

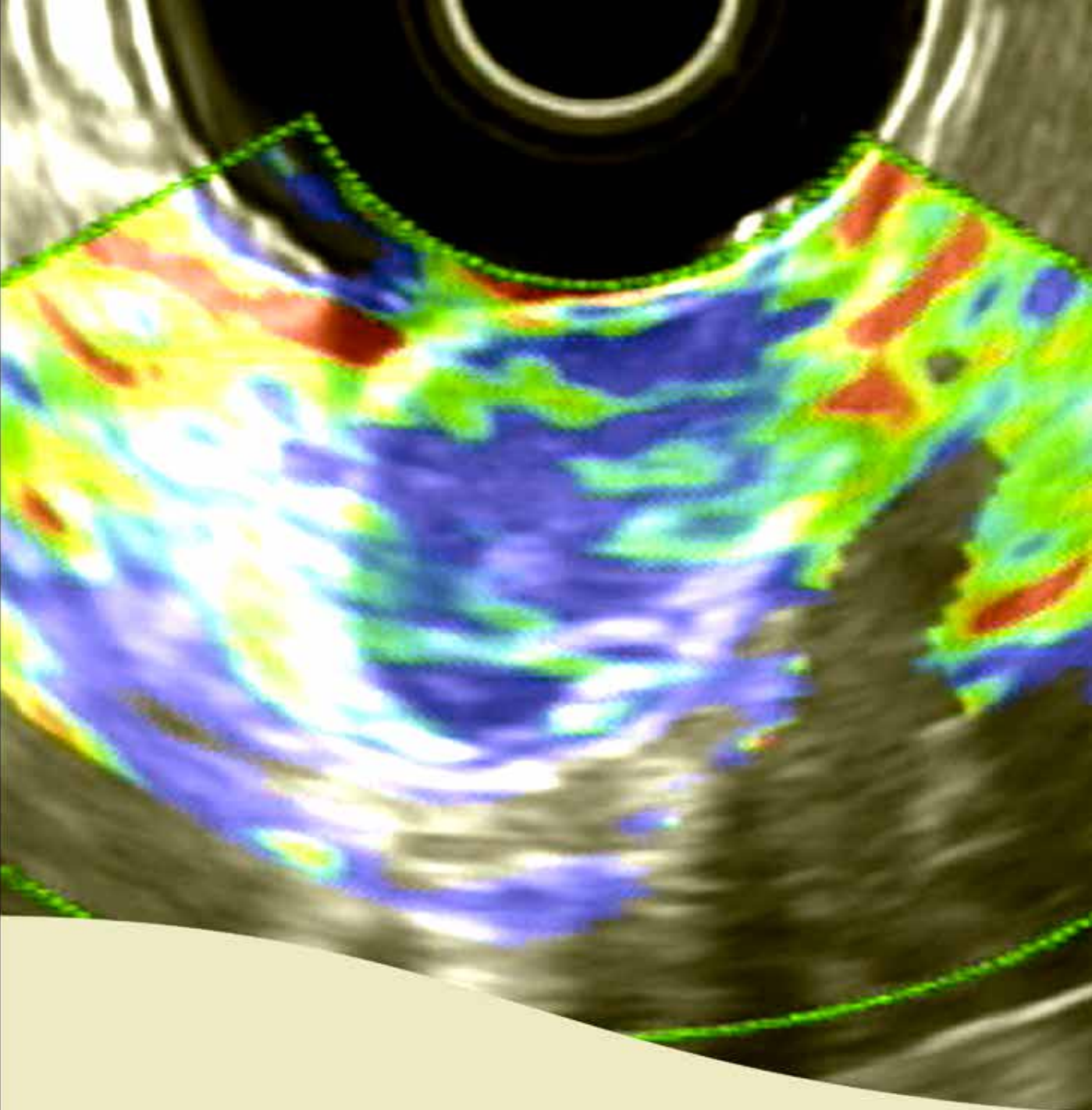


Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



UTILIDAD DE LA ECOENDOSCOPIA CON CONTRASTE EN EL DIAGNÓSTICO DE LESIONES SUBEPITELIALES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL ALTO

Tesis Doctoral

Monder Abu-Suboh Abadia

Enero 2020



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**UTILIDAD DE LA ECOENDOSCOPIA CON CONTRASTE EN EL DIAGNÓSTICO DE
LESIONES SUBEPITELIALES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL ALTO**

AUTOR:

Monder Abu-Suboh Abadia

Directores:

Dr. Manel Armengol Carrasco

Dr. Óscar González López

Tutor:

Dr. Manel Armengol Carrasco

Barcelona, 2020

PROGRAMA DE DOCTORAT EN CIRURGIA I CIÈNCIES MORFOLÒGIQUES
DEPARTAMENT DE CIRURGIA
FACULTAT DE MEDICINA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

13	AGRADECIMIENTOS
15	ABREVIATURAS
19	1. INTRODUCCIÓN
19	1.1. Lesiones subepiteliales del tracto digestivo
19	1.1.1. Diagnóstico diferencial
19	1.1.2. Incidencia
20	1.1.3. Clínica
20	1.1.4. Localización
20	1.2. Diagnóstico de las lesiones subepiteliales
22	1.2.1. Diagnóstico por endoscopia
23	1.2.2. Diagnóstico por ecoendoscopia
32	1.2.3. Diagnóstico histológico
40	1.3. Pronostico de las lesiones subepiteliales
41	1.4. Ecoendoscopia mejorada con contraste
47	1.5. Elastografía
53	2. JUSTIFICACIÓN
53	2.1. JUSTIFICACIÓN
57	3. HIPÓTESIS
57	3.1. HIPOTESIS

61	4. OBJETIVOS
61	4.1. Objetivo principal
61	4.2. Objetivos secundarios
65	5. PACIENTES Y MÉTODOS
65	5.1. Diseño
65	5.2. Población a estudio
65	5.2.1. Criterios de inclusión
65	5.2.2. Criterios de exclusión
67	5.3. Procedimiento
67	5.3.1. Participantes
68	5.3.2. Exploración ecoendoscópica
70	5.3.3. Diagnóstico histológico y seguimiento
72	5.4. Definición de variables
73	5.5. Tamaño de la muestra
73	5.6. Métodos para la obtención de datos
73	5.7. Análisis estadístico
79	6. RESULTADOS
89	7. DISCUSIÓN
97	8. CONCLUSIONES
101	9. BIBLIOGRAFÍA



A mi mujer, Mapi, por sacar lo mejor de mí.

A mis hijos Clara, Pol y Alex, por creer en mí y ser el motor de mi vida.

A mis padres por enseñarme con su ejemplo el valor del esfuerzo.

A mis hermanos por su complicidad incondicional.

Cada persona que pasa por nuestra vida es única.

Siempre deja un poco de sí y se lleva un poco de nosotros”

Jorge Luis Borges

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. Óscar González López por contagiarme su entusiasmo al embarcarme en esta aventura. No cabe duda que sus consejos, aportaciones y dedicación han enriquecido este trabajo. Hago extensivo el agradecimiento a mi director y tutor Dr. Manel Armengol Carrasco por su cercanía, accesibilidad y predisposición durante la realización de esta tesis.

Quisiera agradecer y hacer una mención especial al Dr. JR Armengol Miró, por confiar en mi desde que era residente, cuyo ejemplo de tenacidad y esfuerzo ha sido una inspiración para mi y todos los que trabajamos con él.

Estoy especialmente agradecido a mis amigos y compañeros del Servicio de Endoscopia Digestiva, que de una manera u otra han sido claves en mi vida profesional y personal. Al Dr. Joan Dot, por su amistad, por haberme enseñado y ayudado desde que empecé en este servicio, siendo fundamental en mi formación. Al Dr. Masachs por acompañarme tan de cerca en la realización de este trabajo. Su amistad, ánimo y motivación han sido claves. Al Dr Jordi Armengol por su apoyo y confianza. A mi amigo, Dr. Miguel A. Guirola por su ayuda en la recopilación de los datos del trabajo. A las Dras. Anna Benages y Loli Castillo, por el especial cariño que les tengo habiéndolas visto crecer desde residentes hasta compartir con ellas sala de endoscopia. Al Dr. Jorge Guevara, por hacer siempre las cosas fáciles. Y al Dr. Marc Pigrau, por sus consejos y trucos. Al Dr. Mario Pascasio por su ayuda los días impares de los meses pares de los años impares. No puede faltar mi agradecimiento a Maria Angels Milà por ser un “curcó” y colaborar de forma activa en que cumpliera los plazos que me proponía. También quiero hacer un reconocimiento a Carolina Clavera, Rosa Val, David Suarez, Carme Carballo y Montse Víctor, por su colaboración en la realización de los procedimientos. Y a Carme Martí, Montse Martí, Nuria Sánchez y Esther Alonso por tener siempre listos los equipo de ecoendoscopia. No puede faltar un agradecimiento también para Dani Brocal y Lidia Galofré.

Quiero tener una mención especial para la Dra. M. Carme Dinarés por su amable contribución, y su desinteresada colaboración con los aspectos más arduos de la anatomía patológica.

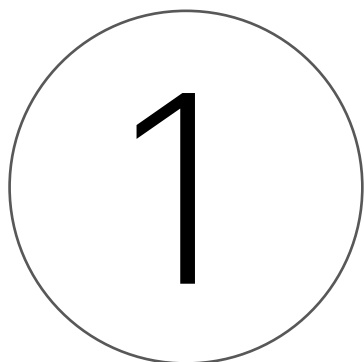
No quiero olvidar hacer una mención al servicio de anestesia, cuya participación es crucial para realizar los procedimientos.

Finalmente, mi reconocimiento a Santi Pérez Hoyos, por su rapidez y paciencia a lo largo de todo el análisis estadístico.

A todos ellos, muchísimas gracias.

ABREVIATURAS

GIST	Gastro Intestinal Stromal Tumor, Tumor del estroma gastrointestinal
TAC	Tomografía Axial Computarizada
RMN	Resonancia magnética nuclear
USE	Ultrasonografía endoscópica
PAAF	Punción Aspiración con Aguja Fina
PDGFRA	Platelet-derived growth factor receptor A
SDH	Succinato deshidrogenasa
ICC	Células intersticiales de Cajal
NF-1	Neurofibromatosis tipo 1
SD	Desviación estándar, del inglés Standard Deviation
c-kit	Proteína tirosin quinasa, del inglés tyrosine-protein kinase
CD	Grupo de diferenciación, del inglés Cluster of differentiation
USE-PAAF	Ultrasonografía endoscópica-punción aspiración con aguja fina
CIC	Células intersticiales de Cajal
SCF	Factor de células madre (Stem cell factor)
SDCH	Succinato deshidrogenasa
MAPK	Protein-quinasa activada por mitógeno
NTRK-3	Receptor neurortrófico de tirosin quinasa tipo 3
FGFR1	Receptor 1 del factor de crecimiento fibroblástico
HI	Imagen armónica (harmonic image)
ACE	Agentes de contraste ecográfico
RTE-EUS	Ultrasonografía endoscópica con elastografía en tiempo real (del inglés, Real Time Elastography)
CH-EUS	Ultrasonografía endoscópica con contraste (del inglés Contrast Enhanced Endoscopic Ultrasound)



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Lesiones subepiteliales del tracto digestivo

Se define lesión subepitelial o submucosa del tracto digestivo, como cualquier masa o protrusión de la pared gastro-intestinal, con mucosa suprayacente normal. Las lesiones subepiteliales pueden originarse en cualquier capa de la pared gastrointestinal (lesiones intramurales), o fuera de la pared (extramurales). Usualmente las lesiones subepiteliales son hallazgos incidentales durante endoscopias de rutina o exámenes radiológicos (exámenes baritados, resonancia magnética o tomografía computarizada), y no acostumbran a explicar los síntomas que motivaron la exploración.¹

1.1.1. Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial incluye lesiones benignas (leiomiomas, lipomas, tumores de células granulares, páncreas ectópico, quistes de duplicación), lesiones malignas o con potencial de malignización, (tumores carcinoides, tumores del estroma gastrointestinal –o GIST, por sus siglas en inglés-, metástasis), vasos intramurales, o compresiones extrínsecas por estructuras normales o tumores.

1.1.2. Incidencia

No existen datos fiables, sobre la incidencia de las lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal, dado que la mayoría de los casos permanecen asintomáticos y no se diagnostican.

Estudios de piezas quirúrgicas y post-mortem han encontrado leiomiomas esofágicos hasta en un 8% de los casos y tumores mesenquimales gástricos en la mitad de los pacientes que murieron con una edad superior a los 50 años.² Un estudio que valoró la existencia de lesiones “semilla”, es decir lesiones de un tamaño de entre 0.2-12 mm, encontró que en 150 resecciones por cáncer de esófago o de unión gastroesofágica, más del 50% presentaban este tipo de lesiones. De estas un 10% correspondieron a GIST mientras que un 47% corresponden a leiomiomas.³

Fuera de las series de necropsia, en pacientes vivos, estas lesiones, se diagnostican con menor frecuencia. Un estudio endoscópico de 1991 describió el hallazgo de lesiones subepiteliales gástricas en 54 de 15104 exploraciones de rutina (0.36%).⁴ Se puede asumir que, con las mejoras tecnológicas de los equipos, actualmente se diagnostiquen más lesiones. Un estudio asiático publicado en 2005 encontró lesiones subepiteliales en 795 de 104159 gastroscopias (0.76%)⁵ y otro en 188 de 5307 endoscopias (3.5 %)⁶.

1.1.3. Clínica

Aunque las lesiones subepiteliales son en su gran mayoría asintomáticas y no explican la clínica que motivó la exploración que las diagnosticó, también pueden presentarse de forma sintomática. Sus formas de presentación en función del tamaño y la localización son hemorragia digestiva, dolor, disconfort abdominal, disfagia o síntomas relaciones con obstrucción intestinal.⁷⁻¹⁰

1.1.4. Localización

Las lesiones subepiteliales no se distribuyen de forma uniforme en todo el tracto gastrointestinal, en las series de endoscopia digestiva alta que reportan hallazgos de lesiones subepiteliales, el estómago es el órgano más frecuentemente afectado (60-70% de los casos), seguido del esófago (20-30%), encontrándose menos de un 10% en el duodeno. Los hallazgos endoscópicos pueden variar des de leves protrusiones de la pared hasta pequeños pólipos o grandes masas que protruyen de la pared.^{1,9}

Al igual que con las técnicas radiológicas baritadas, la endoscopia no es capaz de diferenciar de manera fiable entre verdaderas lesiones subepiteliales, varices, compresiones externas, además tampoco es capaz de diagnosticar el tipo de lesión, la profundidad, la extensión o afectación de órganos vecinos.

La determinación del tipo de lesión subepitelial es relevante debido a que una quinta parte de estas lesiones pueden ser potencialmente malignas, tal como se recoge en la literatura.¹¹

1.2. Diagnóstico de las lesiones subepiteliales

Muy frecuentemente las lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal son hallazgos incidentales en el curso de procesos diagnósticos de otras entidades. Lo más habitual es que durante la realización de una endoscopia, se visualice una protrusión de la pared gastrointestinal o esofágica.¹² (Figura 1). En otras ocasiones son detectadas durante la realización de un examen baritado u otras pruebas radiológicas (TAC, RMN).

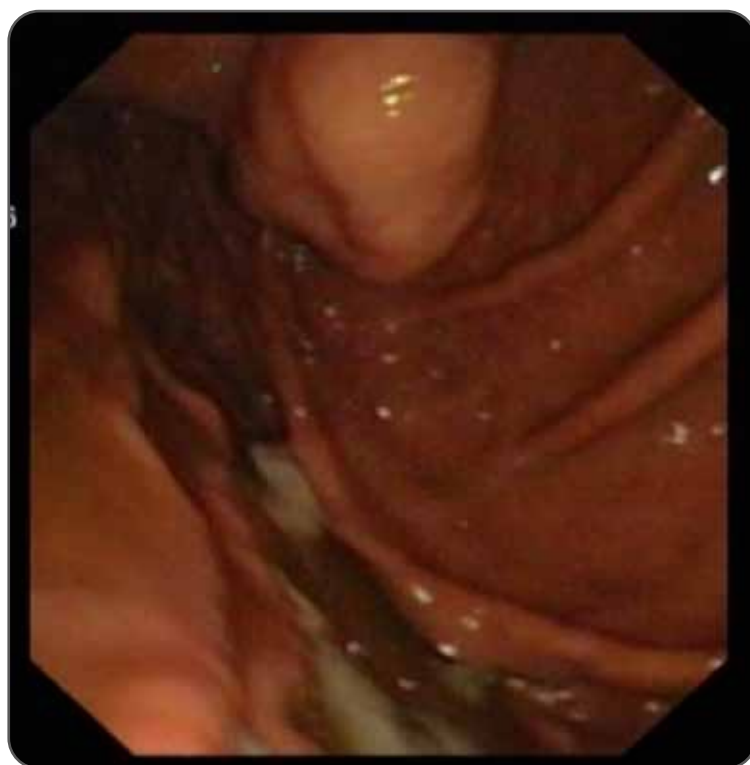


Figura 1: Protrusión de la pared gástrica, en fundus, producida por una lesión subepitelial.

La endoscopia simple, aporta datos que pueden ayudar a orientar el diagnóstico de este tipo de lesiones, como es la presencia de ulceraciones, la morfología general de la lesión, la presencia de umbilicaciones. En particular la endoscopia tiene una alta especificidad diagnóstica para diagnosticar lipomas, basado en la presencia o ausencia del signo de la almohada con una especificidad alta (99%), no obstante, la sensibilidad de este signo es baja (40%).¹³

Independientemente de la técnica que ponga en evidencia la existencia de una lesión submucosa, las guías de la ASGE (American Society for Gastrointestinal Endoscopy), recomiendan que una vez conocida la existencia de una lesión subepitelial en el tracto gastrointestinal alto, la primera prueba a realizar para intentar caracterizarla es una ecoendoscopia.^{14,15}

Si comparamos la endoscopia con la ultrasonografía endoscópica para evaluar diferentes aspectos de estas masas como tamaño, localización intramural o extramural o sospecha diagnóstica, la endoscopia ha demostrado ser útil para determinar el tamaño de estas masas, especialmente si la estimación se realiza usando una referencia de tamaño conocida (como una pinza de biopsia abierta). Utilizando este método se encuentra una buena correlación ($r=0.88$ [$p<0.001$]) entre las medidas tomadas mediante ecoendoscopia y endoscopia convencional. Esta correlación es menor cuando las lesiones son provo-

casos por compresiones extrínsecas ($r=0.56$), en este caso las medidas endoscópicas son menos precisas.¹⁶

La ecoendoscopia es la técnica de referencia o “*gold standard*” para la evaluación de lesiones subepiteliales, en tanto que es capaz de diferenciar entre compresiones extrínsecas y verdaderos crecimientos intramurales, establecer la capa de origen de la lesión, determinar de forma precisa el tamaño,¹⁶ evaluar la existencia de adenopatías loco-regionales, además permite la obtención de muestras de tejido para estudio histológico y esta información es útil para plantear una estrategia de tratamiento adecuada.¹³

1.2.1. Diagnóstico por endoscopia

La endoscopia es la primera prueba a realizar cuando se sospecha una lesión subepitelial del tracto digestivo.¹⁴ La sospecha puede proceder de la clínica: anemia, dolor abdominal, cuadro de dificultad del vaciamiento gástrico. O en otros casos la presunción se establece por otra exploración complementaria, habitualmente radiológica.

A pesar de que la endoscopia convencional tiene limitaciones en comparación con la ecoendoscopia, su accesibilidad y seguridad, hace de ella una prueba útil en el algoritmo diagnóstico de estas lesiones.

La endoscopia nos va a aportar información fiable en relación al tamaño de la lesión, con una buena precisión comparada con la USE ($r=0.72$ [$p<0.001$]). Si se tienen en cuenta sólo las lesiones intramurales la correlación es muy buena ($r=0.88$ [$p<0.001$]). Aunque esta correlación empeora para las compresiones extrínsecas ($r=0.56$).¹⁶

En cuanto a la consistencia de la lesión, refiriéndonos a su naturaleza sólida o quística, la endoscopia ha demostrado una precisión del 95% CI(89%-98%) para determinar la consistencia de la lesión comparado con la ecogenicidad de la lesión en USE.¹⁶

Existen signos específicos en la endoscopia, como es el signo de la almohada (“pillow sign”). En un estudio en que se incluyeron 100 pacientes con lesiones subepiteliales, se encontró un signo de la almohada positivo en 7 lesiones. De estas, en 6 casos se confirmó que se trataba de un lipoma, basándose en la semiología USE. Usando la USE como criterio standard para diagnosticar lipomas, el signo de la almohada en endoscopia tiene una baja sensibilidad (40%), pero una alta especificidad (98.8%).¹⁶

En el estudio de Hwang et al, en que se valoraron mediante endoscopia y ecoendoscopia a 100 pacientes con lesiones subepiteliales, se observó que el diagnóstico de presunción después de la endoscopia y la ecoendoscopia coincidían en 71 casos (72%) y diferían en 28 (28%). El grado medio de certeza en cuanto al diagnóstico de presunción fue del

69% (SD 14%) después de la endoscopia y aumentó hasta un 90% (SD 12%) después de la USE ($p < 0.001$).¹⁶

Por otro lado, la endoscopia no es útil para diagnosticar otros tipos de lesiones subepiteliales y es necesaria la USE para evaluar estas lesiones.¹⁷

Otros estudios han demostrado, que incluso cuando el endoscopista sospecha la existencia de una lesión submucosa o subepitelial, esta puede originarse fuera de la pared gastrointestinal hasta en un 30% de los casos.^{18,19} Un estudio multicéntrico internacional reportó una sensibilidad y especificidad para la capacidad de diferenciar entre una lesión intramural y una compresión extrínseca con endoscopia del 87% y 29% respectivamente.¹⁹ En este trabajo el 15% de las lesiones subepiteliales referidas para estudio USE correspondían a compresiones extrínsecas.

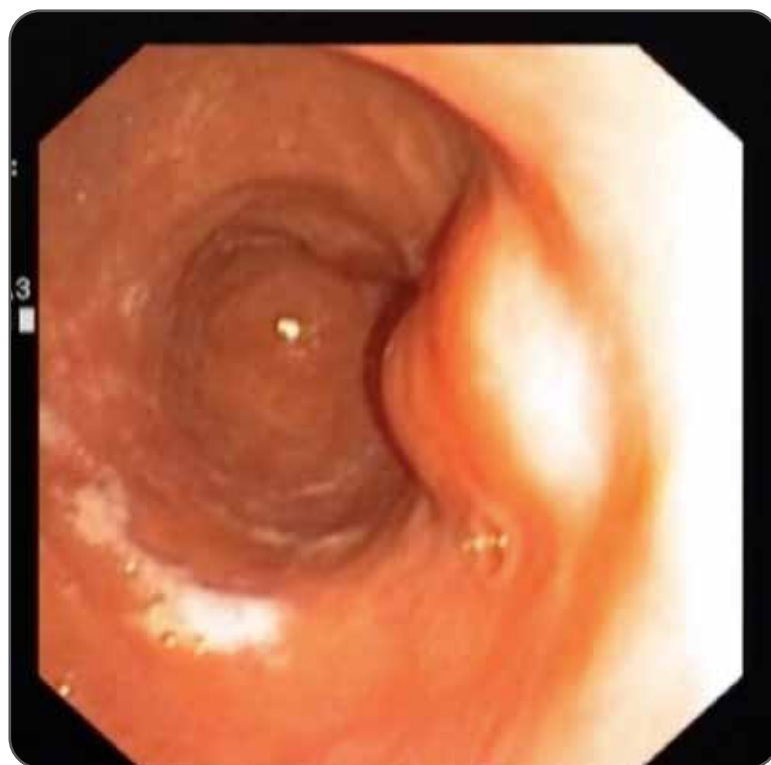


Figura 2: Signo de la almohada en protrusión de la pared gástrica, sugestivo de lipoma.

1.2.2. Diagnóstico por ecoendoscopia

Aparte del estudio histológico la prueba que más información va a aportar en el diagnóstico de las lesiones subepiteliales es la ecoendoscopia. Nos permite valorar de forma precisa una serie de características de estas lesiones como son: origen intramural, tamaño, capa en la que se origina, márgenes, ecogenicidad, patrón ecográfico, naturaleza sólida o

quística, vascularización, la presencia o ausencia de adenopatías adyacentes. En base a estos hallazgos se puede realizar una aproximación diagnóstica.

1.2.2.1 Anatomía de la pared gastrointestinal

La ecoestructura en capas de la pared gastrointestinal identifica 5 capas. Estas capas son 5 líneas alternas brillantes (hiperecoicas), y oscuras (hipoecoicas), con un grosor aproximado en total de 3-4 mm. (Figura 3). La primera línea hipercoica más superficial corresponde a la mucosa, seguida en profundidad de una oscura, que corresponde a la muscularis mucosae, seguida de otra brillante: submucosa, luego una capa oscura (muscularis propia), y finalmente otra capa brillante que corresponde a la serosa o adventicia.

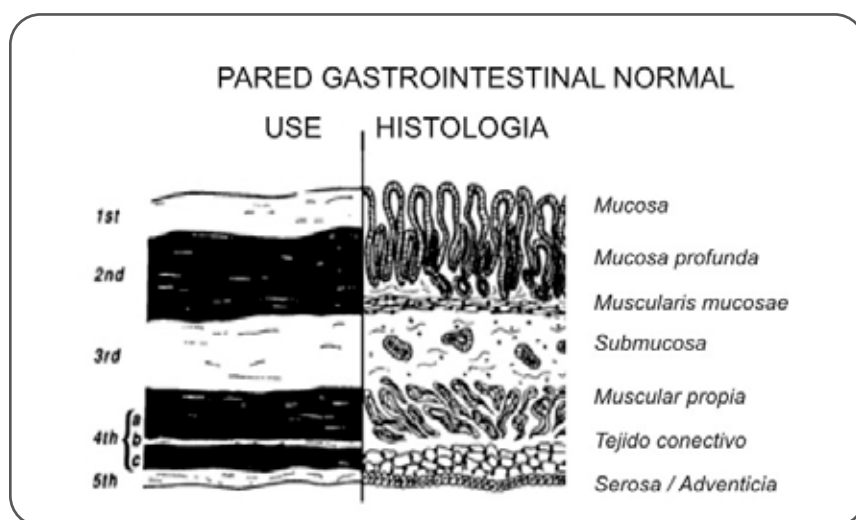


Figura 3: Ecoestructura en capas de la pared gastrointestinal.

En el caso de las lesiones extramurales, encontraremos una pared gastrointestinal con la ecoestructura en cinco capas de aspecto normal, interpuesta entre la lesión y la luz gastrointestinal. Es decir, se visualiza una pared gastrointestinal normal, adyacente a una estructura (normal o patológica), que comprime esta pared condicionando una protrusión de la pared. Un conocimiento de la anatomía ultrasonográfica normal es importante para determinar si la estructura causante de la compresión es una estructura normal (como puede ser el bazo, la arteria esplénica o la vesícula biliar), o en cambio se trata de una estructura patológica (como un pseudoquistes, una lesión neoplásica, adenopatías o aneurismas).¹⁸

1.2.2.2. Etiología de las lesiones subepiteliales

Las entidades que más frecuentemente podemos encontrar en el estudio de lesiones subepiteliales son las siguientes:

» Tumor del estroma gastrointestinal

En la clínica suele denominarse GIST, de sus iniciales en inglés: *Gastrointestinal stromal tumor*. La nomenclatura de los tumores mesenquimales está en evolución debido al aumento de conocimiento de sus características moleculares, histológicas y clínicas que permiten diferenciar entre diferentes tipos de tumores. Uno de los más frecuentes en el tracto gastrointestinal, el GIST, inicialmente se pensaba que era de origen muscular, no obstante, un conocimiento más completo de sus marcadores y comportamiento biológico ha demostrado que componen un grupo heterogéneo de tumores con diferentes orígenes, diferenciación celular y prognosis.

En lo que respecta al diagnóstico mediante ultrasonografía endoscópica, los GIST son típicamente lesiones hipoeoicas, homogéneas, con márgenes bien definidos, a pesar de que en raras ocasiones pueden presentar márgenes irregulares y úlceras. Se originan predominantemente en la muscular propia (4ª capa). Aunque también pueden originarse en la segunda capa (*muscularis mucosae*), siendo en esta localización lesiones de menor tamaño. En ocasiones se presentan como lesiones heterogéneas debido a fenómenos de necrosis, presencia de tejido conectivo o degeneración quística o hialina.²⁰

Se han descrito características de la lesión que orientan hacia una etiología agresiva o maligna, como son el tamaño de la lesión (> 4 cm), borde extraluminal irregular, heterogeneidad, puntos ecogénicos y espacios quísticos de tamaño superior a 4 mm.²⁰ Utilizando estos criterios para predecir malignidad de forma preoperatoria se obtiene una sensibilidad que va del 80 al 100%. A pesar de esto, hay que remarcar que existe una pobre correlación inter-observador para estas características.^{20,21}

Otro estudio describió otras características lesionales para predecir malignidad: margen extraluminal irregular, existencia de espacios quísticos, ganglios aumentados de tamaño.²² La presencia de al menos una de estas características demostró tener una sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo de 91,88 y 93 % respectivamente. La presencia de dos de estas características se asoció a un valor predictivo positivo del 100% para malignidad o tumor *borderline*. Las características que se asociaban a tumores benignos fueron: márgenes regulares, lesión de tamaño inferior a 3 cm y patrón ecográfico homogéneo. Todas las lesiones que presentaban estas tres características fueron de baja agresividad.²²

En cualquier caso, el diagnóstico definitivo, requiere una toma de biopsia adecuada, para poder realizar un estudio histológico.²³

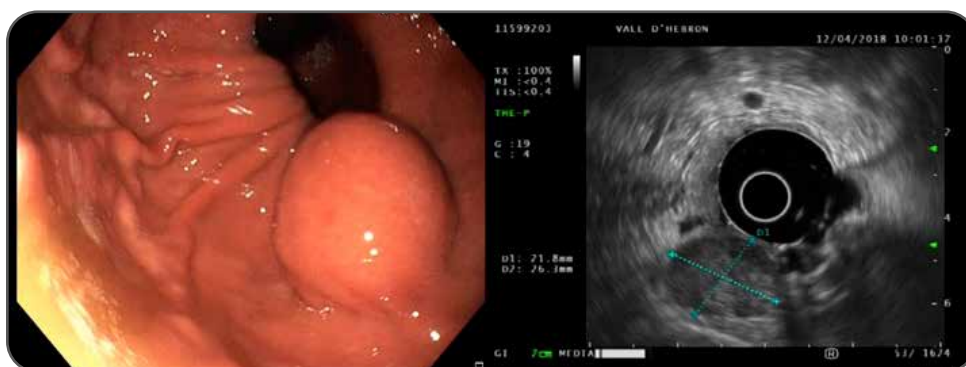


Figura 4: En la imagen de la izquierda se observa protrusión de la pared gástrica en la porción alta de cuerpo gástrico con mucosa de aspecto endoscópico normal. La imagen de la derecha muestra ecoendoscopia en modo B, donde se identifica una lesión hipoeoica, heterogénea de márgenes bien delimitados, sin infiltración de aspecto sólido, que se origina en 4a capa (*muscularis propia*), sugestivo de GIST.

» Leiomiomas y leiomiosarcomas

Los leiomiomas son tumores mesenquimales benignos de tracto gastrointestinal con diferenciación muscular. En su estudio inmunohistoquímico son lesiones positivas a actina de musculo liso y negativas para c-kit (CD117).

La ecoendoscopia es el método más preciso para diagnosticar leiomiomas y diferenciar estas lesiones de otras lesiones mesenquimales incluido el leiomiosarcoma.

Estas lesiones se originan básicamente en la muscular propia (4ª capa) y raramente en la muscularis mucosae (2ª capa).

Estas lesiones son más frecuentes en esófago, intestino delgado y recto, siendo raras en estómago.

Por USE se aprecian lesiones hipoeoicas, homogéneas, alguna vez casi anecoicas con márgenes suaves. En ocasiones pueden presentar calcificaciones.^{24,25}

Los leiomiosarcomas son tumores muy raros en el tracto gastrointestinal, y cuando se presentan lo hacen casi exclusivamente en intestino delgado.

» Schwannomas

Son las lesiones más raras del tracto gastrointestinal.²⁶ Se originan en la túnica de la muscularis propia y se presentan usualmente en estomago (60-70%) o colon (20-30%) y raramente en intestino delgado.

Macroscópicamente son tumores que recuerdan a los GIST, a veces plexiformes, acostumbran a presentar un cojín linfoide alrededor.

Habitualmente tienen un aspecto benigno. Por use se observan lesiones homogéneas, bien delimitadas muy hipoecoicas, que se origina en las capas musculares profundas con un halo marginal hipoecoico, que corresponde al cojín linfoide.²⁷⁻²⁹

» Lipomas

Los lipomas son lesiones intramucosas benignas formadas por adipocitos maduros que normalmente son un hallazgo incidental durante la endoscopia. Pueden aparecer en cualquier parte del tubo digestivo, pero son más frecuentes en el tracto gastrointestinal bajo. Acostumbran a ser de pequeñas (< 4 cm). Estas lesiones normalmente son asintomáticas, y cuando dan síntomas, estos son el resultado de sangrado de la lesión, dolor abdominal y obstrucción intestinal. Los lipomas no tienen potencial de degeneración.

Sus características endoscópicas son muy definidas: normalmente se presentan como lesiones aisladas, solitarias, con mucosa suprayacente normal, un color amarillento y aspecto suave. Al apretarlo con una pinza se colapsan para crear una muesca que es conocida como el “signo de la almohada”. Si se estira la mucosa que lo recubre con una pinza de biopsia se separa la mucosa de la lesión, formando el “signo de la tienda de campaña”.¹⁶

Al realizar la ecoendoscopia los lipomas se observan como lesiones hiperecoicas, homogéneas con márgenes regulares y bien delimitados que se origina en la submucosa (3ª capa).³⁰

» Tumores carcinoides

Los tumores carcinoides son tumores submucosos formados por células de origen endocrino y que tienen potencial de degeneración. Habitualmente son hallazgos incidentales. Acostumbran a ser asintomáticos, y cuando producen síntomas, éstos pueden incluir: hemorragia, dolor abdominal, obstrucción intestinal y síntomas endocrinos secundarios a la secreción de sustancias activas. En las series de EE. UU. Las localizaciones más frecuentes son en apéndice, recto e íleon, mientras en las series japonesas son en estómago, recto y duodeno.^{31,32}

Endoscópicamente son lesiones pequeñas, redondeadas y sésiles o polipoides con mucosa de aspecto endoscópico normal que rara vez aparece ulcerada. Pueden medir desde unos pocos milímetros hasta unos pocos centímetros. Las presentaciones gástricas e ileales suelen ser múltiples, mientras que los que aparecen en cualquier otra parte del tracto digestivo suelen ser solitarios.^{33,34}

Endosonográficamente se observan como lesiones homogéneas hipoeoicas o isoecoicas con márgenes regulares. Se originan en la mucosa o muscularis mucosae (1ª o 2ª capa) y pueden invadir la submucosa (3ª capa).

» Tumor de células granulares

Los tumores de células granulares son lesiones subepiteliales raras que tienen su origen en las células de Schwann. Estas células son, positivas para la proteína S-100 en las tinciones inmuno-histoquímicas. Su localización más frecuente es en la oro-faringe, la piel, tejido subcutáneo o mamas, pero pueden presentarse en cualquier parte del tubo digestivo o árbol biliar.³⁵ En el tracto gastrointestinal los lugares donde se presenta con mayor frecuencia son el tercio medio y distal del esófago.³⁶

Endoscópicamente se observan como lesiones pequeñas, aisladas, nodulares o polipoides, con mucosa suprayacente normal de coloración amarillenta. La mayoría son pequeños (<4cm) y únicos, aunque se han descrito lesiones multifocales.

La ultrasonografía endoscópica los describe como lesiones hipoeoicas, homogéneas con márgenes suaves, bien delimitados que se originan de mucosa y/o submucosa (1ª o 3ª capa).³⁵⁻⁴⁰

» Quistes de duplicación

Los quistes de duplicación son entidades raras que se producen en el desarrollo embrionario. Son más frecuentes en intestino delgado proximal, aunque también pueden encontrarse en esófago, estómago y colon.

Existen dos tipos de quistes de duplicación: los que son adyacentes a la luz (que han perdido la comunicación con la luz) y los que son tubulares y comunican directamente con la luz. Los quistes de duplicación están recubiertos por epitelio estratificado, ciliado o columnar y pueden contener material mucoide fluido.

Endoscópicamente se observa una protrusión de la pared con mucosa normal o como un divertículo con un tamaño que puede variar de varios milímetros hasta 5 cm. Estos divertículos tienen un aspecto suave sin irregularidades en la mucosa.⁴¹

Por ultrasonografía endoscópica se observan como lesiones anecoicas, homogéneas, con márgenes que regulares que se originan en la 3ª capa (submucosa) o extrínsecas a la pared gastrointestinal.⁴²

Como características ultrasonográficas cabe mencionar que sus paredes pueden estar caracterizadas por una estructura en 3 o 5 capas, pueden contener septos, fluido o material ecogénico. En casos en los que por TAC parece una lesión sólida, la USE puede ayudar a discriminar entre lesión sólida o quiste de duplicación.^{42,43}

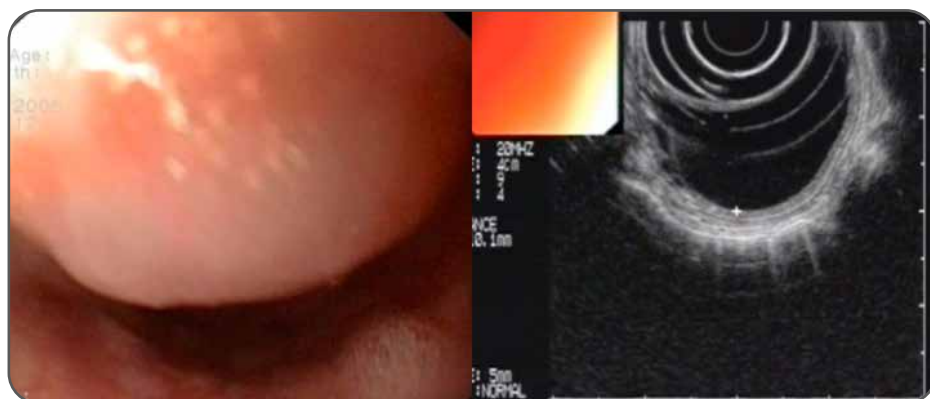


Figura 5: En la imagen de la izquierda se observa protrusión de la pared esofágica en tercio superior de esófago con mucosa de aspecto endoscópico normal. En la imagen de la derecha se visualiza ultrasonografía endoscópica que pone de manifiesto lesión anecoica, de 18 mm, que se origina en submucosa (3ª capa), con multiplicidad de capas, compatible con quiste de duplicación.

» Páncreas ectópico

También llamado páncreas aberrante, o páncreas heterotópico. El termino páncreas ectópico se usa para describir tejido pancreático ectópico, que se encuentra fuera de su localización normal, sin conexión anatómica o vascular con el propio páncreas.

Normalmente, como la mayoría de las lesiones submucosas, son hallazgos incidentales con una frecuencia que oscila entre el 0.6% y el 13.7%.⁴⁴ Se localizan típicamente en la pared gástrica (gran curvatura), aunque también en duodeno, intestino delgado, o cualquier parte del tracto gastrointestinal.

Estas lesiones normalmente son asintomáticas y las complicaciones, que son raras, incluyen: pancreatitis, formación de quistes, ulceración, sangrado, obstrucción, ictericia obstructiva y transformación neoplásica.⁴⁵

En la endoscopia se observa como una lesión submucosa, normalmente pequeña, que como característica presenta una umbilicación central que corresponde al conducto de

drenaje. La ultrasonografía visualiza lesiones heterogéneas, mayormente hipoecoicas aunque pueden tener una ecogenicidad intermedia, salpicada por áreas hiperecoicas con márgenes que no se diferencian bien de la pared intestinal.⁴⁵ Habitualmente presenta áreas anecoicas y engrosamiento de la 4ª capa. Estas áreas anecoicas se correlacionan con estructuras ductales. Generalmente estas lesiones se originan en la 3ª y 4ª capa, no obstante, pueden involucrar a una de las dos capas, con variaciones en la localización entre mucosa y serosa.

El manejo de estas lesiones sigue siendo controvertido y debe estar guiado por los síntomas y la posibilidad de malignización. Como norma general las lesiones asintomáticas no necesitan ser resecadas y se puede mantener una actitud expectante. La resección endoscópica es útil tanto para el tratamiento como para realizar un diagnóstico histológico preciso. Cuando la lesión afecta la muscularis mucosa es preferible el tratamiento quirúrgico en los casos en los que sea necesario.⁴⁶⁻⁴⁸

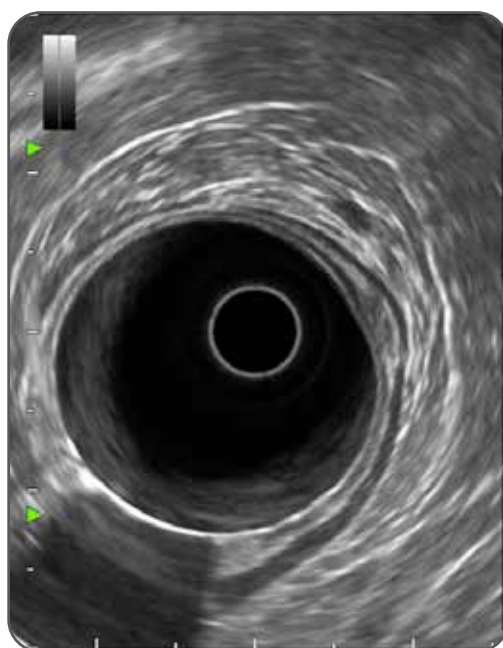


Figura 6: Entre las 2 y las 3 de la circunferencia se identifica lesión subepitelial heterogénea con origen en capas superficiales, mal delimitada, sin infiltración, en la que se distinguen puntos anecoicos compatible con canalículos. Esta lesión es compatible con páncreas ectópico.

» Varices

Los pacientes con hipertensión portal pueden presentar varices, que pueden confundirse con lesiones subepiteliales o engrosamiento de pliegues gástricos. Esta puede ser una situación peligrosa cuando se encuentran de forma incidental en pacientes de los que no

se dispone de información clínica, dado que es peligroso y poco recomendable tomar una biopsia de una lesión así sin realizar una USE previamente.

La ecoendoscopia muestra lesiones redondeadas u ovaladas, pequeñas, anecoicas, situadas en la submucosa (3ª capa). Se diferencian de los quistes de duplicación porque estos últimos acostumbra a ser solitarios. Cuando las varices son de mayor tamaño se observan como estructuras tubulares anecoicas serpiginosas de márgenes lisos, acompañadas de circulación colateral perigástrica. En casos de hipertensión portal severa, los planos de visión ecográfica de múltiples varices fúndicas pueden mostrar un patrón en “queso suizo”.⁴⁹



Figura 7: En la imagen de la izquierda se protrusión de la pared gástrica a nivel de fundus. En la imagen central se identifican imágenes anecoicas, que se originan en la submucosa, serpiginosas compatibles con varices. La imagen de la derecha pone de manifiesto la presencia de flujo vascular con Doppler positivo.

» Pólipo fibroide inflamatorio

Se trata de un pólipo raro, benigno, que usualmente se presenta en el estómago, aunque ocasionalmente se puede localizar en intestino delgado, estómago y ocasionalmente en colon. Esta lesión se origina en la segunda y/o tercera capa de la pared gástrica con una cuarta capa intacta. Las características ecográficas de estas lesiones son un margen mal diferenciado con un patrón ecográfico hipoeoico y homogéneo. En ocasiones puede tener un patrón ecogénico interno heterogéneo o hiperecoico (que corresponde a la presencia de pequeños vasos sanguíneos).^{50,51}

ETIOLOGIA	CAPAS	ASPECTO USE
GIST	4 o 2	Masa hipoeoica (bordes irregulares, puntos hiperecogénicos, espacios anecoicos)
Leiomiomas	4 o 2	Hipoeoicos, homogéneos, pueden presentar calcificaciones
Schwannomas	4	Bien delimitado, hipoeoico con halo marginal
Lipoma	3	Hiperecoico
Carcinoide	2,3	Predominantemente hipoeoico (homogéneo)
Tumor Celulas granulares	2,3	Masa homogénea con bordes lisos

ETIOLOGIA	CAPAS	ASPECTO USE
Quistes duplicacione	3	Anecoicos, redondeados o ovalados, 3 o 5 capas de pared
Varices	3	Anecoicas, tubulares, serpenteantes, doppler +
Páncreas aberrante	2,3,4	Hipoecocio o ecogenicidad mixta (Pueden existir estructuras anecoicas ductales)
Pólipo fibroide inflamatorio	3,4	Hipoecoico, homogéneo o ecogenicidad mixta, márgenes indistinguibles

Tabla 1: Principales características ultrasonográficas y capa de origen de las lesiones subepiteliales del tracto gastro-intestinal.

1.2.3. Diagnóstico histológico

En ocasiones, especialmente en lesiones hipoecoicas que se originan en la segunda y cuarta capa ecográficas, las características endoscópicas y endosonográficas no son suficientes para realizar un diagnóstico preciso o determinar su comportamiento biológico. La biopsia percutánea no está recomendada en lesiones sospechosas de ser un GIST debido al riesgo de ruptura y de diseminación peritoneal. Las biopsias endoscópicas, como biopsia sobre biopsia o biopsia tras retirar la capa mucosa mediante resección endoscópica, denominada técnica de *unroofing* tienen bajo rendimiento diagnóstico y se asocian a un notable riesgo de sangrado.^{52,53}

La punción aspiración con aguja fina guiada por ultrasonografía endoscópica (USE-PAAF), es útil para obtener material citológico de tumores pancreáticos, adenopatías y otras lesiones. En el caso de las lesiones subepiteliales, obtener material citológico es técnicamente complejo y en los primeros estudios de los años noventa, presentaba una sensibilidad, especificidad y precisión inaceptablemente bajas.^{54,55} Trabajos más recientes han demostrado que la citología puede diagnosticar lesiones de células fusiformes o neoplasias epiteloides con unos valores satisfactorios de sensibilidad y especificidad.⁵⁶⁻⁵⁸ A pesar de esto, es difícil diferenciar entre GIST, Schwannomas y leiomiomas, tanto entre ellos como del material de contaminación de la pared gastrointestinal, dado que citológicamente en todas estas lesiones se observan células fusiformes de aspecto benigno. Existen pocas características citológicas que sugieran malignidad, como son células individuales o núcleos pleomórficos o hiper cromáticos. No obstante, la valoración citológica no es suficiente para pronosticar el comportamiento de un GIST, en particular porque el aspecto citológico de un GIST epitelioide puede simular al de un adenocarcinoma o un tumor neuroendocrino.⁵⁹⁻⁶¹

Características histológicas y citológicas de las lesiones subepiteliales mesenquimales más relevantes:

- GIST

Des del punto de vista etiopatogénico los GIST se pueden dividir en tres familias: los GIST familiares, los GIST pediátricos y los GIST espontáneos o “*wild type*”. A pesar de que la mayoría de GIST son esporádicos, aproximadamente un 5% de los pacientes tienen algún síndrome familiar autosómico dominante, incluyendo neurofibromatosis tipo 1, síndrome de Carney-Stratakis y síndrome de GIST primario familiar.

Los pacientes con neurofibromatosis tipo 1 tienen mayor incidencia de GIST, dentro de este grupo son más frecuentes los GIST de intestino delgado (más del 70%) y múltiples. En estos pacientes, tan solo un escaso número de casos presenta mutaciones en los genes de KIT o del receptor A del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRA, *platelet-derived growth factor receptor A*)^{62,63}. Habitualmente KIT está sobreexpresada en los tumores espontáneos debido a mutaciones en los genes de KIT o PDGFRA, pero el mecanismo de sobreexpresión no está claro. En los casos de GIST que aparecen en la neurofibromatosis tipo 1, no se han encontrado mutaciones en el gen que codifica una subunidad de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH).

Se han identificado bastantes familias con mutaciones heredables del gen que codifica KIT (síndrome de GIST primario familiar). Estas familias tienen una predisposición a desarrollar de forma temprana múltiples GIST gástricos y en intestino delgado. En algunos casos se acompaña de hiperpigmentación cutánea, disfagia o tumores gastrointestinales del sistema vegetativo como paragangliomas.⁶²⁻⁷⁰

Los GIST familiares y esporádicos son indistinguibles des del punto de vista de sus características fenotípicas, histológicas y moleculares. En bastantes pacientes con GIST familiares resecaados se ha observado que en la pared intestinal adyacente existe un infiltrado difuso de hiperplasia células intersticiales de Cajal (plexo de Auerbach), por lo que también se ha postulado que esta puede ser la lesión precursora. Este hallazgo es diferente de la hiperplasia sindrómica de células intersticiales de Cajal, que se encuentra en los síndromes de GIST hereditario.

GIST en edad pediátrica: Los GIST son raros en niños, y tienden a encontrarse dentro de síndromes definidos, incluida la triada de Carney y el síndrome de Carney-Strakis.⁷¹ Al contrario que en adultos, el 85% de los GIST pediátricos no presentan mutaciones en KIT ni en PDGFRA.

No obstante, la mayor parte de los llamados GIST pediátricos son SDH deficientes, es decir que han perdido la función de una enzima SDH.

Los GIST que se presentan en niños tienen características clínicas y patológicas distintas. Además de presentar una predilección por el sexo femenino que no se observa en adultos. La presentación clínica más frecuente es el sangrado gastrointestinal crónico. La presentación multifocal gástrica y las metástasis ganglionares son más frecuentes que en adultos y la histología es más probable que sea epitelioide. Además a pesar de múltiples recurrencias y enfermedad metastásica los GIST en edad pediátrica tienen un curso más indolente que en adultos.⁶²

» CLASIFICACIÓN Y PATOGENESIS MOLECULAR

Hasta 1998, se consideraba que los GIST eran lesiones que derivaban histológicamente del músculo liso. Sin embargo, su perfil inmunofenotípico difiere del de los leiomiomas y leiomiomas que surgen de otros sitios (p. Ej., Útero o tejidos blandos). Posteriormente se constató que los GIST representaban una entidad distinta dentro de los tumores mesenquimales.⁷² Se descubrió que hasta dos tercios de los GIST eran positivos para CD34.²⁴ Sin embargo, CD34 no era selectivo ni específico para GIST.

Con la identificación del antígeno CD117, se logró un avance significativo. Este antígeno se expresa de forma casi universal en los GIST, mientras que los leiomiomas, leiomiomas y otras lesiones de células fusiformes del tracto gastrointestinal son típicamente negativos para CD117. El antígeno CD117 es sinónimo del receptor transmembrana de tirosin quinasa, el producto del protooncogén KIT (el homólogo humano del v-KIT del oncogén viral, y por lo tanto, a veces denominado c-KIT). También se ha demostrado que los GIST pueden llevar una mutación en el gen KIT, lo que conduce a una variante estructural de la proteína KIT, que se activa de forma anormal y permite la señalización oncogénica en la célula. Actualmente se ha establecido que más del 80% de los GIST tiene una mutación en el gen KIT.^{68,73,74}

» Origen celular de los GIST

Las células intersticiales de Cajal (CIC), a veces denominadas células marcapasos gastrointestinales, forman la interfaz entre la inervación autónoma de la pared intestinal y el músculo liso.¹¹ Tienen características inmunofenotípicas y ultraestructurales propias de células con diferenciación neuronal y de células del músculo liso y sirven para regular el peristaltismo. Debido a que los GIST, que tienen similitudes con las CIC, expresan proteína KIT y dos tercios de los GIST también expresan CD34¹¹, se ha propuesto un vínculo entre los dos. Se supone que los GIST se originan a partir de células madre positivas para CD-34 de la pared del intestino y se diferencian hacia el fenotipo de la célula marcapasos.⁷⁵⁻⁷⁷

Otro dato que apoya el origen de los GIST de las CIC, es que en tumores resecados se ha observado una hiperplasia de CIC difusa en la pared intestinal adyacente (plexo de

Auerbach) en varias familias con GIST familiar.^{66,67,78,79} Se cree que estas lesiones representan lesiones precursoras de los GIST en estos pacientes. La hiperplasia difusa de las CIC también puede representar una lesión precursora de los GIST esporádicos⁸⁰, y en estos casos, debe distinguirse de la hiperplasia sindrómica de las CIC asociada con los síndromes GIST hereditarios⁸¹.

Sin embargo, los GIST primarios que surgen fuera del tracto gastrointestinal en el epiplón, o incluso en el retroperitoneo, constituyen un hecho curioso. Estas lesiones son fenotípicamente idénticas a las lesiones GIST verdaderas de origen en el tracto gastrointestinal⁸²⁻⁸⁴. Aunque este hallazgo parece contradecir la hipótesis de que los GIST derivan de las CIC en la pared intestinal, se cree que estos tumores surgen de CIC que se dispersaron accidentalmente durante la embriogénesis^{65,76}

Histopatología: De acuerdo con la ubicación de sus células de origen, las células intersticiales de Cajal, en la pared intestinal, los GIST que se originan en el tracto gastrointestinal tienen generalmente una ubicación subepitelial. A medida que crecen, las lesiones más grandes pueden cursar con ulceración epitelial.

La morfología celular de los GIST oscila desde forma de huso (la forma predominante) hasta un rasgo epiteliode. Histológicamente la apariencia de estos tumores se divide en tres categorías relativamente uniformes.

- Tipo husiforme: 70%
- Tipo epiteliode: 20%
- Tipo mixto: 10%

Los GIST del tipo de células fusiformes se componen de células eosinófilas relativamente uniformes dispuestas en fascículos cortos o verticales.¹¹ En comparación con los leiomiomas, el citoplasma eosinofílico es más pálido y con frecuencia tiene una apariencia fibrilar. Los núcleos tienden a ser uniformes, y puede haber vacuolas citoplasmáticas yuxtannucleares y núcleo en empalizada. Hay mínimo colágeno estromal y es frecuente la hemorragia estromal. Es raro el pleomorfismo citológico y su presencia debe hacer plantear la posibilidad de un diagnóstico alternativo.

Los GIST epitelioides se componen de células redondeadas con citoplasma eosinófilo variable o transparente (pedir foto)⁸⁵. Tienden a tener núcleos redondos a ovales con cromatina vesicular, y puede presentar arquitectura en nidos, lo que puede confundirse con una neoplasia epitelial o melanocítica. Los GIST de tipo epiteliode son más a menudo

negativos a la expresión de KIT, a las mutaciones del gen PDGFRA y se presentan con mayor frecuencia en el estómago.⁸⁶

Los GIST del tipo mixto pueden tener áreas de transición abrupta entre el huso y las áreas epitelioides o una mezcla compleja de ambos tipos de células.

El marcador diagnóstico más destacado de GIST es la sobreexpresión del receptor tirosina quinasa KIT (CD117), que se identifica fácilmente mediante tinción inmunohistoquímica. Más del 90 por ciento de los GIST son positivos para la expresión de KIT, aunque existen casos que son negativos para las mutaciones de KIT. Sin embargo, dentro del pequeño subconjunto de GIST que carecen de expresión KIT, muchos también carecen de mutaciones KIT. Algunos en cambio albergan mutaciones activadoras en el gen PDGFRA^{68,79}. Es importante destacar, sin embargo, que el anticuerpo DOG-1 (descubierto en GIST-1) y PKC-theta (proteína quinasa C theta) son dos marcadores inmunohistoquímicos que son positivos en GIST independientemente del estado mutacional KIT / PDGFRA⁸⁷⁻⁹⁰.

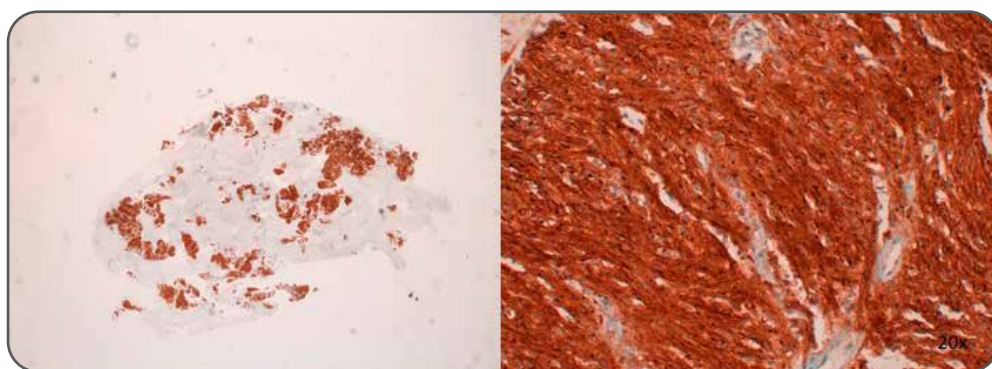


Figura 8: Tinción inmunohistoquímica que pone de manifiesto la presencia de c-kit.

La tinción inmunohistoquímica puede ayudar a distinguir GIST de otros tumores subepiteliales que pueden surgir en el tracto gastrointestinal.

TIPO	CD117	DOG-1	PKC-theta	CD34	SMA	S100	Desmina
GIST	+ (>95%)	+ (97%)	+ (72%)	+ (60-70%)	+/- (30-40%)	- (5%+)	Muy raro
Leiomioma	-	-		+ (10-15%)	+	-	+
Leiomiosarcoma	-	-	-	+ (10%)	-	+	+
Schwannoma	-	-	+ (10%)	-	-	+	-

Tabla 2: Principales características inmunohistoquímicas de las principales lesiones de estirpe mesenquimal.

Patogénesis molecular y mutaciones KIT: Aproximadamente el 95% de los GIST que aparecen en la edad adulta presentan sobreexpresión de KIT. Aproximadamente el 80% de los GIST tienen mutaciones en el gen KIT que conducen a la activación constitutiva del receptor KIT.^{64,65,73,74,85,91}

Estas mutaciones de “ganancia de función” en KIT se observan en casos tanto esporádicos como hereditarios, se ha postulado que el proto-oncogén KIT juega un papel importante en la carcinogénesis.

En las células normales, la actividad de la tirosin-quinasa del receptor KIT está regulada por la unión del ligando endógeno al receptor (conocido como ligando KIT o factor de células madre (SCF)). Las mutaciones KIT, sin embargo, conducen a una activación constitutiva independiente del ligando KIT, que da como resultado la activación constitutiva de las vías de señalización que estimulan la supervivencia, el crecimiento y la proliferación celular.⁹² Las mutaciones KIT en GIST pueden ocurrir en diferentes regiones (exones) del gen y pueden ser mutaciones puntuales, deleciones o inserciones. No existe un único punto de acceso mutacional, aunque algunas regiones se ven afectadas con mayor frecuencia que otras. La mayoría de las mutaciones del gen GIT en GIST (aproximadamente 80%) afectan al exón 11, que codifica el dominio de yuxtamembrana intracelular del receptor.^{91,92} Esta región generalmente tiene una función autoinhibitoria sobre la activación de la quinasa, que se alivia con la mutación. Las mutaciones en el exón 9 que afectan al dominio de unión al ligando extracelular se detectan en 12-15% de los casos. Las mutaciones primarias en el dominio quinasa (exón 13, unión a ATP, exón 17, bucle de activación) son raras. Es importante destacar, sin embargo, que estas mutaciones se observan con una alta frecuencia como mutaciones secundarias en GIST resistentes a imatinib.

Aproximadamente el 15% de los GIST carecen de mutaciones en el gen KIT (es decir, son KIT de tipo salvaje o espontáneo). La patogénesis de estos subconjuntos se analiza a continuación.

La relación entre las mutaciones del gen KIT y la expresión de la proteína KIT (CD117) en los GIST no es completamente directa. Los GIST que por inmunohistoquímica son KIT-negativos representan el 4-5% de los casos. En tales pacientes y en aquellos con un diagnóstico poco claro, el análisis mutacional es necesario para confirmar el diagnóstico de GIST:

- Muchos GIST negativos a expresión KIT tienen mutaciones activadoras en PDGFRA.
- Se han detectado mutaciones del gen KIT en algunos GIST que no expresan la proteína KIT, lo que sugiere que el silenciamiento transcripcional se ha producido a través de un mecanismo diferente⁹³. Este fenómeno también tiende a ocurrir como parte de un mecanismo de resistencia durante la terapia con imatinib.⁸⁸

Sin embargo, la sobreexpresión de KIT y la señalización KIT presuntamente aberrante pueden estar presentes incluso en ausencia de mutaciones KIT, especialmente en GIST pediátricos y GIST que surgen en el contexto de la neurofibromatosis tipo 1 (NF1)^{62,63,66,67,94}. Estos tumores típicamente se tiñen para KIT pero son de “tipo salvaje” (es decir, no tienen mutaciones detectables en el gen KIT), y tienen una respuesta deficiente a imatinib.⁶³ El mecanismo de sobreexpresión de KIT en casos sin una mutación identificable en KIT no está claro.

Mutaciones de PDGFRA: Un subconjunto de GIST, en el que no se encuentran mutaciones de KIT, tiene mutaciones activadores en el receptor relacionado con la tirosin-quinasa PDGFRA.^{68,86,95,96} En una serie, estas mutaciones se detectaron en 14 de 40 GIST mutantes con KIT negativo, y la activación de los intermediarios de señalización y los cambios citogenéticos asociados con la progresión tumoral en estos tumores fueron indistinguibles de aquellos con mutaciones del gen KIT.⁹⁵ Un estudio más reciente en el que se incluyeron 1105 GIST detectó mutaciones de PDGFRA en el 7.2% de los tumores, aunque las muestras se enriquecieron con un gran número de casos KIT negativos.⁷⁹

Los tumores con expresión negativa de KIT tienen más probabilidades de tener mutaciones de PDGFRA.

Es importante destacar que los inhibidores de tirosina quinasa imatinib y sunitinib tienen eficacia antitumoral demostrable en tumores que carecen de mutaciones del gen KIT pero que se caracterizan por alteraciones en la vía PDGFRA (incluidos GIST, pero también tumores desmoides y dermatofibrosarcoma protuberans).

Sin embargo, no todas las mutaciones activadoras en PDGFRA son biológicamente equivalentes. Algunas mutaciones de PDGFRA (sobre todo la mutación D842V) se caracterizan por una insensibilidad relativa a imatinib,^{68,79} aunque otras confieren sensibilidad a este agente.^{79,86}

Debido a esta variabilidad, la evaluación del estado mutacional es importante para la toma de decisiones clínicas con fines terapéuticos, tanto para la enfermedad avanzada como en el entorno adyuvante / neoadyuvante.

GIST “salvaje” de KIT / PDGFRA: Entre el 10-15 % de los GIST no tienen una mutación KIT o PDGFRA detectable. Los GIST de tipo salvaje incluyen aquellos que surgen en NF1 (mutación del gen NF1),⁹⁷ síndrome de Carney-Stratakis (gen SDHX) y tríada de Carney (posiblemente relacionada con cambios epigenéticos en el gen promotor de succinato deshidrogenasa C (SDHC) que silencia la expresión génica). Los GIST de tipo salvaje KIT / PDGFRA a menudo se localizan en el estómago y son de origen multicéntrico, y pueden tener un curso clínico indolente.^{71,98} Como se señaló ante-

riormente, muchos de estos tumores surgen en pacientes más jóvenes (aproximadamente el 85% GIST que surgen en niños y adolescentes son KIT / PDGFRA de tipo salvaje) y están asociados con mutaciones y / o pérdida funcional de expresión de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH). Sin embargo, los llamados GIST “tipo pediátrico”, con características prácticamente idénticas a las observadas en pacientes pediátricos, pueden ocurrir ocasionalmente en adultos.⁹⁹

La serie que incluyó más GIST de los subtipos moleculares de KIT/PDGFRA tipo salvaje incluyó 95 pacientes (mediana de edad 23, rango 7-78). En este estudio de los 84 pacientes que tenían tejido adecuado para el estudio, se definieron tres subtipos moleculares que se asociaron con diferentes características demográficas y clínicas.¹⁰⁰

- 66% mutaciones SDHX
- 22% Hipermetilación del promotor SDHC
- 12% SDH competente, que además se puede dividir en:
 - Mutaciones NF1
 - Mutaciones BRAF V600E
 - Otras mutaciones o fusiones raras
 - Sin anomalía identificada

Los GIST negativos a la mutación KIT/PDGFRA se consideran intrínsecamente poco sensibles al imatinib, y el caso de la enfermedad localizada, el imatinib adyuvante o neoadyuvante puede suspenderse. En el contexto metastásico, los GIST de tipo salvaje KIT/PDGFRA son más resistentes al imatinib pero son más sensibles al sunitinib que los GIST con una quinasa mutante.

Se ha descrito al menos un caso de un paciente con síndrome de Carney-Stratakis y GIST, portador de una SDHD de línea germinal y una mutación KIT somática, que respondió bien al imatinib¹⁰¹. Por lo tanto, incluso en condiciones sindrómicas en las que típicamente se informa que los GIST son de tipo KIT /PDGFRA salvaje, debe descartarse la presencia de una mutación sensibilizadora a imatinib, y el enfoque clínico debe adaptarse en consecuencia. Por esta razón, el análisis molecular generalmente se recomienda en pacientes en los que está siendo considerado el tratamiento adyuvante o neoadyuvante con imatinib.

Otros GIST de tipo KIT / PDGFRA salvaje son portadores de otras anomalías genéticas, algunas de las cuales pueden tener implicaciones terapéuticas importantes. Como ejemplo, se puede detectar una mutación BRAF V600E en hasta el 13 por ciento de los GIST de tipo KIT / PDGFRA salvaje^{102,103}, y estos tumores pueden ser susceptibles de tratamiento con inhibidores de BRAF¹⁰⁴. Los GIST asociados a NF1 exhiben un aumento de la señalización a través de la cascada de señalización de proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK)¹⁰⁵, lo que aumenta la posibilidad de que el tratamiento con inhibidores de MEK pueda ser prometedor. Por último, los estudios exhaustivos del perfil genómico han identificado varias fusiones de genes en GIST de tipo salvaje KIT / PDGFRA que implican receptor neurotrófico de tirosina quinasa tipo 3 (NTRK3) y receptor 1 del factor de crecimiento fibroblástico (FGFR1), algunos de los cuales podrían representar “alteraciones procesables”¹⁰⁶.

1.3. Pronóstico de las lesiones subepiteliales

El pronóstico de las lesiones subepiteliales, va a depender de su etiología. La mayoría de ellas son lesiones benignas y asintomáticas. Un pequeño subgrupo de las lesiones subepiteliales esta formado por las lesiones que son malignas al diagnóstico (15%) y las lesiones que tienen potencial de malignización. Y en estos casos el pronóstico va a depender del comportamiento de la lesión.

El comportamiento biológico de los GIST es variable. Aunque en el pasado se pensaba que algunos eran benignos debido a sus características histopatológicas, ahora está claro que con un seguimiento prolongado, prácticamente todos los GIST tienen el potencial de comportamiento maligno, incluso aquellos de 2 cm o menos con características histológicas poco agresivas¹¹. Actualmente se acepta que los términos “benigno” o “maligno” no deben aplicarse a GIST, ya que estos términos no son clínicamente útiles para el manejo del paciente. Como todos los GIST se consideran potencialmente malignos, las clasificaciones de consenso se centran en estratificar las lesiones de acuerdo con el riesgo relativo de recurrencia y metástasis^{107,108}.

Las características de las lesiones en las pruebas de imagen (TAC o USE) pueden no solo sugerir el diagnóstico de GIST, sino también correlacionar estas características con el riesgo de recurrencia. En general, las lesiones que en TAC miden más de 5 cm, son lobuladas, captan contraste de forma irregular y tienen infiltración de la grasa mesentérica, úlceras, linfadenopatía regional o un patrón de crecimiento exofítico, es más probable que metastaticen.¹⁰⁹ Por el contrario los GIST con menor potencial de diseminación tienden a presentar un patrón de crecimiento intraluminal con una captación homogénea de contraste.

1.4. Ecoendoscopia mejorada con contraste

Durante la última década, el desarrollo de agentes de contraste formados por microburbujas estables y mejoras en los equipos ultrasónicos disponibles, que permiten la obtención de imágenes armónicas han permitido mostrar imágenes óptimas de contraste en una escala de grises con una buena resolución espacial.

Los avances tecnológicos recientes han hecho posible que la tecnología de contraste armónico estuviera disponible por primera vez en equipos de ultrasonografía endoscópica en 2008. Con esto, ahora es posible la evaluación de la microcirculación mediante USE, lo que produce una evolución de la USE con contraste, que pasa de visualizar imágenes vasculares a visualizar imágenes de tejido perfundido. A pesar de que la experiencia disponible es todavía preliminar, muchos artículos han subrayado que USE con contraste armónico (CH-EUS, *contrast enhanced endoscopic ultrasound*) como una técnica no invasiva prometedora para visualizar y caracterizar lesiones y diferenciar entre lesiones benignas y malignas. Incluso aunque la histología continúe siendo el criterio de referencia o *gold-standard*, la combinación de CH-EUS y EUS-FNA puede hacer la USE más precisa para el diagnóstico, pero no solo eso, también puede ayudar al médico a tomar decisiones cuando la USE-PAAF no es concluyente. Y por otro lado puede aumentar el rango diagnóstico de la punción guiando la punción con imágenes simultáneas de la vascularización.

La observación dinámica del realce parenquimatoso tras la administración de contraste durante la tomografía computarizada (TAC) o resonancia magnética (RMN) permiten la evaluación de la perfusión de los órganos abdominales. Los patrones de realce ayudan al diagnóstico de lesiones focales y otros trastornos digestivos.

La ecografía abdominal ha intentado durante años visualizar la microcirculación para mejorar la caracterización de varios procesos patológicos mediante Doppler. Pero el Doppler es útil para el estudio flujos de sangre en grandes vasos con velocidades elevadas (vena porta, arteria hepática), pero esta modalidad no es suficientemente sensible para detectar volúmenes bajos y lentos como los que se necesita visualizar para evaluar la perfusión.¹¹⁰

Se han utilizado agentes de contraste formados por microburbujas, que aumentan la intensidad de los ultrasonidos retro-dispersados. Estos agentes se utilizaron inicialmente para mejorar la detección de flujos de sangre en pequeños vasos. Pero esta técnica ofrece varias desventajas: puede producir artefactos de "blooming" (sobre-contrastación), que hace referencia al aspecto ampliado de un vaso, comparado con los resultados de modo de imagen fundamental (modo B). Segundo, el doppler es sensible a los artefactos de movimiento. El movimiento del tejido puede producir señales Doppler más intensas que las señales del contraste, lo que se conoce como artefacto "flash".

Para superar estos problemas se desarrolló la técnica de contraste basada en imagen armónica (HI, harmonic image) para superar este problema mediante la supresión de las señales de tejido de fondo.¹¹¹

HI es un método de imagen ultrasónico relativamente nuevo que produce imágenes basadas en efectos acústicos no lineales de las interacciones del ultrasonido con el tejido o las microburbujas de contraste.

“Lineal” y “no lineal” son términos de ingeniería acústica, que describen la respuesta de un sistema a la aplicación de una señal de ultrasonidos. Las señales dispersadas por un sistema lineal tienen la misma frecuencia que el pulso transmitido. Sin embargo, una respuesta no lineal contiene tanto el original de la frecuencia emitida como señales que contienen múltiplos de la frecuencia transmitida, conocidos como armónicos. De forma distinta a la ecografía convencional en la que las imágenes se forman por los ecos rebotados de la frecuencia emitida (frecuencia fundamental), la ultrasonografía armónica utiliza señales armónicas, más específicamente HI utiliza el doble de la frecuencia de transmisión de la señal recibida (segundo armónico).¹¹²⁻¹¹⁴

Principios de ecografía armónica con contraste: Las grandes diferencias de impedancia entre las microburbujas de gas y la sangre y tejidos circundantes hacen de las microburbujas los agentes de contraste ecográfico (ACE) más adecuados por la dispersión de que producen de las ondas ultrasonográficas. La composición general de una burbuja consiste en un núcleo de gas estabilizado por una cápsula. Los ACEs actuales consisten en microburbujas de 2-5 micras de diámetro capaces de atravesar la circulación pulmonar para ser efectivos a nivel sistémico tras su inyección endovenosa. Una burbuja de este tamaño es inestable en un sistema acuoso, y por eso debe estar contenida en una cápsula estabilizadora para conseguir aumentar su durabilidad.

El tipo de gas y la composición de la cápsula confiere diferentes propiedades físico-químicas y diferentes comportamientos en el campo ultrasonográfico. No obstante, los principios físicos de interacción entre la microburbuja y el ultrasonido que incide sobre ella son básicamente los mismos. Una onda acústica generada por un sistema de ultrasonidos consiste en presiones bajas y elevadas de forma alterante. Una microburbuja expuesta a un ultrasonido se comprime con la presión positiva y se expande con la negativa de forma alternante. En ultrasonografía el índice mecánico se muestra en el monitor para indicar el poder acústico. Este índice se puede utilizar para caracterizar la respuesta de las microburbujas a la aplicación de una onda. El Índice Mecánico de una onda de ultrasonografía se define como la amplitud del pico de presión negativa estimada in situ dividida por la raíz cuadrada de la frecuencia. Dependiente de este parámetro se pueden dar tres fenómenos diferentes:

1. La dispersión aumenta: A índices mecánicos muy bajos (<0.1) las burbujas oscilan de forma simétrica y producen una dispersión lineal estable.
2. Producción de armónicos. A valores bajos de índice mecánico (0.1-0.6) se produce una oscilación asimétrica de las burbujas, durante el cual las microburbujas se expanden más de lo que se contraen debido a su mayor resistencia a la compresión. Esta asimetría es lo que resulta en la producción de armónicos.
3. Rotura de las burbujas: A índices mecánicos altos (>0.6), se produce una dispersión no lineal transitoria seguida de la destrucción de las microburbujas.

La primera generación de contrastes ultrasonográficos compuestos por burbujas como el Levovist®, necesitaban la destrucción de la burbuja, por lo que limitaba la visualización en tiempo real. Con estos agentes no se podía realizar CH-EUS debido a que el transductor del ecoendoscopio es demasiado pequeño para producir un poder acústico suficiente que permitiera romper las burbujas. En los últimos años se han diseñado nuevos agentes de contraste ecográfico, estos utilizan un gas pesado (perfluorocarbono) con una baja solubilidad en sangre y baja capacidad de difusión que están encapsulados dentro de una capsula lipídica resistente y flexible. Estas características hacen que sea posible utilizar un poder acústico bajo, evitando la destrucción de las burbujas por un periodo prolongado permitiendo una valoración continua en tiempo real.¹¹⁵⁻¹¹⁷ Además, un índice mecánico bajo permite la supresión eficaz de la señal tisular porque la respuesta no-lineal del tejido es mínima con baja potencia acústica.

De esta segunda generación de contrastes ecográficos, tan solo tres se han utilizado en ultrasonografía endoscópica (SonoVue®, Sonazoid® y Definity®). Estos contrastes, tras la administración endovenosa, presentan una distribución intravascular pura, lo que significa que no existe difusión extravascular, al contrario de lo que ocurre con los contrastes aprobados para TAC y RMN. Este comportamiento permite el estudio en tiempo real con una resolución temporal más larga de la que son capaces de proporcionar otras modalidades. Los gases no se metabolizan en el cuerpo humano y varios minutos después de su administración son exhalados por los pulmones. Las cápsulas estabilizadoras son filtradas por el riñón o metabolizadas por el hígado.

La diferencia más remarcable entre estos agentes de contraste es que Sonozoid®, es un agente tisular específico, es decir, que tras la fase vascular, presenta una fase tardía hepato-esplénica. Esto es debido a la captura de las microburbujas por las células de Kupffer.

Los agentes de contraste ecográfico han demostrado un excelente perfil de seguridad, las reacciones adversas son raras y leves. No presentan toxicidad específica renal, cerebral o hepática y su potencial embólico carece de significación clínica. Las reacciones anafilác-

tics severas son raras (<0.002%). Existen múltiples subgrupos de pacientes que pueden potencialmente beneficiarse de su uso, incluidos pacientes con patología renal y pacientes con alergia al contraste utilizado en TAC y RMN. Además, su uso no está asociado al uso de radiaciones ionizantes. Sin embargo se han descritos reacciones cardiopulmonares, incluso fatales, en ecocardiografía, y por eso debe ser evitado en pacientes con patología cardio-pulmonar severa.¹¹⁸⁻¹²⁰

Las interacciones entre los ultrasonidos y las microburbujas también producen efectos biológicos, como cavitación, hemolisis y muerte celular en experimentos *in vitro*, a pesar de que esto ocurre cuando se usan ultrasonidos de alto poder acústico, que no son los usados en la práctica clínica. No obstante, esto constituye un potencial riesgo de seguridad, sobre todo cuando se usa en tejidos donde el daño microvascular puede tener consecuencias graves e irreversibles, como es el caso del ojo o del cerebro.¹¹⁸⁻¹²⁰

Modalidades de ecografía con contraste armónico:

Dado que los tejidos responden principalmente de manera lineal a un foco de ultrasonidos, el uso de las propiedades no lineales de las microburbujas en la ecografía con contraste armónico ofrece la posibilidad de separar la respuesta de las burbujas del tejido circundante, y esto permite la evaluación de la microcirculación.

» Contraste armónico con power doppler.

Como se mencionó anteriormente, los movimientos del tejido pueden producir señales Doppler más fuertes que las del contraste, lo que resulta en un artefacto conocido como "flash". La combinación de Doppler con filtrado de armónicos puede reducir estos artefactos de movimiento.¹²¹ Para aumentar la sensibilidad al agente de contraste armónico, la respuesta del tejido debe reducirse debido a la superposición espectral entre las componentes fundamental (f_0) y el segundo armónico ($2 \times f_0$) del espectro recibido. Esto se puede lograr transmitiendo señales de banda estrecha que, por otro lado, deterioran la resolución de la imagen. Además, las imágenes de Doppler de armónicos de contraste siempre estarán oscurecidas por un componente armónico residual producido por la respuesta del tejido. Aunque originalmente se supuso que la propagación de ultrasonido a través del tejido era completamente lineal, la realidad es que los tejidos no son linealmente elásticos, lo que lleva a una distorsión de la propagación que tiene como resultado la generación de armónicos.^{121,122}

» Contraste armónico con HI en escala de grises

Tanto el tejido como el agente de contraste armónico tienen un espectro de frecuencia de segundo armónico. La necesidad de distinguir entre ellos para mejorar el contraste

de la imagen condujo al desarrollo de técnicas de imagen específicas de contraste. Estas técnicas muestran la mejora de las microburbujas en escala de grises, y su principal ventaja sobre power Doppler con contraste armónico es que pueden trabajar en todo el ancho de banda de la señal de eco recibida.¹²³ La señal armónica está separada de la fundamental, no por filtrado, sino que envía dos trenes de pulsos fuera de fase entre sí, seguido de la suma de los valores de los ecos de retorno. Como consecuencia, el ancho de banda de la señal se conserva con una mayor resolución espacial.¹²⁴ Dos de estas técnicas de imagen específicas de contraste se han implementado para HI con contraste en la EUS: la imagen de armónico de contraste dinámico (dCHI) utilizada por las plataformas de Hitachi y la detección de armónicos puros extendidos (ExPHD) para sistemas Aloka.

dCHI: Se envía una secuencia de dos ondas de ultrasonido de fases alternas (la segunda onda es la réplica invertida de la primera). La imagen se procesa según la suma de ambos pulsos. En un medio lineal, las respuestas a la primera y segunda ondas son ondas iguales con una forma opuesta, y la suma de las dos respuestas es cero. Un sistema no lineal no refleja formas de onda invertidas idénticas; Debido a que las ondas no se anulan por completo, la adición armónica da como resultado una imagen de dispersores no lineales. Aunque esta técnica de inversión de pulso representa más intensamente señales de microburbujas que las de los tejidos, no puede filtrar por completo las señales del tejido, y los efectos de propagación no lineal todavía limitan la relación agente-tejido máxima que se puede obtener.^{121,122}

ExPHD: Esta técnica describe la presencia de un agente de contraste al diferenciar los armónicos generados por el tejido de los armónicos generados por el agente. Las señales se cambian entre las dos transmisiones en el área con contraste y en el área sin contraste. Sin embargo, las microburbujas producen no solo señales de segundo armónico más fuertes sino también mayores variaciones de fase (cambios de fase) que el tejido. La tecnología ExPHD se puede utilizar para detectar cambios de fase en las señales recibidas y las sintetiza con las señales de los segundos armónicos para reforzar los segundos armónicos. Este procesamiento da como resultado una imagen mejorada de las señales de los contrastes.¹²⁵

Además de estas técnicas específicas de contraste, uno de los componentes más destacados en HI es la tecnología del transductor. El rango de frecuencia de reflexión de los componentes del segundo armónico es amplio en comparación con la frecuencia fundamental. Por lo tanto, es necesario un gran ancho de banda de transductor para estas técnicas armónicas porque requieren que la frecuencia central de la respuesta recibida se establezca en el doble de la frecuencia central del pulso transmitido para cubrir el rango total de los espectros fundamental y de segundo armónico.¹²⁶

La microcirculación de los órganos abdominales se evaluó mediante ecografía armónica de contraste con una sonda EUS experimental en los abdómenes quirúrgicamente abiertos de 12 perros en 2005.¹²⁷ Poco después, el software de inversión de fase se adaptó para probar CH-EUS y se utilizó preliminarmente en seis pacientes.¹²⁸ En 2008, por primera vez, el CH-EUS se introdujo en la práctica clínica como consecuencia de la fabricación de un ecoendoscopio prototipo con un transductor de banda ancha para este propósito.¹²⁵

INDICACIONES CLÍNICAS DE LA CH-EUS

La CH-EUS se ha usado para el diagnóstico de lesiones pancreáticas sólidas. Los adenocarcinomas ductales suelen ser hipovasculares debido a sus marcados cambios desmoplásicos. En cambio, los tumores neuroendocrinos tienen abundante vascularización arterial que los hace hipervasculares a la administración de contraste. Las áreas de pancreatitis crónicas se muestran de una vascularización similar al parénquima circundante.¹²⁹

Estas características son superponibles a las observadas en ecografía abdominal. La principal limitación de esta última es la pobre visualización de áreas profundas debido a la interposición del gas intestinal y de la grasa abdominal. Debido a la proximidad de la sonda de ecoendoscopia al páncreas, esta ofrece una mejor resolución espacial sobrepasando a la ecografía, el TAC y la RMN

Las lesiones quísticas pancreáticas engloban una amplia variedad de lesiones que tienen unas características ecográficas similares pero un comportamiento distinto.

Durante la ecoendoscopia con contraste las estructuras vasculares de las lesiones quísticas se vuelven progresivamente ecogénicas mientras que el contenido intraquístico (coagulos, debris y mucina) permanecen completamente invisibles. Es por esta razón que la CH-EUS puede mejorar la caracterización de pseudoquistes y el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas.¹³⁰

La presencia de nódulos murales en uno de los criterios más importantes a la hora de tomar decisiones sobre la intervención quirúrgica de estas lesiones. La capacidad del TAC y la ecografía para discriminar entre nódulos murales y acúmulos de mucina no es satisfactoria. El uso de CH-EUS para la detección de nódulos murales ha demostrado una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y precisión de 100%, 80%, 92% y 94% respectivamente.¹³¹

Como ya hemos visto anteriormente, las lesiones submucosas gastrointestinales, comprenden una amplia variedad de lesiones benignas y malignas. El diagnóstico diferencial se realiza basándose en la información obtenida de observar la capa en la que se origina, la ecogenicidad, el patrón ecográfico y las características internas. No obstante, estos

factores son a veces insuficientes, como en el diagnóstico diferencial entre leiomiomas y tumores estromales (GIST), y sobretodo para diferenciar entre GIST benignos o de bajo grado y GIST agresivos. A pesar de que la EUS-FNA es un método aceptado para el diagnóstico de estas lesiones, esta tiene múltiples limitaciones. Tanto la EUS-FNA como la EUS-Trucut tienen un rango diagnóstico limitado.¹³² Entre los diferentes factores pronósticos del GIST cuando no hay invasión local ni metástasis, el más importante es el número de mitosis. Desafortunadamente las muestras de EUS-FNA de estas lesiones, a menudo no son suficientes para el recuento de mitosis.

Tres estudios han evaluado el papel de CEH-EUS en la caracterización de tumores submucosos. En el primero Sakamoto et al¹³³ evaluaron si CEH-EUS puede predecir el riesgo de malignidad de un GIST. En el estudio 16 pacientes con GIST de alto grado tenían vasos irregulares y una distribución heterogénea, mientras que solo cinco de los 13 pacientes con GIST de bajo grado presentaban esta característica. En este estudio CEH-EUS predijo la agresividad de un GIST con una sensibilidad, especificidad y precisión del 100%, 63% y 83% respectivamente. En comparación con la sensibilidad del 63%, la especificidad del 92% y la precisión del 83% de EUS-FNA para el diagnóstico de GIST agresivo. Los autores sugirieron que CH-EUS puede jugar un papel importante en la predicción del riesgo de malignidad de GIST. Sin embargo, no hay acuerdo sobre la capacidad de CH-EUS para distinguir GIST de otros tumores, como el tumor de células fusiformes. Kannengiesser¹³⁴ utilizó CH-EUS para evaluar la vascularización de 17 tumores submucosos esófago-gástricos, observando que las ocho lesiones que presentaron hipercaptación correspondieron a GIST, mientras que las nueve lesiones hipocaptantes correspondieron histológicamente a cuatro lipomas y cinco leiomiomas. Con estos datos concluyeron que CH-EUS puede discriminar GIST de lesiones submucosas verdaderamente benignas con buena precisión.

Consecuentemente Fusaroli et al estudiaron 51 tumores submucosos con CH-EUS¹³⁵ observando que los GIST y los tumores neuroendocrinos captaban contraste con mayor frecuencia, mientras que los lipomas y los leiomiomas se mantenían hipocaptantes. Al contrario que en el estudio de Sakamoto¹³³ en el que los GIST de bajo grado y todas las neoplasias de células fusiformes benignas (incluidos 6 leiomiomas y 1 Schwannoma) presentaban vasos regulares y realce homogéneo con CH-EUS, lo que sugiere que EUS-FNA sigue siendo necesaria para la diferenciación histológica de los tumores de células fusiformes.

1.5. Elastografía

Las técnicas de imagen que visualizan la tensión o dureza de un tejido (“elastografía”) son una nueva forma ultrasonográfica de caracterización de tejido, que permite una forma de imagen no invasiva de las características mecánicas de los tejidos. En general la elastografía estudia la rigidez de un tejido y orienta hacia diferentes entidades patológicas basada en los valores elastográficos¹³⁶.

En la clínica se utilizan dos tipos básicos de elastografía. Una es la elastografía de tensión (strain elastography, SE), que es la que utiliza Hitachi, GE, Philips, Siemens, Esaote, etc. La otra es la elastografía de onda de corte, que incluye: elastografía de transición (Fibroscan[®], Echosens). Nos vamos a centrar en la sono-elastografía, o elastografía de tensión que es la que se puede utilizar en ecoendoscopia.

La inflamación y la infiltración neoplásica pueden producir cambios en la estructura normal de un tejido produciendo un endurecimiento de este y por lo tanto una alteración de su elasticidad. El módulo de elasticidad es una medida del estrés aplicado a una estructura tisular, relativa a la tensión o deformación producida. Este método utiliza la deformación de un tejido inducida por la compresión en un área de interés. Estos datos se miden y se visualizan sobrepuestos en la imagen en modo B, con un mapa cromático (rojo-verde-azul). En que las áreas de mayor dureza se representan en azul mientras que las mas blandas se representan en rojo.

El enfoque principal de RTE-EUS ha sido evaluar lesiones pancreáticas y valorar cambios precoces en pancreatopatía crónica. Otras aplicaciones de esta técnica son las lesiones subepiteliales.



JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

2.1. JUSTIFICACIÓN

Las lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal constituyen un amplio conjunto de entidades de etiologías variadas con diferentes pronósticos. En este escenario es importante realizar un diagnóstico preciso de las lesiones malignas o potencialmente malignas, que precisarán un seguimiento o tratamiento diferente de las lesiones benignas o sin potencial de degeneración.

La técnica de referencia o *gold standard* para obtener un diagnóstico de las lesiones subepiteliales es la histología, apoyada en ocasiones de técnicas inmunohistoquímicas. El principal inconveniente del diagnóstico histológico es que precisa de la obtención de una muestra de tejido. La obtención de tejido de una lesión subepitelial, utilizando técnicas endoscópicas (USE-PAAF, “*bite on bite*”, “*unroofing*”) tiene una rentabilidad diagnóstica limitada y al tratarse de un procedimiento invasivo no está exenta de riesgos. Por esta razón en la práctica clínica el diagnóstico de las lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal se basa en la ultrasonografía endoscópica, obteniendo muestras de tejido tan solo en los casos en los que la USE no consiga llegar al diagnóstico y se sospeche una lesión potencialmente maligna. Esto último ocurre especialmente en las lesiones hipoeoicas que se originan en las capas musculares en las que mediante USE no es posible distinguir en muchas ocasiones entre lesiones benignas como leiomiomas y lesiones agresivas como GIST, ya que ambas comparten capa de origen y muchas de sus características ultrasonográficas.

Considerando esta situación, algunos autores, han propuesto que la utilización de la ultrasonografía armónica mejorada con contraste podría ser una técnica útil para el diagnóstico de estas lesiones. La ultrasonografía armónica mejorada con contraste es una nueva implementación a la ultrasonografía endoscópica convencional. Esta técnica, utiliza un contraste ultrasonográfico de administración endovenosa, basado en microburbujas. Esto nos permite valorar la vascularización de un tejido o lesión en tiempo real. La ecoendoscopia con contraste ya ha sido evaluada en otros ámbitos diagnósticos como la valoración de pólipos en vesícula biliar, masas en páncreas, o rastreo de tumores neuroendocrinos en páncreas. En trabajos previos se ha demostrado que tejidos con mayor vascularización (como el GIST), tendrían mayor captación de contraste que tejidos menos vascularizados como el leiomioma.

Este es un tema de gran relevancia clínica que aún no ha sido suficientemente estudiado.

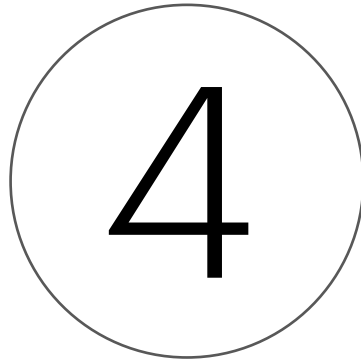


HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

3.1. HIPOTESIS

La ecoendoscopia con contraste permite diferenciar en función del patrón de captación de contraste entre lesiones subpetiliales del tracto digestivo alto benignas y malignas o potencialmente malignas.



OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

1. Evaluar la eficacia de la ecoendoscopia mejorada con contraste en el diagnóstico de las lesiones subepiteliales del tracto digestivo alto, para diferenciar las malignas o potencialmente malignas de las benignas.

4.2. Objetivos secundarios

2. Determinar la utilidad de la elastografía para diferenciar entre lesiones subepiteliales benignas y potencialmente malignas.
3. Conocer el comportamiento morfológico ecoendoscópico de los diferentes tipos histológicos de lesiones subepiteliales tras la administración de contraste de microburbujas de hexafluoruro de azufre.

5

PACIENTES Y MÉTODOS

5. PACIENTES Y MÉTODOS

5.1. Diseño

Estudio observacional, retrospectivo para evaluar la validez de la ecoendoscopia con contraste armónico como técnica diagnóstica para diferenciar entre lesiones subepiteliales esófago-gástricas benignas y malignas o potencialmente malignas.

Este estudio está presentado siguiendo la metodología de los estándares para la publicación de estudios de precisión diagnóstica (STARD, STandards for the Reporting of Diagnostic Accuracy)

5.2. Población a estudio

La población a estudio fueron los pacientes remitidos al Servicio de Endoscópica Digestiva del Hospital Universitario Vall d'Hebrón, para completar el estudio de una lesión subepitelial detectada previamente mediante otra prueba diagnóstica, entre el 1de Enero de 2012 y el 31 de Agosto de 2018.

Las exploraciones en la que se detectó previamente la lesión submucosa fueron: endoscopia, TAC abdominal, RMN o ecografía abdominal.

5.2.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron a todos los pacientes en los que se realizó una ecoendoscopia diagnóstica para evaluación de lesión subepitelial entre el 1de Enero de 2012 y el 31 de Agosto de 2018, en los que la ecoendoscopia mostró lesiones hipoecoicas, que se originaban en capas musculares y que por su semiología USE en modo B (visualización ecográfica estándar) no podían ser correctamente clasificadas y no podía excluirse que se tratara de una lesión maligna o potencialmente maligna.

5.2.2. Criterios de exclusión

Se excluyeron los pacientes que pudieron ser diagnosticadas por su semiología USE en modo B, como es el caso de lipomas, páncreas ectópicos o varices.

También se excluyeron los pacientes de los que no se disponía de diagnóstico histológico, aunque no se excluyeron los pacientes en los que no se disponía de diagnóstico histológico, pero si que se disponía de seguimiento a los 6-12 meses.

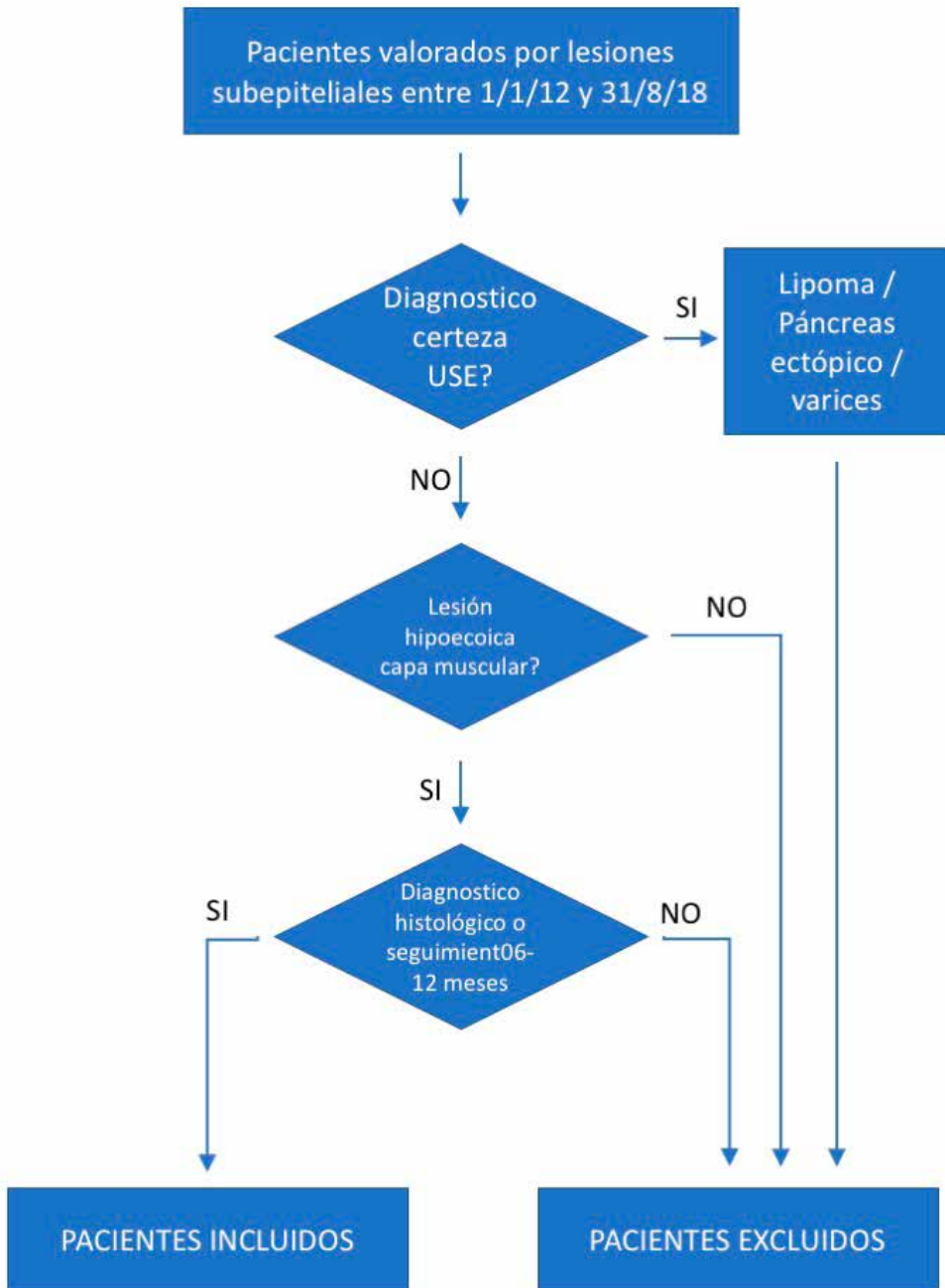


Figura 9: Algoritmo de selección de los pacientes que fueron remitidos para valoración de lesiones submucosas del tracto gastrointestinal alto entre el 1 de Enero de 2012 y el 31 de Agosto de 2018.

5.3. Procedimiento

5.3.1. Participantes

El estudio fue realizado en el Hospital Universitario Vall d'Hebrón, después de haber sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (PR(AG)354/2016).

Aspectos ético-legales:

Al tratarse de un estudio observacional y retrospectivo, no existe riesgo físico para los pacientes. El acceso a la historia clínica para recoger la información necesaria para cumplir con los objetivos del estudio se realizó por el investigador del servicio en el que los pacientes han sido tratados. Solo el médico investigador tuvo acceso a la información personal de los pacientes, igual que ocurre en la práctica clínica habitual. La recogida de la información se realizó de manera disociada, en cumplimiento de la Ley de Autonomía del Paciente, de manera que no se recogió ninguna información identificativa en el cuaderno de recogida de datos (CRD). Cada paciente fué identificado con un código que figura en el CRD.

A continuación, se describen las razones por los que pensamos que en este estudio es aceptable la exención de solicitud del consentimiento informado a los pacientes:

- A. No se necesita entrevistar al paciente o realizar intervenciones extraordinarias a la práctica habitual.
- B. Se trata de una investigación de interés general.
- C. Es una investigación llevada a cabo por un profesional sanitario de la institución de origen de los datos.
- D. La investigación habría sido menos efectiva o no sería posible sin los datos identificativos del sujeto fuente.
- E. No se han recogido los datos de aquellos pacientes para los cuales conste una objeción expresa a la recogida de los datos.
- F. Se ha garantizado la confidencialidad de los datos de carácter personal mediante la codificación de los datos.

Creemos que hay otras razones que justifican el hecho de no solicitar el consentimiento informado de los pacientes: los datos que se recogen se producen en un único momento temporal y no hay un seguimiento prospectivo de los pacientes, no se realizan pruebas

extraordinarias que supongan un aumento del riesgo de los participantes, pueden existir pacientes reclutables que no se puedan localizar (por falta de datos de contacto, ausencia en el domicilio, traslados, etc), o que se nieguen a participar en el estudio por la molestia que supone acudir al centro con la única razón de firmar el consentimiento informado. Estos factores podrían afectar al reclutamiento de participantes en el estudio y comprometer su viabilidad, ya que el número de pacientes a incluir en el estudio es bajo. Pensamos que este estudio observacional cumple los criterios éticos exigidos por la Internacional Guidelines for ethical review of epidemiological studies (1991).

5.3.2. Exploración ecoendoscópica

Se siguió el protocolo diagnóstico de lesiones subepiteliales de nuestra unidad. A todos los pacientes con sospecha de lesión subepitelial se les realiza una ecoendoscopia con ecoendoscopio radial en modo B (GF-UE260; Olympus Optical Co Ltd, Tokyo, Japón), con un sistema de ecografía (UM-2, Olympus Optical Co Ltd, Tokyo, Japón), donde se valora si se trata de una verdadera lesión subepitelial o de una compresión extrínseca. En caso de ser una lesión subepitelial verdadera, se valoran las siguientes características:

- Tamaño
- Forma
- Capa de origen
- Ecogenicidad
- Homogeneidad
- Sospecha de lesión sólida o quística.
- Estructura interior

Una vez valoradas las características de la lesión, se realiza estudio elastográfico cualitativo de la lesión, definiendo las lesiones como homogéneas o heterogéneas con predominio de rojo, amarillo, verde o azul.

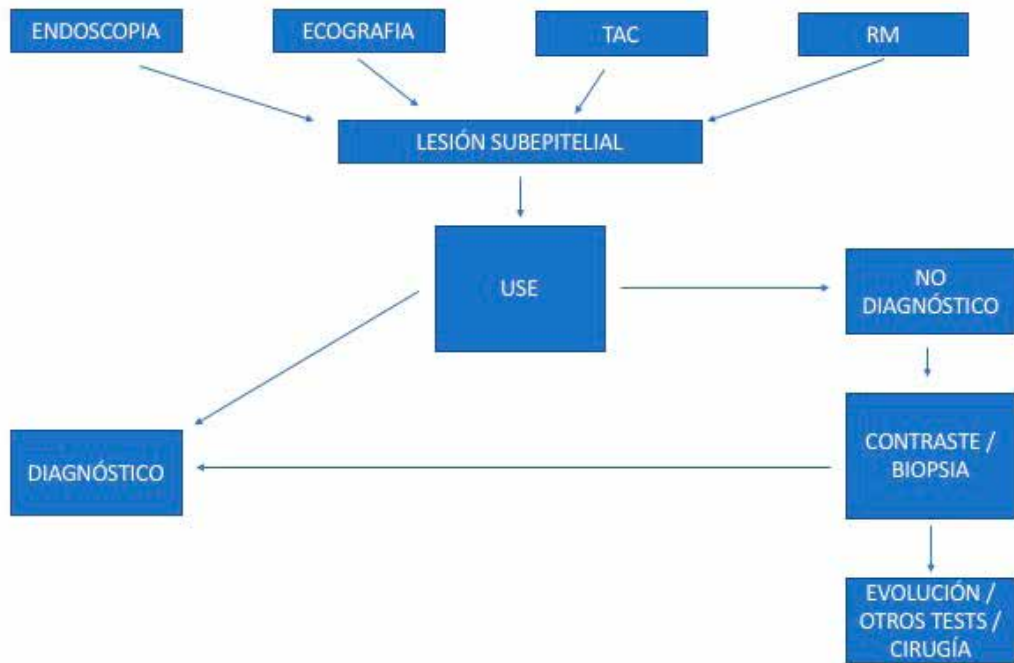


Figura 10: Algoritmo diagnóstico ante lesiones subepiteliales en nuestro servicio de endoscopia.

En los casos en los que el modo B no es suficiente para realizar un diagnóstico, se continúa con la administración de contraste endovenoso (Sonovue®; Bracco International B.V., Amsterdam, Holanda), SonoVue® es un contraste ecográfico de segunda generación, compuesto de microburbujas de hexafluoruro de azufre. Para el estudio con contraste se inyectan 4.8 mL de contraste y se cambian los parámetros de la unidad ecográfica, para visualizar en tiempo real la administración de contraste comparado en pantalla dual con la imagen en modo B de control en una parte de la pantalla y con la imagen con supresión de todas las frecuencias que no sean armónicos en la otra, para la exploración con CEH-EUS. Una vez administrado el contraste, los primeros 15 segundos corresponden a la fase vascular, y a continuación entre los 15 hasta los 50 segundos corresponden a la fase tisular. Es en esta última fase cuando se valora el comportamiento de la lesión con la administración de contraste. Las lesiones pueden realizarse más que el parénquima circundante con la administración de contraste (hipercaptantes), o realizarse menos que el parénquima circundante (hipocaptantes).

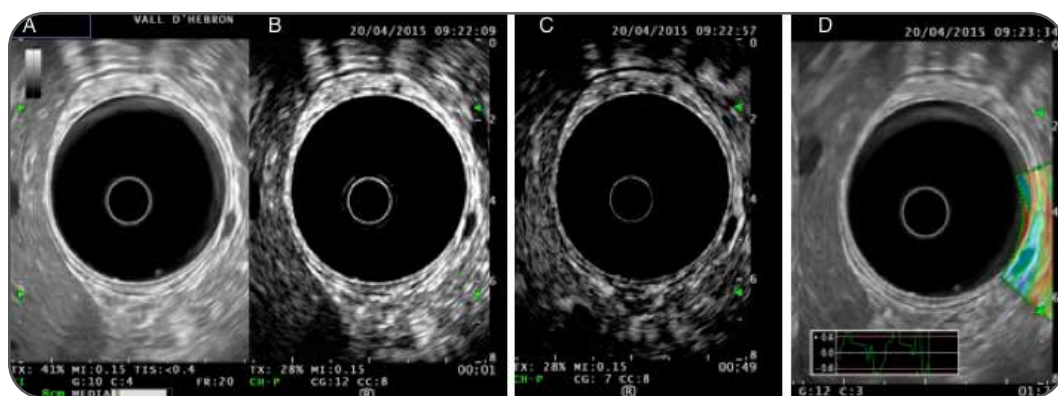


Figura 11: En la imagen "A" se visualiza lesión hipocóica, homogénea, bien delimitada, ovalada, compatible con leiomioma. La imagen "B" corresponde a imagen con parámetros para realizar contraste previa a la administración del mismo. La imagen "C", corresponde al segundo 49 tras la administración de contraste endovenoso, manteniéndose la lesión hipocaptante. En la imagen "D" se visualiza estudio con elastografía, que muestra patrón homogéneo verde.

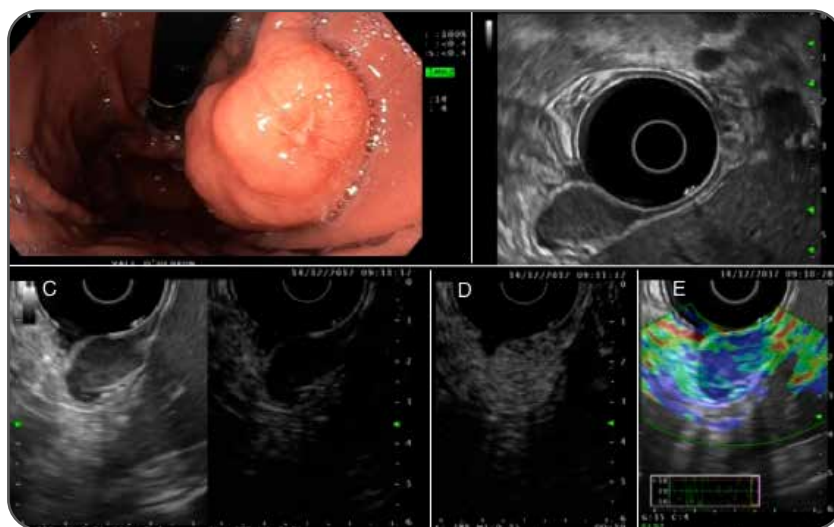


Figura 12: En la imagen "A", se identifica por endoscopia convencional protrusión de la pared en cuerpo gástrico. En la imagen "B" se observa USE con lesión hipocóica que se origina en 4ª capa (muscularis propia), discretamente heterogénea. En la imagen "C" se pantalla de contraste previa a inyección. La imagen "D" corresponde a momento en que la lesión capta contraste. En "E" se muestra elastografía con patrón heterogéneo de predominio azul.

5.3.3. Diagnóstico histológico y seguimiento

En las lesiones sospechosas de ser potencialmente malignas (GIST), que son tributarias de resección quirúrgica no se realizan más exploraciones complementarias y son remitidas para valoración quirúrgica. En los casos en las que el paciente no sea un buen candidato a cirugía por existencia de comorbilidades, se plantea la obtención de material mediante USE-PAAF, para confirmar el diagnóstico. En estos casos se practicó una punción guía-

da por ecoendoscopia en tiempo real. La punción se realizó con aguja citológica de 22G (EchoTip 3-22; Cook Medical, Cork, Irlanda). En los casos en los que la biopsia no aportó material suficiente para el diagnóstico histológico, se realizó control a los 6 meses y al año.

Por otro lado, en los casos en que, por las características ultrasonográficas de la lesión, no se identificaron signos de alarma, se programaron controles a los 6 y a los 12 meses.

Las lesiones que se mantuvieron estables en los controles, sin presentar crecimiento, ni cambios en sus características ecográficas (ecogenicidad, homogeneidad, márgenes) se consideraron lesiones benignas. En los casos en los que la lesión presentó cambios durante el seguimiento, presentando crecimiento, aumentando su heterogeneidad, o apareciendo otros signos de alarma como calcificaciones o puntos ecogénicos en su interior, se revaloró la toma de muestra para biopsia o resección quirúrgica.

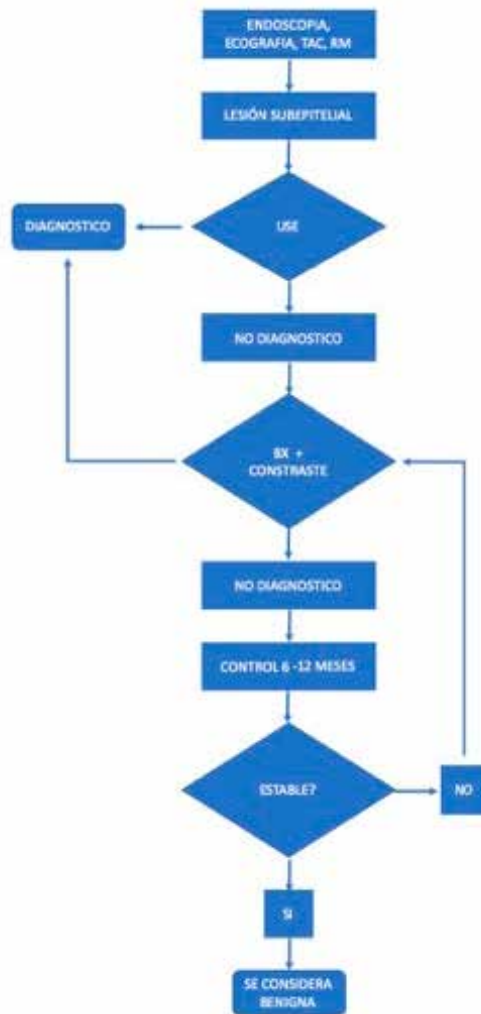


Figura 13: Algoritmo de estudio y seguimiento de las lesiones subepiteliales en el estudio.

5.4. Definición de variables

Criterio de referencia

La histología esta considerada el criterio de referencia o *gold standard* para el diagnóstico de lesiones subepiteliales, y su resultado constituyó el criterio de referencia para comparar con la ecoendoscopia con contraste. En los casos en los que la ausencia de sospecha de malignidad no indica que se tenga que obtener material para estudio, se consideró la estabilidad de la lesión a los 12 meses como criterio de benignidad o de baja agresividad. Este criterio de estabilidad da los 12 meses también se utilizó en los casos en los que, a pesar de realizar una biopsia, el material obtenido no fue suficiente para llegar a un diagnóstico histológico.

Variable principal de valoración

La variable principal es la sensibilidad de la CH-EUS en el diagnóstico de las lesiones submucosas hipoecoicas que dependen de la capa muscular. Esta variable se define como obtener un resultado positivo, es decir que la lesión se comporte como una lesión hipercaptante (se realiza tras la administración de contraste), en el estudio ecoendoscópico con contraste.

Variables operativas

- Diagnóstico de presunción por USE: Definido como el diagnóstico establecido o sospechado con los datos semiológicos ofrecidos por ecoendoscopia en modo B.
- Diagnóstico histológico: Definido como el resultado anatomo-patológico obtenido tanto por biopsia pre-operatoria (por USE-PAAF) o por estudio de pieza quirúrgica en los casos en los que se indica cirugía.
- Control evolutivo negativo: Definido como la ausencia de crecimiento o la ausencia de aparición de signos de alarma en el control ultrasonográfico a los 6 y 12 meses.
- Elastografía: Expresa la dureza relativa de la lesión, pudiendo ser de predominio azul, verde, amarillo o rojo.

Otras variables

- Sexo: Variable dicotómica (VD)
- Edad: Variable continua (VC)..

- **Tamaño:** (VC). Expresa el diámetro máximo de la lesión en milímetros.
- **Ecogenicidad:** Expresa la ecogenicidad de la lesión, pudiendo ser hipoeoica, isoecoica o hiperecoica.

5.5. Tamaño de la muestra

En este estudio no se efectuó cálculo del tamaño muestral y se utilizaron todos los casos que se produjeron durante el período de estudio, entre enero del 2012 y agosto de 2018, al tratarse de un estudio descriptivo en el que se pretende evaluar la utilidad de la endoscopia mejorada con contraste en el diagnóstico de las lesiones epiteliales, sin una hipótesis numérica que contrastar.

5.6. Métodos para la obtención de datos

Para la obtención de datos, se realizó revisión de historias clínicas de los pacientes a los que se había realizado una ecoendoscopia para estudio de lesiones subepiteliales que cumplieran con los requisitos de inclusión. Los datos se obtuvieron de los informes de ecoendoscopia, anatomía patológica y de hoja quirúrgica.

5.7. Análisis estadístico

En primer lugar se presenta un análisis descriptivo de las variables en función del resultado del contraste, así como del diagnóstico final.

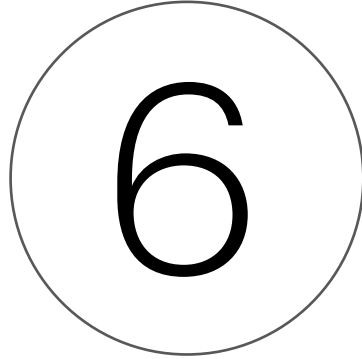
Para las variables cualitativas se calculan las frecuencias y porcentajes para cada una de las categorías. Para contrastar la existencia de diferencias se han obtenido las pruebas de contraste de la Chi-Cuadrado (χ^2) o la prueba exacta de Fisher según proceda.

Las variables cuantitativas se han descrito mediante las medidas descriptivas habituales. La media y la desviación típica, así como las medianas e intervalos intercuartílicos, seleccionando la más adecuada dependiendo de la simetría de la variable. Para contrastar las diferencias se ha utilizado la prueba de la U de Mann-Whitney dada la no simetría de muchas de ellas y el tamaño de los grupos

Para ver la concordancia entre el diagnóstico de GIST y los contrastes se ha calculado la prueba de McNemar o simetría para contrastar la hipótesis nula de concordancia perfecta entre las dos variables, es decir un rechazo de esta hipótesis indica la diferencia diagnóstica entre ambas.

Para evaluar la capacidad diagnóstica del contraste se han utilizado las medidas diagnósticas habituales de sensibilidad, especificidad y valores predictivos y negativos, así como el cociente de verosimilitudes positivo (likelihood ratio +) y negativo (likelihood ratio).

Todos los análisis se han efectuado con el programa Stata 15.1 y se ha considerado un error tipo I del 5%.



RESULTADOS

6. RESULTADOS

Entre el 1 de Enero de 2012 y el 31 de Agosto de 2018 se seleccionaron 51 pacientes que habían acudido al Servicio de Endoscopia digestiva del Hospital Universitario Vall d'Hebrón, para completar estudio de lesiones subepiteliales situadas en esófago, estómago y duodeno y en las que el estudio USE en modo B, no fue suficiente para establecer el diagnóstico y se requirió el uso de contraste y elastografía en tiempo real.

De estos 51 pacientes, 20 (40%) eran hombres y 31 (60%) mujeres, con una edad media de 66 (50.0-73.0). Las lesiones se encontraban en esófago (6 pacientes, 11.76%), cardias (2 pacientes, 3.92%), cuerpo gástrico (32 pacientes, 62.74%), antro (7 pacientes, 13.72%) y duodeno (4 pacientes, 7.84%). De estas lesiones 9 (17.64%) se originaban en la muscularis mucosae, 9 (17.64%) se originaba en submucosa, 1 (1.96%) se originaba entre 3 y 4 capa, es decir entre submucosa y muscularis propia. Y 32 (62.76%) se originaba en muscularis propia (Tabla 3)

Variable		Total
Edad media		66.0 (50.0-73.0)
Sexo	Hombre	20 (40%)
	Mujer	31 (60%)
Localización	Esófago	6 (11.76%)
	Cardias	2 (3.92%)
	Cuerpo	32 (62.74%)
	Antro	7 (13.72%)
	Duodeno	4 (7.84%)
Capa	2 (muscularis mucosae)	9 (17.64%)
	3 (submucosa)	9 (17.64%)
	3-4 (submucosa y m propia)	1 (1.96%)
	4 (muscularis propia)	32 (62,76%)

Tabla 3. Se muestran datos de edad, sexo y localización de las lesiones recogidas entre 1 enero de 2016 y 31 de Agosto de 2018.

El diagnóstico se estableció mediante anatomía patológica, ya sea por resección de la lesión o por USE-PAAF en 35 pacientes (68.62%) y en 15 pacientes (29.41%) el diagnóstico se estableció a otros criterios. Dos de estos pacientes presentaban lesiones altamente sugestivas de GIST tanto por USE como por TAC y se encontraban pendiente de intervención en otro centro, y las 13 restantes, eran lesiones de aspecto benigno, en las que el diagnóstico se estableció por permanecer estables en los controles a los 6 meses y 1 año.

Variable		Contraste		Total
		Hipercapta	No hipercapta	
Localización	Esófago	2 (33.33%)	4 (66.67%)	6 (100%)
	Cardias	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)
	Cuerpo	26 (81.25%)	6 (18.75%)	32 (100%)
	Antro	2 (28.57%)	5 (71.43%)	7 (100%)
	Duodeno	3 (75%)	1 (25%)	4 (100%)
Tamaño en mm		33	18	51
		29.5 (25.8)	12.3 (6.7)	23.5 (22.6)
		20.0(15.0; 30.0)	11.5 (8.0; 15.0)	15.0 (12.0; 25.0)
Capa	2	5 (55.56%)	4 (44.44%)	9 (100%)
	3	4 (44.44%)	5 (55.56%)	9 (100%)
	3 Y 4	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)
	4	24 (75%)	8 (25%)	32 (100%)
Ecogenicidad	Hipo	31 (65.96%)	16 (34.04%)	47 (100%)
	Anecoico	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)
	Hiper	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)
Heterogeneidad	Heterogeneitat	24 (75%)	8 (25%)	32 (100%)
	Homogeneitat	9 (47.37%)	10 (52.63%)	19 (100%)

Tabla 4. Se muestran los resultados en función de captación de contraste en relación a localización, tamaño, capa de origen y características ultrasonográficas.

Al analizar por captación de contraste, encontramos que existe un mayor número de lesiones captantes, así como lesiones de mayor tamaño (expresado en mm) en cuerpo gástrico (tabla 4).

Al realizar la comparativa por diagnóstico ultrasonográfico de GIST versus otros diagnósticos, observamos que se diagnostican como GIST más lesiones en cuerpo gástrico. Estas

lesiones también son más heterogéneas y en la elastografía cualitativa se presentan como lesiones de predominio azul o verde-azul. Con la administración de contraste, el 78% de estas lesiones se comportan como lesiones hipercaptantes.

Al poner el foco en los resultados de la ecoendoscopia con contraste, nos encontramos que de los 26 pacientes diagnosticados histológicamente (o utilizando el criterio de la evolución a los 6 meses-1 año) de GIST, 26 de ellos (100%) presentaron un patrón hipercaptante tras la administración de contraste, mientras que de los diagnósticos diferentes a GIST tan solo presentaron un patrón de hipercaptación de contraste 7 de ellas (28%), mientras que el resto se mantuvieron iso o hipocaptantes 72%). Tabla 5.

Variable		Dx GIST		Total	p-value
		GIST	Otros diagnósticos		
Edad		26	25	51	0.3859
		63.2 (14.9)	59.4 (16.0)	61.4 (15.4)	0.4504
		67.5 (56.0; 73.0)	66.0 (50.0; 73.0)	66.0 (50.0; 73.0)	
Sexo	Hombre	11 (55%)	9 (45%)	20 (100%)	0.6446
	Mujer	15 (48.39%)	16 (51.61%)	31 (100%)	
Localización	Esofago	1 (16.67%)	5 (83.33%)	6 (100%)	0.0482
	Cardias	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)	
	Cuerpo	21 (65.63%)	11 (34.38%)	32 (100%)	
	Antro	2 (28.57%)	5 (71.43%)	7 (100%)	
	Duodeno	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Tamaño en mm		26	25	51	0.0104
		31.3 (27.0)	15.4 (12.9)	23.5 (22.6)	0.0002
		21.5 (15.0; 40.0)	13.0 (9.0; 15.0)	15.0 (12.0; 25.0)	
Capa	2	4 (44.44%)	5 (55.56%)	9 (100%)	0.0004
	3	0 (0%)	9 (100%)	9 (100%)	
	3y4	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	
	4	22 (68.75%)	10 (31.25%)	32 (100%)	
Ecogenicidad	Hipo	26 (55.32%)	21 (44.68%)	47 (100%)	0.0506
	Anecoico	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)	
	Hiper	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)	

Heterogeneida	Heterogen.	20 (62.5%)	12 (37.5%)	32 (100%)	0.0327
	Homogen	6 (31.58%)	13 (68.42%)	19 (100%)	
Contraste	Hipercapta	26 (78.79%)	7 (21.21%)	33 (100%)	< 0.0001
	No hipercapta	0 (0%)	18 (100%)	18 (100%)	

Tabla 5. Se presentan los resultados de GIST comparados con otros diagnósticos, en cuanto a variables demográficas, características ultrasonográficas y captación de contraste.

En la tabla 6 se calcula la sensibilidad, especificidad, y otras pruebas diagnósticas para el diagnóstico de GIST con ecoendoscopia con contraste.

Diagnóstico GIST					
	GIST	Otros d(x)	Total		p-value
Hipercapta	26 (100%)	7 (28%)	33 (64.71%)	VPP=78.9%	0.008
No capta	0 (0%)	18 (72%)	18 (35.29%)	VPN=100%	
Total	26 (50.98%)	25 (49.02%)	51 (100%)		
	S=100%	E=72%			

Tabla 6. Cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para el diagnóstico de GIST, al considerar positivo el hallazgo de hipercaptación tras la administración de contraste.

Con estos datos se obtiene una sensibilidad del 100%, una especificidad del 72%, un valor predictivo positivo del 78,79%, un valor predictivo negativo del 100% y una precisión del 86,27% ($p=0,008$). Lo que quiere decir que si la lesión no capta contraste seguramente no corresponda a un GIST y en caso de captar contraste no se detectara aproximadamente una cuarta parte de falsos positivos. Obteniendo una precisión diagnóstica del 86.27%.

En relación con la elastografía en el diagnóstico de GIST, los datos se exponen en la tabla 5. De las 26 lesiones diagnosticadas de GIST, 17 (65,3%) presentaron un patrón elastográfico de predominio azul, 2 (7.69%) patrón de predominio verde, 1 (3.84%) patrón de predominio verde-azul y 6 (23.07%) patrón de predominio verde-amarillo. En cuanto al resto de diagnósticos diferentes a GIST, 7 (28%) presentaron patrón de predominio azul, 3 (12%) patrón de predominio verde, 6 (24%) patrón de predominio amarillo, 5 (20%) patrón de predominio verde-azul, y 4 (16%) patrón de predominio verde-amarillo.

Variable		Dx GIST		Total	p-value
		GIST	Otros diagnósticos		
Elastografía	Azul	17 (70.83%)	7 (29.17%)	24 (100%)	0.0119 5
	Verde	2 (40%)	3 (60%)	5 (100%)	
	Amarillo	1 (14.29%)	6 (85.71%)	7 (100%)	
	Azul y Verde	6 (54.55%)	5 (45.45%)	11 (100%)	
	Verde y Amarillo	0 (0%)	4 (100%)	4 (100%)	

Tabla 7. Relación del patrón elastográfico en relación con el diagnóstico de GIST Vs otros diagnósticos.

Si consideramos el patrón elastográfico de predominio azul como diagnóstico de GIST, obtenemos los datos que se muestran en la tabla 8. Con estos datos se obtienen unos valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo y precisión de 65.38%, 72%, 66.67%, 70.83% y 66,67% respectivamente ($p=0.617$) al considerar las lesiones que en la elastografía tienen un patrón de predominio azul como GIST.

	Diagnóstico GIST			p-value
	GIST	Otros d(x)	Total	
Azul	17 (65.38%)	7 (28%)	24 (47.06%)	0.617
Otros	9 (34,62%)	18 (72%)	27 (52.94%)	
Total	26 (50.98%)	25 (49.02%)	51 (100%)	
	S=72%	E=66.67%		

Tabla 8: Valores diagnósticos de elastografía al considerar positivo para GIST el patrón elastográfico de predominio azul.

Si consideramos para el diagnóstico de GIST no solo las lesiones de predominio azul, si no también incluimos las lesiones de predominio verde-azul (tabla 9), los valores que obtenemos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo y precisión son de 88,46%, 52%, 81,25%, 65,71% y 70,59% respectivamente ($p=0.020$).

Diagnóstico GIST					
	GIST	Otros d(x)	Total		p-value
Azul-Verde	23 (88,46%)	12 (48%)	35 (68,63%)	VPP=81,25%	0.020
Otros	3 (11,54%)	13 (52%)	16 (31.37%)	VPN=65.71%	
Total	26 (50.98%)	25 (49.02%)	51 (100%)		
	S=88,46%	E=52%			

Tabla 9. Valores diagnósticos de elastografía al considerar positivo para GIST el patrón elastográfico de predominio azul.



DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

Las lesiones subepiteliales son con mucha frecuencia lesiones incidentales que se descubren en pacientes asintomáticos. Aunque la mayoría de estas lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal superior son lesiones benignas (lipomas, leiomiomas, quistes), también existen lesiones primariamente malignas o con potencial de malignización como GIST.

Diferenciar entre lesiones submucosas benignas y potencialmente malignas o agresivas, es un reto diagnóstico con importantes implicaciones pronósticas, así como de coste y necesidad de seguimiento de los pacientes.

La endoscopia convencional por sí sola, no puede distinguir de forma precisa entre lesiones murales y extramurales¹⁶. Por lo que la ecoendoscopia se ha convertido en la técnica de elección para caracterizar estas lesiones, ya que permite identificar la capa de origen, el tamaño, el patrón ecográfico, la vascularización, los márgenes, y estas características ayudan a diferenciar y diagnosticar estas lesiones. Múltiples estudios han evaluado la precisión de la USE para caracterizar estas lesiones. En 2005 Hwang¹⁶ y colaboradores incluyeron 100 pacientes consecutivos que fueron referidos para la evaluación de lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal superior. Estos pacientes fueron estudiados primero con endoscopia y a continuación con ultrasonografía endoscópica. Entre sus resultados encontraron que la endoscopia tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 64% para diferenciar entre lesiones intramurales y extramurales. La correlación de endoscopia con ecoendoscopia para determinar el tamaño obtuvo un coeficiente de correlación del 0.88 ($r=0.88$). Se obtuvo histología en 23 pacientes, de estos la concordancia del diagnóstico por USE con la histología fue del 48%. Donde más errores se obtuvieron fue en las lesiones hipoecoicas que se originaban en 3ª y 4ª capa. De estos hallazgos se concluye que la endoscopia tiene una alta sensibilidad, pero una baja especificidad para determinar la localización intramural o extramural de las protrusiones de la pared gastrointestinal. Por otro lado, la endoscopia sola es insuficiente para diagnosticar de forma precisa las lesiones hipoecoicas de capas profundas, por lo que la confirmación histológica debería obtenerse cuando fuera posible.

Uno de los principales diagnósticos que se pretende excluir, por su frecuencia y por su potencial de malignización son los tumores del estroma gastrointestinal (GIST). En 2009 Gwam Ha Kim y colaboradores¹³⁷ evaluaron las características ultrasonográficas de 53 pacientes con tumores gástricos de estirpe mesenquimal confirmados histológicamente. El estudio histológico e inmunohistoquímico diagnosticó 7 leiomiomas y 46 GIST. La he-

terogeneidad, los puntos hiperecogénicos, la presencia de un halo marginal y una mayor ecogenicidad que la capa muscular adyacente se encuentran con más frecuencia en GIST que en leiomiomas ($p < 0.05$). La presencia de al menos 2 de estas 4 características tiene una sensibilidad del 89.1% y una especificidad del 85.7% para predecir GIST. Exceptuando el tamaño de la lesión y la irregularidad del borde, la mayoría de las características ultrasonográficas no son suficientes para determinar la agresividad de un GIST. En el análisis multivariable tan solo un tamaño de más de 35 mm es un factor predictivo independiente (Sensibilidad 92.3% y especificidad 78.8%).¹³⁷

Las guías del grupo español de investigación de sarcomas¹³⁸, publicadas en 2017, que tienen en cuenta el trabajo de consenso de Fletcher¹¹, proponen que los GIST de muy bajo riesgo son los que tienen un tamaño inferior a 2 cm, que se corresponde a un índice mitótico (50 HPF) inferior a 5. Por lo que los datos obtenidos tan solo por la imagen ecográfica no nos permiten caracterizar con una precisión razonable las lesiones potencialmente malignas de pequeño tamaño. Tan solo podremos caracterizar lesiones potencialmente malignas cuando tengan un tamaño superior a 35mm, o presenten ya características que sugieran agresividad. El reto diagnóstico en estas lesiones es detectar las lesiones potencialmente malignas o malignas cuando tiene un tamaño que permite su extirpación con intención curativa.

En los casos en los que la USE no es capaz de caracterizar una lesión subepitelial por sus características ultrasonográficas, se necesita obtener una muestra de tejido para conseguir un diagnóstico definitivo. La punción con aguja fina guiada por ecoendoscopia (USE-PAAF) ha demostrado ser una técnica segura y efectiva para la toma de biopsias de lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal. Además la USE-PAAF se considera actualmente como la técnica de elección para la toma de biopsias de lesiones del tracto gastrointestinal, particularmente de las que se originan en la 4ª capa (muscularis propia).²³

Los primeros estudios mostraban una precisión pobre⁵⁵, pero estudios más recientes han reportado mejores rangos diagnósticos, con una precisión que se encuentra entre el 75-100%.^{58,139} La sensibilidad de la USE-PAAF para el diagnóstico de GIST se estima entre el 84-89%⁵⁸. Estos resultados pueden ser mejores si las lesiones son grandes, están localizadas en cuerpo gástrico y se realiza la punción con citólogo en sala.¹⁴⁰ La tasa de morbilidad específica de la punción es baja, se estima que entre el 0-2%. Las complicaciones de la punción guiada por USE en el contexto de lesiones subepiteliales son muy raras y se limitan a dolor abdominal post-procedimiento.^{68,91}

Existen múltiples factores que influyen en la eficacia de las lesiones de la USE-PAAF para el diagnóstico de lesiones subepiteliales. Estos factores incluyen el tipo y tamaño de la aguja utilizada (citológica o histológica), si se usa o no estilete durante el procedimiento, el uso o no de aspiración, así como la técnica de adquisición (clásica o en abanico o "fanning").

No existe consenso de cual es el mejor método, de ni si existe un método específico para cada tipo de lesión, por lo que estas consideraciones técnicas, dependen de la experiencia del explorador, del material disponible en el centro, y de la localización y tamaño de la lesión. También parece que la presencia de citólogo en la sala de endoscopia influye en los resultados. El estudio citológico de la muestra debe incluir tinciones inmunohistoquímicas para diferenciar entre GIST (cKIT, CD117, DOG1) de leiomiomas (actina, desmina), Schwannomas (S100) de otras lesiones.

De todos los factores que influyen en la precisión diagnóstica de la USE-PAAF el más determinante es el tamaño de la lesión. En 2018 Attila y Aydin¹⁴¹ analizaron los datos de 64 pacientes que fueron referidos para estudio de lesiones subepiteliales, realizándose USE-PAAF en 22 de ellos. En este trabajo describen una precisión diagnóstica para lesiones superiores a 20 mm de 91.6%. Esta precisión para las lesiones inferiores a 20mm es del 50%.

De lo referido anteriormente se desprende que, aunque la USE-PAAF es una técnica útil, segura y eficaz para el diagnóstico de las lesiones subepiteliales, especialmente útil para las lesiones de más de 20 mm, existiendo todavía una pobre caracterización de las lesiones pequeñas.

En este punto es dónde se necesitan técnicas que mejoren la precisión diagnóstica de las lesiones de pequeño tamaño, para poder caracterizarlas correctamente y establecer un plan terapéutico o de seguimiento, para los pacientes.

En 2011, Sakamoto et al¹³³ evaluaron el papel de CH-EUS para predecir el riesgo de malignidad de un GIST. En este estudio CH-EUS predijo la agresividad de un GIST con una sensibilidad, especificidad y precisión del 100%, 63% y 83% respectivamente. En comparación con la sensibilidad del 63%, la especificidad del 92% y la precisión del 83% de EUS-FNA para el diagnóstico de GIST agresivo. En 2012, Kannengiesser¹³⁴ utilizó CH-EUS para evaluar la vascularización de 17 tumores submucosos esófago-gástricos, observando que las ocho lesiones que presentaron hipercaptación correspondieron a GIST, mientras que las nueve lesiones hipocaptantes correspondieron histológicamente a cuatro lipomas y cinco leiomiomas. En 2013, Fusaroli et al estudiaron 51 tumores submucosos con CH-EUS¹³⁵ observando que los GIST y los tumores neuroendocrinos captaban contraste con mayor frecuencia, mientras que los lipomas y los leiomiomas se mantenían hipocaptantes.

Estos datos sugieren que la ecoendoscopia mejorada con contraste armónico, puede tener un papel en el diagnóstico de las lesiones subepiteliales del tracto gastrointestinal, siendo especialmente útil en las lesiones menores de 2 cm, en las que es difícil valorar su potencial de malignización por su semiología USE, y en las que la USE-PAAF tiene una menor precisión diagnóstica.

En nuestro estudio se han recogido los datos de contraste y elastografía de 51 pacientes. En relación con el contraste, para el diagnóstico de GIST se obtiene una sensibilidad del 100% con una especificidad del 72%, con un valor predictivo negativo del 72%. Estos valores se pueden sobreponer a los valores obtenidos por Sakamoto¹³³ (sensibilidad 100%, especificidad 63% y precisión 83%). Es decir, si una lesión se presenta hipercaptante al administrar contraste obtenemos aproximadamente una cuarta parte de falsos positivos, pero en cambio si una lesión se presenta como no isocaptante o hipocaptante probablemente no se trate de un GIST ($p=0.008$). Estos datos son más evidentes en cuerpo gástrico, donde son más frecuentes los GIST, en esta localización el 78% de las lesiones hipercaptantes son GIST, teniendo menos de una cuarta parte de falsos positivos.

Por otro lado la elastografía ha mostrado utilidad en el diagnóstico de lesiones inflamatorias o neoplásicas en las que se altera la elasticidad normal del tejido, siendo válida para evidenciar alteraciones en la dureza relativa entre las lesiones y el parénquima circundante^{136,142}. En 2017 Ignee et al¹⁴³, en un estudio retrospectivo en el que se incluyeron 62 pacientes estudiados con ecoendoscopia con contraste y elastografía sugiere que los GIST presentan un patrón homogéneo o heterogéneo pero de predominio azul.

En relación a la elastografía nuestros resultados muestran que, si utilizamos un patrón homogéneo o heterogéneo, pero de predominio azul para hacer el diagnóstico de GIST, obtenemos una sensibilidad del 65,8%, una especificidad del 72% con una precisión del 68%. Si tomamos como diagnóstico cualquier patrón con presencia de azul, es decir añadiendo las lesiones con patrón azul o azul-verde, mejoramos la precisión diagnóstica con una sensibilidad del 88,46%, especificidad del 52% y una precisión del 70,59%. Estos valores de elastografía por sí solos no son suficientes para evitar la realización de una punción citológica, pero sí que aportan más información a los datos de ultrasonografía y a la administración de contraste.

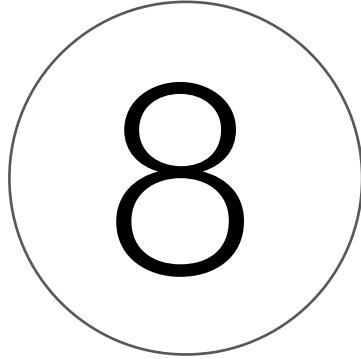
El presente trabajo es el primer estudio realizado en nuestro medio que demuestra que la elastografía y la administración de contraste ultrasonográfico endovenoso durante la práctica de la ecoendoscopia mejora la caracterización de las lesiones subepiteliales, especialmente en los casos de lesiones hipoecoicas que se originan en capas musculares.

La realización de este estudio supone un avance en la ecoendoscopia con un diagnóstico más preciso y menos invasivo en las lesiones subepiteliales, en la era de los procedimientos mínimamente invasivos.

El estudio tiene una serie de limitaciones a tener en cuenta. En primer lugar, se ha realizado en un solo centro con un número limitado de pacientes. La ampliación del trabajo incluyendo a más población con lesiones subepiteliales permitiría confirmar estos resultados. Por otro lado no se dispone de resultado histo-patológico en todos los casos, lo que

nos ha llevado a utilizar un criterio alternativo de estabilidad de la lesión en el tiempo. Dadas las características de estas lesiones, y que en ocasiones, cuando no existe sospecha de malignidad no está indicado obtener material para histología, se debería utilizar un tiempo de seguimiento más prolongado, ya que en este tipo de lesiones de evolución lenta el seguimiento a 6 meses-1año, puede ser insuficiente para detectar variaciones.

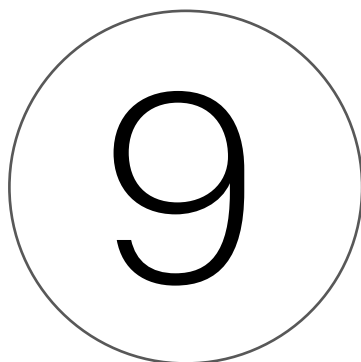
Los resultados obtenidos en las lesiones subepiteliales del tracto digestivo alto plantea la posibilidad de un futuro estudio utilizando la ultrasonografía con contraste y la elastografía en las lesiones submucosas del tracto digestivo bajo, especialmente en las situadas a nivel de recto-sigma, que son las más accesibles a la ultrasonografía endoscópica.



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1. La ecoendoscopia mejorada con contraste permite una buena discriminación entre las lesiones malignas o potencialmente malignas y el resto de lesiones subepiteliales del tracto digestivo alto.
2. La elastografía por si sola no ofrece información suficiente para diferenciar entre lesiones subepiteliales del tracto digestivo alto benignas y potencialmente malignas, aunque aporta datos que puede ayudar a su diferenciación en algunos casos.
3. Existen diferencias en el comportamiento ecoendoscópico tras administración de contraste con microburbujas de hexafloruro de azufre entre las diferentes variedades de lesiones subepiteliales del tracto digestivo alto. En función del tipo histológico, los GIST, adenocarcinoma y TNE se comportan como lesiones que captan contraste. Mientras que leiomiomas, páncreas ectópico, tumores de células granulares y lipomas se comportan como lesiones hipocaptantes.



BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Hwang JH, Kimmey MB. The incidental upper gastrointestinal subepithelial mass. *Gastroenterology*. 2004;126(1):1561-1573.
2. Kaiyo Takubo, M.D.*, Hitoshi Nakagawa, M.D.†, Shin'ichi Tsuchiya, M.D.‡, Yoshio Mitomo, M.D.§, Koji Sasajima, M.D.¶, Akiro Shirota MD. Seedling leiomyoma of the esophagus and esophagogastric junction zone. *Hum Pathol*. 1981;12(11):1006-1010.
3. Abraham SC, Krasinskas AM, Hofstetter WL, Swisher SG, Wu TT. "Seedling" mesenchymal tumors (gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas) are common incidental tumors of the esophagogastric junction. *Am J Surg Pathol*. 2007. doi:10.1097/PAS.0b013e31806ab2c3
4. Hedenbro JL, Ekelund M, Wetterberg P. Endoscopic diagnosis of submucosal gastric lesions. The results after routine endoscopy. *Surg Endosc*. 1991;5(1):20-23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1871670>. Accessed March 8, 2017.
5. Lim YJ, Son HJ, Lee J-S, et al. Clinical course of subepithelial lesions detected on upper gastrointestinal endoscopy. *World J Gastroenterol*. 2010;16(4):439-444. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20101768>. Accessed March 8, 2017.
6. Imaoka H, Sawaki A MN. Incidence and clinical course of submucosal lesions of the stomach. *Gastrointest Endosc*. 2005;61(5):AB167.
7. Sepe PS, Brugge WR. A guide for the diagnosis and management of gastrointestinal stromal cell tumors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009;6(6):363-371. doi:10.1038/nrgastro.2009.43
8. Scarpa M, Bertin M, Ruffolo C, Polese L, D'Amico DF, Angriman I. A systematic review on the clinical diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. *J Surg Oncol*. 2008;98(5):384-392. doi:10.1002/jso.21120
9. Polkowski M. Endoscopic Ultrasound and Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Biopsy for the Diagnosis of Malignant Submucosal Tumors. *Endoscopy*. 2005;37(7):635-645. doi:10.1055/s-2005-861422

10. Davila RE, Faigel DO. GI stromal tumors. *Gastrointest Endosc.* 2003;58(1):80-88. doi:10.1067/mge.2003.317
11. Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors: A Consensus Approach. *Int J Surg Pathol Int J Surg Pathol.* 2002;10(102):81-8981.
12. Parmar K, Waxman I. Endosonography of submucosal lesions. *Tech Gastrointest Endosc.* 2000. doi:10.1053/TG.2000.5436
13. Menon L, Buscaglia JM. Endoscopic approach to subepithelial lesions. *Therap Adv Gastroenterol.* 2014;7(3):123-130. doi:10.1177/1756283X13513538
14. Evans JA, Chandrasekhara V, Chathadi K V., et al. The role of endoscopy in the management of premalignant and malignant conditions of the stomach. *Gastrointest Endosc.* 2015. doi:10.1016/j.gie.2015.03.1967
15. Kim MN, Kang SJ, Kim SG, et al. Prediction of risk of malignancy of gastrointestinal stromal tumors by endoscopic ultrasonography. *Gut Liver.* 2013. doi:10.5009/gnl.2013.7.6.642
16. Hwang JH, Saunders MD, Rulyak SJ, et al. A prospective study comparing endoscopy and EUS in the evaluation of GI subepithelial masses. 2005;62(2):202-208. doi:10.1016/S0016-5107(05)01567-1
17. Landi B, Palazzo L. The role of endosonography in submucosal tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2009. doi:10.1016/j.bpg.2009.05.009
18. Motoo Y, Okai T, Ohta H, et al. Endoscopic ultrasonography in the diagnosis of extraluminal compressions mimicking gastric submucosal tumors. *Endoscopy.* 1994;26(2):239-242.
19. Rösch T, Kapfer B, Will U, et al. Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective multicenter study. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37(7):856-862. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12190103>. Accessed April 5, 2017.
20. Chak A, Canto MI, Rosch T, et al. Endosonographic differentiation of benign and malignant stromal cell tumors. *Gastrointest Endosc.* 1997;45(6):468-473.
21. Sepe PS, Moparty B, Pitman MB, Saltzman JR, Brugge WR. No Title. 2009;70(2):254-261. doi:10.1016/j.gie.2008.11.038

22. Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut*. 2000;46(1):88-92. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10601061>. Accessed May 23, 2017.
23. Salah W, Faigel D. When to puncture, when not to puncture: Submucosal tumors. *Endosc Ultrasound*. 2014;3(2):98. doi:10.4103/2303-9027.131038
24. Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo-Rikala M. Immunohistochemical Spectrum of GISTs at Different Sites and Their Differential Diagnosis with a Reference to CD117 (KIT). *Mod Pathol*. 2000;13(10):1134-1142. doi:10.1038/modpathol.3880210
25. Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. True Smooth Muscle Tumors of the Small Intestine. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(3):430-436. doi:10.1097/PAS.0b013e31818371fc
26. Kwon MS, Lee SS, Ahn GH. Schwannomas of the gastrointestinal tract: clinicopathological features of 12 cases including a case of esophageal tumor compared with those of gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas of the gastrointestinal tract. *Pathol Res Pract*. 2002;198(9):605-613. doi:10.1078/0344-0338-00309
27. Hong HS, Ha HK, Won HJ, et al. Gastric schwannomas: radiological features with endoscopic and pathological correlation. *Clin Radiol*. 2008;63(5):536-542. doi:10.1016/j.crad.2007.05.026
28. Hou YY, Tan YS, Xu JF, et al. Schwannoma of the gastrointestinal tract: a clinicopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of 33 cases. *Histopathology*. 2006;48(5):536-545. doi:10.1111/j.1365-2559.2006.02370.x
29. Jung MK, Jeon SW, Cho CM, et al. Gastric schwannomas: endosonographic characteristics. *Abdom Imaging*. 2008;33(4):388-390. doi:10.1007/s00261-007-9291-4
30. Maderal F, Hunter F, Fuselier G, Gonzales-Rogue P, Torres O. Gastric lipomas - an update of clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Am J Gastroenterol*. 1984;79(12):964-967. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6507422>. Accessed June 25, 2017.
31. Brunaud L, Bresler L, Ayav A, et al. Prise en charge chirurgicale des tumeurs endocrines du tractus gastro-intestinal. *Ann Chir*. 2004;129(10):563-570. doi:10.1016/j.anchir.2004.10.002

32. Tominaga K, Kamimura K, Yokoyama J, Terai S. Usefulness of Capsule Endoscopy and Double-balloon Enteroscopy for the Diagnosis of Multiple Carcinoid Tumors in the Small Intestine: Case Reports and a Literature Review. *Intern Med*. October 2019. doi:10.2169/internalmedicine.1700-18
33. Godwin JD. Carcinoid tumors. An analysis of 2,837 cases. *Cancer*. 1975;36(2):560-569. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1157019>. Accessed June 25, 2017.
34. Nakamura S, Iida M, Yao T, Fujishima M. Endoscopic features of gastric carcinoids. *Gastrointest Endosc*. 37(5):535-538. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1936831>. Accessed June 25, 2017.
35. Martin RC, Stulc JP. Multifocal granular cell tumor of the biliary tree: case report and review. *Gastrointest Endosc*. 2000;51(2):238-240. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10650282>. Accessed June 25, 2017.
36. Tada S, Iida M, Yao T, Miyagahara T, Hasuda S, Fujishima M. Granular cell tumor of the esophagus: endoscopic ultrasonographic demonstration and endoscopic removal. *Am J Gastroenterol*. 1990;85(11):1507-1511. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2239879>. Accessed June 25, 2017.
37. Orłowska J, Pachlewski J, Gugulski A, Butruk E. A conservative approach to granular cell tumors of the esophagus: four case reports and literature review. *Am J Gastroenterol*. 1993;88(2):311-315. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8424442>. Accessed June 25, 2017.
38. Narra SL, Tombazzi C, Datta V, Ismail MK. Granular Cell Tumor of the Esophagus: Report of Five Cases and Review of the Literature. *Am J Med Sci*. 2008;335(5):338-341. doi:10.1097/MAJ.0b013e3181568197
39. Onoda N, Kobayashi H, Satake K, et al. Granular cell tumor of the duodenum: a case report. *Am J Gastroenterol*. 1998;93(10):1993-1994. doi:10.1111/j.1572-0241.1998.00566.x
40. Palazzo L, Landi B, Cellier C, et al. Endosonographic Features of Esophageal Granular Cell Tumors. *Endoscopy*. 1997;29(09):850-853. doi:10.1055/s-2007-1004320
41. Geller A, Wang KK, DiMagno EP. Diagnosis of foregut duplication cysts by endoscopic ultrasonography. *Gastroenterology*. 1995. doi:10.1016/0016-5085(95)90392-5

42. Faigel DO, Burke A, Ginsberg GG, Stotland BR, Kadish SL, Kochman ML. The role of endoscopic ultrasound in the evaluation and management of foregut duplications. *Gastrointest Endosc.* 1997;45(1):99-103. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9013183>. Accessed July 6, 2017.
43. Woolfolk GM, McClave SA, Jones WF, Oukrop RB, Mark MD. Use of endoscopic ultrasound to guide the diagnosis and endoscopic management of a large gastric duplication cyst. *Gastrointest Endosc.* 1998;47(1):76-79. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9468429>. Accessed July 6, 2017.
44. Gottschalk U, Dietrich C, Jenssen C. Ectopic pancreas in the upper gastrointestinal tract: Is endosonographic diagnosis reliable? Data from the German Endoscopic Ultrasound Registry and review of the literature. *Endosc Ultrasound.* 2018;7(4):270. doi:10.4103/eus.eus_18_17
45. Attwell A, Sams S, Fukami N. Diagnosis of ectopic pancreas by endoscopic ultrasound with fine-needle aspiration. *World J Gastroenterol.* 2015;21(8):2367. doi:10.3748/wjg.v21.i8.2367
46. Armstrong CP, King PM, Dixon JM, Macleod IB. The clinical significance of heterotopic pancreas in the gastrointestinal tract. *Br J Surg.* 1981;68(6):384-387. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7237066>. Accessed August 31, 2017.
47. Jovanovic I, Knezevic S, Micev M, Krstic M. EUS mini probes in diagnosis of cystic dystrophy of duodenal wall in heterotopic pancreas: a case report. *World J Gastroenterol.* 2004;10(17):2609-2612. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15300920>. Accessed August 31, 2017.
48. Matsushita M, Hajiro K, Okazaki K, Takakuwa H. Gastric aberrant pancreas: EUS analysis in comparison with the histology. *Gastrointest Endosc.* 1999;49(4 Pt 1):493-497. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10202065>. Accessed August 31, 2017.
49. Wang A-J, Li B-M, Zheng X-L, Shu X, Zhu X. Utility of endoscopic ultrasound in the diagnosis and management of esophagogastric varices. *Endosc Ultrasound.* 2016;5(4):218. doi:10.4103/2303-9027.187840
50. Matsushita M, Hajiro K, Okazaki K, Takakuwa H. Endoscopic features of gastric inflammatory fibroid polyps. *Am J Gastroenterol.* 1996;91(8):1595-1598. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8759668>. Accessed October 3, 2017.

51. Matsushita M, Hajiro K, Okazaki K, Takakuwa H. Gastric inflammatory fibroid polyps: endoscopic ultrasonographic analysis in comparison with the histology. *Gastrointest Endosc.* 1997;46(1):53-57. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9260706>. Accessed October 3, 2017.
52. Cantor MJ, Davila RE, Faigel DO. Yield of tissue sampling for subepithelial lesions evaluated by EUS: a comparison between forceps biopsies and endoscopic submucosal resection. *Gastrointest Endosc.* 2006;64(1):29-34. doi:10.1016/j.gie.2006.02.027
53. Hunt GC, Smith PP, Faigel DO. Yield of tissue sampling for submucosal lesions evaluated by EUS. *Gastrointest Endosc.* 2003;57(1):68-72. doi:10.1067/mge.2003.34
54. Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, Chang KJ, Wiersema LM. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology.* 1997;112(4):1087-1095. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9097990>. Accessed October 3, 2017.
55. Williams DB, Sahai A V, Aabakken L, et al. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy: a large single centre experience. *Gut.* 1999;44(5):720-726. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10205212>. Accessed October 3, 2017.
56. Vander Noot MR, Eloubeidi MA, Chen VK, et al. Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Cancer.* 2004;102(3):157-163. doi:10.1002/cncr.20360
57. Chen VK, Eloubeidi MA. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration of Intramural and Extraintestinal Mass Lesions: Diagnostic Accuracy, Complication Assessment, and Impact on Management. *Endoscopy.* 2005;37(10):984-989. doi:10.1055/s-2005-870272
58. Sepe PS, Moparty B, Pitman MB, Saltzman JR, Brugge WR. EUS-guided FNA for the diagnosis of GI stromal cell tumors: sensitivity and cytologic yield. *Gastrointest Endosc.* 2009;70(2):254-261. doi:10.1016/j.gie.2008.11.038
59. Fritscher-Ravens A, Sriram P V, Schröder S, Topalidis T, Bohnacker S, Soehendra N. Stromal tumor as a pitfall in EUS-guided fine-needle aspiration cytology. *Gastrointest Endosc.* 2000;51(6):746-749. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840319>. Accessed October 3, 2017.
60. Stelow EB, Murad FM, Debol SM, et al. A limited immunocytochemical panel for the distinction of subepithelial gastrointestinal mesenchymal neoplasms sam-

- pled by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Am J Clin Pathol*. 2008;129(2):219-225. doi:10.1309/NL2WYAD8EUH3XFRF
61. Stelow EB, Bardales RH, Stanley MW. Pitfalls in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration and how to avoid them. *Adv Anat Pathol*. 2005;12(2):62-73. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15731574>. Accessed October 3, 2017.
 62. Miettinen M, Fetsch JF, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis 1: a clinicopathologic and molecular genetic study of 45 cases. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(1):90-96. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16330947>. Accessed November 15, 2017.
 63. Mussi C, Schildhaus H-U, Gronchi A, Wardelmann E, Hohenberger P. Therapeutic consequences from molecular biology for gastrointestinal stromal tumor patients affected by neurofibromatosis type 1. *Clin Cancer Res*. 2008;14(14):4550-4555. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-0086
 64. Maeyama H, Hidaka E, Ota H, et al. Familial gastrointestinal stromal tumor with hyperpigmentation: association with a germline mutation of the c-kit gene. *Gastroenterology*. 2001;120(1):210-215. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11208730>. Accessed November 15, 2017.
 65. Graadt van Roggen JF, van Velthuysen ML, Hogendoorn PC. The histopathological differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumours. *J Clin Pathol*. 2001;54(2):96-102. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11215292>. Accessed November 15, 2017.
 66. Théou-Anton N, Tabone S, Brouty-Boyé D, et al. Co expression of SCF and KIT in gastrointestinal stromal tumours (GISTs) suggests an autocrine/paracrine mechanism. *Br J Cancer*. 2006;94(8):1180-1185. doi:10.1038/sj.bjc.6603063
 67. Janeway KA, Liegl B, Harlow A, et al. Pediatric KIT wild-type and platelet-derived growth factor receptor alpha-wild-type gastrointestinal stromal tumors share KIT activation but not mechanisms of genetic progression with adult gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res*. 2007;67(19):9084-9088. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1938
 68. Hirota S, Ohashi A, Nishida T, et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology*. 2003;125(3):660-667. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12949711>. Accessed November 15, 2017.

69. Bachet J-B, Landi B, Laurent-Puig P, et al. Diagnosis, prognosis and treatment of patients with gastrointestinal stromal tumour (GIST) and germline mutation of KIT exon 13. *Eur J Cancer*. 2013;49(11):2531-2541. doi:10.1016/j.ejca.2013.04.005
70. Forde PM, Cochran RL, Boikos SA, et al. Familial GI Stromal Tumor With Loss of Heterozygosity and Amplification of Mutant *KIT*. *J Clin Oncol*. 2016;34(3):e13-e16. doi:10.1200/JCO.2013.51.6633
71. Pappo AS, Janeway KA. *Pediatric Gastrointestinal Stromal Tumors*. Vol 23.; 2009:15-34. doi:10.1016/j.hoc.2008.11.005
72. Besmer P, Murphy JE, George PC, et al. A new acute transforming feline retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family. *Nature*. 1986;320(6061):415-421. doi:10.1038/320415a0
73. Rubin BP, Singer S, Tsao C, et al. KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res*. 2001;61(22):8118-8121. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11719439>. Accessed November 21, 2017.
74. Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in Exon 11 of c-Kit Occur Preferentially in Malignant versus Benign Gastrointestinal Stromal Tumors and Do Not Occur in Leiomyomas or Leiomyosarcomas. *Am J Pathol*. 1999;154(1):53-60. doi:10.1016/S0002-9440(10)65250-9
75. Sakurai S, Fukasawa T, Chong JM, Tanaka A, Fukayama M. C-kit gene abnormalities in gastrointestinal stromal tumors (tumors of interstitial cells of cajal). *Japanese J Cancer Res*. 1999. doi:10.1111/j.1349-7006.1999.tb00715.x
76. Wang L, Vargas H, French SW. Cellular origin of gastrointestinal stromal tumors: A study of 27 cases. *Arch Pathol Lab Med*. 2000. doi:10.1043/0003-9985(2000)124<1471:COOGST>2.0.CO;2
77. Sircar K, Hewlett BR, Huizinga JD, Chorneyko K, Berezin I, Riddell RH. Interstitial cells of cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol*. 1999. doi:10.1097/00000478-199904000-00002
78. Broudy VC. Stem cell factor and hematopoiesis. *Blood*. 1997;90(4):1345-1364. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9269751>. Accessed November 15, 2017.

79. Corless CL, Schroeder A, Griffith D, et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin Oncol*. 2005;23(23):5357-5364. doi:10.1200/JCO.2005.14.068
80. Agaimy A, Wenzsch PH, Hofstaedter F, et al. Minute Gastric Sclerosing Stromal Tumors (GIST Tumorlets) Are Common in Adults and Frequently Show c-KIT Mutations. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(1):113-120. doi:10.1097/01.pas.0000213307.05811.f0
81. Agaimy A, Märkl B, Arnholdt H, Hartmann A, Schneider-Stock R, Chetty R. Sporadic segmental Interstitial cell of cajal hyperplasia (microscopic GIST) with unusual diffuse longitudinal growth replacing the muscularis propria: differential diagnosis to hereditary GIST syndromes. *Int J Clin Exp Pathol*. 2010;3(5):549-556. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20606738>. Accessed November 15, 2017.
82. Reith JD, Goldblum JR, Lyles RH, Weiss SW. Extragastrointestinal (soft tissue) stromal tumors: An analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome. *Mod Pathol*. 2000. doi:10.1038/modpathol.3880099
83. Yamamoto H, Oda Y, Kawaguchi KI, et al. c-kit and PDGFRA Mutations in Extragastrointestinal Stromal Tumor (Gastrointestinal Stromal Tumor of the Soft Tissue). *Am J Surg Pathol*. 2004. doi:10.1097/00000478-200404000-00007
84. Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A study of 1840 cases. *Am J Surg Pathol*. 2009. doi:10.1097/PAS.0b013e3181a90e1a
85. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors - Definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch*. 2001;438(1):1-12. doi:10.1007/s004280000338
86. Medeiros F, Corless CL, Duensing A, et al. KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(7):889-894. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15223958>. Accessed November 23, 2017.
87. Novelli M, Rossi S, Rodriguez-Justo M, et al. DOG1 and CD117 are the antibodies of choice in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumours. *Histopathology*. 2010;57(2):259-270. doi:10.1111/j.1365-2559.2010.03624.x
88. Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CDM. Monoclonal Antibody DOG1.1 Shows Higher Sensitivity Than KIT in the Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors,

- Including Unusual Subtypes. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(3):437-446. doi:10.1097/PAS.0b013e318186b158
89. Janeway KA, Kim SY, Lodish M, et al. Defects in succinate dehydrogenase in gastrointestinal stromal tumors lacking KIT and PDGFRA mutations. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(1):314-318. doi:10.1073/pnas.1009199108
 90. Duensing A, Joseph NE, Medeiros F, et al. Protein Kinase C theta (PKCtheta) expression and constitutive activation in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Cancer Res*. 2004;64(15):5127-5131. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-0559
 91. Hirota S, Nishida T, Isozaki K, et al. Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumours. *J Pathol*. 2001;193(4):505-510. doi:10.1002/1096-9896(2000)9999:9999::AID-PATH818>3.0.CO;2-E
 92. Corless CL, Barnett CM, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumours: Origin and molecular oncology. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(12):865-878. doi:10.1038/nrc3143
 93. Emile JF, Théou N, Tabone S, et al. Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic characteristics of gastrointestinal mesenchymal tumors. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(7):597-605. doi:10.1016/S1542-3565(04)00243-5
 94. Yamamoto H, Tobo T, Nakamori M, et al. Neurofibromatosis type 1-related gastrointestinal stromal tumors: A special reference to loss of heterozygosity at 14q and 22q. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009;135(6):791-798. doi:10.1007/s00432-008-0514-z
 95. Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, et al. PDGFRA Activating Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science (80-)*. 2003;299(5607):708-710. doi:10.1126/science.1079666
 96. Martín J, Poveda A, Llombart-Bosch A, et al. Deletions affecting codons 557-558 of the c-KIT gene indicate a poor prognosis in patients with completely resected gastrointestinal stromal tumors: A study by the Spanish Group for Sarcoma Research (GEIS). *J Clin Oncol*. 2005;23(25):6190-6198. doi:10.1200/JCO.2005.19.554
 97. Gasparotto D, Rossi S, Polano M, et al. Quadruple-negative GIST is a sentinel for unrecognized neurofibromatosis type 1 syndrome. *Clin Cancer Res*. 2017;23(1):273-282. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0152
 98. Miettinen M, Lasota J, Sobin LH. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach in children and young adults: a clinicopathologic, immunohistochemical, and mo-

- lecular genetic study of 44 cases with long-term follow-up and review of the literature. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(10):1373-1381. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16160481>. Accessed November 15, 2017.
99. Rege TA, Wagner AJ, Corless CL, Heinrich MC, Hornick JL. "Pediatric-type" gastrointestinal stromal tumors in adults: distinctive histology predicts genotype and clinical behavior. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(4):495-504. doi:10.1097/PAS.0b013e31820e5f7d
 100. Boikos SA, Pappo AS, Killian JK, et al. Molecular Subtypes of KIT/PDGFRA Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumors: A Report From the National Institutes of Health Gastrointestinal Stromal Tumor Clinic. *JAMA Oncol*. 2016;1-7. doi:10.1001/jamaoncol.2016.0256
 101. Gasparotto D, Rossi S, Campagna D, et al. Imatinib-Sensitizing KIT Mutation in a Carney-Stratakis-Associated GI Stromal Tumor. *J Clin Oncol*. 2016;34(11):e99-e103. doi:10.1200/JCO.2012.44.7300
 102. Agaram NP, Wong GC, Guo T, et al. Novel V600E BRAF mutations in imatinib-naive and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47(10):853-859. doi:10.1002/gcc.20589
 103. Hostein I, Faur N, Primois C, et al. BRAF Mutation Status in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(1):141-148. doi:10.1309/AJCPPCKGA2QGBJ1R
 104. Janku F, Wheler JJ, Naing A, et al. PIK3CA Mutations in Advanced Cancers: Characteristics and Outcomes. *Oncotarget*. 2012;3(12):1566-1575. doi:10.18632/oncotarget.716
 105. Corless CL. Gastrointestinal stromal tumors: what do we know now? *Mod Pathol*. 2014;27(S1):S1-S16. doi:10.1038/modpathol.2013.173
 106. Shi E, Chmielecki J, Tang C-M, et al. FGFR1 and NTRK3 actionable alterations in "Wild-Type" gastrointestinal stromal tumors. *J Transl Med*. 2016;14(1):339. doi:10.1186/s12967-016-1075-6
 107. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol*. 2006;23(2):70-83. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17193820>. Accessed January 3, 2018.

108. Huang H-Y, Li C-F, Huang W-W, et al. A modification of NIH consensus criteria to better distinguish the highly lethal subset of primary localized gastrointestinal stromal tumors: a subdivision of the original high-risk group on the basis of outcome. *Surgery*. 2007;141(6):748-756. doi:10.1016/j.surg.2007.01.024
109. Levy AD, Remotti HE, Thompson WM, Sobin LH, Miettinen M. Gastrointestinal stromal tumors: radiologic features with pathologic correlation. *Radiographics*. 2003. doi:10.1148/rg.232025146
110. Wilson SR, Greenbaum LD, Goldberg BB. Contrast-enhanced ultrasound: What is the evidence and what are the obstacles? *Am J Roentgenol*. 2009;193(1):55-60. doi:10.2214/AJR.09.2553
111. Unnikrishnan S, Klivanov AL. Microbubbles as ultrasound contrast agents for molecular imaging: Preparation and application. *Am J Roentgenol*. 2012;199(2):292-299. doi:10.2214/AJR.12.8826
112. Lencioni R, Cioni D, Bartolozzi C. Tissue harmonic and contrast-specific imaging: back to gray scale in ultrasound. *Eur Radiol*. 2002;12(1):151-165. doi:10.1007/s003300101022
113. Desser TS, Jeffrey RB. Tissue harmonic imaging techniques: physical principles and clinical applications. *Semin Ultrasound CT MR*. 2001;22(1):1-10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11300583>. Accessed April 20, 2018.
114. Kollmann C. New sonographic techniques for harmonic imaging--underlying physical principles. *Eur J Radiol*. 2007;64(2):164-172. doi:10.1016/j.ejrad.2007.07.024
115. Schneider M. SonoVue, a new ultrasound contrast agent. *Eur Radiol*. 1999;9(S3):S347-S348. doi:10.1007/PL00014071
116. Bokor D. Diagnostic Efficacy of SonoVue. *Am J Cardiol*. 2000;86:19-24. doi:10.1016/S0002-9149(00)00985-1
117. Sontum PC. Physicochemical Characteristics of Sonazoid™, A New Contrast Agent for Ultrasound Imaging. *Ultrasound Med Biol*. 2008;34(5):824-833. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2007.11.006
118. Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, et al. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) in the liver - Update 2012. *Ultraschall der Medizin*. 2013;34(1):11-29. doi:10.1055/s-0032-1325499

119. Piscaglia F, Nolsøe C, Dietrich CF, et al. The EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical practice of contrast enhanced ultrasound (CEUS): Update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall der Medizin*. 2012;33(1):33-59. doi:10.1055/s-0031-1281676
120. ter Haar GR. Ultrasonic contrast agents: safety considerations reviewed. *Eur J Radiol*. 2002;41(3):217-221. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861096>. Accessed May 11, 2018.
121. de Jong N, Frinking PJ, Bouakaz A, Ten Cate FJ. Detection procedures of ultrasound contrast agents. *Ultrasonics*. 2000;38(1-8):87-92. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10829635>. Accessed June 12, 2018.
122. Frinking PJ, Bouakaz A, Kirkhorn J, Ten Cate FJ, de Jong N. Ultrasound contrast imaging: current and new potential methods. *Ultrasound Med Biol*. 2000;26(6):965-975. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10996696>. Accessed June 12, 2018.
123. Napoleon B. L'échoendoscopie de contraste. *Acta Endoscopica*. 2010;40(1):31-34. doi:10.1007/s10190-010-0017-z
124. Dalla Palma L, Bertolotto M. Introduction to ultrasound contrast agents: physics overview. *Eur Radiol*. 1999;9 Suppl 3:S338-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10602924>. Accessed June 12, 2018.
125. Kitano M, Kudo M, Sakamoto H, et al. Preliminary study of contrast-enhanced harmonic endosonography with second-generation contrast agents. *J Med Ultrason*. 2008;35(1):11-18. doi:10.1007/s10396-007-0167-6
126. Whittingham TA. Broadband transducers. *Eur Radiol*. 1999;9 Suppl 3:S298-303. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10602914>. Accessed June 12, 2018.
127. Digestive Disease Week, American Society for Gastrointestinal Endoscopy meeting abstracts. May 2005, Chicago, Illinois, USA. *Gastrointest Endosc*. 2005;61(5):AB77-309. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15889505>. Accessed June 12, 2018.
128. Dietrich CF, Ignee A, Frey H. Contrast-enhanced endoscopic ultrasound with low mechanical index: a new technique. *Z Gastroenterol*. 2005;43(11):1219-1223. doi:10.1055/s-2005-858662

129. Kitano M, Kudo M, Maekawa K, et al. Dynamic imaging of pancreatic diseases by contrast enhanced coded phase inversion harmonic ultrasonography. *Gut*. 2004;53(6):854-859. doi:10.1136/GUT.2003.029934
130. Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Adsay V, et al. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatology*. 2012;12(3):183-197. doi:10.1016/j.pan.2012.04.004
131. Yamashita Y, Ueda K, Itonaga H, et al. Usefulness of contrast-enhanced endoscopic sonography for discriminating mural nodules from mucous clots in intraductal papillary mucinous neoplasms a single-center prospective study. *J Ultrasound Med*. 2013;32(1):61-68. doi:10.7863/jum.2013.32.1.61
132. Dumonceau J-M, Polkowski M, Larghi A, et al. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy*. 2011;43(10):897-912. doi:10.1055/s-0030-1256754
133. Sakamoto H, Kitano M, Matsui S, et al. Estimation of malignant potential of GI stromal tumors by contrast-enhanced harmonic EUS (with videos). *Gastrointest Endosc*. 2011. doi:10.1016/j.gie.2010.10.011
134. Kannengiesser K, Mahlke R, Petersen F, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound is able to discriminate benign submucosal lesions from gastrointestinal stromal tumors. *Scand J Gastroenterol*. 2012. doi:10.3109/00365521.2012.729082
135. Fusaroli P, D'Ercole MC, Geroni LCG. Contrast enhanced-endoscopic ultrasonography (Ch-EUS) in the differential diagnosis of gastrointestinal submucosal tumors (SMTs). *Gastrointest Endosc*. 2013;77(Supple):Mo1481.
136. Dietrich CF, Sifftoiu A, Jenssen C. Real time elastography endoscopic ultrasound (RTE-EUS), a comprehensive review. *Eur J Radiol*. 2014;83(3):405-414. doi:10.1016/j.ejrad.2013.03.023
137. Kim GH, Park DY, Kim S, et al. Is it possible to differentiate gastric GISTs from gastric leiomyomas by EUS? *World J Gastroenterol*. 2009. doi:10.3748/wjg.15.3376
138. Poveda A, García del Muro X, López-Guerrero JA, et al. GEIS guidelines for gastrointestinal sarcomas (GIST). *Cancer Treat Rev*. 2017. doi:10.1016/j.ctrv.2016.11.011

139. Chatzipantelis P, Salla C, Karoumpalis I, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors of the stomach. A study of 17 cases. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008.
140. Watson RR, Binmoeller KF, Hamerski CM, et al. Yield and performance characteristics of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for diagnosing upper GI tract stromal tumors. *Dig Dis Sci*. 2011. doi:10.1007/s10620-011-1646-6
141. Attila T, Aydin O. Lesion size determines diagnostic yield of EUS-FNA with onsite cytopathologic evaluation for upper gastrointestinal subepithelial lesions. *Turkish J Gastroenterol*. 2018;29(4):436-441. doi:10.5152/tjg.2018.17876
142. Iglesias-Garcia J, Lindkvist B, Lariño-Noia J, Domínguez-Muñoz JE. Endoscopic ultrasound elastography. *Endosc Ultrasound*. 2012. doi:10.7178/eus.01.003
143. Ignee A, Jenssen C, Hocke M, et al. Contrast-enhanced (endoscopic) ultrasound and endoscopic ultrasound elastography in gastrointestinal stromal tumors. *Endosc Ultrasound*. 2017;6(1):55. doi:10.4103/2303-9027.200216

