



Artículo de investigación

Sensibilidad y especificidad de la endomicroscopia confocal en el diagnóstico de cáncer de pulmón

Sensitivity and specificity of confocal endomicroscopy in the diagnosis of cancer of lungs

Liliana Laguna Sánchez,* Ana Bertha Salazar Soriano,† Gerardo Ezequiel Magdaleno Maldonado,§ Juan Carlos Chagoya Bello,|| Gildardo Agustín Garrido Sánchez,¶ Erika Sagrario Peña Mirabal**

* Jefe de Cuidados Respiratorios de Medicina Pulmonar del Hospital Central Militar.

† Colaboradora del Hospital Español.

§ Colaborador Jefe de Cardionemología del Hospital Central Militar.

|| Colaborador Hospital Corporativo Satélite.

¶ Colaborador Jefe de Patología del Hospital Central Militar.

** Colaborador Departamento de Patología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

RESUMEN

Introducción: La endomicroscopia confocal (EMCF) es una nueva modalidad endoscópica que permite obtener imágenes de muy alta resolución axial y lateral. Esta técnica constituye probablemente la mayor revolución en la endoscopia diagnóstica actual, ya que permite integrar la visión macroscópica y microscópica en tiempo real. Se obtiene mediante un corte óptico de muestra celular o de tejido grueso utilizando un rayo láser ultravioleta muy fino y paralelo que incide en un punto del tejido, provocando una fluorescencia que es captada por un filtro selectivo, de este modo, es posible obtener secciones de la mucosa hasta una profundidad de 250 mm con una resolución mayor que con el microscopio óptico. **Objetivos:** Evaluar la sensibilidad y la especificidad de la EMCF en el diagnóstico de cáncer de pulmón para la toma de biopsia pulmonar por broncoscopia. **Material y métodos:** Se utilizó un endomicroscopio confocal Cellvizio (Mauna Kea Technology, París, Francia) y minisondas confocales. Se realizó un estudio prospectivo, transversal, observacional y prueba diagnóstica en el Servicio de Medicina Respiratoria del Hospital Central Militar durante los meses de agosto de 2016 a agosto de 2017. La muestra se obtuvo a conveniencia de pacientes en abordaje de cáncer de pulmón, que de manera habitual fueron llevados a broncoscopia para toma de biopsia pulmonar y que previamente se les realizó EMCF para determinar el sitio de la misma. **Resultados:** De la muestra de 60 pacientes del estudio, 13 presentaron diagnóstico de cáncer de pulmón, y de ellos ocho con diagnóstico de adenocarcinoma, tres con carcinoma de células escamosas y dos con carcinoma de células grandes. La EMCF diagnosticó 11 de los 13 casos de cáncer de pulmón, solamente dos tuvieron que ser llevados a toma de biopsia pulmonar por toracoscopia quirúrgica; el

ABSTRACT

Introduction: Confocal endomicroscopy (CFEM) is a new endoscopic modality, which allows very high resolution axial and lateral images to be obtained. This technique is probably the biggest revolution in diagnostic endoscopy today, as it allows the integration of macroscopic and microscopic vision in real time. It is obtained by means of an optical cut of cellular sample or of thick tissue using a very fine and parallel ultraviolet laser beam that touches a point of the tissue, causing a fluorescence that is captured by a selective filter, in this way, it is possible to obtain sections of the mucosa up to a depth of 250 mm with a greater resolution than with the optical microscope. **Objectives:** To assess the sensitivity and specificity of CFEM in the diagnosis of lung cancer for the taking of lung biopsy by bronchoscopy. **Material and methods:** A Cellvizio confocal endomicroscope (Mauna Kea Technology, Paris, France) and confocal mini probes were used. A prospective, cross-sectional, observational and diagnostic study was performed at the Respiratory Medicine Service of the Hospital Central Militar from August 2016 to August 2017. The sample was obtained at the convenience of lung cancer patients who were regularly taken to bronchoscopy for lung biopsy and that prior to the same CFEM was performed to determine the site of the same. **Results:** From the 60 patient study sample, thirteen patients were diagnosed with lung cancer, including eight patients diagnosed with adenocarcinoma, three with squamous cell carcinoma, and two with large cell carcinoma. The CFEM diagnosed 11 of the 13 cases of lung cancer, only two had to be taken to lung biopsy by surgical thoracoscopy; the rest of the patients had various diagnoses by pathology including organized pneumonia, alveolar hemorrhage, inflammatory processes and anthracosis. For CFEM a

resto de los pacientes tuvieron diversos diagnósticos por patología, entre ellos neumonía organizada, hemorragia alveolar, procesos inflamatorios y antracosis. Para la EMCF se obtuvo una sensibilidad de 0.76, especificidad de uno y un índice de kappa de Cohen de 1. **Conclusiones:** Para la EMCF como prueba diagnóstica de cáncer de pulmón puede concluirse que la sensibilidad del 76% indica que ésta tiene una probabilidad del 76% de diagnosticar el cáncer de pulmón y al ser la especificidad del 100% es posible inferir que ésta tiene una probabilidad del 100% de diagnosticar pacientes que no tienen cáncer de pulmón. Se requieren estudios clínicos más amplios para validar esta técnica en el diagnóstico de cáncer de pulmón.

Palabras clave: Endomicroscopia confocal, evaluación de la sensibilidad y la especificidad, cáncer de pulmón.

sensitivity of 0.76, specificity of 1 and a Cohen kappa index of 1 were obtained. **Conclusions:** For the CFEM as a diagnostic test of lung cancer we can conclude that the sensitivity of 76% indicates it has a 76% probability of diagnosing lung cancer and being the specificity of 100% we can infer that this has a 100% probability of diagnosing patients who do not have lung cancer. More clinical studies are needed to validate this technique in the diagnosis of lung cancer.

Keywords: Confocal endomicroscopy, sensitivity and specificity evaluation, lung cancer.

Introducción

La microscopia también ha tenido grandes avances, uno de éstos es la microscopia confocal, que permite observaciones a una resolución mayor, emplea un sistema láser que aplica el haz de luz en forma de barrido en una pequeña parte del espécimen, excita las moléculas y provoca una emisión de fluorescencia a una longitud de onda mayor que la aplicada.¹ La fluorescencia en una muestra puede deberse a moléculas que se encuentran de forma natural (autofluorescencia como en el caso de la clorofila), o puede ser producida por moléculas aplicadas artificialmente a las muestras llamadas fluorocromos. Debido a que el láser penetra fácilmente la muestra, el microscopio confocal logra imágenes en diferentes planos focales que, ligados a un programa de cómputo, puede reproducir una imagen tridimensional del material observado.² Las siguientes características han hecho de la microscopia confocal una de las herramientas de trabajo predilectas por científicos de las ciencias biológicas médicas y de materiales de todo el mundo: alta sensibilidad en la observación, especificidad en la emisión de la fluorescencia, mayor resolución, tridimensionalidad de las imágenes, detección de autofluorescencia.³

El estudio habitual de las enfermedades del parénquima pulmonar y la vía aérea requieren un abordaje multidisciplinario, el diagnóstico se establece a partir de los datos obtenidos del cuadro clínico, imágenes como la tomografía torácica, estudio microscópico, citológico e histopatológico del tejido pulmonar, en muchas ocasiones, obtenido a través de la broncoscopia.⁴⁻⁷

La biopsia transbronquial tiene un rendimiento diagnóstico del 63% si se realiza a ciegas, con

técnicas como el ultrasonido endobronquial y la navegación electromagnética lo mejora hasta en un 88%, esto muy probablemente está relacionado con el hecho de que la toma de la muestra se basa en las características macroscópicas del tejido.⁷ En ocasiones, al no establecer el diagnóstico, se tiene que recurrir a técnicas más invasivas y, por tanto, con mayores efectos adversos como la toracoscopia o toracotomía. En este contexto, el desarrollo de las técnicas de imagen de microscopia pulmonar *in vivo* parece ser necesaria.⁸ La EMCF detecta la autofluorescencia generada principalmente por la elastina, las fibras elásticas confieren al tejido extensibilidad y resistencia y representan arriba del 50% del tejido conectivo del pulmón, a nivel del acino se distribuye en los ductos alveolares y en la entrada del alveolo en los vasos que rodean la pared alveolar y entre los septos interlobulares, lo que genera un patrón característico en la endomicroscopia confocal.^{8,9}

Material y métodos

Materiales. Endomicroscopio confocal Cellvizio (Mau-na Kea Technology, París, Francia).

Minisondas confocales.

Método. Pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión: que ingresen a broncoscopia por sospecha de cáncer de pulmón y que requieran el procedimiento por su mismo abordaje diagnóstico dentro de su proceso de atención médica; pacientes que por imágenes de tomografía de tórax ameriten la obtención de muestras de tejido por broncoscopia y que aceptaron participar en el proyecto de investigación firmando el consentimiento válidamente informado para la realización de la EMCF. Se les tomó biopsias

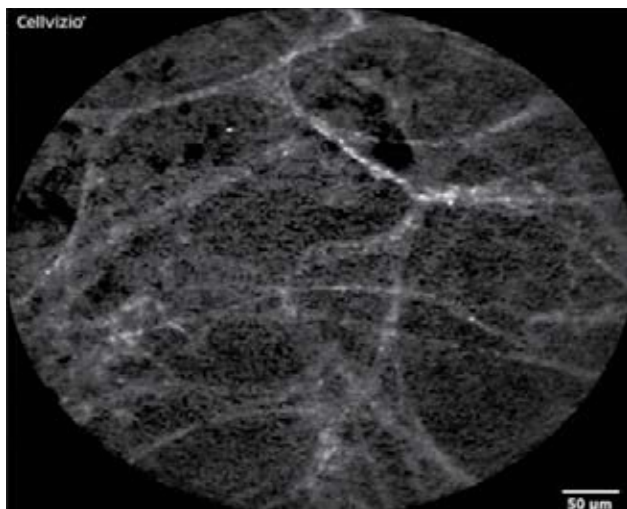


Figura 1: Fotografía de patrón alveolar normal: alveolos con arquitectura normal obtenida por EMCF.

de la lesión pulmonar de la siguiente forma: en el área de quirófano, bajo apoyo anestésico habitual, se llevó a cabo revisión por broncoscopia de todo el árbol bronquial EMCF de las áreas o segmentos previamente seleccionados por tomografía y se tomaron cinco imágenes de las mismas.

Se realizó biopsia pulmonar del sitio seleccionado por tomografía guiado por las imágenes obtenidas en la EMCF mediante broncoscopia.

Se enviaron las muestras (biopsias de pulmón) en formol al patólogo.

Correlación entre las micrografías del pulmón enfermo y el resultado de la biopsia tomada del mismo sitio donde el pulmón está enfermo. Incluye correlación entre observadores.

Se realizó la evaluación de las micrografías por dos médicos observadores (patólogos de pulmón), los cuales recibieron por igual capacitación e información en microscopia confocal.

Se presentaron todas las micrografías confocales de pulmón enfermo al observador 1 y cada uno llevó un registro de lo observado en cada caso (cuadro de operacionalización de variables).

Resultados

En el Servicio de Neumología del Hospital Central Militar se reclutaron 60 pacientes con sospecha de cáncer de pulmón, 28 pacientes mujeres y 32 pacientes hombres, los cuales aceptaron participar en el proyecto de investigación firmando el consentimiento

válidamente informado y que de forma habitual fueron llevados a broncoscopia diagnóstica por tener lesiones pulmonares accesibles por medio de la misma.

La media de edad de los pacientes fue de 63 años y aquéllos con antecedente de tabaquismo moderado a intenso en total fueron 35 de los 60 pacientes del estudio.

De esos 60 pacientes, 13 presentaron diagnóstico de cáncer de pulmón, y de ellos ocho con diagnóstico de adenocarcinoma, tres con carcinoma de células escamosas y dos con carcinoma de células grandes. De los 13 pacientes, de 11 se obtuvo el diagnóstico por medio de la EMCF y broncoscopia, solamente dos tuvieron que ser llevados a toma de biopsia pulmonar por toracoscopia quirúrgica; el resto de los pacientes tuvieron diversos diagnósticos por patología, entre ellos neumonía organizada, hemorragia alveolar, procesos inflamatorios y antracosis.

Ambos observadores realizaron por separado un análisis de las imágenes obtenidas por EMCF de los 60 pacientes que participaron en el presente estudio. El primer observador determinó siete casos de cáncer de pulmón por EMCF y el segundo 10 casos. El primer observador determinó siete casos con patrón alveolar de adenocarcinoma y tres con patrón alveolar de carcinoma de células escamosas. El segundo observador determinó cuatro casos con patrón alveolar de adenocarcinoma y tres con patrón alveolar de carcinoma de células escamosas.

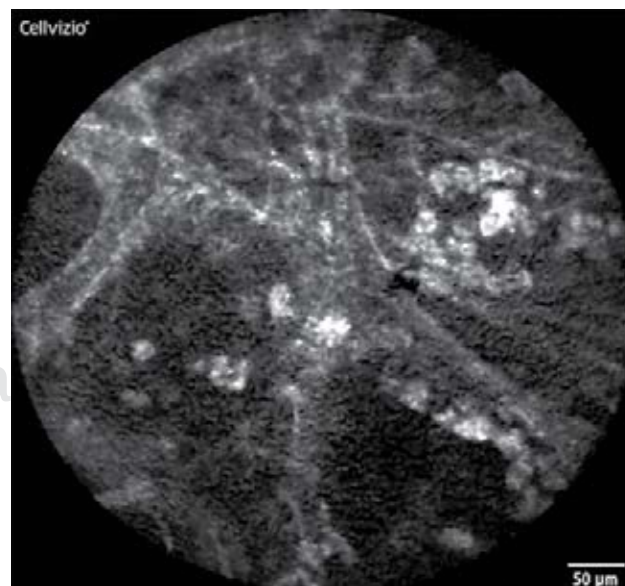


Figura 2: Patrón alveolar inflamatorio característico de neumonía. Se observan paredes alveolares engrosadas con presencia de macrófagos alveolares.



Figura 3: Patrón alveolar neoplásico de adenocarcinoma: alveolos distorsionados o destruidos, compactados con presencia de lesiones nodulares.

Por medio de la EMCF se logró identificar cuatro patrones alveolares de pulmón sano, los cuales se describen a continuación:

1. **Patrón alveolar normal:** se caracteriza por alveolos de forma poliédrica, regulares, de paredes delgadas, sin infiltrados alveolares (*Figura 1*).
2. **Patrón alveolar inflamatorio:** se caracteriza por alveolos normales o irregulares con infiltrados alveolares (macrófagos alveolares); las paredes de los alveolos se encuentran delgadas o engrosadas, este patrón puede corresponder a enfermedades infecciosas como neumonía (*Figura 2*).
3. **Patrón alveolar neoplásico de adenocarcinoma:** alveolos distorsionados o destruidos, compactados con presencia de lesiones nodulares (*Figura 3*).
4. **Patrón alveolar de carcinoma de células escamosas:** alveolos destruidos, deshilachados y con forma de serpiente (*Figura 4*).

Análisis estadístico. Con objeto de ajustar el efecto del azar entre los dos observadores, se calculó la proporción de concordancia entre ellos, mediante el índice de kappa de Cohen (κ) se obtuvo una $k = 1$, interpretándose que los dos observadores estuvieron totalmente de acuerdo.

Por otra parte, a efecto de calcular la sensibilidad y especificidad de los patrones alveolares obtenidos por

cada observador por medio de la EMCF, se compararon con el diagnóstico histopatológico (Dx-htp), considerándose este último como referencia o estándar de oro y con dichos resultados se elaboró una tabla de contingencia de 2×2 (*Cuadro 1*).

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{a + c} = \frac{10}{10 + 3} = 0.76$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{b + d} = \frac{47}{0 + 47} = 1$$

Discusión

La EMCF es una técnica endoscópica novedosa en enfermedades pulmonares, por medio del análisis de los cambios observados en las estructuras alveolares se determinaron patrones alveolares de pulmón sano, padecimientos inflamatorios, neoplásicos (adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas). Siendo una técnica con una sensibilidad baja, pero con una especificidad muy alta, por lo que es posible determinar a los pacientes que realmente tienen la enfermedad.

Por otro lado, cuando un paciente sea diagnosticado con cáncer de pulmón a través de la endomicroscopia confocal tendrá una probabilidad del 24% de padecer realmente cáncer de pulmón (VPP). Además, si es diagnosticado sin cáncer de pulmón tendrá una

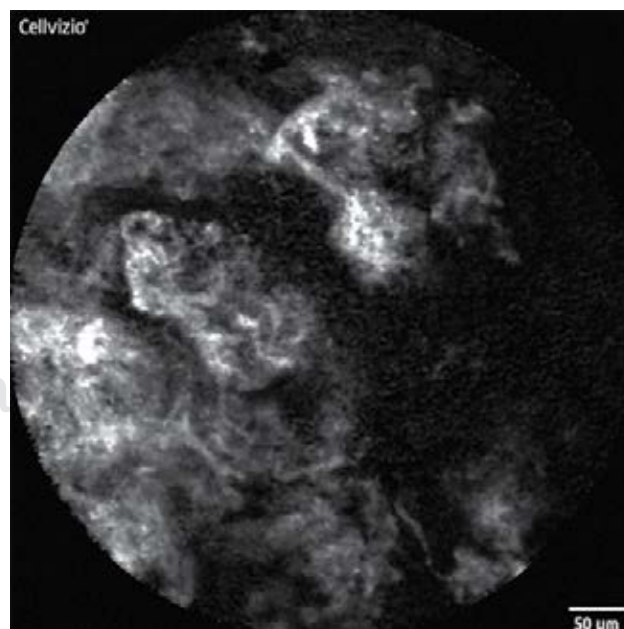


Figura 4: Patrón alveolar neoplásico de carcinoma de células escamosas.

Cuadro 1: Tabla de contingencia para diagnóstico de cáncer por EMCF y resultado histopatológico.

		(Dx. <i>htp</i>)		
Total de casos n = 60		Positivo a cáncer	Negativo a cáncer	Total
Resultado de la EMCF	Positivo a cáncer	10 (a)	0 (b)	10
	Negativo a cáncer	3 (c)	47 (d)	50
	Total	13	47	60

EMCF: Endomicroscopia confocal.

probabilidad del 100% de no tener la enfermedad (VPN). Finalmente, la proporción de falsos positivos fue del 20.8%, esto se puede interpretar que 20 de cada 100 pacientes que no tienen cáncer de pulmón serán diagnosticados como positivos y la proporción de falsos negativos del 41.7% indica que de cada 100 pacientes con cáncer de pulmón 41 de ellos serán diagnosticados como negativos.

Conclusiones

La concordancia de los observadores fue del 100%, lo que significa que ambos observadores estuvieron totalmente de acuerdo.

Para la EMCF como prueba diagnóstica de cáncer de pulmón podemos concluir que la sensibilidad del 76% indica que ésta tiene una probabilidad del 76% para diagnosticar el cáncer de pulmón y al ser la especificidad del 100%, podemos inferir que tiene una probabilidad del 100% de diagnosticar pacientes que no tienen cáncer de pulmón.

La exactitud de los diagnósticos fue del 65%, la *odds ratio* fue de 3.4% con un límite inferior cercano a cero, lo cual podría indicar poca probabilidad para distinguir entre sanos y enfermos.

Por medio de la caracterización de las fibras de elastina con EMCF fue posible obtener cuatro patrones alveolares, uno de pulmón sano, uno de proceso inflamatorio y dos de cáncer de pulmón: adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas. Gracias a ello, puede identificarse el sitio más preciso de la toma de la biopsia pulmonar por broncoscopia, realizando previamente EMCF, con lo que aumenta la sensibilidad de la prueba, ya que por sí sola tiene una sensibilidad del 60% y, sin lugar a duda, con el uso de la EMCF se incrementa hasta 76%, y podrían realizarse diagnósticos de cáncer de pulmón de forma oportuna y ofrecer al paciente tratamientos tempranos, mejorando con ello su pronóstico y calidad de vida.

REFERENCIAS

- Pellise M, Llach J, Bordas JM. Técnicas endoscópicas emergentes: la llegada de la histología virtual. *Gastroenterol Hepatol.* 2005; 28: 641-648.
- Kiesslich R, Goetz M, Neurath MF. Confocal laser endomicroscopy for gastrointestinal diseases. *Gastrointest Endoscopy Clin N Am.* 2008; 18: 451-466.
- Dunbar K, Canto M. Confocal endomicroscopy. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008; 24: 631-637.
- Danilevkaya O et al. The case of diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis by *in vivo* probe based confocal laser endomicroscopy of central and distal airways. *Medical Micrology Case Report.* 2014; 5: 35-39.
- Nwaneshiudu A et al. Introduction to confocal microscopy. *Journal of Investigative Dermatology.* 2012; 132: e3. doi: 10.1038/jid.2012.429.
- Ferrer-Roca O. Endomicroscopia en anatomía patológica. *Biopsia óptica. Rev Esp Patol.* 2009; 42 (3): 167-181.
- Jabbour JM et al. Confocal endomicroscopy: instrumentation and medical applications. *And Biomed Eng.* 2012; 40 (2): 378-397.
- Newton RC et al. Imaging parenchymal lung diseases with confocal endomicroscopy. *Respiratory Medicine.* 2012; 106: 127-137.
- Thiberville L et al. Human *in vivo* fluorescence microimaging of the alveolar ducts and sacs during bronchoscopy. *Eur Respiratory Journal.* 2009; 33: 974-985.

Dirección para correspondencia:
Liliana Laguna Sánchez
E-mail: lili_lasa@hotmail.com