

Endomicroscopia confocal

MARÍA LÓPEZ-CERÓN PINILLA Y MARIA PELLISÉ URQUIZA

Unidad de Endoscopia. Servicio de Gastroenterología. Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Barcelona. España.

La endomicroscopia confocal (EC) es, probablemente, la mayor revolución en la endoscopia diagnóstica actual ya que permite integrar las visiones macroscópica y microscópica *in vivo*. Esta técnica utiliza una fuente de luz láser y marcadores fluorescentes para obtener imágenes de los tejidos a gran aumento, similares a las histológicas.

La capacidad de evaluar *in vivo* cambios en las células, los vasos y el tejido conectivo es de gran utilidad para tomar biopsias dirigidas o para determinar, en el momento de la endoscopia, la necesidad de resecar una lesión. Esto es de especial interés en el caso de procesos con cambios mucosos microscópicos que hasta ahora sólo era posible diagnosticar con biopsias aleatorias.

Puntos clave

● La endomicroscopia confocal es una nueva herramienta diagnóstica que consiste en un microscopio confocal miniaturizado acoplado en la punta de un endoscopio.

● Mediante agentes de contraste fluorescente la endomicroscopia confocal es capaz de obtener imágenes de gran aumento ($\times 1.000$), similares a las imágenes histológicas.

● Las principales utilidades de la endomicroscopia confocal son: a) la posibilidad de tomar biopsias dirigidas, y b) la posibilidad de obtener un diagnóstico histológico *in vivo* para poder tomar decisiones terapéuticas en el momento de la endoscopia.

● La endomicroscopia confocal ha demostrado su utilidad en un estudio controlado para el cribado de displasia en la colitis ulcerosa de larga evolución y para la detección de esófago de Barrett y displasia sobre Barrett.

GENERALIDADES

La microscopia confocal consiste en la obtención de un corte óptico de muestra celular o de tejido grueso utilizando marcadores fluorescentes capaces de identificar receptores específicos de la célula. Se utiliza un rayo láser ultravioleta muy fino y paralelo que incide en un punto del tejido, lo que produce una fluorescencia que es captada por un filtro que impide la captación de las demás señales. De este modo, es posible obtener secciones de tejido de 150 μm y explorar la mucosa hasta una profundidad de 250 μm con una resolución mayor que con el microscopio óptico. A diferencia del examen con microscopio óptico, no es necesario hacer secciones finas por lo que no hay que manipular el material y, en consecuencia, se puede hacer exámenes *in vivo*. Recientemente se ha comercializado el primer endomicroscopio gracias a una colaboración entre Optiscan Imaging Ltd. (Australia), que ha logrado miniaturizar un microscopio confocal, y Pentax (Japón), que lo ha incorporado a un endoscopio convencional (fig. 1). Con este instrumento es posible obtener imágenes histológicas *in vivo* con un aumento de 1.000 durante la realización de una endoscopia convencional¹ (figs. 2 y 3). Por otro lado, Cellvizio-GI (Mauna-Kea Technologies, París, Francia) ha diseñado una sonda confocal que se introduce a través del canal de trabajo del endoscopio. Las diferencias principales entre estos dos sistemas son que el endoscopio confocal consigue mayor resolución axial y lateral y permite obtener secciones del tejido a varias profundidades. En cambio, la sonda confocal sólo es capaz de obtener secciones en un mismo plano, pero genera más imágenes por segundo y las combina con las de puntos adyacentes, obteniendo una imagen tipo "mosaico" en tiempo real². Además esta minisonda confocal presenta la ventaja de poderse introducir por el canal operativo de cualquier endoscopio, lo que permite combinar la información obtenida con otras técnicas endoscópicas avanzadas (alta resolución, *narrow band imaging*, fluorescencia).

Para ambos sistemas es necesario utilizar agentes de contraste fluorescentes. El más utilizado es la fluoresceína al 10% (5-10

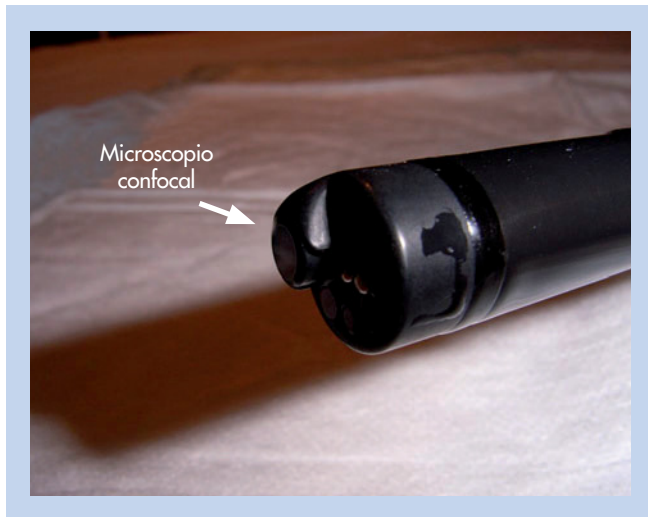


Figura 1. Extremo distal de un endoscopio confocal. El microscopio confocal miniaturizado se encuentra en la ventana que protruye mínimamente de la punta del endoscopio. El canal de trabajo y los canales para agua, aire y luz se encuentran adyacentes.

ml por vía intravenosa), que resalta la vasculatura, la lámina propia y el espacio intracelular. Como efecto secundario principal, produce una coloración amarillenta de la piel y la orina de forma transitoria. En general, es un fármaco seguro; el efecto adverso más frecuente son las náuseas (3,5%), aunque también se han descrito efectos adversos graves ocasionales, como reacciones alérgicas con hipotensión y arritmias (0,6%)³. Otros contrastes son la acriflavina al 0,05% y el violeta de cresilo al 1%, que se pueden aplicar de forma tópica y son capaces de teñir los núcleos, a diferencia de la fluoresceína².

La técnica de realización de la endoscopia es la misma que con un endoscopio convencional. Tras la aplicación del contraste se posiciona el extremo distal del endoscopio o de la sonda en íntimo contacto con la superficie mucosa, obteniendo imágenes del punto donde se encuentra apoyado. En el caso del endoscopio confocal, la posición del plano focal dentro del tejido se ajusta mediante dos botones adicionales en el endoscopio. Es posible seleccionar las imágenes interesantes y almacenarlas digitalmente en el disco duro usando un pedal.

APLICACIONES CLÍNICAS

La capacidad de evaluar *in vivo* cambios en las células, los vasos y el tejido conectivo es de gran utilidad para la toma de biopsias dirigidas o para determinar en el momento de la endoscopia la necesidad de reseccionar una lesión. De este modo, se minimizan los riesgos que conllevan las biopsias o endoscopias múltiples, que incluyen sangrado e infecciones. Por otra parte, se puede evitar el riesgo de sobretratamiento (resección de lesiones no neoplásicas) o infratratamiento (biopsia en lugar de resección de lesiones neoplásicas). Dado que es una técnica reciente, sus aplicaciones todavía no están plenamente establecidas y su uso no está implantado en la práctica clínica. Sus potenciales aplicaciones son para enfermedades que no se acompañan de un cambio macroscópico llamativo y en las que son necesarias biopsias aleatorizadas para llegar a un diagnóstico (tabla 1).

CÁNCER COLORRECTAL

En 2004 Kiesslich y sus colaboradores publicaron el primer estudio realizado con pacientes⁴. Se realizó una EC a 42 pacientes con la intención de diagnosticar *in vivo* neoplasia intraepitelial y cáncer colorrectal (CCR). La imagen endomicroscópica de las neoplasias mostró una morfología desigual, tubular o vellosa, con reducción en el número de células caliciformes y arquitectura vascular irregular (fig. 4). Se diseñó una clasificación para diferenciar mucosa normal, regenerativa y neoplásica. Fue posible predecir cambios neoplásicos mediante este patrón con una sensibilidad del 97,4%, una especificidad del 99,4% y una precisión del 99,2%. Posteriormente otro estudio de diseño similar confirmó estos buenos resultados⁵.

COLITIS ULCEROSA. CRIBADO DE DISPLASIA

Los pacientes con colitis ulcerosa de larga evolución tienen un riesgo más elevado de desarrollar CCR que la población general. Es sabido que en estos pacientes el CCR se desarrolla a partir de lesiones displásicas planas y multifocales que pasan inadvertidas

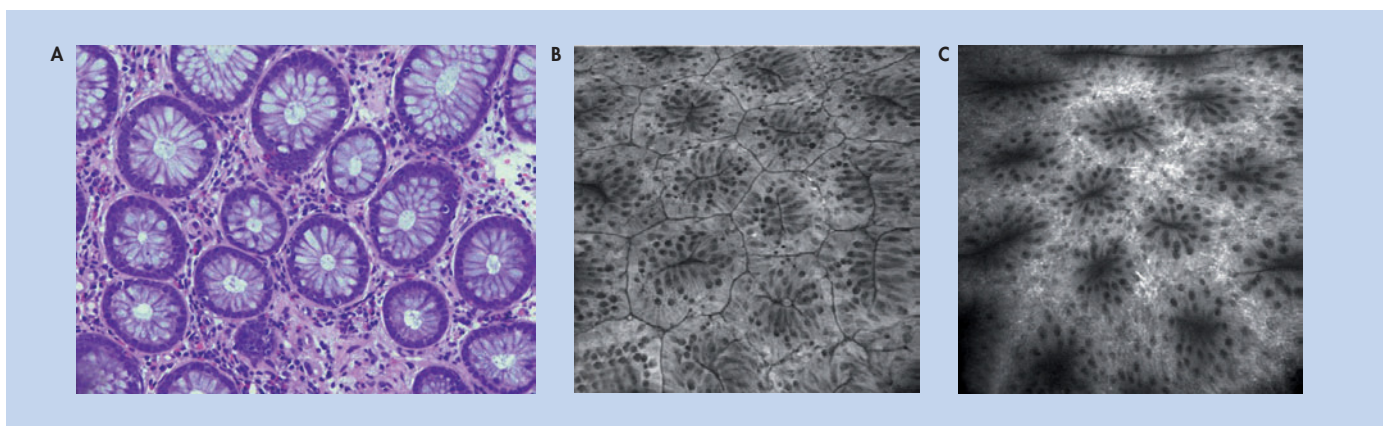


Figura 2. Mucosa colónica normal en un corte histológico (A) y en un corte óptico con endoscopia confocal (B, sección superficial, y C, sección profunda). Los enterocitos y las células caliciformes se disponen en criptas dispuestas de forma regular y ordenada, con morfología redondeada en un corte transversal.

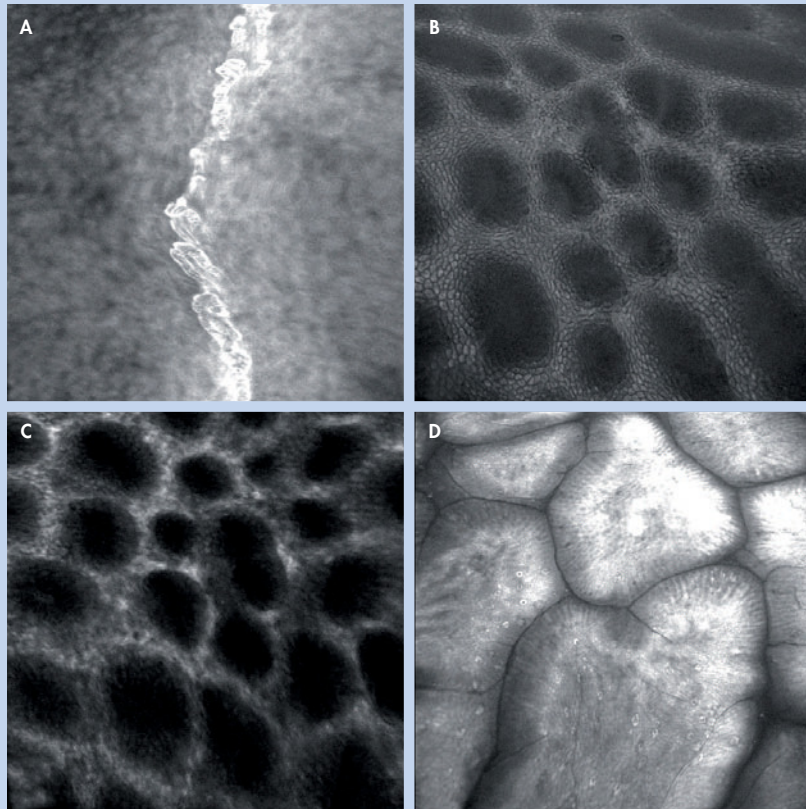


Figura 3. Imágenes de endomicroscopia confocal que muestran mucosa normal de esófago (A), estómago en una sección superficial (B) y profunda (C) y en el íleon (D).

con el endoscopio convencional, por lo que para el cribado del CCR se realizan biopsias aleatorias cada 10 cm o biopsias dirigidas por cromoendoscopia^{6,7}. Un estudio reciente ha demostrado la eficacia de la EC dirigida por cromoendoscopia en una serie de 153 pacientes con colitis

ulcerosa de larga evolución⁸. Se aleatorizó a los pacientes 1:1 a colonoscopia convencional con biopsias aleatorias cada 10 cm o bien a pancromoendoscopia con biopsias dirigidas por EC. Los resultados mostraron que la estrategia a estudio (pancromoendoscopia + EC) detectó más neoplasias intraepiteliales ($p = 0,005$) y requirió la mitad de biopsias que la estrategia convencional (colonoscopia con biopsias seriadas). Con la EC, se pudo predecir los cambios neoplásicos con una sensibilidad del 94,7%, una especificidad del 98,3% y una precisión del 97,8%. Otro estudio⁹ demostró la utilidad de la EC para la clasificación *in situ* de lesiones con displasia en pacientes con colitis ulcerosa de larga evolución. En este caso, la EC pudo diferenciar las lesiones DALM (lesión o masa con displasia no semejante a un adenoma) y ALM (lesión o masa con displasia semejante a un adenoma) con una precisión del 97%.

Tabla 1. Indicaciones potenciales de la endoscopia confocal

Detección de carcinoma escamoso de esófago
Cribado de esófago de Barrett y de displasia sobre esófago de Barrett
Detección de carcinoma gástrico precoz
Evaluación de la naturaleza benigna o maligna de estenosis o úlcera
Cribado de enfermedad celíaca
Cribado de displasia en enfermedad inflamatoria intestinal de larga evolución
Detección de colitis microscópicas
Determinación de la naturaleza neoplásica o no neoplásica de un pólipo
Evaluación de la base de resección tras polipectomía
Identificación preoperatoria de márgenes tumorales
Valoración de la anastomosis tras resección de cáncer gastrointestinal
Estudio de focos de criptas aberrantes
Evitar biopsias en pacientes con diátesis hemorrágica

COLITIS MICROSCÓPICAS

La colitis microscópica (colitis colágena y linfocítica) es un término que define una entidad caracterizada por diarrea acuosa crónica con examen endoscópico y radiológico normal; su diagnóstico es histopatológico¹⁰.

La EC permite localizar y medir la cantidad de bandas de colágeno en la mucosa, así como visualizar infiltrado celular en la lámina propia¹¹. Por lo tanto, las biopsias pueden ser dirigidas en lugar de aleatorias. Sólo hay pequeñas series de casos publicados sobre colitis colágena, que describen bandas de colágeno subepiteliales. En estos estudios las biopsias dirigidas confirmaron la enfermedad.

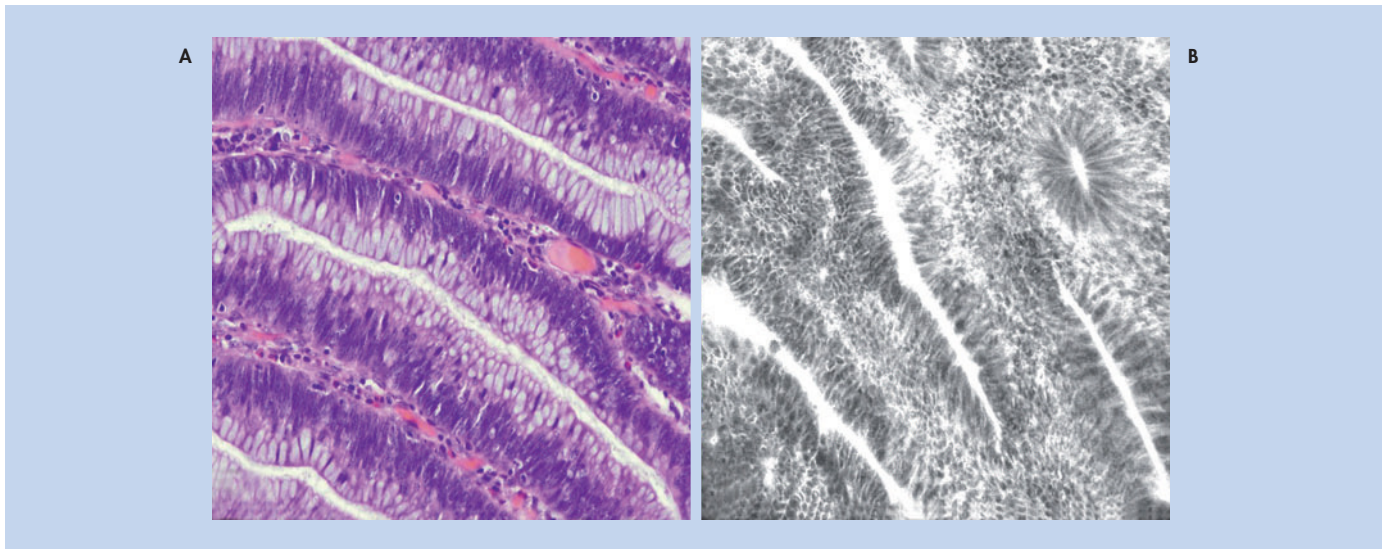


Figura 4. Adenoma tubular con displasia de alto grado en un corte histológico (A) y en un corte con endoscopia confocal (B). Se aprecia una pérdida de células caliciformes, agrandamiento de las criptas y cierta distorsión arquitectural.

CARCINOMA ESCAMOSO ESOFÁGICO

El epitelio escamoso del esófago contiene capilares intrapapilares que forman pequeños bucles. En el carcinoma escamoso de esófago estos rizados muestran cambios en el tamaño y la estructura característicos.

Hay dos estudios que han demostrado la capacidad de la EC para detectar estos cambios. En el primero¹², la EC presentó una precisión diagnóstica del 95%, una sensibilidad del 100% y una especificidad del 87% para el diagnóstico de cáncer. Posteriormente, otro estudio¹³ comparó las características de los pacientes con carcinoma escamoso superficial esofágico y pacientes sanos, y demostró que hay diferencias estadísticamente significativas entre la estructura de los capilares intrapapilares en pacientes sanos y en aquellos con carcinoma, con una concordancia interobservador sustancial (índice kappa = 0,67; intervalo de confianza del 95%, 0,445-0,895).

ESÓFAGO DE BARRETT

El esófago de Barrett (EB) es una lesión premaligna que se define histológicamente como la presencia de epitelio columnar especializado (metaplasia intestinal) por encima de la unión esofagogástrica. Los cambios displásicos en esta enfermedad pueden ser muy sutiles y no detectarse con la endoscopia convencional, por lo que la posibilidad de realizar biopsias dirigidas mejora el rendimiento en el seguimiento de estos enfermos. La EC permite identificar la línea Z y las células caliciformes con mucina en su interior características del epitelio intestinal, que en el esófago distal son patognomónicas del EB.

En un estudio¹⁴ que evaluaba 156 lesiones esofágicas sospechosas la EC permitió determinar con gran exactitud la presencia de EB (sensibilidad, 98,1%; especificidad, 94,1% y precisión, 96,8%) y neoplasia concomitante (sensibilidad, 92,9%; especifi-

cidad, 98,4% y precisión, 97,4%). Otro estudio¹⁵ validó esta clasificación con 36 pacientes, comparando el rendimiento de las biopsias aleatorias con las biopsias dirigidas por EC. El rendimiento se incrementó de un 18%, en el caso de las biopsias aleatorias, a un 34%, en el caso de las biopsias dirigidas con EC.

CÁNCER GÁSTRICO PRECOZ

La detección precoz de las neoplasias gástricas es un reto para la endoscopia, dado que la mayoría de estas lesiones son planas y se manifiestan como cambios sutiles. También en este caso la EC es de especial utilidad para tomar biopsias de forma dirigida.

Un trabajo reciente¹⁶ estudió a 132 pacientes consecutivos con el objetivo de establecer la correspondencia entre los patrones de criptas gástricas y los hallazgos histopatológicos. Se obtuvieron siete patrones que permitían diferenciar mucosa normal, inflamación crónica, metaplasia intestinal, atrofia gástrica y cáncer gástrico. Así, fue posible predecir la presencia de cáncer gástrico con una precisión del 97,1%. De estos datos se desprende que la EC podría tener un papel en el cribado de lesiones preneoplásicas o neoplasias precoces en pacientes con alto riesgo de cáncer gástrico, como Japón o China.

ENFERMEDAD CELÍACA

La enfermedad celíaca se caracteriza por la existencia parcheada de atrofia vellositaria e hiperplasia de criptas intestinales. Marsh estableció un sistema que clasifica estas lesiones según su gravedad. Estos cambios pueden no ser aparentes en el examen endoscópico, por lo que ante la sospecha de celiaquía se deben tomar biopsias aleatorias del duodeno distal.

En este sentido, la EC puede ser de utilidad para la obtención de biopsias de forma dirigida. En un estudio reciente Leong et al¹⁷ establecieron unos criterios para el diagnóstico de enfermedad celíaca con los que generaron un sistema de puntuación que reflejaba la proporción de imágenes con alguno de estos rasgos

respecto a las imágenes totales. Evaluaron este sistema en 31 pacientes, observando que la puntuación era significativamente mayor en pacientes con celiaquía sin tratamiento en comparación con celiaquía tratada y con sanos ($p = 0,002$). Además, la puntuación se correlacionaba con la escala de Marsh. Por otra parte, determinaron un punto de corte a partir del cual era posible diagnosticar la enfermedad celíaca con gran precisión (sensibilidad, 94,1%; especificidad, 92,3%).

LIMITACIONES

La EC adolece de algunas limitaciones. La fluorescencia no diferencia óptimamente los núcleos, cuyas características es preciso valorar para juzgar bajo y alto grado de displasia. En cambio, la acriflavina, que tiñe los núcleos intensamente, no parece ser el contraste ideal porque se le ha atribuido un cierto riesgo de mutagenicidad por toxicidad génica¹⁸. Por otra parte, la EC está limitada en el estudio de lesiones invasivas porque el plano profundo de la imagen confocal se limita a 250 μm , sin alcanzar la capa submucosa. Además la EC permite obtener una información muy detallada de un área pequeña, pero no es útil para rastrear una superficie extensa. Por último, las imágenes confocales son tan detalladas que el diagnóstico *in vivo* puede ser muy dificultoso, por lo que es fundamental la colaboración con el equipo de anatomía patológica y el entrenamiento en histopatología. En este sentido, se ha reseñado que, a medida que aumenta la experiencia, mejoran la concordancia interobservador, la precisión diagnóstica y el tiempo necesario para emitir un diagnóstico *in vivo*².

CONCLUSIONES

La EC es una técnica prometedora que, probablemente, cambiará la visión del endoscopista y su práctica clínica. Sus aspectos clave son la posibilidad de realizar un análisis celular *in vivo* y la toma de biopsias dirigidas. No obstante, para que su papel quede bien definido es necesario que se profundice en la evaluación de su utilidad con estudios amplios, controlados y aleatorizados. Finalmente, la incorporación de esta técnica novedosa permite abrir la ventana a perspectivas de futuro muy alentadoras, como la obtención de imágenes moleculares, por ejemplo, la detección de displasia en colon mediante un péptido fluorescente de unión específica a las neoplasias de colon¹⁹ o la obtención de imágenes dinámicas y funcionales que pueden servir para evaluar la barrera epitelial²⁰ o la translocación bacteriana²¹.

BIBLIOGRAFÍA



●● Muy importante

■ Ensayo clínico controlado

■ Epidemiología

- Kiesslich R, Goetz M, Neurath MF. Confocal laser endomicroscopy for gastrointestinal diseases. *Gastrointest Endosc* Clin N Am. 2008;18:451-66.
- Dunbar K, Canto M. Confocal endomicroscopy. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008;24:631-7.
- Kwiterovich KA, Maguire MG, Murphy RP, Schachat AP, Bressler NM, Bressler SB, et al. Frequency of adverse systemic reactions after fluorescein angiography. Results of a prospective study. *Ophthalmology*. 1991;98:1139-42.
- Kiesslich R, Burg J, Vieth M, Gnaendiger J, Enders M, Delaney P, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology*. 2004;127:706-13.
- Hurlstone DP, Baraza W, Brown S, Thomson M, Tiffin N, Cross SS. In vivo real-time confocal laser scanning endomicroscopic colonoscopy for the detection and characterization of colorectal neoplasia. *Br J Surg*. 2008;95:636-45.
- Rutter MD, Saunders BP, Schofield G, Forbes A, Price AB, Talbot IC. Pancolonic indigo carmine dye spraying for the detection of dysplasia in ulcerative colitis. *Gut*. 2004;53:256-60.
- Kiesslich R, Neurath MF. Surveillance colonoscopy in ulcerative colitis: magnifying chromoendoscopy in the spotlight. *Gut*. 2004;53:165-7.
- Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007;132:874-82.
- Hurlstone DP, Thomson M, Brown S, Tiffin N, Cross SS, Hunter MD. Confocal endomicroscopy in ulcerative colitis: differentiating dysplasia-associated lesion mass and adenoma-like mass. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:1235-41.
- Nielsen OH, Vainer B, Schaffalitzky de Muckadell OB. Microscopic colitis: a missed diagnosis? *Lancet*. 2004;364:2055-7.
- Kiesslich R, Hoffman A, Goetz M, Biesterfeld S, Vieth M, Galle PR, et al. In vivo diagnosis of collagenous colitis by confocal endomicroscopy. *Gut*. 2006;55:591-2.
- Pech O, Rabenstein T, Manner H, Petrone MC, Pohl J, Vieth M, et al. Confocal laser endomicroscopy for in vivo diagnosis of early squamous cell carcinoma in the esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:89-94.
- Liu H, Li YQ, Yu T, Zhao YA, Zhang JP, Zuo XL, et al. Confocal laser endomicroscopy for superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy*. 2009;41:99-106.
- 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;4:979-87.
- Dunbar K, Montgomery E, Okolo P, Canto M. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and associated neoplasia: a prospective randomized controlled crossover trial. *Gastrointest Endosc*. 2008;67:AB97-8.
- Zhang JN, Li YQ, Zhao YA, Yu T, Zhang JP, Guo YT, et al. Classification of gastric pit patterns by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc*. 2008;67:843-53.
- Leong RW, Nguyen NQ, Meredith CG, Al-Sohaily S, Kukic D, Delaney PM, et al. In vivo confocal endomicroscopy in the diagnosis and evaluation of celiac disease. *Gastroenterology*. 2008;135:1870-6.
- Ferguson LR, Denny WA. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. *Mutat Res*. 2007;623:14-23.
- Hsiung PL, Hardy J, Friedland S, Soetikno R, Du CB, Wu AP, et al. Detection of colonic dysplasia in vivo using a targeted heptapeptide and confocal microendoscopy. *Nat Med*. 2008;14:454-8.
- Kiesslich R, Goetz M, Angus EM, Hu Q, Guan Y, Potten C, et al. Identification of epithelial gaps in human small and large intestine by confocal endomicroscopy. *Gastroenterology*. 2007;133:1769-78.
- Kiesslich R, Kerner M, Goetz M, et al. Endomicroscopy for in vivo analysis of bacterial translocation in IBD. *Gastroenterology*. 2008;134:A38-9.