

# L'uso della endomicroscopia confocale laser

■ L'endomicroscopia confocale laser è una tecnica endoscopica che permette di ottenere immagini microscopiche in-vivo ed in tempo reale dei vari distretti del tratto gastroenterico, consentendo la diagnosi di neoplasia con una buona accuratezza diagnostica. L'endomicroscopia permette anche l'acquisizione di informazioni funzionali non indagabili sul campione biottico (per es. la valutazione del flusso sanguigno). Inoltre la recente combinazione con sonde molecolari potrebbe consentire lo studio dei processi infiammatori e neoplastici, l'identificazione di aree patologiche e la valutazione della risposta a terapie mirate.

■ Confocal laser endomicroscopy is a recent technique which allows immediate microscopy during the ongoing endoscopy. With this technique, the diagnosis of neoplasia is possible with higher accuracy. Moreover, endomicroscopy offers the potential to image structure and function that cannot be seen in excised tissue (i.e. vascular flow). Furthermore, in vivo molecular imaging, combining endomicroscopy with targeted staining, gives hope for improved diagnosis and targeted therapies in gastrointestinal disorders.

■ **Parole chiave:** endomicroscopia confocale laser, immunoendoscopia, fluoresceina, cancro

■ **Key words:** *confocal laser endomicroscopy, immunoendoscopy, fluorescein, cancer*

Cristina Trovato  
Cristiano Crosta

Divisione di Endoscopia  
Istituto Europeo di Oncologia  
di Milano

## Introduzione

La possibilità di riconoscere, caratterizzare in-vivo e quindi rimuovere le lesioni precancerose o neoplastiche superficiali della mucosa rappresenta il Santo Graal dell'endoscopia. Il riconoscimento di una lesione altrimenti "invisibile", come ad esempio una lesione neoplastica superficiale non rilevata in esofago di Barrett, potrebbe determinare un trattamento endoscopico precoce. La capacità di caratterizzare in-vivo una lesione, per esempio un polipo del colon, potrebbe offrire all'endoscopista la possibilità di decidere quali lesioni richiedono la rimozione e quali possono essere reseccate senza una valutazione istologica tradizionale. A tal fine, nel corso degli anni, sono state sviluppate diverse tecnologie.

L'**Endomicroscopia Confocale Laser (CLE)** è una tecnica endoscopica che permette di ottenere delle immagini della mucosa con una magnificazione e risoluzione di circa 1000x, tale da consentire l'identificazione delle microstrutture cellulari e subcellulari delle aree esplorate, consentendo una diagnosi istologica in-vivo (*biopsie ottiche virtuali*) (1). La combinazione dello studio endoscopico con sonde molecolari (immunoendoscopia) apre nuove scenari e potrebbe condurre a una migliore identificazione delle aree patologiche e alla valutazione della risposta a terapie mirate (2).

**LE**  
Iniziative Formative  
> Tecniche endoscopiche

## Strumentazione endomicroscopica confocale laser e tecnica di acquisizione delle immagini

Fino alla primavera scorsa erano in commercio due tipi di strumentazione endomicroscopica confocale laser. Il primo, endoscopic-based confocal laser endomicroscopy (e-CLE), integra la microscopia confocale laser a uno strumento endoscopico (gastroscoPIO o colonoscopia) ad alta risoluzione (Pentax, Tokyo, Giappone), generando simultaneamente l'immagine confocale e videoendoscopica standard. Questo progetto recentemente è stato definitivamente chiuso dalla Pentax Giappone. Il secondo sistema, attualmente in commercio e in continuo sviluppo, è la **probe-based confocal laser endomicroscopy (p-CLE)**, costituito da una minisonda confocale laser che può essere inserita nel canale operativo di un qualunque endoscopio tradizionale (Cellvizio, Mauna Kea Technologies, Parigi, Francia).

La tecnica di acquisizione delle immagini endomicroscopiche (*biopsia ottica virtuale*) è simile per entrambi i sistemi. L'unità confocale è collegata a una sorgente laser monocromatica blu della lunghezza d'onda di 488-600 nm. La visualizzazione dell'architettura della mucosa avviene per piani paralleli alla sua superficie e non per piani ortogonali come nei preparati istologici convenzionali (3). Le immagini sono generate mediante l'uso di un agente di contrasto fluorescente. Durante l'acquisizione delle immagini endomicroscopiche il terminale dello strumento o della sonda confocale deve essere appoggiato delicatamente sulla mucosa da indagare e va mantenuto ben fermo per ridurre gli artefatti legati ai movimenti. Lo studio preliminare della mucosa con coloranti (cromoendoscopia) non determina alcuna interferenza con l'auto-fluorescenza del viscere. Il sistema e-CLE acquisisce e mostra sul monitor 0.8 o 1.6 immagini endomicroscopiche per secondo. L'area di mucosa esplorata è di 500 per 500  $\mu\text{m}$  con una risoluzione di 0.7  $\mu\text{m}$ . La scansione può essere spinta dalla superficie della mucosa sino a 250  $\mu\text{m}$  in profondità, con piani di scansione confocale dello spessore di 7  $\mu\text{m}$ .

Il sistema p-CLE consta di una sonda flessibile di piccolo calibro con un piano d'immagine fisso (variabile tra 55 e 130 micron in base al tipo di sonda) e una risoluzione laterale di circa 1  $\mu\text{m}$ . Il sistema p-CLE acquisisce 12 immagini/sec, generando un video della mucosa esplorata.

Entrambi i sistemi presentano vantaggi e limiti ma un confronto formale non è stato eseguito. Il sistema e-CLE ha una maggiore risoluzione, esplora un'area di mucosa più ampia e permette la scansione della mucosa dalla superficie su più piani. L'integrazione del

microscopio confocale al videoendoscopio limita le dimensioni del canale operativo (2.8 mm) e condiziona una maggiore lunghezza del terminale rigido dell'endoscopio (48 mm), rendendo lo strumento meno flessibile di uno standard. L'utilizzo del sistema p-CLE è più versatile, poiché può essere inserito nel canale accessorio di qualunque tipo di endoscopio, anche se questo preclude la possibilità di altre manovre endoscopiche in corso di endomicroscopia (limite risolvibile con endoscopio a doppio canale). Sono presenti sul mercato sonde di vario diametro e caratteristiche ottiche diverse in base al distretto da esaminare, in particolare anche per la valutazione dei dotti biliari e pancreatici. Le immagini ottenute sono però su un piano fisso e con una risoluzione inferiore rispetto a quelle generate dal sistema e-CLE. La durata delle sonde p-CLE è limitata (in genere di 20 procedure) e questo aumenta i costi di mantenimento del sistema.

## Mezzi di contrasto

Le immagini endomicroscopiche sono generate mediante l'uso di un agente di contrasto fluorescente, quelli più comunemente usati sono la fluoresceina sodica e l'acriflavina.

La fluoresceina sodica è il mezzo di contrasto più adoperato per il basso costo e l'assenza di potenzialità mutagenica. Dopo la somministrazione endovenosa di 5-10 ml di fluoresceina sodica al 10%, le cellule, il sistema vascolare e il tessuto connettivo possono essere ben differenziati. Per le sue proprietà farmacocinetiche, i nuclei cellulari non sono chiaramente visibili. La sostanza è generalmente ben tollerata (rare le reazioni allergiche, in genere lievi), è eliminata completamente per via renale e condiziona una colorazione giallastra della cute che permane per poche ore. Un recente studio multicentrico ne ha confermato la sicurezza. Si sono osservati solo eventi avversi lievi nell'1.4% di 2.272 esami endomicroscopici effettuati. I sintomi registrati sono: ipotensione transitoria (0.5%), nausea (0.4%), eritema nel sito d'iniezione (0.35%), rash (0.04%) e lieve dolore epigastrico (0.08%) (4).

L'acriflavina idrocloride in soluzione allo 0.2% può essere applicata per via topica per colorare il nucleo e il citoplasma cellulare. Questa sostanza è assorbita in pochi secondi e la sua azione è circoscritta agli strati superficiali della mucosa, circa 100  $\mu\text{m}$ . Il suo uso è da limitare per una possibile attività mutagenica. Fluoresceina e acriflavina possono essere utilizzate contemporaneamente.

Il cresil violetto (1-2.5%) può essere applicato per via topica, evidenzia bene il citoplasma, i nuclei appaiono neri per contrasto.

Recentemente, per il crescente interesse verso l'*imaging* molecolare, sono stati sviluppati nuovi agenti di contrasto biomarker specifici. In genere si tratta di peptidi a basso peso molecolare, con affinità variabile per specifiche strutture, coniugati con la fluoresceina (per es. anticorpi fluorescenti contro il recettore per il fattore di crescita epidermico - EGFR). Sono comunque necessari studi di farmacocinetica e sicurezza per definire le applicazioni cliniche di queste sonde molecolari nell'uomo.

## Biopsia ottica virtuale, pattern endomicroscopici e applicazioni cliniche

Le immagini endomicroscopiche consentono l'identificazione delle strutture cellulari e vascolari delle aree esplorate (*biopsie ottiche virtuali*). Studi clinici hanno definito *pattern* endomicroscopici di normalità, aspetto rigenerativo e neoplastico dei diversi distretti della mucosa gastrointestinale esplorabile. Il *pattern* di tipo neoplastico è, in genere, facilmente riconoscibile per la presenza di una vascolarizzazione tortuosa, irregolare, con spandimento di fluoresceina e di una componente cellulare disorganizzata, irregolare e scura (5).

Le principali indicazioni allo studio endomicroscopico sono tutte quelle condizioni in cui è possibile riconoscere un'alterazione della morfologia cellulare o vascolare degli strati superficiali della mucosa, in particolare le lesioni displastiche dei vari distretti dell'apparato gastroenterico, compreso il dotto biliare.

La metodica è stata valutata nell'ambito di diverse patologie gastrointestinali, dimostrando che l'endoscopia è capace di riconoscere le immagini microscopiche del tratto esplorato basandosi su semplici classificazioni (6). Tuttavia il reale vantaggio di ottenere una diagnosi microscopica in-vivo piuttosto che sul campione istologico ex-vivo non è stato ancora chiaramente definito. L'endomicroscopia permette l'esplorazione di una superficie più vasta rispetto all'esecuzione delle biopsie random standard con la possibilità di ottenere anche delle informazioni scarsamente riconoscibili sul campione biptico, come la valutazione della rete vascolare. Per la sua caratteristica di esame eseguito in-vivo, privo di artefatti da campionamento, fissazione, taglio o colorazione, offre una possibilità unica di osservare meccanismi cellulari in tempo reale e consente uno studio funzionale dei tessuti esplorati.

Recenti trial hanno confrontato l'uso dell'endomicroscopia nella sorveglianza delle lesioni precancerose ri-

spetto ai protocolli di biopsia random previsti dalle linee guida attuali. In questi studi l'ispezione endomicroscopica con multiple *biopsie ottiche virtuali* ha permesso di effettuare campioni istologici mirati in quei casi in cui l'indagine endoscopica eseguita con luce bianca è risultata inaffidabile nell'identificazione delle aree patologiche (7).

L'endomicroscopia potrebbe avere un importante ruolo guida per la resezione endoscopica, sia nella fase precedente ad essa, poiché le biopsie standard possono indurre fibrosi e interferire con la successiva resezione, sia dopo la resezione endoscopica per verificare i margini e guidare una eventuale ri-resezione.

Questa possibilità risulta vantaggiosa in presenza di alterazioni della mucosa diagnosticate in biopsie random ma difficilmente identificabili macroscopicamente (per esempio aree di neoplasia intraepiteliale in esofago di Barrett). In questa situazione, la diagnosi endomicroscopica può essere seguita da immediata resezione endoscopica nell'ambito della stessa sessione, senza l'intervallo di tempo necessario per ottenere i risultati istologici standard.

Poiché l'endomicroscopia è una tecnica che si affida alla fluorescenza, si presta a sfruttare anche i recenti progressi nel campo dell'*imaging* molecolare. Piccole molecole e nanoparticelle fluorescenti possono essere legate ad anticorpi monoclonali specifici o a peptidi che si legano a loro volta a specifici bersagli. Queste sonde molecolari, visibili alla luce laser, se utilizzate in corso di endomicroscopia, potrebbero consentire lo studio morfologico-funzionale del processo neoplastico e infiammatorio.

Recentemente sono stati confezionati alcuni bersagli molecolari specifici attualmente valutati in contesti sperimentali per il rilevamento delle lesioni neoplastiche (indicazione che comunque potrebbe non essere importante per una tecnica microscopica come l'endomicroscopia) e per l'esatta caratterizzazione in-vivo al fine di predire una eventuale risposta alla terapia molecolare mirata (in questo ambito l'endomicroscopia potrebbe avere un ruolo, in particolare nella valutazione della risposta a trattamenti oncologici mirati).

### Esofago

L'esame endomicroscopico dell'esofago mostra la presenza di cellule poligonali di uguale dimensione e anse capillari intrapapillari regolari dirette verso la superficie endoluminale. Nei pazienti con malattia da reflusso gastroesofageo si osservano un maggior spazio intercellulare e la presenza di capillari lievemente dilatati (5).

L'esofago di Barrett è una delle patologie più studiate con entrambi i sistemi endomicroscopici. All'endo-

microscopia l'esofago di Barrett è riconoscibile per la presenza di un pattern ghiandolare di tipo villiforme con occasionali goblet cell e un pattern vascolare con capillari a struttura regolare, visibili nelle scansioni superficiali subito al di sotto dell'epitelio. La neoplasia associata si distingue per la presenza di capillari irregolari con spandimento di fluoresceina e di ghiandole irregolari con componente cellulare scura (6) (figura 1).

La possibilità di riconoscere e di escludere con certezza la presenza di aree neoplastiche consentirebbe di ridurre la necessità di biopsie random e quindi di ridurre i costi della sorveglianza endoscopica.

Nel 2006, il primo studio effettuato con eCLE su 63 pazienti dimostrò una sensibilità del 98.1% e del 92.9% e una specificità del 94.1% e 98.4% per la diagnosi di esofago di Barrett e neoplasia associata (inter-observer agreement elevato, pari a 0.843). Uno studio successivo e indipendente ha dimostrato un incremento della resa diagnostica delle biopsie mirate con il sistema endomicroscopico e-CLE (dal 17.2% al 33.7%) e una riduzione del numero di biopsie necessarie per la diagnosi di neoplasia associata (7).

Da allora, diversi studi hanno valutato i due sistemi endomicroscopici con risultati promettenti (8-11). In uno studio multicentrico, condotto su 101 pazienti, si è osservato che l'utilizzo di pCLE in aggiunta allo studio con endoscopia ad alta definizione (HD-WLE) migliora significativamente la diagnosi di neoplasia; la sensibilità e specificità di HD-WLE riportata era del 34.2% e 92.7%, rispetto al 68.3% e 87.8% di pCLE e HD-WLE ( $p = 0.002$  e  $p < 0.001$ ) (8). Un studio successivo condotto in pazienti in sorveglianza per esofago di Barrett non displastico ha trovato che l'uso di pCLE in aggiunta a WLE ha migliorato la diagnosi di displasia (28%), rispetto all'utilizzo di WLE da sola (10%), ( $p = 0.04$ ) (9). La resa diagnostica per la diagnosi di neoplasia associata all'esofago di Barrett è incrementata di ben quattro

volte anche con il sistema eCLE in combinazione con WLE rispetto a WLE da sola (10).

L'uso del sistema CLE è stato studiato anche per la valutazione della metaplasia residua dopo trattamento ablativo dell'esofago di Barrett. In uno studio condotto su 119 pazienti però non si è osservata alcuna differenza nel numero di pazienti con "trattamento ottimale" nei due gruppi HD- WLE  $\pm$  CLE (11).

Al momento l'endomicroscopia confocale non può sostituire il campionamento biptico tradizionale per la diagnosi di esofago di Barrett e neoplasie associate. Sono necessari ancora dei miglioramenti della tecnologia e altri studi multicentrici prima di un'applicazione routinaria della metodica. Sono in fase di sviluppo peptidi e anticorpi specifici per il riconoscimento precoce e mirato delle aree neoplastiche.

## Stomaco

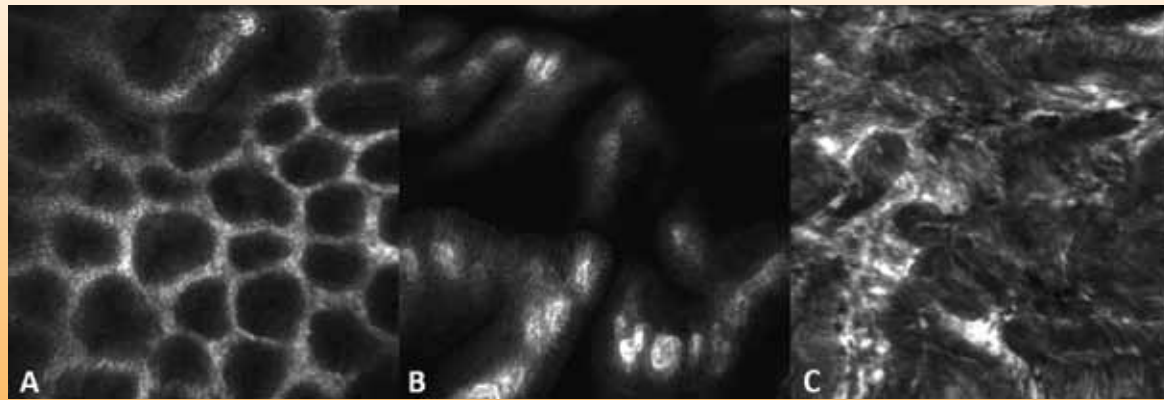
Diversi studi clinici basati sul confronto con l'esame istologico tradizionale hanno stabilito i criteri diagnostici confocali per la diagnosi di mucosa gastrica normale, di gastrite cronica con metaplasia intestinale e di neoplasia (12,13). In assenza di patologia, la somministrazione di fluoresceina permette di identificare nel corpo gastrico una rete di capillari sottoepiteliali a nido d'ape che circonda le foveole gastriche, mentre nell'antro assumono un aspetto a spirale. Le lesioni neoplastiche precoci ben differenziate appaiono in genere ipervascolarizzate, con vasi tortuosi e dilatati, di forma e dimensioni irregolari. Al contrario, il tumore indifferenziato appare ipovascolarizzato, i vasi presentano dei rami corti e privi di connessione (14) (figura 2).

In uno studio monocentrico condotto su 31 pazienti con 35 lesioni, l'accuratezza diagnostica dell'endomicroscopia è risultata significativamente superiore alla diagnosi istologica eseguita su biopsie standard (94% vs 86%), quando i risultati sono stati confrontati con

figura 1: Esofago - A) giunzione squamocolumnare, aspetto endomicroscopico normale  
B) metaplasia intestinale C) neoplasia



**figura 2: Stomaco - A) corpo: aspetto endomicroscopico normale B) antro: aspetto endomicroscopico normale C) antro: neoplasia indifferenziata**



l'esito istologico dell'intera lesione post-ESD (15). In un recente studio e-CLE ha riconosciuto la presenza di tumore residuo ai margini laterali in 5 di 24 pazienti trattati con ESD. Il ritrattamento immediato è stata eseguito sotto guida endomicroscopica, e l'accuratezza di CLE per prevedere la resezione incompleta è stata del 92% (16). Nella gastrite associata alla presenza di *Helicobacter pylori* CLE ha dimostrato la presenza di fuoriuscita di fluoresceina attraverso gli spazi intercellulari. Il trattamento eradicante riduceva la fuoriuscita di fluoresceina ripristinando una condizione normale. Al contrario, la fuoriuscita di mezzo di contrasto persisteva in presenza di alterazioni morfologiche, come la metaplasia intestinale, nonostante il successo della terapia eradicante. In questo contesto CLE ha evidenziato l'alterata funzione della barriera mucosa in-vivo, fattore che può contribuire in questi pazienti alla carcinogenesi (17). Recentemente sono stati sviluppati anticorpi fluorescenti contro il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR) che hanno permesso di studiare in-vivo il cancro gastrico e la possibile risposta a terapie mirate in modelli animali e ex-vivo su tessuti umani (18,19). Sono comunque necessari studi di farmacocinetica e sicurezza per definire le applicazioni cliniche di queste sonde molecolari nell'uomo.

### Piccolo intestino

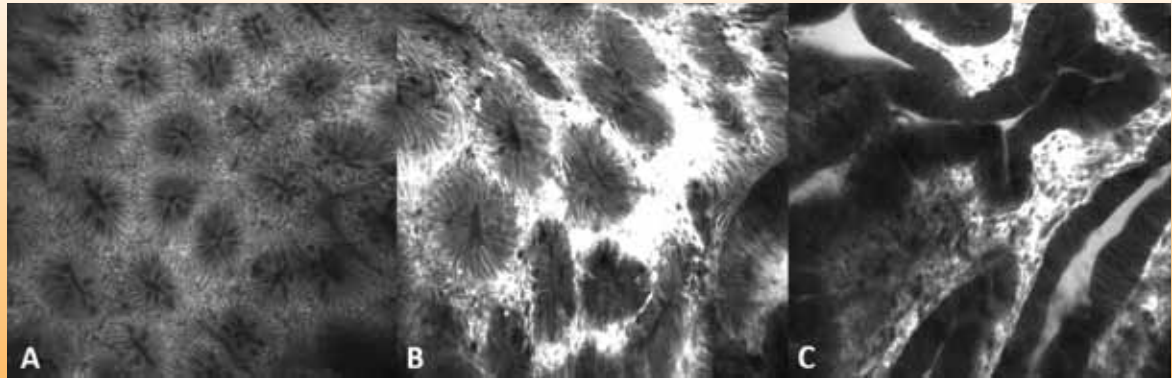
L'endomicroscopia consente la visualizzazione dei villi intestinali, il riconoscimento della presenza di atrofia e flogosi, pertanto può essere di ausilio nella diagnosi di celiachia e nel follow up dei pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale e PAF (Poliposi Adenomatosa Familiare). In questo particolare gruppo di pazienti, le immagini confocali ottenute hanno permesso di diagnosticare la presenza di alterazioni morfologiche della mucosa ileale dopo proctocolectomia con confezionamento di pouch ileale con una sensibilità e un'accura-

tezza del 94% quando confrontate con l'istologia (20). L'applicazione dell'endomicroscopia in modelli animali e in pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale potrebbe aiutarci nel riconoscimento dei meccanismi patogenetici. Si è ipotizzato che l'interazione dei batteri con il sistema immunitario e l'alterazione della permeabilità della barriera intestinale potrebbero rivestire un ruolo importante nella patogenesi delle malattie infiammatorie croniche intestinali. Alcuni studi condotti con i sistemi endomicroscopici hanno permesso il riconoscimento in-vivo di batteri, presenti in numero maggiore nei pazienti con IBD rispetto alla popolazione sana, e gap della barriera intestinale (21).

### Colon

Nel colon le principali indicazioni dell'endomicroscopia sono lo studio delle lesioni polipoidi e non polipoidi e la sorveglianza dei pazienti affetti da malattia infiammatoria cronica intestinale. All'esame endomicroscopico la mucosa colica normale presenta una rete di capillari in sede di lamina propria che circondano a nido d'ape le ghiandole circolari e regolari delle cripte. In presenza di neoplasia i vasi sono dilatati, distorti, con poco o nessun orientamento verso i tessuti adiacenti. L'aumentata permeabilità vascolare, che la caratterizza, è dimostrata dal passaggio di fluoresceina dal lume nell'interstizio che appare intensamente luminoso (5). L'endomicroscopia è di ausilio nella distinzione tra polipi iperplastici e adenomatosi. I polipi adenomatosi, infatti, possono essere diagnosticati con elevata accuratezza, sulla base dell'alterato pattern vascolare e della perdita di maturazione delle strutture epiteliali di superficie (22) (figura 3). Nei pazienti con rettocolite ulcerosa di lunga data la sorveglianza endoscopica con cromoendoscopia associata a endomicroscopia si è dimostrata più efficace dell'endoscopia standard nella diagnosi di lesioni neoplastiche, consentendo l'aumento del loro riconosci-

figura 3: Colon - A) normalità B) polipo iperplastico C) adenoma tubulare



mento di quasi 5 volte, riducendo il numero di biopsie eseguite (e quindi anche i costi), con una sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica superiore al 95%. (23). Nei pazienti affetti da malattia infiammatoria cronica intestinale l'endomicroscopia permette anche la valutazione delle alterazioni della mucosa legate all'infiammazione, il riconoscimento di batteri e di gap della mucosa (21,24). Questa tecnica potrebbe avere anche un ruolo nella valutazione dei pazienti che necessitano una modulazione del trattamento e nella valutazione della guarigione della mucosa.

### Dotti biliopancreatici

Nei pazienti con stenosi biliare indeterminata l'esame citologico e biptico tradizionale hanno un basso potere diagnostico per la diagnosi di neoplasia. La minisonda confocale, per le sue dimensioni, consente l'esplorazione dei dotti biliopancreatici e potrebbe avere un ruolo aggiuntivo alle attuali metodiche diagnostiche. In uno studio pilota su 14 pazienti con stenosi indeterminata la sonda p-CLE si è dimostrata più accurata dell'esame citologico e istologico (25). Più recentemente uno studio condotto su 102 pazienti con stenosi bilio-pancreatica indeterminata ha dimostrato una maggiore accuratezza diagnostica se ERCP associata a pCLE rispetto alla sola ERCP con campionamento citologico (90% vs 73%;  $p=0.001$ ) (26).

### Limiti della endomicroscopia confocale

Per acquisire dimestichezza nell'uso dell'endoscopio e della sonda confocale e per la corretta interpretazione delle immagini acquisite è necessario eseguire un discreto numero di esami endomicroscopici (*learning curve*). Per l'esofago di Barrett e le neoplasie associa-

te è stato dimostrato che la diagnosi adeguata con sistema e-CLE può essere ottenuta dopo aver eseguito training specifico e 100 esami endomicroscopici. La curva di apprendimento può essere facilitata dal lavoro a stretto contatto con un anatomopatologo (5). Movimenti viscerali peristaltici o trasmessi (respiro, battito cardiaco) e il notevole ingrandimento della visione possono generare artefatti. L'identificazione degli elementi strutturali è condizionata dalla necessità di usare un mezzo di contrasto. La fluoresceina non permette di visualizzare i nuclei cellulari, pertanto la diagnosi di neoplasia e di displasia si basa sull'osservazione della disorganizzazione dell'architettura del tessuto e della sua vascolarizzazione. Peraltro, il sistema di classificazione endomicroscopico applicato dovrà essere riproducibile. La profondità di esplorazione limitata al massimo ai 250 micron non consente di valutare l'infiltrazione neoplastica della sottomucosa. Vi sono ancora limiti tecnici legati al tipo di strumentazione confocale utilizzata (lunghezza del segmento rigido terminale e scarso diametro del canale operativo per e-CLE, minore risoluzione e campo di esplorazione per p-CLE). In particolare, lo studio endomicroscopico dello stomaco con sistema e-CLE talora può risultare difficoltoso per la maggiore rigidità della punta dello strumento, che può compromettere la valutazione del cardias e del fondo. In questi casi non è stato dimostrato che l'utilizzo di p-CLE sia più vantaggioso, l'utilizzo di un cap trasparente potrebbe stabilizzare la minisonda.

Inoltre, l'osservazione endomicroscopica è *time-consuming*. Il campionamento biptico dei tessuti deve essere eseguito al termine dell'esplorazione endomicroscopica, perché il sangue (che contiene il mezzo di contrasto) può offuscare la visione microscopica. Per una migliore identificazione le lesioni andrebbero marcate (per es. con APC).

## Conclusioni

L'endomicroscopia si è evoluta nel corso degli ultimi anni e si presume che potrà essere applicata nella pratica clinica routinaria. L'endomicroscopia confocale permette di esplorare una superficie mucosa più vasta rispetto alle biopsie random, con una potenzialità diagnostica molto più elevata, consentendo di ottimizzare e mirare il campionamento biotico, risparmiando tempo e numero di prelievi. Il riconoscimento in tempo reale delle caratteristiche neoplastiche di una lesione potrebbe determinare anche un miglioramento del percorso terapeutico, aiutando l'endoscopista nella scelta della necessità di rimozione e della tecnica da utilizzare per una resezione adeguata e completa, senza il rischio di fibrosi. Il recente utilizzo di sonde molecolari fluorescenti rende l'endomicroscopia ancora più affascinante, poiché permette di valutare i meccanismi fisiopatologici in-vivo. L'*immunoendomicroscopia* potrebbe in futuro consentire una migliore identificazione delle aree patologiche e la selezione dei pazienti che potrebbero beneficiare di terapie mirate, consentendo anche una valutazione dell'eventuale risposta al trattamento.

### Corrispondenza

Cristina Trovato  
 Divisione di Endoscopia  
 Istituto Europeo di Oncologia  
 Via Ripamonti, 435 - 20141 Milano  
 Tel. + 39 02 57489066  
 Fax + 39 02 94379220  
 e-mail: cristina.trovato@ieo.it

## Bibliografia

- Kiesslich R, Burg J, Vieth M et al. **Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo.** *Gastroenterology* 2004;127:706-13.
- Goetz M, Kiesslich R. Advances of endomicroscopy for gastrointestinal physiology and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010;298(6):G797-806.
- Hoffman A, Goetz M, Vieth M et al. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications. *Endoscopy* 2006;38:1275-283.
- Wallace MB, Meining A, Canto MI et al. The safety of intravenous fluorescein for confocal laser endomicroscopy in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:548-52.
- Kiesslich R, Galle PR, Neurath MF. Atlas of endomicroscopy. Springer Medizin Verlag Heidelberg 2008:55-77.
- Kiesslich R, Gossner L, Goetz M et al. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:979-87.
- Dunbar KB, Okolo P 3rd, Montgomery E et al. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial. *Gastrointest Endosc* 2009;70:645-54.
- Sharma P, Meining AR, Coron E et al. **Real-time increased detection of neoplastic tissue in Barrett's esophagus with probe-based confocal laser endomicroscopy: final results of an international multicenter, prospective, randomized, controlled trial.** *Gastrointest Endosc* 2011;74(3):465-72.
- Bertani H, Frazzoni M, Dabizzi E et al. Improved detection of incident dysplasia by probe-based confocal laser endomicroscopy in a Barrett's Esophagus surveillance program. *Dig Dis Sci* 2013 Jan;58(1):188-93.
- Canto MI, Anandasabapathy A, Brugge WR et al. In vivo endoscope-based confocal laser endomicroscopy (eCLE) improves detection of unlocalized Barrett's esophagus-related neoplasia over high resolution white light endoscopy: an international multicenter randomized controlled trial. *Gastrointest Endosc* 2012;75(4 Suppl):AB174.
- Wallace MB, Crook JE, Saunders M et al. Multicenter, randomized, controlled trial of confocal laser endomicroscopy assessment of residual metaplasia after mucosal ablation or resection of GI neoplasia in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2012;76(3):539-47.
- Zhang J, Li Y, Zhao Y et al. Classification of gastric pit patterns by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2008;67:843-53.
- Guo YT, Li YQ, Yu T et al. Diagnosis of gastric intestinal metaplasia with confocal laser endomicroscopy in vivo: a prospective study. *Endoscopy* 2008;40:547-53.
- Liu H, Li YQ, Yu T et al. Confocal endomicroscopy for in vivo detection of microvascular architecture in normal and malignant lesions of upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:56-61.
- Jeon SR, Cho WY, Jin SY et al. **Optical biopsies by confocal endomicroscopy prevent additive endoscopic biopsies before endoscopic submucosal dissection in gastric epithelial neoplasias: a prospective, comparative study.** *Gastrointest Endosc* 2011;74:772-80.
- Ji R, Zuo XL, Li CQ et al. Confocal endomicroscopy for in vivo prediction of completeness after endoscopic mucosal resection. *Surg Endosc* 2011;25(6):1933-38.
- Ji R, Zuo XL, Yu T et al. Mucosal barrier defects in gastric intestinal metaplasia: in vivo evaluation by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2012;75:980-87.
- Hoetker MS, Kiesslich R, Diken M et al. Molecular in vivo imaging of gastric cancer in a human-murine xenograft model: Targeting epidermal growth factor receptor (EGFR). *Gastrointest Endosc* 2012;76:612-20.
- Li Z, Zuo XL, Li CQ et al. In vivo molecular imaging of gastric cancer by targeting MG7 antigen with confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy* 2013;45:79-85.
- Trovato C, Sonzogni A, Fiori G et al. Confocal laser endomicroscopy for the detection of mucosal changes in ileal pouch after restorative proctocolectomy. *Dig Liver Dis* 2009;41(8):578-85.
- Moussata D, Goetz M, Gloeckner A et al. **Confocal laser endomicroscopy is a new imaging modality for recognition of intramucosal bacteria in inflammatory bowel disease in vivo.** *Gut* 2011 Jan;60(1):26-33.
- Sanduleanu S, Driessen A, Gomez-Garcia E et al. In vivo diagnosis and classification of colorectal neoplasia by chromoendoscopy-guided confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:371-78.
- Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K et al. Chromoscopy guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007;132:874-82.
- Li CQ, Xie XJ, Yu T et al. Classification of inflammation activity in ulcerative colitis by confocal laser endomicroscopy. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1391-396.
- Loeser CS, Robert ME, Mennone V et al. Confocal endomicroscopic examination of malignant biliary strictures and histological correlation with lymphatics. *J Clin Gastroenterol* 2011;45:246-52.
- Meining A, Chen YK, Pleskow D et al. Direct visualization of indeterminate pancreaticobiliary strictures with probe-based confocal laser endomicroscopy: a multicenter experience. *Gastrointest Endosc* 2011;74:961-8.