



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

DEPARTMENT OF
INFORMATION
ENGINEERING
UNIVERSITY OF PADOVA



CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

ANNO ACCADEMICO 2010/2011

PROVA FINALE DI LAUREA

**METODI DI ACQUISIZIONE DI IMMAGINI ENDOSCOPICHE
PER L'INDIVIDUAZIONE DI DISPLASIA E NEOPLASIA PRECOCE
NELL'ESOFAGO DI BARRETT**

ENDOSCOPIC IMAGING
FOR THE DETECTION OF DYSPLASIA AND EARLY NEOPLASIA
IN BARRETT'S ESOPHAGUS

LAUREANDO:

MICHELE TESSARI

MATRICOLA:

579133

RELATORE:

DOTT. ENRICO GRISAN

SOMMARIO

1. DESCRIZIONE DELLA PATOLOGIA	5
1.1 DEFINIZIONE DELL'ESOFAGO DI BARRETT	6
1.2 ISTOLOGIA DELL'ESOFAGO DI BARRETT	7
1.2.1 CLASSIFICAZIONE DELLA DISPLASIA	9
1.3 PATOLOGIA DELLE LESIONI	10
1.4 PREDITTORI DELLO SVILUPPO DI ADENOCARCINOMA	12
1.5 VARIABILITÀ INTEROSSERVATORE NELLA DIAGNOSI E NELLA CLASSIFICAZIONE DELLA DISPLASIA	13
2. INDAGINE ENDOSCOPICA DELL'ESOFAGO	14
2.1 ASPETTO ENDOSCOPICO DELLE LESIONI	15
2.2 RICONOSCIMENTO ENDOSCOPICO DELLE LESIONI	17
2.3 DAGLI ENDOSCOPI STANDARD AGLI STRUMENTI AD ALTA RISOLUZIONE	17
3. TECNICHE ENDOSCOPICHE AVANZATE	20
3.1 CROMOENDOSCOPIA	21
3.1.1 MAGNIFICAZIONE ENDOSCOPICA CON ACIDO ACETICO: ENHANCED MAGNIFICATION ENDOSCOPY	22
3.1.2 CROMOENDOSCOPIA CON INDACO CARMINIO	27
3.1.3 CROMOENDOSCOPIA CON BLU DI METILENE	28
3.2 NARROW BAND IMAGING	34
3.3 AUTOFLUORESCENCE IMAGING (AFI)	41
3.4 ENDOMICROSCOPIA CONFOCALE LASER (CLE)	45
4. CONCLUSIONI	53
RIFERIMENTI	54

1. DESCRIZIONE DELLA PATOLOGIA

L'incidenza del carcinoma esofageo sta aumentando molto più velocemente che quella di ogni altro cancro negli USA, e rappresenta la sesta causa più frequente di morte da cancro. Si ritiene che il carcinoma esofageo si sviluppi a partire da una particolare sindrome nota come "Esofago di Barrett", la quale si pensa derivi a sua volta dalla malattia da reflusso gastroesofageo (GERD) cronica (*Figura 1*). Sebbene sia ancora sconosciuto se la presenza della sindrome di Barrett rappresenti un precursore necessario allo sviluppo del cancro esofageo, è molto ben documentato e chiaramente riconosciuto il fatto che essa rappresenti un importante fattore di rischio. ^[2] Si stima che approssimativamente il 10-30% della popolazione soffra di reflusso gastroesofageo e si pensa che tra questi, circa il 10% sia a rischio di sviluppare l'esofago di Barrett. Nei pazienti con esofago di Barrett, il rischio di sviluppare grave displasia o adenocarcinoma è 30-125 volte più alto rispetto al rischio nella popolazione sana. ^[3]

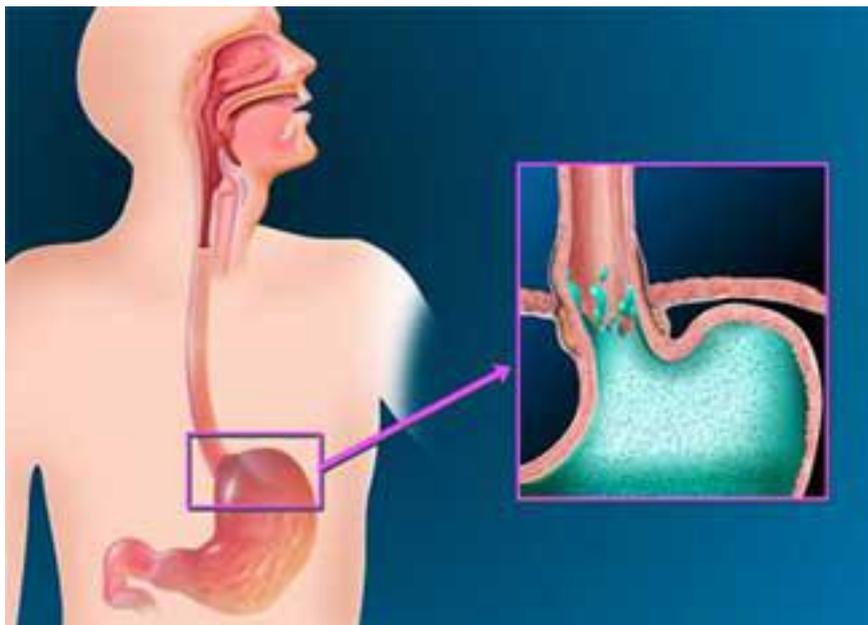


Figura 1: Nella malattia da reflusso cronica, i succhi gastrici (acidi) refluiscono verso l'esofago, provocando dei danni al rivestimento dell'esofago.

1.1 Definizione dell'esofago di Barrett

L'esofago è normalmente rivestito da epitelio squamoso stratificato. Sono caratteristiche di quest'organo anche diverse ghiandole compatte sottomucose e i dotti associati, rivestiti anch'essi da epitelio squamoso. In sostanza, l'esofago di Barrett (o sindrome di Barrett) rappresenta la sostituzione del normale epitelio squamoso dell'esofago distale con epitelio colonnare metaplastico (*Figura 2*). Purtroppo, la definizione dell'esofago di Barrett varia universalmente. La principale differenza tra le varie definizioni riguarda il requisito della conferma istologica della presenza di mucosa colonnare, rappresentata dall'identificazione di cellule caliciformi al microscopio. In Giappone, la sindrome è diagnosticata quando la mucosa colonnare (di colore rosa salmone, distinta dalla normale mucosa squamosa di colore bianco perla) è identificata endoscopicamente nella parte distale dell'esofago; non è richiesta alcuna conferma istologica. La definizione introdotta dalla British Society of Gastroenterology, afferma che l'esofago di Barrett rappresenta un'area di mucosa colonnare nella porzione di esofago prossima alla giunzione gastroesofagea, la cui presenza oltre ad essere identificata endoscopicamente deve essere confermata dall'esame istologico; anche in questo caso però le recenti linee guida hanno fatto cadere il requisito della conferma istologica della metaplasia intestinale. In contrasto a questi casi, negli Stati Uniti l'American College of Gastroenterology ha stabilito che per diagnosticare l'esofago di Barrett è necessaria sia l'evidenza endoscopica, sia la conferma istologica. La biopsia infatti permette di distinguere la metaplasia intestinale dai suoi "falsi positivi endoscopici", come le esofagiti. Anche la German Society of Pathology, l'Amsterdam Working Group e la French Society of Digestive Disease richiedono la conferma istologica della metaplasia.

Inizialmente, la sindrome di Barrett comprendeva tre casi distinti: "long Barrett", in cui la parte di esofago rivestita da epitelio colonnare superava i 3 cm di lunghezza, "short Barrett", con lunghezza compresa tra 1 e 3 cm, e "ultra-short Barrett", con lunghezza inferiore a 1 cm. Tuttavia, questi tre casi non sono più riconosciuti come tre categorie distinte. L'American Gastroenterological Association descrive le tre distinzioni come "arbitrarie e non clinicamente valide".

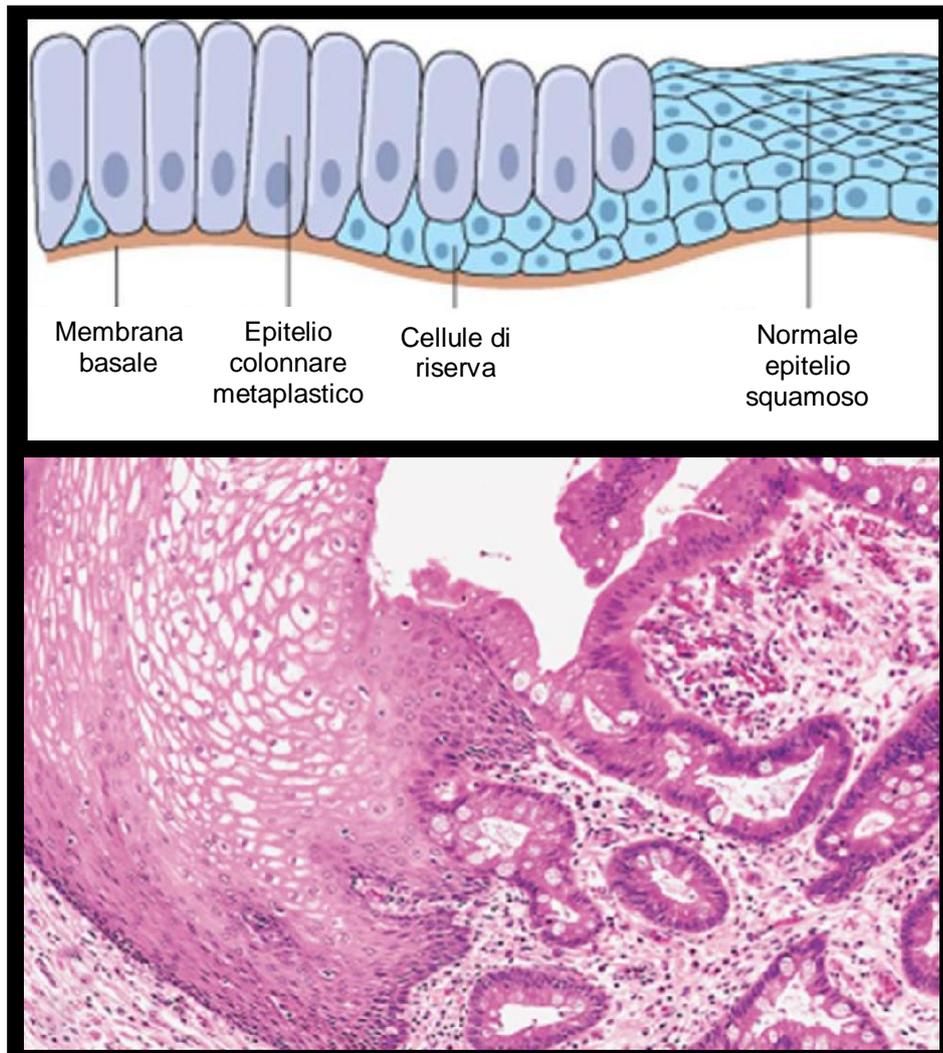


Figura 2: (sopra) Diagramma schematico della trasformazione metaplastica da epitelio squamoso a epitelio colonnare (da destra verso sinistra). (sotto) Immagine istologica della trasformazione metaplastica dell'epitelio squamoso stratificato dell'esofago (a sinistra) in epitelio colonnare (metaplasia di Barrett).

1.2 Istologia dell'esofago di Barrett

L'epitelio colonnare dell'esofago di Barrett contiene vari tipi di cellule, incluse quelle normalmente presenti nello stomaco (cellule mucinose superficiali e ghiandolari, cellule parietali), nell'intestino (cellule calciformi e meno frequentemente enterociti, cellule endocrine e cellule di Paneth) e nel pancreas (cellule acinose). Inoltre, sono presenti una molteplicità di cellule con caratteristiche intermedie tra i due fenotipi gastrico e intestinale. Le cellule calciformi spesso non rappresentano il tipo di cellule predominanti e possono essere difficilmente identificabili. Inoltre, devono essere distinte dalle cellule "pseudo-caliciformi", le quali assomigliano superficialmente alle calciformi per la presenza di muco apicale ma, contrariamente a queste ultime, tendono a manifestarsi in righe concentrate nella superficie dell'epitelio, sono a forma di "barile" e contengono un tipo di mucina neutra. Purtroppo, i

patologi incontrano spesso problemi nel distinguere questi tipi di cellule, e i coloranti istochimici non sono utili allo scopo.

Sebbene l'esofago di Barrett sia generalmente considerato come un "disordine epiteliale", la maggior parte dei casi presenta anche alterazioni stromali. Queste alterazioni includono la duplicazione e la frammentazione della Muscularis Mucosae (MM), l'aumento del numero di vasi sanguigni e linfatici e cambiamenti nelle cellule infiammatorie. La duplicazione della MM dà origine a due strati, uno di nuova formazione e superficiale, l'altro profondo (la MM originaria). In questo modo, la nuova MM superficiale divide la mucosa in 4 compartimenti essenziali (*Figura 3*): (1) lamina propria interna (originaria), (2) MM interna (nuova), (3) lamina propria esterna (nuova) e (4) MM profonda (originaria). Attualmente, l'invasione da parte di un carcinoma di uno di questi quattro compartimenti è detta "carcinoma intramucoso", sebbene le implicazioni riguardanti il rischio di metastasi linfonodale siano oggetto di ricerche attualmente in corso.

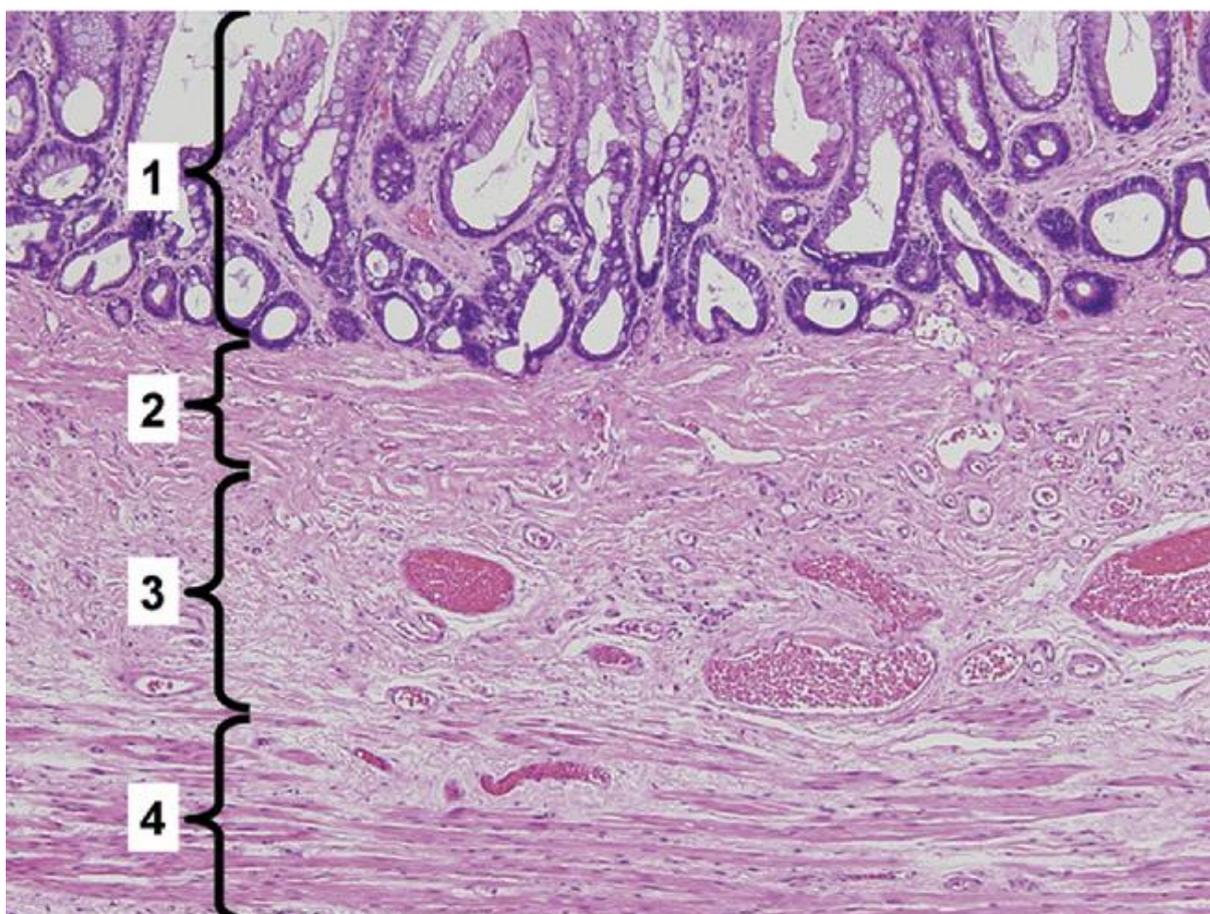


Figura 3: Alterazioni stromali nell'esofago di Barrett. La formazione di una nuova MM superficiale alla base delle ghiandole metaplastiche, causa la suddivisione della mucosa di Barrett in quattro compartimenti: (1) Lamina propria interna, originaria; (2) MM interna, neoformata; (3) lamina propria esterna, neoformata; (4) MM profonda, originaria. ^[1]

Le cellule che danno origine all'esofago di Barrett e alla sua conseguente eventuale neoplasia sono ancora sconosciute, ma recenti analisi suggeriscono che queste cellule progenitrici siano localizzate nelle basi criptiche. In ogni caso, esse sono difficili da riconoscere istologicamente e biochimicamente ed è da escludere che si tratti di cellule caliciformi, le quali sono più spesso collocate nelle zone superficiali delle cripte e nell'epitelio di superficie, zone con una scarsa o addirittura assente capacità proliferativa.

1.2.1 Classificazione della displasia

Attualmente, la classificazione istologica dell'eventuale displasia presente nell'esofago di Barrett rappresenta il metodo standard per la stima del rischio di cancro esofageo. Le categorie di diagnosi clinicamente rilevanti includono:

- “*negativo per displasia*” (che noi abbrevieremo con **NEG**);
- “*indefinito per displasia*” (**IND**);
- “*positivo per displasia di basso grado*” (**LGD** – Low Grade Dysplasia);
- “*positivo per displasia di alto grado*” (**HGD** – High Grade Dysplasia);
- “*carcinoma intramucoso*” (**IMC**);
- “*adenocarcinoma invasivo*”, che implica l'infiltrazione del tumore all'interno degli strati più profondi della parete intestinale.

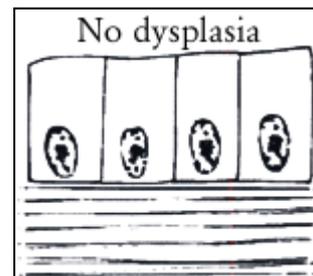
C'è una notevole discrepanza nel criterio utilizzato per diagnosticare adenocarcinoma tra i patologi occidentali e quelli giapponesi. Ad esempio, in Occidente, la diagnosi di adenocarcinoma è riservata ai casi in cui vi è una definitiva evidenza istologica che l'epitelio neoplastico ha invaso la membrana basale, mentre in Giappone si conferisce maggiore importanza alle atipie citologiche, piuttosto che a quelle architetturali; perciò può essere diagnosticato adenocarcinoma anche in assenza di documentazione istologica dell'invasione tissutale. Queste diverse filosofie hanno portato ad una notevole difficoltà nell'interpretazione dei risultati giapponesi da parte dei medici occidentali, e viceversa. Per ovviare a questo problema, è stata introdotta la “**classificazione di Vienna**”. In questo sistema, le categorie diagnostiche sono in gran parte simili a quelle “occidentali” sopra descritte, con la differenza che la LGD è descritta come “neoplasia non invasiva di basso grado” e l'HGD come “neoplasia non invasiva di alto grado” (*Tabella 1*).

Western	Vienna
Negative for dysplasia	Negative for neoplasia
Indefinite for dysplasia	Indefinite for neoplasia
LGD	Mucosal low-grade neoplasia (low-grade adenoma/ dysplasia)
HGD	Mucosal high-grade neoplasia: high-grade adenoma/dysplasia noninvasive carcinoma (carcinoma in situ) suspicious for invasive carcinoma
Intramucosal carcinoma	intramucosal carcinoma
Frankly invasive carcinoma	Submucosal invasion of neoplasia

Tabella 1: Differenze tra la classificazione “occidentale” e la Classificazione di Vienna. ^[1]

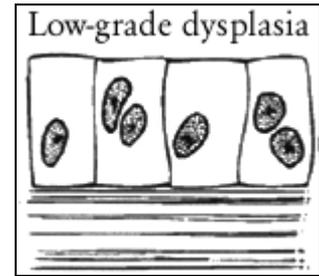
1.3 Patologia delle lesioni

- Le aree non displastiche dell'esofago di Barrett rivelano normalmente un comportamento di cambiamenti rigenerativi, classificato come **NEG**. Esso mostra, in generale, un'assenza di anomalie citologiche o architetturali, proprie invece della displasia. Le cellule rigenerative dell'epitelio mostrano tipicamente un aumento progressivo del loro contenuto di mucina (con una riduzione del rapporto nucleo/citoplasma), dalla base delle ghiandole alla superficie della mucosa. Questo fenomeno è chiamato “maturazione superficiale” e rappresenta una caratteristica fondamentale dell'epitelio rigenerativo. Tuttavia esso può anche mostrare leggere distorsioni architetturali, come lo sviluppo e la ramificazione di cripte, atrofia, irregolarità, attività mitotica. Quest'ultima è solitamente confinata entro la zona basale rigenerativa delle cripte e non interessa l'epitelio superficiale, come invece accade comunemente nella displasia.

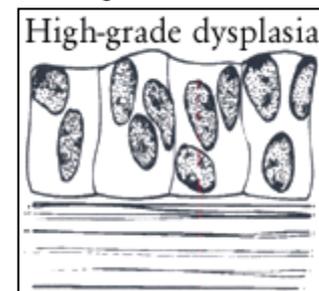


- Nel caso di infiammazione attiva (es. esofagite), l'epitelio rigenerativo infiammato può apparire abbastanza “atipico” e questa infiammazione essere confusa con la displasia. In questi casi, si utilizza la classificazione **IND** (“indefinito per displasia”, *vedi sopra*), la quale comunque rappresenta solo una diagnosi provvisoria.
- Morfologicamente, la displasia è definita come “inequivocabile epitelio neoplastico confinato entro la membrana basale”. In realtà, le caratteristiche citologiche della **LGD** nell'esofago di Barrett rispecchiano frequentemente quelle dell'adenoma del colon, denominato appunto “displasia adenomatosa”. In questi casi, i nuclei sono allargati,

allungati, ipercromici e stratificati, anche se generalmente confinati alla metà basale della cellula. Il contenuto mucinico del citoplasma è ridotto ed aumenta invece il rapporto nucleo/citoplasma; le cellule caliciformi sono in genere poco frequenti. Questi cambiamenti interessano le cripte e l'epitelio di superficie. Le ghiandole possono mostrare lievi anomalie architetturali, come atrofia, dilatazione e ramificazione (*Figura 4-A*).

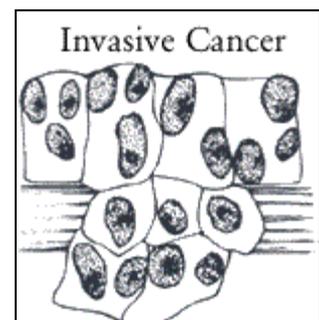


- L'**HGD** presenta un maggiore grado di alterazione citologica e/o architetturale. Tipici cambiamenti architetturali includono l'aumento delle zone villiformi della superficie e la presenza di ponti intraluminali o papille. Le alterazioni citologiche invece includono un marcato pleomorfismo nucleare (cioè la variazione delle dimensioni e della forma del nucleo) e la perdita di polarità (cioè la perdita della normale orientazione nucleare, nella quale l'asse più lungo del nucleo è perpendicolare alla membrana basale). Inoltre sono spesso presenti figure mitotiche atipiche, che possono interessare anche l'epitelio di superficie. Purtroppo la distinzione tra LGD e HGD è molto variabile, a causa di diverse ragioni: (1) il grado di HGD necessario per aggiornare una biopsia diagnosticante LGD non è mai stato determinato; (2) la displasia si sviluppa in modo continuo e non attraverso gradualmente incrementi discreti; (3) alcuni tipi di displasia (ad esempio la displasia "non-adenomatosa/foveolare") non presentano caratteristiche particolari e può risultare difficile distinguerle dall'epitelio non displastico (*Figura 4-B*).



- L'adenocarcinoma intramucoso (**IMC**) è definito come un neoplasma che ha rotto la membrana basale, infiltrandosi così nella lamina propria o nella Muscularis Mucosae, ma che non ha invaso la sottomucosa. In altre parole, questa categoria include i tumori all'interno della lamina propria e quelli all'interno della MM, ma che non hanno attraversato quest'ultima. Nell'esofago, queste lesioni sono associate ad un basso rischio di metastasi linfonodale della regione.

- I carcinomi che, al contrario, invadono la sottomucosa sono considerati **adenocarcinomi invasivi**. In questi casi, il rischio di metastasi linfonodale aumenta drammaticamente con la profondità dell'invasione.



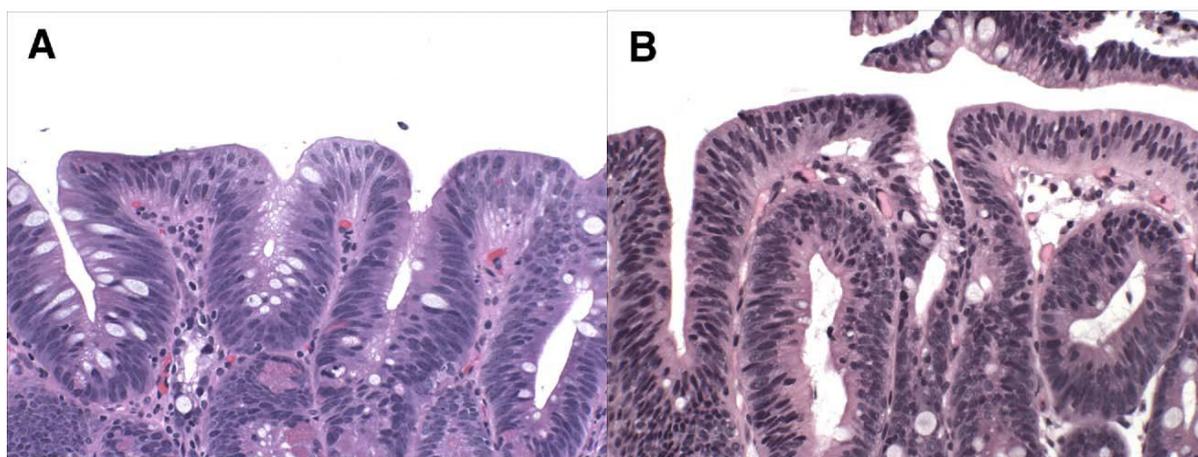


Figura 4: (A) LGD nell'esofago di Barrett. L'epitelio è composto da nuclei allungati, ipercromici e pseudo-stratificati, ma limitati, per la maggior parte, nella metà basale del citoplasma della cellula. Non c'è alcun segno di maturazione superficiale. In generale, è preservata la struttura architetturale. (B) HGD nell'esofago di Barrett. Contrariamente alla LGD, questo epitelio mostra un alto grado di atipie citologiche e architetturali.^[1]

1.4 Predittori dello sviluppo di adenocarcinoma

Poiché la valutazione morfologica della displasia soffre di un alto grado di variabilità interosservatore, molti ricercatori hanno cercato metodi alternativi, in grado di valutare il rischio di cancro nell'esofago di Barrett in modo più oggettivo. Questi metodi includono l'analisi (endoscopica) dell'aspetto macroscopico delle lesioni displastiche, la valutazione dell'estensione della displasia, e l'utilizzo di una varietà di marcatori molecolari e immunoistochimici. Alcuni studi hanno anche dimostrato l'esistenza di un collegamento tra ernia iatale e lunghezza del segmento di Barrett.

Endoscopicamente, è stato dimostrato che noduli, ulcere e stenosi displastiche concorrono ad aumentare il rischio di adenocarcinoma, sincrono o metacrono. In uno studio di Buttar et al, il 60% dei pazienti con noduli displastici ha sviluppato adenocarcinoma, rispetto al 23% dei pazienti senza evidenza endoscopica della presenza di noduli. In un altro studio di Montgomery et al, è stato mostrato come ulcerazioni franche causate dalla displasia aumentavano la possibilità di rilevare adenocarcinoma al momento della resezione. Infine, sebbene non sia mai stata oggetto di studi sistematici, la presenza di stenosi aumenta il sospetto clinico di adenocarcinoma. Inoltre, alcune lesioni displastiche nell'esofago di Barrett possono evolversi in lesioni polipoidi. Thurberg et al hanno studiato queste lesioni polipoidi, scoprendo che mostravano un forte collegamento con la presenza di displasia di alto grado e adenocarcinoma nella mucosa piana adiacente al polipo. In queste circostanze, perciò, la polipectomia endoscopica rappresenta un trattamento inadeguato.

Il cancro nell'esofago di Barrett si sviluppa entro un gruppo di cellule clonali abnormi, che si espande fino a comprendere ampie aree di mucosa. Quindi, non deve sorprendere che

diversi studi abbiano dimostrato l'esistenza di una forte correlazione tra l'estensione della displasia e il rischio di adenocarcinoma. In uno studio a lungo termine su 77 pazienti affetti da esofago di Barrett, 44 dei quali hanno successivamente sviluppato adenocarcinoma, l'estensione della displasia si è rivelata fortemente associata allo sviluppo di adenocarcinoma. Dato interessante di questo studio, l'estensione della LGD ha dimostrato avere più impatto prognostico di quella dell'HGD. Altri due studi nati per valutare l'estensione della displasia in campioni biotici, hanno ottenuto risultati contrastanti, ma, in generale, hanno suggerito che l'individuazione di HGD diffusa (caratterizzata da displasia in più di una biopsia a livelli differenti dell'esofago, o implicante più di 5 cripte in un campione di biopsia) era associata al successivo sviluppo di adenocarcinoma, o alla scoperta di adenocarcinoma al momento della resezione. Attualmente comunque, non esistono linee guida cliniche per la valutazione dell'estensione della displasia, al fine di dividere i pazienti in gruppi ad alto o a basso rischio. ^[1]

1.5 Variabilità interosservatore nella diagnosi e nella classificazione della displasia

La variabilità interosservatore rappresenta un problema di vecchia data nella diagnosi della displasia associata all'esofago di Barrett. Solitamente, questa variabilità si quantifica con l'indice Kappa (κ), il cui valore può essere compreso tra 0 e 1, dove 0 significa accordo nullo e 1 accordo totale. Tanto più questo valore si avvicina all'unità, tanto maggiore sarà l'accordo tra gli osservatori e quindi l'affidabilità dello studio.

Si osserva un'alta variabilità interosservatore nel definire la displasia indefinita e di basso grado, e nel distinguere la displasia di alto grado dal carcinoma intramucoso. Montgomery et al dimostrarono una sostanziale concordanza tra patologi gastroenterici nella diagnosi della displasia di alto grado ($\kappa=0.65$), ma una scarsa concordanza riguardo alla diagnosi della displasia di basso grado ($\kappa=0.32$) e della displasia indefinita ($P=.15$). Inoltre, anche la variazione interosservatore per la distinzione tra displasia di alto grado e carcinoma intramucoso risultò molto alta. L'AGA del 2005 stabilì una serie di linee guida che includevano questo fattore di variabilità e consigliò che le diagnosi della displasia di basso e alto grado fossero confermate da 2 esperti patologi gastroenterici.

Ad ora, non sono disponibili molti dati circa la variabilità interosservatore tra generici patologi chirurghi e patologi gastroenterici. ^[4]

2. INDAGINE ENDOSCOPICA DELL'ESOFAGO

Negli ultimi decenni, si è verificato un rapido sviluppo negli strumenti e nelle tecnologie per il trattamento endoscopico della displasia e del carcinoma precoce nell'esofago di Barrett. Queste modalità, come la resezione endoscopica, la terapia fotodinamica con verteporfina, e la terapia a radiofrequenza, forniscono ai pazienti un'alternativa all'intervento chirurgico. Oltre che alla disponibilità di trattamenti endoscopici poco invasivi, la sopravvivenza a lungo termine dei pazienti con carcinoma esofageo è direttamente correlata allo stadio della malattia al momento della diagnosi. La diagnosi precoce della displasia e della neoplasia è tra gli obiettivi più importanti dell'endoscopia gastrointestinale. ^[5]

I pazienti con sintomi da malattia da reflusso cronica sono solitamente sottoposti a screening endoscopico per l'eventuale rilevamento della sindrome di Barrett. Se nella zona distale dell'esofago è visibile epitelio di tipo colonnare, sono eseguite anche biopsie "random" (si esaminano zone casuali dell'esofago). Se queste biopsie rilevano la sindrome di Barrett, il paziente viene sottoposto ad un programma di sorveglianza. ^[6]

L'obiettivo principale della sorveglianza dell'esofago di Barrett consiste nella rilevazione e nel trattamento della neoplasia precoce. È stato dimostrato che i pazienti con lesioni precoci (neoplasia intraepiteliale o cancro intramucoso) possono essere curati con un elevato tasso di successo. Ciò non si verifica nel caso di adenocarcinoma esofageo avanzato, che ha una triste prognosi. Attualmente, il trattamento endoscopico della neoplasia precoce è considerato da molti esperti equivalente, se non superiore, alla chirurgia radicale. Con la crescente popolarità dei vari trattamenti endoscopici, e la sempre maggiore esperienza in questo campo (specialmente per quando riguarda il metodo della resezione endoscopica), la precisa localizzazione delle lesioni neoplastiche all'interno del segmento di Barrett è diventata di fondamentale importanza per un trattamento endoscopico il più efficace possibile. Questa precisa localizzazione si traduce in bassi tassi di neoplasia residua e recidiva. Negli ultimi anni, i numerosi sviluppi nel settore dei sistemi di immagini endoscopiche e dei trattamenti dell'esofago di Barrett hanno portato a un notevole avanzamento del settore. ^[8]

Com'è già stato detto, le attuali linee guida per i pazienti con esofago di Barrett stabiliscono regolari controlli endoscopici, al fine di individuare le lesioni neoplastiche ad uno stadio precoce e, quindi, curabile. L'acquisizione di immagini tramite endoscopia standard dai pazienti con esofago di Barrett fornisce all'endoscopista minimi dettagli della superficie della mucosa. Come conseguenza, anche la distinzione delle lesioni neoplastiche dall'epitelio non displastico circostante risulta molto difficile utilizzando l'endoscopia standard, la quale è più indicata per il rilevamento di lesioni grossolane e facilmente visibili (le anomalie neoplastiche

sono spesso molto sottili). Pertanto, si ricorre a biopsie random, ma queste sono inevitabilmente associate a errori di campionamento.^[7]

Inoltre, la distribuzione dell'eventuale neoplasia o carcinoma precoce in un segmento dell'esofago di Barrett è irregolare; pertanto, l'endoscopia standard e le biopsie random potrebbero non riuscire a rilevare queste lesioni.^[6]

Molti patologi hanno a lungo sostenuto la difficoltà nella rilevazione delle lesioni neoplastiche nell'esofago di Barrett durante l'endoscopia. Questo a causa, soprattutto, della scarsa qualità delle immagini fornite dagli endoscopi a fibra ottica e dai video-endoscopi standard utilizzati nell'ultimo secolo. La disponibilità di endoscopi ad alta risoluzione potrebbe aver in parte risolto questo problema, in quanto la maggior parte delle lesioni neoplastiche precoci mostrano sottili caratteristiche che ora possono essere riconosciute. Tuttavia, la diffusa abitudine di eseguire "meticolose" biopsie random e di rispettare rigorosi protocolli bioptici potrebbe avere minato l'importanza di una meticolosa ispezione endoscopica nel paziente.^[8]

Studi hanno raccomandato biopsie random in tutti i pazienti affetti da sindrome di Barrett per aumentare le possibilità di trovare lesioni neoplastiche, a causa della scarsa qualità delle immagini ottenute tramite gli endoscopi a fibre ottiche e i video-endoscopi a risoluzione standard. In realtà, ricercatori hanno dimostrato che la presenza di neoplasia nei campioni bioptici aumenta ottenendo biopsie secondo il cosiddetto "protocollo di Seattle" (4 punti cardinali ogni 1-2 cm di esofago metaplasico). Gli esperti indicano comunque di campionare per prime le lesioni visibili, sebbene non abbiano ancora chiarito come prima rilevare queste lesioni. Tipicamente, gli endoscopisti occidentali sono stati addestrati a riconoscere le anomalie macroscopiche, immediatamente visibili. L'obiettivo generale di un'endoscopia era quello di fornire una spiegazione plausibile per i sintomi del paziente, e non quello di rilevare lesioni dettagliate. Questo approccio, dunque, suggeriva che in assenza di lesioni macroscopiche facilmente individuabili, tutto ciò che rimaneva da fare era aderire a un rigoroso protocollo di biopsie random.

2.1 Aspetto endoscopico delle lesioni

Si sta verificando un graduale cambiamento di mentalità, come si può osservare dai recenti e numerosi studi riguardanti l'identificazione endoscopica di queste sottili anomalie, utile per arrivare all'obiettivo finale di riuscire ad eseguire biopsie mirate. Sorge però un interrogativo: quali tipi di lesioni bisogna aspettarsi? La classificazione di Parigi divide le lesioni precoci gastrointestinali in 3 tipi, ed ognuno di questi tipi, a sua volta, in altri sotto-tipi. La *Figura 5* fornisce una panoramica di questa classificazione.

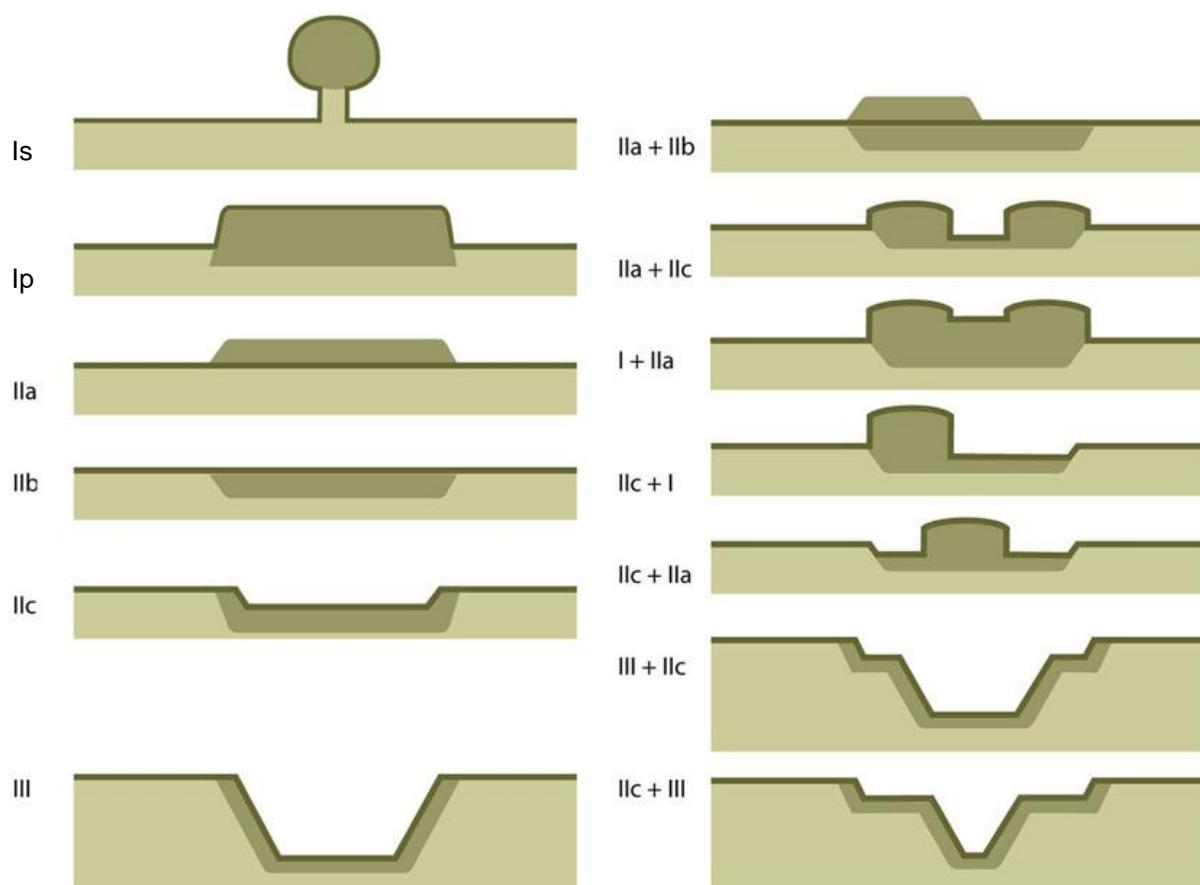


Figura 5: Classificazione macroscopica delle lesioni superficiali gastrointestinali, secondo la classificazione di Parigi: I, lesione sporgente o polipoide; II, lesione non sporgente e non scavata (es, lesioni piatte); III, lesione scavata o ulcerata. Le lesioni di tipo II sono divise in 3 sotto-tipi: leggermente elevata (IIa), completamente piatta (IIb), leggermente depressa (IIc). Questi 3 tipi possono presentarsi in qualsiasi combinazione.

La maggior parte delle lesioni nell'esofago di Barrett sono di tipo II. Una lesione può anche possedere le caratteristiche di due sotto-tipi differenti, ad esempio IIa + IIc (molto comune nell'esofago di Barrett) o IIa + IIb. L'importanza clinica di questa classificazione è la correlazione della classificazione macroscopica con la profondità di infiltrazione, la quale predice il rischio di invasione sottomucosa e, quindi, il rischio di metastasi linfonodale. Ciò è molto importante nel decidere il tipo di terapia endoscopica. Le lesioni di tipo III non sono trattabili tramite resezione endoscopica, in quanto indicano la presenza di invasione sottomucosa profonda. Le lesioni di tipo I e IIc comportano un rischio maggiore di invasione sottomucosa, rispetto alle lesioni IIa, IIb o di tipo misto. In queste lesioni, la valutazione istologica del campione ottenuto tramite resezione endoscopica stabilirà la profondità dell'invasione. ^[8]

2.2 Riconoscimento endoscopico delle lesioni

Nell'esofago di Barrett, la neoplasia precoce è relativamente rara, e la maggior parte degli endoscopisti generalmente non incontra queste lesioni. C'è quindi una mancanza di familiarità per quanto riguarda l'aspetto delle lesioni neoplastiche precoci, tra la maggior parte degli endoscopisti. Recentemente, i più importanti gruppi medici del settore hanno reso gli endoscopisti più consapevoli della possibilità di riconoscere realmente queste sottili anomalie durante l'ispezione dell'esofago di Barrett. Poiché l'attenzione dell'occhio è più facilmente attirata da ciò che il nostro cervello riconosce, l'approccio ottimale consiste nella conoscenza pratica dell'aspetto endoscopico delle lesioni neoplastiche precoci. In *Figura 6* si possono osservare una serie di esempi di lesioni precoci nell'esofago di Barrett, acquisiti tramite endoscopia ad alta risoluzione e contenenti neoplasia intraepiteliale di alto grado o carcinoma intramucoso (esaminati istologicamente).^[8]

2.3 Dagli endoscopi standard agli strumenti ad alta risoluzione

L'uso di endoscopi a fibra ottica, che offrono una scarsa qualità dell'immagine, è stata la ragione principale del fatto che i "vecchi" studi abbiano sempre sottolineato come le lesioni nell'esofago di Barrett fossero invisibili all'indagine endoscopica. Questo ha portato, in molti casi, alla diagnosi di cancro invasivo in campioni bioptici ottenuti da pazienti ritenuti affetti unicamente da displasia di alto grado prima dell'intervento. Questi studi sono stati largamente utilizzati per argomentare contro il trattamento endoscopico della patologia e sostenere invece la chirurgia radicale in pazienti affetti da displasia di alto grado.

Con l'avvento dei sistemi video-endoscopici e la loro diffusione nei tardi anni '90, almeno nell'Occidente, gli endoscopi a fibra ottica divennero obsoleti. Questo fu un grande salto in avanti nello sviluppo di nuove tecnologie di immagini endoscopiche. Tuttavia, anche con l'utilizzo di video-strumenti standard in combinazione con rigorosi protocolli bioptici, studi sull'argomento continuavano a riportare bassi tassi di rilevazione delle lesioni neoplastiche. I video-endoscopi standard possedevano dispositivi ad accoppiamento di carica (CCD – Charge-Coupled Devices) con fino a 300.000 pixel. Negli ultimi 5 anni, i sistemi di immagini endoscopiche hanno compiuto un altro grande salto in avanti con lo sviluppo di strumenti ad alta risoluzione, realizzati con CCD di alta qualità con fino a un milione di pixel. Il cambiamento, dunque, si è verificato semplicemente nel numero dei pixel. Recentemente, gli endoscopi ad alta risoluzione per l'acquisizione di immagini in pazienti con sindrome di Barrett hanno permesso l'identificazione di un numero sempre più elevato di sottili anomalie, come, ad esempio, piccoli noduli.

L'endoscopia ad alta risoluzione porta alla visualizzazione della grande maggioranza delle lesioni nell'esofago di Barrett. Studi eseguiti tra il 2004 e il 2005 da Kara et al, ^[20] hanno dimostrato un tasso di rilevamento dell'80%. Alcuni endoscopi ad alta risoluzione possiedono la capacità di zoom per ingrandimento ottico. Tuttavia, il solo ingrandimento non rappresenta un fattore determinante in termini di primaria individuazione delle lesioni; è invece più adatto per la loro successiva caratterizzazione e delineazione.

I monitor dei sistemi video-endoscopici standard possiedono 480-576 linee per la visualizzazione delle immagini. I monitor ad alta definizione (HDTV), invece, sono in grado di generare più di 1080 linee. L'utilizzo di HDTV permette una maggiore qualità dell'immagine, o la proiezione su schermi più grandi mantenendo la qualità dell'immagine. Il significativo aumento della risoluzione delle immagini, avvenuto grazie all'avvento dell'endoscopia ad alta risoluzione e degli HDTV, rappresenta il miglioramento recente più importante nei sistemi di immagini endoscopiche, in particolare per quanto riguarda l'identificazione delle lesioni neoplastiche precoci. Sebbene non sia stato mai eseguito alcuno studio di confronto, si può ritenere l'endoscopia ad alta risoluzione logicamente superiore all'endoscopia standard, in quanto rappresenta un processo di naturale evoluzione nel campo delle tecnologie endoscopiche; gli endoscopi ad alta risoluzione non sono nient'altro che la generazione successiva di video endoscopi. ^[8]



Figura 6: Immagini endoscopiche ad alta risoluzione di lesioni visibili nell'esofago di Barrett, contenenti neoplasia intraepiteliale di alto grado o carcinoma intramucoso. ^[8]

3. TECNICHE ENDOSCOPICHE AVANZATE

I più recenti sistemi di immagini endoscopiche, come endoscopia ad alta risoluzione, AFI, magnificazione endoscopica e NBI, si completano elegantemente a vicenda al fine di migliorare il rilevamento e l'appropriata caratterizzazione dei cambiamenti nella mucosa dell'esofago di Barrett. Fino ad ora, sono state ricercate diverse nuove tecniche per rimpiazzare la pratica dell'endoscopia standard abbinata a biopsie random. Gradualmente, ci si è resi conto di come ogni tecnica possieda caratteristiche fisiche uniche, in grado di identificare quelle specifiche caratteristiche della mucosa. La *Tabella 2* sintetizza le caratteristiche di alcune tra le nuove tecniche di immagini più importanti. È logico che i risultati più soddisfacenti possono essere ottenuti solo da una combinazione di tecniche diverse. ^[8]

Technique	Main feature	Needed equipment and material for application of technique	Additional value to standard endoscopy	Advantages	Disadvantages
High resolution endoscopy (HRE)	White light imaging with a high number of pixels	New generation endoscopy system	This is just natural improvement of endoscopes with higher image resolution	Beautiful images, improves sensitivity. will become gold standard in combination with HDTV	None
Magnification endoscopy	White light imaging with optical magnification	A magnifying endoscope	Magnification of areas of interest for precise inspection	Can be combined with HRE, NBI or chromo endoscopy	Not useful for primary lesion detection
High definition monitors (HDTV)	Monitors with a higher no. lines for image display	A high definition TV monitor, endoscope and processors should be equipped for HDTV as well	Display of clear images	Beautiful images. this is the future in combination with HRE	None
Chromoendoscopy	Highlight abnormal areas by differential staining (methylene blue) or contrast enhancing (indigo carmine)	A spraying catheter and a staining solution	May make visualization and characterization of lesions easier	May aid in targeting biopsies and delineating lesions.	Labour-intensive, needs solutions and catheters, can be messy, and operator-dependent for additional value
Video autofluorescence imaging	Detects fluorescent light from tissue surfaces	A special endoscopy system	May improve target lesion detection in patients undergoing endoscopic treatment for early lesions	Easy to use, detects lesions in overview mode (ref flag technique)	Not likely to increase overall sensitivity; final results of randomized studies awaited
Narrow band imaging	Surface enhancement with optical filters	A new endoscope with NBI features	Make characterization and delineation of lesions easier	Comes with HRE	Does not improve sensitivity of primary detection of lesions

Tabella 2: Caratteristiche delle nuove tecniche di immagini endoscopiche più importanti.

3.1 CROMOENDOSCOPIA

La cromoendoscopia è una tecnica in cui degli agenti di colorazione sono spruzzati sulla superficie mucosa per migliorarne la visualizzazione. Questo permette la rilevazione endoscopica di caratteristiche funzionali altrimenti difficilmente visibili con la sola endoscopia standard, le quali possono fornire precise informazioni patologiche. Questa tecnica è solitamente combinata con la tecnica della magnificazione endoscopica per ottenere risultati ottimali.^[10]

La cromoendoscopia è una procedura interessante perché i coloranti necessari sono economici, facilmente reperibili e non richiedono apparecchiature costose. In alcuni studi questa tecnica ha dimostrato di essere efficace nella rilevazione della displasia e del cancro precoce nell'esofago di Barrett. Tuttavia, esistono alcuni problemi associati al suo utilizzo, quali la lunghezza e la laboriosità delle procedure e i risultati in molti casi dipendenti dall'endoscopista.

Esistono tre classi di coloranti utilizzati nella cromoendoscopia: i coloranti vitali, i coloranti di contrasto e i coloranti reattivi.

I **coloranti vitali** sono assorbiti attivamente dall'epitelio e in alcuni casi, quindi, potrebbero risultare tossici per l'organismo; esempi di questa categoria includono la soluzione di Lugol, il blu di metilene, il blu di toluidina e il cristal violetto.

I **coloranti di contrasto**, come l'indaco carminio, non sono assorbiti dalle cellule, ma si diffondono sulla superficie mucosa concentrandosi nei pozzi e nelle scanalature, evidenziando in questo modo le caratteristiche architettoniche dell'epitelio di superficie.

Nemmeno i **coloranti reattivi** sono assorbiti dall'epitelio di superficie; essi si diffondono sulla superficie mucosa, dove degradano le proteine cellulari (è il caso dell'acido acetico) o subiscono cambiamenti di colore a causa della conversione acido-base (come il rosso Congo e il rosso fenolo).

Molti di questi agenti necessitano di un pretrattamento della superficie con una sostanza mucolitica, aggiungendo però in questo modo un altro fattore di tempo e di costo.^[5]

La cromoendoscopia è stata largamente analizzata soprattutto per la caratterizzazione della metaplasia intestinale e la rilevazione della displasia nell'esofago di Barrett. Sebbene siano stati studiati molti agenti di colorazione, tre in particolare hanno dimostrato discreti successi: il **acido acetico**, l'**indaco carminio** e il **blu di metilene**. Dopo la colorazione con uno di questi agenti, diventano evidenti diversi pattern mucosi. Sono stati effettuati studi per classificare questi pattern e determinare quelli da associare con la presenza di metaplasia intestinale, displasia o carcinoma precoce.

3.1.1 Magnificazione endoscopica con acido acetico: *Enhanced Magnification Endoscopy*

La mucosa dell'esofago di Barrett è spesso traslucida quando osservata tramite magnificazione endoscopica, permettendo quindi la sola identificazione della struttura superficiale dei capillari; la superficie della mucosa non è facilmente analizzabile. Per migliorarne la visualizzazione, sono state analizzate varie tecniche in combinazione con la magnificazione endoscopica, inclusa la cromoendoscopia con acido acetico (*Figura 7*). L'utilizzo combinato di queste due tecniche prende il nome di *Enhanced Magnification Endoscopy (EME)*. L'acido acetico è un acido debole (pH 2.5) utilizzato per applicazioni in vivo. Esso produce una denaturazione reversibile e a breve termine delle proteine intracellulari del citoplasma.^[11]

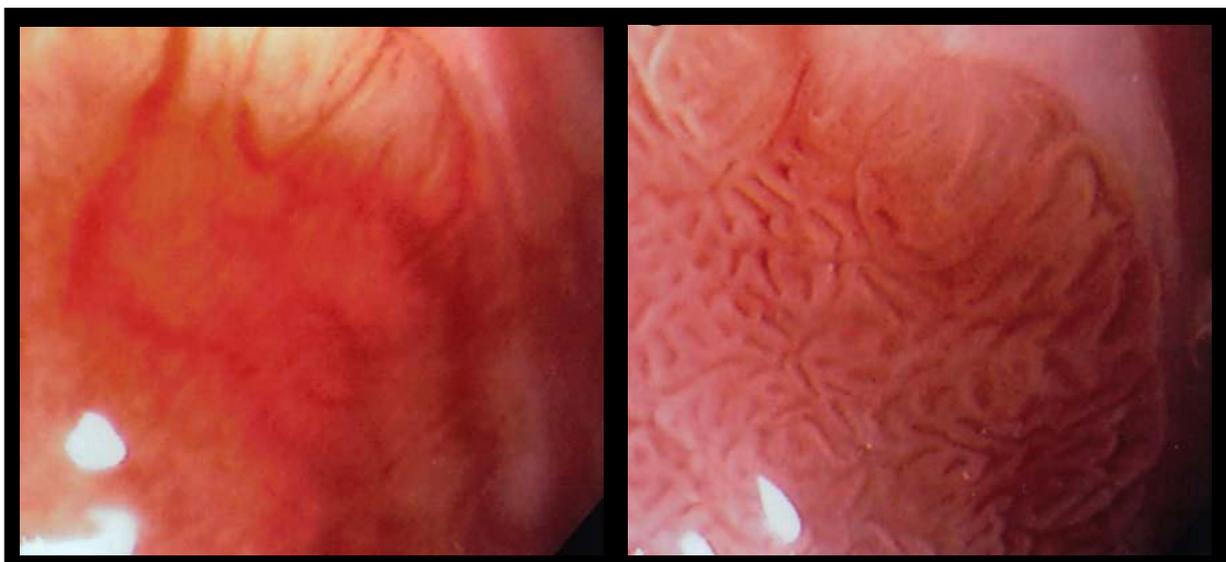


Figura 7: (*sinistra*) Con magnificazione endoscopica di 60x, è leggermente visibile la struttura dei capillari, ma non la superficie mucosa. (*destra*) Dopo l'applicazione dell'acido acetico, i sottili dettagli della superficie mucosa diventano visibili.^[11]

Nel 2001, Guelrud et al pubblicarono il primo studio sull'utilizzo della *EME* per la valutazione della superficie della mucosa di Barrett. Con questa tecnica, furono osservati quattro diversi tipi di pattern della mucosa:

- **Pattern I:** circolare, caratterizzato da una disposizione regolare e organizzata di cavità circolari;
- **Pattern II:** reticolare, caratterizzato da una distribuzione regolare di simili strutture circolari o ovali;
- **Pattern III:** villiforme, con distribuzione regolare e senza alcuna presenza di infossamenti;
- **Pattern IV:** increspato, caratterizzato da un aspetto cerebriforme costituito da ripiegamenti spessi e contorti e una distribuzione regolare.

In questo studio vennero coinvolti 49 pazienti già sottoposti a sorveglianza endoscopica dell'esofago di Barrett, e fu utilizzato un endoscopio con risoluzione standard e potere magnificante di 35x. Per ognuno dei quattro pattern, fu eseguita una biopsia mirata. I risultati più significativi associarono la presenza di metaplasia intestinale con l'87% delle aree con pattern II e con il 100% delle aree con pattern IV, con una sensibilità del 97% e una specificità dell'89%.

Nel 2004, questa classificazione fu ridefinita dallo stesso Guelrud assieme a Ehrlich, sulla base di osservazioni su un gruppo di 87 pazienti utilizzando un endoscopio ad alta risoluzione con potere magnificante di 80x. ^[11] I vecchi pattern furono rinominati e furono aggiunte tre nuove categorie: lineare sottile, lineare profondo e foveolare. Ecco la classificazione introdotta in questo studio (*Figura 8*):

- **cavità circolari** (il precedente Pattern I), con una disposizione caratterizzata da piccole fosse circolari e un aspetto puntiforme, indica la presenza di mucosa fundica;
- **cavità tubulari** (Pattern II), con una configurazione caratterizzata da cavità tubulari corte od ovoidali con una disposizione uniforme, indica la presenza di mucosa cardiaca;
- **lineare sottile**, una nuova categoria caratterizzata da sottili scanalature superficiali che può indicare mucosa cardiaca o mucosa di Barrett;
- **lineare profonda**, anch'essa una nuova categoria descritta da profonde e macroscopiche scanalature;
- **villiforme** (Pattern III), caratterizzata da un aspetto reticolare uniforme o, più raramente, da sporgenze simili a dita;
- **foveolare**, una nuova configurazione caratterizzata da una superficie piatta intervallata da ampie cavità circolari e dall'assenza di strutture villiformi;
- **cerebriforme** (Pattern IV), con spesse strutture tubulari lineari o contorte che ricordano le circonvoluzioni cerebrali.

Le ultime quattro classi indicarono in ogni caso la presenza di sindrome di Barrett. ^[11]

Questi tipi di pattern sono stati osservati e studiati da altri con risultati simili. Meining (51 pazienti con malattia da reflusso) e Mayinger (60 pazienti con sindrome di Barrett) eseguirono studi interosservatore che ottennero una scarsa concordanza tra 4 osservatori, riguardo alla determinazione del tipo di pattern rilevato tramite *EME*. Uno studio del 2006 eseguito in Florida dalla Mayo Clinic, utilizzò acido acetico per la rilevazione della sindrome di Barrett in 137 pazienti sottoposti a screening endoscopico per malattia da reflusso cronica, ma non individuò alcuna differenza tra il tasso di rilevazione relativo all'endoscopia standard abbinata a biopsie random e quello relativo alle biopsie mirate con utilizzo di acido acetico.

Infine, in uno studio effettuato a Mie, in Giappone, tra il 2004 e il 2008, Tanaka et al sottoposero a *EME* (utilizzando un endoscopio ad alta risoluzione con potere magnificante di

80x) 380 pazienti, già sotto sorveglianza endoscopica dell'esofago poiché affetti da patologie gastrointestinali, con lo scopo di identificare le caratteristiche morfologiche da associare alla presenza di cancro.^[12] Le caratteristiche morfologiche della superficie mucosa furono riclassificate in 5 tipi (*Figura 9*):

- **tipo I**: piccole cavità circolari di forma e dimensioni uniformi;
- **tipo II**: cavità a fessura;
- **tipo III**: strutture cerebriformi e villiformi;
- **tipo IV**: strutture di dimensioni e disposizioni irregolari;
- **tipo V**: pattern distruttivo.

I pattern di tipo I, II e III non furono associati istologicamente a nessun caso di cancro, mentre fu rilevato cancro precoce nel 40% dei campioni biotici con pattern di tipo IV e nel 37,5% di quelli con pattern di tipo V. La classificazione con *EME* dei pattern di tipo IV e V per l'identificazione di carcinoma precoce risultò con una sensibilità del 100% e una specificità dell'89,4%. I dati completi sono presenti in *Tabella 3*.

Surface pattern	No. lesions		Total
	Noncancerous	Cancer	
Types I-III	210	0	210
Types IV-V	24	16	40
Total	234	16	250

*Sensitivity, 100%; specificity, 89.7%; positive predictive value, 40.0%; negative predictive value, 100%; overall accuracy 90.4%

Tabella 3: Pattern rilevati con *EME* e istologia associata (Tanaka et al, 2008).

In ogni caso, tutti questi studi non sono comparabili, in quanto evidenziano diversi modelli di classificazione della mucosa e sono effettuati su diverse popolazioni di pazienti. L'acido acetico sembra migliorare la visualizzazione della microstruttura della mucosa dell'esofago di Barrett, ma non è stata confermata alcuna classificazione ufficiale (a causa della scarsa riproducibilità di ciascuna classificazione) ed esistono pochi dati che supportino la sua effettiva utilità per la rilevazione di displasia o neoplasia precoce.^[5]

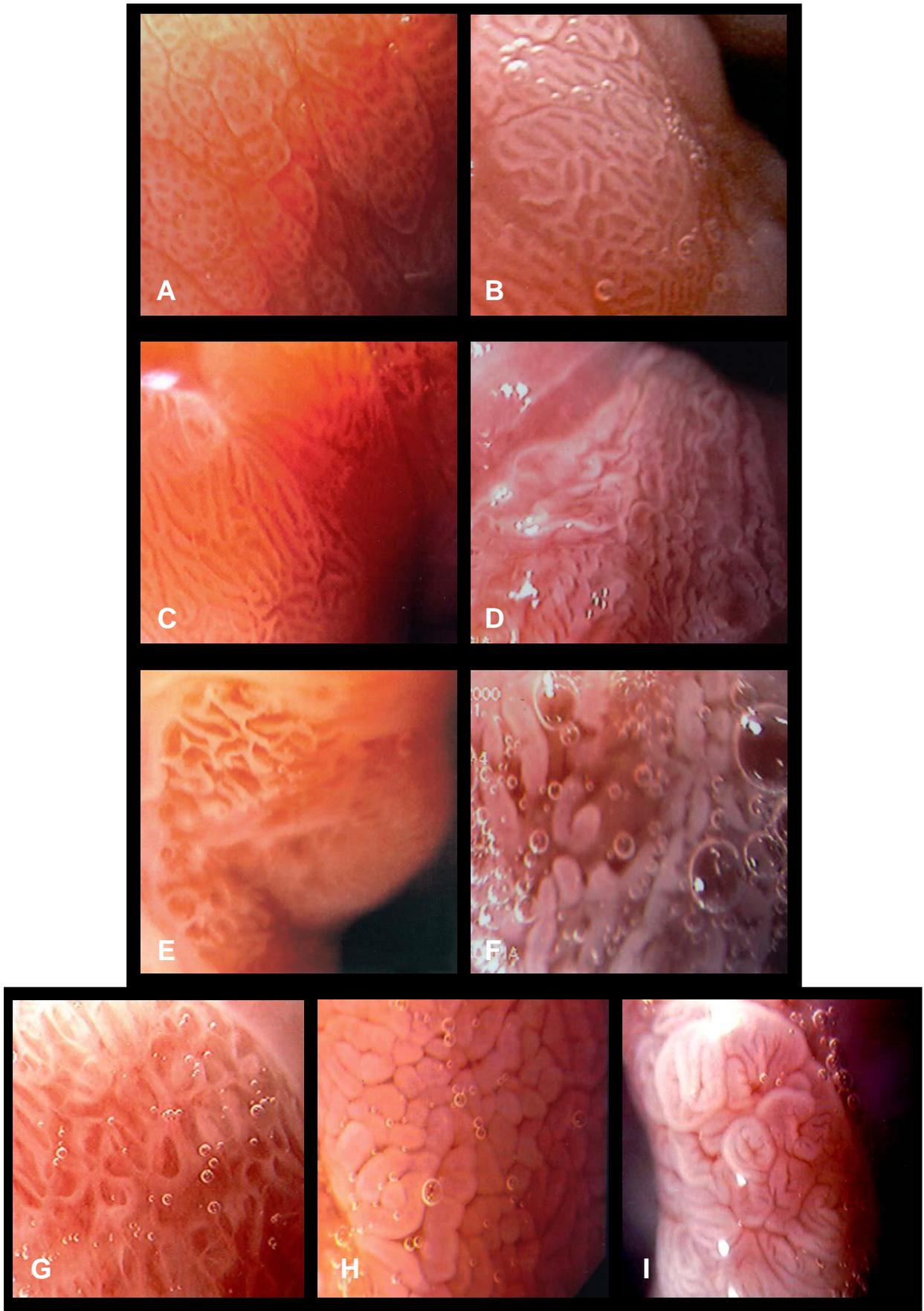


Figura 8: Classificazione proposta nel 2004 da Guelrud ed Ehrlich: (A) cavità circolari; (B) cavità tubulari; (C) lineare sottile; (D) lineare profonda; (E) villiforme, con aspetto reticolare uniforme; (F) villiforme, con sporgenze simili a dita; (G) foveolare; (H) cerebriforme, con spesse increspature tubulari uniformi; (I) cerebriforme, con increspature tubulari contorte simili alle circonvoluzioni cerebrali.^[11]

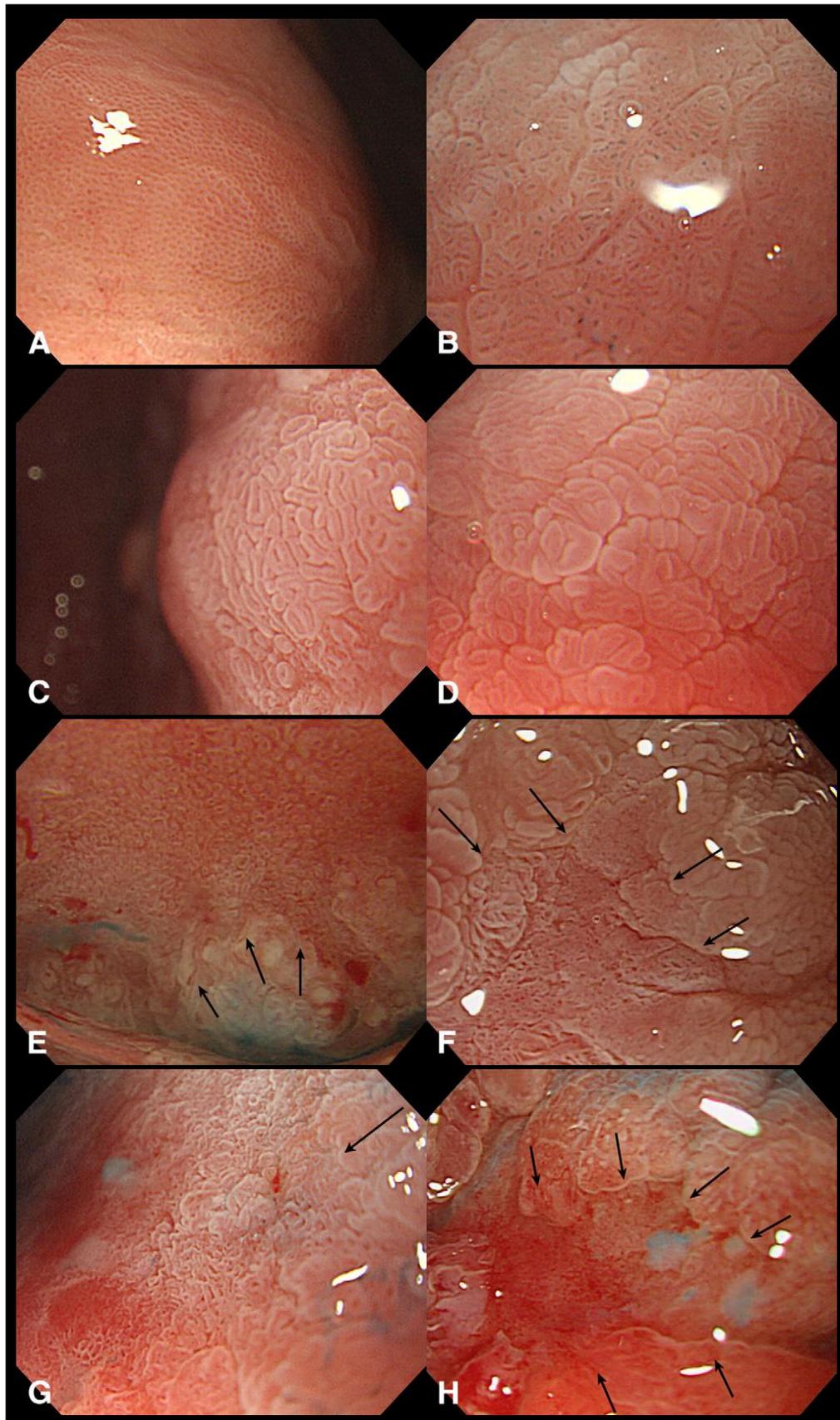


Figura 9: Classificazione proposta nel 2008 da Tanaka et al: (A) tipo I; (B) tipo II; (C) tipo III, strutture cerebriformi; (D) tipo III, strutture villiformi; (E,F,G) strutture di dimensioni e disposizioni irregolari (*vedi frecce*); (H) pattern distruttivo (*vedi frecce*).^[12]

3.1.2 Cromoendoscopia con indaco carminio

L'**indaco carminio** è un colorante di contrasto blu che non viene assorbito dalle cellule epiteliali, ma evidenzia la microstruttura della mucosa andando a raccogliere negli spazi tra le creste mucose. Questo migliora la visualizzazione delle irregolarità e delinea le lesioni altrimenti difficilmente visibili. Ovviamente, la cromosondoscopia può essere utilizzata in combinazione con la magnificazione endoscopica per ispezionare al meglio i pattern della superficie mucosa.

Questo colorante è stato utilizzato nello stomaco per la delineaazione dei precoci carcinomi gastrici, l'individuazione dei piatti adenomi nel colon e la determinazione della microstruttura superficiale (pattern) di questi adenomi. Stevens et al dimostrarono che la metaplasia intestinale era associata ad un pattern villiforme dopo l'applicazione topica di indaco carminio. ^[15] Uno studio del 2003 di Sharma et al ^[13] suggerì che la cromosondoscopia con indaco carminio e magnificazione endoscopica era in grado di distinguere la displasia di alto grado dalle aree non displastiche dell'esofago di Barrett. ^[8] Essi studiarono le alterazioni dell'epitelio in 80 pazienti affetti da esofago di Barrett e riuscirono a identificare tre pattern mucosi: **increspato/villiforme**, **circolare** e **irregolare/distorto**. I pattern increspato/villiforme e circolare contenevano metaplasia intestinale nel 97% e nel 17% dei casi, rispettivamente; in particolare, il pattern increspato/ villiforme mostrò un valore di previsione positiva per la rilevazione di metaplasia intestinale del 92%. Tutti i casi con pattern irregolare/distorto contenevano displasia di alto grado. Una limitazione di questo studio fu il numero relativamente basso di aree con displasia di alto grado (n = 6 pazienti). In uno studio prospettico multicentrico, ^[14] furono valutati 56 pazienti utilizzando questo tipo di classificazione. La sensibilità del pattern increspato/villiforme relativamente alla sola presenza di metaplasia intestinale (senza displasia) risultò del 71%. La sensibilità relativa alla displasia di alto grado, quando veniva individuato il pattern irregolare/distorto solo o in combinazione con altri pattern, risultò dell'83%, un valore più basso di quello che tutti si aspettavano.

Furono eseguiti diversi altri studi sull'utilizzo dell'indaco carminio, ma produssero tutti risultati variabili.

Eseguire una cromosondoscopia con indaco carminio unita a magnificazione endoscopia è una procedura molto laboriosa, specialmente in un esofago di Barrett particolarmente esteso. Fatta eccezione per la procedura di applicazione del colorante, l'intero segmento di Barrett deve essere ispezionato con la maggiore magnificazione disponibile, con il rischio di trascurare certe zone. ^[15] Questo, unito ai risultati variabili e in molti casi dipendenti dall'operatore, alla necessità di cateteri spray e all'eventuale distorsione delle immagini dovuta a una distribuzione non uniforme del colorante (la sostanza in eccesso dev'essere

aspirata per una visione ottimale) hanno limitato l'impiego di questa tecnica, dimostratasi sì in grado di rilevare ulteriori lesioni nell'esofago di Barrett, ma non di migliorare la sensibilità generale. ^[8] Secondo l'opinione della maggior parte dei patologi, questa tecnica può risultare utile per un'ispezione dettagliata delle aree sospette precedentemente individuate, piuttosto che come tecnica di rilevazione primaria. ^[15]

Ciò fu illustrato da uno studio incrociato eseguito ad Amsterdam. In questo studio, la cromoendoscopia con indaco carminio utilizzata assieme all'endoscopia ad alta risoluzione fu confrontata con l'endoscopia ad alta risoluzione seguita da *NBI* (*Narrow Band Imaging*, vedi più avanti). La cromoendoscopia rilevò 2 lesioni in più contenenti neoplasia precoce, che non erano state rilevate dalla sola endoscopia ad alta risoluzione. Tuttavia, a livello di paziente, la cromoendoscopia con indaco carminio non fece aumentare la sensibilità relativa all'identificazione di neoplasia precoce. ^[16]

3.1.3 Cromoendoscopia con blu di metilene

Il **blu di metilene** è un colorante vitale che viene attivamente assorbito dalle cellule epiteliali dell'intestino tenue e del colon. Anche la metaplasia intestinale, avendo caratteristiche simili a quelle dell'epitelio dell'intestino tenue, assorbe il blu di metilene, mentre l'epitelio gastrico e squamoso rimangono senza colorazione. Queste caratteristiche sono utili per individuare la metaplasia intestinale nell'epitelio colonnare, la cui presenza può indicare sindrome di Barrett. ^[15] Anche i tessuti displastici e cancerosi mostrano una colorazione minore o assente. In questo modo, le aree non colorate circondate da aree blu, possono essere oggetto di biopsie mirate. La cromoendoscopia con blu di metilene ha dimostrato in alcuni casi di migliorare l'identificazione della displasia nell'esofago di Barrett. Diversi esperti, tuttavia, considerano questa tecnica meno efficace, molto laboriosa e dipendente dall'operatore. ^[8] Esistono numerosi studi di controllo sull'utilizzo di questo colorante per la rilevazione di metaplasia e displasia nei pazienti affetti da sindrome di Barrett: le prestazioni ottenute sono sorprendentemente variabili, ed esistono ancora dubbi sull'utilità di questa tecnica nella pratica clinica. ^[9]

Nel 1996, Canto et al diffusero l'uso del colorante vitale **blu di metilene** con il loro primo studio su 14 pazienti, riportando una sensibilità del 95% e una specificità del 97% per l'identificazione di metaplasia intestinale. Da quel momento, la cromoendoscopia con blu di metilene è stata la tecnica più studiata per la rilevazione della sindrome di Barrett, con o senza magnificazione, con sensibilità variabili tra il 32% e il 98% e specificità variabili tra il 23% e il 100%. Tuttavia, come per le altre forme di cromoendoscopia, le varie classificazioni

dei pattern della mucosa sono state sempre difficili da riprodurre e non sono mai state associate a precise caratteristiche istologiche. ^[5]

I primi risultati furono confermati dagli stessi autori nel 2001 in uno studio combinato in-vivo ed ex-vivo. Nello studio in-vivo, furono eseguite oltre 500 biopsie mirate con cromoendoscopia con blu di metilene, su 45 pazienti con sindrome di Barrett nota. La sensibilità e la specificità generali per l'identificazione della metaplasia intestinale risultarono del 97% e del 43%, rispettivamente. Nello stesso anno altri studi ottennero risultati molto positivi riguardo a questa tecnica. Uno studio tedesco su 51 pazienti con sindrome di Barrett appena diagnosticata e 22 pazienti sotto normale sorveglianza dell'esofago, ottenne una sensibilità del 98% e una specificità del 61%. Sharma et al confrontarono le biopsie mirate con blu di metilene eseguite su 75 pazienti con esofago di Barrett, con le biopsie random ottenute da un gruppo di controllo di pazienti con le stesse caratteristiche; il tasso di rilevazione della metaplasia intestinale delle biopsie mirate risultò significativamente più alto di quello delle biopsie random (61% contro 42%).

Altri studi, tuttavia, mostrarono sensibilità e specificità minori per l'identificazione della metaplasia intestinale tramite biopsie mirate con blu di metilene. Dave et al, in uno studio su 9 pazienti con esofago di Barrett, riscontrarono per le biopsie mirate una sensibilità e una specificità del 57% e del 37%, rispettivamente. Breyer et al eseguirono biopsie mirate con blu di metilene su 30 pazienti con nota sindrome di Barrett e ottennero una sensibilità del 72% e una specificità del 46% per l'individuazione di metaplasia intestinale. Nel 2002, in uno studio di Endo et al, la cromoendoscopia con blu di metilene fu combinata con la magnificazione endoscopica ad alta risoluzione, permettendo un'ispezione dettagliata della superficie mucosa e l'associazione dei vari pattern con la relativa colorazione blu e con l'eventuale presenza di metaplasia intestinale. I pattern mucosi furono classificati in cinque diverse categorie (*Figura 10*):

1. **piccole cavità circolari;**
2. **linee diritte;**
3. **cavità ovali allungate;**
4. **pattern tubulari (cerebriformi);**
5. **estroflessioni villiformi.**

Tutte le aree con pattern 4 e 5 contenevano metaplasia intestinale, ma stranamente solo il 60% (pattern 4) e il 50% (pattern 5) di queste aree apparivano positive alla colorazione con blu di metilene.

Tra il 2000 e il 2003 furono eseguiti tre studi di controllo incrociati e randomizzati, confrontando le biopsie mirate con blu di metilene con le biopsie random per l'individuazione della metaplasia intestinale in pazienti con epitelio colonnare nell'esofago. Due di questi studi (Canto et al, 2000; Ragunath et al, 2003) riscontrarono una differenza significativa tra le biopsie mirate e quelle random, a favore delle prime, nell'individuare la metaplasia

intestinale. Tuttavia, nello studio di Wo et al (2001), non si notò alcuna differenza tra i due tassi di rilevazione della metaplasia intestinale. In quest'ultimo studio, la sensibilità e la specificità delle biopsie mirate risultarono rispettivamente del 53% e del 51%.

Sebbene sia importante che i pazienti affetti da sindrome di Barrett non siano esclusi dai programmi di sorveglianza endoscopica a causa di una metaplasia intestinale non diagnosticata, l'obiettivo principale di questa sorveglianza rimane l'individuazione dell'eventuale neoplasia.

Nel sopracitato studio in-vivo ed ex-vivo di Canto et al, le anomalie nella colorazione di blu di metilene (ad esempio quando si osservava una maggiore eterogeneità e una minore intensità del colore) risultarono essere associate con la presenza di displasia. Due studi dimostrarono che le biopsie mirate con blu di metilene avevano un maggiore tasso di rilevazione della neoplasia precoce rispetto alle biopsie random. Nel primo, gli stessi Canto et al rilevarono neoplasia precoce nel 44% dei pazienti analizzati con l'utilizzo della cromoendoscopia con blu di metilene, contro il 28% ottenuto tramite il protocollo standard di biopsie random. Nel secondo, Gossner et al^[17] eseguirono endoscopie standard seguite da cromoendoscopie con blu di metilene su 86 pazienti con displasia di alto grado o carcinoma mucoso nell'esofago di Barrett (*Figura 11*). La sensibilità combinata per la rilevazione di displasia o neoplasia risultò del 65% per le biopsie random e dell'87% per le biopsie mirate dopo cromoendoscopia con blu di metilene. Il tempo speso eseguendo le cromoendoscopie fu compensato dalla riduzione nel numero di campioni bioptici necessari (562 per le biopsie mirate, 1217 per le biopsie random).

La tecnica della cromoendoscopia con blu di metilene fu oggetto di un importante studio comparativo del 2003. Egger et al analizzarono 35 pazienti utilizzando endoscopia ad autofluorescenza (*AFI - Auto-Fluorescence Imaging*), cromoendoscopia con blu di metilene e video endoscopia standard abbinata a biopsie random, tutto in una singola sessione endoscopica. L'endoscopia ad autofluorescenza e la cromoendoscopia rilevarono una lesione contenente neoplasia precoce in più, rispetto alla video endoscopia standard; tuttavia le sole biopsie random a loro volta rilevarono più di 5 lesioni neoplastiche non identificate dalle altre tecniche.

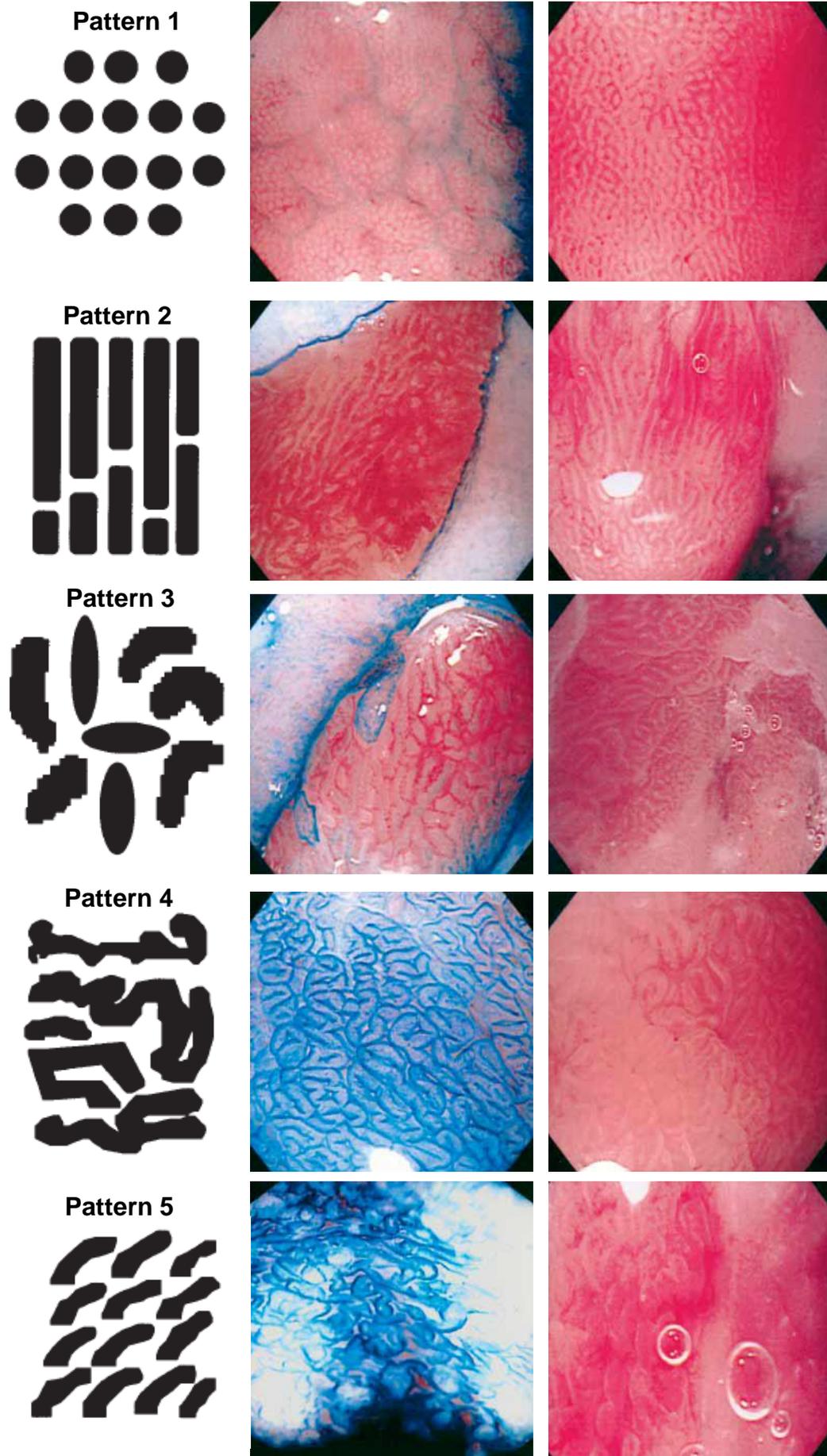


Figura 10: Classificazione secondo Endo et al (2002). ^[19]

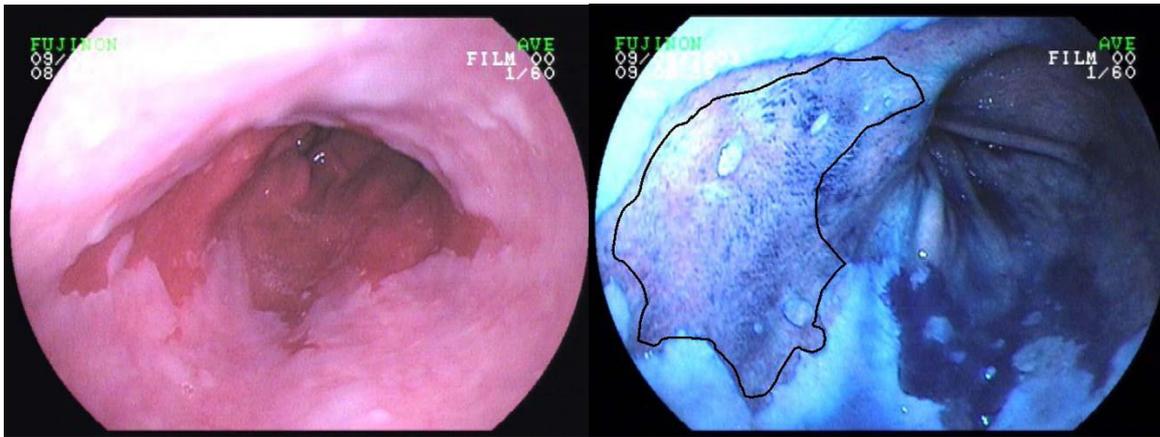


Figura 11: (*sinistra*) Carcinoma macroscopicamente non visibile in un esofago di Barrett; immagine tratta da video endoscopia. (*destra*) La corrispondente immagine endoscopica ottenuta tramite cromoendoscopia con blu di metilene. Si nota un'area con una minore colorazione rispetto al suo intorno: l'esame istologico ha confermato un adenocarcinoma.^[17]

Inoltre, anche i sopracitati studi di Rangunath et al e Wo et al non trovarono significative differenze nei tassi di rilevamento della neoplasia precoce relativi alle biopsie mirate con blu di metilene e alle biopsie random. Infine, in uno studio del 2006 eseguito da Lim et al su 30 pazienti con displasia (*Figura 12*) le biopsie random identificarono addirittura più pazienti con neoplasia precoce (94%) rispetto alle biopsie mirate con cromoendoscopia con blu di metilene (50%).^[18]

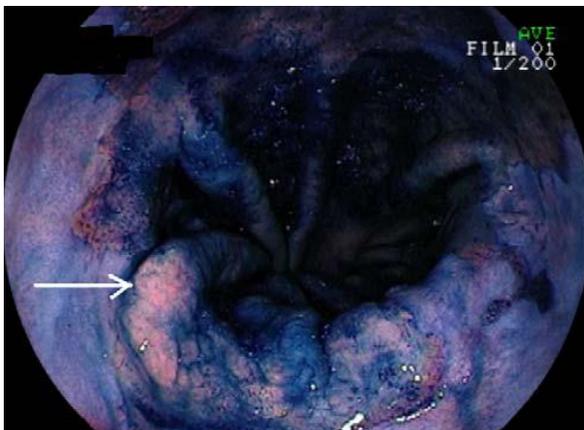


Figura 12: La cromoendoscopia con blu di metilene evidenziò un'area chiara destinata a biopsia mirata, la quale rivelò displasia di alto grado. Le biopsie random non furono in grado di rilevare alcun tipo di displasia.^[18]

Ormezi et al confrontarono l'endoscopia standard e la cromoendoscopia con blu di metilene in uno studio del 2008 su 109 pazienti. La sensibilità della cromoendoscopia per l'individuazione della metaplasia intestinale (e quindi della sindrome di Barrett) risultò superiore rispetto a quella dell'endoscopia standard (87% contro 66%); tuttavia non si trovarono differenze statistiche tra le due tecniche per quanto riguardava la diagnosi di carcinoma esofageo ($P > 0.05$).

Osservando questi dati, si può affermare che i promettenti risultati iniziali riguardo all'utilizzo della cromoendoscopia con blu di metilene non furono mai successivamente confermati coerentemente. Nel 2009 Ngamruengphong et al eseguirono una meta-analisi riassuntiva su 9 studi e 450 pazienti, confrontando la cromoendoscopia con blu di metilene con l'endoscopia standard. ^[9] La conclusione fu che l'utilizzo della cromoendoscopia con blu di metilene abbinata a biopsie mirate era praticamente equivalente a quello dell'endoscopia standard abbinata a biopsie random, riguardo alla rilevazione di metaplasia intestinale o displasia in pazienti con sospetta o confermata sindrome di Barrett.

In sintesi, quando si tratta di rilevare metaplasia intestinale, le biopsie mirate con blu di metilene sembrano essere superiori alle biopsie random. Rispetto alla rilevazione di neoplasia precoce, invece, i risultati appaiono più controversi. Esistono diverse spiegazioni ai vari risultati contrastanti. In primo luogo, tutti gli studi sopracitati utilizzavano diverse procedure di applicazione del colorante ed erano progettati in modo diverso. In secondo luogo, la cromoendoscopia con blu di metilene è una procedura operatore-dipendente, che richiede l'applicazione di N-acetilcisteina seguita dall'applicazione di blu di metilene, che a sua volta dovrebbe essere seguita da un ampio risciacquo con acqua per rimuovere il colorante. In terzo luogo, infine, non è da trascurare la variabilità interosservatore. Nel 2004 Meining et al riscontrarono un'alta variabilità interosservatore per la positività alla colorazione con blu di metilene anche tra endoscopisti esperti, mentre in uno studio del 2006 eseguito da Canto e Kalloo, quattro esperti endoscopisti gastrointestinali analizzarono alla cieca (senza conoscere la relativa istologia) varie immagini dell'esofago di Barrett, ottenute tramite magnificazione endoscopica abbinata a cromoendoscopia con acido acetico o blu di metilene: la concordanza interosservatore risultò scarsa ($\kappa = 0.40$) per tutti i parametri analizzati, inclusi i pattern mucosi, la colorazione positiva con blu di metilene e la presenza di metaplasia intestinale.

In conclusione, i deludenti risultati nella rilevazione della neoplasia precoce, la laboriosità delle procedure di applicazione del colorante e la loro dipendenza dall'operatore, rendono questa tecnica inadatta ad una sorveglianza costante dell'esofago di Barrett. Inoltre, è probabile che il blu di metilene in combinazione con l'illuminazione a luce bianca dell'endoscopio possa causare danni genetici alle cellule della mucosa di Barrett. ^[15]

3.2 NARROW BAND IMAGING

La **Narrow Band Imaging** (NBI) è una tecnica innovativa che utilizza filtri ottici per visualizzare in dettaglio la morfologia della mucosa senza ricorrere all'applicazione di coloranti. Questa tecnica è basata sul fenomeno ottico secondo il quale la profondità di penetrazione della luce dipende dalla sua lunghezza d'onda; maggiore è la lunghezza d'onda, più profonda sarà la penetrazione. Considerando lo spettro di luce visibile, quindi, la luce blu penetra solo a livello superficiale, mentre la luce rossa penetra fino a livelli più profondi. ^[7] La caratteristica più elegante della NBI è che non sono necessari strumenti o sostanze addizionali; basta semplicemente premere un pulsante presente sul sistema endoscopico; inoltre, tutti gli endoscopi NBI sono ad alta risoluzione. ^[8] La NBI utilizza filtri ottici RGB (red-green-blue) incorporati nel sistema endoscopico, che eliminano la componente rossa della luce e riducono quella verde, mentre preservano l'illuminazione del tessuto da parte della componente blu. Il miglioramento nella visualizzazione dei pattern mucosi avviene grazie alla relativamente elevata intensità della luce blu, la quale rivela dettagliatamente le strutture superficiali grazie alla sua bassa profondità di penetrazione nel tessuto. Inoltre, l'assorbimento della luce blu da parte dell'emoglobina permette una dettagliata ispezione anche della microvascolarizzazione superficiale della mucosa.

Questa tecnologia fu sviluppata da Gono et al nel 1999 in un lavoro congiunto del Japanese National Cancer Centre Hospital East e di una squadra di fisici ottici della Olympus Corporation di Tokio. In commercio sono disponibili due versioni dei sistemi NBI (*Figura 13*). Una di queste è chiamata **Evis Exera II** ed è utilizzata prevalentemente nel nord America; è composta da diversi filtri ottici, che lasciano passare le lunghezze d'onda della luce verde comprese tra i 530-550 nm e quelle della luce blu tra i 390-445 nm, le quali andranno ad attivare i pixel di un CCD tricromatico. L'altra versione, chiamata **Evis Lucera**, utilizza un CCD monocromatico ed è utilizzata soprattutto in Giappone e in Europa. Entrambi i sistemi permettono di passare dalla luce bianca alla modalità NBI e viceversa con un semplice interruttore manuale. Sebbene questi due sistemi abbiano sottili differenze tecniche, clinicamente sono equivalenti. La tecnologia NBI è stata approvata e dichiarata in regola, è disponibile in commercio e rappresenta una delle tecniche avanzate di acquisizione di immagini endoscopiche più studiate relativamente alla rilevazione di displasia o carcinoma superficiale nell'esofago di Barrett. ^[5]

Hamamoto et al furono i primi a suggerire che la NBI avrebbe potuto migliorare l'ispezione endoscopica dell'esofago di Barrett. Essi analizzarono 11 pazienti con previa diagnosi di esofago di Barrett, utilizzando un sistema endoscopico standard e la tecnica della NBI. Osservarono che la NBI rivelava i pattern mucosi e vascolari molto più dettagliatamente e permetteva la chiara visualizzazione dei confini tra i vari tipi di epitelio colonnare.

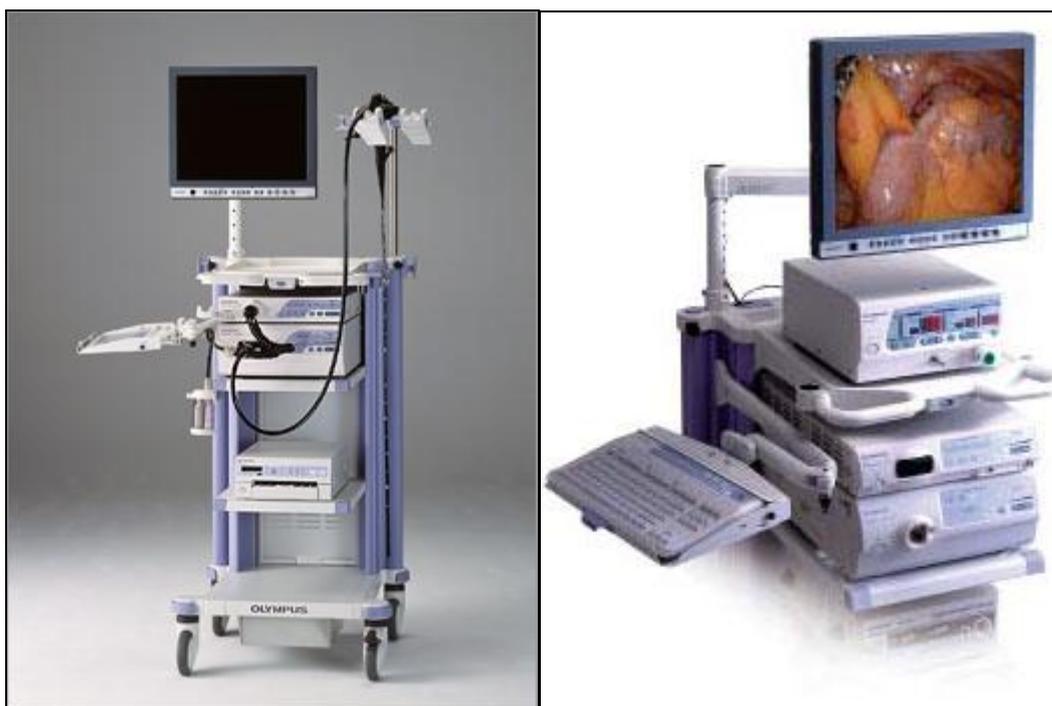


Figura 13: (*sinistra*) Evis Exera II; (*destra*) Evis Lucera.

I pattern mucosi e vascolari osservati nell'esofago di Barrett hanno rappresentato la base di molti studi.

Nel 2005, il gruppo di Amsterdam (Kara et al) condusse uno studio incrociato randomizzato per confrontare l'endoscopia ad alta risoluzione seguita da cromoendoscopia con indaco carminio con l'endoscopia ad alta risoluzione seguita da NBI in 28 pazienti con esofago di Barrett, la maggior parte dei quali con neoplasia precoce poco visibile.^[16] Con la sola endoscopia ad alta risoluzione (e luce bianca), il numero di pazienti diagnosticati con neoplasia precoce tramite biopsie mirate fu di 11 su 14. La cromoendoscopia con indaco carminio e la NBI rilevarono ulteriori lesioni in 2 e 3 pazienti, rispettivamente, ma non fecero aumentare il numero di pazienti diagnosticati con neoplasia precoce.

L'anno successivo Kara et al eseguirono un altro importante studio,^[7] valutando un'ampia varietà di caratteristiche mucose e vascolari presenti nelle immagini magnificate ottenute con la NBI da 198 aree in 63 pazienti con esofago di Barrett; essi proposero una classificazione gerarchica delle caratteristiche superficiali della mucosa, utile per la caratterizzazione endoscopica dei tessuti displastici e non displastici (*Tabella 4*). In questa classificazione, tutte le aree con pattern mucosi e vascolari regolari e senza vasi sanguigni anormali, così come le aree con mucosa piatta e nessun vaso sanguigno anormale, erano considerate "non sospette" di displasia (*Figura 14*); le aree "sospette" di displasia erano considerate tali se mostravano almeno una delle seguenti tre caratteristiche: pattern mucoso

irregolare/frammentato, pattern vascolare irregolare, e/o vasi sanguigni anormali (Figure 15 e 16). Utilizzando questo modello stratificato di rischio, furono ottenute una sensibilità del 100% e una specificità del 61% per la displasia di alto grado (neoplasia intraepiteliale di alto grado). Per qualsiasi altro grado di displasia, la sensibilità e la specificità risultarono rispettivamente dell'86% e del 64%. Volendo utilizzare un modello di rischio più ristretto, in cui un'area per essere considerata "sospetta" doveva possedere almeno due delle tre caratteristiche sopracitate, la sensibilità e la specificità relative alla rilevazione di displasia di alto grado risultarono rispettivamente dell'85% e del 76%, e quelle relative alla rilevazione di qualsiasi altro grado di displasia del 70% e dell'80%, rispettivamente.

Tuttavia, nello studio dell'anno prima, fu dimostrato che né la NBI né la cromoendoscopia con indaco carminio miglioravano il numero complessivo di diagnosi indicanti displasia di alto grado o cancro precoce rispetto al protocollo standard, sebbene permettessero l'identificazione di alcune lesioni in più.^[8] L'incapacità di queste tecniche di far aumentare la sensibilità nell'identificare la neoplasia precoce a livello di numero di pazienti può essere in parte spiegata dal fatto che queste tecniche (NBI e cromoendoscopia con indaco carminio) sono probabilmente più adatte per un'ispezione dettagliata direttamente sulle aree di interesse che non per la loro identificazione primaria.

In uno studio prospettico del 2006, Sharma et al analizzarono differenti pattern mucosi utilizzando la NBI con magnificazione endoscopica in 51 pazienti con nota o sospetta sindrome di Barrett; anche i loro risultati confermarono che i pattern mucosi irregolari e l'anormale vascolarizzazione erano correlati alla presenza di neoplasia precoce.

Hierarchical steps							
Categories in each step	1) Type of mucosal pattern	2) Regularity of mucosal pattern	3) Regularity of vascular pattern		4) Abnormal blood vessels	5) Type of abnormal vessels	
	Villous/gyrus-forming	Regular	Regular	Regular honey comb structures	Present	Not present	Not applicable
				All vessels situated regularly along or between mucosal folds		Spiral vessels	
	Flat	Irregular (disrupted pattern, destructed villi)	Irregular (disorganized vessels that are not regularly between or along mucosal folds)	Regular long branching pattern	Present	Vessels with different calibers	Small isolated vessels
						Crowded vessels	
Other (describe)					Other (describe)		

Tabella 4: Classificazione gerarchica proposta da Kara et al nello studio del 2006.^[7]

In un recente studio endoscopico della Mayo Clinic (2008), l'endoscopia standard fu confrontata con un sistema televisivo ad alta definizione abbinato ad un sistema NBI (HDTV/NBI), con una prima ispezione in modalità luce bianca, seguita dalla successiva ispezione in modalità NBI. In questo studio, le biopsie mirate con HDTV/NBI aumentarono significativamente la rilevazione di displasia, sebbene questa esperienza avesse alcune limitazioni per com'era stata progettata (ad esempio, erano necessari endoscopisti esperti ed un tempo di esecuzione doppio per la procedura HDTV/NBI).^[8]

In questo studio vennero coinvolti 65 pazienti con esofago di Barrett. Con HDTV/NBI fu rilevata displasia in 37 pazienti (57%), mentre la sola SRE abbinata a biopsie mirate e random rilevò displasia in 28 pazienti (43%). La NBI inoltre rilevò anche displasia di più alto grado in 12 pazienti (18%), mentre in nessun caso la SRE riuscì a rilevare displasia di più alto grado. Questo studio evidenziò anche una maggiore efficienza dell'abbinamento HDTV/NBI, in quanto furono necessarie meno biopsie mirate (di media, 4.7 biopsie per caso) per individuare un numero significativamente maggiore di pazienti con displasia, rispetto alla SRE con biopsie mirate e random (di media, 8.5 biopsie per caso).

Infine, Sharma et al presentarono nel 2009 i risultati di uno studio randomizzato multicentrico nel quale si confrontò la HRE abbinata a biopsie random con la HRE abbinata a NBI e alle relative biopsie mirate per la rilevazione di displasia in 116 pazienti sotto sorveglianza endoscopica dell'esofago di Barrett. Complessivamente, non si notarono particolari differenze tra le due modalità riguardo all'obiettivo primario di identificare la metaplasia intestinale (HRE 85%, NBI 86%). Tuttavia, la NBI rilevò displasia di alto grado e carcinoma nel 23% dei casi in più, rispetto alla sola HRE, nonostante il fatto che la proporzione di pazienti con neoplasia non cambiava tra un gruppo e l'altro (HRE 29%, NBI 34%). La HRE identificò 1 paziente su 3 affetto da cancro e 7 pazienti su 10 affetti da displasia di alto grado, mentre la NBI identificò tutti e 3 i pazienti affetti da cancro e 8 pazienti su 10 affetti da displasia di alto grado. La NBI rilevò anche molte più lesioni contenenti HGD o cancro rispetto alla HRE (17 contro 10) e, in generale, più lesioni contenenti un qualsiasi grado di displasia rispetto alla HRE (71 contro 55). Inoltre, la NBI richiese un numero minore di biopsie per procedura (3.7 contro 8.0, di media). Lo studio appena descritto mostrò che sebbene il tasso complessivo di rilevazione della metaplasia intestinale era simile per entrambe le tecniche, la NBI arrivò a questo risultato con un numero inferiore di biopsie e determinava inoltre un maggiore tasso di rilevazione delle lesioni neoplastiche.^[5]

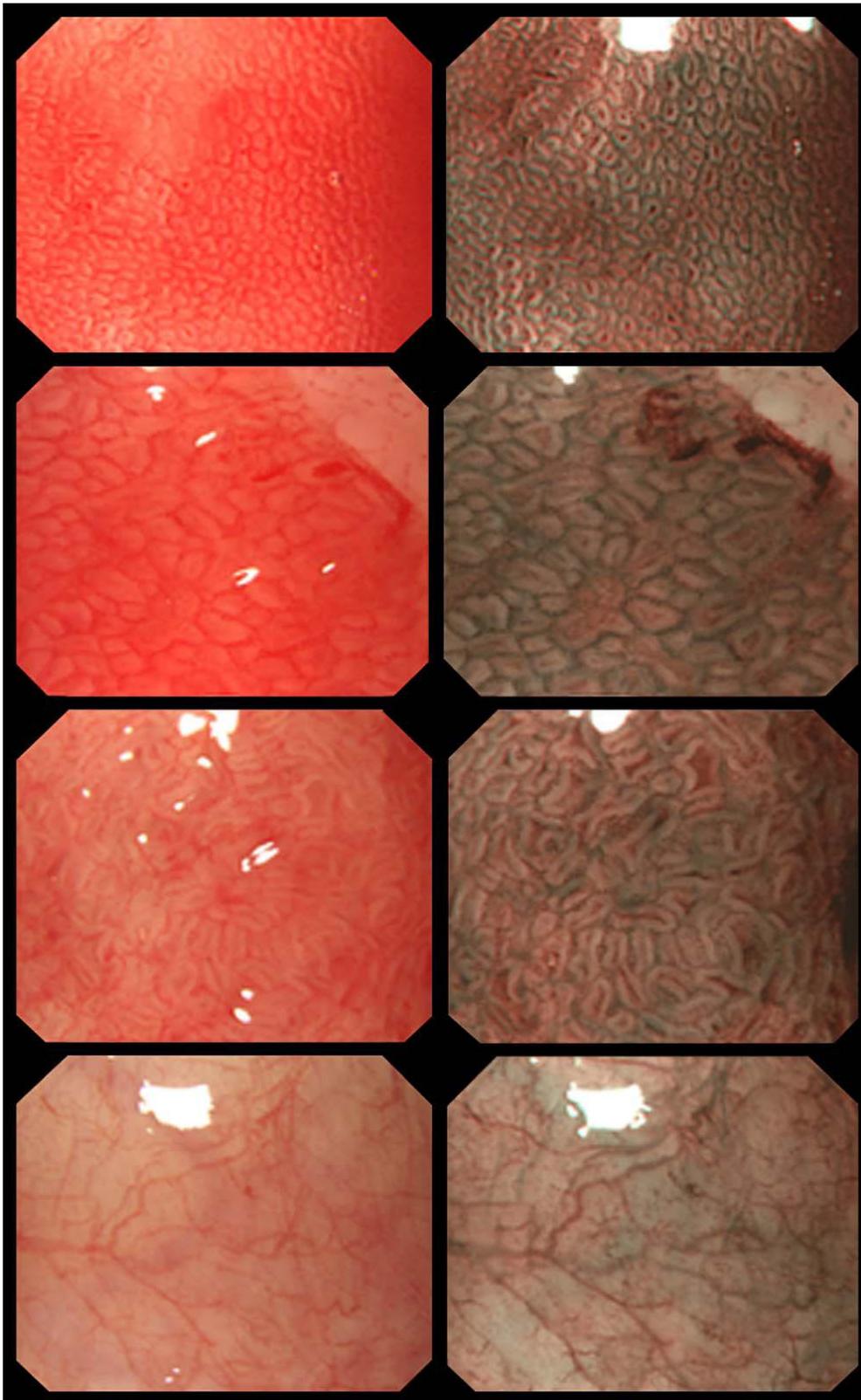


Figura 14: Fotografie endoscopiche magnificate (x115) ad alta risoluzione con luce bianca (*sinistra*) e NBI (*destra*) di aree non displastiche dell'esofago di Barrett. Le prime tre coppie di immagini mostrano pattern regolari villiformi/cerebriformi e pattern vascolari regolari; i villi sono di varie forme e dimensioni ma regolari in ogni area, con i vasi sanguigni situati tra le varie increspature mucose. L'ultima coppia di immagini mostra una mucosa di tipo piatto senza cavità o villi, in cui la vascolarizzazione è regolare, con normali vasi sanguigni lunghi e ramificati. ^[7]

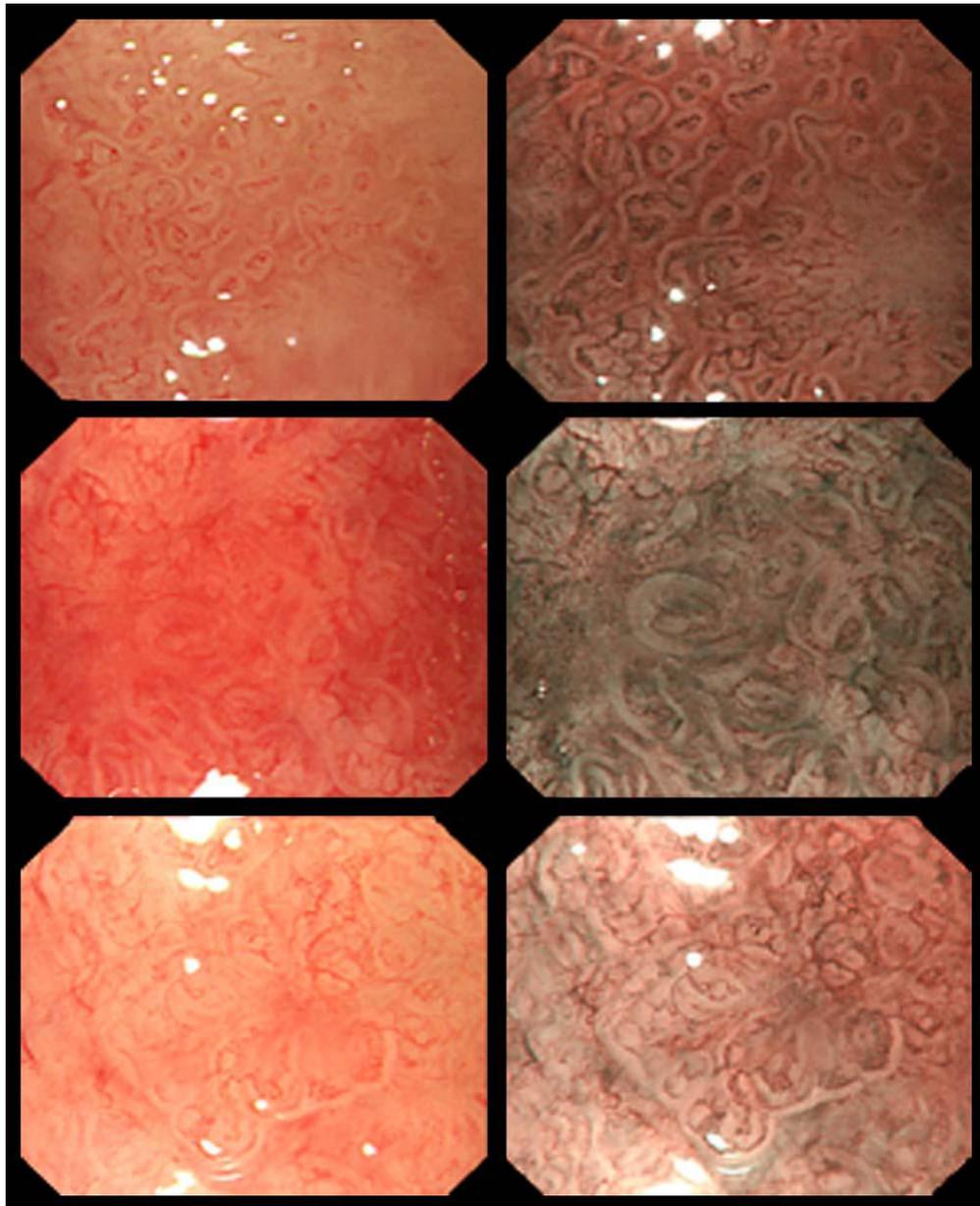


Figura 15: Fotografie endoscopiche magnificate (x115) ad alta risoluzione con luce bianca (*sinistra*) e NBI (*destra*) di aree dell'esofago di Barrett con displasia di alto grado. Questi esempi mostrano pattern mucosi irregolari/frammentati, con pattern vascolari irregolari e residui di pattern mucosi villiformi/cerebriformi. ^[7]

Questi studi dimostrano l'importanza dell'endoscopia ad alta risoluzione in combinazione con la NBI nella sorveglianza endoscopica in pazienti con esofago di Barrett. Inoltre, la NBI rappresenta il metodo di "cromoendoscopia virtuale" più rigorosamente studiato, con numerosi studi di controllo che suggeriscono che l'utilizzo di questa tecnica migliori l'accuratezza e l'efficienza della rilevazione della displasia in pazienti con esofago di Barrett.^[5] La NBI presenta una serie di vantaggi rispetto alla cromoendoscopia: (1) non sono necessari agenti di colorazione; (2) è di facile utilizzo, poiché funziona con filtri ottici incorporati nella sorgente luminosa che vengono abilitati per mezzo di un semplice

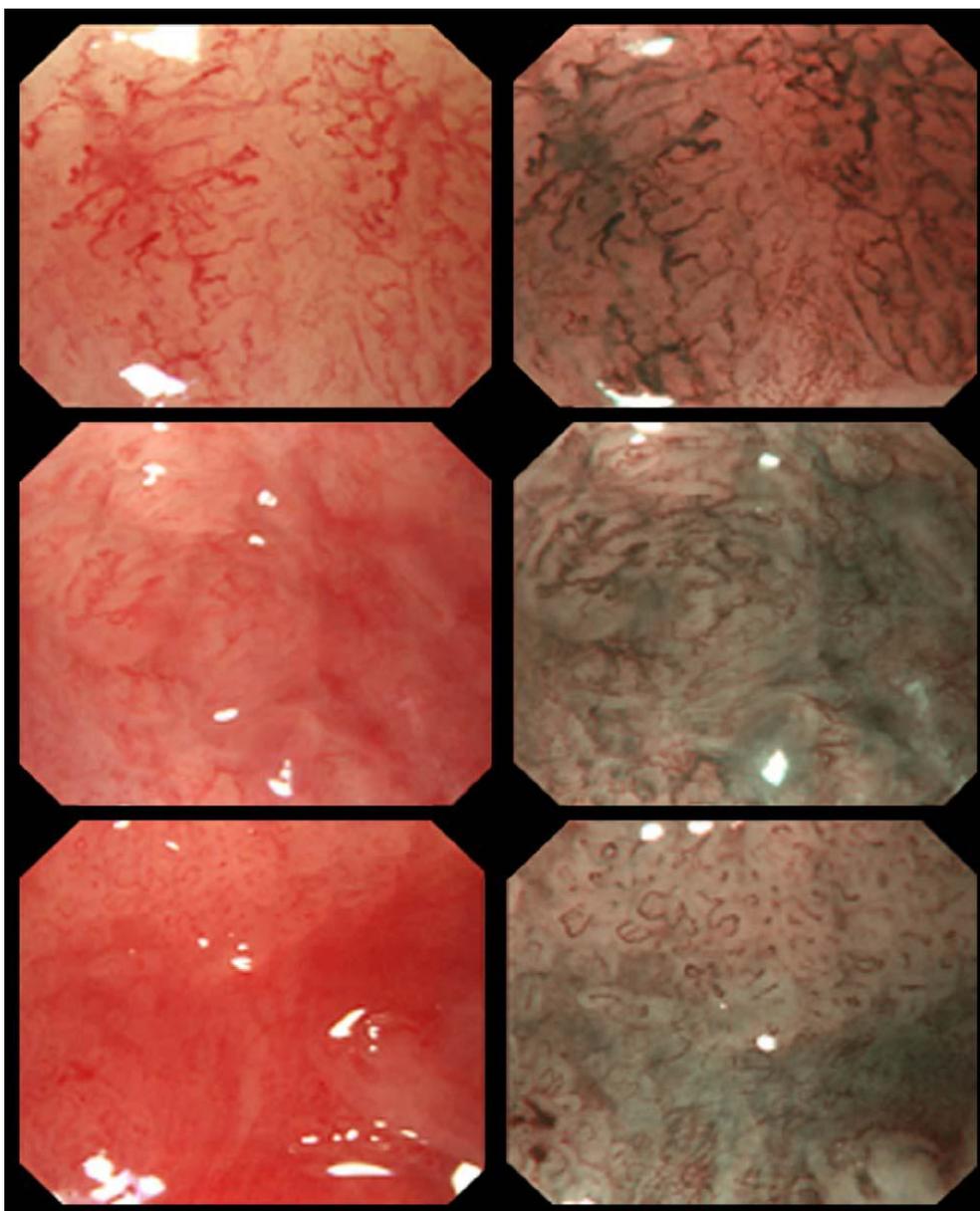


Figura 16: Fotografie endoscopiche magnificate (x115) ad alta risoluzione con luce bianca (*sinistra*) e NBI (*destra*) di aree dell'esofago di Barrett con displasia di alto grado. Questi esempi mostrano diversi tipi di vasi sanguigni anormali che si riscontrano in aree con displasia di alto grado. Le prime due coppie di immagini mostrano vasi sanguigni multipli a spirale di vari calibri. L'ultima coppia di immagini mostra numerosi piccoli vasi sanguigni isolati. ^[7]

interruttore sulla parte di comando del sistema endoscopico; (3) consente l'ispezione dell'intero campo visivo dell'endoscopio, mentre nella cromoendoscopia il colorante spesso non si distribuisce in ugual modo su tutta la mucosa. Oltre a questi vantaggi pratici, la NBI rivela la microvascolarizzazione superficiale con un alto contrasto, mentre con la cromoendoscopia il pattern vascolare è meno visibile.

3.3 AUTOFLUORESCENCE IMAGING (AFI)

L'autofluorescenza dei tessuti si verifica quando essi sono esposti a una luce di limitata lunghezza d'onda (solitamente radiazioni ultraviolette o luce blu) e certe sostanze biologiche endogene (fluorofori) vengono in questo modo eccitate, provocando l'emissione di luce fluorescente con una maggiore lunghezza d'onda da parte del tessuto. Le molecole che causano l'autofluorescenza dei tessuti includono NADH, collagene, elastina, amminoacidi aromatici, porfirine. Nell'esofago di Barrett, i tessuti normali e quelli con neoplasia precoce possiedono differenti proprietà di autofluorescenza, che possono quindi essere sfruttate per la loro identificazione. L'AFI è una tecnica di immagini che differenzia i tipi di tessuto (normale o anormale) basandosi sulle differenze tra le loro emissioni fluorescenti. Nel tratto gastrointestinale, l'AFI è in grado di rilevare le differenze tra queste autofluorescenze grazie ai minimi cambiamenti di concentrazione dei fluorofori che si verificano in seguito alla proliferazione neoplastica. L'AFI utilizza un'illuminazione a luce blu per eccitare il tessuto, inducendo un'autofluorescenza a bassa intensità rilevata tramite CCD ad alta sensibilità, insieme a immagini di riflettanza rilevate tramite altri specifici CCD. L'evoluzione maligna dei tessuti causa l'emissione di lunghezze d'onda sempre maggiori (la luce emessa si sposta dal verde verso il rosso) (*Figura 17*).^[5]



Figura 17: Tabella cromatica dell'AFI.^[22]

Per ottenere risultati ottimali, la tecnologia AFI è incorporata in sistemi endoscopici ad alta risoluzione, poiché risulta di fondamentale importanza l'alta qualità delle immagini endoscopiche a luce bianca. Infatti i primi studi, in cui questa tecnica fu utilizzata con endoscopi a fibra ottica, non rilevarono differenze rispetto all'endoscopia standard a luce bianca, a causa della scarsa qualità delle immagini.

Kara et al testarono un sistema AFI in uno studio del 2005,^[20] e i risultati furono incoraggianti. Furono analizzati 60 pazienti affetti da sindrome di Barrett con un video endoscopio ad alta risoluzione costruito con due CCD separati, uno per l'endoscopia a luce bianca e l'altro per l'AFI, e fu rilevata displasia di alto grado in 22 pazienti. In 6 di questi, l'endoscopia a luce bianca non fu in grado di identificare le lesioni displastiche. Più di un terzo dei pazienti con displasia di alto grado o cancro precoce fu dunque diagnosticato tramite AFI, e il numero totale delle lesioni identificate risultò raddoppiato, se confrontato con

quello relativo alla sola endoscopia ad alta risoluzione. In questo studio, l'AFI aumentò il tasso di rilevamento della displasia di alto grado dal 63% al 91%. Tuttavia, si osservò un alto tasso di falsi-positivi (51%): 41 aree classificate come sospette dall'AFI su 81 totali non contenevano displasia, come dimostrato dall'esame biptico. Si evidenziò quindi la bassa specificità di questa tecnica (*Figure 18 e 19*).

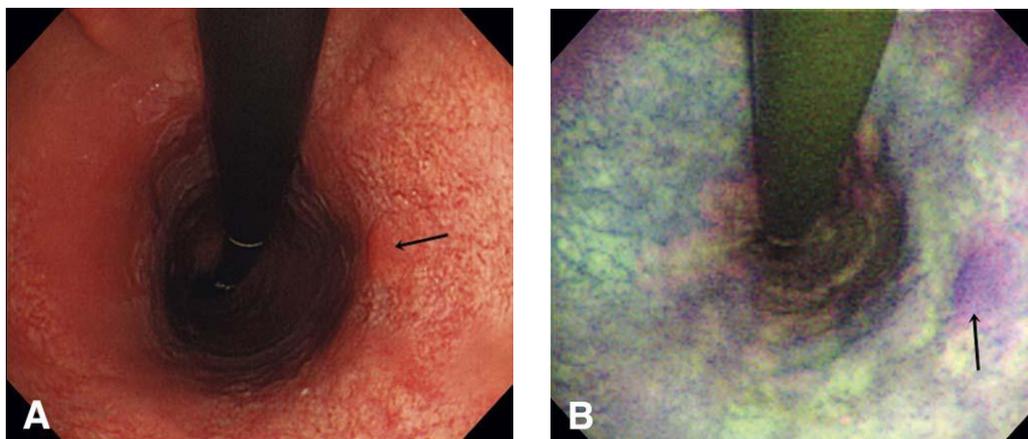


Figura 18: (A) Immagine endoscopica ad alta risoluzione con luce bianca, indicante una lesione con displasia di alto grado. (B) La corrispondente immagine ottenuta con AFI. La lesione indicata nelle immagini fu inizialmente rilevata con AFI e solo successivamente verificata con endoscopia ad alta risoluzione con luce bianca. ^[20]

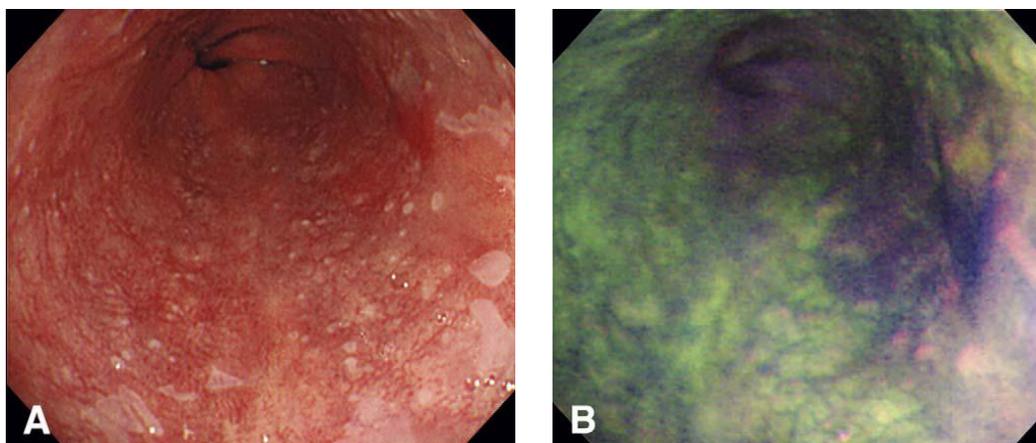


Figura 19: (A) Immagine endoscopica ad alta risoluzione con luce bianca della zona distale dell'esofago in un paziente con esofago di Barrett. (B) La corrispondente immagine ottenuta con AFI: si nota una zona di colore blu/violaceo (*a destra*), considerata sospetta di displasia di alto grado o carcinoma precoce, e una zona verdastra (*a sinistra*). Campioni biptici ottenuti dall'area blu/violacea rivelarono carcinoma precoce; altri ottenuti dall'area verdastra non rilevarono nessun grado di displasia. La lesione fu inizialmente rilevata con AFI e solo successivamente verificata con endoscopia ad alta risoluzione con luce bianca. ^[20]

Successivamente a questo studio, fu introdotto il termine "Endoscopic Tri-Modal Imaging" (ETMI), che include nella sua definizione tre modalità: endoscopia ad alta risoluzione con luce bianca, AFI e NBI. Utilizzando sistemi ETMI, l'endoscopista può passare da una di

queste tre modalità a un'altra con un semplice interruttore manuale. In questa tecnica, l'AFI aumenta la sensibilità e la NBI riduce i falsi-positivi, migliorando così la specificità.

I primi risultati dello studio di Kara et al furono confermati in uno studio internazionale multicentrico, eseguito da Curvers et al nel 2008.^[21] In questo studio, l'AFI migliorò la sensibilità per la rilevazione di neoplasia precoce dal 53% al 90%, mentre la successiva ispezione con NBI delle aree che con AFI apparivano sospette ridusse il tasso di falsi-positivi dall'81% al 26% (*Figure 20 e 21*). Questo studio randomizzato su 130 pazienti, inoltre, mise a confronto l'accuratezza diagnostica della sorveglianza tramite biopsie mirate con AFI abbinate a biopsie random con quella della sorveglianza aderente al protocollo standard con solo biopsie random. Gli autori suggerirono che l'approccio guidato con AFI aumentava le diagnosi di neoplasia, tuttavia conclusero che a causa di una minore specificità, la sola AFI non era indicata a rimpiazzare il protocollo standard di biopsie random.^[5]

Più recentemente, uno studio randomizzato multicentrico del 2009 confrontò la tecnica ETMI con l'endoscopia standard in 87 pazienti con neoplasia precoce poco visibile. In questo studio, l'AFI non migliorò in generale la rilevazione di neoplasia precoce, ma fece aumentare significativamente l'individuazione mirata delle precoci lesioni neoplastiche rispetto all'endoscopia standard. La NBI, tuttavia, ridusse solo marginalmente il tasso di falsi positivi, dal 70% al 48%, e, fatto più importante, ridefinì 11 lesioni contenenti displasia di alto grado o carcinoma come non sospette.

In conclusione, dunque, l'AFI può risultare adatta come complemento dell'endoscopia ad alta risoluzione per rilevare la maggior parte delle lesioni più importanti nell'esofago di Barrett, rilevazione che risulta di massima importanza in pazienti sotto sorveglianza diagnostica dettagliata durante trattamenti endoscopici della neoplasia precoce. Tuttavia, per un utilizzo affidabile di questa tecnica, è necessaria un'ulteriore indagine con NBI, al fine di aumentarne la specificità.

Uno studio randomizzato su larga scala è tutt'ora in corso, indagando sull'utilità della tecnica ETMI in centri non universitari e in pazienti con neoplasia di basso grado già diagnosticata.^[8]

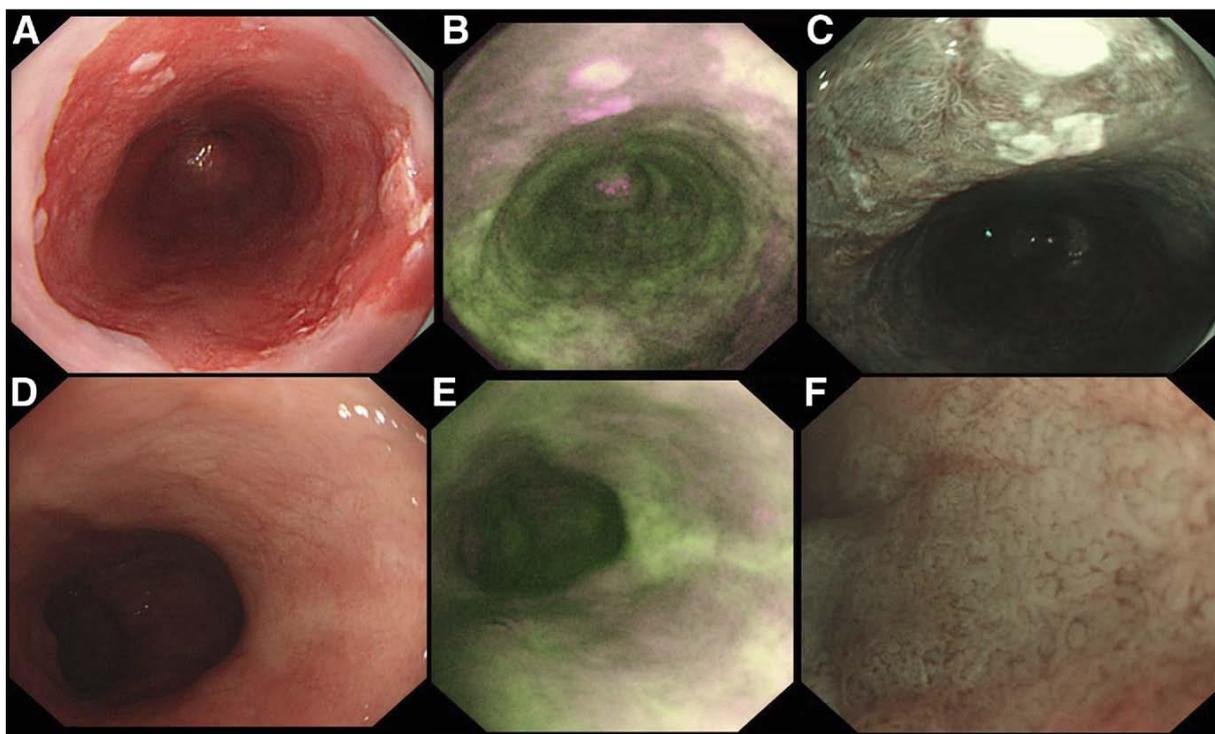


Figura 20: (A-C) Una lesione contenente displasia di alto grado/carcinoma a ore 11.00. (A) È visibile una lesione più prominente a ore 5.00. Entrambe queste lesioni furono rilevate con endoscopia ad alta risoluzione e AFI. La corrispondente immagine ottenuta con NBI mostrò pattern mucosi e vascolari irregolari, sospetti quindi di displasia. (D,E) Due lesioni contenenti displasia di alto grado/carcinoma a ore 2.00 e 5.00. Queste lesioni non furono identificate con endoscopia ad alta risoluzione, ma solo con AFI (E). (F) La corrispondente immagine ottenuta con NBI mostrò pattern mucosi e vascolari irregolari e vasi sanguigni anormali, sospetti quindi di displasia. In questo studio, tutte le aree considerate sospette con AFI e che mostravano pattern irregolari con NBI contenevano displasia di alto grado. ^[21]

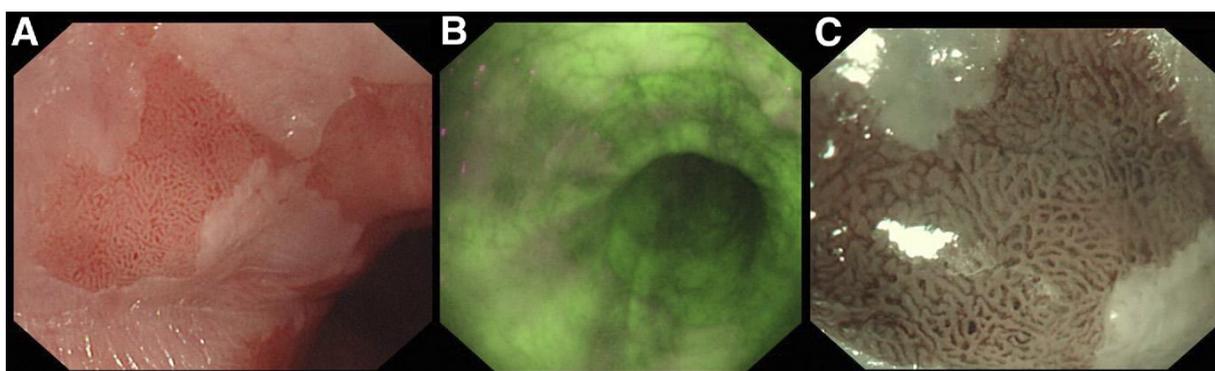


Figura 21: Le immagini A e B dell'esofago di Barrett mostrano una lesione identificata con AFI e rivelatasi un falso-positivo. L'ispezione dettagliata con NBI (C) mostrò pattern mucosi e vascolari regolari e quindi non sospetti di displasia. L'esame istologico rivelò infatti epitelio non displastico. ^[21]

3.4 ENDOMICROSCOPIA CONFOCALE LASER (CLE)

I recenti sviluppi nei metodi di immagini endoscopici del tratto gastrointestinale includono anche quelle tecniche che potrebbero permettere la visualizzazione in tempo reale di immagini microscopiche (fino a pochi micron) in-vivo della mucosa gastrointestinale, fornendo risultati molto simili a quelli ottenuti con le convenzionali tecniche istopatologiche. L'**endomicroscopia confocale laser (CLE)** è una di queste tecniche. Essa deriva dalla tecnica della microscopia confocale a scansione laser, nella quale l'illuminazione laser focale è combinata con la rilevazione della radiazione fluorescente riflessa attraverso una minuscola apertura, con i sistemi di illuminazione e di rilevazione "confocali", ossia nello stesso piano focale. Il tessuto può essere scansionato a varie profondità, permettendo in tal modo una visione delle varie sezioni trasversali. L'immagine (dinamica) di una certa regione analizzata può essere prontamente ricostruita e visualizzata in un monitor con un ritardo trascurabile. La praticabilità di una valutazione istologica eseguita in-vivo dell'esofago di Barrett, ottenuta integrando un sistema microscopico confocale in un convenzionale endoscopio, è stata dimostrata. Il principio di base della CLE consiste nella stimolazione delle cellule mucose con una luce di eccitazione laser di colore blu (488 nm), dopo l'applicazione topica o la somministrazione intravenosa di agenti di contrasto fluorescenti (come l'acriflavina o la fluoresceina) che vengono a contatto con il tessuto interessato. La radiazione riflessa viene catturata e trasmessa attraverso un piccolo forellino, in modo da eliminare la luce di eccitazione primaria; successivamente, viene trasferita per mezzo di diverse fibre ottiche ad un'unità di scansione laser che genera immagini istologiche in bianco e nero delle sezioni trasversali della mucosa.

L'endomicroscopia consente la visualizzazione di dettagli microscopici come pozzi gastrici, cripte coloniche, capillari e singole cellule epiteliali e del sangue. Queste immagini microscopiche sono ottenute "di faccia", sezionando dalla superficie della mucosa verso l'interno, in contrasto con il sezionamento istopatologico standard, nel quale le sezioni sono perpendicolari alla superficie mucosa (*Figura 22*).

Sono stati sviluppati due sistemi basati su questa tecnologia: l'endoscopio confocale (**eCLE: endoscope-based CLE**), l'EC3870CILK (Pentax, Tokio, Giappone), e l'endomicroscopia confocale a sonda (**pCLE: probe-based CLE**), il sistema Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Parigi, Francia). Il primo (*Figura 23*) incorpora il sistema CLE in un sistema endoscopico dedicato, il secondo (*Figura 24*) è basato su una minuscola sonda laser. Entrambi i sistemi endomicroscopici eCLE e pCLE permettono la visualizzazione dei microscopici pattern cellulari e vascolari, con un potere magnificante superiore a 1000x, ma esistono diverse differenze tra i due sistemi (*Tabella 5*).

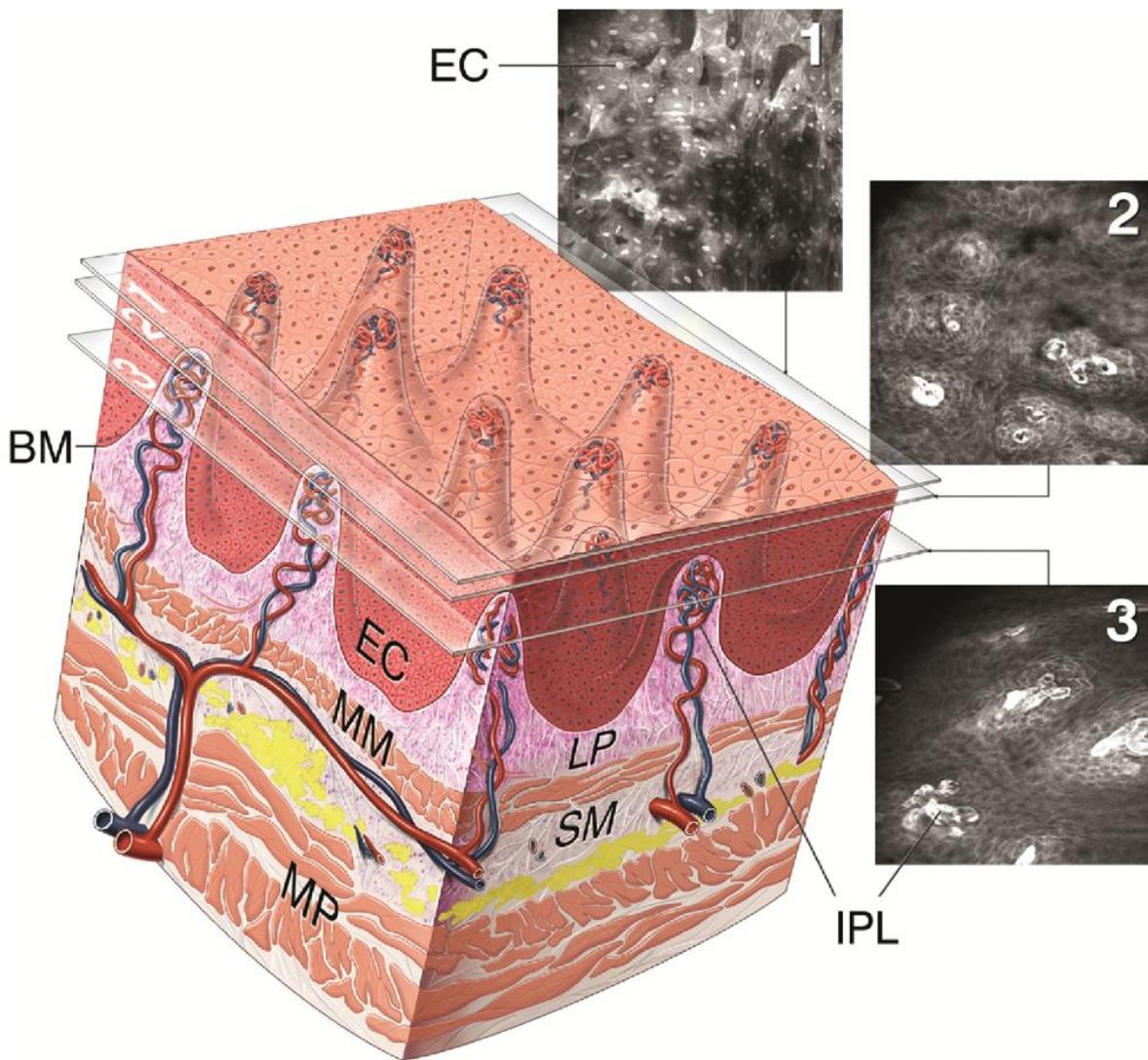


Figura 22: immagini endomicroscopiche di un normale esofago. La sezione 1 mostra cellule epiteliali della superficie mucosa colorate con acriflavina, la quale evidenzia i nuclei. Le sezioni 2 e 3 sono due sezioni più in profondità dell'epitelio e mostrano anelli capillari intrapapillari, visibili con il contrasto ottenuto tramite fluoresceina intravenosa. Sono anche visibili gli spazi intracellulari. Tutte le immagini sono acquisite "di faccia" o parallelamente alla superficie mucosa. Abbreviazioni: EC, cellula epiteliale; IPL, anello capillare intrapapillare; BM, membrana basale; MM, muscularis mucosa; LP, lamina propria; SM, sottomucosa; MP, muscularis propria. ^[23]

	Confocal endoscope (eCLE)	Confocal probe (pCLE)		
		Gastro/Coloflex	Gastro/Coloflex UHD	Cholangioflex
Company	Pentax	Mauna Kea		
Endoscopes/Probes	Upper endoscope colonoscope			
Depth of imaging (μm)	0-250	70-130	55-65	40-70
Field of view (μm)	475×475	600	240	320
Lateral resolution (μm)	0.7	3.5	1	3.5
Axial resolution (μm)	7	15	5	
Diameter (mm)	12.8 (Scope diameter)	2.7	2.5	1
Imaging rate (images/second)	0.8 (1024×1024 pixels) or 1.6 (1024×512 pixels)	12	12	12

Tabella 5: Comparazione delle caratteristiche dei due sistemi eCLE e pCLE.

Prima di ogni utilizzo di ciascuna delle due tecniche, è eseguito un attento esame endoscopico con luce bianca. L'attuale sistema eCLE permette l'utilizzo in contemporanea di un endoscopio standard, mentre il sistema pCLE può essere usato contemporaneamente con endoscopi standard o anche ad alta risoluzione. Con la eCLE, le immagini endoscopiche vengono catturate in maniera tradizionale con il software Pentax, mentre le immagini endomicroscopiche vengono catturate separatamente sul computer dell'endomicroscopio. Con la pCLE, invece, le mini-sonde sono abbastanza piccole da permettere il loro passaggio attraverso il canale accessorio presente in ogni endoscopio standard (almeno 2.8 mm) e sono connesse ad un "box" contenente una sorgente di luce laser e un software per gestire le immagini e i filmati.

Con la eCLE, le immagini possono essere ottenute dalla superficie mucosa fino ad una profondità di 250 μm , attraverso incrementi di 7 μm , mentre con la pCLE la profondità delle immagini dalla superficie può variare dai 55 μm ai 65 μm utilizzando una sonda UHD Gastroflex/Colorflex, e dai 70 μm ai 130 μm per una sonda Gastroflex/Colorflex. La risoluzione delle immagini risulta maggiore nella tecnica eCLE, con una risoluzione laterale di 0.7 μm rispetto ai 1-3.5 μm nella pCLE, ma il video frame rate ottenibile con pCLE risulta significativamente maggiore rispetto a quello ottenibile con eCLE (12 immagini al secondo contro 0.8-1.6 immagini al secondo). Grazie a questo maggiore tasso di acquisizione delle immagini, il sistema pCLE è anche in grado di "cucire" assieme le immagini dinamiche provenienti dai videoclip, creando una sorta di "video mosaico" statico e permettendo la visualizzazione di larghe porzioni della mucosa, senza alcuna diminuzione della risoluzione. Entrambi i sistemi eCLE e pCLE richiedono l'applicazione di fluoresceina intravenosa o agenti di contrasto topici, come l'acriflavina o il violetto cresile, per visualizzare i dettagli architetturali cellulari e vascolari. ^[23]

La CLE fu utilizzata per la prima volta nel 2003, quando un volontario sano fu esaminato con un prototipo di CLE a sonda. Tuttavia, in questo primo studio non si fece uso di alcun metodo di fluorescenza, pertanto le immagini ottenute non risultarono soddisfacenti.

I primi studi riguardanti la CLE con metodi di fluorescenza, invece, riportarono un'accuratezza molto alta (85%-94%) per l'identificazione della displasia nell'esofago di Barrett.

Il primo studio sull'utilizzo della eCLE nell'esofago di Barrett, eseguito da Kiesslich et al nel 2006 su 63 pazienti, descrisse le caratteristiche endomicroscopiche dell'epitelio gastrico, dell'epitelio di Barrett e dell'epitelio neoplastico (displasia di alto grado o cancro). Queste caratteristiche furono associate alla relativa istopatologia. I pattern cellulari e vascolari osservati sulla superficie e in profondità furono distinti tra normali e anormali, e fu stilata una prima classificazione, la cosiddetta Mainz Confocal Barrett's Classification (*Tabella 6*).

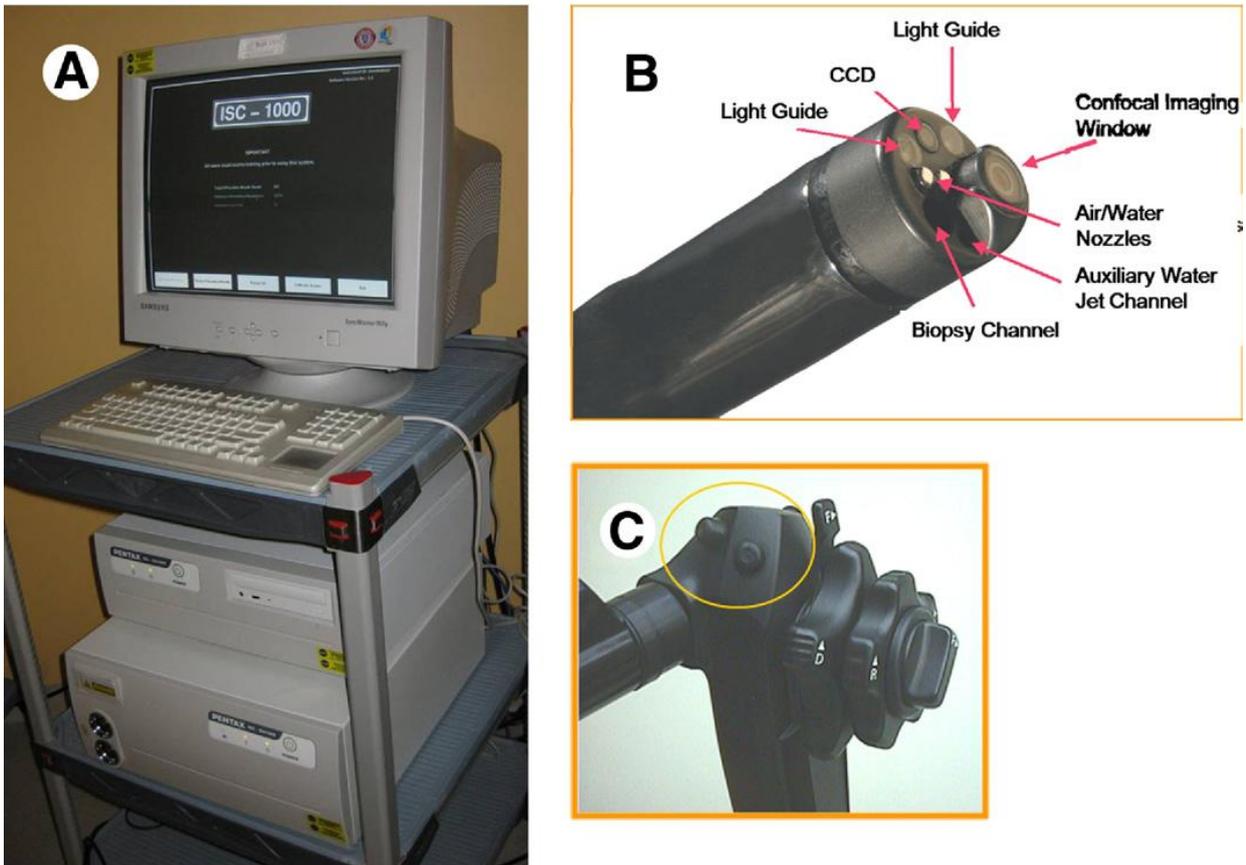


Figura 23: (A) Processore e monitor del sistema eCLE. (B) Punta dell'endoscopio confocale. La finestra di acquisizione microscopica sporge leggermente dall'estremità dell'endoscopio. Accanto, è localizzato il canale biptico. (C) Comandi dell'endoscopio eCLE. Sono presenti 2 pulsanti per il controllo della profondità di immagine. [23]

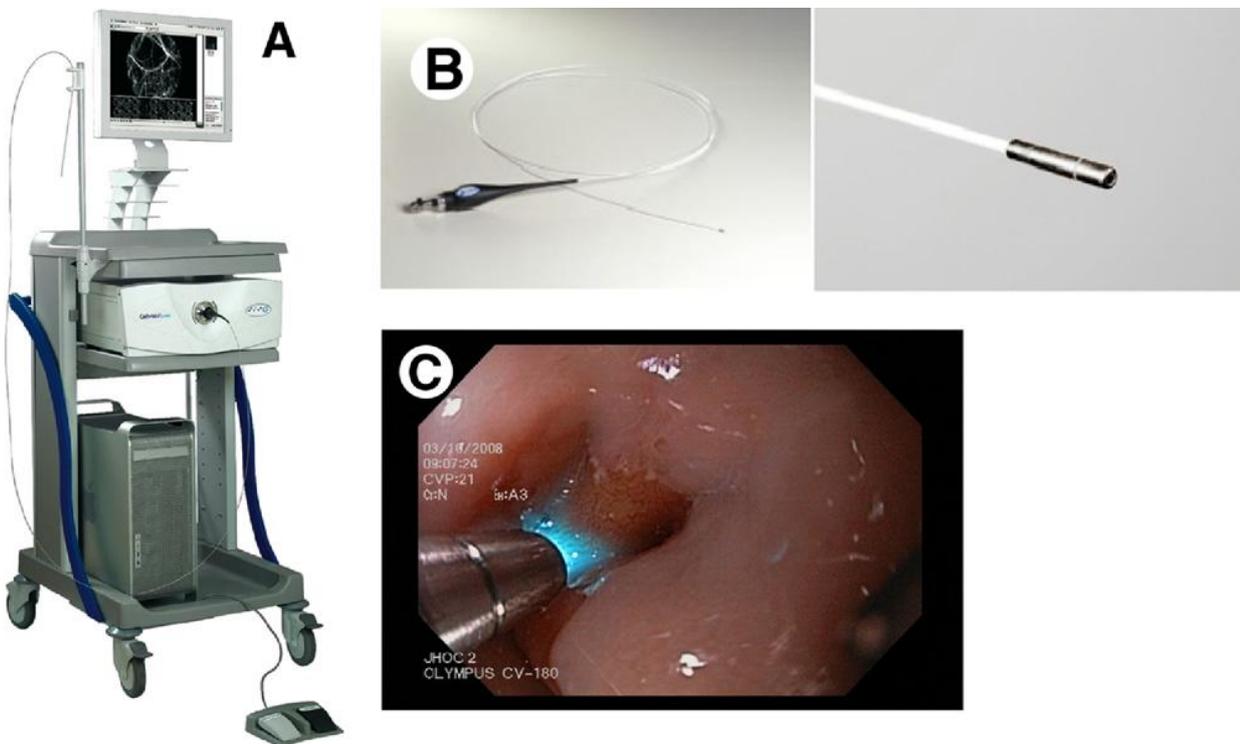


Figura 24: (A) Processore e monitor del sistema pCLE. (B) La sonda pCLE Cellvizio è flessibile e può passare attraverso il canale biptico di un qualsiasi endoscopio. (C) Vista endoscopica della sonda pCLE a contatto con la mucosa a livello della giunzione gastrointestinale. [23]

Nello studio di Kiesslich et al, la sindrome di Barrett e la neoplasia associata poterono essere previste con una sensibilità del 98.1% e del 92.9% e con una specificità del 94.1% e del 98.4%, rispettivamente (accuratezza: 96.8% e 97.4%). L'indice kappa medio per la concordanza interosservatore risultò alto (0.843), come pure risultò alto quello per la concordanza intraosservatore (0.892).

Pohl et al (2008) condussero uno studio prospettico bi-centrico e bi-fase utilizzando la tecnica della pCLE durante l'endoscopia ad alta risoluzione. Le due fasi erano così descritte: fase I, stabilire un criterio per la rilevazione della neoplasia, e fase II, testare questo criterio su 296 siti biotipici in 38 pazienti con esofago di Barrett. Il criterio scelto, divise le caratteristiche endomicroscopiche della mucosa in 5 classi:

- rivestimento epiteliale irregolare;
- spessore variabile del rivestimento epiteliale;
- fusione di ghiandole;
- presenza di aree scure (minore assorbimento di fluoresceina);
- pattern vascolare irregolare.

L'endomicroscopia con minisonda mostrò un alto valore predittivo negativo (VPN) per la diagnosi di neoplasia endoscopicamente invisibile nell'esofago di Barrett. In un'analisi per-biopsia, la sensibilità e la specificità per due investigatori indipendenti risultarono del 75.0% e dell'88.8%, e del 75.0% e del 91.0%, rispettivamente, tradotte al meglio in un valore predittivo positivo (VPP) del 44.4% e in un VPN del 98.8%. Anche la concordanza interosservatore risultò buona ($k=0.6$).^[5]

Wallace et al (2009) valutarono l'accuratezza e la concordanza interosservatore tra 9 endoscopisti internazionali utilizzando la tecnica della pCLE in pazienti con sindrome di Barrett e associata neoplasia. Furono visualizzati tramite pCLE 40 siti negli esofagi di Barrett e furono ottenute le corrispondenti biopsie in tre diversi centri tra gli Stati Uniti e l'Europa. Le sequenze video ottenute con la pCLE furono divise casualmente in un "teaching set" e in un "validation set", ciascuno formato da 20 video. Ogni esaminatore, durante la visualizzazione del "teaching set", fu equipaggiato con le corrispondenti diagnosi istopatologiche relative a ciascun sito. I 20 video del "validation set" furono poi valutati istologicamente alla cieca (senza conoscere già la diagnosi istologica). L'accuratezza complessiva della pCLE per la diagnosi di displasia di alto grado risultò del 90.5%, con una sensibilità dell'88% e una specificità del 94%. Tra i 9 endoscopisti, considerando solamente i 3 con maggiore esperienza, l'accuratezza ottenuta fu del 97%, la sensibilità del 94% e la specificità del 100%. Inoltre, la concordanza interosservatore tra i 9 esperti risultò molto buona (0.72, 95%).

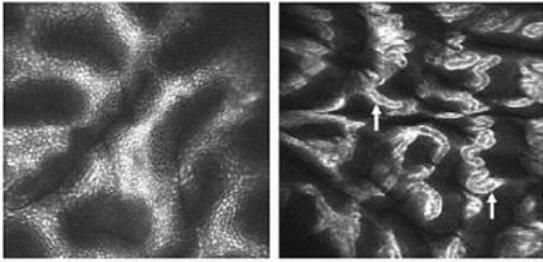
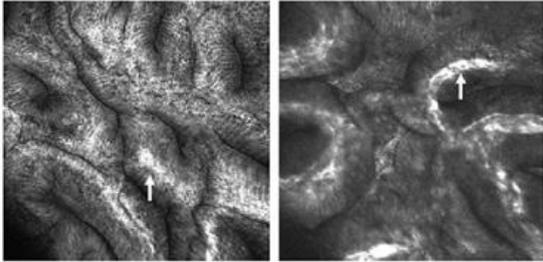
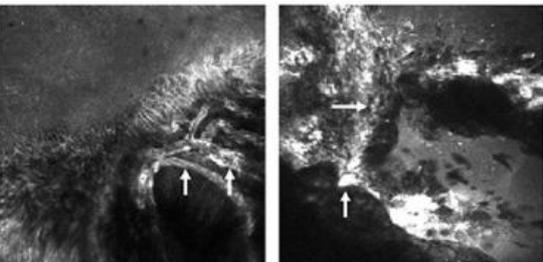
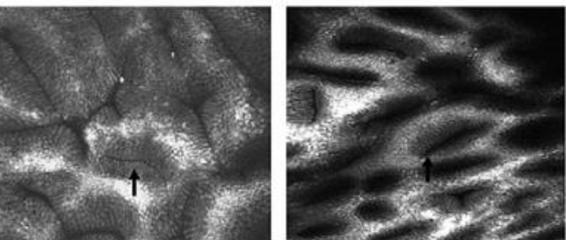
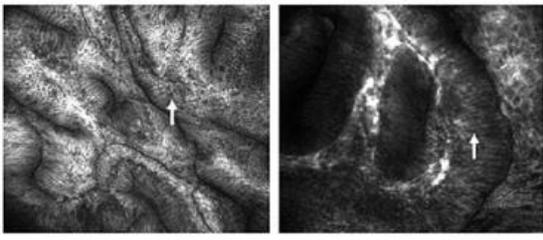
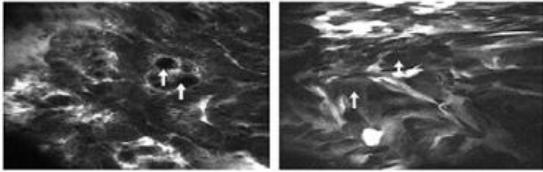
Confocal diagnosis	Vessel architecture	Image Examples Upper and deeper parts of the mucosal layer
Gastric type epithelium	Capillaries of regular shape only visible in deeper parts of the mucosal layer.	
Barrett's epithelium	Subepithelial capillaries of regular shape beneath columnar lined epithelium visible in upper and deeper parts of the mucosal layer	
Neoplasia	Irregular capillaries visible in upper and deeper parts of the mucosal layer. Leakage of vessels leads to a heterogeneous and brighter signal intensity within the lamina propria.	
Cell architecture		Image examples
Gastric type epithelium	Regular columnar lined epithelium with round glandular openings and typical cobble stone appearance	
Barrett's epithelium	Columnar lined epithelium with in between dark mucin in goblet cells in upper parts of the mucosal layer. In deeper parts, villous like, dark shaped regular cylindrical Barrett's epithelial cells are present.	
Neoplasia	Black cells with irregular apical and distal borders and shapes with high dark contrast to surrounded tissue	

Tabella 6: Mainz Confocal Barrett's Classification (2006).

Dunbar et al progettaronò uno studio prospettico, randomizzato (2009) per valutare la differenza di rendimento diagnostico tra l'eCLE con biopsie mirate e l'endoscopia standard con biopsie random in aree dell'esofago di Barrett con neoplasia endoscopicamente inapparente. ^[23] Partecparono allo studio 39 pazienti affetti da sindrome di Barrett, 16 dei quali con sospetta displasia e 23 sotto sorveglianza dell'esofago. L'eCLE con biopsie mirate migliorò significativamente il rendimento diagnostico per la neoplasia (33.7%) rispetto all'endoscopia standard con biopsie random (17%). Inoltre l'endomicroscopia comportò una riduzione del numero di campioni biotici per paziente necessari (dai 23.8 di media per le biopsie random, ai 9.8) e permise ad alcuni pazienti senza neoplasia di non sottoporsi ad alcuna biopsia. Due terzi dei pazienti sotto sorveglianza dell'esofago non necessitarono di alcuna biopsia durante l'esame endomicroscopico. ^[5]

Un ulteriore studio recente di Wallace et al, ^[6] sottopose a pCLE 40 siti presenti nell'esofago di Barrett di 5 pazienti, ottenendo quindi 40 immagini endomicroscopiche dinamiche. In questo studio fu adottato il criterio di classificazione creato nel 2008 da Pohl et al, e fu diagnosticata neoplasia quando erano presenti almeno 2 di queste 5 caratteristiche (vedi sopra). Le immagini furono valutate da 11 endoscopisti. La sensibilità risultante per la diagnosi di neoplasia fu dell'88%, con una specificità del 96% e un'alta concordanza interosservatore ($k=0.72$). I soli endomicroscopisti con precedenti esperienze di utilizzo di questa tecnica, ottennero una sensibilità del 91%, una specificità del 100% e un indice kappa della concordanza interosservatore di 0.83 (*Figura 25*).

Le potenzialità di questa tecnica potrebbero permettere diagnosi istopatologiche in tempo reale ed eventualmente ridurre la necessità di prelevare campioni biotici dal paziente. Il più grande svantaggio dell'endomicroscopia confocale laser risiede nell'impossibilità di utilizzarla per una visione d'insieme dell'esofago, scansionando l'intero segmento di Barrett. Essa è un sistema microscopico capace di analizzare aree molto piccole, tipicamente con un diametro minore del millimetro, ed è pertanto dipendente da altre modalità di immagini, necessarie a determinare l'area di interesse. Inoltre, l'acquisizione delle immagini e la loro interpretazione potrebbero essere impegnative e richiedere particolari competenze. Per di più, sono necessari ulteriori studi per chiarirne l'utilità clinica, i costi e l'efficacia di un suo utilizzo come strumento decisionale durante l'endoscopia. ^[8]

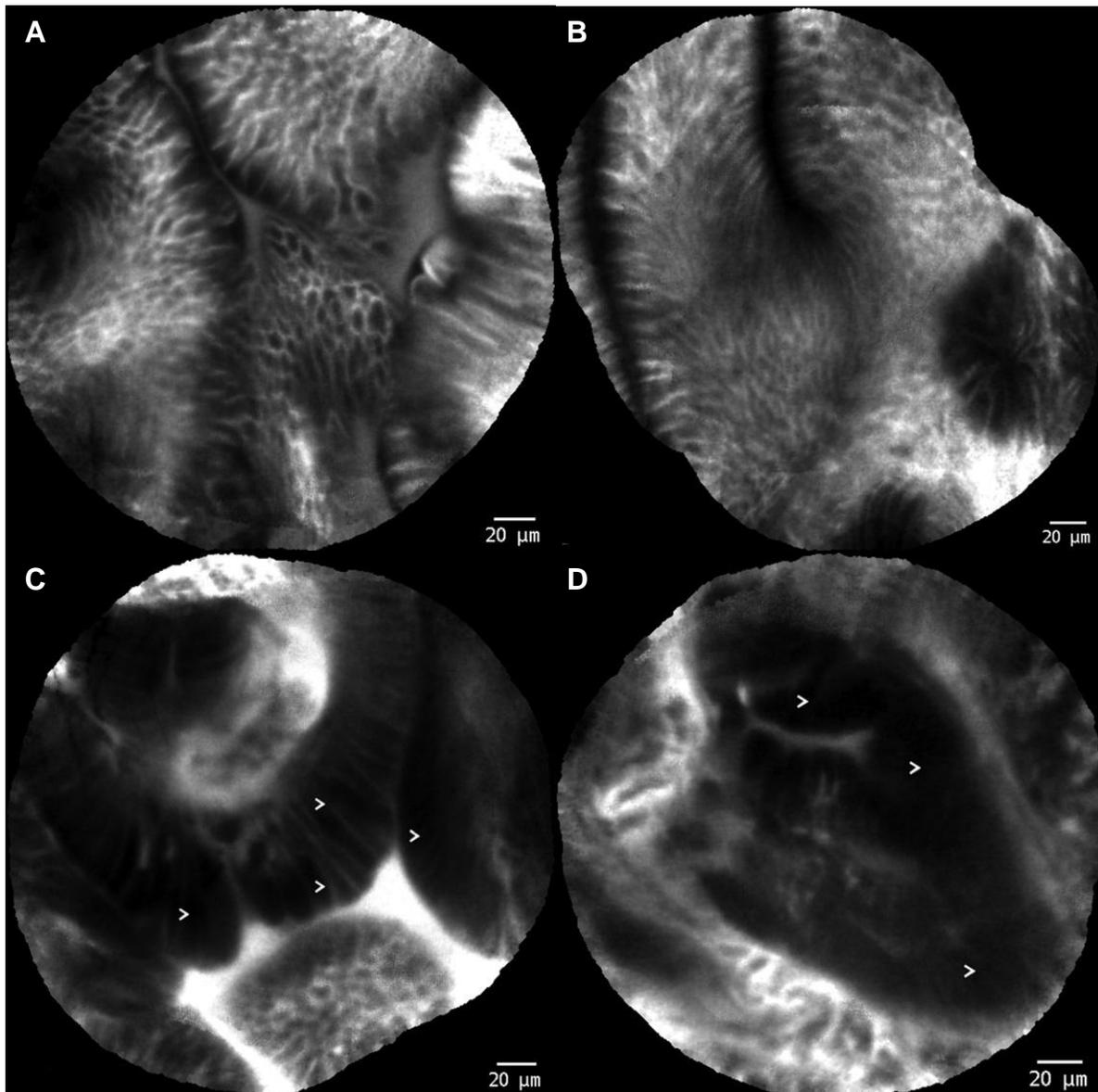


Figura 25: (A-B) Immagini ottenute tramite pCLE di due aree dell'esofago di Barrett senza neoplasia. (C-D) Immagini ottenute tramite pCLE di due aree dell'esofago di Barrett con displasia di alto grado. Le frecce (>) indicano le aree con epitelio scuro e di spessore irregolare, caratteristiche della displasia.^[6]

4. CONCLUSIONI

In questo lavoro, sono state analizzate le più importanti tecniche avanzate di immagini endoscopiche per la rilevazione di lesioni displastiche e neoplastiche nell'esofago di Barrett. L'obiettivo primario nell'utilizzo di queste tecniche è l'identificazione delle lesioni neoplastiche ad uno stadio precoce e quindi ancora curabile. L'innovazione più importante, a questo proposito, è rappresentata dal significativo aumento della risoluzione delle immagini, avvenuta attraverso lo sviluppo dell'endoscopia ad alta risoluzione. Ogni endoscopista dovrebbe essere ormai attrezzato con strumenti ad alta risoluzione. Questa tecnica, abbinata ad un'indagine approfondita dell'esofago e alla conoscenza delle caratteristiche morfologiche della neoplasia precoce da parte dell'endoscopista (le lesioni più sottili sono spesso visibili, ma non sempre riconosciute), rappresenta lo strumento di base per il raggiungimento di questo obiettivo. Le altre tecniche sono generalmente considerate ausiliarie all'endoscopia ad alta risoluzione con luce bianca. Per quanto riguarda l'identificazione del carcinoma esofageo, invece, la tecnica che generalmente meglio assolve a questo scopo è la NBI.

L'utilizzo delle varie tecniche ha due diversi sotto-scopi principali: (1) l'individuazione primaria delle lesioni e (2) l'ispezione mirata e dettagliata di queste lesioni dopo la loro individuazione primaria.

Per l'individuazione primaria di lesioni neoplastiche precoci nell'esofago di Barrett, è essenziale una cosiddetta tecnica "red-flag". Fino ad ora, nessun tipo di cromoendoscopia ha mantenuto la sua promessa di migliorare l'individuazione di neoplasia precoce, molto probabilmente a causa della forte dipendenza dall'operatore di queste tecniche. Una modalità di immagini che si sta rivelando molto promettente e che possiede tutte le caratteristiche di una tecnica "red-flag" è l'AFI. Tuttavia, l'effettivo valore diagnostico di questa tecnica dovrà essere confermato tramite ulteriori studi.

Dopo l'individuazione primaria delle lesioni sospette, è eseguita l'ispezione dettagliata di queste lesioni, al fine di migliorare l'accuratezza o prendere direttamente decisioni gestionali. A questo riguardo, la tecnica della CLE sembra promettere bene, ma la sua reale utilità clinica dovrà essere ulteriormente analizzata.

I futuri sistemi di immagini endoscopiche probabilmente integreranno in uno stesso sistema più modalità per l'individuazione primaria delle lesioni con altre per l'ispezione più dettagliata di queste lesioni.

RIFERIMENTI

1. Bellizzi A, Odze R. *Histopathology of Barrett's esophagus: A review for the practicing gastroenterologist*. 2010.
2. Seibel E, Carroll R, Dominitz J, et al. *Tethered Capsule Endoscopy, A Low-Cost and High-Performance Alternative Technology for the Screening of Esophageal Cancer and Barrett's Esophagus*. 2008.
3. Pech O, Gossner L, May A, Ell C. *Management of Barrett's oesophagus, dysplasia and early adenocarcinoma*. 2001.
4. Maru D. *Barrett's esophagus: diagnostic challenges and recent developments*. 2009.
5. Wolfsen H. *Advancements in endoscopic imaging for the detection of esophageal dysplasia and carcinoma*. 2010.
6. Wallace MB, Sharma P, Lightdale C, et al. *Preliminary accuracy and interobserver agreement for the detection of intraepithelial neoplasia in Barrett's esophagus with probe-based confocal laser endomicroscopy*. 2010.
7. Kara MA, Ennahachi M, Fockens P, et al. *Detection and classification of the mucosal and vascular patterns (mucosal morphology) in Barrett's esophagus by using narrow band imaging*. 2006.
8. Kara MA, Curvers W, Bergman J. *Advanced endoscopic imaging in Barrett's esophagus*. 2010.
9. Ngamruengphong S, Sharma VK, Das A. *Diagnostic yield of methylene blue chromoendoscopy for detecting specialized intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's esophagus: a meta-analysis*. 2009.
10. Curvers W, Baak L, Kiesslich R, et al. *Chromoendoscopy and Narrow-Band Imaging Compared With High-Resolution Magnification Endoscopy in Barrett's Esophagus*. 2008.
11. Guelrud M, Ehrlich EE. *Enhanced magnification endoscopy in the upper gastrointestinal tract*. 2004.
12. Tanaka K, Toyoda H, Kadowaki S, et al. *Surface pattern classification by enhanced-magnification endoscopy for identifying early gastric cancers*. 2008.
13. Sharma P, Weston AP, Sampliner RE. *Magnification chromoendoscopy for the detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's oesophagus*. 2003.
14. Sharma P, Marcon N, Wani S, et al. *Non-biopsy detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's esophagus: a prospective multicenter study*. 2006.
15. Curvers WL, Kiesslich R, Bergman J. *Novel imaging modalities in the detection of oesophageal neoplasia*. 2008.
16. Kara MA, Peters FP, Rosmolen WD, et al. *High-resolution endoscopy plus chromoendoscopy or narrow-band imaging in Barrett's esophagus: a prospective randomized crossover study*. 2005.
17. Gossner L, Pech O, May A, et al. *Comparison of methylene blue-directed biopsies and four-quadrant biopsies in the detection of high-grade intraepithelial neoplasia and early cancer in Barrett's oesophagus*. 2006.

18. Lim CH, Rotimi O, Dexter SP, Axon AT. *Randomized crossover study that used methylene blue or random 4-quadrant biopsy for the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus*. 2006.
19. Endo T, Awakawa T, Takahashi H, et al. *Classification of Barrett's epithelium by magnifying Endoscopy*. 2002.
20. Kara MA, Peters FP, Kate FJW, et al. *Endoscopic video autofluorescence imaging may improve the detection of early neoplasia in patients with Barrett's esophagus*. 2005.
21. Curvers WL, Herrero LA, Wallace MB, et al. *Endoscopic Tri-Modal Imaging Is More Effective Than Standard Endoscopy in Identifying Early-Stage Neoplasia in Barrett's Esophagus*. 2008.
22. Curvers WL, Singh M, Wallace MB, et al. *Identification of predictive factors for early neoplasia in Barrett's esophagus after autofluorescence imaging: a stepwise multicentre structured assessment*. 2009.
23. Dunbar KB, Canto MI. *Confocal endomicroscopy*. 2010.