



Endomicroscopia confocal a laser das vias aéreas: características normais e patológicas de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas

Juliana Rocha Mol Trindade^{1,a}, Viviane Rossi Figueiredo^{2,b},
Paulo Manuel Pêgo-Fernandes^{3,c}, Ricardo Mingarini Terra^{1,d}

AO EDITOR,

A neoplasia primária de pulmão apresenta elevada incidência e alta mortalidade, com sobrevida em cinco anos em torno de 10% a 15%. Isso ocorre porque a maioria dos pacientes recebe o diagnóstico em fase avançada. Diversos métodos de imagem, assim como os métodos para obtenção de amostras histológicas, têm sido desenvolvidos para promover um diagnóstico mais precoce e preciso do câncer de pulmão.⁽¹⁾

Apesar de a obtenção de amostras de tecido das vias aéreas ser factível através de broncoscopia, há um grande interesse na pesquisa de métodos que permitam a visualização microscópica da estrutura tecidual in vivo. Isso se dá pela constante necessidade de diferenciar lesões malignas e pré-malignas da mucosa normal, permitindo, se não o diagnóstico, guiar a biopsia para garantir que a amostra coletada seja representativa da lesão.

Com o uso do laser, desenvolveu-se a chamada *probe-based confocal laser endomicroscopy* (pCLE, endomicroscopia confocal a laser), que utiliza um *miniprobe* contendo milhares de fibras óticas conectado a uma fonte de iluminação a laser para a análise de pequenas áreas de tecido, sendo possível avaliar alterações microscópicas da mucosa e de outros tecidos.⁽²⁾ Alguns trabalhos já definiram as características das imagens endomicroscópicas das estruturas das vias aéreas (como, por exemplo, traqueia, brônquios e alvéolos), bem como de algumas doenças (como alguns tipos de câncer de pulmão).⁽³⁾

O equipamento atualmente comercializado é denominado Cellvizio (Mauna Kea Technologies, Paris, França), que utiliza comprimento de onda de 488 nm, e as imagens resultam da autofluorescência das fibras de elastina subepiteliais da mucosa brônquica, as quais representam mais de 50% do tecido de sustentação das vias aéreas.

Uma série prospectiva de quatro casos foi realizada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, cujo protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética da instituição (protocolo no. 315/13).

Os pacientes avaliados tinham suspeita de neoplasia de pulmão com localização central, importante para o acesso ao tumor sob visualização direta e correto

posicionamento do *miniprobe*, que deve estar em contato com a lesão. Dos quatro pacientes, dois eram homens, sendo três tabagistas (carga tabágica média de 58 anos-maço). Os tipos histológicos foram adenocarcinomas, em dois; e carcinomas espinocelulares, em dois. Iniciamos os exames com a avaliação endoscópica por broncoscopia flexível de toda a via aérea e identificação de alterações visíveis. A seguir, introduzimos o *miniprobe* da pCLE no canal de trabalho do broncoscópio e o posicionamos sequencialmente sobre as mucosas da árvore traqueobrônquica e do parênquima pulmonar normais e, posteriormente, na superfície tumoral. Na Figura 1, está exemplificada a visualização endoscópica do *miniprobe* da pCLE e a identificação de uma lesão no óstio do lobo superior do pulmão direito.

A literatura sugere que a análise das imagens da pCLE permite a identificação de cinco padrões de disposição das fibras de elastina da submucosa da via aérea.⁽⁴⁾ Esses padrões variam conforme sua localização na via aérea, e mesmo em nossa experiência inicial, foi possível identificar esses cinco padrões em todos os casos estudados: na traqueia, carina e brônquios principais as fibras de elastina são paralelas entre si, formando camada única longitudinal (Figura 2A); nas carinas secundárias as fibras de elastina são paralelas entre si em camadas, que se distinguem por diferenciação entre os sentidos das fibras. Também foi possível perceber nesse momento, o óstio de glândula brônquica para a via aérea (Figura 2B); nos brônquios segmentares e subsegmentares há maior rarefação entre as fibras de elastina, que começam a se entrelaçar com camadas subjacentes (Figura 2C); nos bronquíolos distais a rede entrelaçada de elastina dos brônquios assume uma conformação helicoidal, que vai culminar na formação da rede de sustentação dos bronquíolos alveolares (Figura 2D); e os bronquíolos alveolares e alvéolos são representados por uma rede de elastina que se abre formando um arcabouço de sustentação tridimensional, como saculações para a sustentação das células e capilares alveolares (Figura 2E).

Além dos padrões normais, visualizamos alterações nos alvéolos de pacientes tabagistas, marcadas pelo preenchimento por células inflamatórias (Figuras 2F e 2G), bem como alterações na arquitetura do parênquima pulmonar nas áreas periféricas do tumor, caracterizadas

1. Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira – Icesp – São Paulo (SP) Brasil.

2. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo – InCor/HC-FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

3. Departamento de Cirurgia Torácica, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor/HC-FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

a. <http://orcid.org/0000-0002-8190-8410>; b. <http://orcid.org/0000-0002-9458-8153>; c. <http://orcid.org/0000-0001-7243-5343>;

d. <http://orcid.org/0000-0001-8577-8708>

pelelo espessamento da parede do alvéolo secundário ao aumento do diâmetro do feixe de elastina, edema alveolar e grande número de macrófagos no espaço alveolar (Figuras 2H a 2J).

Nos casos de adenocarcinoma foi possível ver, na área do tumor, uma massa amorfa que preenchia o

espaço alveolar e destruía sua parede, caracterizada pela alternância de áreas de alta fluorescência pelo aglomerado de elastina disforme e áreas de cavidades escuras, representando grandes blocos de células tumorais, que não têm capacidade de autofluorescência (Figuras 2K a 2M). Já o carcinoma espinocelular foi

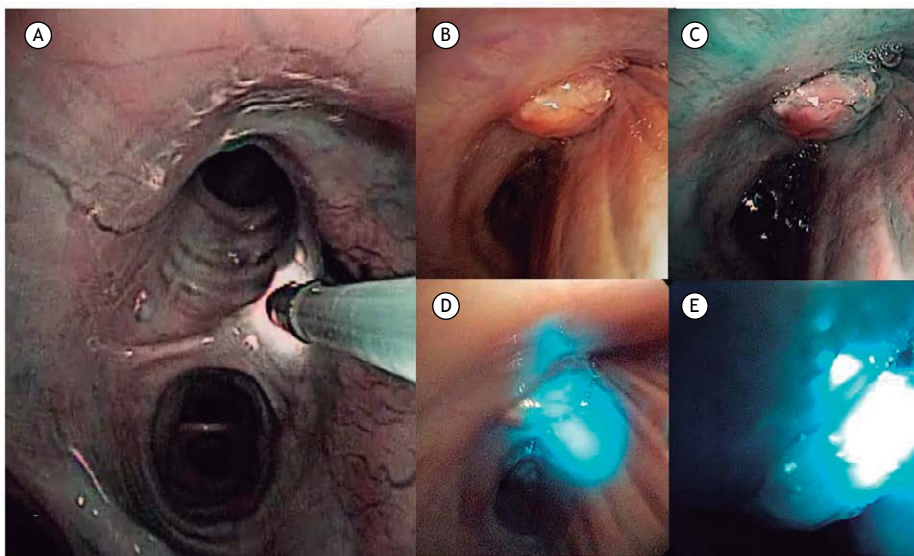


Figura 1. Em A, visualização endoscópica do *miniprobe* da endomicroscopia confocal; em B, imagem endoscópica de lesão neoplásica sob luz branca; em C, imagem endoscópica de lesão neoplásica sob *narrow-band imaging*; em D, iluminação causada pelo laser na via aérea; e em E, contato do *miniprobe* com fonte de luz a laser para a produção da imagem pela endomicroscopia confocal.

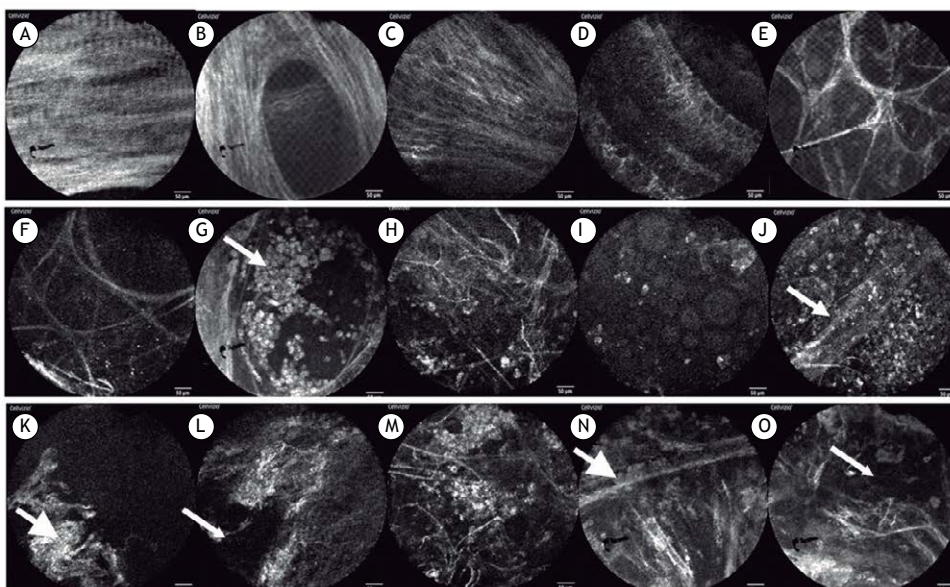


Figura 2. Disposição das fibras de elastina ao longo da via aérea. Em A, traqueia; em B, glândula da mucosa brônquica; em C, brônquio segmentar; em D, bronquíolo distal; e em E, alvéolo. Padrão alveolar normal e alterações vistas em pacientes tabagistas: em F, arcaçouço alveolar normal; e em G, alvéolo pulmonar preenchido por células inflamatórias e macrófagos alveolares (seta). Alterações inflamatórias peritumorais: em H, destruição da parede alveolar associada à proliferação desorganizada de fibras de elastina, bem como espessamento das mesmas; em I, edema alveolar, através do preenchimento do espaço alveolar por líquido; e em J, grande quantidade de células no alvéolo, sendo possível visualizar nessa imagem um capilar alveolar (seta). Alterações tumorais: em K, L e M, aglomerado de elastina (seta maior) hiperfluorescente alternando com área escura correspondendo a conglomerado celular neoplásico (seta menor); e em N e O, massa amorfa com capacidade de autofluorescência menor (estroma: seta maior), alternando com área escura hiper celular, e área de conglomerado celular tumoral (seta menor).

visto como uma massa amorfa com ramos de menor fluorescência, mais espessos e de maior quantidade, representando o estroma, além de camadas escuras representando o componente celular (Figuras 2N e 2O).⁽⁵⁾

Conhecendo a disposição habitual das fibras de elastina em cada segmento da via aérea, estudos têm sido realizados a fim de padronizar as alterações dessas estruturas, comparando-as com as de amostras obtidas por peça cirúrgica, e assim correlacioná-las para o diagnóstico in vivo de lesões malignas e pré-malignas.⁽⁶⁾

Acredita-se que a pCLE seja útil no diagnóstico e seguimento de inúmeras patologias de vias aéreas, que vão além do diagnóstico de neoplasias centrais. Muitos centros de pesquisa vêm realizando testes para avaliar a aplicabilidade da pCLE em doenças não neoplásicas, como no diagnóstico e reavaliação de pacientes com proteinose alveolar, detectando o preenchimento do espaço alveolar e necessidade de

lavagem pulmonar⁽⁷⁾; no seguimento de pacientes pós-transplante de pulmão, sendo possível detectar a rejeição precoce do enxerto⁽⁸⁾; no diagnóstico de pneumonia, por exemplo, por amiodarona⁽⁹⁾; na infecção por *Pneumocystis jirovecii* em pacientes com HIV⁽¹⁰⁾; e até no diagnóstico de fibrose pulmonar.

A pCLE é um método ainda em desenvolvimento, mas bastante promissor. A avaliação microscópica das vias aéreas e do parênquima pulmonar sem a necessidade de retirada de tecido para a análise histopatológica está entre as principais vantagens, uma vez que reduz o risco inerente a qualquer método de biopsia, minimizando as possíveis complicações aos pacientes que necessitam de diagnóstico de patologias pulmonares. Entretanto, mais estudos são necessários para comprovar a aplicabilidade, reprodutibilidade e redução de custos para o uso clínico desse método em substituição daqueles em uso atualmente.

REFERÊNCIAS

1. Streba CT, Giltan AM, Gheonea IA, Demetrian A, Şoimu AV, Săftoiu A, et al. Utility of confocal laser endomicroscopy in pulmonology and lung cancer. *Rom J Morphol Embryol*. 2016;57(4):1221-1227.
2. Thiberville L, Salaun M, Lachkar S, Dominique S, Moreno-Swirc S, Vever-Bizet C, et al. Confocal fluorescence endomicroscopy of the human airways. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(5):444-9. <https://doi.org/10.1513/pats.200902-009AW>
3. Yserbyt J, Dooms C, Ninane V, Decramer M, Verleden G. Perspectives using probe-based confocal laser endomicroscopy of the respiratory tract. *Swiss Med Wkly*. 2013;143:w13764. <https://doi.org/10.4414/smww.2013.13764>
4. Thiberville L, Moreno-Swirc S, Vercauteren T, Peltier E, Cavé C, Heckly GB. In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(1):22-31. <https://doi.org/10.1164/rccm.200605-684OC>
5. Wellikoff AS, Holladay RC, Downie GH, Chaudoir CS, Brandt L, Turbat-Herrera EA. Comparison of in vivo probe-based confocal laser endomicroscopy with histopathology in lung cancer: A move toward optical biopsy. *Respirology*. 2015;20(6):967-74. <https://doi.org/10.1111/resp.12578>
6. Sorokina A, Danilevskaya O, Averyanov A, Zabozaev F, Sazonov D, Yarmus L, et al. Comparative study of ex vivo probe-based confocal laser endomicroscopy and light microscopy in lung cancer diagnostics. *Respirology*. 2014;19(6):907-13. <https://doi.org/10.1111/resp.12326>
7. Danilevskaya O, Averyanov A, Lesnyak V, Chernyaev A, Sorokina A. Confocal laser endomicroscopy for diagnosis and monitoring of pulmonary alveolar proteinosis. *J Bronchology Interv Pulmonol*. 2015;22(1):33-40. <https://doi.org/10.1097/LBR.0000000000000126>
8. Yserbyt J, Dooms C, Decramer M, Verleden GM. Acute lung allograft rejection: diagnostic role of probe-based confocal laser endomicroscopy of the respiratory tract. *J Heart Lung Transplant*. 2014;33(5):492-8. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2014.01.857>
9. Salaün M, Roussel F, Bour-Heckly G, Vever-Bizet C, Dominique S, Genevois A, et al. In vivo probe-based confocal laser endomicroscopy in amiodarone-related pneumonia. *Eur Respir J*. 2013;42(6):1646-58. <https://doi.org/10.1183/09031936.00191911>
10. Shafiek H, Fiorentino F, Cosio BG, Kersul A, Thiberville L, Gómez C, et al. Usefulness of Bronchoscopic Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy in the Diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Respiration*. 2016;92(1):40-7. <https://doi.org/10.1159/000447431>