

# بررسی مقدماتی Brushing Cytology در ضایعات پری آمپولر و مقایسه آن با بیوپسی در ضایعات فوق و تعیین کفایت آن در ضایعات بدخیم غیر قابل بیوپسی در بیماران مراجعه کننده به بخش ERCP بیمارستان دکتر شریعتی

## از مهرماه ۱۳۸۱ لغایت مهرماه ۱۳۸۲

### چکیده

زمینه و هدف: ضایعات مجاری صفراوی از جمله آمپولر و اتر به علت عدم دسترسی آسان در آندوسکوپی و احتمال بروز خطر در نمونه برداری و تشخیص در مراحل پیشرفته، از بیماری‌های مهم دستگاه گوارش محسوب می‌گردند. با توجه به مطالعات انجام شده در ارتباط با نقش و حساسیت Brushing Cytology در تشخیص ضایعات این ناحیه و عدم همراهی این روش با عارضه جدی، در این مطالعه سعی شد تا حساسیت و ویژگی این روش در تشخیص ضایعات این ناحیه برآورد شود.

روش کار: در این بررسی از ۴۵ بیمار مبتلا به ضایعات مجاری صفراوی که جهت انجام ERCP (Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography) به مرکز تحقیقات گوارش بیمارستان شریعتی مراجعه کرده بودند، نمونه سیتولوژی تهیه و در صورت امکان نمونه بیوپسی نیز گرفته شد. همچنین بیماران به طور دوره‌ای پیگیری شدند و نتایج سیتولوژی با نمونه‌های بیوپسی یا سیر بیماری (Follow up) مقایسه گردید.

یافته‌ها: از بین افرادی که هر دو نمونه بیوپسی و سیتولوژی را داشتند، تمام افرادی که نمونه بیوپسی آنها از نظر بدخیمی مثبت بود، نمونه‌های سیتولوژی آنها نیز مثبت بود و تمام بیمارانی که نمونه‌های بیوپسی آنها منفی بود به جز ۱ مورد، نمونه‌های سیتولوژی آنها نیز منفی بود. فقط تنها ۱ مورد بیوپسی منفی در سیتولوژی مثبت گزارش گردید، یعنی در مجموع ارتباط معنی‌داری بین مثبت شدن نمونه‌های سیتولوژی در مقایسه با تست استاندارد بیوپسی وجود داشت ( $p=0/04$ ). همچنین سیتولوژی حساسیت و ویژگی خوبی در مقایسه با بیوپسی (ویژگی (Specificity): ۸۰٪، حساسیت (Sensitivity): ۱۰۰٪، ارزش اخباری منفی (Negative predictive value=NPV): ۱۰۰٪، ارزش اخباری مثبت (Positive predictive value=PPV): ۸۸/۸٪) داشت. از این نظر، این نتایج با مطالعات دیگر هماهنگی داشت. اضافه نمودن نتایج مثبت پیگیری به بیوپسی و مقایسه سیتولوژی با آنها در مواردی که انجام بیوپسی امکان پذیر نبوده است، نیز نشان داده که حساسیت و ویژگی این روش قابل قبول می‌باشد (ویژگی: ۸۰/۵٪، حساسیت: ۷۳٪، ارزش اخباری منفی: ۵۰٪ و ارزش اخباری مثبت: ۹۱/۶٪).

نتیجه‌گیری کلی: نتایج مطالعه نشان داد که Brushing Cytology روش نسبتاً مناسبی در تشخیص ضایعات بدخیم ناحیه پری آمپولر می‌باشد که سهولت انجام آن، استفاده عملی از این روش را مقبول‌تر می‌سازد.

- کلیدواژه‌ها: ۱ - ناحیه پری آمپولری (Periampullary region)  
۲ - آندوسکوپی رترورگریدکلانژیوپانکراتوگرافی (ERCP)  
۳ - برآشینه سیتولوژی (Brushing cytology)

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش: ۸۴/۳/۸

- (I) استادیار گروه آسیب‌شناسی، بیمارستان دکتر شریعتی، خیابان کارگر شمالی، پل جلال‌آل احمد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران، ایران.  
(II) متخصص آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران، ایران (\*مؤلف مسؤول).  
(III) دانشیار گروه آسیب‌شناسی، بیمارستان دکتر شریعتی، خیابان کارگر شمالی، پل جلال‌آل احمد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران، ایران.  
(IV) استادیار و فوق تخصص بیماری‌های گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران، ایران.

## مقدمه

ضایعات التهابی و نئوپلاستیک ناحیه آمپول و اتر به علت عدم دسترسی آسان در اندوسکوپی، احتمال بروز خطر در نمونه برداری از این ضایعات و این که عمده بیماری‌های این ناحیه در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شوند، از ضایعات مهم دستگاه گوارش محسوب می‌شوند. صرف نظر از مطالعات آندوسکوپی و رادیولوژی که نقش مهمی در تشخیص این بیماری‌ها دارند، brushing cytology به علت سهولت انجام و عدم همراهی با عوارض جدی که گهگاه در نمونه برداری از این ضایعات پیش می‌آید، نیز نقش مهمی در تشخیص این ضایعات دارد.

مطالعه اسمیرهای سیتولوژی به خصوص اگر نتایج بیوپسی به علت تخریب، التهاب زیاد، نکروز بافتی، اندازه کوچک نمونه، نمونه‌گیری سطحی از ضایعه و یا orientation نامناسب قابل ارزیابی نباشند، بسیار مفید می‌باشد. براساس محل، نوع و اندازه ضایعه فقط، ۵۰-۴۰٪ قطعات بیوپسی ممکن است بدخیمی را نشان دهند.<sup>(۱)</sup> چندان غیر عادی نیست که فقط در یک قطعه بافتی، آن هم فقط در یک نقطه بدخیمی وجود داشته باشد. به علاوه نمونه‌های سیتولوژی حاصل از brushing در موارد تنگی مجاری که امکان نمونه برداری را مشکل می‌سازد، ممکن است در رسیدن به تشخیص نقش مهمی داشته باشند.

فواید بررسی به روش سیتولوژی، سرعت تهیه آن، خاصیت تهاجمی کم و عدم همراهی نسبی با عوارض جدی می‌باشد. البته مشکلاتی نیز در رابطه با استفاده از سیتولوژی در تشخیص بدخیمی‌ها وجود دارد که از جمله آنها عدم نمونه‌گیری مناسب از ضایعه، وجود واکنش دسموپلاستیک و گسترش ساب موکوزال ضایعه می‌باشد که در این موارد نمونه‌های حاصل به طور کاذب، منفی می‌شوند.

با توجه به اهمیت نقش سیتولوژی در تشخیص این ضایعات در این مطالعه سعی شد تا ضایعات ناحیه

پری آمپولری را با روش سیتولوژی بررسی و در مواردی که انجام بیوپسی امکان پذیر بود، نتایج این دو روش با هم مقایسه شوند.

در تحقیقات و مطالعات انجام شده در زمینه ارزش تشخیصی brushing cytology در تنگی‌های مجاری پانکراتیکوبیلیاری نتایج مختلفی به دست آمده، به گونه‌ای که حساسیت این روش از ۳۳٪ تا ۸۵٪ گزارش شده است. علت عمدی این تفاوت‌ها اشکالات تکنیکی در تهیه نمونه و تفسیر نمونه‌های سیتولوژی است.

در مطالعه‌ای که بین سال‌های ۱۹۸۸ تا ۱۹۹۴ در بلژیک توسط Macken E و همکارانش انجام شد، ۱۵۴ نمونه به روش Brush cytology از طریق ERCP از ۱۳۲ بیمار تهیه شد که تنها ۱۱۵ نمونه یا به عبارتی ۸۶٪ نمونه‌ها، جهت بررسی سیتولوژی قابل استفاده بود. ۹ بیمار به دلیل follow up ناکافی از مطالعه حذف شدند و در نهایت ۱۲۳ نمونه از ۱۰۶ بیمار وارد مطالعه شده و برای ۶۲ بیمار تشخیص نهایی بدخیمی داده شد. حساسیت و ویژگی به روش ERBC (Endoscopic Retrograde Brushing cytology) در این مطالعه به ترتیب ۶۳٪ و ۹۶٪ گزارش شد که البته با توجه به موقعیت آناتومیک ضایعه حساسیت متفاوت بود. در تنگی‌های بدخیم آمپولری حساسیت تست ۹۱٪ و در مورد کانسر سر پانکراس و کلانژیوکارسینوم به ترتیب ۶۵٪ و ۶۰٪ می‌باشد.<sup>(۲)</sup>

همچنین در مطالعه‌ای توسط Baroales و Ricardi و همکارانشان از ۱۱۸ بیمار مبتلا به اولسر دئودنال، نئوپلاسم آمپولری و یا تنگی‌های صفاوی نمونه‌های سیتولوژی تهیه و بررسی شد. نمونه‌های brushing cytology مربوط به دئودنوم (n=۵۰)، آمپول (n=۳۲) و مجاری صفاوی (n=۳۶۰) بود همچنین بیوپسی‌های هم زمان نیز انجام شد که شامل نمونه‌های دئودنوم (n=۳۷)، آمپول (n=۲۲) و مجاری صفاوی (n=۳۶) بود.

نتایج بررسی سیتولوژی در مقایسه با بیوپسی به عنوان gold standard در جدول شماره ۱ ذکر شده است.<sup>(۳)</sup>

جدول شماره ۱- نتایج بررسی سیتولوژی در مقایسه با بیوپسی به

عنوان Goldstandard	آمپول	دئودنوم	
براشینگ مجرای صفراوی	٪۱۰۰	٪۴۰	Sensitivity
	٪۹۳	٪۹۷	Specificity
	٪۸۶	٪۷۵	PPV
	٪۸۸	٪۶۱	NPV

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت مقطعی (Cross sectional) و با استفاده از آزمون‌های آماری Chi square و Fisher exact test و آزمون‌های غربالگری انجام شد، از کل بیماران که به علت وجود ضایعات پری آمپولر (تنگی، تومور و ...) جهت انجام ERCP مراجعه کرده بودند، نمونه سیتولوژی تهیه شد.

در طی انجام ERCP توسط یک دئودنوسکوپ تا قسمت دوم دئودنوم پیش رفته و در مقابل اسفنکتر اودی جایی که Common bile duct به دئودنوم راه پیدا می‌کند، با استفاده از کاتتر مخصوص brushing، اقدام به کانولاسیون کرده سپس ماده حاجب تزریق نموده و بعد از عبور از تنگی مجرا جهت تهیه نمونه سیتولوژی ۳ مرتبه brush از محل تنگی عبور داده شد.

بدین ترتیب نمونه‌گیری انجام شد و سپس کاتتر خارج شده و از Cellular material چسبیده به آن به طور مستقیم ۴ عدد اسلاید تهیه شد. ۲ اسلاید در هوای اتاق خشک شده و رنگ آمیزی رایت روی آنها انجام شد و ۲ اسلاید دیگر بلافاصله در الکل مطلق به مدت ۲۰ دقیقه fix شدند و رنگ آمیزی پاپا نیکولا روی آنها انجام شد. در صورت امکان بیوپسی نیز از ضایعه گرفته شد و در شیشه حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و به بخش پاتولوژی ارسال گردید.

بررسی اسلایدهای سیتولوژی به صورت blind و بدون اطلاع از نتایج بیوپسی توسط یک پاتولوژیست مجرب صورت گرفت.

نتایج

در این مطالعه که بررسی مقدماتی به شمار می‌آید، از مجموع ۴۵ بیماری که تحت ERCP قرار گرفته و نمونه سیتولوژی از آنها تهیه گردیده بود، ۵ نفر نمونه سیتولوژی ناکافی داشتند (Inadequate) که از مطالعه خارج گردیدند، از ۴۰ نفر باقی مانده که نمونه سیتولوژی کافی داشتند در ۱۳ مورد نمونه بیوپسی نیز از بیماران گرفته شده بود.

میانگین سنی بیماران مورد مطالعه ۶۱ سال بود. از میان افراد شرکت کننده در مطالعه، ۴۱٪ زن و ۵۹٪ مرد بودند. از نمونه‌های سیتولوژی تهیه شده ۱۷ نمونه (۴۵/۹٪) از نظر بدخیمی، منفی و ۲۳ نمونه (۵۴/۱٪)، مثبت بودند. از این ۲۳ مورد؛ ۸ نمونه، احتمالی (Suggestive) بودند که در آنالیز آماری مثبت در نظر گرفته شدند. از ۱۳ نفر از بیماران مورد مطالعه که نمونه‌های بیوپسی برای آنان تهیه شده بود، ۸ نمونه از نظر بدخیمی، مثبت و ۵ نمونه، منفی بودند، در باقی بیماران به علت خصوصیات آناتومیک خاص منطقه امکان بیوپسی وجود نداشت.

در بین افرادی که هر دو نمونه بیوپسی و سیتولوژی را داشتند، تمام بیماران که نمونه بیوپسی آنها از نظر بدخیمی مثبت بود نمونه‌های سیتولوژی مثبت داشتند و ۴ بیماری که نمونه بیوپسی آنها از نظر بدخیمی منفی بود، نمونه سیتولوژی منفی داشتند. به این ترتیب در این تعداد نمونه‌ها در مجموع ارتباط معنی‌داری بین مثبت شدن نمونه‌های سیتولوژی در مقایسه با تست استاندارد بیوپسی وجود داشت. (Fisher exact test=۰/۰۴)، (df=1 chi square) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- مقایسه نتایج سیتولوژی و بیوپسی

	بیوپسی		
	-	+	
سیتولوژی +	۱	۸	+
سیتولوژی -	۴	۰	-
	۱۳	۸	

ضایعه به گونه‌ای بود که انجام brushing از آن ممکن نبود.

در بررسی نمونه‌هایی که سیتولوژی و پاتولوژی هم‌زمان داشتند. ویژگی و حساسیت و سیتولوژی در مقایسه با بیوپسی به عنوان Goldstandard test به ترتیب ۱۰۰٪ و ۸۰٪ بوده است و PPV و NPV در این تست نیز به ترتیب ۸۸/۸٪ و ۱۰۰٪ بوده است که با اضافه نمودن نتایج پیگیری‌های انجام شده به نتایج بیوپسی (موارد فوت شده)، ویژگی و ارزش اخباری مثبت سیتولوژی افزایش و در برابر آن حساسیت و ارزش اخباری منفی آن کاهش یافت (حساسیت: ۷۳٪، ویژگی: ۸۰/۵٪، ارزش اخباری منفی: ۵۰٪ و ارزش اخباری مثبت: ۹۱/۶٪).

البته در مطالعات مشابه و با حجم نمونه‌های متفاوت نتایج گوناگونی به دست آمده است مثلاً در مطالعه‌ای که در دانشگاه تگزاس آمریکا انجام شد، علت پایین بودن حساسیت (موارد منفی کاذب) ERCP مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به دست آمده از ۱۸۳ نمونه Brushing Cytology عبارت بودند از: حساسیت: ۴۸٪، ویژگی: ۹۸٪، ارزش اخباری مثبت: ۹۲٪، ارزش اخباری منفی: ۷۶٪. خطای نمونه‌گیری به عنوان علت اصلی موارد منفی کاذب (۶۷٪) بوده است. ۱۷٪ موارد مربوط به اشکال تفسیر پاتولوژی و بقیه مربوط به سایر اشکالات تکنیکی بوده است. بنابراین به نظر می‌رسد که بهبود تکنیک‌های تهیه اسلاید و تکرار Brushing می‌تواند حساسیت را افزایش دهد.<sup>(۴)</sup>

در مطالعه دیگری متدهای مختلف نمونه‌گیری سیتولوژی در تنگی‌های پانکراتیکوبیلیاری مورد بررسی قرار گرفت. در ۱ دوره ۱۵ ماهه طی سال‌های ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۵ از ۵۴ بیمار مشکوک به بدخیمی نمونه سیتولوژی تهیه شد. ۲۲ مورد بدخیمی توسط brushing cytology کشف شد. در این مطالعه ۳۸٪ موارد کارسینوم پانکراس و ۶۳٪ موارد کلانژیو کارسینوم توسط Brushing Cytology کشف شد. علت اختلاف حساسیت تست برای کلانژیو کارسینوم و

در پیگیری انجام شده، معلوم شد که از ۳۳ بیمار، ۱۶ نفر فوت شده بودند و از این تعداد، ۱۰ نفر نمونه سیتولوژی مثبت، ۱ بیمار نمونه ناکافی (Inadequate) و ۵ بیمار نمونه سیتولوژی منفی داشتند. از میان مواردی که انجام بیوپسی امکان پذیر نبود، ۳ بیمار با نمونه سیتولوژی مثبت و ۴ بیمار با نمونه سیتولوژی منفی فوت شده بودند در این حالت مشاهده می‌کنیم که حساسیت و ویژگی روش سیتولوژی در مقایسه با بیوپسی و Follow up به ترتیب ۷۳٪ و ۸۰٪ PPV، NPV به ترتیب ۹۱/۶٪ و ۵۰٪ بود.

#### بحث

در این مطالعه که به شیوه بررسی مقدماتی (Pilot study) انجام گرفت از ۴۵ بیمار دچار ضایعات پری آمپولری، نمونه brushing cytology تهیه گردید و ۴۰ بیمار با توجه به کافی بودن نمونه ارزیابی شدند. در ۱۳ بیمار نیز به طور هم زمان نمونه بیوپسی تهیه شد که بررسی سیتولوژی در مقایسه با بیوپسی به عنوان روشی استاندارد نتایج زیر را به همراه داشت:

تمام نمونه‌های بیوپسی که از نظر بدخیمی مثبت بودند، نمونه سیتولوژی مثبت داشتند.

در ۱ مورد مشاهده گردید که نمونه سیتولوژی از نظر بدخیمی مثبت بود ولی نمونه بیوپسی منفی بود. با توجه به عدم هماهنگی پاسخ نمونه سیتولوژی با نمونه بیوپسی به عنوان روش استاندارد تشخیصی به نظر می‌رسد که نمونه بیوپسی از محل مناسبی تهیه نشده بود.

در بررسی‌های Follow up انجام شده، وجود ۳ مورد با نمونه سیتولوژی مثبت که نمونه بیوپسی نداشتند و فوت کرده بودند. نشان می‌دهد که به دلیل عدم دسترسی آناتومیک امکان تهیه بیوپسی از ضایعه وجود نداشت. وجود ۴ بیمار با نمونه سیتولوژی منفی که فوت شده بودند، نشان می‌دهد که به دلایلی چون نبودن تجربه کافی در نمونه‌گیری، عدم درگیری مخاطی و یا فشار خارجی بر روی تومور، سلول‌های تومورال وارد نمونه نشده بودند و یا این که محل

## نتیجه گیری

از آن جایی که این مطالعه در کشور ما و با توجه به امکانات موجود انجام گرفته است به نظر می‌رسد که روش سیتولوژی نظر به غیرتهاجمی بودن و کم عارضه بودن و حساسیت و ویژگی بالا روش مناسبی جهت تشخیص ضایعات این ناحیه به شمار می‌رود. به نظر می‌رسد که انجام بررسی و مطالعات تحقیقاتی بیش‌تر در این زمینه، در اثبات کارایی این روش سودمند باشد.

## منابع

- 1- Qizibash AH, Castelli M, Kowalski MA, Churly A, Marie A. Endoscopic brush cytology and biopsy in the diagnosis of cancer of the upper GI tract. Acta cytology; 1980. 24: 313- 318.
- 2- Macken E, Drijkoningen M, Van Aken E, Van Steenberghe W. Brush cytology of ductal strictures during ERCP. Acta Gastrointestinal Be; 2000 Jul-Sep. 63(3): 254-9.
- 3- Ricardi H, Baroales MD, Michael W, Stanley MD, Donald D, Simpson CT, et al. Diagnostic value of brush cytology in the diagnosis biliary and ampullary neoplasms. AJCP; 1998 May. 109(5): 540-548.
- 4- Logrono R, Kurtycz DF, Molina CP, Trivedi VA, Wong JY, Block KP. Analysis of false negative diagnosis on endoscopic brush cytology of biliary and pancreatic duct strictures, the experience at 2 university hospitals. Arch Pathol lab Med; 2000 Mar. 124(3): 387-92.
- 5- Mansfield JC, Griffin SM, Wadehra V, Matthewson K. A prospective evaluation of cytology from biliary strictures. Gut; 1997 May. 40(5): 671-7.
- 6- Mariza N, de Peralta-Venturina, Dominic K, Wong M, Jane Purslow, Sudhar Kini. Biliary tract cytology in specimens obtained by direct cholangiographic procedures: A study of 74 cases. Diagnostic cytopathology; 1998 Dec. 14(4): 344-348.

کارسینوم پانکراس، مجاورت تنگی مجاری صفراوی به پاتولوژی اولیه در مواردی بود که تومور برخاسته از مجاری صفراوی بود.<sup>(۵)</sup> همچنین در یک مطالعه انجام شده توسط Mariz با گرفتن ۱۰۴ نمونه سیتولوژی و بررسی ۷۴ نمونه بیوپسی، brushing cytology در مقایسه با تست استاندارد بیوپسی حساسیت: ۸۸/۹٪، ویژگی: ۹۸٪، و ارزش اخباری منفی: ۸۸٪ و ارزش اخباری مثبت: ۹۶٪ داشته است. به نظر می‌رسد که با افزایش نمونه‌های بیوپسی ویژگی آزمون ارتقاء می‌یابد.<sup>(۶)</sup>

یک نکته جالب این است که در مطالعه دیگری که نواحی نمونه‌گیری شده در سیستم بیلاری جهت brushing cytology در بیماران متمایز گردیده بود حساسیت و ویژگی آزمون سیتولوژی در مقایسه با نمونه‌های بیوپسی، به طور متفاوتی گزارش گردید (در ناحیه آمپولری حساسیت و ویژگی: ۱۰۰٪، در ناحیه دئودنال حساسیت و ویژگی ۴۰٪ و ۹۷٪ و در ناحیه bile duct حساسیت و ویژگی ۷۵٪ و ۹۳٪). بنابراین به نظر می‌رسد که مکان دقیق انجام نمونه‌گیری جهت brushing cytology نیز در حساسیت و ویژگی این تست تاثیر می‌گذارد.<sup>(۳)</sup>

در برخی از پژوهش‌ها حساسیت و ویژگی سیتولوژی در مقایسه با روش تشخیصی ERCP، ۷۲/۵٪ و ۸۳/۳٪ به دست آمده است که البته پیگیری طولانی‌تر بیماران و همچنین افزایش حجم نمونه نیز برای افزایش accuracy تست توصیه شده است.

در مطالعه حاضر نتایج سیتولوژی و بیوپسی (حساسیت: ۱۰۰٪، ویژگی: ۸۰٪، ارزش اخباری مثبت: ۸۸/۸٪ و ارزش اخباری منفی: ۱۰۰٪) با یکدیگر هم خوانی داشتند و در مطالعات قبلی انجام شده با تعداد نمونه‌های بیش‌تر نیز تقریباً همین نتایج به دست آمده است. (حساسیت و ویژگی: ۱۰۰٪ در ضایعات دئودنال، در مورد مجاری صفراوی، حساسیت: ۷۵٪ و ویژگی: ۹۳٪ در مطالعه Ricardi و حساسیت: ۸۸/۹٪ و ویژگی: ۹۶٪ در مطالعه (Mariza).

