

# Konfokalna laserska endomikroskopija i njena primjena na KBC-u Zagreb/Centar za interventnu gastroenterologiju

---

Čor, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Dental Medicine and Health Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:243:964882>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-12**

*Repository / Repozitorij:*

[Faculty of Dental Medicine and Health Osijek  
Repository](#)



**SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA  
FAKULTET ZA DENTALNU MEDICINU I ZDRAVSTVO  
OSIJEK**

**Diplomski sveučilišni studij sestrinstva**

**Kristina Čor**

**KONFOKALNA LASERSKA  
ENDOMIKROSKOPIJA U  
GASTROENTEROLOGIJI I NJEZINA  
PRIMJENA U KBC ZAGREB**

**Diplomski rad**

**Sveta Nedelja, 2021.**

**SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA  
FAKULTET ZA DENTALNU MEDICINU I ZDRAVSTVO  
OSIJEK**

**Diplomski sveučilišni studij sestrinstva**

**Kristina Čor**

**KONFOKALNA LASERSKA  
ENDOMIKROSKOPIJA U  
GASTROENTEROLOGIJI I NJEZINA  
PRIMJENA U KBC ZAGREB**

**Diplomski rad**

**Sveta Nedelja, 2021**

Rad je ostvaren na Odjelu interventne gastroenterologije Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju KBC Zagreb - Rebro koji je referentni centar Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi.

Mentor: doc. dr. sc. Štefica Mikšić

Rad sadrži: 55 listova, 9 tablica i 1 prilog

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem dr. med. sc. Pavi Markošu i svojim radnim kolegama iz Odjela interventne gastroenterologije KBC Zagreb - Rebro na potpori, mentorici doc. dr. sc.Štefci Mikšić na pomoći, savjetima i znanju tijekom izrade diplomskog rada.

Diplomski rad posvećujem svojoj obitelji, roditeljima, bratu Josipu, šogorici Ivani i nećaku Filipu.

## SADRŽAJ:

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD.....  | 1  |
| 1.1. Rak probavnog sustava i suvremena endoskopska dijagnostika .....             | 1  |
| 1.1.2. Dijagnostika putem elastografije u endoskopskom ultrazvuku (EUZ-E) .....   | 2  |
| 1.1.3. Dijagnostika uskopojasnim spektrom Narrow-band imaging metodom (NBI) ..... | 3  |
| 1.1.4. Dijagnostika konfokalnom laserskom endomikroskopijom (CLE) .....           | 3  |
| 1.2. Konfokalna laserska endomikroskopija u gastroenterologiji .....              | 4  |
| 1.2.1. Konfokalna laserska endomikroskopija bazirana na sondi pCLE .....          | 5  |
| 1.2.2. Prednosti i nedostaci CLE .....  | 7  |
| 1.3. Barrettov jednjak i rak jednjaka .....                                       | 7  |
| 1.4. Konfokalna laserska endomikroskopija kod Barrettova jednjaka .....           | 9  |
| 2. HIPOTEZA.....  | 12 |
| 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....  | 13 |
| 4. ISPITANICI I METODE.....   | 14 |
| 4.1. Ustroj studije .....   | 14 |
| 4.2. Ispitanici .....   | 14 |
| 4.3. Metode.....  | 14 |
| 4.3.1. Statistička metoda .....   | 15 |
| 5. REZULTATI .....  | 16 |
| 6. RASPRAVA .....   | 25 |
| 7. ZAKLJUČAK.....   | 34 |
| 8. SAŽETAK .....  | 35 |
| 8. SUMMARY .....  | 36 |
| 9. LITERATURA .....   | 37 |
| 10. ŽIVOTOPIS .....   | 45 |
| 11. PRILOZI.....  | 46 |

## **POPIS KRATICA I OZNAKA**

AGA - Američko gastroenterološko društvo (engl. American Gastroenterological Association)

APK - Argon plazma koagulacija

BE - Barrettov jednjak (engl. Barrett esophagus)

CLE - Konfokalna laserska endomikroskopija

pCLE - Konfokalna laserska endomikroskopija bazirana na sondi (engl. probe - based CLE)

EGD - Ezofagogastroduodenoskopija

EUZ - Endoskopski ultrazvuk

EMR - Endoskopska mukozna resekcija (engl. Endoscopic mucosal resection)

ESD - Endoskopska submukozna disekcija (engl. Endoscopic submucosal dissection)

EAC - Rani adenokarcinom (engl. early adenocarcinoma)

ESGE - Europska udruga za gastrointestinalnu endoskopiju (engl. European Society of Gastrointestinal Endoscopy)

ESGENA - Europska udruga medicinskih sestara u gastroenterologiji i endoskopiji (engl. European Society of Gastroenterology and Endoscopy Nurses and Associates)

FAP - Familijarna adenomatozna polipoza

GEJ - Gastroezofagealni spoj (engl. gastroesophageal junction)

GERB - Gastroezofagealna refluksna bolest

GI - Gastrointestinalni trakt

HGD - Displazija visokog stupnja (engl. high grade dysplasia)

HDWLE - Pregled visoke rezolucije s bijelim svjetlom (engl. High-definition white light)

IBD - Upalna bolest crijeva (engl. Inflammatory bowel disease)

IPP - Inhibitori protonske pumpe

LGD - Displazija niskog stupnja (engl. low-grade dysplasia)

LSBE - Dugački Barrettov jednjak (engl. long segment Barrett esophagus)

NBI- Pregled uskopojasnim spektrom (engl. Narrow band imaging)

RFA - Radiofrekventna ablacija

SSBE - Kratki Barrettov jednjak (engl. Short segment Barrett esophagus)

TNM - Klasifikacija proširenosti tumora, (engl. Tumor lymph Node metastasis distant Metastasis)



## 1. UVOD

Ovo je istraživanje provedeno na Odjelu interventne gastroenterologije Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju KBC Zagreb koji je Referentni centar Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi. Praćenje suvremenih smjernica u radu i inovacije na ovom području osiguralo je Odjelu interventne gastroenterologije KBC-a Zagreb da postane službeni trening centar Europe za liječnike (engl. European Society of Gastrointestinal, ESGE) i za medicinske sestre/tehničare (engl. European Society of Gastroenterology and Endoscopy Nurses and Associates, ESGENA).

Konfokalna laserska endomikroskopija (CLE) (1) označava jednu od novijih metoda u gastrointestinalnoj endoskopiji. Riječ je o metodi kojom je omogućen prikaz epitela i to u njegovom poprečnom presjeku dok je razlučivost približno 1 mikron. Naime, konfokalna laserska endoskopija je sposobna „in vivo“ vizualizirati stanice te stanične strukture, a ujedno i kapilare te crvene krvne stranice (2). Uporabom konfokalne laserske endomikroskopije bazirane na sondi pCLE (3) moguće je vidjeti i videosnimke protoka krvi na kapilarnoj razini. Ova metoda ima stoga veliki potencijal za olakšavanje te za provođenje adekvatne dijagnostike ranih premalignih lezija probavnog trakta što će u konačnici rezultirati i nešto manjom potrebom za nasumične biopsije. Drugim riječima, na ovaj način omogućuje se takozvana virtualna biopsija. Iz toga slijedi kako različite potencijalne primjene ove tehnologije uključuju otkrivanje premalignih promjena kao i ranih neoplazija u debelom crijevu kod pacijenata koje imaju upalnu bolest crijeva te Barrettovog jednjaka što u konačnici omogućuje ciljane biopsije te radikalnu endoskopsku intervenciju ranih neoplastičnih lezija GI trakta.

### 1.1. Rak probavnog sustava i suvremena endoskopska dijagnostika

Tumori probavnog sustava čine otprilike trećinu svih tumora u europskoj populaciji, a taj odnos unutar zloćudnih bolesti vrijedi i za našu zemlju. Rak probavnog sustava predstavlja vrlo značajan javnozdravstveni problem današnjeg stanovništva Republike Hrvatske. Ako bi se promatrali podaci Registra za rak, tada je moguće uočiti kako je incidencija raka debelog crijeva i rektuma upravo drugi prema učestalosti u oba spola dok je rak želuca četvrti u muškaraca, a peti u žena (4).

Rak jednjaka je prema incidenciji deveti najčešći rak u svijetu. Dobno standardizirane stope na svjetsku populaciju iznosile su 7,0/100 000 za incidenciju i 5,8/100 000 za mortalitet (5). U Hrvatskoj iznosi 2,66/100 000 stanovnika (6). S obzirom na mortalitet to je šesti najčešći uzrok smrti zbog karcinoma (5,4 % od svih umrlih zbog karcinoma) (5).

Incidencija karcinoma jednjaka češća je u muškaraca, čak dva do četiri puta češća nego u žena i raste s dobi. Zemlje s najvišom incidencijom raka jednjaka pripadaju tzv. azijskom pojasu (porast incidencije povezuje se s nitrozaminom koji se rabi za čuvanje hrane) (7). Adenokarcinom jednjaka je u porastu i u nekim razvijenim zemljama (SAD, sjeverna Europa) i povezuje se s debljinom i gastroezofagealnim refluksom (GERB). Međutim, manje od 10 % pacijenata s adenokarcinomom jednjaka ranije je imalo Barrettov jednjak (7).

Osnovne slikovne tehnike pri dijagnosticiranju tumora probavnog sustava uključuju standardnu endoskopiju bijelim svjetlom, kao i radiološke tehnike kao što su kompjutorizirana tomografija (MSCT), magnetska rezonancija (MR), endoskopska videokapsula (VCE) te druge klasične pretrage (8).

Vezano za ozbiljnost raka probavnog sustava, a da bi smanjili mortalitet, nužno je usmjeriti se na kreiranje nacionalnih strategija koje se odnose na prevenciju te na rano otkrivanje bolesti. Gastroenterologija danas doživljava intenzivne promjene s obzirom na nove dijagnostičke metode kojima se bolesti probavnog sustava mogu bolje dijagnosticirati, a dijelom i liječiti. Upravo u tom slučaju su terapijske mogućnosti vrlo široke, a jedna od takvih novijih je i endoskopska terapija. Na taj način dolazi do vrlo visoke stope petogodišnjeg preživljavanja kod navedenih pacijenata (8).

Sama ideja virtualne biopsije bila je vrlo privlačna brojnim kliničarima jer upravo ona predstavlja novu paradigmu pri provođenju dijagnostike tumora, odnosno upalnih bolesti probavnog sustava. Na taj je način omogućeno da se putem neinvazivnih postupaka dobiju određene informacije, tj. radi li se o malignom procesu ili se pak radi o upali. Na ovom području u posljednje vrijeme događaju se iznimno veliki pomaci. Alati su vrlo različiti dok su terapijske opcije brojne. U nastavku rada prikazat će se nekoliko dijagnostičkih i terapijskih endoskopskih metoda koje se koriste u rutinskoj praksi u KBC-u Zagreb. Naglasak će se naravno staviti na metodu koja je i glavna tema ovog rada, tj. na konfokalnu lasersku endomikroskopiju.

### **1.1.2. Dijagnostika putem elastografije u endoskopskom ultrazvuku (EUZ-E)**

Još prije dvadesetak godina elastografija u endoskopskom ultrazvuku (EUZ) je implementirana u gastroenterološku kliničku praksu. Upravo je ovim putem prikazan vrlo velik napredak u dijagnostici gastrointestinalnih bolesti. Endoskopski ultrazvuk je kombinacija endoskopa i ultrazvučne sonde koja se nalazi na njegovu vrhu. Indikacije za EUZ su mnogobrojne.

Najčešće se primjenjuje u dijagnostičke svrhe u dokazivanju zloćudnih novotvorina kao što su karcinomi jednjaka, želudca, gušterače, distalnog dijela žučovoda, karcinoma rektuma i sigme. Vrlo je pouzdana metoda u dijagnostici submukoznih tumora i u bolestima bilijarno-pankreatičnog sustava, posebno koledokolitijaze te procjeni tumorske uznapredovalosti (engl. staging) (8, 9).

U Barrettovu jednjaku bez displazije primjena EUZ-a neće donijeti novu i relevantnu informaciju. Pacijentima s Barrettovim jednjakom, s teškom displazijom ili intramukoznim karcinomom endosonografska je evaluacija korisna za donošenje odluke o primjeni kirurške resekcije ili mogućnosti endoskopske ablacijske terapije i/ili endoskopske resekcije (10).

### **1.1.3. Dijagnostika uskopojasnim spektrom Narrow-band imaging metodom (NBI)**

Jedna od modernijih metoda je i dijagnostika uskopojasnim spektrom (Narrow-band imaging - NBI). Endoskopski prikaz NBI-om predstavlja (engl. high-resolution) endoskopsku tehniku koja naglašava fine strukture mukozne površine bez upotrebe boje. NBI tehnologija omogućuje nam detaljni prikaz mukoznih i krvnožilnih abnormalnosti. Tom se metodom može napraviti i histološka karakterizacija polipa tijekom izvođenja endoskopije („in vivo“), tzv. virtualna biopsija. NBI tehnika zasniva se na fenomenu da dubina prodora svjetla u sluznicu ovisi o njegovoj valnoj dužini: što je veća valna dužina, penetracija je dublja. Bijelo svjetlo iz ksenonske lampe prolazi kroz RGB filter koji ga lomi u crveno, zeleno i plavo svjetlo te se obasjava sluznica po principu da plavo svjetlo prodire samo površinski dok crveno prodire u submukozu, a dodatno hemoglobin apsorbira i plavo svjetlo te tako omogućuje prikaz krvnih žila. Reflektirano crveno, zeleno i plavo svjetlo detektira se monokromatskim CCD („monochromatic charged coupled device“) uređajem koji se nalazi na vrhu endoskopa te se tri slike spajaju u jednu putem procesora (11).

Klasičnu endoskopsku pretragu pacijenata s Barrettovim jednjakom trebalo bi dopuniti narrow band imaging metodom (NBI). NBI se pokazao jednako učinkovit kao „slijepe“ biopsije u dokazu intestinalne metaplazije, a učinkovitiji u dokazu displazije ili ranog karcinoma (12, 13).

### **1.1.4. Dijagnostika konfokalnom laserskom endomikroskopijom (CLE)**

Konfokalna laserska endomikroskopija (CLE) je metoda kojom je omogućeno da se prilikom standardne endoskopije, i/ili prilikom intervencijskog endoskopskog ultrazvuka provodi analiza tkiva na mikroskopskoj razini „in vivo“.

Implementacija ove metode unutar prakse usmjerena je k lociranju i prepoznavanju svih suspektnih premalignih lezija kako bi došlo do provođenja ciljane tkivne biopsije. Drugim riječima, na ovaj način dolazi do endoskopske resekcije, tj. dolazi do postavljanja histološke dijagnoze na samome licu mjesta. Tehnički gledano, radi se o metodi koja se može primjenjivati u svim granama medicine koje imaju mogućnost uporabe endoskopije. Tako, primjerice, osim u gastroenterologiji ovom bi se metodom mogli koristiti i ginekolozi, ortopedi, urolozi te pulmolozi. Sonda koja se primjenjuje za konfokalnu lasersku endomikroskopiju je kompatibilna s radnim kanalima endoskopa, a ujedno i s posebno dizajniranim iglama za intervencijski endoskopski ultrazvuk. Sam je radijus pregleda u ovom slučaju proširen i izvan probavne cijevi.

Naglašava se kako novije endoskopske terapijske opcije mogu biti kurativne, no ujedno i palijativne. Što se tiče kurativnih postupaka, navedenima se najčešće poseže kod tumora T1 stadija. Intervencijom je moguće dobiti tkivni uzorak u samo jednom bloku i to tako da se isti može patohistološki analizirati, tj. može se na vrlo siguran način procijeniti sama uspješnost zahvata, a ujedno je moguće dobiti i prognozu za daljnje liječenje. Prilikom dijagnostike ranih promjena na sluznici probavnog trakta moguće je uočiti veliki napredak upravo na temelju novih endoskopskih tehnika (14). U nastavku rada slijedi detaljizirani prikaz navedene metode.

## **1.2. Konfokalna laserska endomikroskopija u gastroenterologiji**

Gastrointestinalni rak značajno doprinosi ukupnoj stopi morbiditeta i mortaliteta. Rano otkrivanje poboljšava ishode pacijenta, ali trenutna klinička praksa to još uvijek ne uspijeva postići u većini slučajeva iako rano otkrivanje omogućuje manje invazivne, jeftinije i uspješnije tretmane od trenutne prakse (15). Sumnjive promjene utvrđene tijekom endoskopskog pregleda ciljano su bioptirane ili uklonjene. Međutim, nekoliko je nedostataka koji se povezuju s endoskopskim biopsijama i resekcijama, kao što su krvarenje i perforacija. Nekvalitetne biopsije mogu dovesti do krive dijagnoze ako se ne uzme pravo tkivo za analizu.

Idealno bi bilo dijagnozu postaviti za vrijeme samog endoskopskog zahvata bez uzimanja biopsija. Najnovija dostignuća u optičkom molekularnom slikanju omogućuju u stvarnom vremenu identifikaciju morfoloških i biokemijskih promjena u tkivu povezanim s gastrointestinalnom neoplazijom (15).

Konfokalna laserska endomikroskopija (CLE), nazvana i optička biopsija, napredna je endoskopska dijagnostika. Metoda omogućava skeniranje slika vrlo visokog povećanja i rezolucije pojedinačnih stanica te građe tkiva.

Endoskopičar u stvarnome vremenu („real time“ metoda) može napraviti dijagnostičku procjenu histologije. Slika odbijene fluorescentne svjetlosti unutar stanice ili na površini stanice zahvaćena je egzogenim fluorescentnim kontrastnim sredstvima fluoresceinskog tipa poput akriflavina ili proflavina.

Laser je usmjeren na specifičnu dubinu i jedino reflektirajuće svjetlo ima mogućnost proći kroz konfokalni otvor. Područje koje se ispituje skenira se u horizontalnim i vertikalnim ravninama i slika se rekonstruira (16). Intravenozno se koristi Fluorescein da bi se označile krvne žile, lamina propria te unutrašnji prostor tkiva koje se pregledava. Kao rezultat toga stanice se okreću prema tamnoj strani u ovom pregledu i općenito se ova tehnologija može koristiti za postavljanje rane dijagnoze dispepsije u raznim gastrointestinalnim bolestima.

Klinička ispitivanja pokazala su da je CLE pogodna u bolestima probavnog sustava u sljedećim indikacijama:

- Barrettov jednjak
- gastroezofagealna refluksna bolest (GERB)
- bolesti želuca
- stenoze bilijarnih i pankreatičnih vodova
- ciste gušterače
- upalne bolesti crijeva
- kolorektalne lezije (17).

### **1.2.1. Konfokalna laserska endomikroskopija bazirana na sondi pCLE**

Postoje dvije vrste konfokalne laserske endomikroskopije:

1. eCLE – konfokalna sonda integrirana je u vrh endoskopa
2. pCLE – na bazi probe koja se uvodi kroz radni kanal endoskopa

Sonde koje se koriste uobičajeno posjeduju više od 10.000 optičkih vlakana. Svaka sonda ima različite specifikacije koje dopuštaju procjene na različitim razinama probavnog trakta i biliopankreatičkog sustava. Promjeri se kreću od 0,9 mm do 2,5 mm i imaju različite rezolucije i dubinu ispitivanja. Svaka sonda ima poluvrijeme od 20 postupaka (18).

Dostupne sonde uključuju:

- Sonde za jednjak i želudac (Gastroflex - Mauna Kea, Francuska, Pariz): promjer 2,6 mm; bočna razlučivost od 1 mikrona. Uvećava 1000 puta.
- Bilijarna sonda (minisona CholangioFlex - Mauna Kea, Francuska, Pariz): promjera manjeg od 1 mm; bočna razlučivost od 3,5 mikrona. Uvećava 400 puta (19).
- Intraigla (AQ-Flex 19 - Mauna Kea, Francuska, Pariz): za prolaz kroz igle za aspiraciju vođene ultrazvukom od 19 G. Korisna je za proučavanje cističnih lezija gušterače. Promjer od 0,85 mm; vidno polje od 320 mikrona, bočna razlučivost od 3,5 mikrona. Duljina od 4 m, dubina prodiranja od 30 do 70 mikrona (20).
- Sonde za debelo crijevo (Coloflex - Mauna Kea, Francuska, Pariz): promjer 2,6 mm; rezolucija od 1 mikrona. Vidno polje od 240 mikrona, prodor od 65 mikrona (21).

CLE se veže na fluorescenciju tkiva pa su stoga intravenozna ili topička kontrastna sredstva obvezna. Optimalna slika dobiva se za 30 sekundi do 8 minuta nakon aplikacije kontrasta. Fluorescein će ostati u stanicama i do 45 minuta, ali osam minuta nakon ubrizgavanja kvaliteta slike počinje se znatno pogoršavati. Slijedom toga, preporučuje se da se procjena obavi tijekom ovog početnog vremena od osam minuta.

Nakon primjene kontrasta kroz radni kanal videoendoskopa uvede se laserska sonda i ostvari se kontakt sa sluznicom ciljanog organa. Vrh konfokalnog mikroskopa smjesti se u blagi, ali čvrsti kontakt sa željenim područjem i rezultat toga je optička biopsija. Sonda se aktivira pritiskom pedale te se na posebnom ekranu prikazuju stanice koje gastroenterolog analizira sam ili uz pomoć citologa, a endoskopska slika na raspolaganju je na drugom zaslonu. Slike se moraju pohraniti prije uzimanja biopsije jer krvarenje može zakloniti sliku kao rezultat bježanja fluoresceina. Sve slike mogu se snimiti i digitalno pohraniti, što pruža mogućnost postproceduralne analize. Stanične jezgre nisu obojene fluoresceinom i pojavljuju se kao tamne površine. Strukture koje se identificiraju nakon primjene kontrasta jesu enterociti, stanični infiltrat, epitelne stanice, kapilare i crvene krvne stanice.

Nuspojave za primjenu kontrastnog sredstva javljaju se u 1 % do 6 % pacijenata i većina je blaga (22). Ukupna stopa štetnih događaja iznosi 1,4 %. Anafilaksija nije zabilježena. Fluorescein se ne koristi u trudnica ili dojilja (22).

Nuspojave uključuju:

- mučninu
- prolaznu promjenu boje kože
- prolaznu hipotenziju
- eritem na mjestu aplikacije
- prolazni difuzni osip
- blagu epigastričnu bol.

### 1.2.2. Prednosti i nedostaci CLE

Konfokalna laserska endomikroskopija ima svoje prednosti, a to su:

- mogućnost provođenja ciljanih biopsija
- mogućnost optičkih biopsija „in vivo“ u stvarnom vremenu
- pruža analizu stanica, vezivnog tkivap te krvnih stanica pomoću kontrasta
- raspoznavanje malignih od benignih promjena
- brzo postavljanje dijagnoze
- sa sigurnošću određuje endoskopsku terapiju (potreba resekcije).

Nedostaci su:

- visoka cijena sonde
- ograničena upotreba sonde – do 20 puta
- troškovi opreme za čitanje slike
- potrebna dodatna edukacija i trening.

### 1.3. Barrettov jednjak i rak jednjaka

Barrettov jednjak (engl. Barrett esophagus, BE) definiran je promijenom epitela jednjaka na bilo kojoj duljini koja se može prepoznati endoskopski, a potvrditi histološki kao cilindrični intestinalni tip epitela (intestinalna metaplazija). Osim intestinalnoga postoje i druge vrste epitela (najčešće želučanoga - epitel kardije) za koje još nema dokaza da su rizični za razvoj adenokarcinoma. Navedeno se događa kao odgovor na kroničnu ozljedu zbog trajnog refluksa i djelovanja želučanog sadržaja na višeslojni pločasti epitel (23, 24). Muškarci, osobe bijele rase te Europljani, pod dvostruko su većim rizikom za nastanak BE-a s prevalencijom 22,6/100 000 (autopsija 376/100 000 – 21 puta više) (25, 26).

Da bi se standardizirao endoskopski opis i terminologija, „International Barrett esophagus working group“ je u Pragu 2005. godine standardizirala kriterije za opis Barrettovog jednjaka. Proširenost BE određujemo prema Praškim C i M kriterijima koji se temelje na cirkumferentnom i maksimalnom širenju cilindričnog epitela (je li zahvaćen cijeli opseg donjeg dijela jednjaka i koliko se daleko te promjene prostiru od gastroezofagealnog spoja). Endoskopski kriteriji, bez obzira na klasifikaciju bolesti, zahtijevaju ispravno prepoznavanje anatomskih markera distalnog dijela jednjaka pomoću kojih se prepoznaje BE i koji omogućuje adekvatnu klasifikaciju bolesti (27). Gastroenterolog endoskopski treba odrediti:

1. gastroezofagealni spoj (GEJ) koji se nalazi na gornjoj granici želučanih nabora tijekom parcijalne insuflacije zraka
2. dijafragmalni hiatus
3. prisustvo hijatalne hernije
4. granicu želučanoga i epitela jednjaka (Z-linija; granica cilindričnoga želučanoga i višeslojnog pločastog epitela jednjaka)
5. udaljenost GEJ-a od Z-linije u centimetrima (28).

Endoskopski se BE može podijeliti i na dva kriterija u odnosu na njegovu dužinu:

1. kratki segment - short segment BE (SSBE), pri čemu je udaljenost GEJ-a i Z-linije manja od 3 cm
2. dugački segment – long segment BE (LSBE), pri čemu je ta udaljenost veća od 3 cm.

Prekursor, Barrettov jednjak, evoluirao u displaziju niskog stupnja (engl. low-grade dysplasia, LGD), a zatim u displaziju visokog stupnja (engl. high-grade dysplasia, HGD), zatim do ranog adenokarcinoma (engl. early adenocarcinoma – EAC; mukozne ili površinske submukozne lezije) te na kraju u invazivni rak. Zbog navedenih razloga, a u cilju prevencije ove bolesti važno je što prije pristupiti endoskopskom praćenju i liječenju (29).

Endoskopsko liječenje Barrettovog jednjaka ovisi o histološkom stadiju. Standardna terapija HGD i EAC je kirurška (ezofagektomija). No, taj invazivni pristup ima visoki stupanj poboljšavanja i smrtnosti, a smanjena je i kvaliteta života pacijenta (30). Endoskopska terapija takvih primarnih lezija je kurativna, dakle nije potrebna ezofagektomija. Danas postoje različite endoskopske resekcije (EMR ili ESD) i ablativne tehnike kojima se termički, fotokemijski ili radiofrekventnom energijom uništava sluznice BE za rješavanje HGD i EAC (31).



#### 1.4. Konfokalna laserska endomikroskopija kod Barrettova jednjaka

Endoskopska procjena endoskopijom bijelog svjetla visoke razlučivosti (engl. High-definition white light, HD-WLE) i radomizirane biopsije od 4 kvadranta (Seattle - Protokol) je najsvremeniji standard za otkrivanje Barrettovog jednjaka. Međutim trenutni standard endoskopije s biopsijama ima nekoliko ograničenja uključujući pogrešku uzimanja uzoraka tkiva i nedosljednu histopatološku interpretaciju. Štoviše, displastični epitel često je neupadljiv, mjestimičan i makroskopski se ne razlikuje od metaplastičnog tkiva (32)

U posljednjem desetljeću postalo je moguće izvoditi virtualnu histologiju tijekom gastrointestinalne endoskopije. Odnedavno je dostupna poboljšana tehnologija snimanja koja u stvarnom vremenu omogućuje dijagnozu intestinalne metaplazije (IM) i displazije, što omogućava postavljanje dijagnoze u jedinici GI endoskopije (33). Barrettov jednjak je bolest kod koje su klinička ispitivanja najviše utvrdila doprinos i korist CLE (34). Konfokalna laserska endomikroskopija zasnovana na minisondi (pCLE) može se koristiti zajedno s visokorazlučivom endoskopijom bijelog svjetla (HD-WLE) i drugim tehnikama za pojačavanje kontrasta (35).

Postupno, na temelju konfokalnih lasera razvijeni su dijagnostički kriteriji endoskopije (CLE) za ovo stanje. U 2008. godini sugerirano je prvih pet dijagnostičkih kriterija CLE neoplazije u slučajevima Barrettovog jednjaka. Smatra se da jako sugerira na malignost kada su prisutna dva ili više kriterija (36):

- nepravilna sluznica epitela
- promijenjena debljina epitelne sluznice
- nepravilan vaskularni uzorak
- spajanje žlijezda
- tamna područja koja ukazuju na smanjeni unos fluoresceina.

Razvijena je i Miamijska klasifikacija, sastoji se od sljedećih kriterija (37, 38, 39,):

BE bez displazije:

- ujednačena viliformna arhitektura
- cilindrične stanice
- vrčaste stanice

BE s (LGD):

- pravilno zadebljani epitelni rubovi
- zadebljani rubovi epitela
- dilatirane krvne žile

BE s ( HGD/EAC):

- gubitak viliformne strukture i kriпти
- tamni i nepravilno zadebljani epitelni rubovi
- dilatirane nepravilne krvne žile.

Nakon formalnog treninga, upotreba ove klasifikacije pokazala je točnost i korisna je endoskopičarima za utvrđivanje stupnja displazije. Korištenje sustava klasifikacije prema Miamiu olakšava identifikaciju neoplazije kod pacijenata s BE (36). Vjeruje se da je upotreba CLE i klasifikacija prema Miamiu najkorisnija u slučajevima kada postoji dvojba oko korištenja HD-WLE i NBI tehnologije u razlikovanju benignih promjena od premalignih i malignih promjena (37, 40).

Konfokalna mikroskopija je dobra nadopuna u tim slučajevima. Općenito, CLE ima slijedeće osobitosti kod Barrettovog jednjaka (40):

- Dodatno otkrivanje neoplazije. Konfokalna laserska endomikroskopija na bazi sonde (pCLE) zasigurno je superiornija u odnosu na HD-WLE.
- pCLE ima bolju osjetljivost od HD-WLE za dijagnosticiranje displazije. Navedeni kriteriji pokazali su se najboljima za isključivanje neoplazije u BE-a. Uporaba pCLE-a mogla bi poboljšati učinkovitost programa praćenja za ove pacijente (41).
- pCLE odmah mijenja dijagnozu pacijenta, u 34 % se odmah pristupilo adekvatnom terapijskom postupku (40).
- pCLE smanjuje potrebu za biopsijama, a time i troškove, za 80 %. Ipak, za sada, pCLE ne uklanja u potpunosti isključivanje randomiziranih biopsija (41).
- pCLE je lako protumačiti za Barrettov jednjak i vrijeme treninga medicinskog osoblja je kratko.

- pCLE je vodič za endoskopsku intervenciju. Kod visokog stupnja displazije, liječnici mogu odmah pristupiti mukozektomiji (EMR) ili endoskopskoj submukoznoj disekciji (ESD) istim postupkom ovisno o protokolu svake ustanove. Na nalaz patologije i rezultate koji zahtijevaju drugu fazu postupka nije potrebno čekati tjedan ili više. Ovakav postupak može također utjecati na troškove i na morbiditet.
- pCLE identificira mjesta rezidualnog Barrettovog jednjaka kod pacijenata koji se podvrgavaju radiofrekventnoj ablaciji. Također je korisna za pregled margina drugih vrsta liječenja kao što je endoskopska submukozna disekcija (ESD) i endoskopska resekcija sluznice (EMR). Korištenjem pCLE smanjuje se pretjerani i nedovoljni endoskopski tretman, a potrebne su studije za definiranje kriterija kod ovih slučajeva i isplativosti pCLE-a. Nedavnim istraživanjima slučajeva ovih vrsta nisu pronađeni dokazi da primjena pCLE poboljšava dijagnozu rezidualne neoplazije u usporedbi s upotrebom samo HD-WLE-a (41).

Pristup CLE dijagnozi u stvarnom vremenu i terapiji vođenoj slikama predstavlja potencijalnu promjenu paradigme u nadzoru BE. Potrebne su istraživačke studije kako bi se pozabavilo edukacijom iz CLE-e, komparativnim studijama učinkovitosti naprednih endoskopskih slikovnih tehnika, ulogom terapije vođene slikanjem i napretkom u CLE uređajima i kontrastnim sredstvima. Dodatna istraživanja mogu konačno razjasniti skupinu pacijenata među kojima je ova tehnologija najisplativija i najkorisnija (42).

## **2. HIPOTEZA**

Uporaba konfokalne laserske endomikroskopije olakšava dijagnostiku ranih, premalignih lezija probavnog trakta što rezultira potrebom za manjim brojem nasumičnih biopsija.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Ispitati konfokalnu lasersku endomikroskopiju (CLE) u gastroenterologiji i njenu primjenu u KBC Zagreb – Rebro.
2. Ispitati učestalost premaligne promjene kod Barrettovog jednjaka.
3. Ispitati točnosti i razliku između takozvane virtualne biopsije i slijepe biopsije, tj. patohistologije.

## **4. ISPITANICI I METODE**

### **4.1. Ustroj studije**

Istraživanje je retrospektivno opservacijsko (43), a u skladu je sa smjernicama GDPR-a.

### **4.2. Ispitanici**

U svrhu provjere navedene hipoteze provedena je analiza kliničke baze podataka BIS i Cellvizio sustava od 26. 11. 2018. g. do 24. 1. 2020.

Ukupan broj pacijenta je 17, od toga 12 muškaraca i 5 žena s refluksnim smetnjama i dokazanim postojanjem Barrettovog jednjaka. Od toga je jedan ispitanik ženskog spola uvršten u istraživanje koji boluje od familijarne adematozne polipoze (FAP), a imao je suspektne promjene na želucu. Svi su ispitanici bili obrađeni u Gastroenterološkoj ambulanti, a za endoskopsko praćenje i intervencije koristile su endoskopske sale Kliničkog bolničkog Centra KBC Zagreb – Rebro.

Uključeni kriteriji: ispitanici oba spola u dobi od 20 i više od 66 g. s dokazanim postojanjem Barrettovog jednjaka kojima je učinjena CLE.

Isključni kriteriji: pacijenti koji imaju BE, ali im nije učinjena konfokalna laserska endomikroskopija (CLE).

### **4.3. Metode**

Podaci su dobiveni iz kliničke baze podataka BIS i Cellvizio sustava u razdoblju od 2 godine. Istražene su sljedeće varijable: spol i dob ispitanika, datum pretrage, faktori rizika bolesti, simptomi bolesti, indikacija ezofagogastroduodenoskopije, nalaz CLE, patohistološki nalaz bioptiranog tkiva, endoskopska intervencija i terapija inhibitorima protonske pumpe (IPP). Istražit će se korelacija između nalaza virtulane biopsije i patohistološkog nalaza. Kod svih ispitanika bila je napravljena ezofagogastroduodenoskopija, „optička biopsija“ konfokalna laserska endomikroskopija (CLE) i uzete su radomizirane biopsije za patohistološku analizu.

Pretragu je napravio gastroenterolog uz asistiranje medicinske sestre/tehničara KBC-a Zagreb. Za izvođenje pretrage korišteni su endoskopski aparati (gastroskop) Olympus Elvis Exera III (GIF -HQ 190). Za „optičke biopsije“ korišten je Cellvizio uređaj (Mauna Kea Tech., Pariz, Francuska) s laserskom sondom za jednjak i želudac (pCLE) (Gastroflex - Mauna Kea, Pariz, Francuska): promjer 2,6 mm; bočna razlučivost od 1 mikrona, uvećava 1000 puta.

#### **4.3.1. Statistička metoda**

U ovom su istraživanju korišteni postupci obrade podataka sukladno postavljenim problemima. Za ispitivanje razlika u odgovorima za kategorijalne varijable Hi kvadrat test, za ispitivanje povezanosti između varijabli korištena je Pearsonova korelacija. Kao razinu statističke značajnosti uzeta je vrijednost  $p < 0,05$ . Za obradu je korišten statistički paket IBM SPSS 25, proizvedeno u Chicago, SAD, 2017. godine.

## 5. REZULTATI

U istraživanju je sudjelovalo 17 ispitanika, od toga je u ispitivanom uzorku 12 ispitanika muškog spola (70,6 %) te je 8 (47,1 %) ispitanika u dobi od 51 do 65 godina i nema značajnih razlika u distribuciji ispitanika oboljelih od Barrettovog jednjaka prema spolu i dobi ispitanika.

**Tablica 1.** Obilježje ispitivanog uzorka

|             |              | <b>N (%)</b> | <b><math>\chi^2</math></b> | <b>P*</b> |
|-------------|--------------|--------------|----------------------------|-----------|
| <b>Spol</b> | Muško        | 12 (70,6)    | 2,882                      | 0,09      |
|             | Žensko       | 5 (29,4)     |                            |           |
| <b>Dob</b>  | 18 - 50      | 3 (17,6)     | 0,882                      | >0,99     |
|             | 51 - 65      | 8 (47,1)     |                            |           |
|             | 66 i stariji | 6 (35,3)     |                            |           |

\*  $\chi^2$  test



**Iz Tablice 2.** vidljivo je kako značajno više ispitanika nema familijarnu adenomatoznu polipozu (FAP) kao faktor rizika nego što ima ( $\chi^2=4,765$ ;  $P=0,02$ ) te značajno više ispitanika ima GERB kao faktor rizika nego što nema ( $\chi^2=13,235$ ;  $P<0,001$ ). Distribucije varijabli prikazane su u tablici niže.

**Tablica 2.** Distribucija faktora rizika, simptoma, trajanja simptoma, indikacije za pretragu i vremenskog perioda za postavljanje dijagnoze

|  |  | N (%)     | $\chi^2$  | P                |             |
|--|--|-----------|-----------|------------------|-------------|
| <b>Faktor rizika</b>                           | Fap  | Da        | 1 (5,9)   | 4,765            | <b>0,02</b> |
|  |  | Ne        | 16 (94,1) |                  |             |
|  | Pušač  | Da        | 5 (29,4)  | 2,882            | 0,09        |
|  |  | Ne        | 12 (70,6) |                  |             |
| Gerb   | Da   | 13 (76,5) | 13,235    | <b>&lt;0,001</b> |             |
|  | Ne   | 4 (23,5)  |           |                  |             |
| <b>Simptomi</b>                                | Refluksna tegoba                                     | 9 (52,9)  | 0,059     | 0,80             |             |
|  | Dispepsija   | 8 (47,1)  |           |                  |             |
| <b>Trajanje simptoma</b>                       | 7 godina i manje                                     | 4 (23,5)  | 5,059     | 0,08             |             |
|  | Od 8 do 10 godina                                    | 10 (58,8) |           |                  |             |
|  | 11 i više godina                                     | 3 (17,6)  |           |                  |             |
| <b>Indikacija</b>                              | Evaluacija BE  | 6 (35,3)  | 8,941     | 0,17             |             |
|  | Evaluacija radi lezije na želudcu u sklopu FAP       | 1 (5,9)   |           |                  |             |
|  | Kontrola BE  | 1 (5,9)   |           |                  |             |
|  | Nastavak RFA BE                                      | 2 (11,8)  |           |                  |             |
|  | Pitanje RFA BE                                       | 2 (11,8)  |           |                  |             |
|  | Procjena FLAT lezije u sklopu BE                     | 1 (5,9)   |           |                  |             |
|  | Stanje nakon RFA BE                                  | 3 (23,5)  |           |                  |             |
|  | Stanje nakon RFA BE/ pitanje antirefluksne operacije | 1 (5,9)   |           |                  |             |
|  |  |           |           |                  |             |
| <b>Vremenski period postavljanja dijagnoze</b> | 1 – 2 godine   | 7 (41,2)  | 4,412     | 0,22             |             |
|  | 3 do 5 godina  | 5 (29,4)  |           |                  |             |
|  | 6 do 10 godina                                       | 4 (23,5)  |           |                  |             |
|  | 10 i više godina                                     | 1 (5,9)   |           |                  |             |

\*  $\chi^2$  test

**Iz Tablice 3.** vidljivo je kako značajno više ispitanika ima pravilne vrčaste stanice prilikom konfokalne laserske endomikroskopije ( $\chi^2=18,471$ ;  $P<0,001$ ), također značajno više ispitanika podvrgnuto je radiofrekventnoj ablaciji (RFA) ( $\chi^2=18,000$ ;  $P=0,006$ ) te je značajno više ispitanika bilo na dvostrukoj dozi inhibitora protonske pumpe (IPP-a) naspram onih koji su bili na jednoj dozi IPP-a ( $\chi^2=4,765$ ;  $P=0,02$ ).

**Tablica 3.** Distribucija po Praškoj klasifikaciji Barrettovog jednjaka, konfokalnoj laserskoj endomikroskopiji, patohistološkom nalazu, endoskopskoj intervenciji i terapiji

|  |  | N (%)     | $\chi^2$ | P*     |
|--|--|-----------|----------|--------|
| <b>Praška klasifikacija Barrettovog jednjaka</b> | C0/M1 kratki segment BE                                | 3 (17,6)  | 4,000    | 0,91   |
|  | C0/M2 kratki segment BE                                | 3 (17,6)  |          |        |
|  | C0/M3 kratki segment BE                                | 1 (5,9)   |          |        |
|  | C1/M2 kratki segment BE                                | 1 (5,9)   |          |        |
|  | C1/M3 kratki segment BE                                | 2 (11,8)  |          |        |
|  | C2/M3 kratki segment BE                                | 2 (11,3)  |          |        |
|  | C3/M4 dugački segment BE                               | 1 (5,9)   |          |        |
|  | C4/M5 dugački segment BE                               | 1 (5,9)   |          |        |
|  | C5/M6 dugački segment BE                               | 1 (5,9)   |          |        |
|  | C6/M6 dugački segment BE                               | 1 (5,9)   |          |        |
| Pacijent ima FAP/gledala se lezija na želucu     |  | 1 (5,9)   |          |        |
| <b>Konfokalna laserska endomikroskop.</b>        | Bez suspektne lezije                                   | 1 (5,9)   | 18,471   | <0,001 |
|  | Pravilne vrčaste stanice                               | 14 (82,4) |          |        |
|  | Suspektne lezije                                       | 2 (11,8)  |          |        |
| <b>Patohistološki nalaz</b>                      | Displazija niskog stupnja                              | 7 (41,2)  | 3,647    | 0,16   |
|  | Displazija visokog stupnja                             | 2 (11,8)  |          |        |
|  | Intestinalna metaplazija bez displazije                | 8 (47,1)  |          |        |
| <b>Endoskopska intervencija</b>                  | Aktivni refluks/endoskopska intervencija nije učinjena | 1 (5,9)   | 18,000   | 0,006  |
|  | APC  | 1 (5,9)   |          |        |
|  | EMR  | 1 (5,9)   |          |        |
|  | Kirurški zahvat/ fundoplikacija jednjaka               | 1 (5,9)   |          |        |
|  | Nema indikacija  | 4 (23,5)  |          |        |
|  | Kirurški zahvat /radi suspektne lezije na želucu       | 1 (5,9)   |          |        |
|  | RFA BE   | 8 (47,1)  |          |        |
| <b>Terapija IPP-om</b>                           | IPP dvstruka doza, 2x40mg                              | 13 (76,5) | 4,765    | 0,02   |
|  | IPP, 1x40mg  | 4 (23,5)  |          |        |

\*  $\chi^2$  test

**Iz Tablice 4.** vidljivo je kako postoji visoka značajna negativna povezanost GERB-a i pušenja kao faktora rizika ( $r = -0,859$ ;  $P < 0,001$ ), odnosno pušenje se kao faktor rizika pojavljuje manje od GERB-a. Također GERB kao faktor rizika je umjereno negativno povezan sa simptomima bolesti ( $r = -0,588$ ;  $P = 0,01$ ), odnosno GERB je povezan s refluksnim tegobama kao simptomom bolesti.

**Tablica 4.** Poveznost spola, dobi i faktora rizika za pojavu Barrettova jednjaka sa simptomima bolesti, dužinom trajanja simptoma i perioda postavljanja dijagnoze

|                   |    | Dob    | FR GERB | FR pušenje       | Simpt. bolesti | Dužina trajanja simpt. | Razdoblje postavljanja dijagnoze |
|-------------------|----|--------|---------|------------------|----------------|------------------------|----------------------------------|
| <b>Spol</b>       | r  | -0,005 | -0,251  | 0,150            | 0,167          | 0,348                  | 0,454                            |
|                   | P* | 0,98   | 0,33    | 0,56             | 0,52           | 0,17                   | 0,06                             |
|                   | N  | 17     | 17      | 17               | 17             | 17                     | 17                               |
| <b>Dob</b>        | r  |        | -0,198  | 0,231            | 0,313          | -0,001                 | -0,022                           |
|                   | P* |        | 0,44    | 0,37             | 0,22           | 0,99                   | 0,93                             |
|                   | N  |        | 17      | 17               | 17             | 17                     | 17                               |
| <b>FR GERB</b>    | r  |        |         | -0,859           | -0,588         | -0,395                 | -0,479                           |
|                   | P* |        |         | <b>&lt;0,001</b> | <b>0,01</b>    | 0,11                   | 0,05                             |
|                   | N  |        |         | 17               | 17             | 17                     | 17                               |
| <b>FR pušenje</b> | r  |        |         |                  | 0,426          | 0,348                  | 0,316                            |
|                   | P* |        |         |                  | 0,08           | 0,17                   | 0,21                             |
|                   | N  |        |         |                  | 17             | 17                     | 17                               |

\* Point biserijalne korelacije

Iz **Tablice 5.** vidljivo je kako postoji značajna visoka pozitivna povezanost spola i stanja nakon RFA Barrettova jednjaka ( $r=0,717$ ;  $P<0,001$ ), odnosno ženski spol je značajno povezan sa stanjem nakon RFA Barrettova jednjaka. Pušenje kao faktor rizika Barrettovog jednjaka umjereno je pozitivno povezan s pitanjem RFA Barrettovog jednjaka ( $r=0,566$ ;  $P=0,01$ ).

**Tablica 5.** Poveznost spola, dobi i faktora rizika za pojavu Barrettova jednjaka s indikacijom

|                       |    | Procjena<br>flat lezije<br>u sklopu<br>BE | Kontro<br>la BE | Evaluci<br>ja BE | Nasta<br>vak<br>RFA<br>BE | Pitanje<br>RFA<br>BE | Stanje<br>nakon<br>RFA<br>BE | Evalucija<br>radi end.<br>resekcije<br>polipa na<br>želucu | Pitanje<br>antireflu<br>ksne op. |
|-----------------------|----|---|-----------------|------------------|---------------------------|----------------------|------------------------------|--|----------------------------------|
| <b>Spol</b>           | r  | -0,161                                    | -0,161          | -0,477           | -0,236                    | -0,236               | 0,717                        | 0,387  | 0,387                            |
|                       | P* | 0,536                                     | 0,536           | 0,053            | 0,362                     | 0,362                | <b>0,001</b>                 | 0,125  | 0,125                            |
|                       | N  | 17  | 17              | 17               | 17                        | 17                   | 17                           | 17   | 17                               |
| <b>Dob</b>            | r  | 0,157                                     | 0,207           | 0,015            | -0,399                    | 0,118                | -0,043                       | 0,039  | 0,022                            |
|                       | P* | 0,548                                     | 0,424           | 0,955            | 0,112                     | 0,652                | 0,870                        | 0,883  | 0,934                            |
|                       | N  | 17  | 17              | 17               | 17                        | 17                   | 17                           | 17   | 17                               |
| <b>FR<br/>GERB</b>    | r  | 0,139                                     | 0,139           | 0,119            | 0,203                     | -0,228               | -0,107                       | -0,451   | 0,139                            |
|                       | P* | 0,596                                     | 0,596           | 0,648            | 0,436                     | 0,379                | 0,683                        | 0,069  | 0,596                            |
|                       | N  | 17  | 17              | 17               | 17                        | 17                   | 17                           | 17   | 17                               |
| <b>FR<br/>pušenje</b> | r  | -0,161                                    | -0,161          | -0,207           | -0,236                    | 0,566                | 0,040                        | 0,387  | -0,161                           |
|                       | P* | 0,536                                     | 0,536           | 0,426            | 0,362                     | <b>0,018</b>         | 0,879                        | 0,125  | 0,536                            |
|                       | N  | 17  | 17              | 17               | 17                        | 17                   | 17                           | 17   | 17                               |

\* Point biserijalne korelacije

**Iz Tablice 6.** vidljivo je kako postoji umjerena pozitivna povezanost spola i kratkog segmenta BE, C0/M1 ( $r=0,462$ ;  $P=0,04$ ), odnosno kratki segment BE, C0/M1 povezan je sa ženskim spolom ispitanika. Faktor rizika za nastanak Barrettovog jednjaka - GERB umjereno je negativno povezan s Barrettovim jednjakom prema Praškoj klasifikaciji C0/M3 ( $r=-0,537$ ;  $P=0,03$ ) i C4/M5 ( $r=-0,537$ ;  $P=0,03$ ), odnosno Barrettov jednjak prema Praškoj klasifikaciji C0/M3 i C4/M5 povezan je s nepostojanjem GERB-a kao faktora rizika.

**Tablica 6.** Poveznost spola, dobi i faktora rizika za pojavu Barrettova jednjaka s Praškom klasifikacijom

|                       |    | <b>C1<br/>M3</b> | <b>C0<br/>M1</b> | <b>C0<br/>M2</b> | <b>C6<br/>M6</b> | <b>C5<br/>M6</b> | <b>C0<br/>M3</b> | <b>C1<br/>M2</b> | <b>C4<br/>M5</b> | <b>C3<br/>M4</b> | <b>C2<br/>M3</b> |
|-----------------------|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Spol</b>           | r  | 0,218            | 0,462            | 0,092            | -0,149           | -0,149           | -0,149           | -0,149           | -0,149           | -0,149           | -0,218           |
|                       | P* | 0,41             | <b>0,04</b>      | 0,73             | 0,58             | 0,58             | 0,58             | 0,58             | 0,58             | 0,58             | 0,41             |
|                       | N  | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               |
| <b>Dob</b>            | r  | -0,410           | -                | 0,182            | 0,210            | 0,312            | 0,075            | 0,244            | 0,058            | -0,416           | 0,048            |
|                       |    |                  | 0,175            |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|                       | P* | 0,11             | 0,51             | 0,50             | 0,43             | 0,23             | 0,78             | 0,36             | 0,83             | 0,10             | 0,86             |
|                       | N  | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               |
| <b>FR<br/>GERB</b>    | r  | 0,182            | -                | 0,231            | 0,124            | 0,124            | -0,537           | 0,124            | -0,537           | 0,124            | 0,182            |
|                       |    |                  | 0,179            |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|                       | P* | 0,50             | 0,50             | 0,39             | 0,64             | 0,64             | <b>0,03</b>      | 0,64             | <b>0,03</b>      | 0,64             | 0,50             |
|                       | N  | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               |
| <b>FR<br/>pušenje</b> | r  | -0,218           | 0,092            | 0,092            | -0,149           | -0,149           | 0,447            | -0,149           | 0,447            | -0,149           | -0,218           |
|                       | P* | 0,41             | 0,73             | 0,73             | 0,58             | 0,58             | 0,08             | 0,58             | 0,08             | 0,58             | 0,41             |
|                       | N  | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               | 16               |

\* Point biserijalne korelacije

Iz **Tablice 7.** vidljivo je kako postoji značajna umjerena negativna povezanost dobi ispitanika i intestinalne metaplazije u patohistološkom nalazu ( $r=-0,490$ ;  $P=0,04$ ), odnosno mlađa dob ispitanika povezana je s navedenom promjenom u patohistološkom nalazu.

**Tablica 7.** Poveznost spola, dobi i faktora rizika za pojavu Barrett jednjaka sa Praškom klasifikacijom

|                   |    | Ne nalaze se suspektne lezije | Pravilne vrčaste stanice | Suspektne lezije | Displazija visokog st. | Displazija niskog st. | Intestinalna metaplazija | Th     |
|-------------------|----|-------------------------------|--------------------------|------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|--------|
| <b>Spol</b>       | r  | 0,387                         | -0,378                   | 0,165            | -0,236                 | 0,247                 | -0,091                   | -0,251 |
|                   | P* | 0,12                          | 0,13                     | 0,52             | 0,36                   | 0,33                  | 0,72                     | 0,33   |
|                   | N  | 17                            | 17                       | 17               | 17                     | 17                    | 17                       | 17     |
| <b>Dob</b>        | r  | 0,089                         | -0,176                   | 0,143            | 0,155                  | 0,396                 | -0,490                   | 0,420  |
|                   | P* | 0,73                          | 0,50                     | 0,58             | 0,55                   | 0,11                  | <b>0,04</b>              | 0,09   |
|                   | N  | 17                            | 17                       | 17               | 17                     | 17                    | 17                       | 17     |
| <b>FR GERB</b>    | r  | 0,139                         | 0,107                    | -0,228           | -0,228                 | -0,099                | 0,245                    | 0,019  |
|                   | P* | 0,59                          | 0,68                     | 0,37             | 0,37                   | 0,70                  | 0,34                     | 0,94   |
|                   | N  | 17                            | 17                       | 17               | 17                     | 17                    | 17                       | 17     |
| <b>FR pušenje</b> | r  | -0,161                        | -0,040                   | 0,165            | 0,165                  | 0,247                 | -0,350                   | 0,054  |
|                   | P* | 0,53                          | 0,87                     | 0,52             | 0,52                   | 0,33                  | 0,16                     | 0,83   |
|                   | N  | 17                            | 17                       | 17               | 17                     | 17                    | 17                       | 17     |

\* Point biserijalne korelacije

Iz **Tablice 8.** vidljivo je kako postoji značajna umjerena negativna povezanost dobi ispitanika i endoskopske intervencije gdje nema indikacije ( $r=-0,494$ ;  $P=0,04$ ), odnosno endoskopske intervencije, gdje nema indikacije, povezane su s mlađom životnom dobi ispitanika.

**Tablica 8.** Poveznost spola, dobi i faktora rizika za pojavu Barrettova jednjaka s endoskopskim intervencijama

|                   |    | <b>EMR</b> | <b>Nema ind.</b> | <b>RFA</b> | <b>Kir. zahvat</b> | <b>Hemost. kvačice</b> | <b>Aktivni refluks</b> | <b>APK</b> |
|-------------------|----|------------|------------------|------------|--------------------|------------------------|------------------------|------------|
| <b>Spol</b>       | r  | -0,161     | -0,054           | -0,350     | 0,387              | 0,387                  | -0,161                 | 0,387      |
|                   | P* | 0,53       | 0,83             | 0,16       | 0,12               | 0,12                   | 0,53                   | 0,12       |
|                   | N  | 17         | 17               | 17         | 17                 | 17                     | 17                     | 17         |
| <b>Dob</b>        | r  | 0,157      | -0,494           | 0,186      | 0,022              | 0,039                  | 0,089                  | 0,191      |
|                   | P* | 0,54       | <b>0,04</b>      | 0,475      | 0,93               | 0,88                   | 0,73                   | 0,46       |
|                   | N  | 17         | 17               | 17         | 17                 | 17                     | 17                     | 17         |
| <b>FR GERB</b>    | r  | 0,139      | 0,308            | -0,033     | 0,139              | -0,451                 | 0,139                  | -0,451     |
|                   | P* | 0,59       | 0,23             | 0,90       | 0,59               | 0,06                   | 0,59                   | 0,06       |
|                   | N  | 17         | 17               | 17         | 17                 | 17                     | 17                     | 17         |
| <b>FR pušenje</b> | r  | -0,161     | -0,358           | -0,091     | -0,161             | 0,387                  | 0,387                  | 0,387      |
|                   | P* | 0,53       | 0,15             | 0,72       | 0,53               | 0,12                   | 0,12                   | 0,12       |
|                   | N  | 17         | 17               | 17         | 17                 | 17                     | 17                     | 17         |

\* Point biserijalne korelacije

Iz **Tablice 9.** vidljivo je kako nema značajnih razlika u distribuciji nalaza virtualne biopsije i patohistologije (P=0,111).

**Tablica 9.** Unakrsna tablica nalaza virtualne biopsije i patohistološkog nalaza

|                                 |                               | Patohistološki nalaz       |                           |                          | P*      |       |
|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------|-------|
|                                 |                               | Displazija visokog stupnja | Displazija niskog stupnja | Intestinalna metaplazija |         |       |
| <b>Nalaz virtualne biopsije</b> | Ne nalaze se suspektne lezije | N (%)                      | 0                         | 1 (14,3)                 | 0       | 0,111 |
|                                 | Pravilne vrčaste stanice      | N (%)                      | 1                         | 5 (71,4)                 | 8 (100) |       |
|                                 | Suspektne lezije              | N (%)                      | 1 (50)                    | 1 (14,3)                 | 0       |       |

\* Fishers exact test



## 6. RASPRAVA

U dostupnom preglednom radu koji je pretraživanjem nekoliko baza podataka (MEDLINE, EMBASE, Scopus i Cochrane Oral Health Group) od 662 rada analizirao 102 studije iz 16 različitih zemalja, objavljene između 2004. i 2015. godine, a kojima je bilo obuhvaćeno 6943 pacijenata, dokazano je da CLE ima visoku osjetljivost i specifičnost u detekciji displazije kod Barrettova jednjaka. Na temelju rezultata zaključeno je da se upotrebom ove nove tehnologije pruža mogućnost jasne dijagnoze u ranom otkrivanju displazije i ranom otkrivanju premalignih promjena kod pacijenta s vrlo visokim rizikom od razvoja karcinoma. Ukupna osjetljivost, specifičnost, točnost i prediktivne vrijednosti CLE-a povoljne su i utvrđeno je da su superiorne u odnosu na standardnu endoskopiju i histopatologiju. Međutim, široko rasprostranjena uporaba CLE-a i dalje je ograničena niskom dostupnošću (dostupna je samo u velikim kliničkim centrima), visokim troškovima i potrebom za educiranim osobljem. Štoviše, potrebna su daljnja klinička ispitivanja kako bi se procijenila učinkovitost i primjena CLE u rutinskoj kliničkoj praksi jer trenutno postoji vrlo malo takvih studija (44).

U ovom provedenom istraživanju u razdoblju od 2 godine, sudjelovalo je 17 ispitanika kojima je gastroenterolog (endoskopičar) u stvarnome vremenu („real time“ metoda) napravio dijagnostičku procijenu histologije. Ovo je istraživanje, koliko je autor rada upoznat, prvo takve vrste u RH s ciljem utvrđivanja korelacije između takozvane „virtualne biopsije“ i patohistološkog nalaza kod bolesti BE-a. Istraživanje je imalo određena ograničenja. Glavna ograničenja su retrospektivni dizajn i mali broj pacijenata.

Uvođenje novih optičkih tehnologija znači i veliki napredak u endoskopiji probavnoga sustava, no njihova stvarna vrijednost i doprinos u kliničkoj praksi tek se treba dokazati u radominiziranim kliničkim studijama.

U tablici 1., vidljivo je da od ukupno 17 ispitanika najveći broj oboljelih od BE-a je muškog spola njih 12 (70,6 %), a manji broj oboljelih je bilo ženskog spola njih 5 (29,4 %). Iz rezultata je vidljivo da nema značajnih razlika u distribuciji oboljelih od Barrettovog jednjaka prema spolu i dobi od 51 do 65 godina kod njih 8 (47,1 %). Prema dostupnoj literaturi je poznato da muškarci naspram žena su pod dvostruko većim rizikom za nastanak BE-a, dok srednja i starija životna dob je potencijalni faktor rizika za razvoj BE-a (25, 45).

U tablici 2., vidljiva je distribucija faktora rizika, simptoma, trajanja simptoma, indikacije za pretragu i vremenskog perioda za postavljanje dijagnoze.

Statistiškim rezultatima je utvrđeno kako najviše ispitanika ima GERB kao faktor rizika za nastajanje BE-a (76,5 %) nego što ima više ispitanika familijarnu adematoznu polipozu (FAP) kao faktor rizika (5,9 %). Jedan pacijent s FAP dijagnozom ušao je u analizu zbog suspektnih promjena na želucu iz razloga da se vidi korelacija između virtualne biopsije i patohistološkog nalaza.

Rezultati prikazuju dva najčešća simptoma, a radi se o refluksnoj tegobi i dispepsiji. Udio ispitanika koji navodi i jedne i druge tegobe je podjednak. Refluksne tegobe imalo je 9 ispitanika (52,9 %), a dispepsiju 8 (47,1 %).

Trajanje simptoma 8 do 10 godina prisutno je bilo kod (58,8 %), 7 i manje godina kod (23,5 %), a 11 i više godina (17,6 %). Vremenski period od postavljanja dijagnoze trajao je za 7 ispitanika (41,2 %) 1 - 2 godine, za njih 5 (29,4 %) 3 - 5 godina, za 4 (23,5 %) 6 -10 godina, a za jednog (5,9 %) 10 i više godina.

Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti, da je najvažniji faktor rizika za nastajanje BE-a GERB, te da se pacijenti obično žale na simptome refluksa i dispepsije. Rezultati se podudaraju s dostupnom literaturom da za razvoj Barrettovog jednjaka se najčešće pripisuje dugotrajnom GERB-u koji može uključivati ove znakove i simptome: žgaravicu, regurgitaciju i refluks kiseline, bol u prsima, bol u trbuhu, suhi kašalj. Težak refluks želučanog i duodenalnog sadržaja u jednjak s trajanjem simptoma dulje od 5 godina, oštećuje tkivo jednjaka izazivajući promjene na sluznici koje dovode do razvoja BE-a (46).

Indikacija za endoskopsko praćanje (gastroskopiju) je bila evaluacija BE-a kod njih (35,3 %), evaluacija radi lezije na želucu u sklopu FAP (5,9 %), kontrola BE (5,9 %), nastavak RFA BE-a (11,8 %), pitanje RFA BE-a (11,8 %), procjena flat lezije u sklopu BE-a (5,9 %), stanje nakon RFA BE-a (23,5 %) i pitanje antirefluksne operacije u sklopu BE-a kod jednog ispitanika (5,9 %).

Prema dostupnoj literaturi endoskopsko praćenje pacijenata s BE-om zasniva se na činjenici povišenog rizika od razvoja adenokarcinoma jednjaka te pretpostavci da praćenje utječe na preživljenje pacijenata i na smanjenje smrtnosti. Pretpostavke ipak još nisu potvrđene u randomiziranim studijama (47).

Nadalje, nekoliko je važnih činjenica koje upućuju na potrebu endoskopskog praćenja Barrettova jednjaka. Razlog zbog postojanja efikasnih endoskopskih terapija za liječenje BE-a te displazija viskog stupnja faktor je rizika za progresiju u adenokarcinom jednjaka (48, 49). Smatra se da je detaljna endoskopska inspekcija postignuta ako se provede 1 min po 1 cm dužine BE isključivo promatrajući sluznicu (50, 51). Endoskopsko praćenje se provodi po slijedećem principu: BE bez displazije 3-5 godina, LGD 6-12 mjeseci, HGD (ako se ne odluči za terapiju) svaka 3 mjeseca. Zaključno, dobiveni rezultati ukazuju na veliku važnost endoskopskog praćenja oboljelih od BE-a, što znači da dobrom endoskopskom tehnikom s pažljivim i dovoljno dugim promatranjem sluznice BE-a te upotrebom kvalitetnih HD-WLE endoskopa visoke rezolucije je manja mogućnost da se predvide suspektna mjesta Barrettove sluznice.

U tablici 3., dobiveni su statistički rezultati ispitanika prema Praškoj klasifikaciji Barrettovog jednjaka, konfokalnoj laserskoj endomikroskopiji (CLE), patohistološkom nalazu, endoskopskoj intervenciji i terapiji.

Prema Praškoj klasifikaciji ili endoskopskom faktoru rizika, utvrđeno je da najviše ispitanika ima kratki segment BE (SSBE) (70,6 %), a manji broj ispitanika ima dugački segment BE (LSBE) (23,6 %). Prema dostupnoj literaturi smatra se da je duljina segmenta BE-a važan faktor rizika u razvoju adenokarcinoma jednjaka, pogotovo ako je duži od 9 cm. Kratki segment Barrettovog jednjaka (SSBE) je također rizik za displaziju i adenokarcinom. Načelo uporabe bioptičkih uzoraka i praćenje tih pacijenata istovjetno je onima s LSBE (52, 53). Praška klasifikacija BE ima za cilj pojednostaviti i standardizirati endoskopsku karakterizaciju metaplastične sluznice.

Istraživanje je pokazalo da najveći udio ispitanika ima pravilne vrčaste stanice prilikom konfokalne laserske endomikroskopije (virtualna biopsija) (82,4 %), bez suspektnih lezija (5,9 %) i prisutnih suspektnih lezija (11,8 %).

Prema dostupnoj literaturi prilikom uporabe CLE dijagnoza BE-a se temelji na prisustvu cilindričnih stanica i tamnih „vrčastih“ stanica što upućuje na intestinalnu metaplaziju. Kod displazije CLE pokazuje nepravilne krvne žile i tamna područja nepravilnih epitelnih struktura (32, 54). Zaključno, najvažnija primjena CLE-e kod pacijenata s BE-om je nadzor i procjena sumnjivih lezija koja omogućuje endoskopičaru postavljanje patohistološke dijagnoze tijekom endoskopije. Ti se pacijenti potom mogu rano preventivno endoskopski liječiti putem radiofrekventne ablacije ili endoskopske resekcije.

Analizom patohistološkog nalaza kod najvećeg broja ispitanika bila je prisutna intestinalna metaplazija bez displazije (IM) (47,1 %) i dispazija niskog stupnja (LGD) (41,2 %), a najmanje displazija visokog stupnja (HGD) (11,8 %).

Najveći broj oboljelih od Barrettova jednjaka prema dostupnoj literaturi ima BE s intestinalnom metaplazijom (55). Statističkom obradom podataka uočen je visok udio ispitanika koji ima displaziju niskog stupnja (LGD). Odjel intervencijske jedinice KBC Zagreb - Rebro jedini je centar u RH koji provodi endoskopsku terapiju Barrx radiofrekventnom ablacijom u liječenju BE-a te su rezultati očekivani. Na liječenje dolaze pacijenti iz svih krajeva Hrvatske, pa i šire. Patohistološki najteže je postaviti dijagnozu displazije visokog stupnja (HGD), tako da mali broj pacijenata ne iznenađuje. U velikim centrima također postoji sličan problem, to jest najrjeđi su pacijenti sa displazijom visokog stupnja (56), a upravo ta patohistološka dijagnoza ima direktni utjecaj na daljnju kliničku odluku, jer navedene pacijente treba liječiti bilo endoskopski bilo kirurški.

Iz dostupne literature godišnja incidencija adenokarcinoma jednjaka kod pacijenata sa BE je od 0,1-2 % (57). Rizik od razvoja karcinoma ovisi od faze BE-a. Tako je dokazano da rizik od karcinoma kod nedisplastičnog BE-a jest 0,3 % godišnje, BE-a sa LGD-om 0,5-1 % godišnje, a kod HGD-a 9 % (6-20 %) godišnje (58). Adekvatna patohistološka dijagnoza ovisi i o pravilno uzetim biopsijama po Seattle protokolu. Prema tom protokolu, kada nema prethodnih podataka o displaziji, biopsije uzoraka Barrettove sluznice treba uzimati na svaka 2 cm iz 4 kvadranta, a dobiveni uzorci se stavljaju u odvojene bočice s formalinom. Ako je pacijent već imao dokazanu LGD ili HGD, bioptički uzorci se uzimaju na svaki 1 cm u 4 kvadranta (59). Zaključno, stupanj displazije je najvažniji faktor procjene rizika pacijenta s BE-om. Pojava cilindričnog epitela s vrčastim stanicama važan je biomarker u procesu karcinogeneze koja se zbiva u tri stupnja: od dispazije niskog stupnja, preko dispazije visokog stupnja do invazivnog karcinoma. Za optimalne rezultate bitna je bliska suradnja patologa i gastroenterologa te korelacija makroskopskog izgleda promjene, mjesta s kojeg je uzet bioptički uzorak ili endoskopska resekcija s patohistološkom slikom.

Prema dobivenim rezultatima najveći broj ispitanika njih (47,1 %) podvrgnut je RFA, APK je urađena kod jednoga, tj. (5,9 %), EMR napravljena je kod jednoga (5,9 %), kirurški zahvat radi suspektne lezije na želucu planiran je jednom ili (5,9 %) te je jednom ispitaniku (5,9 %) predložen kirurški zahvat (fundoplikacija jednjaka). Endoskopska terapija nije se radila kod četiri ispitanika (23,5 %).

Kada je potvrđena displazija niskog stupnja i kada se uzme u obzir incidencija LGD-a u HGD i adenokarcinomom jednjaka u toj podskupini pacijenata s BE-om prihvatljiv je stav da se tim pacijentima treba učiniti endoskopska ablativna terapija i/ili endoskopska mukozna resekcija (60, 61, 62). Čini se prema rezultatima da je RFA u odnosu na druge ablacijske metode uspješnija u eradikaciji metaplastične, Barrettove sluznice i ponovni nastanak normalnog višeslojnog pločastog epitela, što pokazuje i ostala dostupna literatura (60). Radiofrekventna ablacija (RFA) je najnovija i vjerojatno najefikasnija metoda koja se provodi radiofrekventnom energijom. Putem katetera s balonom isporučuje se energija za cirkumferentnu ablaciju (RFA 360). Drugi način putem ablacijskih katetera (RFA 60, 90) za fokalnu ablaciju opremljenih posebnim elektrodama. Prednost RFA pred ostalim metodama je brza isporuka energije na širem području Barrettove sluznice koja dovodi do kontrolirano duboke termalne ozljede te stoga smanjuje rizik od „burried” metaplazije i od formiranja striktura. Brojne studije su provedene s RFA-om u terapiji BE-a. Na temelju rezultata tih studija preporuča se terapija s RFA-om pacijentima i s HGD-om (63, 64).

Zbog prisutnosti displazije visokog stupnja (HGD) flat lezije na jednjaku, a virtualna histologija pCLE je utvrdila suspektne promjene kod jedne osobe (5,9 %), liječnik je u stvarnome vremenu učinio endoskopsku mukoznu resekciju (EMR) i time na rezultate patologije nije trebao čekati tjedan ili više dana. Prema dostupnoj literaturi endoskopska mukozna resekcija (EMR) je metoda izbora za dijagnozu suspektne neoplazije u sklopu Barrettova jednjaka ili lezija u GI-traktu. EMR zasebno ili u kombinaciji s endoskopskim metodama ablacije čini okosnicu liječenja ranih novotvorina u sklopu Barrettova jednjaka. Cilj EMR-e uvijek je potpuna resekcija mukoznoga i submukoznog sloja sve do mišićnice. EMR je metoda izbora kod tumora (EMR do 2 cm, ESD i više) – tumor mora biti ograničen na mukozu bez prodora u mišićni sloj (65). Za procjenu se koristi endoskopski ultrazvuk, narrow band imaging (NBI) i konfokalna laserska endomikroskopija (CLE) koje prethode EMR-i i/ili ESD-i (12, 41, 66).

Endoskopska ablacija, argon plazmom koagulacijom (APK) učinjena je kod jednog pacijenta (5,9 %). APK tehnika ne primjenjuje se za primarnu ablaciju BE-a, nego se preporučuje za eradikaciju (ablaciju) ostatnih rezidua nakon učinjene RFA, koja se primijenila u ovom slučaju. Dostupna literatura navodi da je koagulacija argonskom plazmom korisna u liječenju rane neoplazije BE-a i velikih područja displastične i nedisplastične sluznice BE-a. Visokofrekventna struja uzrokuje tkivnu ablaciju s pomoću ioniziranog argonskog plina (67).

Jednoj pacijentici (5,9 %) s poznatim sindromom familijarne adematozne polipoze (FAP) primjenjena je pCLE tehnika radi reevaluacije bolesti i moguće endoskopske intervencije. Uporabom CLE uočila se navedena suspektna lezija u želucu adematoznih promjena. Prema dostupnoj literaturi CLE omogućuje histološko promatranje želuca „in vivo“ bez potrebe za provođenjem biopsija te može razlikovati maligne od nemalignih promjena (68). Na temelju virtualne biopsije liječnik se odlučio za postavljanje hemostatskih kvačica radi markacije i potrebe za planiranjem kirurške resekcije kako ne bi došlo do maligne transformacije polipa u želucu s obzirom da se radi o pacijentici koja ima dugogodišnji FAP.

Kirurški zahvat (funduplikacija) nakon endoskopske kontrole preporučena je jednoj pacijentici (5,9 %) zbog dugogodišnjih refluksnih tegoba i trajne IPP terapije (5 god.), prisustva velike hijatalne hernije koja je povezana s težim oblikom GERB-a i Barrettovim jednjakom s displazijom niskog stupnja. Dostupna literatura navodi da je antirefluksna kirurgija (funduplikacija) također opcija kontrole GERB-a kod pacijenata sa BE-om kada unatoč optimalnoj terapiji IPP-a, refluks kiseline i dalje traje te dolazi do nepotpunog izliječenja metaplazije i displazije (69).

Jednom ispitaniku (5,9 %) nije učinjena endoskopska intervencija zbog prisutnosti aktivnog refluksa. Endoskopska ablacija (RFA) se nikad ne izvodi kod aktivne upale jer može inducirati promjene koje simuliraju displaziju niskog ili visokog stupnja. U ovom slučaju, uvedena je dvostruka doza IPP-om, dok se ne smire simptomi refluksa, a zatim kontrolna endoskopija za 3 mjeseca radi daljnjeg planiranja liječenja.

Zaključak slijedi da dosada nema endoskopske terapijske metode kojom bismo postigli potpunu, 100 %-tnu eradikaciju displastičnog BE-a i eliminirali nastanak adenokarcinom jednjaka. No, u eri kad je moguća endoskopska terapija HGD-a i rane neoplazije u BE-u, kombinacijom ablacijskih metoda i EMR-e je način da se očuva jednjak s niskim morbiditetom i mortalitetom, tim se metodama omogućuje čuvanje kvalitete života pacijenta.

Kod značajno više ispitanika njih (76,5 %) je bila preporučena dvostruka doza inhibitora protonske pumpe, naspram onih koji su bili na jednoj dozi IPP-a (23,5 %). Prva linija terapije u liječenju BE-a su inhibitori protonske pumpe (IPP) kako bi pacijenti riješili probleme s GERB-om i daljnja oštećenja jednjaka. Nakon endoskopskog zahvata treba primijeniti snažnu antisekretornu terapiju (inhibitori protonske pumpe u dvostrukoj dozi), i to obično mjesec dana nakon svake ablacije, ali se predlaže davanje IPP-a i mjesec dana prije ablacije.

Iz tablice 4., vidljivo je kako postoji visoka značajna negativna povezanost GERB-a i pušenja kao faktora rizika u nastajanju BE-a ( $r = -0,859$ ;  $P < 0,001$ ), odnosno pušenje se kao faktor rizika pojavljuje manje od GERB-a. Također GERB kao faktor rizika je umjereno negativno povezan sa simptomima bolesti ( $r = -0,588$ ;  $P = 0,01$ ), odnosno GERB je povezan s refluksnim tegobama kao simptomima bolesti.

Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti da se kod ispitanika faktor rizika pušenje manje pojavljuje od GERB-a za razvoj bolesti BE-a te kako je GERB povezan s refluksnim simptomima. Što se tiče pušenja kao potencijalnog faktora rizika većina studija je pokazala dvostruko viši rizik od razvoja BE-a u pušača, dok epidemiološke studije nisu potvrdile povišen rizik kod uzimanja alkohola (70, 71). Prema dostupnoj literaturi kao najvažniji faktor rizika za razvoj BE-a navodi se GERB, iako samo 5 – 10 % pacijenata s GERB-om razvije BE, tako da se u podlozi sigurno nalazi veliki broj vanjskih i unutarnjih faktora rizika (72). Pacijenti koji uz GERB imaju i BE subjektivno navode tek nešto češće refluksne tegobe nego pacijenti bez elemenata BE. Po smjernicima ASGE (American Society of Gastrointestinal Endoscopy) „screening“ endoskopiji treba podvrgnuti pacijente s kroničnim GERB-om dok po BSG (British Society of Gastroenterology) samo pacijente s alarmantnim simptomima. Zadnje AGA (American Gastroenterology Association) smjernice iz 2015. godine sugeriraju da nema potrebe za rutinskim „screeningom“ pacijenta s GERB-om već samo kod onih s dodatnim rizičnim faktorima za razvoj BE: stariji od 50 godina, muškarci, bijelci, prisustvo hijatalne hernije te povišen BMI uz abdominalnu pretilost (73, 74).

Analizirajući tablicu 5., uočeno je kako postoji značajna visoka pozitivna povezanost spola i stanja nakon RFA Barrettova jednjaka ( $r = 0,717$ ;  $P < 0,001$ ), odnosno ženski spol je značajno povezan sa stanjem nakon RFA Barrettova jednjaka. Pušenje kao faktor rizika Barrettovog jednjaka umjereno je pozitivno povezan s pitanjem RFA Barrettovog jednjaka ( $r = 0,566$ ;  $P = 0,01$ ).

Distribucijom rezultata radi se o ženskom spolu koji je u redovitom endoskopskom praćenju zbog BE-a učinjena im je kontrolna gastroskopija i CLE kako bi se procijenila sluznica jednjaka nakon ablativne terapije (RFA). Ovisno, prema endoskopskom nalazu planira se daljnje gastroenterološko liječenje ili nastavak ablativne terapije. Prema smjernicima „American College of Gastroenterology“ nakon RFA-a treba endoskopski pratiti područje ablacije s biopsijama u intervalima koji su određeni prijašnjim stupnjem displazije i težine bolesti neovisno o spolu (75).

Kontrolni se pregled zakazuje za 2-3 mjeseca nakon svake ablacije s biopsijama da bi se potvrdila kompletna eradikacija. Nakon potpune eradikacije savjetuju se daljnje kontrole jer BE uvijek može ponovno nastati. Istražujući literaturu o ovim rezultatima, možemo reći da radimo postupke endoskopskog praćenja oboljelih od BE-a nakon ablativne terapije kako sugeriraju smjernice (75).

Statistički rezultati pokazuju da konzumacija duhana umjereno povećava rizik nastajanja BE-a. Tim se pacijentima prilikom kontrolne gastroskopije, tj. indikacije postavljalo pitanje o nastavku daljnje ablativne terapije. Prema dostupnoj literaturi za razliku od planocelularnog karcinoma, povezanost pušenja i adenokarcinoma jednjaka puno je manja. Rotterdamska grupa (76) dokazala je da je rizik od adenokarcinoma jednjaka 2,3 x veći kod pušača nego nepušača dok ostale studije to nisu potvrdile (77), tako da nema čvrstih dokaza o povezanosti pušenja s progresijom prema karcinomu u sklopu BE.

Istražujući podatke iz tablice 6., vidljivo je kako postoji umjerena pozitivna povezanost spola i kratkog segmenta BE, C0/M1 ( $r=0,462$ ;  $P=0,04$ ), odnosno kratki segment BE, C0/M1 povezan je sa ženskim spolom ispitanika. Faktor rizika za nastanak Barrettovog jednjaka - GERB umjereno je negativno povezan s Barrettovim jednjakom prema Praškoj klasifikaciji C0/M3 ( $r=-0,537$ ;  $P=0,03$ ) i C4/M5 ( $r=-0,537$ ;  $P=0,03$ ), odnosno Barrettov jednjak prema Praškoj klasifikaciji CO/M3 i C4/M5 povezan je s nepostojanjem GERB-a kao faktora rizika.

Iz rezultata je vidljivo da je kratki segment BE-a (SSBE) učestaliji kod ženskog spola nego dugački segment BE-a (LSBE), odnosno duljina Barrettovog jednjaka je veća u muškaraca nego u žena, te nam se dobiveni podaci podudaraju s dostupnom literaturom (78). Veći broj studija (metaanaliza te case – control studija) (79, 80) ipak ukazuje da je incidencija adenokarcinoma kod BE dvostruko veća u muškaraca (1,01 na 100 pacijenata godišnje) nego u žena (0,45 na 100 pacijenata godišnje) tako da se smatra da je muški spol rizičniji faktor progresije stupnja displazije i razvoja adenokarcinoma kod pacijenata s BE.

Rezultati pokazuju da GERB kao faktor rizika nije bio povezan prema Praškoj klasifikaciji CO/M3 i C4/M5 za nastajanje BE-a. Iz dostupne literature pacijenti obično imaju dugotrajni GERB, međutim to nije uvijek pravilo. Oko 25 % pacijenata nema simptome refluksa i u njih je BE slučajno otkriven pri endoskopskoj pretrazi učinjenoj iz drugih razloga (25).



Rezultati iz tablice 7., prikazuju kako postoji značajna umjerena negativna povezanost dobi ispitanika i intestinalne metaplazije u patohistološkom nalazu ( $r=-0,490$ ;  $P=0,04$ ), odnosno mlađa dob ispitanika povezana je s navedenom promjenom u patohistološkom nalazu.

Podaci faktora rizika prema dobi pacijenata su oskudni. Po studiji Clevelandske klinike (81) dob je faktor rizika od razvoja displazije/adenokarcinoma dok se po novijim studijama (82, 83) stupanj displazije i razvoj adenokarcinoma nije razlikovao kod pacijenata mlađih ili starijih od 50 godina. Zaključno, trenutno nema dovoljno podataka kojima bismo dob pacijenta proglasili faktorom rizika za progresiju BE.

Tablica 8., prikazuje značajnu umjerenu negativnu povezanost dobi ispitanika i endoskopske intervencije gdje nema indikacije ( $r=-0,494$ ;  $P=0,04$ ), odnosno endoskopske intervencije gdje nema indikacije, povezane su s mlađom životnom dobi ispitanika.

Dob pacijenta je, logično i očekivano povezana s razvojnom fazom BE-a. Mlađa životna dob je skupini s BE bez displazije te nema indikaciju za endoskopsku terapiju (intervenciju). Na temelju endoskopske inspekcije NBI spektrom i CLE tehnologijom nije uočena značajna patologija (uredan mukozni i vaskularni crtež). Uz pomoć metode uskopojasnim spektrom (narrow-band imaging - NBI) i konfokalne laserske endomikroskopije utvrđeno je da nema znakova displastičnog epitela i nema potrebe za ablativnom terapijom, nego po odluci gastroenterologa uzete su biopsije gdje treba pričekati patohistološki nalaz kako bi se odlučilo o daljnjem liječenju i endoskopskom paračenju.

Tablica 9., prikazuje kako nema značajnih razlika u distribuciji nalaza virtualne biopsije i patohistologije ( $P=0,111$ ).

Vidljivo je unutar konkretnog istraživanja da uporaba pCLE tehnologije olakšava dijagnostiku ranih, premalignih lezija probavnog trakta što rezultira potrebom za manjim brojem nasumičnih biopsija. Time se omogućuje endoskopičaru postavljanje patohistološke dijagnoze u stvarnome vremenu kako bi mogao pristupiti adekvatnome terapijskom postupku bez čekanja patohistološkog nalaza. Rezultati su očekivani, ali za statističku potvrdu potrebno je imati puno veću skupinu pacijenata kako bi utvrdili korisnost CLE tehnologije u detekciji premalignih i malignih promijena kod probavnoga trakta. Za sada, pCLE ne uklanja u potpunosti isključivanje radomiziranih biopsija.

Prema dostupnoj literaturi konfokalna endomikroskopija producira mnoštvo horizontalnih presjeka koji čine trodimenzionalni mikroskopski prikaz sluznične arhitekture (in vivo histopatološki prikaz). Konfokalna endomikroskopija nam pruža simultanu endoskopsku i mikroskopsku sliku tj. omogućuje ciljani endomikroskopski prikaz makroskopski suspektne lezije. Lokalna aplikacija akriflavina (0,02 %) ili sistemska aplikacija flourescina (10 %) omogućuju izvrstan prikaz tkivne arhitekture (krvnih žila, stanica i vezivnog tkiva). S obzirom da je riječ o „najmlađoj“ endoskopskoj tehnici, velikih prospektivnih studija još nema, ali preliminarni rezultati ukazuju na visoku specifičnost i osjetljivost u detekciji displazije (83).

## **7. ZAKLJUČAK**

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti slijedeći zaključci:

- Nema značajnih razlika u distribuciji nalaza virtualne biopsije i patohistologije (P=0,111).
- Upotrebom CLE prisutnost vrčastih stanica crijevnog tipa utvrđuje dijagnozu Barrettovog jednjaka i indentificira mjesto intestinalne metaplazije i dispalzije
- pCLE pomaže u određivanju histologije prije endoskopskog liječenja (intervencija) u liječenju BE-a.
- pCLE indentificira mjesta rezidualnog Barrettovog jednjaka u pacijenata koji se podvrgavaju ablativnoj terapiji.
- Ako se otkrije displazija, liječnici mogu odmah pristupiti mukozektomiji (EMR ili ESD). Na nalaz patologije i rezultate koji zahtijevaju drugu fazu postupka nije potrebno čekati tjedan ili više. To također može utjecati na troškove i na morbiditet.

## 8. SAŽETAK

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** Cilj ovog diplomskog rada je bio ispitati korelaciju između virtualne biopsije uprabom konfokalne laserske endomikroskopije (pCLE) i „slijepe“ biopsije, tj. patohistologije kod pacijenata oboljelih od Barrettovog jednjaka.

**USTROJ STUDIJE:** Istraživanje je retrospektivno opservacijsko.

**ISPITANICI I METODE:** Ispitanici su pacijenti s refluksnim smetnjama i dokazanim postojanjem Barrettovog jednjaka kojima je u razdoblju od 2018. do 2020. godine učinjena konfokalna laserska endomikroskopija.

**REZULTATI:** Prosječna dob oboljelih od Barrettovog jednjaka prema muškom i ženskom spolu je od 51 do 65 godina, tj. 47,1 %. Vidljivo je kako značajno više ispitanika ima GERB kao faktor rizika za nastajanje BE-a (76,5 %). Iz rezultata je vidljivo da najveći udio ispitanika ima pravilne vrčaste stanice prilikom upotrebe konfokalne laserske endomikroskopije (pCLE), njih 82,4 %. Analizom patohistološkog nalaza kod najvećeg broja ispitanika bila je prisutna intestinalna metaplazija bez displazije (IM, 47,1 %) i displazija niskog stupnja (LGD, 41,2 %). Prema dobivenim rezultatima najveći broj ispitanika, njih 47,1 %, podvrgnut je endoskopskoj terapiji RFA. Preporučena terapija inhibitorima protonske pumpe (IPP-om) najviše je bilo dvostrukom dozom za njih (76,5 %). Unutar konkretnog rada vidljivo je kako nema značajnih razlika u distribuciji nalaza virtualne biopsije i patohistologije ( $P=0,111$ ).

**ZAKLJUČAK:** Možemo zaključiti upotrebom virtualne biopsije pCLE da prisutnost vrčastih stanica crijevnog tipa utvrđuje dijagnozu Barrettovog jednjaka. Identificira mjesta intestinalne metaplazije i displazije. Upotreba pCLE može pomoći u određivanju histologije u stvarnome vremenu te time gastroenterolozi mogu odmah pristupiti adekvatnome terapijskom postupku bez čekanja patohistološkog nalaza.

**Ključne riječi:** Barrettov jednjak; dijagnostika; konfokalna laserska endomikroskopija; lezije

## 8. SUMMARY

### **Confocal laser endomicroscopy in gastroenterology and its application in KBC ZAGREB**

**OBJECTIVE :** The aim of this thesis was to examine the correlation between virtual biopsy using confocal laser endomicroscopy (pCLE) and ‘blind’ biopsy, i.e. pathohistology in patients with Barrett's esophagus.

**TYPE OF STUDY:** The research is retrospectively observational.

**RESPONDENTS AND METHODS:** The subjects are patients with reflux disorders and a proven existence of Barrett's esophagus who had gone through confocal laser endomicroscopy in the period between 2018 and 2020.

**RESULTS:** The average age of patients with Barrett's esophagus by sex is from 51 to 65 years, ie (47,1 %). It can be seen that significantly more subjects have GERD as a risk factor for developing BE (76,5 %). The results show that the largest proportion of subjects have regular goblet cells when using confocal laser endomicroscopy (pCLE), 82,4 % of them. Analysis of pathohistological findings in the largest number of subjects included showed intestinal metaplasia without dysplasia (IM, 47,1 %) and low-grade dysplasia (LGD, 41,2 %). According to the obtained results, the largest number of subjects (47,1 %) underwent endoscopic RFA therapy. The recommended proton pump inhibitors therapy (PPIs) was a maximum of double dose for them (76,5 %). Within the concrete work, it is evident that there are no significant differences in the distribution of virtual biopsy and pathohistology findings ( $P = 0,111$ ).

**CONCLUSION:** We can conclude by using virtual pCLE biopsy that the presence of intestinal-type goblet cells determines the diagnosis of Barrett's esophagus. It identifies sites of intestinal metaplasia and dysplasia. The use of pCLE can help determine the histology in real time and thus gastroenterologists can immediately access an adequate therapeutic procedure without waiting for a pathohistological finding.

**Key words:** Barrett's esophagus; confocal laser endomicroscopy; diagnostic; lesions

## 9. LITERATURA

1. Polglase AL, McLaren WJ, Skinner SA, Kiesslich R, Neurath MF, Delaney PM. A fluorescence confocal endomicroscope for in vivo microscopy of the upper- and the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc.* 2005;62(5):686-95.
2. Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, Dahlmann A, Vieth M, Stolte M, i sur. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(8):979-87.
3. Spessotto P, Fornasarig M, Pivetta E, Maiero S, Magris R, Mongiat M, i sur. Probe-based confocal laser endomicroscopy for in vivo evaluation of the tumor vasculature in gastric and rectal carcinomas. *Sci Rep.* 2017;7(1):9819.
4. Croatian Institute of public health. Cancer incidence in Croatia in 2013. Dostupno na: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Bilten-2013\\_final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Bilten-2013_final.pdf). Datum pristupa: 20.09.2021.
5. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, i sur. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 2019;144(8):1941-1953.
6. Strnad M. Epidemiology of esophageal gastric and colon carcinoma in Croatia. *Acta Med Croat.* 2001;55(4):15.
7. Vial M, Grande L, Pera M. Epidemiology of adenocarcinoma of the esophagus, gastric cardia, and upper gastric third. *Recent Results Cancer Res.* 2010;182:1-17.
8. Rustemović, N. Suvremena endoskopska dijagnostika i terapija novotvorina probavnog trakta. Hrvatski lječnički zbor. Hrvatsko društvo umirovljenih liječnika.
9. Puli SR, Reddy JB, Bechtold ML, Antillon D, Ibdah JA, Antillon MR. Staging accuracy of esophageal cancer by endoscopic ultrasound: a meta-analysis and systematic review. *World J Gastroenterol.* 2008;14(10):1479-90.
10. Savoy AD, Wallace MB. EUS in the management of the patient with dysplasia in Barrett's esophagus. *J Clin Gastroenterol.* 2005 Apr;39(4):263-7.
11. Patrun J, Okreša L, Iveković H, Rustemović N. Diagnostic Accuracy of NICE Classification System for Optical Recognition of Predictive Morphology of Colorectal Polyps. *Gastroenterol Res Pract.* 2018;2018:7531368.
12. Kara MA, Ennahachi M, Fockens P, ten Kate FJ, Bergman JJ. Detection and classification of the mucosal and vascular patterns (mucosal morphology) in Barrett's esophagus by using narrow band imaging. *Gastrointest Endosc.* 2006;64(2):155-66.

13. Mannath J, Subramanian V, Hawkey CJ, Ragnath K. Narrow band imaging for characterization of high grade dysplasia and specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus: a meta-analysis. *Endoscopy*. 2010;42(5):351-9.
14. Richardson C, Colavita P, Dunst C, Bagnato J, Billing P, Birkenhagen K, i sur. Real-time diagnosis of Barrett's esophagus: a prospective, multicenter study comparing confocal laser endomicroscopy with conventional histology for the identification of intestinal metaplasia in new users. *Surg Endosc*. 2019;33(5):1585-1591.
15. Carns J, Keahey P, Quang T, Anandasabapathy S, Richards-Kortum R. Optical molecular imaging in the gastrointestinal tract. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2013;23(3):707-23.
16. Nabi Z, Reddy DN. Optical biopsy in gastroenterology: Focus on confocal laser endomicroscopy. *Indian J Gastroenterol*. 2019;38(4):281-286.
17. Al-Mansour MR, Caycedo-Marulanda A, Davis BR, Alawashez A, Docimo S, Qureshi A, i sur. SAGES TAVAC safety and efficacy analysis confocal laser endomicroscopy. *Surg Endosc*. 2020 May 13. doi: 10.1007/s00464-020-07607-3. Epub ahead of print.
18. Templeton A, Hwang JH. Confocal microscopy in the esophagus and stomach. *Clin Endosc*. 2013;46(5):445-449.
19. Shieh FK, Drumm H, Nathanson MH, Jamidar PA. High-definition confocal endomicroscopy of the common bile duct. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46(5):401-406.
20. Konda VJ, Meining A, Jamil LH, Giovannini M, Hwang JH, Wallace MB, i sur. A pilot study of in vivo identification of pancreatic cystic neoplasms with needle-based confocal laser endomicroscopy under endosonographic guidance. *Endoscopy*. 2013;45(12):1006-13.
21. Liu J, Dlugosz A, Neumann H. Beyond white light endoscopy: the role of optical biopsy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2013;19(43):7544-51.
22. Humphris J, Swartz D, Egan BJ, Leong RW. Status of confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal disease. *Trop Gastroenterol*. 2012;33(1):9-20.
23. Sharma P, McQuaid K, Dent J, Fennerty MB, Sampliner R, Spechler S, i sur. AGA Chicago Workshop. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the AGA Chicago Workshop. *Gastroenterology*. 2004;127(1):310-30.
24. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(8):1900-20.
25. Pulanić R. Gastroezofagealna refluksna bolest i ostale bolesti jednjaka. U: Vrhovac B. *Interna medicina*, Zagreb: Naklada Ljevak; 2003. Str. 830 – 4.

26. Cameron AJ, Zinsmeister AR, Ballard DJ, Carney JA. Prevalence of columnar-lined (Barrett's) esophagus. Comparison of population-based clinical and autopsy findings. *Gastroenterology*. 1990;99(4):918-22.
27. Alvarez Herrero L, Curvers WL, van Vilsteren FG, Wolfsen H, Ragnath K, Wong Kee Song LM, i sur. Validation of the Prague C&M classification of Barrett's esophagus in clinical practice. *Endoscopy*. 2013;45(11):876-82.
28. Markoš P. Ekspresija MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, p53 u različitim stadijima razvoja Barrett-ovog jednjaka od metaplazije do adenokarcinoma jednjaka [disertacija]. Split: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2018.
29. Elsheaita A, El-Bially MA, Shamseya MM, Ahmed SS, Madkour MA, Shamseya AM, i sur. Nouh HH. Seattle protocol vs narrow band imaging guided biopsy in screening of Barrett's esophagus in gastroesophageal reflux disease patients. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(8):e19261.
30. Nguyen NT, Chang K, Nahidi T, Wilson SE, Luketich JD. Esophagectomy for Barrett's esophagus: indications, techniques, and outcome. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2006;9(1):85-92.
31. Shaheen NJ, Falk GW, Iyer PG, Gerson LB. American College of Gastroenterology. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol*. 2016;111(1):30-50.
32. Ko KH, Han NY, Kwon CI, Lee HK, Park JM, Kim EH, i sur. Recent advances in molecular imaging of premalignant gastrointestinal lesions and future application for early detection of barrett esophagus. *Clin Endosc*. 2014;47(1):7-14.
33. Caillol F, Godat S, Poizat F, Autret A, Pesenti C, Bories E, Ratone JP, Giovannini M. Probe confocal laser endomicroscopy in the therapeutic endoscopic management of Barrett's dysplasia. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(3):295-301.
34. Xiong YQ, Ma SJ, Hu HY, Ge J, Zhou LZ, Huo ST, i sur. Comparison of narrow-band imaging and confocal laser endomicroscopy for the detection of neoplasia in Barrett's esophagus: A meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(1):31-39.
35. Wu J, Pan YM, Wang TT, Hu B. Confocal laser endomicroscopy for detection of neoplasia in Barrett's esophagus: a meta-analysis. *Dis Esophagus*. 2014;27(3):248-54.
36. Sharma P, Meining AR, Coron E, Lightdale CJ, Wolfsen HC, Bansal A, i sur. Real-time increased detection of neoplastic tissue in Barrett's esophagus with probe-based confocal laser endomicroscopy: final results of an international multicenter, prospective, randomized, controlled trial. *Gastrointest Endosc*. 2011;74(3):465-72.



37. Wallace M, Lauwers GY, Chen Y, Dekker E, Fockens P, Sharma P, i sur. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011;43(10):882-91.
38. Bertani H, Frazzoni M, Dabizzi E, Pigò F, Losi L, Manno M, i sur. Improved detection of incident dysplasia by probe-based confocal laser endomicroscopy in a Barrett's esophagus surveillance program. *Dig Dis Sci*. 2013;58(1):188-93.
39. Dunbar KB. Endomicroscopy in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2013 Jul;23(3):565-79.
40. Wallace MB, Crook JE, Saunders M, Lovat L, Coron E, Waxman I, i sur. Multicenter, randomized, controlled trial of confocal laser endomicroscopy assessment of residual metaplasia after mucosal ablation or resection of GI neoplasia in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 2012;76(3):539-47.
41. Canto MI, Anandasabapathy S, Brugge W, Falk GW, Dunbar KB, Zhang Z, i sur; Confocal Endomicroscopy for Barrett's Esophagus or Confocal Endomicroscopy for Barrett's Esophagus (CEBE) Trial Group. In vivo endomicroscopy improves detection of Barrett's esophagus-related neoplasia: a multicenter international randomized controlled trial (with video). *Gastrointest Endosc*. 2014;79(2):211-21.
42. Boerwinkel DF, Swager A, Curvers WL, Bergman JJ. The clinical consequences of advanced imaging techniques in Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2014;146(3):622-629.
43. Marušić M. i sur. Uvod u znanstveni rad u medicini. 5. izd. Udžbenik. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
44. Fugazza A, Gaiani F, Carra MC, Brunetti F, Lévy M, Sobhani I, i sur. Confocal Laser Endomicroscopy in Gastrointestinal and Pancreatobiliary Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:4638683.
45. Sharma N, Ho KY. Risk Factors for Barrett's Oesophagus. *Gastrointest Tumors*. 2016;3(2):103-108.
46. Falk GW. Gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *Endoscopy*. 2001;33(2):109-18.
47. Sikkema M, Looman CW, Steyerberg EW, Kerkhof M, Kastelein F, van Dekken H, i sur. Predictors for neoplastic progression in patients with Barrett's Esophagus: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(7):1231-8.
48. Streitz JM Jr, Andrews CW Jr, Ellis FH Jr. Endoscopic surveillance of Barrett's esophagus. Does it help? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;105(3):383-7.

49. Peters JH, Clark GW, Ireland AP, Chandrasoma P, Smyrk TC, DeMeester TR. Outcome of adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus in endoscopically surveyed and nonsurveyed patients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(5):813-21.
50. Cameron AJ, Carpenter HA. Barrett's esophagus, high-grade dysplasia, and early adenocarcinoma: a pathological study. *Am J Gastroenterol.* 1997;92(4):586-91.
51. Konda VJ, Ross AS, Ferguson MK, Hart JA, Lin S, Naylor K, i sur. Is the risk of concomitant invasive esophageal cancer in high-grade dysplasia in Barrett's esophagus overestimated? *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(2):159-64.
52. Weston AP, Sharma P, Mathur S, Banerjee S, Jafri AK, Cherian R, i sur. Risk stratification of Barrett's esophagus: updated prospective multivariate analysis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(9):1657-66.
53. Sharma P, Morales TG, Sampliner RE. Short segment Barrett's esophagus--the need for standardization of the definition and of endoscopic criteria. *Am J Gastroenterol.* 1998;93(7):1033-6.
54. Neumann H, Langner C, Neurath MF, Vieth M. Confocal Laser Endomicroscopy for Diagnosis of Barrett's Esophagus. *Front Oncol.* 2012;2:42.
55. Wani S, Falk G, Hall M, Gaddam S, Wang A, Gupta N, i sur. Patients with nondysplastic Barrett's esophagus have low risks for developing dysplasia or esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9(3):220-7.
56. Yousef F, Cardwell C, Cantwell MM, Galway K, Johnston BT, Murray L. The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2008;168(3):237-49.
57. Spechler SJ. Barrett esophagus and risk of esophageal cancer: a clinical review. *JAMA.* 2013;310(6):627-36.
58. de Jonge PJ, van Blankenstein M, Looman CW, Casparie MK, Meijer GA, Kuipers EJ. Risk of malignant progression in patients with Barrett's oesophagus: a Dutch nationwide cohort study. *Gut.* 2010;59(8):1030-6.
59. Elsheaita A, El-Bially MA, Shamseya MM, Ahmed SS, Madkour MA, i sur. Seattle protocol vs narrow band imaging guided biopsy in screening of Barrett's esophagus in gastroesophageal reflux disease patients. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(8):e19261.
60. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 2011;140(3):1084-91.

61. Lim CH, Treanor D, Dixon MF, Axon AT. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus has a high risk of progression. *Endoscopy*. 2007;39(7):581-7.
62. Fleischer DE, Odze R, Overholt BF, Carroll J, Chang KJ, Das A, i sur. The case for endoscopic treatment of non-dysplastic and low-grade dysplastic Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci*. 2010;55(7):1918-31.
63. Sharma VK, Kim HJ, Das A, Dean P, DePetris G, Fleischer DE. A prospective pilot trial of ablation of Barrett's esophagus with low-grade dysplasia using stepwise circumferential and focal ablation (HALO system). *Endoscopy*. 2008;40(5):380-7.
64. Fleischer DE, Overholt BF, Sharma VK, Reymunde A, Kimmey MB, Chuttani R, i sur. Endoscopic ablation of Barrett's esophagus: a multicenter study with 2.5-year follow-up. *Gastrointest Endosc*. 2008;68(5):867-76.
65. van Vilsteren FG, Pouw RE, Seewald S, Alvarez Herrero L, Sondermeijer CM, Visser M i sur. Stepwise radical endoscopic resection versus radiofrequency ablation for Barrett's oesophagus with high-grade dysplasia or early cancer: a multicentre randomised trial. *Gut*. 2011;60(6):765-73.
66. Buskens CJ, Westerterp M, Lagarde SM, Bergman JJ, ten Kate FJ, van Lanschot JJ. Prediction of appropriateness of local endoscopic treatment for high-grade dysplasia and early adenocarcinoma by EUS and histopathologic features. *Gastrointest Endosc*. 2004;60(5):703-10.
67. Carignan CS, Yagi Y. Optical endomicroscopy and the road to real-time, in vivo pathology: present and future. *Diagn Pathol*. 2012;7:98.
68. Manner H, May A, Miehke S, Dertinger S, Wigglinghaus B, Schimming W, i sur. Ablation of nonneoplastic Barrett's mucosa using argon plasma coagulation with concomitant esomeprazole therapy (APBANEX): a prospective multicenter evaluation. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(8):1762-9.
69. Spechler SJ, Lee E, Ahnen D, Goyal RK, Hirano I, Ramirez F, i sur. Long-term outcome of medical and surgical therapies for gastroesophageal reflux disease: follow-up of a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;285(18):2331-8.
70. Johansson J, Håkansson HO, Mellblom L, Kempas A, Johansson KE, Granath F, i sur. Risk factors for Barrett's oesophagus: a population-based approach. *Scand J Gastroenterol*. 2007;42(2):148-56.
71. Kubo A, Levin TR, Block G, Rumore GJ, Quesenberry CP Jr, Buffler P, i sur. Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2009;136(3):806-15.

72. Edelstein ZR, Bronner MP, Rosen SN, Vaughan TL. Risk factors for Barrett's esophagus among patients with gastroesophageal reflux disease: a community clinic-based case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(4):834-42.
73. Playford RJ. New British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut.* 2006;55(4):442.
74. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 2011;140(3):1084-91.
75. Wang KK, Sampliner RE; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(3):788-97.
76. Menke-Pluymers MB, Hop WC, Dees J, van Blankenstein M, Tilanus HW. Risk factors for the development of an adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett) esophagus. The Rotterdam Esophageal Tumor Study Group. *Cancer.* 1993;72(4):1155-8.
77. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, Chejfec G, Metz A, Sontag SJ. Hiatal hernia size, Barrett's length, and severity of acid reflux are all risk factors for esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):1930-6.
78. Falk GW, Thota PN, Richter JE, Connor JT, Wachsberger DM. Barrett's esophagus in women: demographic features and progression to high-grade dysplasia and cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(11):1089-94.
79. Bani-Hani KE, Bani-Hani BK, Martin IG. Characteristics of patients with columnar-lined Barrett's esophagus and risk factors for progression to esophageal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol.* 2005;11(43):6807-14.
80. de Jonge PJ, Steyerberg EW, Kuipers EJ, Honkoop P, Wolters LM, Kerkhof M i sur. Risk factors for the development of esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(7):1421-9.
81. O'Connor JB, Falk GW, Richter JE. The incidence of adenocarcinoma and dysplasia in Barrett's esophagus: report on the Cleveland Clinic Barrett's Esophagus Registry. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(8):2037-42.
82. Connor MJ, Weston AP, Mayo MS, Sharma P. The prevalence of Barrett's esophagus and erosive esophagitis in patients undergoing upper endoscopy for dyspepsia in a VA population. *Dig Dis Sci.* 2004;49(6):920-4.
83. Oberg S, Wenner J, Johansson J, Walther B, Willén R. Barrett esophagus: risk factors for progression to dysplasia and adenocarcinoma. *Ann Surg.* 2005;242(1):49-54.

84. Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, Dahmann A, Vieth M, Stolte M, et al. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(8):979-87.

## **11. PRILOZI**

### **12. 1.1. Suglasnost za provođenje istraživanja**

## 1.1. Suglasnost za provođenje istraživanja izdano od strane KBC – ZAGREB

**KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR ZAGREB**  
Etičko Povjerenstvo  
ZAGREB – Kišpatičeva 12

Klasa: 8.1-20/90-2  
Broj: 02/21 AG

Zagreb, 08. lipnja 2020. godine

**Kristna Čor, prvostupnica sestrinstva**  
**Klinika za unutarnje bolesti**

### **Predmet: Suglasnost za provođenje istraživanja**

Na 145. redovnoj sjednici Etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb održanoj 08. lipnja 2020. godine razmotrena je Vaša zamolba za odobrenje istraživanja pod nazivom: „Konfokalna laserska endomikroskopija i njena primjena na KBC-u“ u svrhu izrade diplomskog rada pod mentorstvom doc. dr. sc. Štefice Mikšić, mr. ses.

Istraživanje će se provesti u Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Etičko je povjerenstvo suglasno s provođenjem navedenog istraživanja, s obzirom da se isto ne kosi s etičkim načelima.

**Predsjednik Etičkog povjerenstva**

**Prof. dr. sc. Darko Marčinko<sup>1)</sup>**



Dostaviti:

1. Kristina Čor, prvostupnica sestrinstva,  
Klinika za unutarnje bolesti,
2. Arhiva