



## EDITORIAL

### Endomicroscopia confocal, ¿debemos cambiar nuestra aproximación al diagnóstico endoscópico de las lesiones mucosas del tracto gastrointestinal?

#### Confocal endomicroscopy: should we change our approach to the endoscopic diagnosis of the mucosal lesions of the gastrointestinal tract?

La endomicroscopia confocal (EC) es una nueva modalidad endoscópica, que permite obtener imágenes de muy alta resolución de la mucosa del tracto gastrointestinal. Esta técnica constituye probablemente la mayor revolución en la endoscopia diagnóstica actual, ya que permite integrar la visión macroscópica y microscópica en tiempo real.

La base de la EC 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, provocando una fluorescencia que es captada por un filtro selectivo, que impide la captación de las demás señales. De este modo, es posible obtener secciones de la mucosa hasta una profundidad de 250  $\mu\text{m}$  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 pueden hacer exámenes *in vivo*<sup>1</sup>.

En esta última década se comercializó el primer endomicroscopio gracias a una colaboración entre Optiscan Imaging Ltd. (Australia), que logró miniaturizar un microscopio confocal, y Pentax (Japón), que lo incorporó a un endoscopio convencional. Con este instrumento, es posible obtener imágenes histológicas *in vivo* con un aumento de 1.000, durante la realización de una endoscopia convencional<sup>2</sup>. 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 2 sistemas radican en el hecho que el endoscopio confocal consigue mayor resolución axial y lateral y permite obtener secciones del tejido a varias profundidades. En cambio, la sonda confocal solo 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 real<sup>3</sup>. Además, esta sonda 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 diagnósticas avanzadas (por ejemplo, alta resolución, cromoendoscopia electrónica, fluorescencia).

Para ambos sistemas es necesario utilizar agentes de contraste fluorescentes. El más utilizado es la fluoresceína al 10% (5–10 ml por vía intravenosa), que resalta los vasos, lámina propia y espacio intracelular. 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 fluoresceína, aunque no penetran a capas profundas<sup>3</sup>.

Dadas las características de la EC, parece lógico aventurar que sus principales aplicaciones serán el diagnóstico de aquellas patologías que no se acompañan de un cambio macroscópico llamativo y en las que son

necesarias biopsias aleatorizadas para llegar a un diagnóstico, como son la colitis ulcerosa de larga evolución, el esófago de Barrett o las enfermedades microscópicas (por ejemplo, colitis colágena o celiacía). Efectivamente, 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. Sin embargo, también se podría considerar su utilidad para determinar, en el momento de la endoscopia, la necesidad de resear una lesión y, de este modo, minimizar los riesgos asociados con biopsias o endoscopias múltiples, así como para evitar el riesgo de sobretratamiento (resección de lesiones benignas) 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 habitual. Sin embargo, existen ya importantes evidencias que demuestran su utilidad en distintas patologías.

En 2004, Kiesslich et al publicaron el primer estudio con EC realizado con pacientes<sup>4</sup>. Se realizó una EC a 42 pacientes con la intención de diagnosticar in vivo neoplasia intraepitelial y cáncer colorrectal. 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. Se diseñó una clasificación para diferenciar mucosa normal, regenerativa y neoplásica gracias a la cual fue posible predecir la presencia de cambios neoplásicos con una sensibilidad del 97,4%, una especificidad del 99,4% y una precisión del 99,2%. Posteriormente, otro trabajo de diseño similar confirmó estos buenos resultados<sup>5</sup>. Además, un estudio muy reciente con la sonda confocal mostró resultados muy alentadores, resultando el diagnóstico con sonda confocal igual de específico para el diagnóstico de malignidad que las técnicas de cromoendoscopia virtual y, sin embargo, más sensible (91 vs. 77%,  $p=0,01$ )<sup>6</sup>.

Por otro lado, la EC dirigida por cromoendoscopia ha demostrado ser de utilidad en una serie de 153 pacientes con colitis ulcerosa de larga evolución<sup>7</sup>. En este estudio, los pacientes se aleatorizaron 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, la presencia de cambios neoplásicos se pudo predecir con una sensibilidad del 94,7%, especificidad del 98,3% y una precisión del 97,8%.

Asimismo, la EC ha demostrado su utilidad para el estudio del esófago de Barrett. En un estudio<sup>8</sup> realizado evaluando 156 lesiones esofágicas sospechosas la EC permitió determinar con gran exactitud la presencia de esófago de Barrett (sensibilidad 98,1%, especificidad 94,1% y precisión 96,8%) y neoplasia asociada (sensibilidad 92,9%, especificidad 98,4% y precisión 97,4%). Otro estudio<sup>9</sup> 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. La sonda confocal ha sido testada para esta indicación más reciente-

mente obteniéndose unos resultados prometedores, con valor predictivo negativo y especificidad no desdeñables (98,8 y 83%, respectivamente), pero con índices de sensibilidad mejorables (82%)<sup>10</sup>.

Existen evidencias que demuestran la utilidad de la EC para el diagnóstico de otras neoplasias, como el carcinoma escamoso de esófago<sup>11,12</sup> o el cáncer gástrico precoz<sup>13-15</sup>, así como para el diagnóstico de otras patologías como la colitis colágena<sup>16,17</sup>, la enfermedad del injerto contra el huésped<sup>18</sup> o la enfermedad celíaca<sup>19</sup>. Es de especial interés el desarrollo de una sonda confocal (Cholangioflex<sup>®</sup>) que se puede introducir por la vía biliar y pancreática a través del canal operativo de un duodenoscopio o de un colangioscopio. Los estudios preliminares muestran que es factible diferenciar la patología neoplásica de la inflamatoria, por lo que esta sonda confocal podrá ser de gran utilidad para el estudio de la vía biliar y pancreática<sup>20,21</sup>.

Teniendo en cuenta estos resultados tan esperanzadores, se podría deducir que la endomicroscopia confocal va a ocupar un papel preponderante en las salas de endoscopia en un futuro muy cercano. Sin embargo, la EC adolece de algunas limitaciones importantes. Primero de todo, se trata de una tecnología costosa y aunque hasta la fecha no existen estudios de coste-eficacia, probablemente será difícil justificar su adquisición partiendo de estos parámetros. Por otro lado, se trata de una tecnología técnico-dependiente y, además, 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 mejora la concordancia interobservador, la precisión diagnóstica y el tiempo necesario para emitir un diagnóstico in vivo<sup>3</sup>, pero es obvio que para su implementación es necesaria una formación específica y un tiempo de dedicación. Por otro lado, en los equipos actuales existen algunas limitaciones técnicas. Efectivamente, la fluoresceína 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 génica<sup>22</sup>. Así pues, hasta la fecha, el rendimiento de la EC está limitada por la ausencia de sustancias de contraste específicas que permitan diferenciar órganos, tejido o incluso células y estén aceptadas para uso en humanos. 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  $\mu\text{m}$ , 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 lo que probablemente, para que su utilización represente un avance con sentido clínico, se deberá asociar a otras técnicas endoscópicas de mapeo (cromoendoscopia convencional o virtual, fluorescencia) aumentando por tanto su complejidad.

Así pues, la EC abre la puerta a una nueva aproximación de la endoscopia que puede acabar desembocando en un cambio en la aproximación al diagnóstico endoscópico de las lesiones mucosas del tracto gastrointestinal. Sin embargo, para ello se tendrán que realizar una serie de mejoras técnicas y metodológicas que permitan asimilar

el diagnóstico histológico virtual a la histología convencional. En este sentido, probablemente será necesario acabar de establecer unos patrones patológicos basados en la EC y, posteriormente, desarrollar en los próximos años métodos de estandarización de imagen telemáticos que permitan homogeneizar, estandarizar y, sobre todo, exportar y reproducir los diagnósticos de histología virtual. Además, el desarrollo de nuevos agentes fluorescentes aptos para el uso en humanos abrirá nuevos horizontes y podrá suponer un verdadero salto cualitativo en el diagnóstico de las enfermedades del tubo digestivo. En este sentido, la microscopia confocal supone una plataforma tecnológica que permite abrir la ventana a perspectivas de futuro muy alentadoras, como son la posibilidad de estudiar en vivo y en directo fenómenos dinámicos fisiopatológicos, así como a poder realizar diagnósticos a nivel molecular. Efectivamente, ya se ha descrito en estudios en animales la posibilidad de detectar displasia en colon mediante un péptido fluorescente de unión específica a las neoplasias de colon<sup>23,24</sup> o la obtención de imágenes dinámicas y funcionales, que pueden servir, por ejemplo, para evaluar la barrera epitelial<sup>25</sup> o la translocación bacteriana<sup>26</sup>.

En conclusión, la EC es una técnica prometedora, que probablemente cambiará la visión del endoscopista y su práctica clínica. Sus aspectos claves son la posibilidad de realizar un análisis celular in vivo y la toma de biopsias dirigidas. No obstante, para que su aplicación sea rutinaria todavía son necesarias ciertas mejoras técnicas y metodológicas. Por último, es necesario que se profundice en la evaluación de su utilidad con estudios amplios, controlados y aleatorizados, así como en estudios de coste eficacia.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Pellisé M, Llach J, Bordas JM. Técnicas endoscópicas emergentes: la llegada de la histología virtual. *Gastroenterol Hepatol*. 2005;28:641–8.
- 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.
- 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. *Gastroenterol*. 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.
- Buchner AM, Shahid MW, Heckman MG, Krishna M, Ghabril M, Hasan M, et al. Comparison of Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy with Virtual Chromoendoscopy for Classification of Colon Polyps. *Gastroenterol*. 2009.
- Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, Schneider C, Burg J, Stolte M, et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterol*. 2007;132:874–82.
- Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, Dahlmann 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 KB, Okolo 3rd P, Montgomery E, Canto MI. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial. *Gastrointest Endosc*. 2009;70:645–54.
- Pohl H, Rösch T, Vieth M, Koch M, Becker V, Anders M, et al. Miniprobe confocal laser microscopy for the detection of invisible neoplasia in patients with Barrett's oesophagus. *Gut*. 2008;57:1648–53.
- 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.
- Yeoh KG, Salto-Tellez M, Khor CJL, Shah N, So JBY, Shen E, et al. Confocal laser endoscopy is useful for in vivo rapid diagnosis of gastric neoplasia and pre-neoplasia. *Gastroenterol*. 2005;128:A27-A27 Suppl.
- 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.
- Guo YT, Li YQ, Yu T, Zhang TG, Zhang JN, Liu H, et al. Diagnosis of gastric intestinal metaplasia with confocal laser endomicroscopy in vivo: a prospective study. *Endoscopy*. 2008;40:547–53.
- 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.
- Zambelli A, Villanacci V, Buscarini E, Bassotti G, Albarello L. Collagenous colitis: a case series with confocal laser microscopy and histology correlation. *Endoscopy*. 2008;40:606–8.
- Bojarski C, Günther U, Rieger K, Heller F, Loddenkemper C, Grünbaum M, et al. In vivo diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by confocal endomicroscopy. *Endoscopy*. 2009;41:433–8.
- 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. *Gastroenterol*. 2008;135:1870–6.
- Meining A, Frimberger E, Becker V, Von Delius S, Von Weyhern CH, Schmid RM, et al. Detection of cholangiocarcinoma in vivo using miniprobe-based confocal fluorescence microscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:1057–60.
- Meining A, Phillip V, Gaa J, Prinz C, Schmid RM. Pancreaticoscopy with miniprobe-based confocal laser-scanning microscopy of an intraductal papillary mucinous neoplasm (with video). *Gastrointest Endosc*. 2009;69:1178–80.
- Burleson GR, Caulfield MJ, Pollard M. Ozonation of mutagenic and carcinogenic polyaromatic amines and polyaromatic hydrocarbons in water. *Cancer Res*. 1979;39:2149–54.
- 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.
- Goetz M, Ziebart A, Foersch S, Vieth M, Waldner MJ, Delaney P, et al. In Vivo Molecular Imaging of Colorectal Cancer With Confocal Endomicroscopy of Epidermal Growth Factor Receptor. *Gastroenterology*.

25. 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. *Gastroenterol.* 2007;133:1769–78.
26. Kiesslich R, Kerner M, Goetz M, et al. Endomicroscopy for in vivo analysis of bacterial translocation in IBD. *Gastroenterol.* 2008;134:A38–9.

María Pellisé Urquiza  
*Servicio de Gastroenterología, Institut Clínic de Malalties  
Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, Barcelona,  
Espanya*  
Correo electrónico: mpellise@clinic.ub.es