

FÖRFINAD ENDOSKOPISK SLEMHINNEDIAGNOSTIK

Erwin Tóth (S), Trine Stigaard-Larsen (DK), Edgar Jaramillo (S), februari 2014.

Bakgrund

Den rutinendoskopiska undersökningen ger enbart information om slemhinnans grossmorfologi och många slemhinneförändringar förblir dolda för endoskopistens öga. Den främsta orsaken till denna begränsning är att vid rutinendoskopi belyses slemhinnan med vanligt ljus och bilden är ett resultat av ljusets reflektion från slemhinnans yta.

En förfinad slemhinnebild vid rutinendoskopi kan erhållas på olika sätt. Den ena förbättringsmöjligheten är att man kompletterar endoskopin med tillförsel av olika färgämne, förbättrar bildupplösningen eller kombinerar dessa. Den andra inriktningen är att man förbättrar endoskopets egenskaper eller ändrar/utnyttjar ljusets olika fysiska egenskaper.

Kromoendoskopi

Definition och terminologi

Endoskopisk slemhinnefärgning eller kromoendoskopi är en teknik där färgämne appliceras lokalt på slemhinnan vid endoskopi, för att bättre karakterisera, avgränsa eller markera specifika förändringar eller med funktion för att förbättra noggrannheten av endoskopisk undersökning.

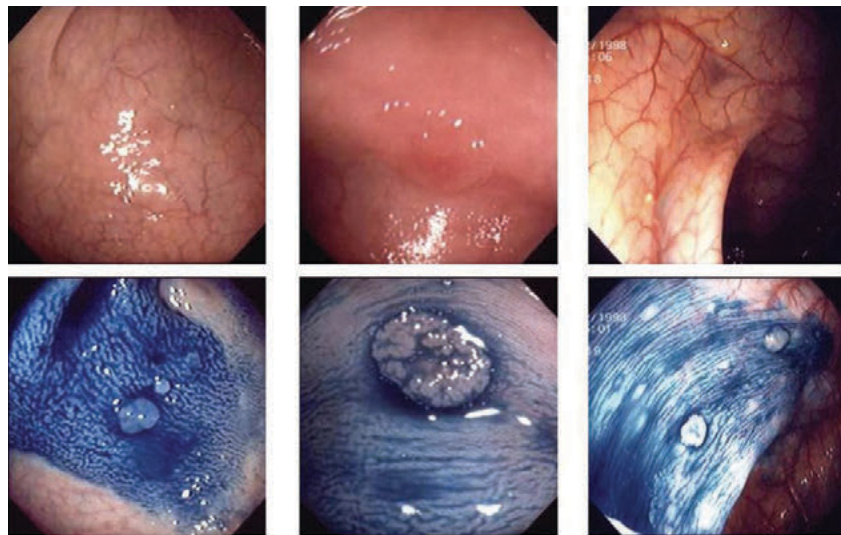
Ordet "kromoendoskopi" myntades från tre grekiska ord, "khroma" (färg), "endo" (insidan), "skopein" (att undersöka).

I litteraturen har olika synonymer som vitalfärgning, kromoskopi, kontrast endoskopi, endoskopisk färgning använts för kromoendoskopi. Vissa författare har reserverat begreppet vitalfärgning för absorberande färgning, medan andra även räknar hit reaktiva färgmetoder. Termen kromoskopi används ofta, dock inte uteslutande för kontrastmetoden.

Metod

Tekniken innebär att rutinendoskopi kompletteras med slemhinnefärgning med ett ändamålsenligt valt färgämne. Metoden kan användas med eller utan förstoringsoptik.

Kromoendoskopi är relativt billig och enkel teknik som behöver minimal utrustning och de flesta av reagensen är allmänt tillgängliga. Färgämnen kan vanligtvis appliceras på slemhinnan direkt via en spraykateter eller via en spruta genom endoskopets biopsikanal (Figur 1). För färgning av större ytor kan en spolpump med fördel användas. Vid vissa speciella färgningar kan det finnas behov av att slemhinneytan behandlas med slemlösande, t.ex. acetylcystein lösning.



Figur 1

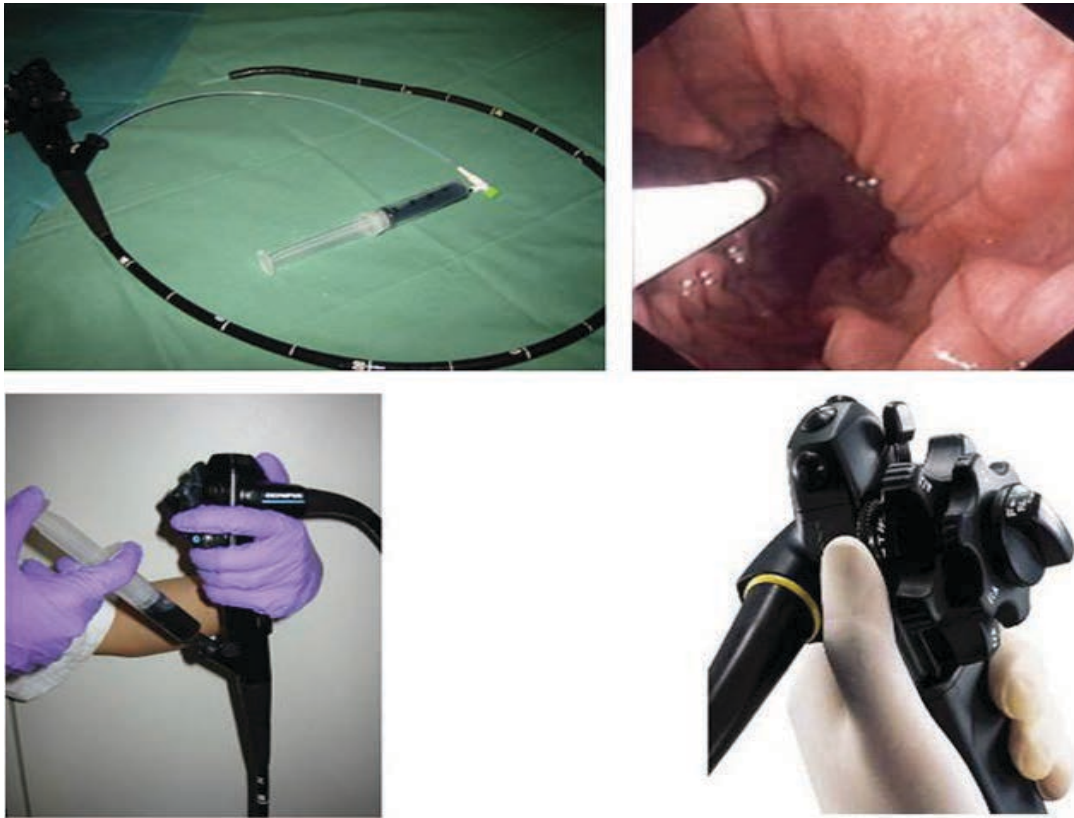
En förutsättning för att utöva en förfinad endoskopisk diagnostik är att eftersträva en ren gastrointestinalkanal. Tidiga neoplastiska förändringar kan vara subtila och lätta att förbise under orena förhållanden. All vätska och innehåll bör spolras och sugas bort. Att skölja med vatten innehållande dimetikondroppar, som förs in med hjälp av en vattenpump via waterjet- eller arbetskanalen, är nödvändigt för att bli av med slem, skum och bubblor. Allt gallfärgat slem som fastnar på slemhinnan bör sköljas och sugas bort. Högupplösande endoskopi är värdelös under orena förhållanden!

Arbetsförhållandet bör vara optimalt, i en avslappnad miljö med en lugn patient som kan ligga stilla och medverka. Man bör ägna tid för att undersöka magtarmslemhinnan i lugn och ro.

I vanliga fall förlängs undersökningstiden endast med några minuter.

Inlärningsperioden av olika färgmetoder är kort och utbildningen av blivande endoskopister bör innehålla träning för kunskap om indikationer, teknik och interpretation av både normala och patologiska fynd.

De flesta färgämnen har använts under lång tid både inom industrin och sjukvården. *Kontrastfärgämnen* som indigokarmin färgar inte slemhinnan, utan samlas i slemhinnans små oregelbundheter och förstärker kontrasten av osynliga eller svår-detekterbara slemhinneförändringar (Figur 2).



Figur 2

Absorberande färgämnen som metylenblått och Lugols lösning färgar slemhinnan genom absorption av vävnaden och visar skillnaden mellan normal och patologisk slemhinna.

Reaktiva färgämnen som kongorött och fenolrött reagerar cellernas produkt och därmed visar slemhinnans morfologiska och funktionella status.

Tabell 1. sammanfattar vanliga färgämnen och deras effekt samt användningsområde.

Färgämne	Mekanism	Färg	Vad färgas?
Absorberande färg	Absorption av specifika celler		
Lugols lösning	Bindning jod av glykogen	Brun/gön	Normalt skivepitel
Metylenblått	Aktivt upptag av intestinala celler	Blå	Tunntarm och kolonslemhinna, intestinal metaplasi
Toluidine blått	Diffusion i specifika celler	Blå	Cellkärnor av kolumnär slemhinna
Kristalviolett	Diffusion i slemhinnegropar	Lila	Kolon- och esofagusslemhinna
Kontrastfärg	Kontrastförstärkning		
Indigokarmin	Fyllning av slemhinnans oregelbundheter	Blå	Ingen färgning Tydliggör slemhinnans ytstruktur
Ättiksyra	Denaturering av proteiner	Vit	Ingen färgning Tydliggör slemhinnans ytstruktur
Reaktiva färg	Rektion med cellprodukter		
Kongorött	Färgskiftning vid pH <3	Röd till blå/svart	Syraproducerande slemhinna
Fenolrött	Färgskiftning vid pH 6.8 -8.4	Gul till röd	H. pylori-infekterade celler

Övriga metoder

Traditionella kromoendoskopiska metoder har varit tillgängliga under flera decennier. På grund av metodernas nackdelar, exempelvis som behov för applikation av färgämne och förlängd undersökningstid, har dessa metoder haft en begränsad spridning bland västerländska endoskopister.

Datoriserad virtuell kromoendoskopi (digital kromoendoskopi) i motsats till traditionell färgbaserad kromoendoskopi använder antingen realtid efterbearbetning av bilderna eller att ett filter placeras framför ljuskällan för att förbättra visualisering av slemhinnans kärl- och ytstrukturer dock utan att något färgämne behöver appliceras.

Det finns tre olika kommersiellt tillgängliga system: NBI (Olympus), FICE (Fujinon), och i-scan (Pentax).

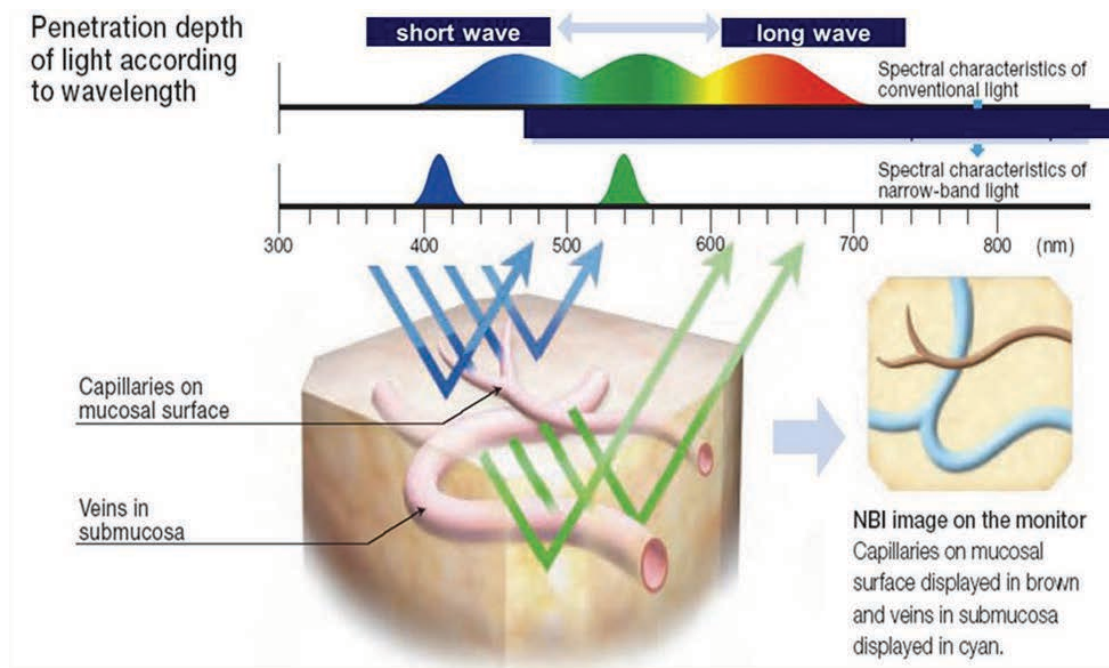
Under de senaste åren har ytterligare högteknologiska endoskopiska metoder utvecklats för finare slemhinnediagnostik. Dessa innefattar bland annat förstöringsendoskopi, autofluorescensendoskopi, ramanspektroskopi, immunofotodiagnostisk endoskopi, optisk koherenstomografi och konfokal laserendoskopi.

Dessa metoder har kapacitet för en avsevärt förfinad slemhinnediagnostik med dess terapeutiska potentiella konsekvenser. Avsikten med en del av metoderna är att få mikroskopisk information om slemhinnan utan invasiva biopsier. En del av dessa applikationer är fortfarande under utveckling/utvärdering och används mest i endoskopisk forskning. Preliminära resultat talar dock starkt för att några av dessa innovationer kan få plats i den framtida rutinendoskopin.

Narrow band imaging (NBI)

NBI är en teknik som förbättrar framställningen av slemhinneytan/pit pattern och kapillärerna i slemhinnan genom att förstärka kontrasten mellan kärlen och den omslutande vävnaden. NBI framställer kapillärerna i slemhinneytan i ett brunt mönster, och lite större kärl djupare i slemhinnan i ett blått mönster.

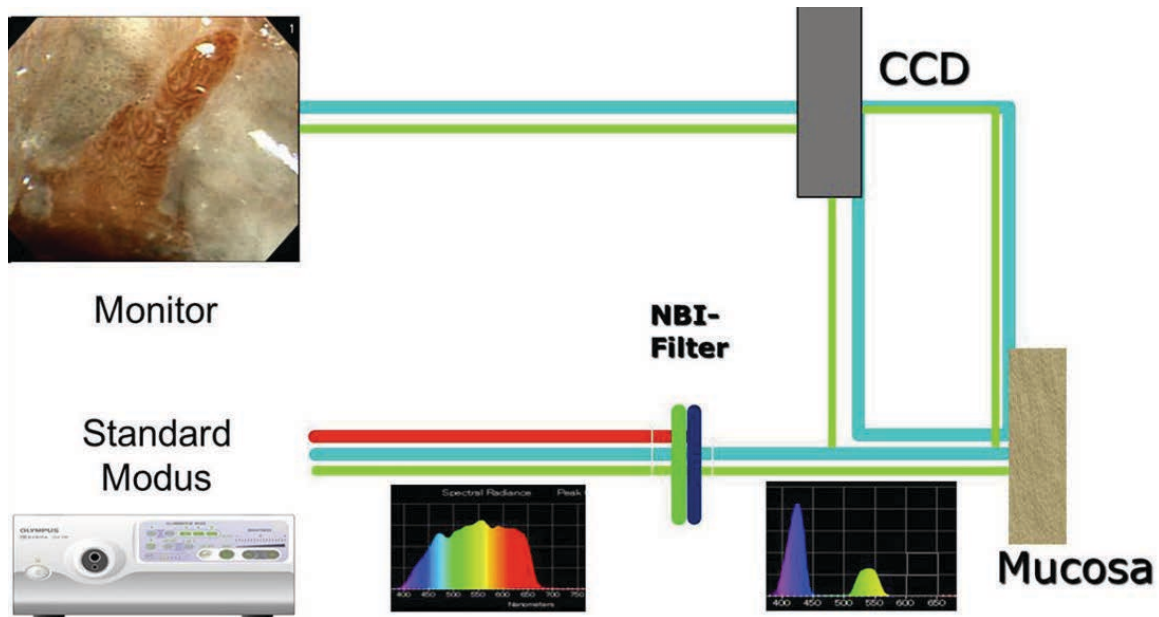
Tekniken utnyttjar att ljus vid olika våglängder penetrerar, absorberas och reflekteras olika i vävnaden, och på så sätt framställs vävnaden olika, beroende av vilken våglängd vävnaden blir belyst med (Figur 3, med tillstånd från Olympus).



Figur 3.

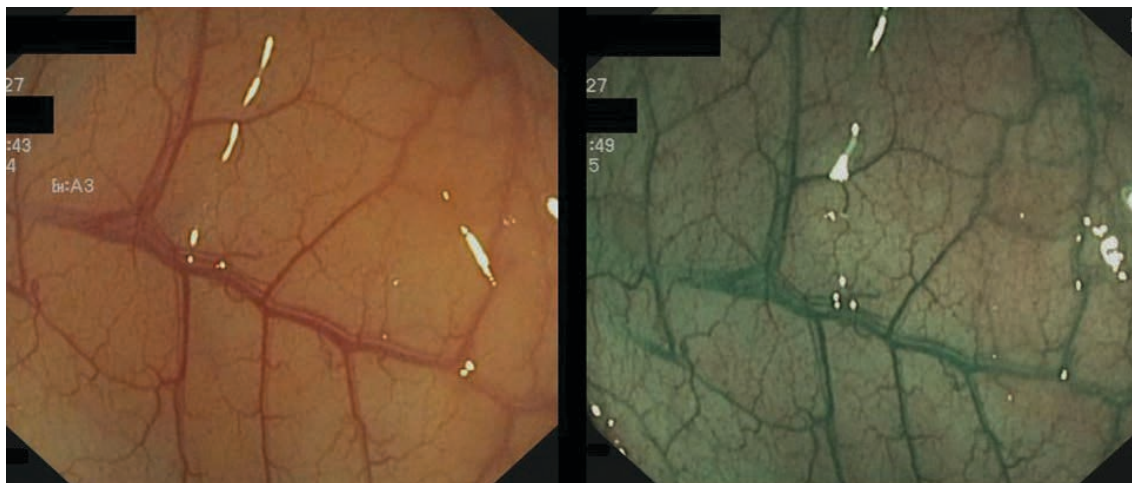
Vid traditionell endoskopi blir vävnaden belyst med vitt ljus från en xenon-ljuskälla. Det reflekterande ljuset fångas upp av en charge-coupled device (CCD) i spetsen av skopet, och där skapas en bild av naturliga färger. NBI använder endast bestämda våglängder med smal bandbredd, blått ljus (våglängd: 415 nm) och grönt ljus (våglängd: 540 nm). När dessa två våglängder är valda beror det på att bägge våglängderna absorberas av hemoglobin, och det gröna och blå ljuset som inte absorberas reflekteras av slemhinnan. Blått ljus med 415 nm tränger 170 μm ned i ytskiktet av slemhinnan, och en stor del absorberas här av hemoglobinet i kapillärerna, resten reflekteras. Grönt ljus med 540 nm tränger 240 μm ned i slemhinnan och absorberas här i stort omfattning av hemoglobinet i de djupare liggande kärlen.

Vid NBI förs ett fysiskt filter in framför xenon-ljuskällan, och endast ljus med våglängd 415 nm och 540 nm släpps igenom (Figur 4, med tillstånd från Olympus). NBI sätts på och av med en knapp på endoskopet.



Figur 4.

Därmed blir det ljus som reflekteras och de genererade bilderna annorlunda jämfört med vid vitt ljus, och kärlen framstår enligt de tidigare beskrivna mönstren. (Figur 5 visar normal kolonslemhinna utan och med NBI).



Figur 5.

Fujinon intelligent color enhancement (FICE)

FICE bygger på samma princip om ljusets absorption och reflektion som NBI, och ger därför också en framställning av kapillärmönstret och strukturen i slemhinnan. FICE är en mjukvara som omvandlar signalerna från CCD till digital data, som vid estimerad spectral analys framställer en bild som motsvarar en bild vid en given våglängd. Det skoperas sällan endast vid en våglängd, och endoskopören kan välja önskad våglängdskombination. Ofta används estimerade våglängder nära de våglängder som framställs vid NBI. Systemet kan programmeras så att önskade våglängdskombinationer ligger förinstallerat och aktiveras med en knapp på endoskopet.

Autofluorescensendoskopi (AFE)

AFE utnyttjar att neoplastisk vävnad fluorescerar kraftigare än normal vävnad. Neoplastisk vävnad innehåller fluorescerande ämnen som kan exciteras av ljus med kort våglängd. För att fånga upp den förhållandevis svaga fluorescens är det utvecklat en ny, mycket känslig CCD. Principen för AFE är att vävnaden belyses med blått ljus (390-470nm) och grönt ljus (540-560nm). Det blå ljuset exciterar fluorescerande ämnen i vävnaden och det gröna ljuset reflekteras av slemhinneytan. Dessa två typer ljus bearbetas så att normal slemhinna visas som grönt och neoplastisk vävnad visas som blå-lila.

Konfokal laserendomikroskopi (KLE)

KLE är en metod för att undersöka cellernas morfologi, dvs. in vivo histologi. Strukturen i vävnaden kan framställas helt ned till cellkärnnivå. Detta möjliggörs genom en miniatyr konfokalt lasermikroskop installerat vid spetsen av endoskopet. Lasermikroskopet använder blått laserljus med en våglängd på 488 nm. Där framställs en av slemhinnan med en yta på 500µm x 500µm i en 0,7µm upplösning och ett optiskt vävsnitt på 7 µm.

Det kan mikroskoperas 250 µm djupt, dvs. videoendoskopien kombineras med konfokal mikroskopi. För att kunna använda KLE måste kontrastämnen användas. Det används fluorescein eller acriflavin, två fluorescerande ämnen.

Flourescein administreras intravenöst. Flourescein färgar celler, vaskularisering, och bindväv kan utdifferentieras i hög upplösning 250 µm i djupet. 20 sekunder efter administrering är färgen fördelad och kvarstår i 30 minuter.

Acriflavin kan användas lokalt och färgar cellkärna och cytoplasma, men endast 100µm djupt. De två flourescerande ämnena kan användas samtidigt. Endomikroskopi skal användas till målrettad undersökning och targetbiopsier eftersom studieområdet är litet, 500 mikrometer x 500 mikrometer.

Optisk koherenstomografi (OKT)

OKT är en ny teknik under utveckling. OKT bygger i likhet med NBI och FICE på ljusets fysiska egenskaper, dvs. reflektion av ljus, infrarött ljus (750-1300 nm). Tekniken är den optiska versionen av ultraljud. OKT visar ett tvärsnitt av väggen i gastrointestinalkanalerna samt det pancreatiko-biliära gångsystemet. OKT är inbyggd i en kateter-probe som förs genom arbetskanalen i skopet. På så vis kan pancreatiko-biliära gångsystem tillverkas vid införing av proben i papilla vid ERCP.

OKT har ca 10 gånger högre upplösning än US, 10-20 µm i förhållande till 125 µm. Den bättre upplösningen uppnås genom att ljus har kortare våglängd än ljud. När OKT används är det inte behov för ett skanningsmedium, då OKT kan skanna genom luft. OKT scannar 1-3 mm djupt.

Kliniska applikationer

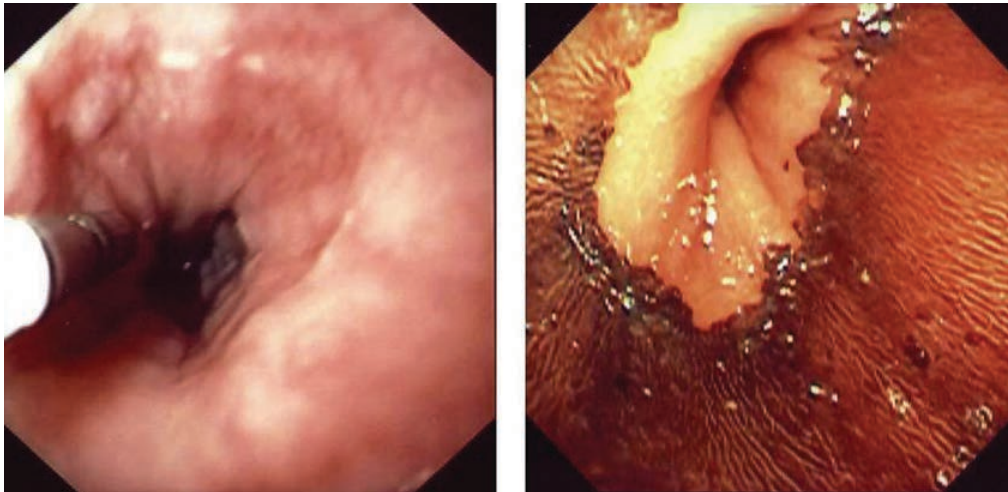
Esofagus

De mest använda färgämnen i matstrupen är Lugols lösning som innehåller jod samt metylenblå och toluidinblå. Alla dessa ämnen har kapacitet att underlätta differentialdiagnosen mellan neoplastiska och icke-neoplastiska slemhinneförändringar.

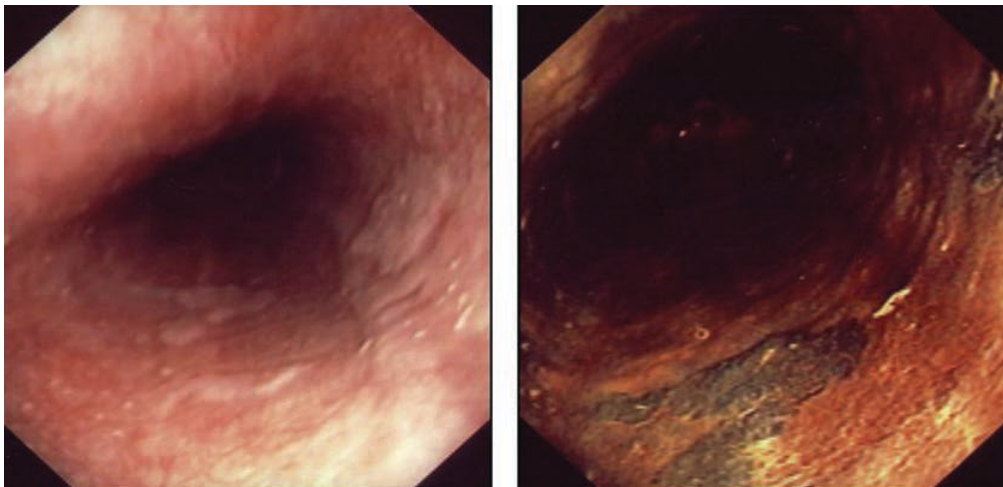
1-4% Lugols lösning (jod-kaliumjodid) absorberas av icke-keratiniserat skivepitel och en reaktion mellan glykogen och jod resulterar i en brun färgskiftning (Figur 6).

Tjockare slemhinna, skivepitelhyperplasi, s.k. glykogen akantos (Figur 7) färgas mörkbrun medan patologisk slemhinna förblir ofärgad.

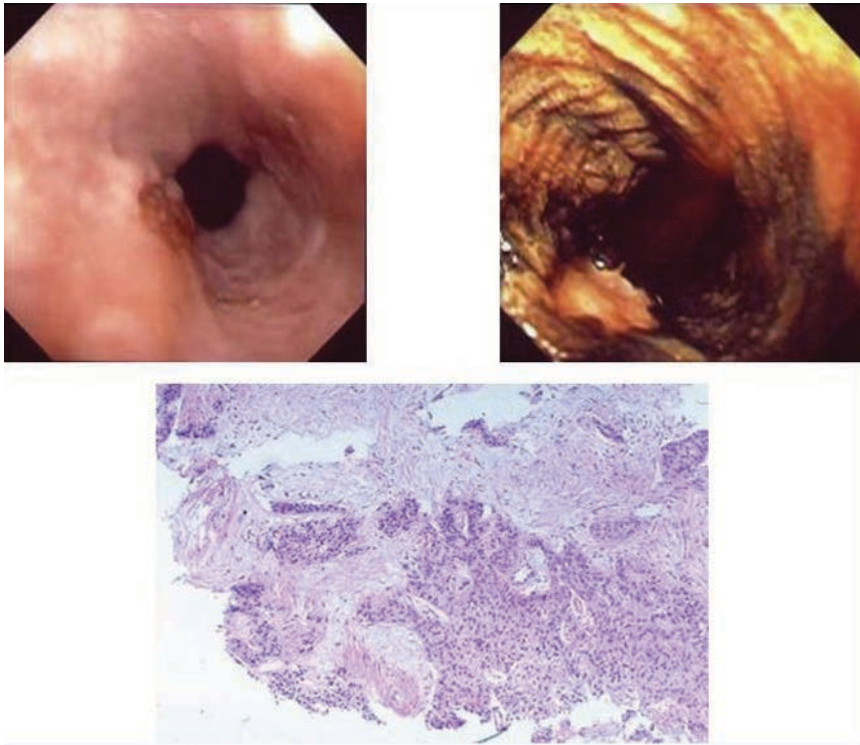
Inflammerad eller metaplastisk slemhinna samt tumörer förblir ofärgade. Man kan använda tekniken för att upptäcka tidig skivepitelcancer samt bedöma dess utbredning (Figur 8).



Figur 6.

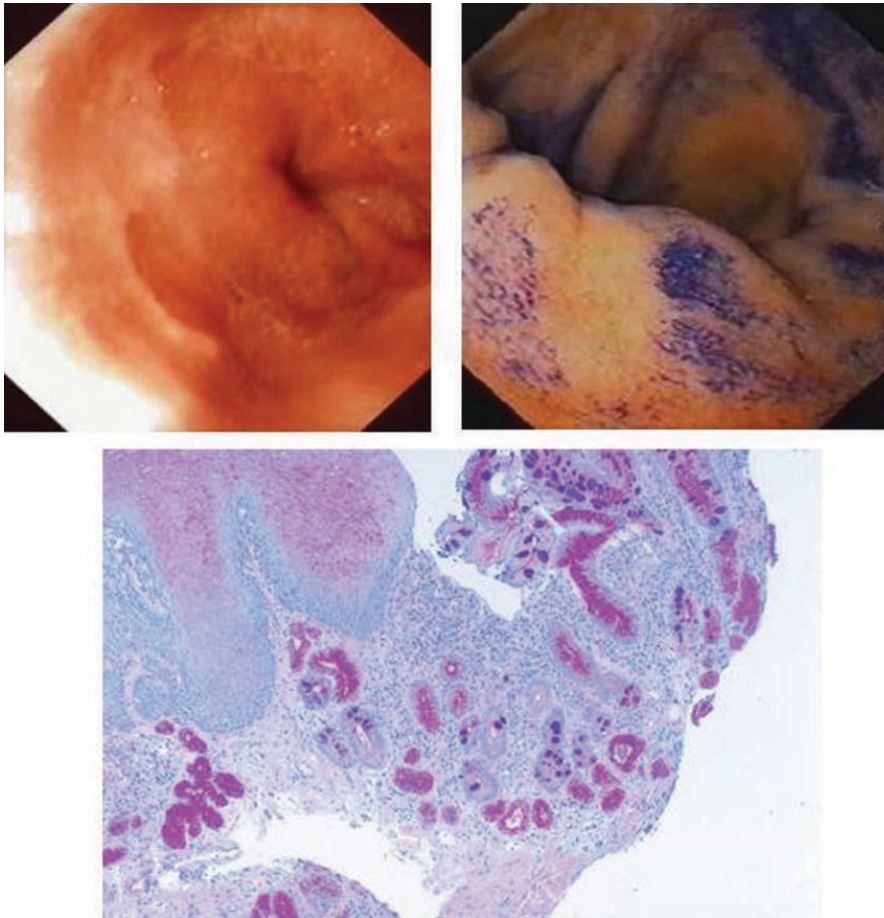


Figur 7.



Figur 8.

0,1 – 1% metylenblått färgar intestinal slemhinna kan därför användas för påvisandet av intestinal metaplasi vid Barretts esofagus (Figur 9). Metoden kräver förbehandling av slemhinnan med något slemlösande ämne (t.ex. acetylcystein), för att underlätta absorptionen av färgämnet.

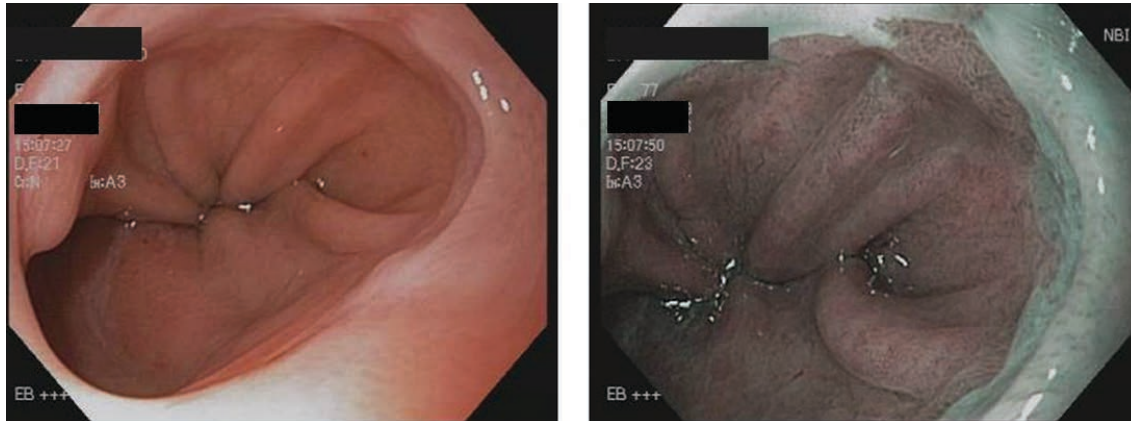


Figur 9.

Metylenblått har också visat att öka endoskopins noggrannhet för diagnostiken av dysplastiska områden vid Barretts esofagus genom att dysplastiska områden färgas mindre intensivt och mer heterogent.

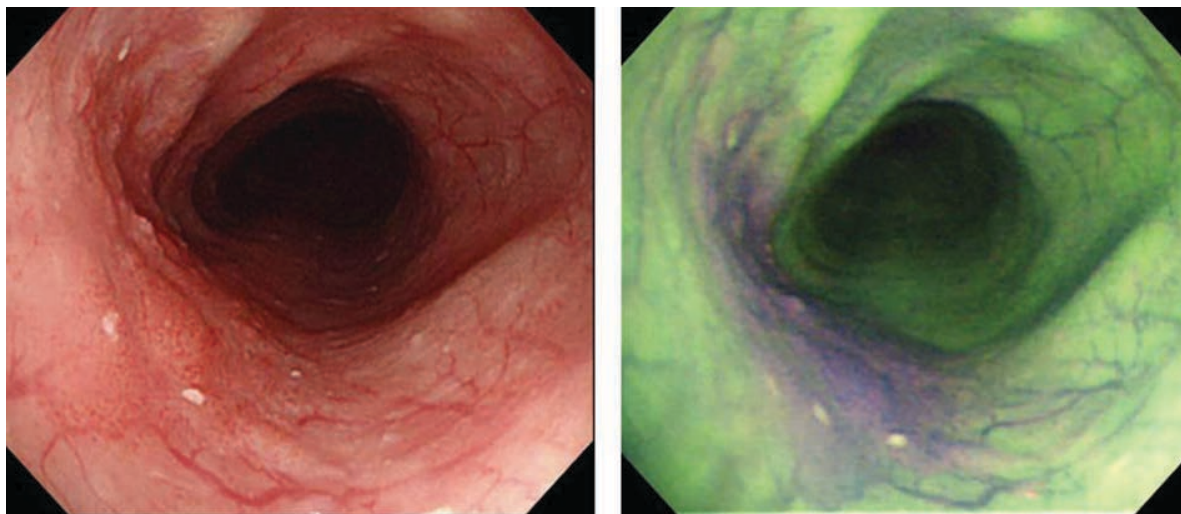
1,5% lösning av ättiksyra kan användas i esofagus som kontrastgivande medel genom att slemhinnan blir vitaktig och med skarpare kontrast. Vid kromoendoskopi med ättiksyra behövs ingen förbehandling med slemlösande medel.

NBI, oftast i kombination med förstoringsoptik, kan förbättra diagnostiken av ytlig skivepitelcancer, dysplasi/tidig cancer i Barretts slemhinna, minimala slemhinneförändringar vid non-erosive esofagit och underlättar upptäckten och avgränsningen av Barrets slemhinna (Figur 10).



Figur 10.

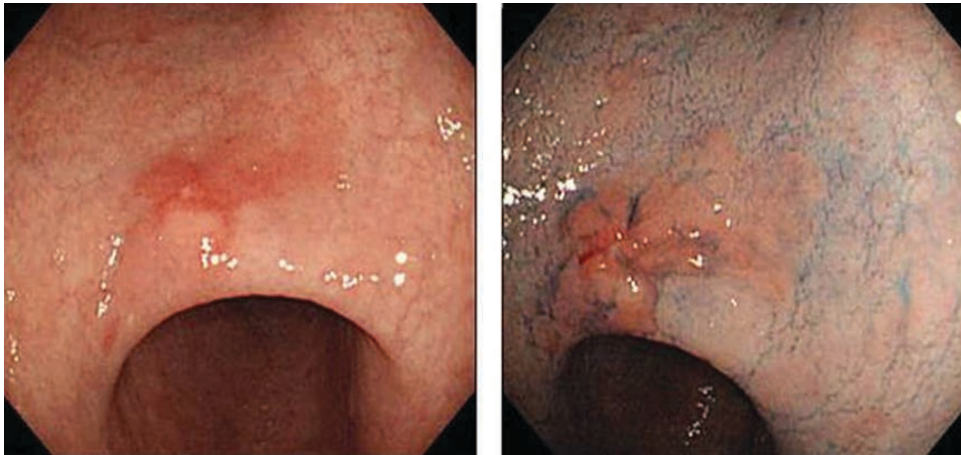
AFE har potential att användas för detektion av neoplastiska förändringar både i Barretts slemhinna och i skivepitel. Neoplastiska förändringar framträder som blå-lila områden mot bakgrunden den grönfärgade normal skivepitel (Figur 11, med tillstånd från Dr Noriya Uedo, Osaka, Japan).



Figur 11.

Ventrikel och tunntarm

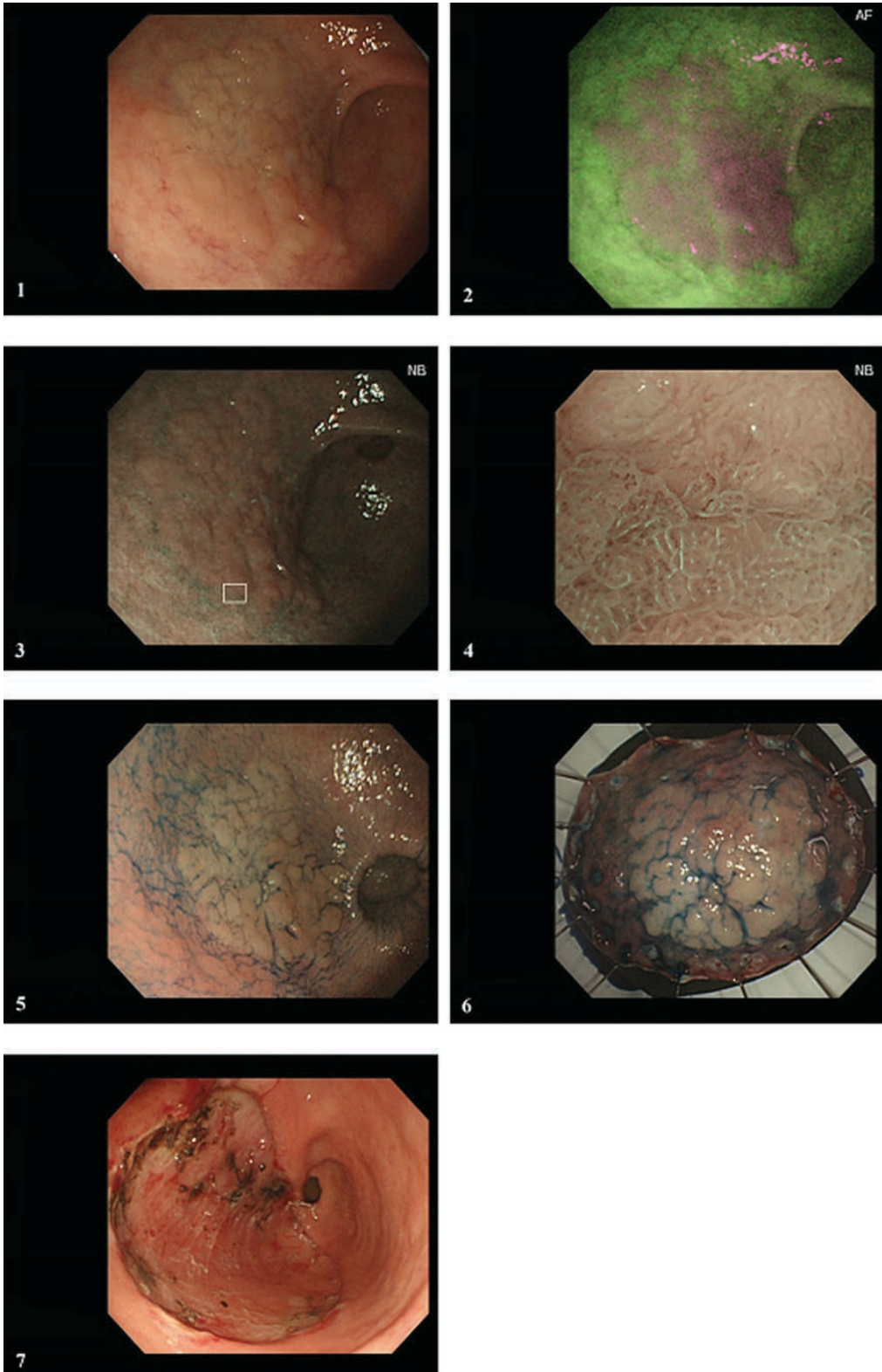
Indigokarmin, det mest användbara färgämnet i magsäcken och tunntarmen, färgar inte slemhinnan utan samlas i slemhinnans små oregelbundheter och förstärker kontrasten av osynliga eller svår-detekterbara slemhinneförändringar, visar förändringarnas utbredning och möjliggör riktade biopsier och endoskopisk resektion. (Figur 12, med tillstånd från Dr Noriya Uedo, Osaka, Japan).



Figur 12.

Tidig/ytlig ventrikelcancer ("early gastric cancer", EGC) som innebär att tumören inte växer utanför submukosan och därmed har en god prognos, saknar i flesta fall kliniska symptom och diagnostiseras endoskopiskt hos patienter som remitterats för annan orsak. För att upptäcka EGC krävs att endoskopisten är medveten om detta tillstånd och dess endoskopiska tecken och letar efter alla minimala struktur- eller färgförändringar av ventrikelslemhinnan. Därefter bör alla avvikande områden undersökas med någon av dagens kompletterande findiagnostiska metoder som kromoendoskopi med eller utan förstoringsoptik, NBI eller AFE. Alla dessa metoder ökar möjligheten för riktad biopsitagning och bidrar till en ökad diagnostisk noggrannhet.

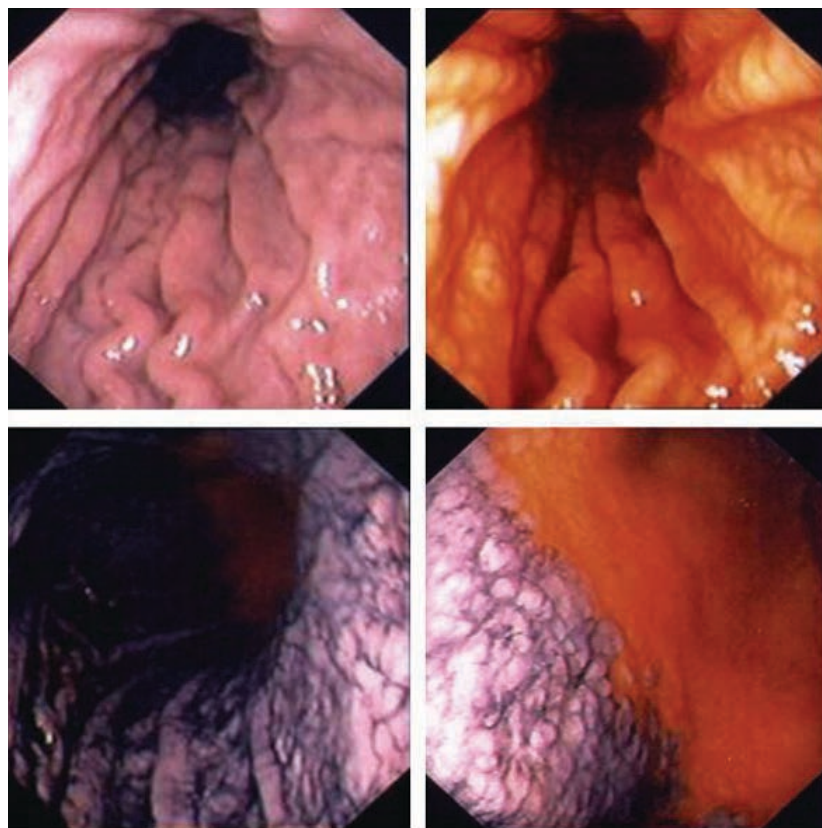
Traditionella och digitala kromoendoskopiska metoder kan komplettera varandra. Metodernas användbarhet demonstreras nedan med bilder (Figur 13) från Dr Noriya Uedo, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases, Osaka, Japan.



Figur 13.

Sedvanlig endoskopi visar en blek, lätt upphöjd superficial (Type 0IIa) tumör med oklara gränser i antrum (Figur 13/1). Tumören är lilafärgad mot den normala gröna slemhinnan med AFE (Figur 13/2). NBI utan (Figur 13/3) och med förstoring (Figur 13/4) visar ett typiskt mönster för cancer. Efter färgning med indigokarmin ses en välavgränsad tumör (Figur 13/5) som avlägsnats i ett block med endoskopisk submukosal dissektion (Figur 13/6-7). Histologi verifierade en radikalt borttagen, mukosal ventrikelcancer.

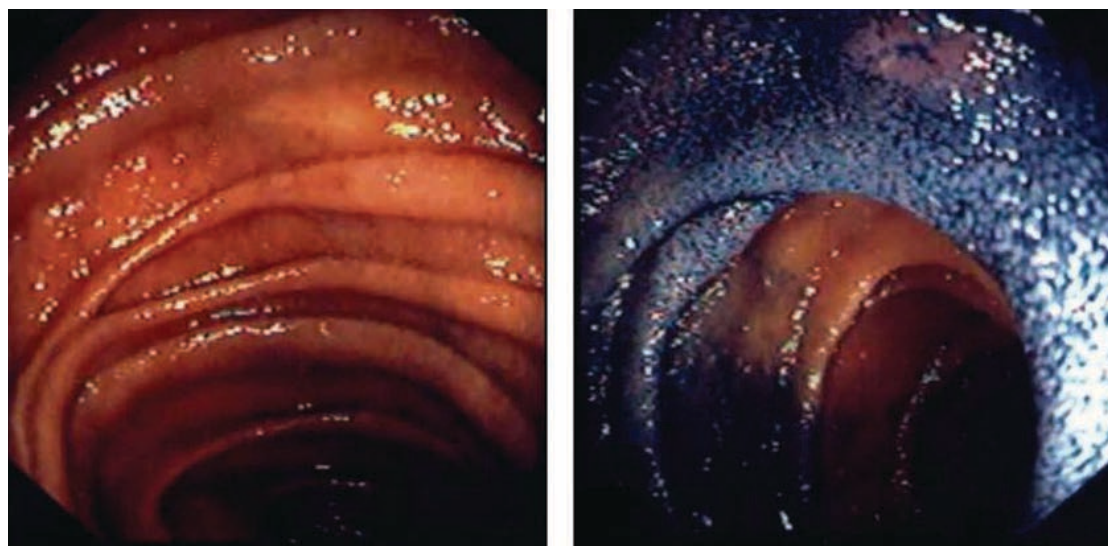
Kongorött påvisar syraproducerande slemhinna och därmed visar magsäcksslemhinnans morfologiska och funktionella status. Det finns en klar gräns mellan den blå-svartfärgade syraproducerande och rödfärgade icke-syraproducerande slemhinna (Figur 14). Denna teknik, gärna i kombination med metylenblått, har visat sig vara värdefull för diagnostisering av tidig ventrikelcancer och förbättrad diagnostik av kronisk atrofisk gastrit.



Figur 14.

Metylenblått kan användas i magsäcken för att påvisa intestinal metaplasi genom intensivt blåfärgade områden efter bortspolning av färgöverskottet och underlätta riktade biopsier hos patienter med kronisk atrofisk gastrit.

Metylenblått absorberas av normal intestinal slemhinna och där icke-färgade områden representerar patologiska slemhinneförändringar (Figur 15). Metylenblått kan också användas som kontrastgivande färgämne om det ej aktivt spolas bort.



Figur 15.

Kolon

Kromoskopi i kombination med högupplösande endoskopi används ofta för identifiering och demarkering av subtila neoplastiska förändringar som i vanliga fall lätt kan missas under konventionell endoskopi (Figur 16). Man kan med hjälp av kromoskopi detaljgranska slemhinnemönstret och särskilja mellan neoplastisk och icke neoplastisk vävnad i realtid för att kunna ta beslut om rätt endoskopisk behandling.

Under endoskopin, när kolorektalslemhinnan belyses med vitt ljus, blir den ofta genomskinlig så att det underliggande vaskulära nätverket i submukosan uppträder tydligt (figur 17). Kolorektal cancer har sitt ursprung i det genomskinliga epitelet! Kromoskopi gör att epitelytan uppträder klar och tydlig (figur 18).

NBI-tekniken har tillkommit som ett komplement och i många fall som ett alternativ till kromoskopi. NBI är tillgänglig med en knapptryckning! NBI kan tydligt framställa mikroarkitekturen av kapillära nätverket i slemhinnan. I normal vävnad följer det kapillära nätverket ett specifikt och välorganiserat mönster som förändras vid förekomst av dysplasi och cancer. Angiogenes är en avgörande förutsättning för neoplastisk omvandling och denna speglar dysplasigraden i epitelet. Det finns ett klart samband mellan histologin och morfologin av mikrovaskulär arkitektur i slemhinnan. NBI-diagnostik baseras på analys av det vaskulära mönstret vid slemhinneytan och verkar idealisk för tidig diagnostik av gastrointestinala neoplasier. Nyligen har en internationell grupp utvecklat en enkel kategoriklassificering för NBI (NBI international colorectal endoscopic [NICE] classification), av kolorektala tumörer (figur 19-27).

Man får ha i åtanke att tidiga neoplastiska förändringar i gastrointestinalkanalerna kan uppträda som icke exofytiska lesioner. Man bör också känna till de olika former och presentationer som tidig cancer kan ha. Kromoskopi och NBI-teknik är ett komplement till undersökningen med konventionell (vitljus) endoskopi och används ofta efter att man har upptäckt något ovanligt i slemhinnan.

En förutsättning för en lyckad endoskopisk behandling (t.ex. mukosektomi) av subtila neoplastiska förändringar är att kunna avgränsa deras spridningsyta (figur 28). Efter mukosektomi, eller annan endoskopisk behandling av icke exofytiska neoplasier, bör man med hjälp av NBI eller färg granska slemhinnan runt omkring mukosektomisåret för att utesluta kvarvarande neoplastisk vävnad (figur 28d). En otillräcklig endoskopisk behandling kan få viktiga kliniska konsekvenser.

Det finns en klar korrelation mellan slemhinnemönstret i epitelytan under kromoskopi (s.k. pit pattern) och den histologiska bilden (figur 29). Liknande korrelation mellan pit pattern och histologin har kunnat påvisas med NBI och högupplösande endoskopi.

Små exofytiska hyperplastiska polyper i kolon och rektum syns som små upphöjningar med jämnt fördelade punkter eller stjärnformiga körtelöppningar, (pit pattern typ II)

medan små exofytiska adenom ofta visar ett lineärt mönster (pit pattern typ IIII). Stora adenom har ett lineärt (IIII), cerebriformt eller villöst pit pattern (typ IV).

Icke exofytiska lesioner i kolon och rektum ses som lätt rodnade områden eller lätt missfärgade partier som är svåra att avgränsa och de bör undersökas under NBI eller kromoskopi. Flacka adenom har som regel något grövre och tätare kärlmikroarkitektur och uppträder under NBI som mörka partier med ett pit pattern IIII eller IIIs.

Oregelbundet pit pattern (Vi och Vn) syns i cancerös slemhinna. Förekomst av pit pattern typ Vn tyder ofta på en djup invasion till submukosan och man avråder då från endoskopisk behandling. Under NBI ses cancer med oregelbundet kärlmönster med grövre kärl med kaliberväxling som ej följer något specifikt mönster eller icke vaskulariserade områden. I vissa fall kan NBI vara mindre känslig för att identifiera djup invasion till submukosan och därför krävs komplettering med vital färgning (crystal violet, gentianaviolett, metylrosanilin) och zoom-endoskopi för att kunna utesluta förekomst av pit pattern typ Vn.

Referenser

ASGE Technology Committee. Chromoendoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2007 Oct;66(4):639-49

Kuznetsov K, Lambert R, Rey JF. Narrow-band imaging: potential and limitations. *Endoscopy* 2006;38: 76-81.

Pohl J, May A, Rabenstein T et al. Computed virtual chromoendoscopy: a new tool for enhancing tissue surface structures. *Endoscopy* 2007;39:80-83.

Kiesslich R, Hoffman A, Neurath MF. Colonoscopy, tumors, and inflammatory bowel disease - new diagnostic methods. *Endoscopy* 2006;38:5-10.

ASGE Technology Committee. Autofluorescence imaging. *Gastrointest Endosc.* 2011 Apr;73(4):647-50.

Sharma P, Gupta N, Kuipers EJ et al. Advanced imaging in colonoscopy and its impact on quality. *Gastrointest Endosc.* 2014 Jan;79(1):28-36

Hussain ZH, Pohl H. Ancillary imaging techniques and adenoma detection. *Gastroenterol Clin North Am.* 2013 Sep;42(3):547-65

Qumseya BJ, Wang H, Badie N et al. Advanced Imaging Technologies Increase Detection of Dysplasia and Neoplasia in Patients With Barrett's Esophagus: A Meta-analysis and Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013 Dec;11(12):1562-1570

Tontini GE, Vecchi M, Neurath MF et al. Review article: newer optical and digital chromoendoscopy techniques vs. dye-based chromoendoscopy for diagnosis and surveillance in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013 Nov;38(10):1198-208

Hoffman A, Goetz M, Vieth M et al. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications. *Endoscopy* 2006;38:1275-83.

ASGE Technology Committee. Enhanced imaging in the GI tract: spectroscopy and optical coherence tomography. *Gastrointest Endosc.* 2013 Oct;78(4):568-73

Singh R, Lee SY, Vijay N, Sharma P, Uedo N. Update on narrow band imaging in disorders of the upper gastrointestinal tract. *Dig Endosc.* 2013 Dec 4. doi: 10.1111/den.12207. [Epub ahead of print]