
Artigo Original / Original Article

CITOLOGIA DE ASPIRADOS POR AGULHA FINA ECOENDOSCOPICAMENTE GUIADA NA AVALIAÇÃO DE MASSAS PANCREÁTICAS SUSPEITAS DE MALIGNIDADE

M. URBANO⁽¹⁾, F. PORTELA⁽²⁾, J. M. PONTES⁽³⁾, M. BARROSO⁽⁴⁾, G. FERNANDES⁽⁴⁾, C. A. CALHAU⁽⁵⁾, H. GOUVEIA⁽⁶⁾, M. LEITÃO⁽⁷⁾, D. FREITAS⁽⁸⁾

Resumo

Introdução: A ecoendoscopia fornece imagens detalhadas das massas pancreáticas mas, em muitos casos, não diferencia benignidade de malignidade, o que pode ser conseguido pela avaliação citológica do material recolhido por punção com agulha fina ecoendoscopicamente guiada (EUS-FNAC).

Objetivo: Investigar a exequibilidade e a acuidade diagnóstica da citologia de aspirados por agulha fina ecoendoscopicamente guiada na avaliação de massas pancreáticas suspeitas de malignidade.

Métodos: As colheitas foram executadas pelo mesmo grupo de endoscopistas experientes, na presença do mesmo citopatologista ou do mesmo citotécnico. Os resultados da avaliação citológica foram confrontados com os diagnósticos finais obtidos por *follow-up* clínico de pelo menos doze meses ou por análise histopatológica cirúrgica.

Resultados: O estudo envolveu 80 doentes, dos quais 39 sofriam de neoplasias malignas e 41 de lesões benignas. A citologia foi positiva em 35 casos, negativa em 34, suspeita em 3 e atípica em 2. Em 6 casos não se recolheu material celular. Considerando apenas os 34 verdadeiros positivos, os 33 verdadeiros negativos, 1 falso positivo e 1 falso negativo, obtiveram-se para a sensibilidade, especificidade, acuidade diagnóstica, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo os seguintes valores: S=97,1%, E=97%, AD=97,1%, VPP=97,1% e VPN=97%. Incluindo também, de acordo com o critério explicado no texto, os 11 doentes com diagnóstico citológico suspeito, atípico e sem material, aqueles valores passaram a S=87,2%, E=90,2%, AD=88,8%, VPP=89,5% e VPN=88,1%.

Conclusões: A EUS-FNAC é um método exequível, seguro e rigoroso para diagnosticar lesões pancreáticas suspeitas, quando se dispõe de um grupo de endoscopistas experientes e dum laboratório de citopatologia dedicado.

Summary

Background: Endoscopic ultrasound observations provide detailed imaging of pancreatic masses but, in many cases, is often unable to distinguish between benign and malignant lesions, having it to ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology (EUS-FNAC) to achieve this differentiation.

Aim: To investigate the feasibility and diagnostic accuracy of EUS-FNAC in patients with suspected pancreatic masses.

Methods: All EUS-FNAs were performed by the same group of experienced endoscopists. On-site evaluation of specimen adequacy was done by a cytopathologist in each case. The cytopathological findings were compared with the final diagnosis provided by either clinical follow-up (at least twelve months) or surgical pathology.

Results: EUS-FNACs were obtained from 80 patients. In the final diagnosis, 39 had malignant lesions and 41 benign ones. The cytology was positive for malignancy in 35 patients, negative in 34, suspicious in 3, atypical in 2 and the material was not adequate in 6. Considering only the 34 true positives, 33 true negatives, 1 false positive and 1 false negative, we obtained a sensitivity, specificity, accuracy, a positive predictive value and a negative predictive value of 97.1%, 97%, 97.1%, 97.1% and 97%, respectively. Including also the 11 patients where the cytology was suspicious, atypical or without material, those values turned out to be 87.2%, 90.2%, 88.8%, 89.5% and 88.1%, respectively.

Conclusions: With a well-trained group of endoscopists and cytopathologists, EUS-FNAC is able to diagnose pancreatic malignancy with a high degree of accuracy.

GE - J Port Gastroenterol 2005, 12: 17-21

(1) Investigadora do Centro de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(2) Especialista de Gastroenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(3) Assistente da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(4) Especialista de Anatomia Patológica dos Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(5) Técnico de Anatomia Patológica dos Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(6) Chefe de Serviço de Gastroenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(7) Chefe de Serviço de Gastroenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra e Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

(8) Director do Serviço de Gastroenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra e Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Recebido para publicação: 16/09/2004

Aceite para publicação: 07/01/2005

INTRODUÇÃO

A ecoendoscopia fornece imagens detalhadas de lesões pequenas que escapam ao escrutínio de outros métodos imagiológicos, mas não permite diferenciar os processos reactivos/inflamatórios dos processos malignos (1-5). Além disso, há situações em que a biópsia é impraticável ou não fornece tecido suficiente para um diagnóstico seguro. Em todos os casos, a agulha fina ecoendoscopicamente guiada pode recolher com precisão material celular representativo da lesão, sem desconforto nem consequências significativas para o doente. Finalmente, o exame citológico permite, na maior parte dos casos, diferenciar tumores pancreáticos malignos de lesões de natureza benigna. Por isso, a EUS-FNAC assume um papel relevante na definição de estratégias terapêuticas, reduzindo o número de intervenções cirúrgicas de diagnóstico, diminuindo a morbilidade e mortalidade, com substanciais poupanças nas despesas dos cuidados de saúde (6).

OBJECTIVO

Pretendemos com este trabalho investigar a exequibilidade e a acuidade do diagnóstico citológico de aspirados por agulha fina ecoendoscopicamente guiada (EUS-FNAC) na avaliação de massas pancreáticas suspeitas de malignidade. Pretendemos, em particular, diferenciar lesões de natureza maligna (tumor primitivo do pâncreas, metástases pancreáticas), das lesões de carácter benigno (pancreatite crónica e nódulos benignos).

MATERIAL E MÉTODOS

Efectuaram-se 94 punções ecoendoscópicas, em doentes consecutivos, não tendo sido possível incluir 14 desses doentes neste estudo por dificuldades de acesso ao diagnóstico definitivo. Foram estudados 80 doentes, sendo 48 homens com idades compreendidas entre os 30 e 86 anos (média de idade 58,9 anos), e 32 mulheres entre os 34 e 81 anos (média de idade 43,9 anos).

Houve o cuidado de assegurar uniformidade dos procedimentos em todos os casos estudados. Em todos eles se usaram ecoendoscópios *Pentax®* FG32UA e FG38UX e agulhas finas de calibre 22 *gauge*, sendo as punções efectuadas por um só grupo de endoscopistas, na presença do mesmo citopatologista e/ou do mesmo citotécnico. O material celular colhido foi depositado sobre lâminas colocadas ao alto em cima de papel de filtro. Este procedimento permite que o sangue eventualmente presente escorra e não se acumule no esfregaço, o que perturbaria a observação. Com a ajuda de outra lâmina, estende-se o material celular de maneira a obter uma

camada de células fina e homogénea. Os esfregaços secos ao ar foram submetidos à coloração de *Giemsa*. Aplicámos uniformemente o seguinte conjunto de características citomorfológicas de malignidade:

- 1 - Perda do padrão "favo de mel" das células epiteliais
- 2 - Aumento do tamanho dos núcleos
- 3 - Polimorfismo nuclear
- 4 - Textura grosseira da cromatina
- 5 - Existência de nucléolos proeminentes (na ausência de células inflamatórias)
- 6 - Irregularidade dos contornos nucleares
- 7 - Hipercromasia dos núcleos
- 8 - Existência de grupos tridimensionais
- 9 - Aumento da relação núcleo/citoplasma
- 10 - Diminuição da quantidade de citoplasma
- 11 - Vacuolização citoplasmática

Os achados citológicos foram confrontados com o *follow-up* clínico e imagiológico de, pelo menos, doze meses, ou com o estudo histopatológico da peça operatória nos doentes submetidos a cirurgia.

RESULTADOS

Das punções efectuadas resultou um caso de perfuração duodenal que exigiu intervenção cirúrgica.

Os resultados do diagnóstico citológico foram os seguintes: 35 positivos para malignidade (43,8%), 34 negativos para malignidade (42,5%), 2 casos com células atípicas (2,5%), 3 casos com células suspeitas de malignidade (3,7%) e 6 casos sem material adequado para diagnóstico (7,5%).

O diagnóstico final revelou **39** lesões malignas e **41** lesões benignas. As lesões malignas incluíram 27 adenocarcinomas (14 homens e 13 mulheres), 5 tumores neuroendócrinos (3 homens e 2 mulheres), 5 metástases (1 homem e 4 mulheres), 1 tumor mucinoso papilar (homem), e 1 carcinoma de células anaplásicas (homem). As lesões de natureza benigna compreendiam 18 pancreatites crónicas, (16 homens e 2 mulheres), 18 quistos e pseudoquistos (8 homens e 10 mulheres), e 5 nódulos benignos (4 homens e 1 mulher). As dimensões das lesões sólidas encontradas variavam entre 15 e 80 mm.

Da comparação entre o diagnóstico citológico e o diagnóstico final concluímos que o primeiro forneceu 34 verdadeiros positivos (V+), 33 verdadeiros negativos (V-), 1 falso positivo (F+), 1 falso negativo (F-) e 5 casos suspeitos ou atípicos. Destes 5 últimos, 2 revelaram ser adenocarcinomas e 3 pancreatites crónicas.

A partir destes resultados, calculámos a sensibilidade (S), a especificidade (E), a acuidade diagnóstica (AC), o

valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) da EUS-FNAC, usando dois critérios distintos que designamos por A e B.

No critério A apenas considerámos os 69 casos em que o exame citológico produziu um diagnóstico inequívoco, ou seja, apenas incluímos os verdadeiros positivos (34 casos), os verdadeiros negativos (33 casos), os falsos positivos (1 caso) e os falsos negativos (1 caso), retirando assim os atípicos (2 casos), os suspeitos (3 casos) e todos aqueles onde não se obteve material celular (6 casos) (Quadro I).

Quadro I - Critério restritivo (exclui os 3 suspeitos e 2 atípicos).

	Diagnóstico final	
	Maligno	Benigno
Citologia maligna	34 (V+)	1 (F+)
Citologia benigna	1 (F-)	33 (V-)

N=69

Usando este critério obtivemos S=97,1%, E=97%, AD=97,1%, VPP=97,1% e VPN=97%.

No critério B incluímos também os 11 doentes cujo diagnóstico citológico se revelou atípico (2 casos), suspeito (3 casos) ou sem material celular (6 casos), considerando: como verdadeiros negativos, os sem material que se revelaram benignos (4 casos); como falsos positivos, os suspeitos e atípicos, com patologia benigna (3 casos); e como falsos negativos, os suspeitos, atípicos e sem material cujo resultado final revelou patologia maligna (4 casos) (Quadro II). Usando este critério obtivemos S=87,2%, E=90,2%, AD=88,8%, VPP=89,5% e VPN=88,1%.

Quadro II - Critério abrangente (inclui os 3 suspeitos, os 2 atípicos e os 6 sem material).

	Diagnóstico final	
	Maligno	Benigno
Citologia maligna, suspeita e atípica	34 (V+)	4 (F+)
Citologia benigna	5 (F-)	37 (V-)

N=80

Estes resultados são apresentados no Quadro III.

Quadro III - Apresentam-se os índices de precisão do método do exame citológico de aspirados por agulha fina ecoendoscopicamente guiada na avaliação de massas pancreáticas suspeitas de malignidade, obtidos de acordo com os critérios A e B definidos no texto.

Critério	Sensibilidade (S)	Especificidade (E)	Acuidade diagnóstica (AC)	Valor preditivo positivo (VPP)	Valor preditivo negativo (VPN)
A	97,1%	97%	97,1%	97,1%	97%
B	87,2%	90,2%	88,8%	89,5%	88,1%

DISCUSSÃO

O tumor maligno tem um comportamento biológico alterado, caracterizado por desenvolver uma estrutura anárquica que se manifesta morfológica e funcionalmente nos elementos celulares que compõem os tecidos do órgão afectado. No entanto, não existem aspectos morfológicos isolados que permitam estabelecer critérios de malignidade (7-10). As características citomorfológicas descritas na secção Material e Métodos, quando presentes em conjunto, são reveladores de malignidade (Figuras 1 e 5). Contudo, há patologias benignas que preenchem muitos deles (Figura 2) e, em contrapartida, há lesões malignas onde nem todos eles estão presentes (Figura 3).

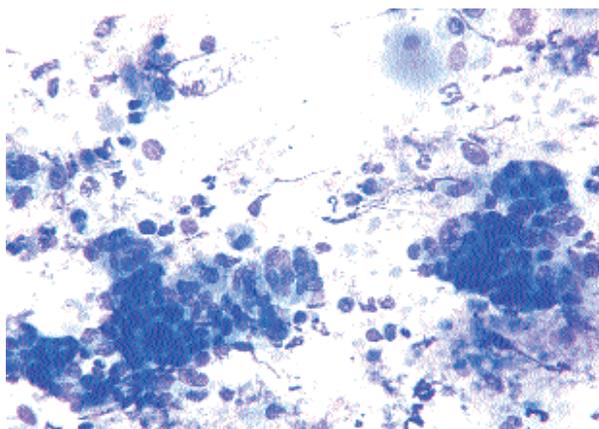


Figura 1 - Pancreatite crónica. Giemsa. 40x.

Isso deve-se, em particular, ao facto do diagnóstico citológico do adenocarcinoma estar relacionado com o seu grau de diferenciação, havendo por vezes uma sobreposição de aspectos morfológicos entre o adenocarcinoma pancreático de baixo grau (ou bem diferenciado) e os aspectos reactivos da pancreatite crónica (Figura 4). Além disso, um adenocarcinoma pode estar rodeado por uma inflamação crónica e a amostra colhida para análise citológica ser proveniente desta última.

Estes aspectos são tanto mais relevantes quanto a atitude terapêutica vai ser determinada pelo diagnóstico com todas as consequências dela decorrentes para doente e para a instituição hospitalar. O diagnóstico tem pois que

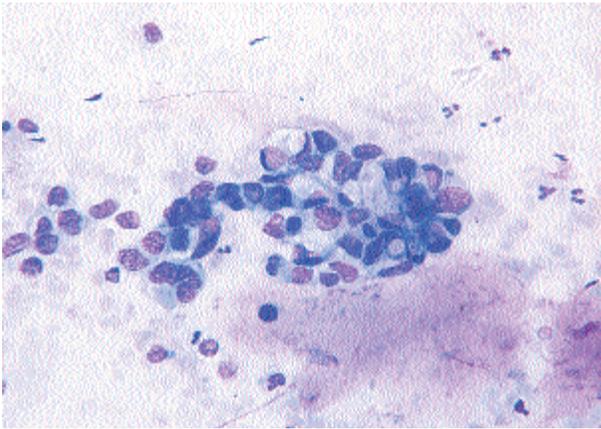


Figura 2 - Falso positivo: Citologia - Carcinoma; Diagnóstico final - Pancreatite crónica. Giemsa. 40x.

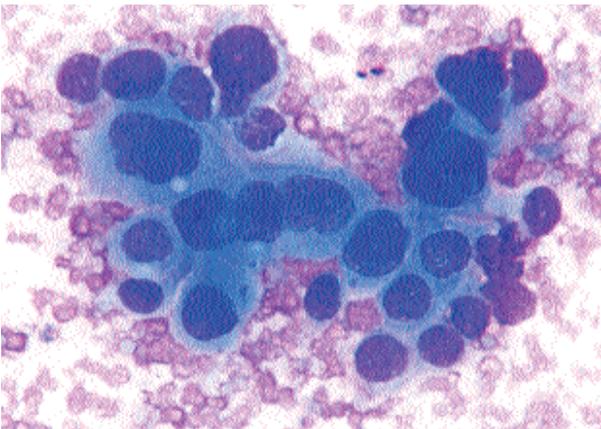


Figura 3 - Adenocarcinoma pancreático. Giemsa. 40x.

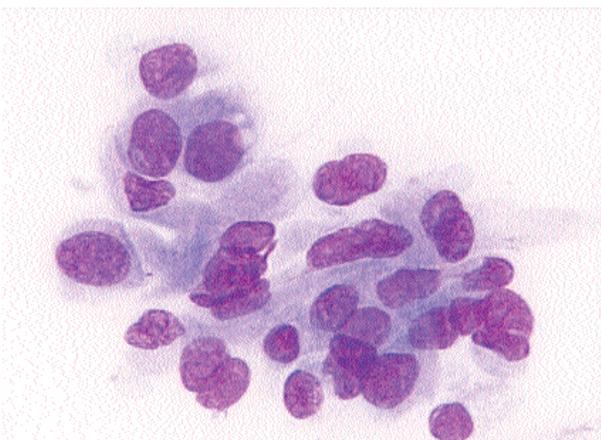


Figura 4 - Falso negativo: Citologia - negativo; Diagnóstico final - Adenocarcinoma pancreático. Giemsa. 40x.

ser estabelecido com o maior grau possível de objectividade, com o conhecimento da história do doente e das respectivas avaliações laboratoriais, e desenvolvido por um grupo de profissionais experientes, utilizando procedimentos uniformes e padronizados.

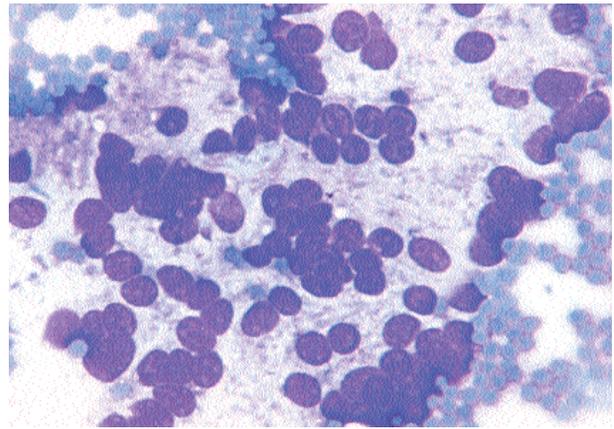


Figura 5 - Carcinoma Neuroendócrino. Giemsa. 40x.

Uma vez que nenhuma das características morfológicas permite, isoladamente, identificar uma neoplasia maligna, é necessário considerá-las no seu conjunto, valorizando as que se referem aos aspectos nucleares e citoplasmáticos e ainda ao tipo de agrupamentos celulares presentes nos esfregaços.

De facto, as punções do adenocarcinoma pancreático são normalmente muito celulares e exibem agrupamentos de células coesas, por vezes tridimensionais, com uma proporção núcleo-citoplasma quase normal. A importância do aparecimento de grupos tridimensionais, a perda da polaridade e o contorno nuclear irregular constituem critérios de malignidade. Em contraste, nas lesões de carácter reactivo os agrupamentos celulares são bidimensionais e a sobreposição nuclear é pouco frequente (10).

A avaliação citológica baseou-se na descrição pormenorizada dos elementos celulares de acordo com as características já descritas e também na presença ou ausência de material inflamatório, mucinas, material necrosado, detritos celulares e material fibrosado.

As dificuldades diagnósticas são encontradas em situações de processos inflamatórios, particularmente na pancreatite crónica, pois fornece esfregaços com poucos elementos celulares de origem ductal epitelial, com atipias muito intensas de carácter reactivo, com núcleos grandes, de cromatina granulada, polimorfos, com grandes nucléolos de polaridade alterada, com disposição anárquica em citoplasma secretor e reduzido (10). Estes aspectos são responsáveis por falsos positivos, como aconteceu na nossa série, onde um quadro de pancreatite crónica foi interpretado como adenocarcinoma (11). O falso negativo, descrito como compatível com pancreatite crónica, revelou-se um adenocarcinoma bem diferenciado. Dos 3 quadros citológicos considerados suspeitos, 2 correspondiam a adenocarcinomas da cabeça, e 1 a uma pancreatite crónica. As 2 citologias

com atipias celulares foram no diagnóstico final consideradas como 2 pancreatites crónicas.

Finalmente, como se definiu na secção Resultados, no critério A que usámos para obter os índices de precisão da EUS-FNAC, apenas considerámos os 69 casos em que o exame citológico produziu um diagnóstico inequívoco, ou seja, apenas incluímos os verdadeiros positivos, os verdadeiros negativos, os falsos positivos e os falsos negativos. No entanto, a EUS-FNAC é um método de diagnóstico onde se encontram interligadas duas técnicas de características diferentes, uma imagiológica e outra de observação microscópica, não se devendo ignorar que a especificidade de determinadas lesões pancreáticas e as dificuldades da colheita nessas situações podem originar a ausência de material celular. Assim, se o objectivo do método é detectar a malignidade em massas pancreáticas que outros meios de diagnóstico, tais como CPRE, ECO e TC, não esclareceram, então dos casos sem material celular devem ser considerados como falsos negativos os correspondentes a doentes que o diagnóstico final revelou serem portadores de tumor maligno e como verdadeiros positivos os portadores de patologia benigna. Pela mesma ordem de razão, dos casos atípicos e suspeitos devem ser considerados como falsos positivos os de patologia benigna e como falsos negativos os de patologia maligna. Foram estas considerações que nos levaram a usar também o critério "ecoendo-citológico", que designámos por critério B, para obter os índices de precisão da EUS-FNAC. Sendo bastante mais exigente do que o critério A, que podemos classificar como "citológico", origina valores cerca de 10% mais baixos.

Em conclusão, os resultados que obtivemos são da mesma ordem de grandeza dos obtidos recentemente noutras instituições hospitalares (1,6, 12-15) e não obstante as dificuldades de colheita e de interpretação, mostraram que o diagnóstico citológico por EUS-FNA é um método sensível, específico e rigoroso no estudo das massas sólidas pancreáticas.

Correspondência:

Marta Maria Venturini Carreira Urbano
Serviço de Gastrenterologia
Hospitais da Universidade de Coimbra
Praceta Prof. Mota Pinto
3000-075 Coimbra
Telef./Fax: 23 970 15 17
E-mail: gastro@huc.min-saude.pt

BIBLIOGRAFIA

1. Eloubeidi MA, Jhala D, Chhieng DC, Chen VK, Eltoun I, Vickers S, et al. Yield of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy in patients with suspected pancreatic carcinoma. *Cancer* 2003; 99: 285-92.
2. Hunt GC, Faigel DO. Assessment of EUS for diagnosing, staging, and determining resectability of pancreatic cancer: a review. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 232-7.
3. Gines A, Vazquez-Sequeiros E, Soria MT, Clain JE, Wiersma MJ. Usefulness of EUS-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the diagnosis of functioning neuroendocrine tumors. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 291-6.
4. Chhieng DC, Jhala D, Jhala N, Eltoun I, Chen VK, Vickers S, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy: a study of 103 cases. *Cancer* 2002; 96: 232-9.
5. Mallery JS, Centeno BA, Hahn PF, Chang Y, Warshaw AL, Brugge WR. Pancreatic tissue sampling guided by EUS, CT/US, and surgery: a comparison of sensitivity and specificity. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 218-24.
6. Afify AM, al-Khafaji BM, Kim B, Scheiman JM. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of the pancreas. Diagnostic utility and accuracy. *Acta Cytol* 2003; 47: 341-8.
7. Bibbo M. *Comprehensive Cytopathology*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1997. p 78-117.
8. Naib ZM. *Cytopathology*. 4nd. Boston: Little, Brown & Co.
9. Frost JK. *Concepts basic to general cytopathology*, ed 4, Johns Hopkins University Press, 1972.
10. Atkinson BF, Silverman JF. *Atlas de Dificuldades Diagnosticas em Citopatologia*. Madrid: Harcourt; 2000. p 330-2.
11. Schwartz DA, Unni KK, Levy MJ, Clain JE, Wiersma MJ. The rate of false-positive results with EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 868-72.
12. Ylagan LR, Edmundowicz S, Kasal K, Walsh D, Lu DW. Endoscopic ultrasound guided fine-needle aspiration cytology of pancreatic carcinoma: a 3-year experience and review of the literature. *Cancer* 2002; 96: 362-9.
13. Raut CP, Grau AM, Staerckel GA, Kaw M, Tamm EP, Wolff RA, et al. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in patients with presumed pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 118-26; discussion 127-8.
14. Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun IA, Jhala D, Chhieng DC, Jhala N, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy of patients with suspected pancreatic cancer: diagnostic accuracy and acute and 30-day complications. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2663-8.
15. Mertz H, Gautam S. The learning curve for EUS-guided FNA of pancreatic cancer. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 33-7.