиболее высокая информативность отмечена при инфильтратах более 2 см и при милиарном туберкулезе [34].

### **1.2.2 Чрезбронхиальная игловая аспирационная биопсия лимфатических узлов под контролем ультразвука**

При сочетании синдрома легочной диссеминации с синдромом лимфааденопатии средостения для верификации может применяться чрезбронхиальная игловая аспирационная биопсия лимфатических узлов, наиболее эффективная под контролем эндобронхиального ультразвука [13,84].

По данным Г.Г. Кудряшова и соавт. (2017) общая чувствительность трансбронхиальной аспирации под контролем ультразвука для диагностики туберкулеза составила 70%, специфичность — 98% [13].

### **1.2.3 Чрезбронхиальная криобиопсия легкого**

Техника криобиопсии основана на эффекте Джоуля-Томсона: поток сжиженного газа под действием перепада давлений охлаждается при прохождении через пористую перегородку.

Для биопсии используются тонкие криозаборники (зонды) 2,4 мм, 1,9 мм, 1,1 мм с длиной, варьирующей от 780 до 1050 мм. Через них проходит охлаждающий агент (оксид азота, жидкий азот или диоксид углерода), высвобождается и вызывает замораживание ткани дистальнее до 2 см, что позволяет извлекать материал [17]. Эта методика позволяет получать биоптаты больших размеров (в среднем от 5,82 до 43,11 мм<sup>2</sup>), с минимальным «краш-эффектом» [28; 33; 45].

Диагностическая ценность исследования при ДПЛ колеблется от 74% до 80%. Однако методика на этапе освоения может иметь достаточно большое количество осложнений: по данным метаанализа частота развития пневмоторакса до 12%, а легочного кровотечения средней и тяжелой степени до 39%. [45].

#### **1.2.4 Открытая и видеоторакоскопическая биопсия легкого**

Открытая биопсия легкого посредством торакотомии ранее считалась «золотым стандартом» в диагностике диссеминированных процессов в легком, поскольку позволяла получить образцы большого размера из макроскопически измененных участков легкого, при необходимости выполнить биопсию лимфатических узлов и париетальной плевры [3]. Информативность открытых биопсий составляет до 98%-100% [29].

На настоящий момент, в связи с развитием торакоскопической техники, для хирургической биопсии легкого применяется видеоторакоскопический доступ. Доказано, что по сравнению с торакотомией, он характеризуется значительным уменьшением показателей длительности дренирования плевральной полости, выраженности послеоперационного болевого синдрома, длительности пребывания в стационаре [25,29]. Также многие авторы отмечают более высокую информативность по сравнению с торакотомным доступом [29].

Несмотря на все преимущества видеоторакоскопической биопсии легкого, летальность после этой операции может достигать 1,5 %, при этом вероятность развития дыхательной недостаточности в послеоперационном периоде может

составлять 2.9%. Основными факторами риска послеоперационной летальности у пациентов с диссеминированными процессами в легком являются легочная гипертензия, предоперационное лечение кортикостероидами и низкая диффузионная способность [36].

Дыхательная недостаточность может быть следствием быстрого прогрессирования некоторых интерстициальных заболеваний после операции. J.Utz et al. (2001) доложили о высокой послеоперационной летальности (16,7%) после открытых и видеоторакоскопических биопсий легкого у больных с идиопатическим легочным фиброзом, ассоциированной с прогрессированием дыхательной недостаточности. В связи с этим, отбор больных пациентов для хирургической биопсии должен выполняться более тщательно [85].

### **1.3 Метод конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике диссеминированных процессов в легких**

Принцип устройства конфокального микроскопа был разработан Марвином Мински в 1957 г. с целью исследования нейронной сети в нативном препарате ткани головного мозга без предварительного окрашивания, однако широкое применение в практике он нашел лишь в 80-е годы прошлого века, с развитием компьютерных и лазерных технологий [5].

Термин “конфокальный” или “софокусный” относится к приборам, где системы освещения и детекции расположены в одной и той же плоскости. При обычной микроскопии свет от объектов, находящихся выше и ниже фокальной плоскости, размывает полученное изображение. Внутри конфокального микроскопа имеется точечная диафрагма, расположенная в плоскости, где фокусируется свет (флуоресценция), исходящий от объекта. С помощью диафрагмы лишний свет, собранный из фокуса объектива, исходящий не из наблюдаемой точки, а излучающийся ее окружением, отсекается. В качестве источника света в современных конфокальных микроскопах используются лазеры, а точность регистрации усиливается эффектом диафрагмы, поэтому, по сравнению

с обычными флуоресцентными микроскопами, данные системы обеспечивают повышенную контрастность и четкость изображения. [1,9].

Исходя из принципа использования лазера в качестве источника света, лазерную сканирующую конфокальную микроскопию разделяют на отражательную и флуоресцентную. Метод отражательной конфокальной микроскопии основан на различии индекса преломления света для каждой клеточной структуры, а флуоресцентной - на возбуждении флуорохромов изучаемого препарата под воздействием лазерного света [5,76].

Конфокальная лазерная эндомикроскопия (КЛЭМ) представляет собой метод прижизненной диагностики тканей организма на микроскопическом уровне, осуществляемый с помощью минизондов во время эндоскопического исследования [79].

Методика впервые была описана и использована для диагностики заболеваний толстой кишки в 2004 году [48]. В этом исследовании использовался колоноскоп фирмы Pentax (Япония) с интегрированным конфокальным лазерным микроскопом на дистальном конце. Для визуализации использовалась местная аппликация акрифлафина гидрохлорида или внутривенная инъекция флюоресцеина.

Прижизненная эндомикроскопия легких впервые была выполнена в 2007 году и детально разработана в фундаментальных работах L. Thiberville с помощью коммерческой системы Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция) [79, 80]. Данная система получила наибольшее распространение для выполнения конфокальной лазерной эндомикроскопии в пульмонологии и гастроэнтерологии.

Основой методики является способность некоторых структур организма (эндогенных флуорофоров) к аутофлуоресценции под воздействием лазерного луча определенной длины волны. Такими веществами являются протеины, порфирины и флавины. В работах L.Thiberville доказано, что основным эндогенным флуорофором в дыхательной системе является эластин и за счет него формируется основной аутофлуоресцентный сигнал [79].

В системе Cellvizio генерируется лазерный луч (длиной волны 480 или 660 нанометров), который передаваясь через систему зеркал, качающихся во взаимно перпендикулярных направлениях, попадает на исследуемую ткань организма через минизонд, при этом поглощается, а затем испускается эндогенными флюорофорами. Полученный сигнал регистрируется конфокальным эндомикроскопом на дистальном конце зонда, обрабатывается компьютером и выводится в виде динамического изображения ткани на экран монитора системы (рисунок 1) [1,80].

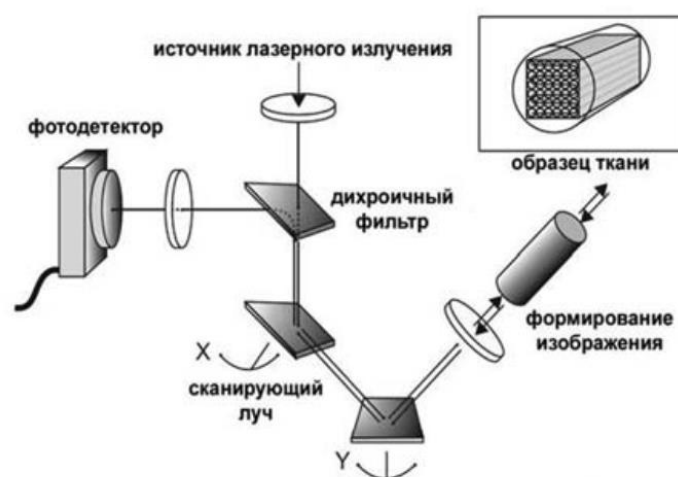


Рисунок 1 - Схематическое изображение системы Cellvizio для исследования легких (оригинал – L. Thiberville, 2007; перевод – А.В. Аверьянов, 2011)

Данный метод позволяет исследовать дистальные отделы бронхиального дерева и легочную ткань, что ранее не представлялось возможным.

На настоящий момент в коммерческой эксплуатации имеется одна система для лазерной конфокальной эндомикроскопии – Cellvizio, выпускаемая компанией Mauna Kea Technologies (Париж, Франция) (рисунок 2а). Для исследования дыхательных путей наиболее часто применяется специально разработанный зонд Alveoflex диаметром 1,4 мм и длиной 3 м, с разрешающей способностью 3,5 мкм, глубиной исследования 0-50 мкм и диаметром оптического поля 600 мкм (рисунок 2б) [79].

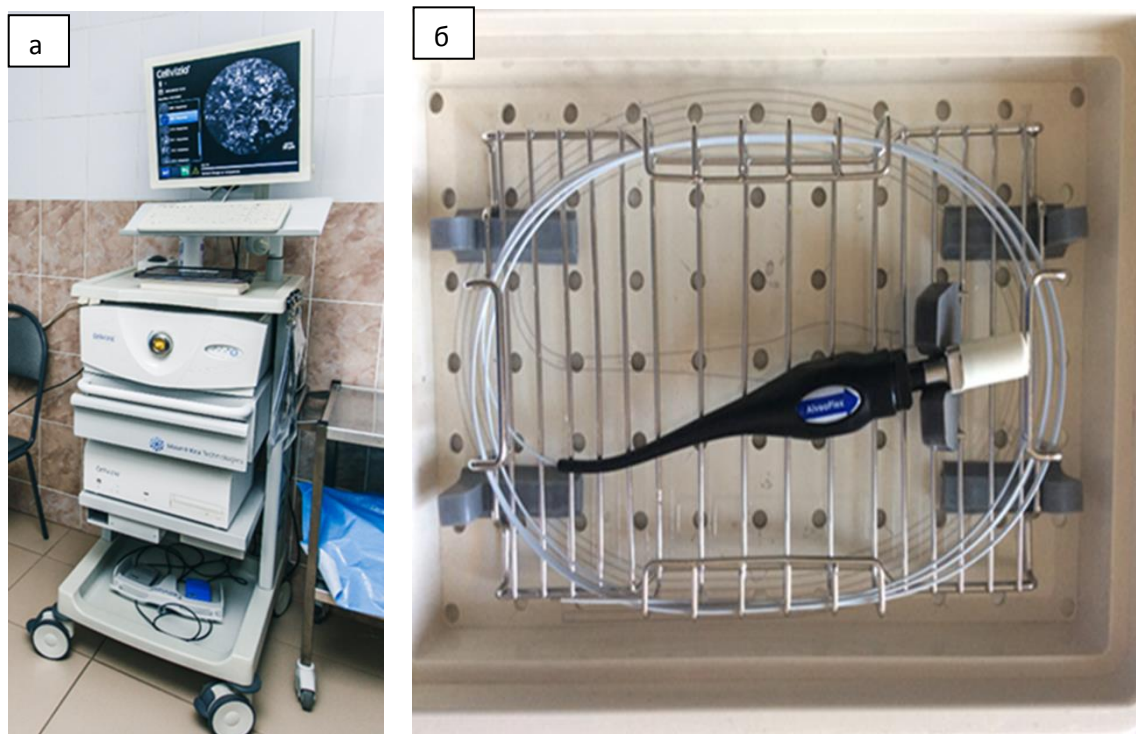


Рисунок 2 – система Cellvizio для конфокальной лазерной эндомикроскопии: (а) Вид системы Cellvizio, (б) Вид зонда Alveoflex для исследования дыхательных путей и альвеол

В минизонде расположены 30000 оптических волокон, расположенных в виде шестиугольника, которые служат связующим звеном между объективом микроскопа и проксимальным сканирующим устройством. Диаметр сердцевины каждого волокна составляет  $1,9 \mu\text{m}$  при межзонном расстоянии  $3,3 \mu\text{m}$ . Получаемые изображения содержат 30000 пикселей в поле зрения  $600$  на  $500 \mu\text{m}$  с боковым разрешением  $3,5 \mu\text{m}$ . Каждое волокно работает и как система доставки света, и как его собственная точечная диафрагма. Лазерный луч последовательно проходит через эти волокна, для воспроизводства двумерного изображения, ткань сканируется как в длину, так и в ширину. Достигается это с помощью двух быстро (с частотой  $4 \text{ Гц}$ ) колеблющихся зеркал. Каждое волокно сканирует только одну точку ткани, и дальнейшая обработка изображений строит некую карту, являющуюся совокупностью точечных источников данных. Сохраненные данные



впоследствии могут просматриваться с использованием программного обеспечения, позволяющего выполнять измерения [1, 80].

Преобладающее флуоресцентное излучение в легких после возбуждения светом с длиной 488 нм исходит от эластина, что продемонстрировано данные микроспектрометра. Коллаген и внутриклеточные флавины не способствуют визуализации, поскольку излучают очень слабый сигнал. Эластин является основным компонентом базальной мембраны дыхательных путей, осевого каркаса легочных ацинусов, и оболочки микрососудов легочной паренхимы. [79].

Таким образом, изображение КЛЭМ представляет собой преимущественно эластиновый каркас дыхательных путей, альвеол и клеточного компонента (в основном макрофагов). При различных заболеваниях в просвете альвеол также могут визуализироваться дополнительные аутофлуоресцентные структуры.

О.В. Данилевская и соавт. (2013) подробно описали структуры, визуализируемые при КЛЭМ дыхательных путей и альвеол, и принципы их морфометрического анализа. При выполнении КЛЭМ дистальных дыхательных путей мы можем визуализировать устья бронхиальных желез и альвеолярных вход. Однако в большинстве случаев достижение альвеолярных структур происходит путем пенетрации терминальных бронхиол при проведении зонда в связи с несоответствием их размеров (диаметр зонда 1,4 мм, средний диаметр терминальных бронхиол 1-2 мм, респираторных бронхиол – 0,6 мм). Затем мы можем визуализировать непосредственно альвеолярные структуры, межальвеолярные перегородки, микрососуды, а также «подвижный» (флотирующий) компонент: альвеолярные клетки, секрет и посторонние включения [10]. По данным L. Thiberville в норме размер альвеолярного входа («альвеолярного рта») составляет  $280 \pm 50$   $\mu\text{m}$ . Нормальные размеры пучков эластических волокон у здоровых субъектов в среднем  $10 \pm 2,7$   $\mu\text{m}$  (рисунок 3) [80].

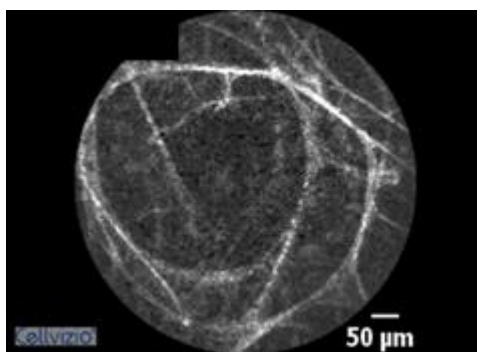


Рисунок 3 - Паттерн нормальной легочной ткани. Характерен регулярный эластиновый альвеолярный каркас без нарушений

Визуализация альвеолярных клеток в норме встречается у курящих пациентов и обусловлена накоплением в макрофагах табачных смол, способных к аутофлюоресценции [79,80]. По данным исследования аутофлюоресценция макрофагов, индуцированная табачными смолами сохраняется 3-6 месяцев [64]. На настоящий момент известно, что аутофлюоресцентные клетки могут быть видны не только у курящих субъектов, но и при поражении легких некоторыми заболеваниями, такими как, например, амиодарон-ассоциированная пневмония, саркоидоз, острое отторжение трансплантата [69, 68, 92].

Клетки респираторного эпителия в свою очередь дают очень слабый аутофлюоресцентный сигнал и могут быть видимы только при использовании дополнительных методов окраски. Впервые для этих целей был применен флюоресцеин, который используется для окраски клеток желудочно-кишечного тракта при использовании КЛЭМ [38; 47]. Исследование показало, что флюоресцеин, вводимый внутривенно, не позволяет окрашивать клетки бронхиального эпителия, а окрашивает легочный интерстиций и альвеолярное пространство, что можно использовать для КЛЭМ в диагностике интерстициальных заболеваний легких [38]. В дальнейшем было установлено, что краситель акрифлавин способен окрашивать клетки эпителия дыхательных путей и позволяет исследовать их при КЛЭМ [63]. Но последующие исследования показали его негативное влияние на процессы синтеза и репарации ДНК, в связи с чем на настоящий момент препарат запрещен для использования *in vivo* на территории

Российской Федерации и в ряде других стран [18]. Метиленовый синий также может применяться для усиления аутофлюоресцентного сигнала эпителиальными клетками при применении лазера с длиной волны 660 нм. Однако при этом другие структуры при данной длине волны лазера не имеют флюоресценции. [63].

На настоящий момент в научной литературе всего 5 статей, посвященных использованию метода конфокальной лазерной эндомикроскопии в дифференциальной диагностике диссеминированных заболеваний легких [8, 56, 68,74, 89]. В связи с наличием данной системы в ограниченном количестве специализированных центров и высокой стоимостью исследований большинство исследований представлены на небольших группах пациентов или описаны в виде клинических случаев при редких патологиях [35, 62,91].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при саркоидозе легких.* На настоящий момент эндомикроскопическая картина, получаемая у больных с саркоидозом легкого, описана в малом количестве исследований [10,62,68,89]. Основные признаки при саркоидозе неспецифичны – авторы отмечают присутствие альвеолярных клеток и утолщение межальвеолярных перегородок [10,68].

Возможность визуализации гранулем при использовании конфокальной лазерной эндомикроскопии на настоящий момент является неоднозначной. Некоторые авторы описывают при КЛЭМ наличие аномальных спиральных петель эластина, формирующих «гранулемоподобные» структуры у пациентов с саркоидозом [62, 72]. Т.Р. Shulimzon (2013) доложил о получении прижизненной визуализации гранулемы при саркоидозе легких, однако другие авторы поставили под сомнение верность полученного изображения [72; 73].

В исследовании М. Salaün et al. (2019) у пациентов с саркоидозом II-III стадии была отмечена значительно более высокая встречаемость бронхиолярных клеток и альвеолярных узловых структур, расцененных как гранулемы. При этом 100% альвеолярных клеток имели размеры до 20  $\mu\text{m}$  и предположительно являлись лимфоцитами, что было специфично только для саркоидоза [68].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при идиопатическом легочном фиброзе.* На экспериментальных моделях было доказано, что при заболеваниях,

проявляющихся легочным фиброзом, наблюдается повышенная продукция эластина [41; 53]. Конфокальная эндомикроскопическая картина при идиопатическом легочном фиброзе характеризуется значительным увеличением числа эластических волокон вплоть до потери различимого альвеолярного. При этом у одного пациента могут чередоваться зоны нормальной легочной ткани и зоны выраженного фиброза [2,31]. Также наиболее часто встречается утолщение эластических волокон  $> 20 \mu\text{m}$ , их дезорганизация и значения диаметра альвеолярного рта  $< 200 \mu\text{m}$  [68].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при идиопатических интерстициальных пневмониях.* В исследовании P. Meng et al. (2016) у пациентов с интерстициальными пневмониями и легочным фиброзом по сравнению с другими ИЗЛ преобладал паттерн плотно упакованных волокон (36,4% против 68,8%), однако при подробном анализе эта разница оказалась статистически не значимой ( $p=0.097$ ). В тоже время паттерн с увеличенным количеством флюоресцирующих альвеолярных клеток у пациентов с другими ИЗЛ встречался статистически чаще, чем при интерстициальных пневмониях ( $p=0.005$ ) [56].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при поражениях легких при заболеваниях соединительной ткани.* По данным M. Salaün et al. (2016) конфокальная эндомикроскопическая картина легких при заболеваниях соединительной ткани показала часто встречающееся наличие бронхиальных и альвеолярных флюоресцентных клеток, частую дезорганизацию эластических волокон и их уплотнение, значения диаметра альвеолярного рта  $< 200 \mu\text{m}$  и наличие волокон, связанных с перегородками. При этом полученные изображения не различались у пациентов с системным склерозом и при других заболеваниях соединительно ткани [68].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при поражениях легкого, ассоциированных с лекарственными препаратами.* На настоящий момент известно одно крупное исследование, посвященное КЛЭМ при лекарственном поражении легких. M. Salaün et al. (2013) изучили эндомикроскопическую картину у некурящих пациентов с амиодарон-ассоциированной пневмонией и обнаружили

наличие крупных ( $> 20 \mu\text{m}$ ) высоко флюоресцирующих альвеолярных клеток, которые наиболее вероятно являются макрофагами. Чувствительность метода в выявлении амиодарон-ассоциированной пневмонии составила 100%, специфичность 88%. Также были отмечены неспецифичные признаки, такие как утолщение и дезорганизации эластических волокон [69].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при гиперчувствительном пневмоните.* По данным M. Salaün et al. (2019) характерными признаками конфокальной эндомикроскопической картины при гиперчувствительном пневмоните является высокая встречаемость бронхиолярных и альвеолярных клеток и септальных волокон [68].

*Конфокальная лазерная эндомикроскопия при болезнях накопления.* M. Salaün et al. (2010) впервые описали конфокальную эндомикроскопическую картину при легочном альвеолярном протеинозе как скопление высокофлюоресцирующих глобулярных комплексов внутри альвеол [70]. В дальнейших исследованиях O. Danilevskaya et al. (2015) доказали, что уменьшение таких структур после бронхоальвеолярного лаважа, выявленное при помощи КЛЭМ, может быть достоверным критерием эффективности лечебной процедуры [35].

J. Yserbut et al. (2013) впервые описали конфокальную эндомикроскопическую картину при одном из типов легочной кальцификации – альвеолярном микролитиазе. Конфокальная эндомикроскопическая картина характеризовалась крупными ( $129 \pm 32 \mu\text{m}$ ) округлыми структурами с высокой флюоресценцией внутри альвеол, которые морфологически соответствовали кальцинатам [91].

R. Newton et al. (2011) описали изображение при трахеобронхолегочном амилоидозе в виде как изменения по типу «хлопковой ваты» («cotton-wool»), видимые в просвете альвеол и бронхах, даже при макроскопически неизменной слизистой [61].

#### 1.4 Сравнение основных методик морфологической верификации диссеминированных процессов в легких

Как мы видим, на настоящий момент существует множество методов морфологической верификации диссеминированных процессов в легких, однако все они не универсальны [2,36,45,66] (таблица 1).

Таблица 1 - Основные методы биопсии при ДПЛ и их характеристики

Метод биопсии	Информативность	Осложнения	Летальность
Чрезбронхиальная биопсия	16,0%-70,0%	1,0%-6,0%	0-0,1%
Чрезбронхиальная криобиопсия	74,0%-80,0%	12,0%-39,0%	0-0,6%
Видеоторакоскопическая биопсия	98,0%-100,0%	2,9%	0-1,7%

Хирургическая биопсия легкого обладает наибольшей информативностью, однако связана с большим количеством осложнений и большей летальностью. В последнее время имеется тенденция к менее инвазивным бронхоскопическим методикам верификации. Конфокальная лазерная эндомикроскопия – это новый метод диагностики легочной патологии, который еще малоизучен. Несмотря на описание конфокальной эндомикроскопической картины различных нозологий, в научной литературе не представлено описание изменений, выявляемых при диссеминированном туберкулезе легкого. В связи с широкой распространенностью туберкулеза важно оценить, насколько данный метод может способствовать малоинвазивной диагностике этого заболевания, а также оценить его возможности в дифференциальной диагностике с другими заболеваниями, проявляющимися синдромом легочной диссеминации.

## Глава 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1 Материал исследования

Для выполнения поставленных задач было проведено ретроспективно-проспективное исследование на материале 80 пациентов с диагнозом «диссеминированный процесс в легком неизвестной этиологии», которым была выполнена конфокальная лазерная эндомикроскопия с декабря 2017 года по декабрь 2020 года в ФГБУ «СПб НИИ Фтизиопульмонологии» Минздрава РФ и 5 здоровых добровольцев из группы нормы.

Данное исследование было одобрено Независимым этическим комитетом ФГБУ «СПб НИИ Фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, протокол № 62.1 от 2019 года. Все пациенты и добровольцы дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями включения были: наличие синдрома легочной диссеминации по данным компьютерной томографии, планируемая морфологическая верификация диагноза, подписанное информированное согласие на инвазивную диагностику.

Критериями исключения были: отказ пациента от инвазивной диагностики, наличие тяжелой сопутствующей патологии, не позволяющее пациенту перенести чрезбронхиальную или видеоторакоскопическую биопсию.

Дизайн исследования представлен на рисунке 4.

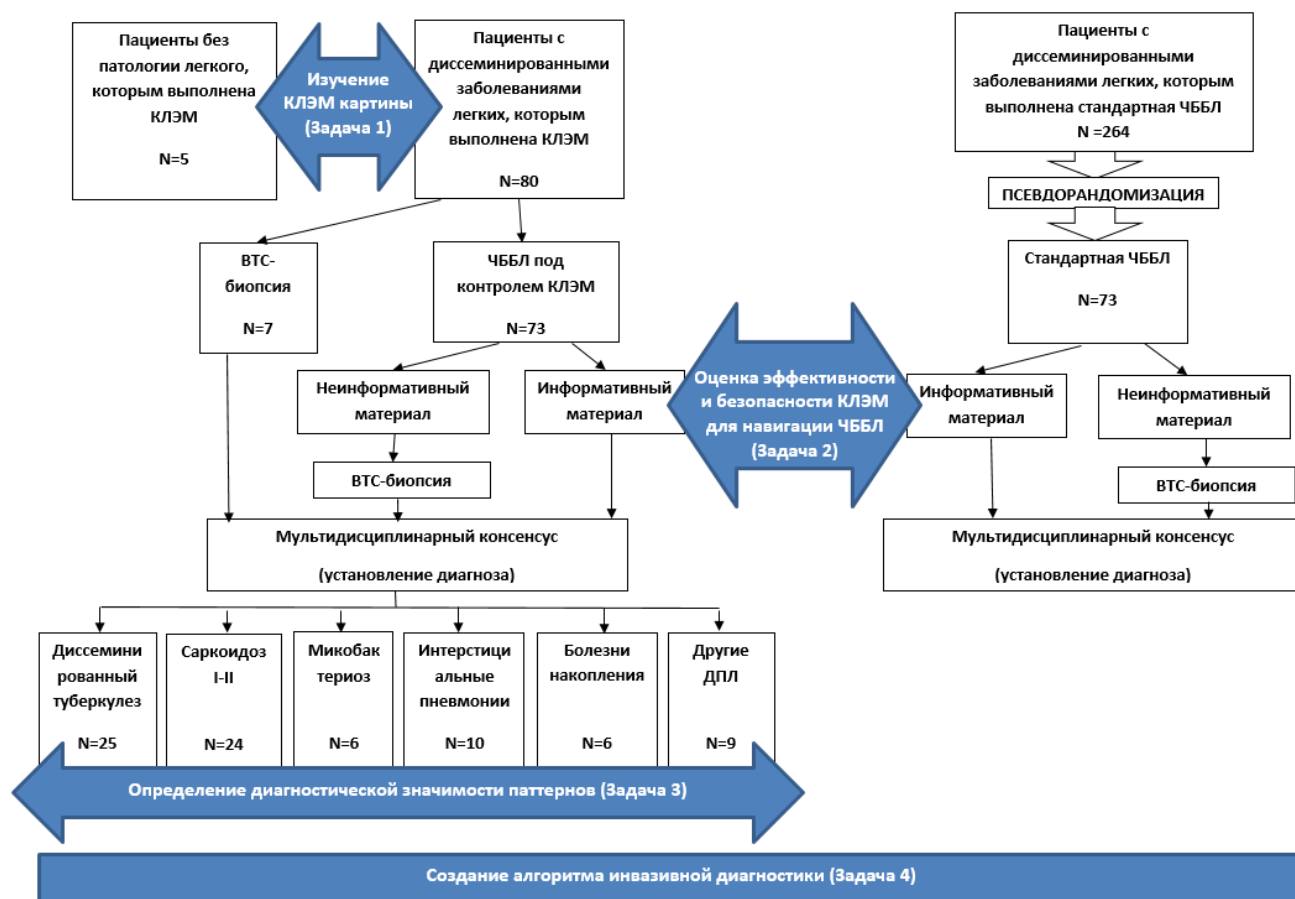


Рисунок 4 - Дизайн исследования

*Характеристика исследуемых пациентов.* Большая часть пациентов основной группы (55,0%) были мужчинами. Средний возраст пациентов составил  $45,5 \pm 16,4$  лет (таблица 2).

Таблица 2 - Распределение больных основной группы по полу и возрасту

Пол	Возрастные группы, лет													
	19-30		31-40		41-50		51-60		61-70		71-87		Итого	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Мужчины	10	12,5	10	12,5	4	5,0	9	11,2	8	10,0	3	3,8	44	55,0
Женщины	8	10,0	6	7,5	9	11,2	8	10,0	4	5,0	1	1,3	36	45,0
Всего	18	22,5	16	20,0	13	16,3	17	21,2	12	15,0	4	5,0	80	100,0



Среди 5 здоровых добровольцев было 4 мужчин и 1 женщина, средний возраст составил  $35,4 \pm 5,6$  лет.

Из 80 пациентов основной группы было 25 активных курильщиков (31,3%) (таблица 3). К некурящим (68,7%) были отнесены пациенты, которые либо никогда не курили, либо курили последний раз более 6 месяцев до исследования (в связи с данными научной литературы о том, что индуцированная табачными смолами аутофлюоресценция макрофагов сохраняется 3-6 месяцев [64]).

Таблица 3 - Распределение пациентов основной группы по статусу курения

Пациенты	Количество		Средний индекс курения (пачка/лет)
	абс.	%	
Курильщики	25	31,3	$17,5 \pm 12,0$
Не курящие	55	68,7	$14,3 \pm 13,5$ (у бывших курильщиков)

Среди здоровых добровольцев 4 никогда не курили, 1 курящий со стажем 3 пачка/лет.

Для сравнения методики стандартной чрезбронхиальной биопсии и биопсии под навигацией КЛЭМ был взят ретроспективный материал 264 пациента с диагнозом «диссеминированный процесс в легких», которым выполнялась стандартная чрезбронхиальная биопсия с 2017 по 2020 года. Средний возраст составил  $48,8 \pm 15,6$  лет. Структура патологий у данной группы пациентов отражена в таблице 4.

Таблица 4 - Структура патологий у ретроспективной группы пациентов

Патология	Абс. количество пациентов	% от общего количества пациентов
Диссеминированный туберкулез	42	16,0
Саркоидоз	155	58,7
Микобактериоз	8	3,0
Альвеолярный протеиноз	2	0,8
Идиопатический легочный фиброз	4	1,5
Двусторонняя бактериальная пневмония	8	3,0
Неспецифическая интерстициальная пневмония	12	4,5
Гиперчувствительный пневмонит	3	1,1
Бронхоэктатическая болезнь	5	1,9
Респираторный бронхолит-ИЗЛ	3	1,1
Поражение легких при болезнях соединительной ткани	2	0,8
Гистиоцитоз Х	1	0,4
Пневмофиброз	5	1,9
Стелющаяся аденокарцинома	5	1,9
Метастазы рака различных локализаций	4	1,5
ДПЛ неуточненный	5	1,9
<b>ВСЕГО</b>	<b>264</b>	<b>100</b>

## 2.2 Методы исследования

Всем пациентам был выполнен стандартный клиничко - диагностический минимум: клинический и биохимический анализы крови, анализ мочи, коагулограмма, анализы мокроты на МБТ, ЭКГ, спирометрия. У всех пациентов имелась МСКТ отмечалась картина синдрома легочной диссеминации, у 26 (32,5%) из них - в сочетании с внутригрудной лимфаденопатией. Всем первым этапом выполнялась конфокальная лазерная эндомикроскопия и чрезбронхиальная биопсия, при неинформативности которой выполнялась видеоторакоскопическая биопсия. 80 пациентам выполнялась конфокальная лазерная эндомикроскопия, 73-ем из них была выполнена чрезбронхиальная биопсия под навигацией конфокальной лазерной эндомикроскопии.

5 здоровым добровольцам также была выполнена конфокальная лазерная эндомикроскопия, но без последующей биопсии.

Перед исследованием тщательно изучались данные компьютерной томографии: отмечались сегменты легкого с большей плотностью очагово-инфильтративных изменений.

Бронхоскопия проводилась в условиях рентгенологического кабинета. Пациентам выполнялась местная анестезия носо- и ротоглотки спреем 10% раствора лидокаина. Затем пациент укладывался на стол с наведением рентгенологической трубки на область грудной клетки. Больным лежа на спине в условиях рентгенологического кабинета выполнялась стандартная бронхоскопия видеоэндоскопом Pentax 1575K (внешний диаметр 6,1 мм, диаметр инструментального канала 2,8 мм) трансназально или трансорально с местной анестезией 2% раствором лидокаина на область голосовых связок, трахеи и бифуркаций главных бронхов. Производился осмотр бронхиального дерева, отмечалось наличие или отсутствие патологических изменений.

### **2.2.1 Методика конфокальной лазерной эндомикроскопии**

Конфокальная лазерная эндомикроскопия дыхательных путей и альвеол проводилась после стандартного бронхоскопического осмотра. Для выполнения процедуры использовался прибор Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Франция) с лазером длиной волны 488 нм и полугибкий зонд Alveoflex с диаметром 1,4 мм (разрешающая способность 3,5 мкм, глубина исследования 0-50 мкм, диаметр оптического поля 600 мкм). Через инструментальный канал бронхоскопа проводился зонд AlveoFlex и, скользя по стенке бронха, смещался в дистальном направлении до момента визуализации альвеолярных перегородок, т.е. до достижения ощущения слабого сопротивления ткани легкого. При этом на экране монитора визуализировалась динамическая монохромная микроскопическая картина бронхиального дерева и альвеол. У одного пациента осматривалось от 2 до 6 субсегментов наиболее пораженных по данным КТ. Исследование проводилось только с одной стороны в связи с существующей возможностью развития пневмоторакса после КЛЭМ [9]. При выполнении процедуры экзогенные флюорофоры не использовались. Время процедуры конфокальной лазерной эндомикроскопии без учета анестезии и стандартной бронхоскопии составило в среднем 10-15 минут.

### **2.2.2 Методика использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации при чрезбронхиальной биопсии**

Для выполнения второй задачи была адаптирована методика использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации при чрезбронхиальной биопсии легкого у больных с диссеминированными процессами в легких. Сначала выполнялась стандартная конфокальная лазерная эндомикроскопия, описанная ранее. Конфокальный зонд вводился в различные субсегментарные бронхи исследуемых сегментов с осмотром изображения на предмет наиболее выраженных патологических паттернов. Позиция зонда относительно плевры и

инфильтративных изменений в легком периодически контролировалась при рентгеноскопии благодаря рентген-контрастному участку на его конце. Направляющая оболочка «guide-sheath» (Olympus, Япония) проводилась через обычный инструментальный канал, затем зонд проводился через нее. При выявлении наиболее выраженных патологических паттернов (зон увеличения количества эластических волокон, патологических включений) оболочка фиксировалась, зонд убирался и по тому же пути проводились щипцы. Это позволяло быть более уверенным, что осмотр конфокальным зондом и биопсия выполнялись из одной и той же бронхоальвеолярной зоны. Далее зонд убирался из инструментального канала и в исследуемую зону вводились щипцы. При этом выполнялась биопсия не менее 5 образцов легочной ткани под контролем рентгеноскопии. Один образец легочной ткани отправлялся на бактериологические (люминисцентная бактериоскопия, посев в жидкую питательную среду ВАСТЕС) и молекулярно-биологическое (ПЦР) исследование. После выполнения процедуры осуществлялся рентгеноскопический контроль для исключения пневмоторакса.

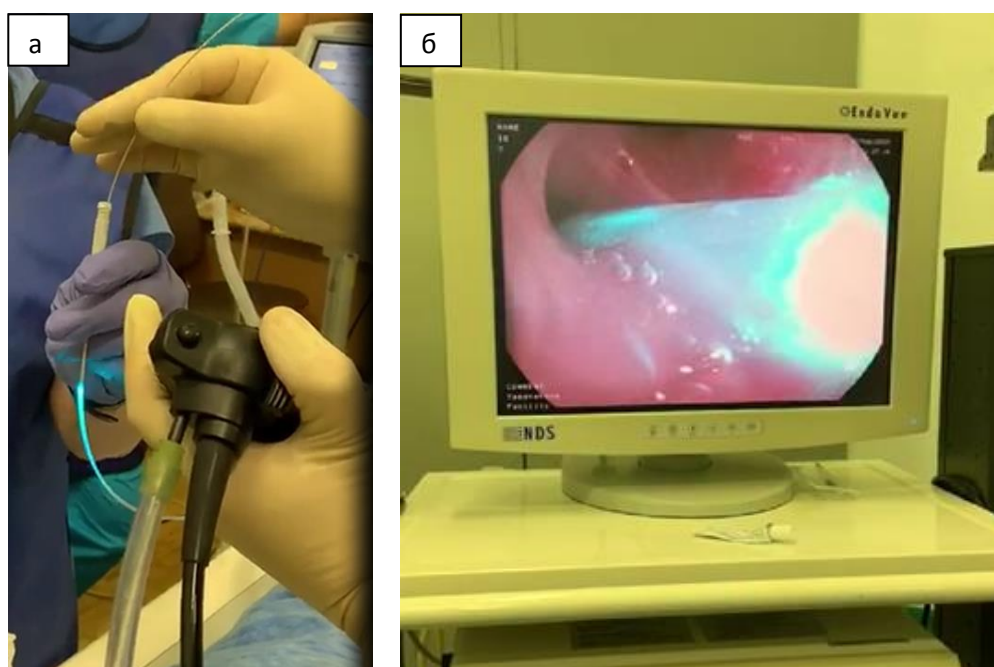


Рисунок 5 - Методика навигации КЛЭМ при чрезбронхиальной биопсии. (а) Введение зонда Alveoflex через катетер «guide-sheath». (б) Проведение зонда в субсегментарный бронх.

### **2.2.3 Оценка конфокальной эндомикроскопической картины**

Анализ изображения производился с помощью соответствующего программного обеспечения – Cellvizio Viewer- 1.4.2. (Mauna Kea Technologies, Франция). Анализ конфокальной эндомикроскопической картины проводился с использованием стоп-кадра, при этом документировалось наличие характерных изображений, соответствующих патологическим изменениям (паттернов), отличающихся от нормы, и выполнялся морфометрический анализ. Выявленные паттерны оценивались в процентном соотношении. Было отмечено наличие того или иного паттерна в поле зрения в пределах одной анатомической области бронхолегочной системы (при заведении зонда в отдельные субсегментарные бронхи). При оценке некоторые паттерны не исключали наличие других в пределах одного стоп-кадра. Доступные для измерения параметры, такие как диаметр альвеол, толщина альвеолярных стенок, диаметр сосудов, диаметр альвеолярных клеток и включений, оценивались в абсолютных величинах и вычислялись их средние значения. Получаемые паттерны были сравнены с гистологической картиной, полученной из тех же субсегментов.

### **2.2.4 Методика видеоторакоскопической биопсии**

Видеоторакоскопия выполнялась под эндотрахеальным наркозом с отдельной интубацией бронхов. Больной укладывался в преимущественно полубоковом положении. В большинстве случаев накладывалось 3 торакопорта - в VI, III межреберьях по задне- и среднеаксилярным линиям и в V межреберье по среднеключичной линии. Производилась ревизия плевральной полости, легкого и лимфатических узлов. С помощью одного хода сшивающего аппарата выполнялась краевая резекция наиболее измененного участка легкого. При наличии увеличенных или патологически измененных лимфатических узлов по данным компьютерной томографии или визуального осмотра выполнялась также биопсия лимфоузлов. Вскрывалась медиастинальная плевра над v. azygos, в клетчатке

средостения выделялась 4R группа лимфоузлов, которые удалялись эксцизионно в пределах капсулы для гистологического исследования. Далее выполнялся контроль гемоаэростаза и инородных тел. Дренаж устанавливался в плевральную полость через порт в VI межреберье. Послойный шов ран. При отсутствии сброса воздуха и минимальной экссудации, дренаж удалялся на 1 сутки после операции.

### **2.2.5 Статистическая обработка материала**

Статистический анализ данных производился с помощью компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel 2013 (корпорации Microsoft, серийный номер 00197-17922-15426-AA225), пакета программ SPSS Statistics (IBM, версия 23). Для сравнения совокупностей по количественным признакам использовался U-тест Манна–Уитни, по качественным признакам — критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса. Конфокальная эндомикроскопическая картина оценивалась двумя независимыми специалистами (1 эндоскопист и 1 торакальный хирург). Для определения достоверности при оценке с помощью программы Cellvizio Viewer получаемого изображения для каждого паттерна при каждой патологии был высчитан коэффициент согласия наблюдателей - коэффициент каппа Коэна (к-соглашение). При значении коэффициента к менее 0,00 - согласие отсутствует, при значении коэффициента каппа 1 считается, что согласие полное. Также 0,00–0,20 – сомнительный уровень согласия, 0,21–0,40 – низкий уровень согласия, 0,41–0,60 – средний уровень согласия, 0,61–0,80 –хороший уровень согласия, 0,81–1,00 – полное или почти полное согласие.

Для сравнения основной группы пациентов, которым выполнялась чрезбронхиальная биопсия с навигацией КЛЭМ, с группой, у которой использовалась стандартная чрезбронхиальная биопсия, использовался метод «Propensity Score Matching» (PSM, псевдорандомизация) [7]. Этот метод обеспечивает максимальную однородность основной группы и группы сравнения по имеющимся кофакторам, позволяя, таким образом, провести корректную

сравнительную оценку различных методов биопсии. Для формирования сопоставимых групп с помощью метода «ближайшего соседа» 1:1 без замены к пациентам из основной группы были подобраны пациенты из групп сравнения, соответствовавшие по исходным параметрам. В качестве кофакторов были использованы: возраст, пол, стаж курения, количество субсегментов, в которых выполнялась биопсия, индекс коморбидности Чарльсона, нозологическая форма.

Основными параметрами диагностической ценности метода КЛЭМ при выявлении определенного паттерна считали: чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного ответа (ПЦПО), прогностическая ценность отрицательного ответа (ПЦОО), точность, которые вычисляли по формулам:

$$\text{Чувствительность} = \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛО}) \times 100\%,$$

$$\text{Специфичность} = \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛП}) \times 100\%,$$

$$\text{ПЦПО} = \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛП}) \times 100\%,$$

$$\text{ПЦОО} = \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛО}) \times 100\%,$$

$$\text{Точность} = (\text{ИП} + \text{ИО}) / (\text{ИП} + \text{ИО} + \text{ЛП} + \text{ЛО}) \times 100\%,$$

где ИП – истинно-положительный результат;

ИО – истинно-отрицательный;

ЛП – ложноположительный;

ЛО – ложноотрицательный.

Данные параметры оценивались исходя из общего количества случаев применения метода в данном исследовании с указанием 95% доверительного интервала (95%ДИ).



## Глава 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ

#### **3.1 Результаты обследования пациентов с диссеминированными процессами в легких**

Конфокальная лазерная эндомикроскопия была выполнена 80 пациентам с диагнозом «диссеминированный процесс в легком», которые проходили обследование и лечение в ФГБУ «СПб НИИ Фтизиопульмонологии» Минздрава РФ с 2017 по 2020 гг. Диагноз устанавливался мультидисциплинарной группой специалистов на основании данных анамнеза, рентгенологических, бактериологических, молекулярно-биологических и гистологических методов исследования. Хотя бы один из видов биопсии (чрезбронхиальная или торакоскопическая) был выполнен всем пациентам (100 %). В качестве группы контроля использовались данные, полученные при КЛЭМ у 5 здоровых добровольцев (исследовано 20 легочных субсегментов).

У 80 пациентов с диссеминированными процессами в легких с помощью КЛЭМ было исследовано 406 легочных субсегментов.

Перечень выявленных заболеваний представлен в таблице 5.

Таблица 5 - Структура нозологических форм пациентов, которым была выполнена КЛЭМ

Патология		Абс. количество пациентов	% от общего количества пациентов	Абс. количество субсегмент ов	% от общего числа субсегмент ов
Диссеминированный туберкулез		25	32,0	105	25,9
Саркоидоз		24	30,0	107	26,4
Микобактериоз		6	7,5	28	6,9
Идиопатическ ие интерстициаль ные пневмонии	Криптогенная организуемая пневмония	4	5,0	23	5,6
	Идиопатический легочный фиброз	2	2,5	22	5,4
	Неспецифическая интерстициальная пневмония	2	2,5	16	3,9
	Десквамативная пневмония	1	1,25	2	0,5
	Респираторный бронхиолит-ИЗЛ	1	1,25	3	0,7
Болезни накопления	Альвеолярный протеиноз	4	5,0	30	7,4
	Трахеобронхолегочны й амилоидоз	1	1,25	6	1,5
	Метастатический кальциноз	1	1,25	12	3,0
Другие ДПЛ	Поствоспалительный пнеumoфиброз	3	3,75	13	3,2
	COVID-19	2	2,5	11	2,7
	Лекарственно- индуцированный ДПЛ	1	1,25	4	0,9
	Поражение легких при ревматоидном артрите	1	1,25	6	1,5
	Бактериальная пневмония	1	1,25	6	1,5
	Гистиоцитоз Х	1	1,25	12	3,0
ВСЕГО		80	100	406	100

Как видно из таблицы 5, диссеминированный туберкулез составил бóльшую часть - 32,0% от общего числа пациентов. По результатам диагностики пациенты объединены в нозологические группы – диссеминированный туберкулез, саркоидоз, микобактериоз, идиопатические интерстициальные пневмонии, болезни накопления. Оставшиеся патологии объединены в группу другие ДПЛ.

### 3.2 Морфометрический анализ и оценка паттернов в норме

У каждого здорового добровольца было исследовано по 4 субсегмента (всего 20 альвеолярных областей). Показатели морфометрии были в пределах нормы по сравнению с данными научной литературы [80] (таблица 6).

Таблица 6 - Данные морфометрического анализа у здоровых добровольцев

Морфометрический показатель	Значения
Средний диаметр альвеол, $\mu\text{m}$	258,0 $\pm$ 45,0
Средняя толщина альвеолярной стенки, $\mu\text{m}$	10,5 $\pm$ 2,9
Средний диаметр микрососудов, $\mu\text{m}$	80,6 $\pm$ 38,0
Средний диаметр альвеолярных клеток, $\mu\text{m}$	22,0 $\pm$ 4,2

Во всех исследуемых субсегментах у здоровых некурящих добровольцев из паттернов был отмечен только паттерн нормальной легочной ткани, у курящего исследуемого во всех субсегментах кроме паттерна нормальной легочной ткани был также отмечен паттерн альвеолярных клеток.

По полученным данным, в норме у курящих пациентов даже при отсутствии изменений в легких по данным МСКТ присутствует паттерн альвеолярных клеток, что согласуется с данными научной литературы [80].

### 3.3 Основные эндомикроскопические паттерны у пациентов с диссеминированными процессами в легких

В связи с отсутствием единой унифицированной классификации эндомикроскопических паттернов дыхательной системы, нами было выделены паттерны, которые могут быть наиболее различимы друг от друга, основываясь на наиболее часто встречающихся изображениях, отличающихся от нормы, и данных научной литературы, в частности признаков, отмеченных D.A. Arenberg et al. (2011), P. Meng et al. (2016), О.В. Данилевской и соавт. (2018), M. Salaün et al. (2019).

Мы отметили 7 паттернов, характерных для диссеминированных процессов в легких (рисунок 6, таблица 7).

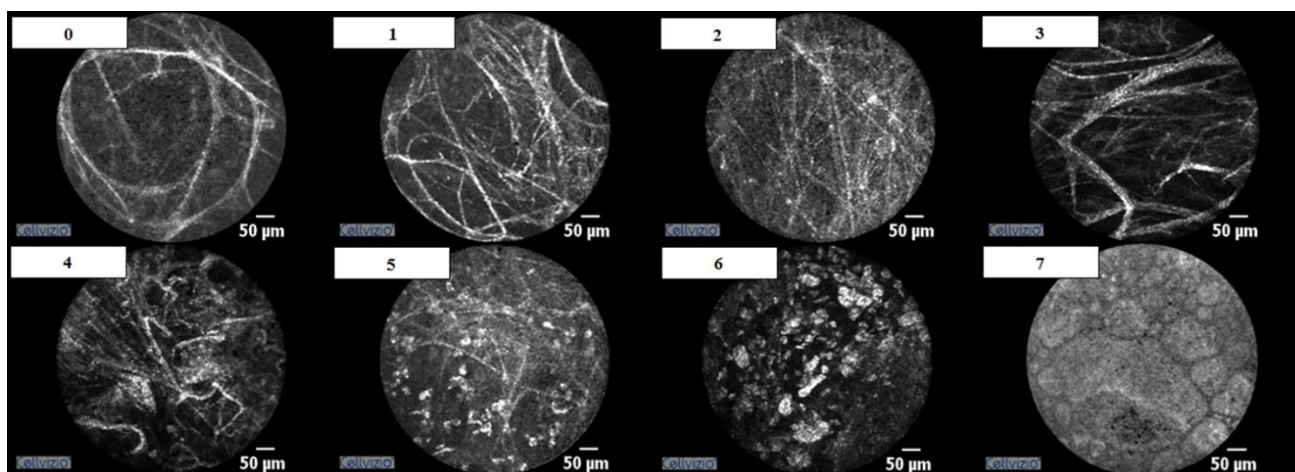


Рисунок 6 - Паттерны, выделенные в конфокальной эндомикроскопической картине у больных с диссеминированными процессами в легких

Выявленные паттерны оценивались в процентном соотношении. Было отмечено наличие того или иного паттерна в поле зрения в пределах одной анатомической области бронхолегочной системы (при заведении зонда в отдельные субсегментарные бронхи). При этом при оценке некоторые паттерны не исключали наличие других в пределах одного стоп-кадра. Доступные для измерения параметры, такие как диаметр альвеол, толщина альвеолярных стенок, диаметр сосудов, диаметр альвеолярных клеток и включений, оценивались в

абсолютных величинах и вычислялись их средние значения. Поскольку в большинстве случаев прохождение зонда в альвеолы осуществлялось посредством пенетрации терминальной и респираторной бронхиолы, бронхиоларные области, а также альвеолярный вход не оценивался.

Таблица 7 - Характеристика выделенных КЛЭМ паттернов

№	Название паттерна	Морфометрические данные	Описание
0	Норма	средний диаметр альвеолярных структур $278,0 \pm 53,0$ $\mu\text{м}$ Средняя толщина альвеолярной стенки $10,0 \pm 2,7$ $\mu\text{м}$	округлые или овальные альвеолярные структуры
1	Увеличенного количества волокон	средний диаметр альвеолярных структур $148,8 \pm 54,5$ $\mu\text{м}$	дополнительные эластические волокна с сохранением альвеолярного рисунка
2	Уплотненного расположения волокон	альвеолярные структуры неразличимы	значительное количество дополнительных волокон с отсутствием различного альвеолярного рисунка во всем поле зрения или его части
3	Утолщенных волокон	Средняя толщина альвеолярной стенки более 20 $\mu\text{м}$	различное утолщение межальвеолярных перегородок при различной структуре
4	Дезорганизованных волокон (разрушенных альвеол)	альвеолярные структуры неразличимы	дезорганизация эластинового каркаса со скоплением прерывистых эластических волокон без различной структуры альвеол
5	Альвеолярных клеток	средний диаметр клеток $26,2 \pm 5,3$ $\mu\text{м}$	округлые высокофлуоресцентные клетки в альвеолах
6	Дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	средний диаметр включений $94,5 \pm 33,4$ $\mu\text{м}$	нахождение в просвете альвеол или в межальвеолярных перегородках ярко флуоресцирующих комплексов различной формы, которые могут сливаться в конгломераты
7	Альвеолярного секрета	средний диаметр капель секрета $61,4 \pm 29,5$	Крупные капли жидкости в просвете альвеолярных структур

Для оценки влияния статуса курения на КЛЭМ-картину у пациентов с диссеминированными процессами в легких было проведено сравнение частоты паттернов у курящих и некурящих пациентов (таблица 8).

Таблица 8 - Сравнение частоты паттернов у курящих и некурящих пациентов

Паттерн	Не курящие (N=55)	Курящие (N=25)	p
Паттерн увеличенного количества волокон	47/55 (85,5%)	21/25 (84,0%)	>0,05
Паттерн уплотненных волокон	40/55 (72,7%)	20/25 (80,0%)	>0,05
Паттерн утолщенных волокон	46/55 (83,6%)	20/25 (80,0%)	>0,05
Паттерн дезорганизованных волокон	40/55 (72,7%)	22/25 (88,0%)	>0,05
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	31/55 (56,4%)	25/25 (100,0%)	<0,001
Паттерн дополнительных структур (включений)	5/55 (7,3%)	2/25 (8,0%)	>0,05
Паттерн альвеолярного секрета	47/55 (85,5%)	19/25 (76,0%)	>0,05

Паттерн альвеолярных клеток представлен у 100% курящих пациентов, что статистически значимо чаще, чем у некурящих.

Таким образом, паттерн альвеолярных клеток неспецифичен и не имеет диагностической ценности при выполнении КЛЭМ у курящих больных.

### 3.4 Конфокальная эндомикроскопическая картина при различных диссеминированных процессах в легких и ее сравнение с гистологической

#### 3.4.1 Результаты КЛЭМ у пациентов с диссеминированным туберкулезом легких и сопоставление с гистологической картиной

При обследовании 25 пациентов с диссеминированным туберкулезом легких с помощью метода конфокальной лазерной эндомикроскопии было осмотрено 105 легочных областей (таблица 9).

Таблица 9 - КЛЭМ-картина при диссеминированном туберкулезе легкого

Параметры измерений	Значения, $\mu\text{m}$	Норма (по данным <i>L.Thiberville et al., 2009</i> )
Средний диаметр альвеол	306,7 $\pm$ 75,1	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	13,5 $\pm$ 3,9	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	128,8 $\pm$ 42,0	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	24,8 $\pm$ 4,4	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	45/105 (42,9%)	0,86
Паттерн уплотненного расположения волокон	37/105 (35,2%)	0,90
Паттерн утолщенных волокон	48/105 (45,7%)	0,98
Паттерн дезорганизованных волокон	50/105 (47,6%)	0,84
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	90/105 (85,7%)	0,95
Паттерн аутофлюоресцентных клеток у некурящих	52/67 (77,6%)	0,95
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/105 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	70/105 (66,7%)	0,90

Как видно из таблицы 9, при морфометрическом анализе были отмечены увеличенные по сравнению с нормой диаметр альвеол, толщина альвеолярной стенки и крупные альвеолярные клетки. Среди паттернов наиболее выражены были паттерн аутофлуоресцентных клеток (85,7%), альвеолярного секрета (66,7%), дезорганизованных волокон (47,6%), увеличенного количества волокон (42,9%) и утолщенных волокон (45,7%).

Было отмечено, что в 77,6% субсегментов у некурящих пациентов или бывших курильщиков был отмечен паттерн аутофлуоресцентных клеток.

Сопоставление картины КЛЭМ с гистологическими данными, полученными при помощи чрезбронхиальной биопсии из исследованных альвеолярных зон, показало соответствие паттернов увеличенного количества волокон и плотно упакованных волокон с зонами пневмофиброза, а дезорганизованных волокон и альвеолярных клеток – с зонами казеозного некроза и воспаления.

При осмотре всех альвеолярных областей патогномичной картины, которая бы соответствовала гранулемам, отмечено не было. Однако гранулемы при гистологическом исследовании были обнаружены в тех областях, где при КЛЭМ были отмечены зоны уплотнения и дезорганизации эластических волокон. Таким образом, при исследовании легочных областей мы не можем отчетливо увидеть структуры гранулем, но можем визуализировать зоны фиброза вокруг них (рисунок 7).



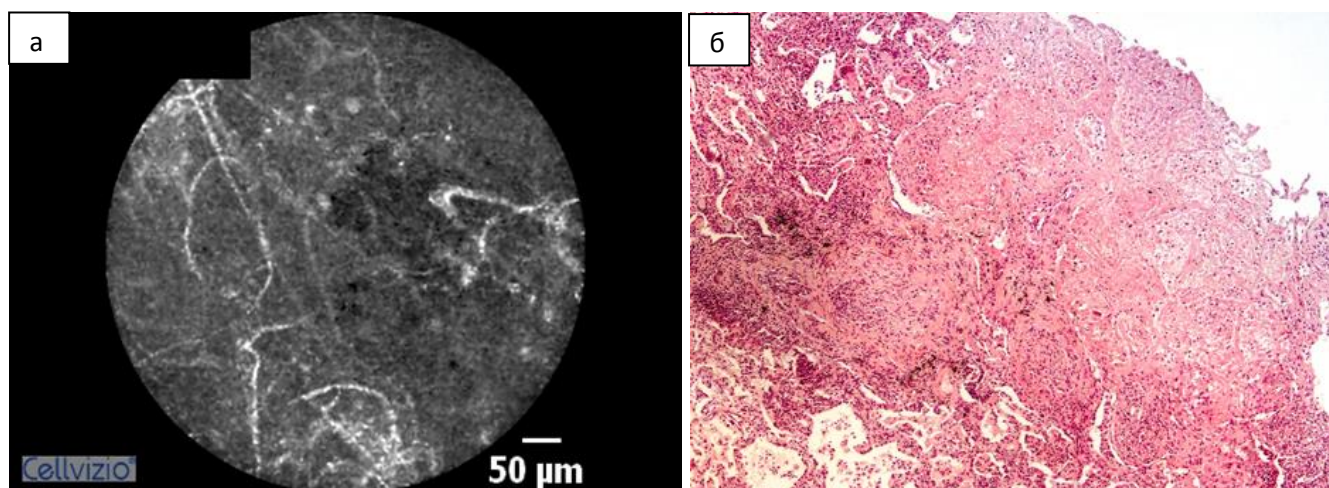


Рисунок 7 - Сопоставление гистологической и КЛЭМ-картины при туберкулезе. При КЛЭМ (а) визуализируется дезорганизация эластических волокон, альвеолярные макрофаги, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны формирующийся участок некроза, эпителиоидно-клеточные гранулемы с клетками Лангханса, окраска гематоксилином и эозином, х 40

### 3.4.2 Результаты КЛЭМ у пациентов с саркоидозом легких и их сопоставление с гистологической картиной

КЛЭМ была выполнена 24 пациентам с саркоидозом легких II-III ст. при этом было исследовано 107 легочных областей. При морфометрическом анализе было отмечено нормальные размеры альвеол ( $268,5 \pm 39,6 \mu\text{m}$ ), утолщение альвеолярных стенок ( $17,6 \pm 5,1 \mu\text{m}$ ), большой размер альвеолярных клеток ( $26,1 \pm 6,0 \mu\text{m}$ ). Среди паттернов наиболее часто были отмечены паттерн увеличенного количества волокон (61,7%), уплотненного расположения волокон (42,1%), утолщенных волокон 51,4%, дезорганизованных волокон (38,1%) (Таблица 10).

Таблица 10 - КЛЭМ-картина при саркоидозе легкого

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	268,5 $\pm$ 39,6	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	17,6 $\pm$ 5,1	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	125,5 $\pm$ 31,5	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	26,1 $\pm$ 6,0	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	64/107 (59,8%)	0,94
Паттерн уплотненного расположения волокон	45/107 (42,1%)	0,83
Паттерн утолщенных волокон	55/107 (51,4%)	0,94
Паттерн дезорганизованных волокон	41/107 (38,1%)	0,80
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	47/107 (43,9%)	0,94
Паттерн аутофлюоресцентных клеток у некурящих	21/74 (28,3%)	0,96
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/107 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	48/107 (44,9%)	0,89

При сопоставлении изображения КЛЭМ с патоморфологической картиной, было отмечено соответствие паттернов увеличенного количества волокон, уплотненных и дезорганизованных волокон с зонами фиброза. Также зафиксированы участки уплотнения волокон, которые могут соответствовать гранулемам (рисунок 8).

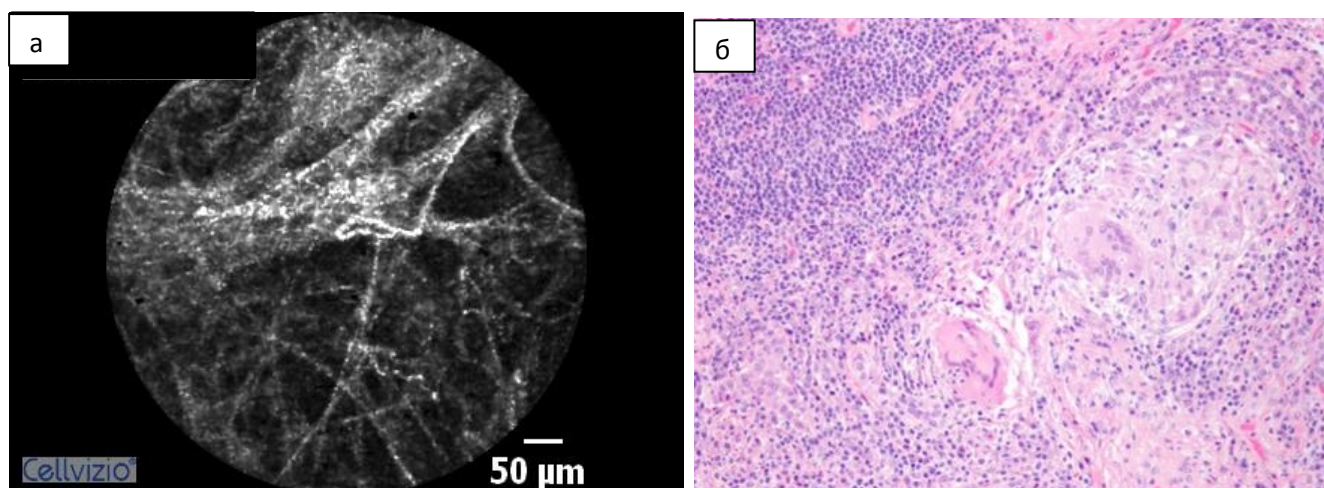


Рисунок 8 - Сопоставление гистологической и КЛЭМ-картины при саркоидозе. При КЛЭМ (а) определяются фокусы замещения альвеолярного рисунка увеличенным количеством волокон, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны зоны пневмофиброза с гранулемами, окраска гематоксилином и эозином, х 100

### **3.4.3 Результаты КЛЭМ у пациентов с нетуберкулезным микобактериозом легких и их сопоставление с гистологической картиной**

Было обследовано 6 пациентов с нетуберкулезным микобактериозом, 2 мужчин и 4 женщины. Все пациенты были некурящими на момент исследования. Суммарно у всех пациентов обследовано 28 бронхолегочных областей. При альвеолоскопии во всех альвеолярных областях отмечены паттерны увеличенного количества волокон (92,3%), утолщенных волокон (76,9%) уплотненных волокон (69,2,0%), альвеолярного секрета (84,6%), высокая встречаемость паттерна дезорганизованных волокон (65,3%) (таблица 11). Ни у кого из пациентов не было отмечено флюоресцирующих альвеолярных клеток. Структур явно соответствующих гранулемам также отмечено не было.

Таблица 11 - КЛЭМ-картина при нетуберкулезном микобактериозе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	195,2±56,8	278±53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	13,1±6,6	10±2,7
Средний размер микрососудов	142,8±19,5	90±50
Средний диаметр альвеолярных клеток	0	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	26/28 (92,9%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	20/28 (71,4%)	0,75
Паттерн утолщенных волокон	22/28 (78,6%)	0,81
Паттерн дезорганизованных волокон	17/28 (60,7%)	0,75
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	0/28 (0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	0 баллов	1,00
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/28 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	24/28 (85,7%)	0,86

При сопоставлении с гистологической картиной зоны увеличенного количества и плотно упакованных волокон соответствовали зонам умеренного фиброза, а зоны разрушенных альвеол соответствовали зонам грубых фиброзных изменений в легочной ткани (рисунок 9).

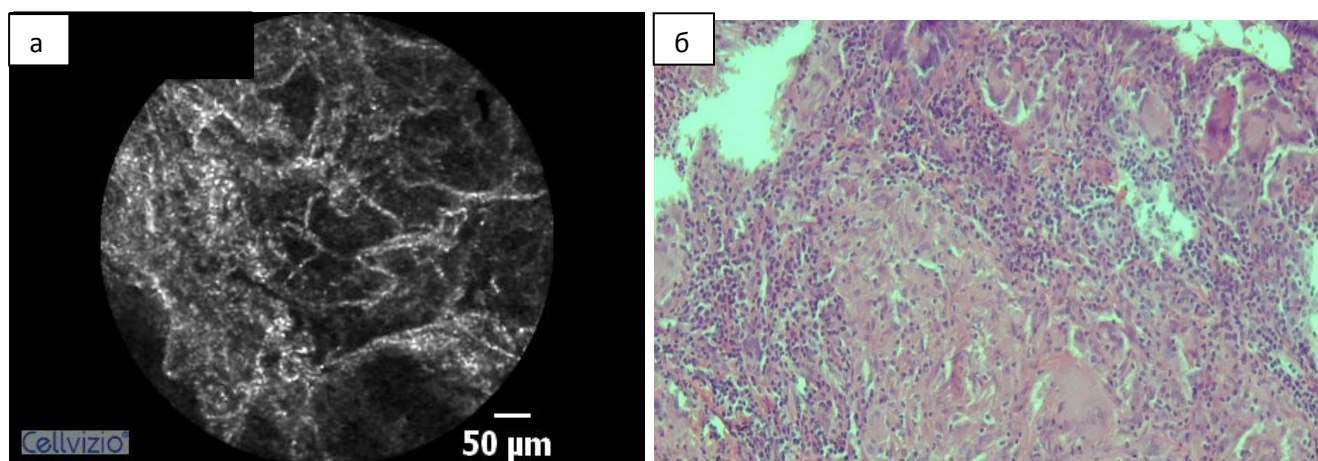


Рисунок 9 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с нетуберкулезным микобактериозом. При КЛЭМ (а) определяются паттерны увеличенного количества, плотно упакованных волокон и дезорганизованных альвеол, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны фрагменты легочной ткани с эпителиоидно-клеточными гранулемами с гигантскими многоядерными клетками Лангханса, окраска гематоксилином и эозином х 100

#### **3.4.4 Результаты КЛЭМ у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом и их сопоставление с гистологической картиной**

Обследованы двое некурящих пациентов, которым был установлен диагноз идиопатического легочного фиброза по данным клинико-рентгенологической картины и гистологического исследования. Суммарно были исследованы 22 бронхолегочные области, преимущественно наиболее пораженные патологическим процессом.

При исследовании был отмечен увеличенный диаметр альвеол, значительное утолщение альвеолярных стенок, небольшой диаметр микрососудов. Также в 100% случаев отмечался паттерн увеличенного количества волокон, в 90,9% - утолщенных волокон и в 81,8% - паттерн уплотненного расположения волокон.

Коэффициент согласия варьировал от 0,86 до 1,00, что определяется как полное или почти полное согласие наблюдателей (таблица 12).

Таблица 12 - КЛЭМ-картина при идиопатическом легочном фиброзе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	324,8±70,8	278±53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	19,5±3,8	10±2,7
Средний размер микрососудов	81,3±34,6	90±50
Средний диаметр альвеолярных клеток	0	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	22/22 (100%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	18/22 (81,8%)	0,86
Паттерн утолщенных волокон	20/22 (90,9%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	11/22 (50%)	0,91
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	0/22 (0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток	0	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/22 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	17/22 (77,3%)	1,00

Как мы видим из таблицы 12, клеточный компонент не был характерен для некурящих больных с данной патологией. Выявленные изменения соответствовали

гистологически множественным фиброзным изменениям в легочной ткани у пациентов (рисунок 10).

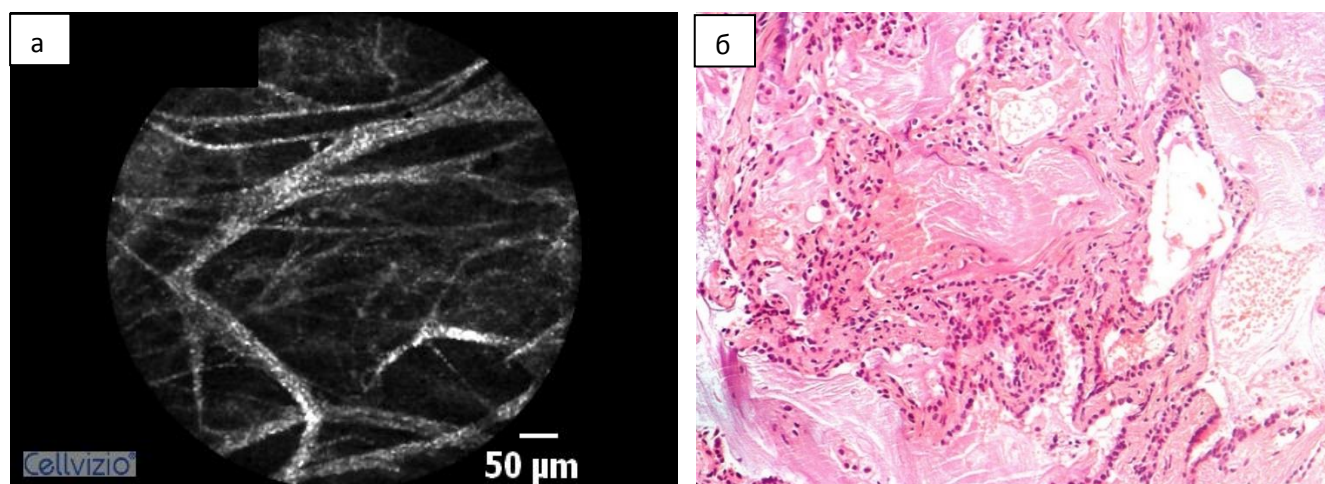


Рисунок 10 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с идиопатическим легочным фиброзом. При КЛЭМ (а) отмечается увеличенное количество и уплотнение волокон с утолщенными межальвеолярными перегородками, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) виден фокус очагового фиброза с утолщенными межальвеолярными перегородками. окраска гематоксилином и эозином, x100

### **3.4.5 Результаты КЛЭМ при неспецифической интерстициальной пневмонии и их сопоставление с гистологической картиной**

Была исследована КЛЭМ-картина у 2 пациентов (1 активный курильщик и некурящая) с неспецифической интерстициальной пневмонией. Было осмотрено 12 альвеолярных областей.

При исследовании были отмечены утолщение альвеолярной стенки и крупные аутофлуоресцентные клетки. КЛЭМ-картина характеризовалась в основном паттерном утолщенных волокон (100%) и дезорганизованных волокон 83,3%. Коэффициент согласия был достаточно высоким и варьировал от 0,83 до

1,00, что определяется как полное или почти полное согласие наблюдателей (таблица 13).

Таблица 13- КЛЭМ-картина при неспецифической интерстициальной пневмонии

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	278,0 $\pm$ 87,0	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	26,5 $\pm$ 5,7	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	76,8 $\pm$ 26,7	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	24,7 $\pm$ 4,9	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	9/16 (56,3%)	0,83
Паттерн уплотненного расположения волокон	4/16 (25,0%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	14/16 (87,5%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	11/16 (68,8%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	12/16 (75%)	1,00
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	0/16 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	7/16 (43,8%)	1,00



Эндомикроскопические данные соответствовали гистологической картине фиброзирующей интерстициальной пневмонии (рисунок 11).

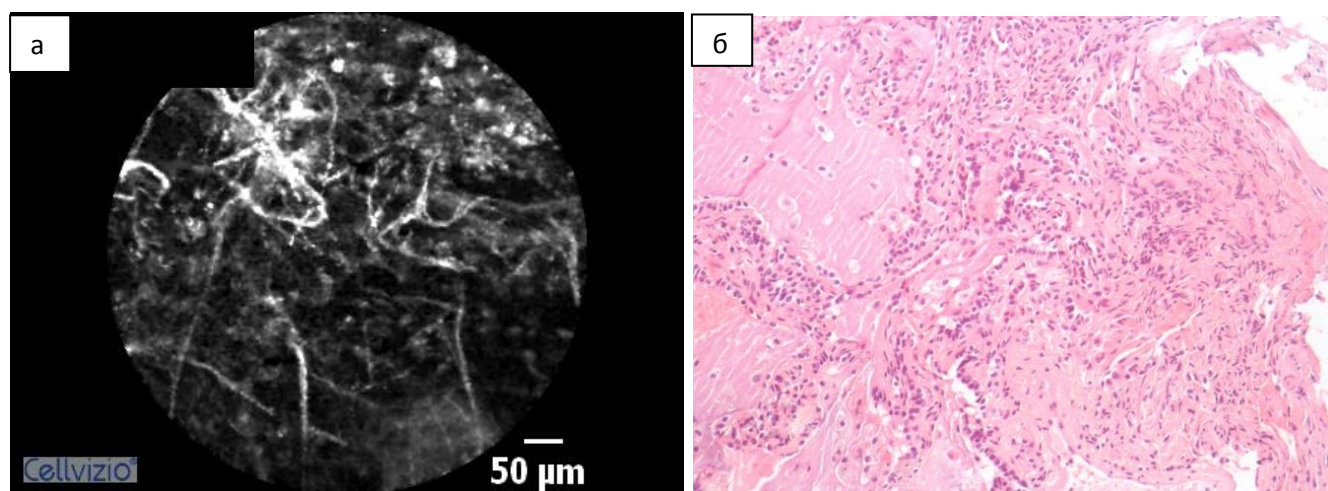


Рисунок 11 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с неспецифической интерстициальной пневмонией. При КЛЭМ (а) отмечается дезорганизация эластических волокон с большим количеством альвеолярных клеток, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видно утолщение межальвеолярных перегородок за счет умеренного фиброза с внутриальвеолярным отеком, окраска гематоксилином и эозином, x100

#### **3.4.6 КЛЭМ-изображение при респираторном бронхолите – интерстициальном заболевании легких (РБ-ИЗЛ)**

Была обследована 1 курящая пациентка с РБ-ИЗЛ, было исследовано 3 бронхоальвеолярные области.

Во всех субсегментах отмечены паттерны увеличенного количества, уплотнения, дезорганизации и утолщения волокон, что вероятно связана с небольшими количеством осмотренных областей (таблица 14). При КЛЭМ подробный осмотр бронхиолярной области был затруднен в связи с особенностями техники выполнения исследования (пенетрация терминальной бронхиолы).

Таблица 14 - КЛЭМ-картина при РБ-ИЗЛ

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	270,5±30,5	278±53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	12,7±4,3	10±2,7
Средний размер микрососудов	75,2±15,1	90±50
Средний диаметр альвеолярных клеток	23,3±4,9	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	3/3 (100,0%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	3/3 (100,0%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	3/3 (100,0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	3/3 (100,0%)	1,00
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	3/3 (100,0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	3-4 балла	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/0 (0,0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	3/3 (100,0%)	1,00

Выявленные изменения соответствовали картине, полученной при гистологическом исследовании (рисунок 12).

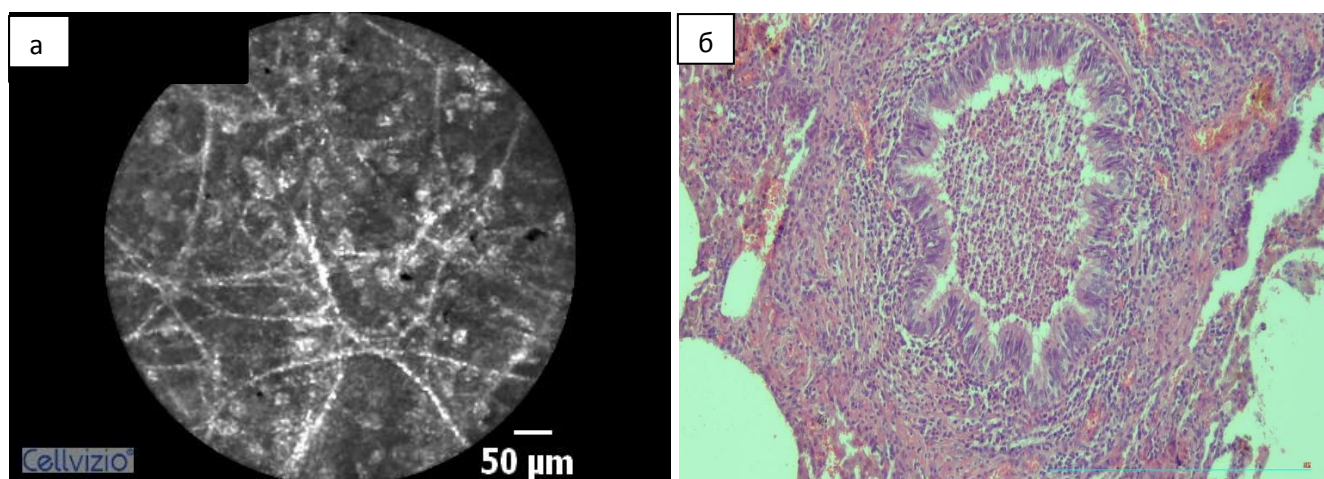


Рисунок 12 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с РБ-ИЗЛ. А. КЛЭМ-картина. При КЛЭМ (а) отмечается увеличение количества волокон с большим количеством альвеолярных клеток, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же области (б) видна бронхиола с расширенным просветом, заполненным нейтрофильными лейкоцитами, x100

### 3.4.7 КЛЭМ – изображение при десквамативной интерстициальной пневмонии и сопоставление с гистологической картиной

Обследована 1 пациентка с десквамативной интерстициальной пневмонией. Больная никогда систематически не курила, но при этом имела профессиональный анамнез – долгое время работала на свиноводческом хозяйстве, затем занималась глажкой, имела контакт с чистящими веществами. У больной было обследовано 2 легочные области.

При анализе альвеолоскопической картины были отмечены увеличение среднего диаметра альвеол ( $306,0 \pm 99,0 \mu\text{m}$ ), утолщение альвеолярной стенки ( $13,2 \pm 3,5 \mu\text{m}$ ), большое количество крупных ( $26,2 \pm 5,3$ ) альвеолярных клеток выраженностью 3 балла. Также были выявлены паттерны увеличенного количества, уплотнения и утолщения волокон, альвеолярного секрета. Данные представлены в таблице 15.

Таблица 15 - КЛЭМ-картина при десквамативной интерстициальной пневмонии

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	306,0 $\pm$ 99,0	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	13,2 $\pm$ 3,5	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	118,7 $\pm$ 23,3	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	26,2 $\pm$ 5,3	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	2/2 (100%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	2/2 (100%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	2/2 (100%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	0/2(0%)	1,00
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	2/2 (100%)	1,00
Паттерн аутофлюоресцентных клеток (у некурящих)	2/2 (100%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	3 балла	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/2 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	2/2 (100%)	1,00

Выявленные изменения коррелируют с типичными морфологическими критериями при этом заболевании. Примечательным является то, что пациентка не

являлась курильщицей, но при этом в альвеолах было отмечено большое число клеток. Таким образом, установлено, что большое количество макрофагов, которое является основным морфологическим признаком данного заболевания, также является и основным признаком КЛЭМ-картины, даже у некурящих пациентов (рисунок 13).

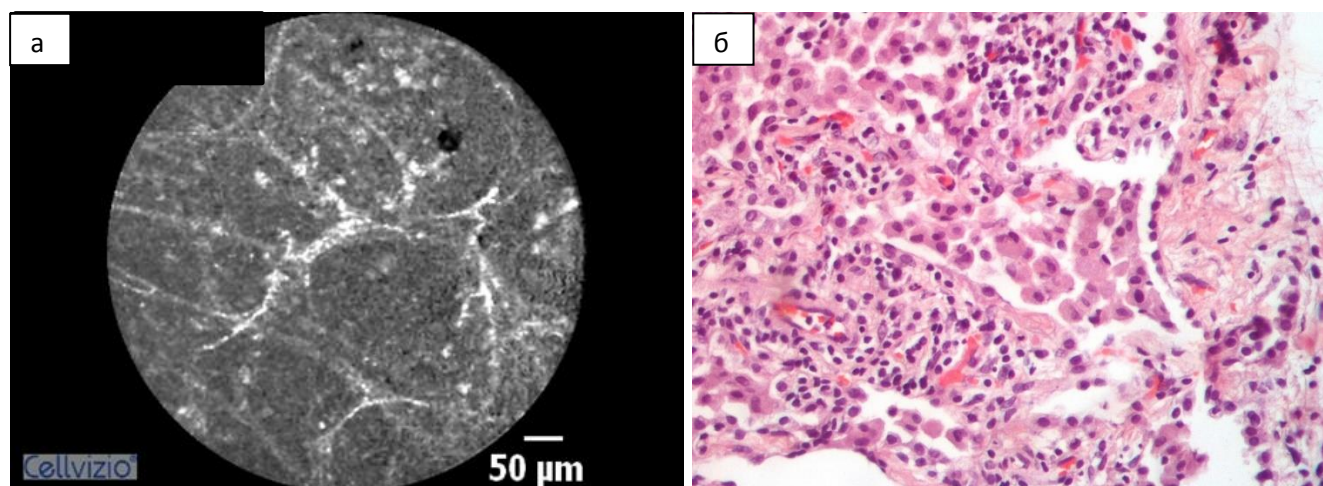


Рисунок 13 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациентки с десквамативной пневмонией. При КЛЭМ (а) отмечается утолщенные межальвеолярные перегородки и множественные скопления внутриальвеолярных клеток, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны слабо и умеренно выраженный фиброз межальвеолярных перегородок, большое количество альвеолярных макрофагов в просвете альвеол, окраска гематоксилином и эозином, х 200

#### **3.4.8 КЛЭМ-изображение при криптогенной организуемой пневмонии и сопоставление с гистологической картиной**

Были обследованы 4 пациентов с организуемой пневмонией, среди которых 1 курильщик и 3 некурящих. Было исследовано 23 бронхоальвеолярные области. При выполнении процедуры наиболее часто были отмечены паттерны увеличенного количества волокон (60,0%), утолщенных волокон (80%), дезорганизованных волокон (50,0%), альвеолярного секрета (85,0%).

Аутофлюоресцентные клетки были отмечены только у курящего пациента в 20% исследуемых областей (таблица 16).

Таблица 16 - КЛЭМ-картина при криптогенной организуемой пневмонии

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	261,8 $\pm$ 33,0	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	12,4 $\pm$ 2,5	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	73,1 $\pm$ 13,9	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	21,4 $\pm$ 5,3	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	13/23 (56,5%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	7/23 (30,4%)	0,86
Паттерн утолщенных волокон	20/23 (87,0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	10/23(43,5%)	1,00
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	4/23 (17,4%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	4 балла	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/23 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	18/23(78,2%)	0,77

Выявленные изменения коррелировали с гистологической картиной утолщенных межальвеолярных стенок и полиповидной фибропластической тканью внутри альвеол (рисунок 14).

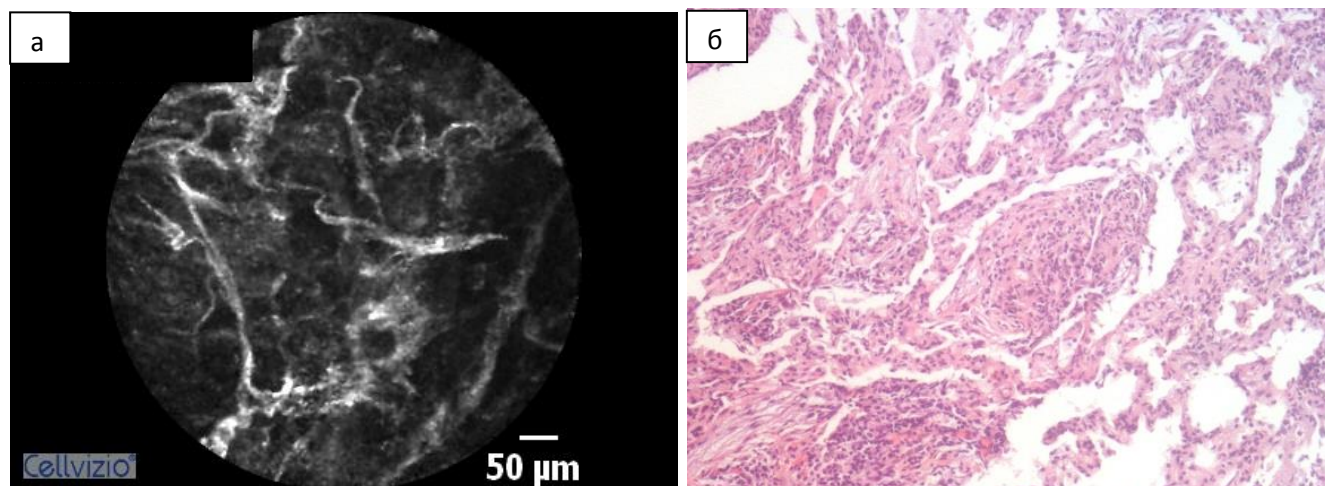


Рисунок 14 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациентов с криптогенной организуемой пневмонией. При КЛЭМ (а) отмечаются утолщенные и дезорганизованные эластические волокна, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видно полиповидное врастание ткани в просветы альвеол, окраска гематоксилином и эозином, х 100

### **3.4.9 Результаты КЛЭМ у пациентов с болезнями накопления**

#### **3.4.9.1 Результаты КЛЭМ у пациентов с легочным альвеолярным протеинозом и сопоставление с гистологической картиной**

Была исследована КЛЭМ-картина у 4 пациентов с легочным альвеолярным протеинозом (2 активных курильщиков и 2 некурящих). Всего было осмотрено 30 бронхолегочных областей.

Отмечено наличие в 100% исследованных альвеолярных зон крупные ( $94,5 \pm 33,4 \mu\text{m}$ ) аутофлуоресцентные комплексов и в 100,0% гигантские ( $32,9 \pm 7,8$

μм) аутофлюоресцентные клетки, а также наличие аутофлюоресцентной жидкости (таблица 17).

Таблица 17 - КЛЭМ-картина при легочном альвеолярном протеинозе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, μм</b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	316,0±50,4	278±53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	8,4±2,7	10±2,7
Средний размер микрососудов	167,5±22,5	90±50
Средний диаметр альвеолярных клеток	32,9±7,8	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	22/30 (73,3%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	8/30 (26,7%)	0,73
Паттерн утолщенных волокон	21/30 (70,0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	4/30(13,3%)	0,76
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	30/30 (100%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	1-5 баллов	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	30/30 (100%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	26/30 (86,7%)	1,00



При сравнении с гистологической картиной было отмечено четкое соответствие крупных фосфолиппротеидных комплексов в просвете альвеол высокофлюоресцирующим структурам при КЛЭМ-картине (рисунок 15).

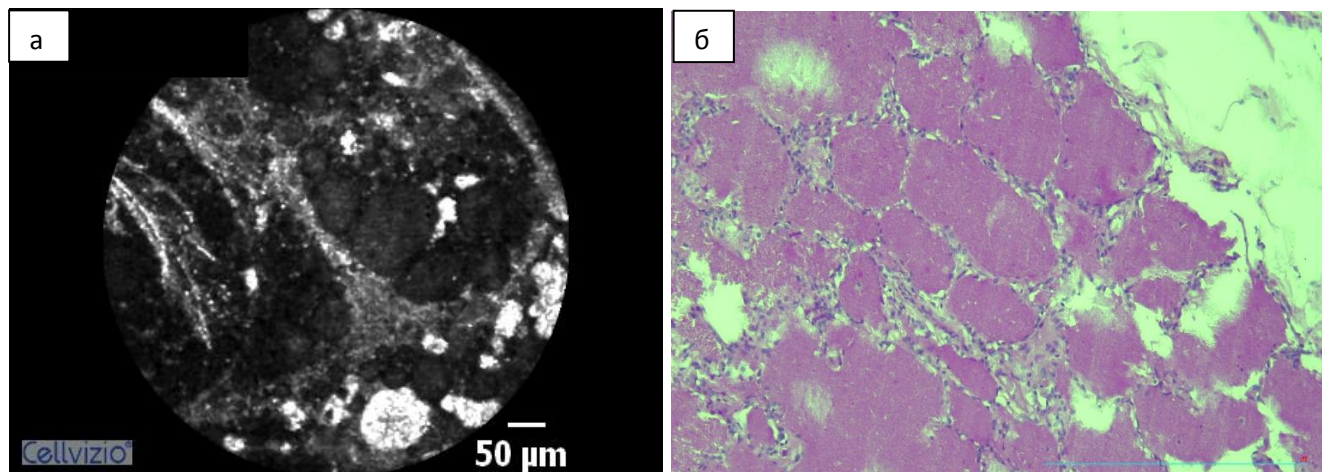


Рисунок 15 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациентов с альвеолярным легочным протеинозом. При КЛЭМ (а) отмечаются крупные аутофлюоресцентные клетки и сливающиеся комплексы на фоне высокофлюоресцирующей жидкости в альвеолах, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) альвеолы заполнены зернистым ШИК-позитивным материалом, в котором определяются кристаллы холестерина, ШИК-реакция, х 100

#### **3.4.9.2 КЛЭМ-изображение у пациента с метастатическим легочными кальцинозом и сопоставление с гистологической картиной**

Впервые была получена КЛЭМ-картина у 1 пациента с метастатическим легочным кальцинозом (бывшего курильщика). Было обследовано 12 бронхолегочных областей. Изображение характеризовалось в 75,0% альвеолярных областей наличием крупных ( $98,3 \pm 38,5 \mu\text{m}$ ) высокофлюоресцирующих округлых структур (таблица 18).

Таблица 18 - КЛЭМ-картина при метастатическом легочном кальцинозе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	258,2 $\pm$ 62,1	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	7,5 $\pm$ 2,0	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	73,5 $\pm$ 15,5	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	0	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	8/12 (66,7%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	8/12 (66,7%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	5/12 (41,7%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	8/12 (66,7%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	0/12 (0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	0	
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	9/12 (75,0%)	1,00
Средний размер включений	98,3 $\pm$ 38,5	
Паттерн альвеолярного секрета	6/12 (50,0%)	1,00

Сравнение с морфологической картиной подтвердило, что эти структуры соответствуют кальцинатам (рисунок 15).

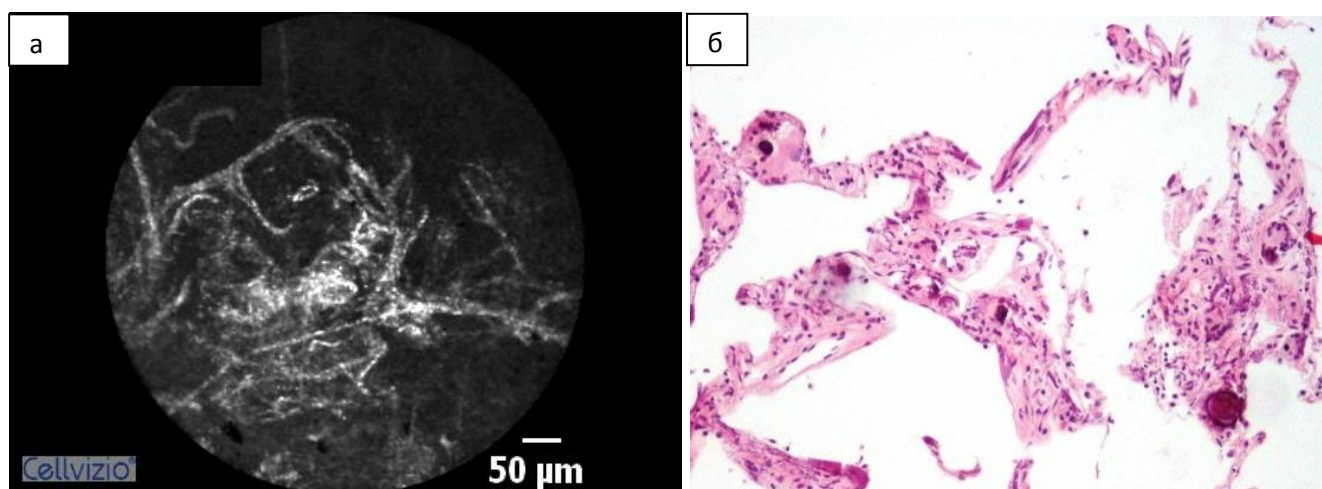


Рисунок 15 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с метастатическим кальцинозом. При КЛЭМ (а) визуализируются крупные аутофлюоресцентные структуры округлой формы, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны крупные кальцинаты в легочной ткани, окраска гематоксилином и эозином, х 100

#### **3.4.9.3 КЛЭМ-изображение трахеобронхолегочного амилоидоза и сопоставление с гистологической картиной**

Была обследована 1 некурящая пациентка с трахеобронхолегочным амилоидозом, верифицированным посредством эндобронхиальной биопсии. При альвеолоскопии исследовано 6 бронхолегочных областей. В 100% исследуемых альвеолярных зон были выявлены патологические включения, представляющие собой картину «хлопковой ваты», описанной ранее в научной литературе R.Newton и et al. (2011) (таблица 18) [64].

Таким образом, полученная КЛЭМ-картина патогномонична для трахеобронхолегочного амилоидоза, и метод может использоваться в дифференциальной диагностике с другими заболеваниями.

Таблица 18 - КЛЭМ-картина при трахеобронхолегочном амилоидозе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	Плохо различимы	278±53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	Плохо различимы	10±2,7
Средний размер микрососудов	204,2±62,2	90±50
Средний диаметр альвеолярных клеток	28,3±5,3	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	0/6 (0%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	6/6 (100%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	0/6 (0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	6/6 (100%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	6/6 (100%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	3 балла	
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	6/6 (100%)	1,00
Средний размер включений	Сплошной конгломерат в поле зрения	
Паттерн альвеолярного секрета	6/6 (100%)	1,00

При сравнении КЛЭМ-изображения с патоморфологической картиной было отмечено соответствие патологических включений при эндомикроскопии накопленному в альвеолах амилоиду (рисунок 16).

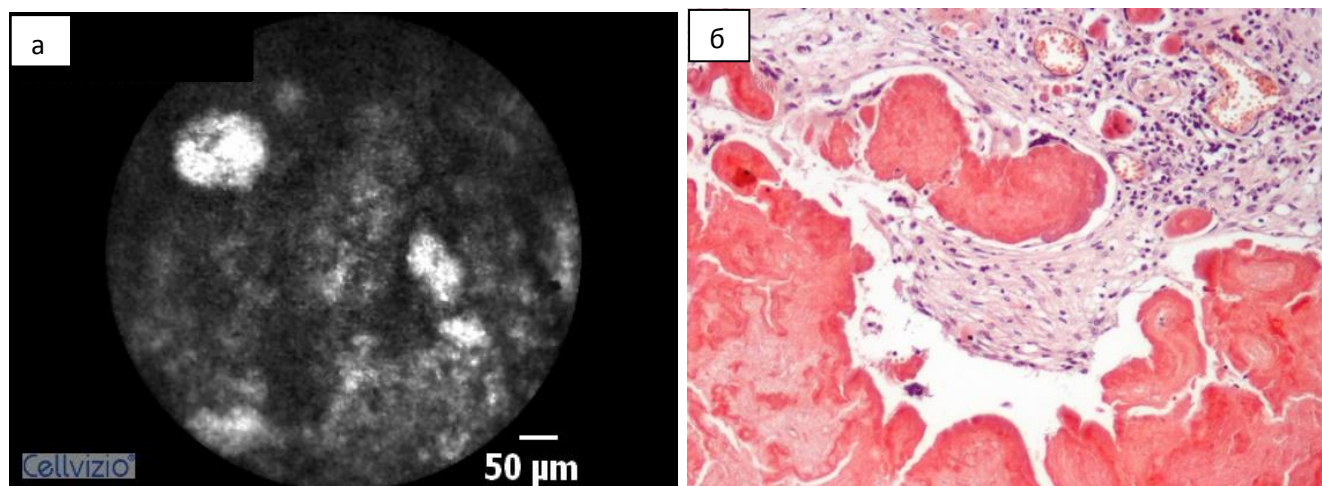


Рисунок 16 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с трахеобронхолегочным амилоидозом. При КЛЭМ (а) визуализируются скопления патологических включений в виде «хлопковой ваты», при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) отмечается наличие амилоида в легочной ткани, окраска конго-рот, х 100.

#### 3.4.9.4 Сравнение КЛЭМ картины при различных болезнях накопления

По полученным данным, у всех 6 пациентов с 3 различными болезнями накопления были выявлены высокофлюоресцирующие патологические включения. При этом были отмечены патогномичные особенности КЛЭМ-картины у этих заболеваний, которые позволяют проводить дифференциальную диагностику между ними с помощью метода КЛЭМ (таблица 19).

Таблица 19 - Данные конфокальной эндомикроскопической картины при некоторых болезнях накопления

<b>Болезнь накопления</b>	Альвеолярный протеиноз	Метастатический кальциноз	Трахеобронхолегочный амилоидоз
<b>Средний размер включений, <math>\mu\text{m}</math></b>	от 50 до 450	98,3±38,5	сплошной конгломерат в поле зрения
<b>Слияние в конгломераты</b>	сливаются в крупные конгломераты	практически не сливаются	сплошной конгломерат
<b>Альвеолярный рисунок</b>	Различим	различим	Практически неразличим
<b>Изменения после БАЛ</b>	Уменьшение количества структур	Без изменений	Без изменений
<b>Наличие флуоресцирующей жидкости</b>	да	нет	нет

#### **3.4.10 КЛЭМ-изображение при поражении легкого на фоне ревматоидного артрита и сопоставление с гистологической картиной**

Была обследована 1 некурящая пациентка с поражением легкого на фоне ревматоидного артрита. Диагноз был верифицирован морфологически посредством ВТС-биопсии. Было изучено 6 бронхолегочных областей.

Отмечены паттерны увеличенного количества (100%), уплотненного расположения (66,7%) и утолщенных (100%) и дезорганизованных (33,3%) волокон. В 2 из 6 субсегментов были отмечены альвеолярные клетки, несмотря на отсутствие статуса курения у больной (таблица 20).

Таблица 20 - КЛЭМ-картина при поражении легкого при ревматоидном артрите

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	198,7 $\pm$ 96,5	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	9,1 $\pm$ 1,4	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	140,5 $\pm$ 17,1	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	22,6 $\pm$ 4,2	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	6/6 (100,0%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	4/6 (66,7%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	6/6 (100,0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	2/6 (33,3%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	2/6 (33,3%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	1 балл	
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	0/0 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	6/6 (100,%)	1,00

При сравнении эндомикроскопической и гистологической картины было отмечено соответствие разрушенных альвеол зонам некротических изменений,

ателектаза, зон увеличенного количества и уплотненных волокон зонам пневмофиброза (рисунок 17).

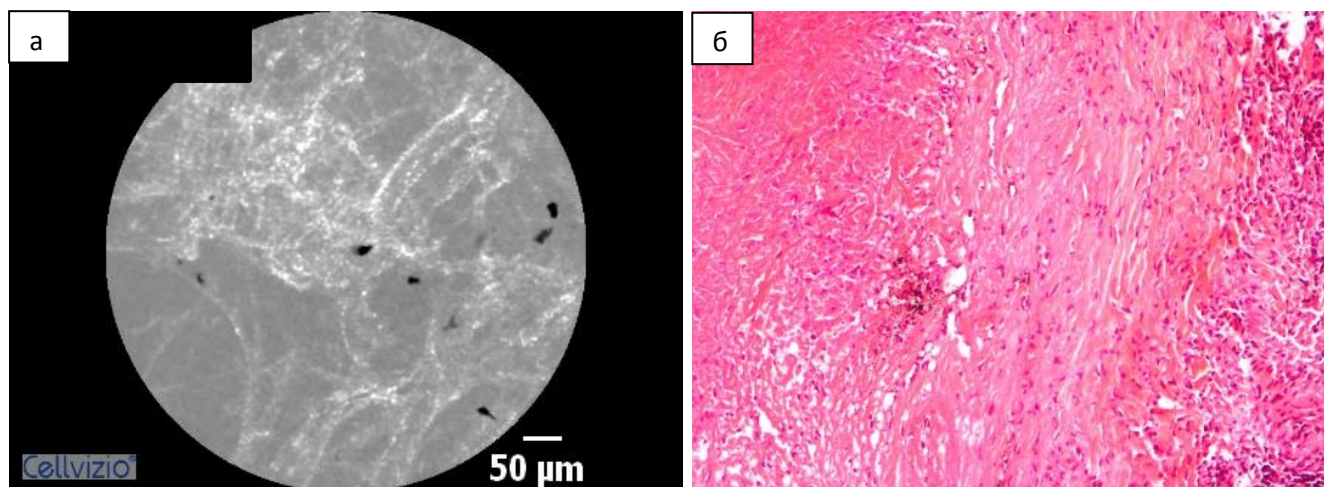


Рисунок 17 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с ревматоидным поражением легкого. При КЛЭМ (а) визуализируются зоны уплотненного расположения и дезорганизованных волокон, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) отмечается очаг коагуляционного некроза, окруженный фиброзной тканью, окраска гематоксилином и эозином, х 100

#### **3.4.11 КЛЭМ-изображение при бактериальной пневмонии и сопоставление с гистологической картиной**

Был обследован 1 пациент (активный курильщик) с двусторонней бактериальной пневмонией. Исследовано 6 бронхолегочных областей. Мы отметили паттерн аутофлюоресцентных клеток и дезорганизованных волокон во всех исследуемых субсегментах (100%), также присутствовали паттерн утолщенных волокон (66,7%) и увеличенного количества волокон (33,3%) (таблица 21).



Таблица 21 - КЛЭМ-картина при бактериальной пневмонии

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	291,4 $\pm$ 28,8	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	12,5 $\pm$ 2,1	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	191,3 $\pm$ 28,7	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	21,7 $\pm$ 3,9	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	2/6 (33,3%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	0/6 (0%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	4/6 (66,7%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	6/6 (100,0%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	6/6 (100,0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	2-3 балла	
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	0/0 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	2/6 (33,3%)	1,00

При сопоставлении КЛЭМ картины с гистологической зоны дезорганизованных волокон соответствовали зонам некроза с фибрином, зоны

увеличенного количества волокон соответствовали фиброзным изменениям, большое количество аутофлюоресцентных клеток соответствовало скоплению альвеолярных макрофагов (рисунок 18).

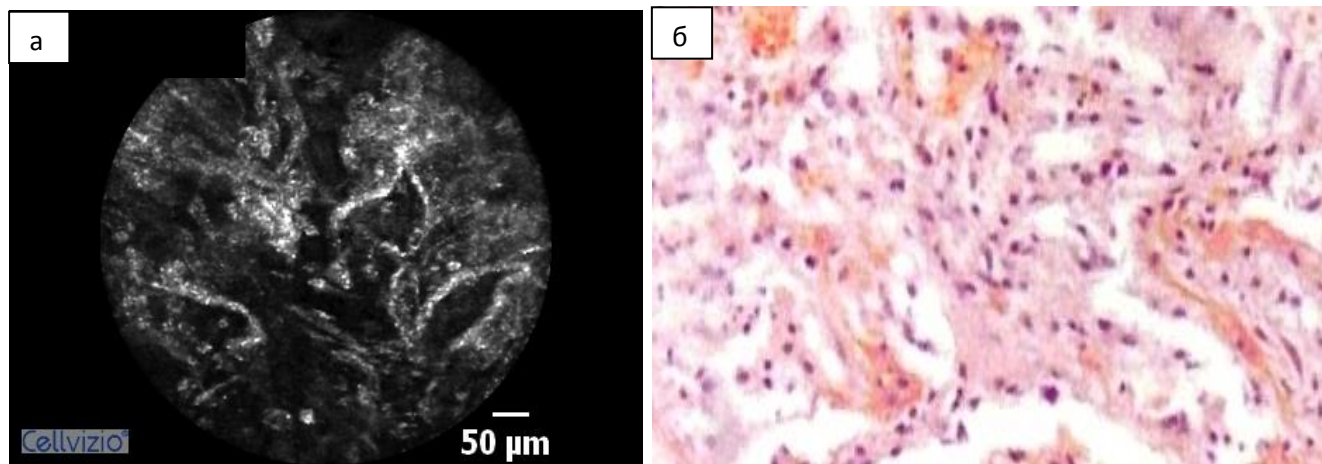


Рисунок 18 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с бактериальной пневмонией. При КЛЭМ (а) визуализируются зоны дезорганизованных волокон и альвеолярных клеток, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) отмечаются участки легочной ткани со слабо выраженной смешанно-клеточной воспалительной инфильтрацией, окраска гематоксилином и эозином, х 200

#### **3.4.12 КЛЭМ-изображение при лангергансочелочном гистиоцитозе и сопоставление с гистологической картиной**

Была обследована 1 курящая пациентка, которой по данным гистологического исследования был установлен диагноз лангергансочелочного гистиоцитоза (гистиоцитоза Х). Было обследовано 12 легочных областей. Отмечено большое количества клеточного компонента (5 баллов) во всех исследуемых зонах, в том числе с гигантских макрофагами (до 73,1µm), истончение альвеолярных стенок, альвеолы расширенного диаметра с вязким слизистым секретом (наиболее вероятно внутрилегочные кисты) (таблица 22).

Таблица 22 - КЛЭМ-картина при лангергансоклеточном гистиоцитозе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	316,2 $\pm$ 54,2	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	7,6 $\pm$ 2,4	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	94,5 $\pm$ 32,5	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	39,1 $\pm$ 11,1	10-30 ( $\mu\text{m}$ курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	10/12 (83,3%)	0,75
Паттерн уплотненного расположения волокон	2/12 (16,7%)	0,75
Паттерн утолщенных волокон	0/0 (0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	6/12 (50,0%)	0,75
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	12/12 (100,0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	2-5 баллов	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/0 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	12/12 (100,0%)	1,00

Выявленные при КЛЭМ изменения соответствовали гистологической картине (рисунок 19).

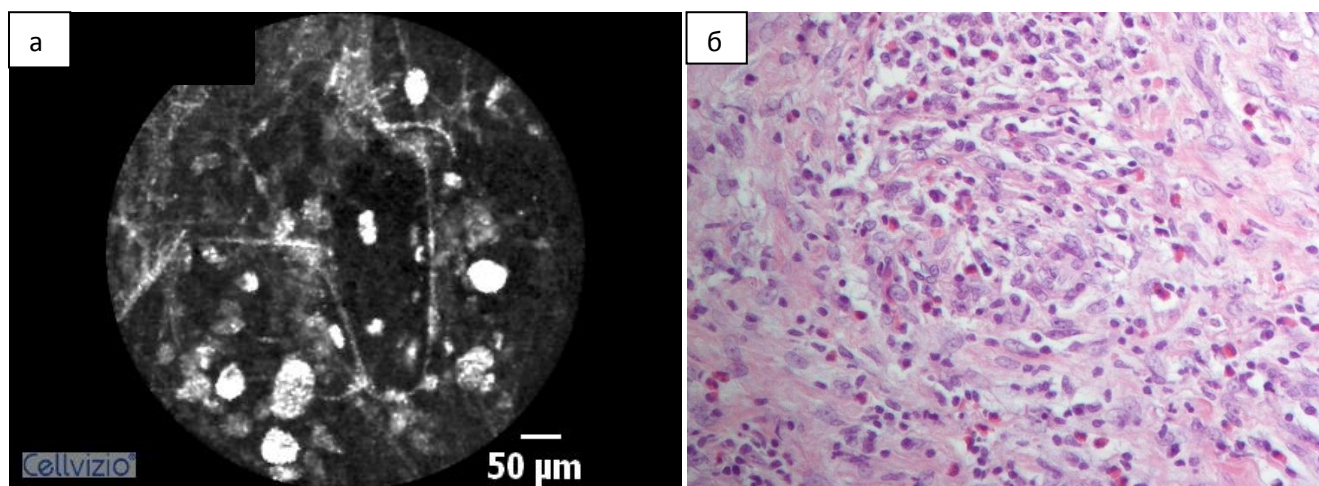


Рисунок 19 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с гистиоцитозом Х. При КЛЭМ (а) отмечается наличие гигантских альвеолярных клеток на фоне истонченных альвеолярных стенок., при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны очаги с большим количеством гистиоцитов и эозинофильных лейкоцитов, окраска гематоксилином и эозином, х 200.

#### **3.4.13 КЛЭМ-изображение при лекарственно-индуцированном ИЗЛ и сопоставление с гистологической картиной**

В исследование включен 1 пациент (активный курильщик), длительно получающий лечение препаратом на основе моноклональных антител по поводу псориаза. Была выполнена чрезбронхиальная биопсия, но гистологическая картина оказалась неспецифична. Пациенту были отменены принимаемые препараты. На фоне чего диссеминированный процесс на КТ регрессировал. На мультидисциплинарной комиссии был установлен диагноз лекарственно-индуцированного ИЗЛ.

При КЛЭМ было исследовано 4 легочных субсегмента. Во всех альвеолярных областях были отмечены гигантские (до 61,7 μm) альвеолярные клетки и все изучаемые паттерны (таблица 23).

Таблица 23 - КЛЭМ-картина при лекарственно индуцированном ИЗЛ

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	305,0 $\pm$ 52,6	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	16,5 $\pm$ 3,7	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	76,8 $\pm$ 26,7	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	35,2 $\pm$ 12,7	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	4/4 (100,0%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	4/4 (100,0%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	4/4 (100,0%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	4/4 (100,0%)	1,00
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	4/4 (100,0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	5 баллов	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/0 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	4/4 (100,0%)	1,00

Полученное КЛЭМ-изображение соответствовало гистологической картине (рисунок 20).

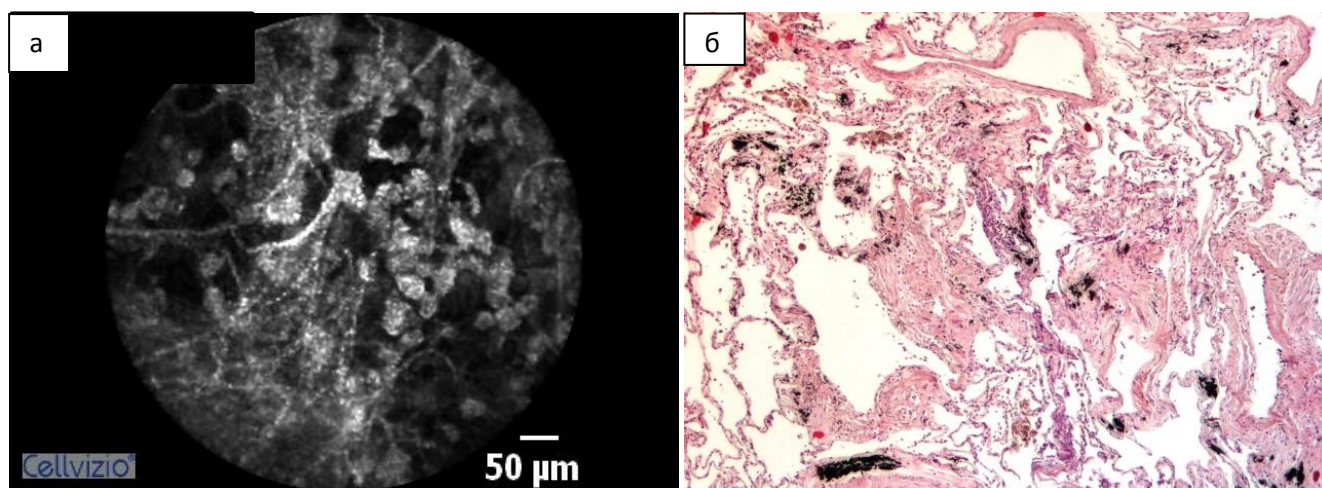


Рисунок 20 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с лекарственно индуцированным ИЗЛ. При КЛЭМ (а) отмечается наличие крупных альвеолярных клеток и участков уплотненного расположения волокон вплоть до потери легочного рисунка., при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны периваскулярный фиброз и очаговый антракоз, очаговая слабо выраженная лимфоидная инфильтрация, в альвеолах мелкие скопления гемосидерофагов, окраска гематоксилином и эозином, x 100.

#### **3.4.14 КЛЭМ-изображение при COVID-19 и сопоставление с гистологической картиной**

В исследование включено двое пациентов, которым в дальнейшем по данным ПЦР анализа жидкости бронхоальвеолярного лаважа был установлен диагноз COVID-19. В обоих случаях у пациентов было подозрение на альтернативный диагноз и отрицательные нозофарингальные мазки на SARS-CoV-2, что потребовало выполнения бронхоскопии для дифференциальной диагностики. В одном из случаев в связи с преимущественно односторонним процессом и особенностями КТ-картины нельзя было исключить бронхиолоальвеолярный рак, что потребовало выполнения чрезбронхиальной биопсии.

КЛЭМ была выполнена 2 пациентам (бывшим курильщикам), исследовано 11 субсегментов. Наибольшую встречаемость имели паттерны: паттерн

уплотненного расположения волокон (81,8%), альвеолярного секрета (81,8%), утолщенных волокон (63,6%). Альвеолярные клетки были отмечены только в двух альвеолярных областях (18,2%) у одного пациента (таблица 24).

Таблица 24 - КЛЭМ-картина при COVID-19

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	289,1 $\pm$ 54,6	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	17,6 $\pm$ 3,8	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	102,0 $\pm$ 70,6	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	24,0 $\pm$ 5,4	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	4/11 (36,4%)	0,61
Паттерн уплотненного расположения волокон	9/11 (81,8%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	7/11 (63,6%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	2/11 (18,2%)	0,74
Паттерн аутофлюоресцентных клеток	2/11 (18,2%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	2 балла	
Паттерн дополнительных аутофлюоресцентных структур (включений)	0/11 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	9/11 (81,8%)	1,00

Полученная КЛЭМ-картина соответствовала гистологической (рисунок 21).

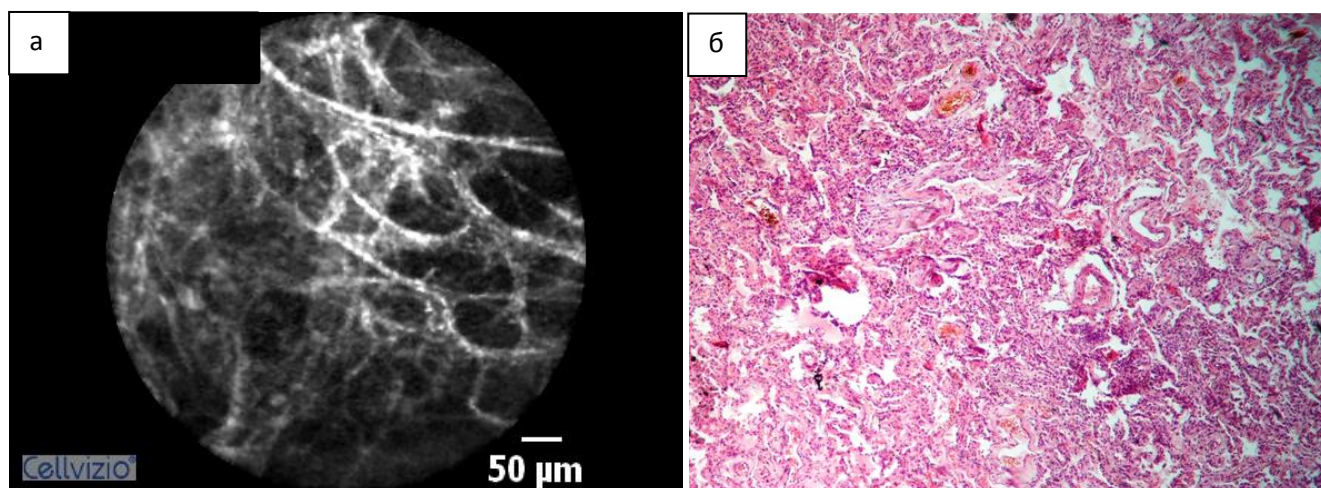


Рисунок 21 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с COVID-19. При КЛЭМ (а) отмечаются участки утолщенных волокон, увеличенного количества волокон, уплотненного расположения волокон вплоть до потери легочного рисунка., при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) видны разрастания соединительной ткани, интерстициальное воспаление с утолщением и отеком межальвеолярных перегородок, окраска гематоксилином и эозином, х 40

#### **3.4.15 КЛЭМ-картина у пациентов с пневмофиброзом и сопоставление с гистологической картиной**

Трем некурящим пациентам была выполнена КЛЭМ и, впоследствии, данных за активный воспалительный процесс по данным гистологического исследования получено не было, выставлен диагноз пневмофиброз. Были исследованы 13 бронхоальвеолярных областей (таблица 25).



Таблица 25 - КЛЭМ-картина при пневмофиброзе

<b>Параметры измерений</b>	<b>Значения, <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Норма</b> <i>(по данным L.Thiberville et al., 2009)</i>
Средний диаметр альвеол	250,5 $\pm$ 45,5	278 $\pm$ 53,0
Средняя толщина альвеолярной стенки	14,1 $\pm$ 2,9	10 $\pm$ 2,7
Средний размер микрососудов	50,8 $\pm$ 21,4	90 $\pm$ 50
Средний диаметр альвеолярных клеток	-	10-30 (у курильщиков)
<b>Выявленные паттерны</b>	<b>Выявление паттерна в анатомических областях (процентное соотношение)</b>	<b>к-соглашение</b>
Паттерн увеличенного количества волокон	9/13 (69,2%)	1,00
Паттерн уплотненного расположения волокон	1/13 (7,7%)	1,00
Паттерн утолщенных волокон	7/13 (53,8%)	1,00
Паттерн дезорганизованных волокон	7/13(53,8%)	1,00
Паттерн аутофлуоресцентных клеток	0 (0%)	1,00
Выраженность альвеолярных клеток (по баллам)	-	
Паттерн дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)	0/0 (0%)	1,00
Паттерн альвеолярного секрета	6/13 (46,2%)	1,00

Наибольшую встречаемость имели паттерны уплотненного расположения волокон (75,0%), альвеолярного секрета (50,0%), уплотненного расположения, утолщенных и дезорганизованных волокон (25,0%). Альвеолярных клеток выявлено не было. Полученное изображение при КЛЭМ соответствовало гистологической картине (рисунок 22).

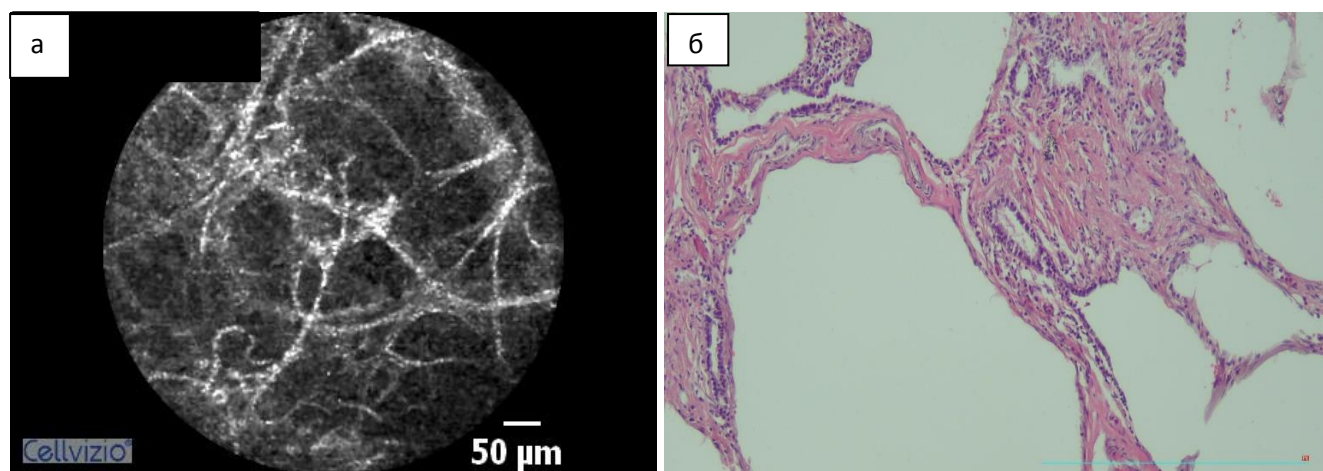


Рисунок 22 - Сравнение КЛЭМ с гистологической картиной у пациента с пневмофиброзом. При КЛЭМ (а) отмечаются паттерны увеличенного количества волокон, уплотненного расположения волокон, при гистологическом исследовании материала биопсии из той же альвеолярной области (б) виден очаговый фиброз межальвеолярных перегородок, окраска гематоксилином и эозином, х 100

#### **3.4.16 Общие результаты КЛЭМ различных диссеминированных процессов в легких и сравнения с гистологической картиной**

Таким образом, выполнена морфометрический анализ и оценка частоты паттернов при КЛЭМ при 17 различных нозологических формах. Уровень каппа-согласения Коэна между исследователями варьировал от 0,61 (хороший уровень согласия) до 1,0 (полный уровень согласия), что говорит о том, что полученные данные воспроизводимы. При сравнении полученных КЛЭМ-изображений с

гистологической картиной из тех же альвеолярных областей отмечено соответствие выделенных паттернов с патоморфологией (таблица 26).

Таблица 26 - Сопоставление эндомикроскопических паттернов с данными гистологического исследования

№ паттерна	Название паттерна	Соответствие с гистологической картиной
1	<b>Увеличенного количества волокон</b>	соответствует зонам умеренного пневмофиброза
2	<b>Уплотненного расположения волокон</b>	соответствует зонам выраженного пневмофиброза
3	<b>Утолщенных волокон</b>	соответствует фиброзу межалвеолярных перегородок
4	<b>Дезорганизованных волокон (разрушенных альвеол)</b>	соответствует деструктивным процессам в альвеолах, иногда может быть связан с травматизацией легочной ткани при введении зонда
5	<b>Альвеолярных клеток</b>	соответствует скоплениям различных видов воспалительных клеток по большей части макрофагов и лимфоцитов
6	<b>Дополнительных аутофлуоресцентных структур (включений)</b>	соответствовали патологически накопленным веществам (амилоид, липопропротеиды, кальцинаты)
7	<b>Альвеолярного секрета</b>	Соответствует накоплению секрета в просвете альвеол

При этом стоит отметить, что при гранулематозных заболеваниях легких (туберкулез, саркоидоз, микобактериоз) при КЛЭМ в легочной ткани структур явно соответствующих гранулемам, как было описано ранее, к примеру, Shulimzon T. et al. (2013), отмечено не было. В альвеолярных областях, где впоследствии при чрезбронхиальной биопсии был получен материал с гранулемами, визуализировались паттерны увеличенного количества и уплотненного расположения и дезорганизованных волокон.

### **3.5 Результаты использования конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации чрезбронхиальной биопсии при диссеминированных процессах в легких**

Из 80 больных чрезбронхиальная биопсия легкого под навигацией конфокальной лазерной микроскопии с использованием «guide-sheath» была выполнена 73 пациентам. Диагностическая ценность чрезбронхиальной биопсии под навигацией КЛЭМ с использованием направляющей оболочки составила 80,8%.

Для сравнения информативности методики к пациентам из основной группы с помощью метода «ближайшего соседа» была подобрана сопоставимая группа (73 пациента) из ретроспективного материала 264 пациентов, которым выполнялась стандартная чрезбронхиальная биопсия с 2017 по 2020 года под рентгеноскопической навигацией без использования КЛЭМ. Из таблицы 27 видно отсутствие статистически значимых различий между кофаундерами.

Таблица 27 - Параметры основной группы пациентов и группы, сформированной методом псевдорандомизации

Параметр		Основная группа (навигация КЛЭМ)	Группа сравнения (без навигации КЛЭМ)	Значение p
Возраст		46,9±16,4	46,8±16,2	>0,05
Стаж курения		9,3±11,8	8,6±10,5	>0,05
Количество биопсируемых субсегментов		1,7±0,7	1,6±0,7	>0,05
Количество биоптатов		5,1±1,3	5,1±0,5	>0,05
Индекс Чарльсона		1,7±1,6	1,6±1,5	>0,05
Нозологи- ческая форма	Диссеминированный туберкулез	23	24	>0,05
	Саркоидоз	24	27	>0,05
	Микобактериоз	6	5	>0,05
	Альвеолярный протеиноз	2	2	>0,05
	Криптогенная организуемая пневмония	4	3	>0,05
	Идиопатический легочный фиброз	1	2	>0,05
	COVID-19	2	0	>0,05
	Бактериальная пневмония	1	1	>0,05
	Неспецифическая интерстициальная пневмония	2	4	>0,05
	Десквамативная пневмония	1	0	>0,05
	Респираторный бронхиолит-ИЗЛ	1	1	>0,05
	Лекарственно- индуцированное ИЗЛ	1	0	>0,05
	Трахеобронхолегочный амилоидоз	1	0	>0,05
	Метастатический кальциноз	1	0	>0,05
Поствоспалительный пневмофиброз	3	4	>0,05	

Чувствительность чрезбронхиальной биопсии с навигацией КЛЭМ составила 80,8%, а чувствительность чрезбронхиальной биопсии у подобранной методом псевдорандомизации 61,6%. При статистическом сравнении чувствительность чрезбронхиальной биопсии с навигацией КЛЭМ оказалась статистически значимо выше (таблица 28).

Таблица 28 - Сравнение чувствительности методик чрезбронхиальной биопсии с навигацией и без навигации КЛЭМ

Метод верификации	Основная группа (навигация КЛЭМ) N=73	Группа сравнения (без навигации КЛЭМ) N=73	p
Гистологическая верификация	53/73 (72,6%)	40/73 (54,8%)	<0,05
Люминисцентная бактериоскопия	5/25 (20,0%)	3/25 (12,0%)	>0,05
ПЦР	6/25 (24,0%)	5/25 (20,0%)	>0,05
Посев в жидкую питательную среду (ВАСТЕС)	8/25 (32,0%)	6/25 (24,0%)	>0,05
Чувствительность	59/73 (80,8%)	45/73 (61,6%)	<0,05

Таким образом, метод чрезбронхиальной биопсии под контролем КЛЭМ позволяет увеличить чувствительность методики.

При анализе материала в обеих исследуемых группах при выполнении чрезбронхиальной биопсии пневмотораксов или значимых кровотечений, требующих дополнительных методов остановки, не было. В обеих группах были отмечены только незначительные отклонения, не требующие коррекции (повышение температуры тела, дискомфорт в грудной клетке, кровохарканье в течение дня после процедуры) (таблица 29).

Таблица 29 – Осложнения и отклонения в обеих исследуемых группах во время и после процедуры чрезбронхиальной биопсии легкого

Название	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Легочное кровотечение объемом 20 мл	0	0	>0,05
Пневмоторакс	0	0	>0,05
Отклонения (не требующие коррекции)	3/73 (4,1%)	4/73 (5,6%)	>0,05

Из данных таблицы 29 следует, что использование КЛЭМ при навигации чрезбронхиальной биопсии не сопровождается большими рисками, чем обычная чрезбронхиальная биопсия.

42-м пациентам, диагноз которых не был установлен методом чрезбронхиальной биопсии, была выполнена видеоторакоскопическая биопсия легкого – 14 пациентов из группы с навигацией КЛЭМ и 28 пациентов из группы без навигации КЛЭМ.

Послеоперационные осложнения отмечены у одного пациента (2,4%) – продленный сброс воздуха, купированный установкой клапанного бронхоблокатора.

### **3.6 Результаты сравнения основных групп патологий по КЛЭМ-картине и определение диагностической значимости паттернов**

На основании полученных данных все пациенты были разделены на 6 групп по нозологическому принципу на основе клинико-рентгенологической и морфологической картины: : диссеминированный туберкулез легких, саркоидоз органов дыхания, нетуберкулезный микобактериоз, идиопатические интерстициальные пневмонии, болезни накопления и другие ДПЛ (гистиоцитоз Х, поражение легких при ревматоидном артрите, лекарственно-индуцированное ИЗЛ, COVID-19, бактериальная пневмония, пневмофиброз). Были сравнены частота паттернов у всех 6 групп пациентов. Наличие каждого паттерна хотя бы в одной из альвеолярных областей считалось положительным значением, отсутствие во всех областях – отрицательным (таблица 30).

Как видно из таблицы 30, паттерны увеличенного количества, уплотненных, утолщенных, дезорганизованных волокон и альвеолярного секрета были представлены во всех нозологических группах, а их частота статистически значимо не различалась. Паттерн включений отмечался только в группе болезней накопления, что было статистически значимо чаще ( $p < 0,001$ ), чем в других группах.



Таблица 30 - Сравнение частоты выявляемых паттернов у больных из разных групп патологий

Паттерн	Группы патологий (количество пациентов)						p
	ДТЛ (N=25)	СОД (N=24)	НТМБ (N=6)	ИИП (N=10)	БН (N=6)	Другие ДПЛ (N=9)	
Паттерн увеличенного количества волокон	17/25 (68%)	22/24 (91,7%)	6/6 (100%)	9/10 (90%)	5/6 (83,3%)	8/9 (88,9%)	>0,05
Паттерн уплотненных волокон	17/25 (68%)	18/24 (75,0%)	6/6 (100%)	8/10 (80%)	5/6 (83,3%)	6/9 (66,7%)	>0,05
Паттерн утолщенных волокон	18/25 (72%)	22/24 (91,7%)	5/6 (83,3%)	10/10 (100%)	5/6 (83,3%)	7/9 (77,8%)	>0,05
Паттерн дезорганизованных волокон	19/25 (76%)	18/24 (75,0%)	5/6 (83,3%)	8/10 (80%)	4/6 (66,7%)	8/9 (88,9%)	>0,05
Паттерн включений	0/25 (0%)	0/24 (0%)	0/6 (0%)	0/10 (0%)	6/6 (100%)	0/9 (0%)	<0,001
Паттерн альвеолярного секрета	23/25 (92%)	16/24 (66,7%)	6/6 (100%)	10/10 (100%)	6/6 (100%)	8/9 (88,9%)	>0,05

*Примечание: ДТЛ – диссеминированный туберкулез легких, СОД – саркоидоз органов дыхания, НТМБ – нетуберкулезный микобактериоз, ИИП – идиопатические интерстициальные пневмонии, БН – болезни накопления*

На основании этих данных была рассчитана диагностическая ценность КЛЭМ в диагностике болезней накопления по отношению ко всем остальным группам ДПЛ при выявлении данного паттерна (таблица 31).

Таблица 31 - Диагностическая значимость паттерна включений в дифференциальной диагностике болезней накопления и других групп ДПЛ

Диагностическая ценность теста	Значение (95% ДИ)
Чувствительность	100% (54,1% - 100,0%)
Специфичность	100% (95,1% - 100,0%)
Прогностическая ценность положительного результата	100% (54,1% - 100,0%)
Прогностическая ценность отрицательного результата	100% (95,1% - 100,0%)
Точность	100% (95,5% - 100,0%)

Таким образом, метод КЛЭМ обладает максимальной чувствительностью и специфичностью для болезней накопления по отношению к «золотому стандарту» - биопсии легкого. Это позволяет утверждать, что данная методика может использоваться для диагностики болезней накопления без необходимости морфологической верификации.

В связи с тем, что, как было показано выше, альвеолярные клетки всегда визуализируются у курящих больных, были сравнены частоты этого паттерна среди групп нозологий только у некурящих пациентов (таблица 32).

Таблица 32 - Сравнение частоты паттерна альвеолярных клеток у некурящих больных из разных групп патологий

Паттерн	Группы патологий (количество пациентов)						р
	ДТЛ (N=15)	СОД (N=17)	НТМБ (N=6)	ИИП (N=7)	БН (N=4)	Другие ДПЛ (N=6)	
Паттерн альвеолярных клеток у некурящих	15/15 (100%)	10/17 (58,8%)*	0/6 (0%)*	1/7 (14,3%)*	3/4 (75%)**	2/6 (33,3%)*	*<0,05  **>0,05

*Примечание: ДТЛ – диссеминированный туберкулез легких, СОД – саркоидоз органов дыхания, НТМБ – нетуберкулезный микобактериоз, ИИП – идиопатические интерстициальные пневмонии, БН – болезни накопления*

Из таблицы 32 видно, паттерн альвеолярных клеток во всех случаях (100%) встречался у некурящих пациентов с диссеминированным туберкулезом легкого. При этом частота этого паттерна статистически значимо чаще встречалась при туберкулезе в сравнении с другими нозологическими группами (за исключением болезней накопления).

Основываясь на полученных данных, были рассчитаны показатели диагностической ценности паттерна альвеолярных клеток в диагностике туберкулеза у некурящих больных с учетом 95% доверительного интервала (таблица 33). Поскольку ранее был выявлен характерный паттерн для болезней накопления, пациенты из этой группы болезней не учитывались при расчете диагностической значимости.

Таблица 33 - Диагностическая значимость паттерна альвеолярных клеток в выявлении туберкулеза в дифференциальной диагностике с другими группами ДПЛ

Диагностическая ценность теста	Значение (95% ДИ)
Чувствительность	100,0% (78,2% - 100,0%)
Специфичность	63,9% (46,2% -79,2%)
Прогностическая ценность положительного результата	53,6% (42,8%-64,1%)
Прогностическая ценность отрицательного результата	100% (79,1%-100%)
Точность	74,5% (60,4% -85,7%)

Таким образом, наличие паттерна альвеолярных клеток при КЛЭМ у некурящих больных с синдромом легочной диссеминации с высокой долей вероятности может свидетельствовать о туберкулезе (специфичность 63,9%), а отсутствие паттерна позволяет с высокой долей вероятности исключить туберкулез (прогностическая ценность отрицательного результата 100%).

Для оценки численного значения клинической значимости теста был использован Receiver Operating Characteristic (ROC) анализ и сосчитана площадь под кривой (AUC) (рисунок 23)

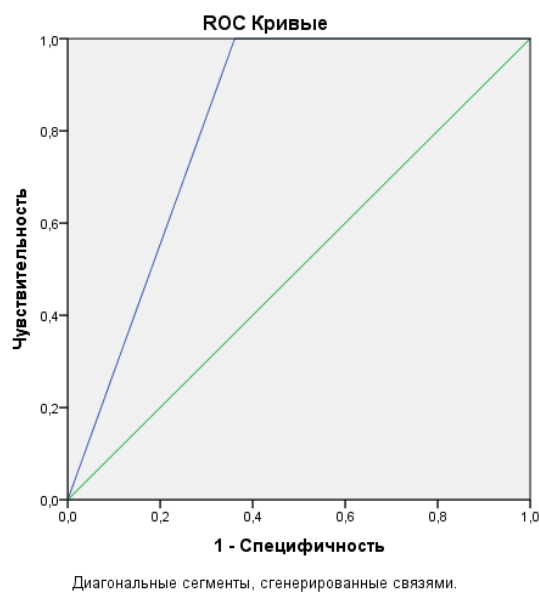


Рисунок 23 - ROC-кривая диагностической ценности КЛЭМ в диагностике туберкулеза среди других ДЗЛ (AUC=0,819) – синий цвет, диагональная опорная линия - зеленый цвет)

По полученным данным, качество модели КЛЭМ (площадь под кривой, AUC) при выявлении туберкулеза в группе с другими группами ДЗЛ – **0,819** (0,708-0,931, 95% ДИ), что оценивается как очень хорошее. Таким образом, выявление паттерна альвеолярных клеток у некурящих пациентов имеет высокую диагностическую ценность в диагностике туберкулеза.

### 3.7 Алгоритм использования конфокальной лазерной эндомикроскопии в диагностике диссеминированных процессов в легких

На основании полученных данных об эффективности и безопасности КЛЭМ для навигации чрезбронхиальной биопсии и диагностической ценности паттернов включений и альвеолярных клеток у некурящих больных и создан алгоритм применения конфокальной лазерной эндомикроскопии для диагностики диссеминированных процессов в легких (рисунок 24).

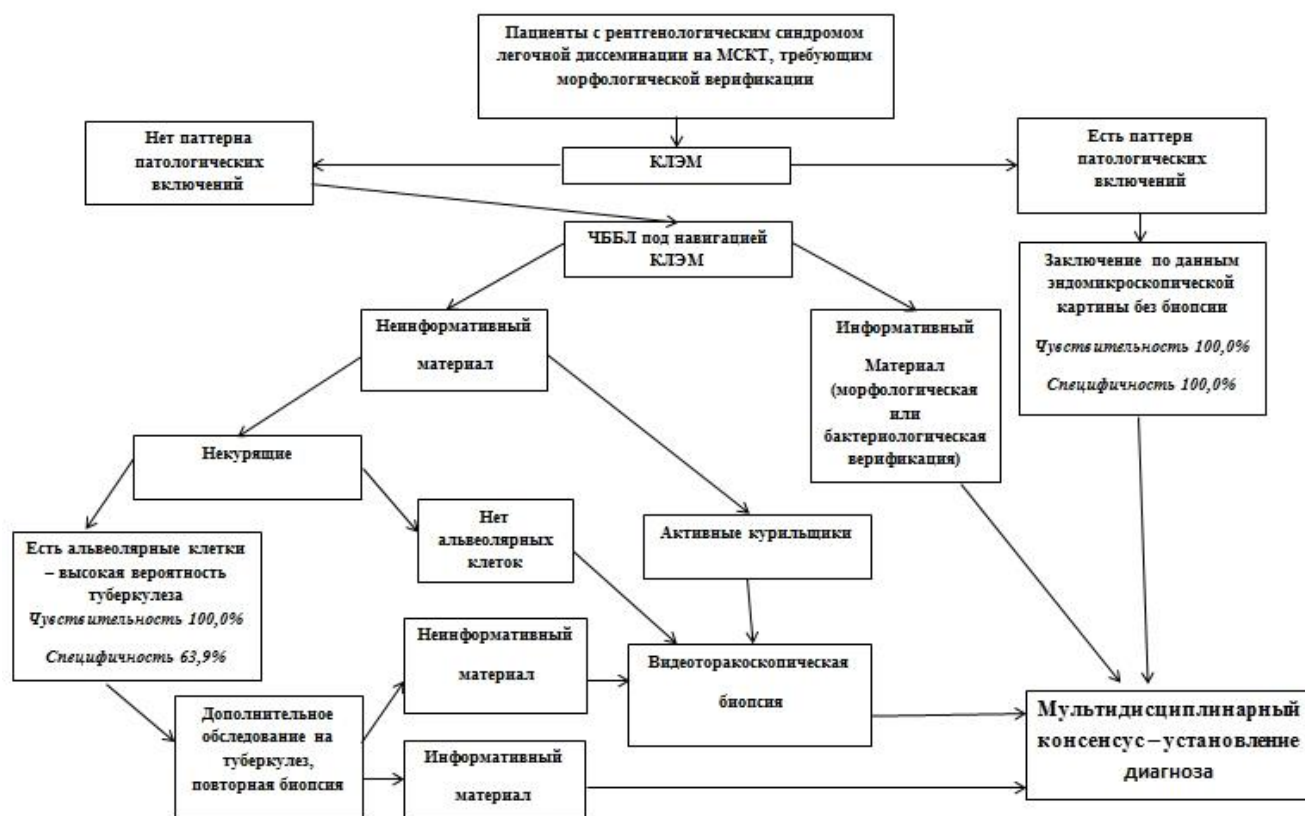


Рисунок 24 - Алгоритм использования КЛЭМ в диагностике диссеминированных процессов в легких

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дифференциальная диагностика диссеминированных процессов в легких затруднена и требует применения различных диагностических методик [1,11].

КЛЭМ – это новый метод миниинвазивной диагностики легочной ткани, роль которого в диагностике патологии легких изучена недостаточно. На настоящий момент нет исследований, посвященных изучению метода КЛЭМ в диагностике туберкулеза легких. Также существует лишь небольшое количество научных работ в мире, посвященных дифференциальной диагностике диссеминированных процессов в легких с помощью этого метода [8, 56, 68,74, 89].

В исследование было включено 80 пациентов с различными патологиями, объединенными рентгенологическим синдромом легочной диссеминации. При этом исследовано 406 легочных субсегментов, в каждом из которых было выполнено измерение доступных параметров и фиксировалось наличие или отсутствие характерных паттернов.

На основании изученной КЛЭМ-картины, было выделено 7 основных паттернов для диссеминированных заболеваний легких: паттерн увеличенного количества волокон, паттерн уплотнения волокон, паттерн утолщения волокон, паттерн дезорганизованных волокон, паттерн альвеолярных клеток, паттерн включений и паттерн альвеолярного секрета.

По данным установленного диагноза была проанализирована КЛЭМ-картина при различных заболеваниях легких и выполнено сопоставление с гистологической картиной. Анализ КЛЭМ-картины производился двумя исследователями с помощью соответствующего программного обеспечения. При этом уровень каппа-соглашения Коэна между исследователями варьировал от 0,61 (хороший уровень согласия) до 1,0 (полный уровень согласия), что говорит о том, что полученные данные воспроизводимы и выделенные нами паттерны КЛЭМ могут быть использованы в диагностике диссеминированных процессов в легких.

Также была адаптирована методика использования КЛЭМ для навигации при чрезбронхиальной биопсии. Чувствительность метода составила 80,8%. По полученным данным метод КЛЭМ для навигации при чрезбронхиальной биопсии оказался статистически значимо ( $p < 0,05$ ) более информативен, чем стандартная чрезбронхиальная биопсия в группе сравнения (80,8% против 61,6%).

Единственная научная статья, посвященная использованию КЛЭМ в качестве навигации эндоскопической бронхоскопической биопсии при ДПЛ, принадлежит L.Wijmans et al [88]. В данном случае авторами использовался метод чрезбронхиальной криобиопсии на небольшой группе пациентов (14 человек). Чувствительность составила 83%, при этом сравнения с сопоставимой группой без навигации КЛЭМ произведено не было. Кроме навигации КЛЭМ использовался рентгеноскопический контроль. В проведенном диссертационном исследовании кроме рентгеноскопического контроля использовалась также направляющая оболочка, которая позволяет более точно убедиться, что КЛЭМ и биопсия выполняются из той же области.

По результатам исследования среди всех диссеминированных процессов в легких КЛЭМ-картина наиболее специфична у пациентов с болезнями накопления (таких как альвеолярный протеиноз, трахеобронхолегочный амилоидоз, метастатический кальциноз), и характеризуется наличием патологических высокофлюоресцирующих включений в альвеолах. При этом каждая из трех перечисленных нозологий имеет характерные отличия при КЛЭМ. Впервые в мире было получено КЛЭМ-изображение при метастатическом кальцинозе, которое представляет собой наличие округлых флюоресцирующих структур в легочном интерстиции, соответствующих кальцинатам при гистологической картине. В связи с высокой чувствительностью (100%) и специфичностью (100%) метод КЛЭМ можно рекомендовать при необходимости подтверждения болезней накопления, когда есть риск осложнений при биопсии.

Впервые в проведенном исследовании была изучена эндомикроскопическая картина при диссеминированном туберкулезе легкого и выявлена диагностическая ценность КЛЭМ в диагностике туберкулеза. Впервые отмечено, что при



туберкулезе легкого у некурящих больных достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) встречаются альвеолярные клетки, чем при других диссеминированных процессах в легких. Также отмечено, что активное курение, способствующее дополнительной флюоресценции альвеолярных клеток из-за накопления табачных смол, является ограничением для диагностики туберкулеза методом КЛЭМ.

Другим ограничением КЛЭМ является субъективная оценка исследуемой картины, что может приводить к неверной их интерпретации, если исследователь имеет недостаточно опыта в трактовке получаемых изображений. D. Bondesson et al. (2020) опубликовали статью о возможностях диагностики методом КЛЭМ с помощью математического алгоритма. Полностью автоматический алгоритм, основанный на анализе различий средней толщины эластических волокон, стандартного отклонения толщины и структуры связей, позволил отличить ткань здорового легкого от патологической при КЛЭМ у пациентов с такими заболеваниями как идиопатический легочный фиброз, неспецифическая интерстициальная пневмония, криптогенная organizing pneumonia и гиперчувствительный пневмонит [31]. Последующая разработка подобных алгоритмов может помочь снизить субъективность и повысить точность дифференциальной диагностики диссеминированных процессов в легких с помощью КЛЭМ.

На основании проведенного исследования был создан алгоритм использования КЛЭМ в инвазивной диагностике диссеминированных процессов в легких. Следование данному алгоритму может помочь рационально использовать данный метод в инвазивной диагностике диссеминированных процессов в легких.

## **ВЫВОДЫ:**

1. Конфокальная лазерная эндомикроскопия позволяет получить дополнительную информацию о состоянии легочной ткани во время бронхоскопического исследования, при этом картина диссеминированных процессов в легких представлена 7 основными паттернами. Паттерн альвеолярных клеток всегда присутствует у курящих вне зависимости от наличия или отсутствия патологии легких по данным компьютерной томографии, что ограничивает диагностические возможности метода.

2. Использование конфокальной лазерной эндомикроскопии для навигации чрезбронхиальной биопсии у пациентов с диссеминированными процессами в легких достоверно повышает информативность последней и не влияет на ее безопасность.

3. Выявление паттерна альвеолярных клеток при конфокальной лазерной эндомикроскопии у некурящих больных имеет высокую ценность в диагностике туберкулеза легких, а паттерна включений – в выявлении болезней накопления. Остальные паттерны (увеличенного количества волокон, уплотненного расположения волокон, утолщенных волокон, дезорганизованных волокон, альвеолярного секрета) неспецифичны и не позволяют производить дифференциальную диагностику между туберкулезом и различными диссеминированными процессами в легких.

4. Высокая информативность и безопасность конфокальной лазерной эндомикроскопии позволяет включить этот метод в алгоритм инвазивной диагностики диссеминированных процессов в легких.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. У пациентов с заболеваниями легких, сопровождающихся диссеминированным процессом, рекомендуется включать конфокальную эндомикроскопию в алгоритм дифференциальной диагностики.
2. У пациентов с характерным признаком болезней накопления (паттерн включений), выявленным при КЛЭМ, от выполнения биопсии можно воздержаться.
3. При выполнении чрезбронхиальной биопсии легких у пациентов с диссеминированными процессами в легких рекомендуется использовать КЛЭМ в качестве метода навигации
4. КЛЭМ может использоваться для диагностики диссеминированного туберкулеза легких у курящих пациентов только в качестве навигации.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В результате проведенного диссертационного исследования установлены основные КЛЭМ-паттерны, характерные для диссеминированных процессов в легких, описана ранее не изученная конфокальная эндомикроскопическая картина при некоторых нозологиях. Полученные данные открывают перспективы для создания атласа КЛЭМ заболеваний легких, который будет систематизировать полученные знания для практического применения.

В диссертационной работе впервые была изучена КЛЭМ-картина при диссеминированном туберкулезе и получены данные по преобладанию паттерна альвеолярных клеток у этой группы больных. Полученные результаты могут послужить основой для дальнейших исследований по созданию и внедрению экзогенных флюорофоров и флюоресцентных меток, увеличивающих специфичность методики в выявлении туберкулеза.

Также, перспективы дальнейшей разработки темы связаны с дальнейшим изучением информативности и безопасности использования КЛЭМ для навигации при чрезбронхиальной биопсии на большем клиническом материале, организации многоцентровых исследований и широкого внедрения положительного опыта диссертационной работы в деятельность медицинских организаций.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ДЗЛ – диссеминированные заболевания легких

ДПЛ – диссеминированные процессы в легких

ИЗЛ – интерстициальные заболевания легких

КЛЭМ – конфокальная лазерная эндомикроскопия

КТ – компьютерная томография

ЧББЛ- чрезбронхиальная биопсия легкого.

EBUS-TBNA- чрезбронхиальная игловая биопсия под контролем  
ультрасонографии

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Аверьянов, А.В. Конфокальная лазерная эндомикроскопия дыхательных путей – проблемы и перспективы / А.В. Аверьянов, О.В. Данилевская, Д.В. Сазонов [и др.] // Клиническая практика. - 2011. - №4. - С. 4-12.
2. Аверьянов, А.В. Редкие заболевания легких. Диагностика и лечение / А.В. Аверьянов, В.Н. Лесняк, Е.А. Коган. – М.: МИА, 2016. – С.12-13.
3. Акопов, А.Л. Хирургическая диагностика интерстициальных заболеваний легких / А.Л. Акопов, А.С. Агишев, Д.В. Дзадзуа, А.М.Лазарев, И.В.Чистяков // Пульмонология. - 2020. - Т.30, №1. – С.75-80.
4. Бородулина, Е.А. Диссеминированный туберкулез легких: современные аспекты / Е.А. Бородулина, Е.В. Яковлева // Наука и инновации в медицине. – 2017. – Т.2, №6.- С. 39-43.
5. Волков, И.А. Применение конфокальной лазерной сканирующей микроскопии в биологии и медицине / И.А. Волков, Н.В. Фриго, Л.Ф. Знаменская, О.Р. Катунина // Вестник дерматологии и венерологии. - 2014.- № 1. - С.17-24.
6. Герасин, В.А. Чрезбронхиальная биопсия легких в диагностике саркоидоза органов дыхания / В.А. Герасин, В.П. Молодцова, А.В. Деревянко, О.П. Баранова, И.В. Двораковская, А.А. Бажанов // Терапевтический архив. - 2008. - №4. - С. 43-46.
7. Гржибовский, А. М. Псевдорандомизация (propensity score matching) как современный статистический метод устранения систематических различий сравниваемых групп при анализе количественных исходов в наблюдательных исследованиях / А. М. Гржибовский, С. В. Иванов, М. А. Горбатова, А. А. Дюсупов // Экология человека. – 2016. – №7. – С. 51-60.
8. Данилевская, О.В. Морфометрические взаимосвязи между данными конфокальной лазерной эндомикроскопии нижних дыхательных путей, компьютерной томографии высокого разрешения и световой микроскопии у пациентов с диффузными паренхиматозными заболеваниями легких / О.В.

Данилевская, А.В. Аверьянов, А.Л. Черняев, Самсонова, М.В. Лесняк В.Н., А.Р.Татарский // Практическая пульмонология. - 2019. - №1. - С.52-64.

9. Данилевская, О.В. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике заболеваний легких: дисс. докт. мед. наук: 14.01.25, 14.01.17 / Олеся Васильевна Данилевская - Москва, 2018. – С.89-91.

10. Данилевская, О.В. Особенности проведения конфокальной лазерной эндомикроскопии дистальных дыхательных путей и принципы морфометрического анализа / О.В. Данилевская, А.В. Сорокина, А.В. Аверьянов, Д.В. Сазонов, Ф.Г. Забозлаев, О.П. Кузовлев, О.Р. Шабловский, А.Г. Сотникова, Ю.Д. Удалов // Эндоскопическая хирургия. – 2013. – № 5. – С. 28-36.

11. Илькович, М.М. Интерстициальные и орфанные заболевания легких / под. ред. М.М. Ильковича. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – С. 15-27

12. Кизименко, Н.Н. Сравнительная эффективность лучевых методов в дифференциальной диагностике интерстициальных заболеваний легких / Н.Н. Кизименко, Е.В. Болотова, Е.А. Литвиненко // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10 (часть 5). – С. 893-896.

13. Кудряшов, Г.Г. Использование трансбронхиальной аспирации лимфатических узлов средостения под контролем ультразвукового исследования в дифференциальной диагностике туберкулезного лимфаденита у больных с лимфаденопатией средостения / Г.Г. Кудряшов, И.В. Васильев, И.А. Зайцев [и др.] // Медицинский Альянс. - 2017. - № 2. - С.35-42.

14. Мишин, В.Ю. Диагностика и дифференциальная диагностика гематогенно-диссеминированного туберкулеза легких / В.Ю. Мишин, О.В. Демихова, Н.В. Кузьмина // Consilium Medicum. - 2002. - Т.4, № 9.- С. 497-506.

15. Палеев, Н.Р. Руководство по болезням органов дыхания / Под редакцией Н.Р. Палеева. - М.: Медицина, 2000. — С. 152.

16. Рыбакова, М.Г. Иммуноморфологическая характеристика гистиоцитоза из клеток Лангерганса в легких / М.Г. Рыбакова, И.В. Двораковская, В.В. Байков, Е.В. Маркусевиц // Архив патологии. - 2008. - Т. 70, №4. – С. 3-5.

17. Самсонова, М.В. Трансбронхиальная криобиопсия легкого / М.В. Самсонова, А.Л. Черняев // Практическая пульмонология. - 2018. - №1. –С. 53.
18. Соколов, В.В. Современная бронхоскопическая диагностика раннего центрального рака легкого (обзор литературы) / В.В. Соколов, Д.В. Соколов, С.С. Пирогов, А.Д. Каприн, А.Б. Рябов, Н.Н. Волченко, Ю.Л. Кудрявцева, А.А. Струнина // Медицинский совет. - 2016. - №15. - С.65.
19. Тюрин, И.Е. Компьютерная томография органов грудной полости / И. Е. Тюрин. - СПб.: Элби-СПб, 2003. - С.324.
20. American Thoracic Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. - 2002.- Vol. 165, №2: P. 277–304.
21. Andersen, H.A. Transbronchoscopic lung biopsy in diffuse pulmonary disease / A.H. Andersen, R. S. Fontana, E.G. Harrison Jr. // Chest. -1965. -Vol. 48, №2. - P.187-192.
22. Andersen, H.A. Transbronchial lung biopsy for diffuse pulmonary disease. Results in 939 patients / A.H. Andersen // Chest. -1978.- Vol.73 (5 Suppl). - P. 734–736.
23. Antoniou, K.M. Interstitial lung disease / K.M. Antoniou, G.A. Margaritopoulos, S. Tomassetti, F. Bonella, U. Costabel, V.Poletti // Eur Respir Rev.- 2014. - Vol.23. - P. 40-54.
24. Arenberg, D. A. Proposed Classification Of Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy (pCLE) Findings For Evaluation Of Indeterminate Peripheral Lung Nodules / D. A. Arenberg, T. Gildea, D. Wilson // Am J Respir Crit Care Med. -2011.- Vol.183:A6097.
25. Asenov, R. Video-assisted thoracoscopic procedure in the diagnosis and treatment of lung lesions / R. Asenov, D. Iuordanov // Khirurgiia (Sofia).—2000.— Vol. 56.—P. 8–11.
26. Auerswald, U. Value of CD-1-positive cells in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary histiocytosis X / U. Auerswald, J. Barth, H. Magnussen // Lung. -1991. - Vol.169, №6. – P.305-9.



27. Ayed, A.K. Thoracoscopy versus open lung biopsy in the diagnosis of interstitial lung disease: a randomized controlled trial / A.K. Ayed, R. Raghunathan // *J. R. Coll. Surg. Edinb.* —2000.—Vol. 45.—P.156–163.
28. Babiak, A. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies / A. Babiak, J. Hetzel, G. Krishna, P. Fritz, P. Moeller, T. Balli, M. Hetzel // *Respiration.* - 2009.- Vol.78, №2.- P. 203-8.
29. Bensard, D.D. Comparison of video thoracoscopic lung biopsy to open lung biopsy in the diagnosis of interstitial lung disease // D.D. Bensard, R.C. McIntyre Jr, B.J. Waring, J.S. Simon // *Chest.* -1993.- Vol.103, №3.- P. 765-70.
30. Bilaçeroğlu, S. Combining transbronchial aspiration with endobronchial and transbronchial biopsy in sarcoidosis / S. Bilaçeroğlu, K. Perim, O. Günel, U. Cağirici, M. Büyüksirin // *Monaldi Arch Chest Dis.* -1999.- Vol. 54, №3.- P.217-23.
31. Bondesson, D. Automated evaluation of probe-based confocal laser endomicroscopy in the lung / D. Bondesson, M.J.Schneider, E. Silbernagel, J.Behr, F. Reichenberger, J. Dinkel // *PLoS One.* - 2020.- Vol.15, №5.-e0232847.
32. Bonetti, F. Transbronchial biopsy in lymphangiomyomatosis of the lung. HMB45 for diagnosis / F. Bonetti, P.L. Chiodera, M. Pea, G. Martignoni, F. Bosi, G. Zamboni, G.M. Mariuzzi // *Am J Surg Pathol.* -1993.- Vol.17, №11-P.1092-102
33. Casoni, G.L. Transbronchial Lung Cryobiopsy in the Diagnosis of Fibrotic Interstitial Lung Diseases / G.L. Casoni, S.Tomassetti, A. Cavazza, T.V. Colby, A. Dubini, J.H. Ryu, E. Carretta, P. Tantalocco, S. Piciucchi, C. Ravaglia, C. Gurioli, M. Romagnoli, C. Gurioli, M. Chilosi, V. Poletti // *PLoS One.* - 2014. - Vol.9, №2: e86716.
34. Chan, A. Radial endobronchial ultrasound in diagnosing peripheral lung lesions in a high tuberculosis setting / A. Chan, A. Devanand, , S.Y. Low [et al.] // *BMC Pulm Med.*- 2015.- Vol.15: 90
35. Danilevskaya, O. Confocal laser endomicroscopy for diagnosis and monitoring of pulmonary alveolar proteinosis / O. Danilevskaya, A. Averyanov, V. Lesnyak [et al.] // *J Bronchology Interv Pulmonol.* - 2015. - Vol. 22, №1. - P. 33-40.

36. Durheim, M.T. Mortality and Respiratory Failure After Thoracoscopic Lung Biopsy for Interstitial Lung Disease / M.T. Durheim, S. Kim, B.C. Gulack [et al.] // *Ann Thorac Surg.*- 2017.- Vol. 104, № 2.- P. 65-470.
37. Fuchs, F.S. Confocal laser endomicroscopy for diagnosing lung cancer in vivo / F.S. Fuchs, S. Zirlik, K. Hildner [et al.] // *Eur Respir J.*- 2013.- Vol. 41.- P.1401—1408.
38. Fuchs, F.S. Fluorescein-Aided Confocal Laser Endomicroscopy of the Lung / F.S. Fuchs, S. Zirlik, K. Hildner [et al.] // *Respiration.* - 2011.- Vol.81, №1. - P. 32-8.
39. Gilman, M.F. Transbronchial biopsy in sarcoidosis. An approach to determine the optimal number of biopsies / M.F. Gilman, K.P. Wang // *Am Rev Respir Dis.*-1980.- Vol.122.- P. 721–4.
40. Hassan, T. A Novel Method for In Vivo Imaging of Solitary Lung Nodules Using Navigational Bronchoscopy and Confocal Laser Microendoscopy / T. Hassan, N. Piton, S. Lachkar, M. Salaün, L.Thiberville // *Lung.*-2015.- Vol.193, №5.- P.773-8.
41. Hoff, C.R. Elastin gene expression is upregulated during pulmonary fibrosis / C.R. Hoff, D.R. Perkins, J.M. Davidson // *Connect Tissue Res.*-1999.- Vol. 40, №2.- P.145-53.
42. Housini, I. Transbronchial biopsy in patients with pulmonary eosinophilic granuloma. Comparison with findings on open lung biopsy / I. Housini, J.F. Tomashefski Jr, A. Cohen, J. Crass, J. Kleinerman // *Arch Pathol Lab Med.*- 1994. - Vol.118, №5. - P. 523-30.
43. Hunninghake, G.W. ATS/ERS/WASOG Statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders /G.W. Hunninghake, U. Costabel, M. Ando [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.*-1999. - Vol. 160.- P. 736–55.
44. Jacomelli, M. Bronchoscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with negative sputum smear microscopy results / M. Jacomelli, P.R. Silva, A.J. Rodrigues [et al.] // *J Bras Pneumol.* - 2012.- Vol. 38, P.167–173.
45. Johannson, K.A. Diagnostic Yield and Complications of Transbronchial LungCryobiopsy for Interstitial Lung Disease. A Systematic Review and Metaanalysis /

K.A. Johansson, V.S. Marcoux, P.E. Ronksley, C.J.Ryerson // *Ann Am Thorac Soc.*- 2016.- Vol.13, №10.- P. 1828-1838.

46. Johnson, S.R. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis and management of lymphangiomyomatosis / S.R. Johnson, J.F. Cordier, R. Lazor [et al.] and the Review Panel of the ERS LAM Task Force // *Eur Respir J.*- 2010.- Vol. 35.- P.14–26

47. Karstensen, J.G. Molecular confocal laser endomicroscopy: a novel technique for in vivo cellular characterization of gastrointestinal lesions / J.G. Karstensen, P.H. Klausen, A. Saftoiu, P.Vilmann // *World J Gastroenterol.*- 2014.- Vol. 20, №24.- P.7794-800.

48. Kiesslich, R. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo / R. Kiesslich, J. Burg, M. Vieth, J. Gnaendiger, M. Enders, P. Delaney, A. Polglase, W. McLaren, D. Janell, S. Thomas, B. Nafe, P.R. Galle, M.F. Neurath // *Gastroenterology.* -2004.-Vol.127, №3.- P.706-13.

49. Koba, T. Efficacy and safety of transbronchial lung biopsy for the diagnosis of lymphangiomyomatosis: A report of 24 consecutive patients / T. Koba, T. Arai, M. Kitaichi, T. Kasai, M.Hirose, K.Tachibana, C. Sugimoto, M. Akira, S. Hayashi, Y. Inoue // *Respirology.*- 2017.- Vol. 23, №3.- P.331-338.

50. Koerner, S.K. Transbronchial lung biopsies for the diagnosis of sarcoidosis / S.K. Koerner, A.J. Sakowitz, R.I. Appelman, N.H. Becker, S.W. Schoenbaum // *N Engl J Med.*-1975.- Vol. 293- P. 268–70.

51. Kreuter, M. Exploring Clinical and Epidemiological Characteristics of Interstitial Lung Diseases: Rationale, Aims, and Design of a Nationwide Prospective Registry--The EXCITING-ILD Registry / M. Kreuter, F.J. Herth, M. Wacker, R. Leidl, A. Hellmann, M. Pfeifer, J. Behr, S. Witt, D. Kauschka, M. Mall, A. Günther, P.Markart // *Biomed Res Int.*- 2015; 2015:123876.

52. Lai, R.S. Diagnostic value of transbronchial lung biopsy under fluoroscopic guidance in solitary pulmonary nodule in an endemic area of tuberculosis / R.S. Lai, S.S. Lee, Y.M. Ting [et al.] // *Respir Med.*-1996.- Vol. 90.- P.139–143.

53. Last, J.A. New model of progressive pulmonary fibrosis in rats / J.A. Last, T.R. Gelzleichter, K.E. Pinkerton, R.M. Walker, H. Witschi // *Am Rev Respir Dis.*-1993.- Vol.148, №2.- P.487-94.
54. Levin, D.C. Transbronchial lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope / D.C. Levin, A.B. Wicks, J.H. Ellis Jr. // *Am Rev Respir Dis.*-1974.- Vol. 110, №1.- P. 4-12.
55. Mehta, A. Interventional bronchoscopy / A. Mehta, P. Jain. -2013.- NY.: Humana Totowa, NJ. - P. 15-44.
56. Meng, P. Fibred confocal fluorescence microscopy in the diagnosis of interstitial lung diseases / P. Meng, G.L. Tan, S.Y. Low, A. Takano, Y.L. Ng, D. Anantham // *J Thorac Dis.*-2016.- Vol. 8, №12.- P. 3505-3514.
57. Meraj, R. Utility of transbronchial biopsy in the diagnosis of lymphangiomyomatosis / R. Meraj, K.A. Wikenheiser-Brokamp, L.R. Young, S. Byrnes, F.X. McCormack // *Front Med.* 2012.- Vol. 6, №4. – P. 395-405.
58. Mikolasch, T.A. Update in diagnosis and management of interstitial lung disease / T.A. Mikolasch, H.S. Garthwaite, J.C. Porter // *Clin Med (Lond).* - 2016.- Suppl 6.- P.71-78.
59. Mills, B. Optical Screening of Novel Bacteria-specific Probes on Ex Vivo Human Lung Tissue by Confocal Laser Endomicroscopy / B. Mills, A.R. Akram, E. Scholefield, M. Bradley, K.Dhaliwal // *J Vis Exp.*- 2017. - 29;(129):56284.
60. Mok, Y. Do we need transbronchial lung biopsy if we have bronchoalveolar lavage Xpert(®) MTB/RIF? / Y. Mok, T.Y.Tan, T.R. Tay [et al.] // *Int J Tuberc Lung Dis.*-2016.- Vol.20. - P. 619–624
61. Newton, R.C. Tracheobronchial amyloidosis and confocal endomicroscopy / R.C. Newton, S.V. Kemp, G.Z. Yang, A. Darzi, M.N. Sheppard, P.L. Shah // *Respiration.* -2011.-Vol. 82, №2. -P. 209-11.
62. Newton, R.C. Imaging parenchymal lung diseases with confocal endomicroscopy / R.C. Newton, S.V. Kemp, G.Z. Yang, D.S. Elson, A. Darzi, P.L. Shah // *Respir Med.*- 2012.- Vol.106, №1.- P.127-37.

63. Obstoy, B. Safety and performance analysis of acriflavine and methylene blue for in vivo imaging of precancerous lesions using fibered confocal fluorescence microscopy (FCFM): an experimental study / B. Obstoy, M. Salaün, L. Veresezan, R. Sesboüé, P. Bohn, F.X. Boland, L.Thiberville // BMC Pulm Med.- 2015. -15:30
64. Pauly, J. Fluorescent human lung macrophages analyzed by spectral confocal laser scanning microscopy and multispectral cytometry / J. Pauly, E. Allison, E. Hurley [et al.] // Microsc Res Techn. - 2005.- Vol.67, №2. - P.79-89.
65. Raghu, G. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management / G. Raghu, H.R. Collard, J.J. Egan, F.J. Martinez [et al.] // Am J Respir Crit Care Med.-2011.- Vol.183, №6.- P.788-824.
66. Rodrigues, I. Diagnostic yield and safety of transbronchial lung cryobiopsy and surgical lung biopsy in interstitial lung diseases: a systematic review and meta-analysis / I. Rodrigues, R. Estêvão Gomes, L.M. Coutinho [et al.] // Eur Respir Rev.- 2022.- 31: 210280
67. Roethe, R. A. Transbronchial lung biopsy in sarcoidosis. Optimal number and sites for diagnosis / R.A. Roethe, P. B. Fuller, R. B. Byrd, D. R. Hafermann // CHEST. - 1980.- Vol. 77, №3.-P.400-2
68. Salaün, M. In vivo probe-based confocal laser endomicroscopy in chronic interstitial lung diseases: Specific descriptors and correlation with chest CT / M. Salaün, F. Guisier, S. Dominique, A. Genevois, V. Jounieaux, E. Bergot, C. Thill, N. Piton, L. Thiberville // Respirology. – 2019. - Vol. 24, №8.- P.783-791.
69. Salaün, M. In vivo probe-based confocal laser endomicroscopy in amiodarone-related pneumonia / M. Salaün, F. Roussel, G. Bourg-Heckly, C. Vever-Bizet, S. Dominique, A. Genevois, V. Jounieaux, G. Zalcman, E. Bergot, J.M. Vergnon, L. Thiberville // Eur Respir J.-2013.- Vol. 42, №6. - P.1646-58.
70. Salaün, M. In vivo imaging of pulmonary alveolar proteinosis using confocal endomicroscopy / M. Salaün, F. Roussel, P.-A. Hauss [et al.] // J Eur Respir. - 2010.- Vol. 36. - P. 451–453.

71. Schnabel, A. Efficacy of transbronchial biopsy in pulmonary vacuolities / A. Schnabel, K. Holl-Urich, K. Dalhoff [et al.] // *Eur Respir J.* - 1997.- Vol.10, №12.- P. 2738-43.
72. Shulimzon, TR. Real-time vision of a sarcoid granuloma at bronchoscopy / T.R. Shulimzon // *Am J Respir Crit Care Med.*- 2013. - Vol.187, №7. - P.776.
73. Shulimzon, TR. Reply: is it actually a pCLE image of a sarcoid granuloma? / T.R. Shulimzon // *Am J Respir Crit Care Med.*- 2014. - Vol.189, №2. - P.236.
74. Sibernagel, E. Bronchoscopic Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy to Diagnose Diffuse Parenchymal Lung Diseases // E. Sibernagel, E. Stacher-Priehse, J. Dinkel, H. Stepp, W. Gesierich, M. Lindner, J. Behr, F. Reichenberger // *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.*- 2022. - Vol. 39, №2: e2022016. Epub 2022 Jun 29.
75. Simpson, FG. Postal survey of bronchoscopic practice by physicians in the United Kingdom / F.G. Simpson, A.G. Arnold, A. Purvis, P.W. Belfield, M.F. Muers, N.J. Cooke // *Thorax.* - 1986.- Vol. 41, №4.- P.311-7.
76. St. Croix, C.M. Intravital fluorescence microscopy in pulmonary research / C.M. St. Croix, K. Leelavanichkul, S.C. Watkins // *Adv Drug Deliv Rev.*-2006.- Vol. 58, №7.- P.834-40.
77. Tamura, A. The value of fiberoptic bronchoscopy in culture-positive pulmonary tuberculosis patients whose pre-bronchoscopic sputum specimens were negative both for smear and PCR analyses / A. Tamura, M. Shimada, Y. Matsui [et al.] // *Intern Med.*- 2010.- Vol. 49.- P. 95–102.
78. Theron, G. Accuracy and impact of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid / G. Theron, J. Peter, R. Meldau [et al.] // *Thorax.* - 2013. -Vol. 68.- P.1043–1051.
79. Thiberville, L. In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy / L. Thiberville, S. Moreno-Swirc, T. Vercauteren, E. Peltier, C. Cavé, G. Bourg Heckly // *Am J Respir Crit Care Med.*-2007.- 175, №1. - P. 22-31.

80. Thiberville, L. Confocal fluorescence endomicroscopy of the human airways / L. Thiberville, M. Salaün, S. Lachkar, S. Dominique, S. Moreno-Swirc, C. Vever-Bizet, G. Bourg-Heckly // *Proc Am Thorac Soc.* - 2009.- Vol.6, №5.-P.444-9.
81. Travis, W.D. Pulmonary Langerhans cell granulomatosis (histiocytosis X). A clinicopathologic study of 48 cases / W.D. Travis, Z. Borok, J.H. Roum, J. Zhang, I. Feuerstein, V.J. Ferrans, R.G. Crystal // *Am J Surg Pathol.* -1993. - Vol.17, №10. - P. 971-86.
82. Travis, W.D. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias / W.D. Travis, U. Costabel, D.M. Hansell [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*-2013.- Vol.188, №6. - P.733–748.
83. Trisolini, R. Rapid on-site evaluation of transbronchial aspirates in the diagnosis of hilar and mediastinal adenopathy: a randomized trial / R. Trisolini, A.Cancellieri, C.Tinelli [et al.] // *Chest.*- 2011.- Vol. 139. - P. 395–401.
84. Trisolini, R. Transbronchial needle aspiration improves the diagnostic yield of bronchoscopy in sarcoidosis / R. Trisolini, L. Lazzari Agli, A. Cancellieri, V. Poletti, P. Candoli, D. Paioli, M. Alifano, C. Tinelli, M. Patelli // *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.*- 2004.-Vol. 21, №2. - P.147-51.
85. Utz, J.P. High short-term mortality following lung biopsy for usual interstitial pneumonia / J.P. Utz, I.H. Ryu, W.W. Douglas [et al.] // *Eur.Respir. J.*— 2001.—Vol. 17, № 2.—P. 175–179.
86. Valeyre, D. Interstitial lung diseases. Respiratory Epidemiology (ERS Monograph). / D. Valeyre, B. Duchemann, H. Nunes, Y. Uzunhan, I. Annesi-Maesano – ERS, 2014.- Vol. 65. - P.79-88.
87. Wang, K.-P. Flexible bronchoscopy. Fourth Edition / K.-P. Wang, A. Mehta, J. F. Turner Jr. - Wiley-Blackwell, 2020.- P. 207-221.
88. Wijmans, L. Confocal Laser Endomicroscopy as a Guidance Tool for Transbronchial Lung Cryobiopsies in Interstitial Lung Disorder / L. Wijmans, P.I. Bonta, R. Rocha-Pinto, D.M. de Bruin, P. Brinkman, R.E. Jonkers, J.J.T.H. Roelofs, V. Poletti, J. Hetzel, J.T. Annema // *Respiration.*-2019.- Vol. 97, №3.- P.259-263.

89. Wijmans, L. Bronchoscopic Journey of in vivo Real-Time Microscopic Imaging in ILD: A Case Series / L. Wijmans, K. Kalverda, D. de Bruin, P. Brinkman, I. van den Berk, J.J.T.H. Roelofs, R. Jonkers, P.I.Bonta, J. Annema // *Respiration*.- 2022.- P. 1-9. Online ahead of print.
90. Willcox, P.A. Rapid diagnosis of sputum negative miliary tuberculosis using the flexible fiberoptic bronchoscope / P.A Willcox, P.D. Potgieter, E.D. Bateman [et al.] // *Thorax*. -1986.- Vol.41.- P.681–684
91. Yserbyt, J. Pulmonary alveolar microlithiasis and probe-based confocal laser endomicroscopy / J. Yserbyt, T. Alamé, C. Doods, V. Ninane // *J. Bronchology Interv Pulmonol*. - 2013.- Vol. 20, №2.- P. 159-63.
92. Yserbyt, J. Acute lung allograft rejection: diagnostic role of probe-based confocal laser endomicroscopy of the respiratory tract / J. Yserbyt, C. Doods, M. Decramer, G.M. Verleden // *J Heart Lung Transplant*. -2014.- Vol. 33, №5. P. 492-8.