



## VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



### UTILIDAD DE LOS CEPILLADOS BILIARES EN EL DIAGNOSTICO DE LESIONES MALIGNAS DEL TRACTO BILIAR

MARIA MAGDALENA GARCIA BONAFE\*, ANGELS VILELLA\*\*, CARLES DOLZ\*\*

\* HOSPITAL SON LLATZER. Palma de Mallorca (Servicio de Anatomía Patológica) ESPAÑA

\*\* HOSPITAL SON LLATZER (Servicio de Digestivo) ESPAÑA

#### Resumen

Diversos trabajos publicados han evaluado la utilidad del estudio citológico de muestras obtenidas por cepillado de lesiones que afectan las vías biliares, sobre todo en aquellas con origen en el tracto biliar o en páncreas.

Son varios los métodos de estudio para la evaluación de lesiones del tracto biliar: colangiografía, ecografía, TAC o ultrasonografía endoscópica. Todos ellos son útiles para demostrar el nivel de la obstrucción pero no para establecer la naturaleza benigna o maligna causante de la misma.

En la actualidad los procedimientos utilizados para la obtención de muestras citológicas biliares son varios. Se utilizan la aspiración biliar o el cepillado directo de las estructuras o lesiones del tracto biliar en el transcurso de la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica. Este es el método elegido en

nuestro hospital para el estudio morfológico de las lesiones del tracto hepato-pancreato - biliar.

El estudio citológico de las muestras por cepillado se ha ido considerando, durante los años, como un método muy útil debido a su mayor sensibilidad, frente a otro tipo de muestras, para la detección de lesiones malignas, siendo uno de los motivos la cantidad superior de células obtenidas por este método frente a otras técnicas como el lavado o el aspirado biliar. Así como también a la mejor preservación de la estructura celular en las muestras así obtenidas debido a que, en el cepillado, la toma se realiza en contacto directo con la lesión que quiere diagnosticarse.

En esta conferencia queremos presentar nuestra experiencia en la utilización de esta técnica diagnóstica a partir de la serie que hemos recopilado durante 3 años.

El desarrollo de este trabajo se ha confeccionado a partir de serie de 60 cepillados correspondientes a 53 pacientes. Las muestras correspondían a: 48 colédoco, 7 conducto hepático, 4 conducto pancreático y 1 de localización sin determinar. En todos los casos se realizaron 2 extensiones y en 39 se llevó a cabo, también, lavado del cepillo en suero fisiológico con posterior citocentrifugación y extensiones.

Por imagen (CPRE) 40 lesiones sugerían malignidad, 13 benignidad y el resto eran inconcretas. En 15 (25%) de los casos se realizó estudio biopsico y en el resto el diagnóstico final se estableció por marcadores tumorales séricos y diagnóstico por imagen (TAC).

Los diagnósticos citológicos fueron: 26 (43.3%) malignos, 28 (46.6%) benignos y 6 (10%) insuficientes.

Los diagnósticos finales fueron de malignidad en 38 casos, en ellos se incluían los 26 casos con citología de malignidad ( 8 adenocarcinomas pancreáticos, 10 colangiocarcinomas, 1 hepatocarcinoma, 1 adenocarcinoma de ampolla de Water, 1 carcinoma de vesícula biliar, 1 carcinoma de duodeno y 3 tumores metastáticos varios); 9 casos con citología benigna ( 6 adenocarcinomas pancreáticos, 1 hepatocarcinoma, 1 adenocarcinoma de ampolla y 1 carcinoma oat cell metastático) y 3 casos con citología insuficiente ( 3 adenocarcinomas pancreáticos).

Los resultados mostraron una sensibilidad total del estudio citológico del 74% ,una especificidad del 100%, valor predictivo positivo del 100% y valor predictivo negativo del 68% . La adecuación de la técnica fue del 90%.

La sensibilidad del estudio citológico para los distintos tipos de tumores ha resultado: 100% para colangiocarcinoma y ADC de vesícula biliar, 57% para ADC ductal de páncreas y del 67% para el resto de lesiones de orígenes diversos.

El valor y utilidad del estudio de las muestras citológicas obtenidas por cepillado de las vías biliares en el transcurso de la CPRE queda patente en nuestra serie en la que se pone de manifiesto una especificidad del 100% para el diagnóstico de lesiones malignas del tracto bilio-pancreático con una alta sensibilidad para colangiocarcinoma y adenocarcinoma de vesícula biliar y menor para las lesiones pancreáticas, ampulares y hepáticas. La

adecuación de la técnica ha sido del 90%.

## CONFERENCIA

Diversos trabajos publicados han evaluado la utilidad del estudio citológico de muestras obtenidas por cepillado de lesiones que afectan a las vías biliares, sobre todo en aquellas que afectan el tracto biliar o en páncreas. Siendo, por lo tanto, un buen método para el diagnóstico de carcinomas de páncreas y colangiocarcinomas.

Hace años, antes de aparecer la radiología intervencionista y las técnicas terapéuticas por endoscopia, la única solución para las estenosis biliares era la cirugía. Si se tiene en cuenta que la cirugía en este campo implica dificultad y complicaciones y comporta ratios elevados de mortalidad y morbilidad, cualquier método dirigido al diagnóstico de lesiones que afectan las vías biliares, para descartar procesos benignos y por lo tanto evitar cirugías innecesarias es un método a tener en cuenta para poder eliminar la cirugía y establecer con seguridad técnicas paliativas o curativas en las lesiones en que estas últimas resulten más eficaces.

Son varios los métodos de estudio para la evaluación de lesiones del sistema biliar: colangiografía, ecografía, TAC o ultrasonografía endoscópica. Todos ellos son útiles para demostrar el nivel de la afectación u obstrucción pero no para establecer la naturaleza benigna o maligna causante de la misma.

En la actualidad los procedimientos utilizados para la obtención de muestras citológicas biliares son varios: la punción aspiración percutánea, la aspiración de bilis, el cepillado directo de las estructuras o lesiones del tracto biliar en el transcurso de la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE). Este es el método elegido en nuestro hospital para el estudio morfológico de las lesiones del tracto hepato-pancreato- biliar.

Aunque es evidente que en las compresiones extrínsecas, que además son fuente de falsos negativos en citología, es mejor la utilización de otros métodos, como la biopsia endoscópica o la PAAF por ecoendoscopia, TAC o ecografía.

El estudio citológico de las muestras por cepillado se ha ido considerando, durante los años, como un método muy útil debido a su mayor sensibilidad, para la detección de lesiones malignas frente a otro tipo de muestras, siendo uno de los motivos, para establecer estas afirmaciones, la mayor cantidad de células obtenidas por este método junto con la mejor preservación de la estructura celular en las muestras así obtenidas, debido a que, con el cepillo, la toma se realiza en contacto directo con la lesión que quiere diagnosticarse.

Una de las desventajas que puede presentar el diagnóstico citológico estriba en la dificultad que pueden plantear lesiones tales como colangitis esclerosantes, litiasis o procesos reparativos, inflamatorios o degenerativos en que sus cambios celulares pueden implicar diagnósticos que llegan a ser sospechosos de malignidad. Aunque esto puede solventarse apoyando el diagnóstico morfológico en la historia clínica, la imagen y las pruebas de laboratorio.

*La Colangiopancreatografía Retrógrada Endoscópica (CPRE)* es una técnica habitual utilizada en procesos obstructivos de los conductos biliares y que habitualmente se presentan con ictericia como síntoma inicial (**Fig.1**).

La primera intención en la utilización de la CPRE es resolver la estenosis con la colocación de una endoprótesis y a la vez obtener muestras biópsicas o citológicas por cepillado de la lesión causante

de la estenosis. La dificultad que conlleva la introducción del fórceps para realizar la biopsia implica que sea el cepillado con toma citológica la técnica utilizada de rutina, para establecer el diagnóstico morfológico en los paciente con estenosis biliar.

Para realizar la citología se cánula la vía biliar con ayuda de una guía y con control radiológico hasta superar la zona de la estenosis; a través de la guía se introduce el catéter de teflón que lleva incorporado el cepillo de citología. Cuando el catéter alcanza la lesión, se libera el cepillo y se realiza un raspado de la lesión mediante movimientos longitudinales del catéter. Una vez tomadas las muestras, se reintroduce el cepillo en el catéter de teflón y se retira para su procesamiento. Con esta técnica es posible alcanzar con el cepillo lesiones localizadas en niveles diferentes del sistema biliar.

Las muestras que se obtienen con el cepillo pueden procesarse de diversas maneras. Las extensiones se realizan deslizando el cepillo sobre un portaobjetos de manera que con una leve presión el material celular quede colocado sobre la laminilla, a continuación este puede fijarse tanto al aire como en alcohol, según la técnica de tinción (diff-quick o Papanicolaou) que prefiera utilizar el laboratorio de anatomía patológica para su estudio.

Otra alternativa es cortar el cepillo y fijarlo en alcohol o introducirlo en suero fisiológico si se va a remitir de inmediato al laboratorio.

Con la utilización de la citología líquida (ThinPrep®) en los últimos años se ha logrado una mejor calidad de las muestras así como mayor cantidad de celularidad en este tipo de muestras.

Una posibilidad si no se utilizan los nuevos métodos de citología líquida es realizar el lavado del cepillo en suero fisiológico, citocentrifugar y teñir las extensiones obtenidas con tinción de Papanicolaou. Con este método es posible obtener, también, bloque celular y por lo tanto conseguir material adicional para poder realizar múltiples técnicas especiales y de inmunohistoquímica (IHQ).

Nuestra serie está formada por 60 cepillados correspondientes a: 48 de colédoco, 7 de conducto hepático común (CHC), 4 de conducto pancreático (CP) y 1 de localización no determinada.

En los 60 casos, el procesamiento del cepillo se ha llevado a cabo por el equipo de endoscopia. Se han realizado 2 extensiones directamente con el cepillo sobre portaobjetos, inicialmente se secaban al aire, se rehidrataban y se fijaban en alcohol para teñirlas con Papanicolaou. En la actualidad se fijan directamente en alcohol.

En 39 casos se ha practicado el lavado del cepillo en suero fisiológico y las ventajas que hemos obtenido, a parte de más cantidad de material celular, han sido:

- la facilidad de lectura de las extensiones sin amontonamiento celular ni estiramiento u otros defectos propios de haber realizado la extensión desde el material del cepillo.
- el mejor detalle celular, sobre todo de la cromatina nuclear, facilitando el diagnóstico de malignidad
- la clara presencia de necrosis, que con dificultad se ponía de manifiesto en las extensiones hechas con el cepillo.
- la obtención de bloque celular con la posibilidad de realizar técnicas de IHQ. Por ejemplo en un caso de metástasis de carcinoma microcítico pulmonar (**Fig.2**)

Las categorías diagnósticas utilizadas en la interpretación de los cepillados biliares varía entre las distintas publicaciones, algunos autores utilizan los diagnósticos de benignidad y malignidad exclusivamente, aunque la mayoría introducen nomenclaturas de significado intermedio como atipia, displasia (leve y severa) y sospecha de malignidad.

En nuestros diagnósticos hemos usado 3 categorías:

- *Benigna*, en el que pueden incluirse la presencia de epitelio biliar normal, los cambios reactivos y

lo que en otras series se han catalogado como atipias probablemente benignas

- *Maligna*, incluyendo las sospechosas de malignidad.
- *Insuficiente o inadecuada*.

## **Criterios Citológicos**

### **Benignidad**

*Epitelio biliar normal*: aparece en placas monoestratificadas o fragmentos de epitelio glandular con los núcleos dispuestos en empalizada. Los núcleos son redondos u ovals con cromatina fina y uniforme (**Fig.3A**).

*Cambios reactivos/reparativos*: Grupos o placas con sobreposición de núcleos, pero conservado esta cierta polaridad en su disposición. Los núcleos conservan su forma redondeada, aunque con aumento de la relación N/C. Las cromatinas son granulares, finas, uniformes o hipocromáticas y pueden tener nucleolo. No se observan irregularidades de la membrana nuclear, ni núcleos con formas irregulares (**Fig.3B**)

### **Malignidad**

Las células aparecen aisladas o en grupos de pocas células que están dispuestas de forma desordenada y con sobreposición o amoldamiento nuclear. Los núcleos son polimorfos con irregularidades de su membrana, un aumento mayor que en las células reactivas de la proporción N/C. Las cromatinas son grumosas, gruesas, densas y con uno o varios nucleolos. Con frecuencia se observa necrosis (**Fig.4**)

### **Insuficiente/Inadecuado/Insatisfactorio**

Comprenderá todos aquellos casos en que:

- aparezcan < de 5 grupos epiteliales (sin que se evidencie claramente atipia).
- la celularidad esté mal preservada.

Los diagnósticos citológicos de nuestra serie se han distribuido según su localización como muestra la **tabla I**.

En la **tabla II** están detallados los resultados de los 26 casos con diagnóstico citológico de malignidad: 20 ADC (7 de toma de colédoco, 2 de CHC y 1 sin identificar), 4 colangiocarcinomas (2 de colédoco y 2 de CHC), 1 metástasis de carcinoma micocítico pulmonar (de colédoco) (**Fig.2**) y 1 linfoma (de CHC) (**Fig.5**).

Para establecer los diagnósticos finales de toda nuestra serie, hemos comprobado los diagnósticos citológicos con el estudio histológico en los casos en que se obtuvo biopsia (12 casos) o pieza quirúrgica (3 casos) y en el resto la se hizo teniendo en cuenta los marcadores tumorales (CEA y CA 19.9), la imagen (TAC o RNM) y el curso clínico.

Por lo que de los 60 casos que hemos revisado el diagnóstico final fue de malignidad en 38 y de benignidad en 21.

Los casos malignos correspondieron a: 17 ADC de páncreas (**Fig.6**), 10 colangiocarcinomas (**Fig.7**), 2 hepatocarcinomas, 2 ADC ampular, 2 ADC de vesícula biliar, 1 ADC duodenal y 4 metástasis. Y los casos finalmente benignos fueron: 6 estenosis extrínsecas, 5 pancreatitis, 6

colédoco litiasis, 2 colangitis y 1 artefacto de imagen (**Tabla III**).

Con estos resultados se pone de manifiesto que de los 38 tumores malignos finalmente diagnosticados, 26 habían sido detectados por la citología, 9 no y 3 correspondían a muestras citológicas insuficientes.

Desglosando y comparando los resultados malignos finales con los hallazgos citobógicos comprobamos que, no aparecieron falsos positivos aunque, si nos centramos en los diagnósticos específicos, en 4 casos de colangiocarcinoma este diagnóstico ya se estableció en la citología, sin embargo todos estos tumores (10) tuvieron diagnósticos citológicos de malignidad (ADC).

Por otro lado 9 ADC de páncreas (cabeza) habían tenido citologías negativas (6) e insuficientes (3), correspondiendo el resto de casos malignos cuya citología no diagnosticó como tales a: 1 HCC, 1 ADC ampular y 1 metástasis de carcinoma microóptico.

Los resultados de nuestra serie han demostrado una sensibilidad total del 74%  $IC_{95\%}$  (73-76%), especificidad del 100%, valor predictivo positivo del 100% y valor predictivo negativo del 68%. La adecuación se ha establecido en el 90%.

La sensibilidad del estudio citológico para los distintos tipos de tumores ha resultado: 100% para colangiocarcinoma y ADC de vesícula biliar, 57% para ADC ductal de páncreas y del 67% para el resto de lesiones de orígenes diversos.

La comparación de nuestros resultados con los de otras series puede consultarse en la **tabla IV**.

Las explicaciones sobre los problemas y beneficios del cepillado biliar empiezan a aparecer en publicaciones desde 1989, en algunas se demuestra la rentabilidad, fiabilidad y sensibilidad de la citología obtenida por cepillado en el transcurso de la CPRE. Las muestras obtenidas por CPRE tienen una alta sensibilidad para la detección de carcinomas con absoluta especificidad y aunque el porcentaje de falsos negativos es alto.

En nuestra serie hemos constatado que la causa de resultados falsos negativos han sido: lesiones con compresión extrínseca que dejaba intacta la cubierta mucosa, la escasa celularidad y la dificultad técnica, causada por la localización anatómica, en tomar una muestra adecuada o en realizar adecuadamente las extensiones y preservar correctamente el material. Este último punto puede solventarse, en la sala de endoscopia, con el lavado del cepillo en un medio de fijación o bien cortando el cepillo intacto, fijarlo y remitirlo al laboratorio realizando allí el lavado del mismo.

Nuestros problemas con los falsos negativos son totalmente comparables con lo expuesto en la literatura, a lo que habría que añadir la posibilidad de fallos en la interpretación debida a: el carácter del tumor (desmoplasia o fibrosis, ulceración, localización submucosa) y la dificultad en la evaluación de ADC bien diferenciados.

En los resultados que hemos presentado es evidente la diferencia e sensibilidad de la citología por cepillado para el diagnóstico del colangiocarcinoma y el ADC de vesícula biliar (100%) y el ADC de páncreas (32%). Este hecho probablemente sea consecuencia del distinto nivel dentro de las vías biliares en que se suelen localizar éstos dos tumores. Los tumores pancreáticos provocan inicialmente una compresión extrínseca y junto con las metástasis tienen un crecimiento submucoso. Por otro lado el colangiocarcinoma se origina en el epitelio ductal siendo comprensiblemente más asequible al cepillado.

En cuanto al colangiocarcinoma, tal como presentamos en una comunicación a este Congreso, hemos revisado sus rasgos citológicos, con la intención de minimizar el número de casos de nuestra serie se que han sido diagnosticados como ADC. Las características citológicas más determinantes que hemos encontrado en nuestra revisión de 11 colangiocarcinomas con toma por cepillado y 2 pos PAAF percutánea han sido: la presencia de células aisladas pleomórficas, adoptando formas

alargadas, la irregularidad de los núcleos y la presencia de pequeños grupos acinares (**Fig.8**). Comparando la sensibilidad de nuestra serie (74%) con otras publicadas (**tabla IV**) nos permite poder utilizar esta técnica diagnóstica de rutina, podemos observar que la sensibilidad manifestada en diferentes artículos oscila entre el 30%- 71%, aunque en revisiones retrospectivas de algunas series con cambios de diagnósticos previos logran superar estas cifras.

En los últimos años otros métodos han alcanzado sensibilidades más altas que las muestras obtenidas por CPRE, como la PAAF y biopsia a través de ecoendoscopia, aunque técnicamente son métodos más dificultosos y queda por establecer las diferencias coste-efectividad comparando CPRE y ecoendoscopia en el diagnóstico de tumores de esta localización.

## Figuras



Fig. 1: Imagen de CPRE

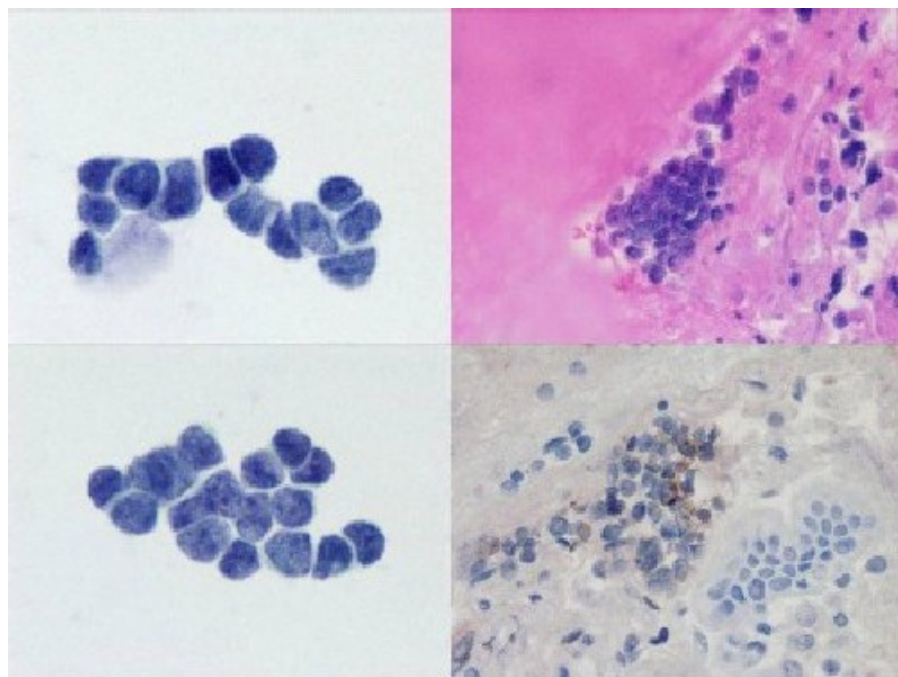


Fig. 2: Carcinoma microcítico pulmonar metastásico: citología por lavado de cepillo (PAP), bloque celular (H/E) y cromogranina.

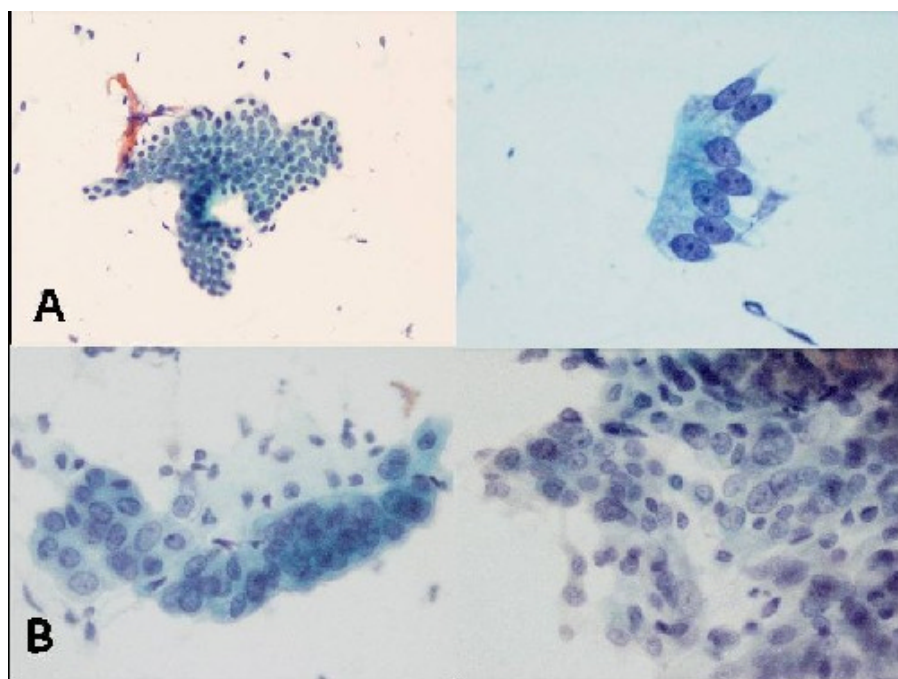


Fig. 3: A) Epitelio biliar normal y B) Cambios reactivos (litiasis y colangitis)

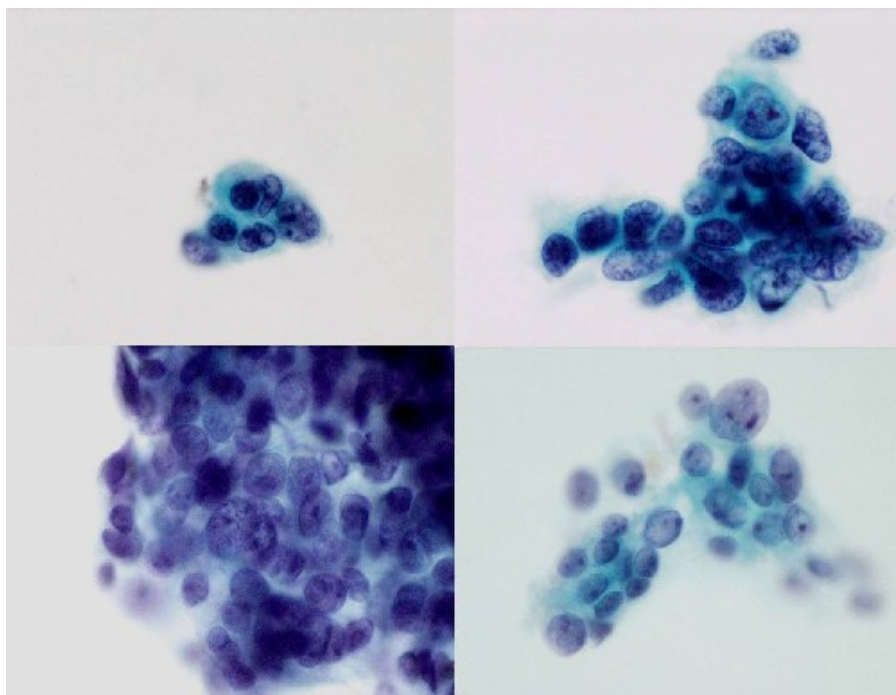


Fig. 4: Características citológicas de malignidad

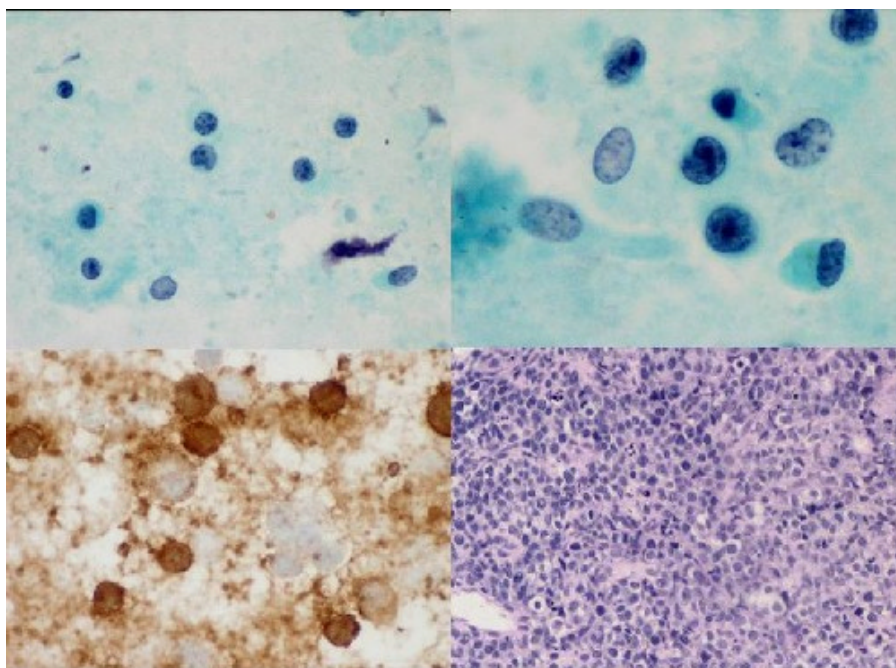


Fig. 5: Linfoma B de célula grande con confirmación por biopsia hepática



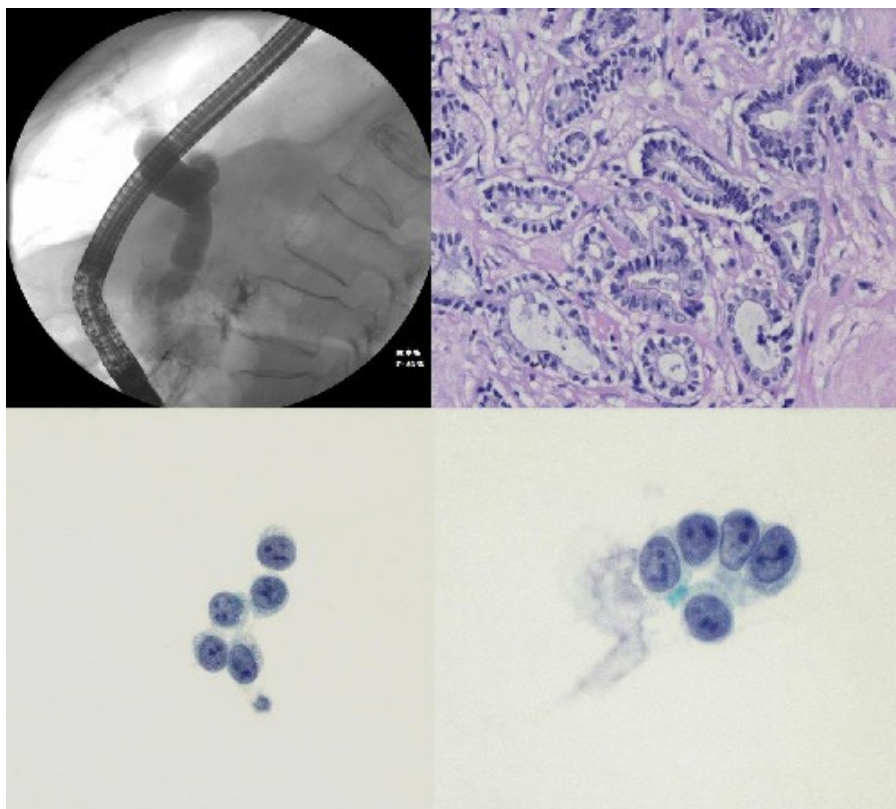


Fig. 6: ADC bien diferenciado de páncreas (cuerpo). CPRE: Dilatación de conductos hepático. Tumor(H/E), pieza quirúrgica.

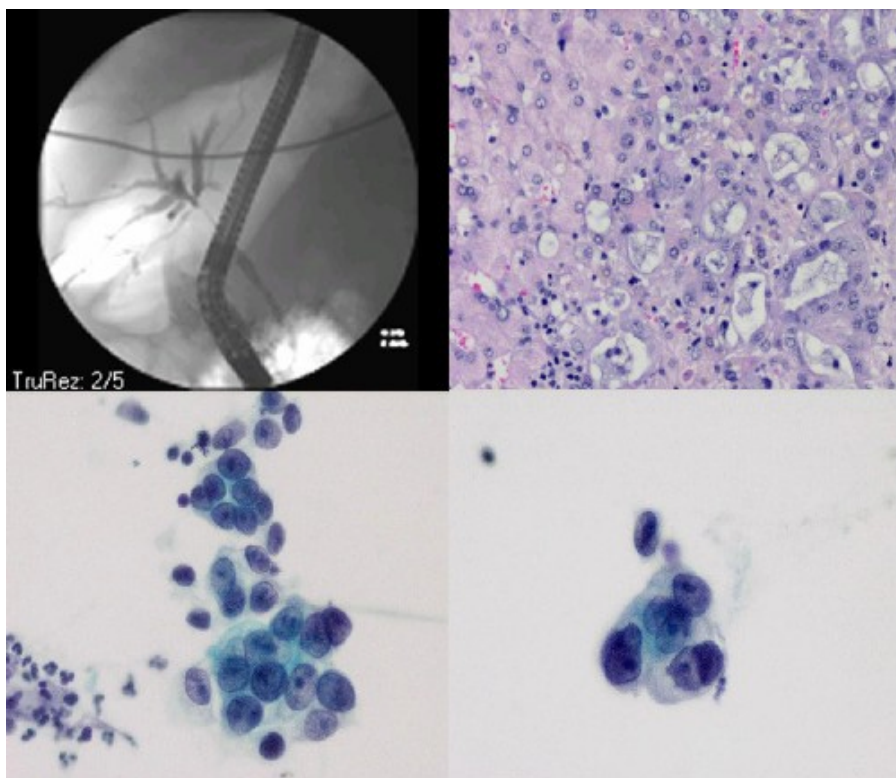


Fig. 7: Colangiocarcinoma. CPRE: Lesión estenótica CHC. Biopsia hepática

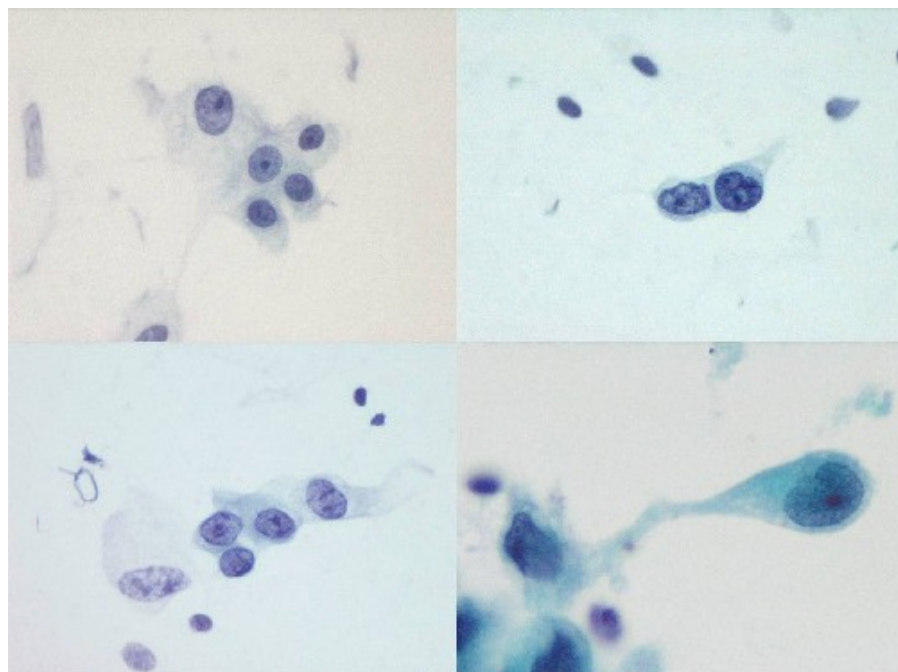


Fig. 8: Características citológicas del colangiocarcinoma

Tablas

	BENIGNO	MALIGNO	INSUFICIENTE	TOTAL
<b>COLEDOCO</b>	<b>23 (48%)</b>	<b>20 (41.6%)</b>	<b>5 (10.4%)</b>	<b>48 (80%)</b>
<b>C. HEPATICO</b>	<b>1</b>	<b>5 (71.5%)</b>	<b>1(14.2%)</b>	<b>7</b>
<b>C.FANCREATICO</b>	<b>4</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>4</b>
<b>OTROS</b>		<b>1</b>		<b>1</b>
<b>TOTAL</b>	<b>28 (46.6%)</b>	<b>26 (43.3%)</b>	<b>6 (10%)</b>	<b>60</b>

Tabla I.

<b>ADC PANCREAS</b>	<b>17</b>
<b>COLANGIOCARCINOMA</b>	<b>10</b>
<b>HCC</b>	<b>2</b>
<b>ADC AMPULAR</b>	<b>2</b>
<b>ADC VESÍCULA BILIAR</b>	<b>2</b>
<b>ADC DUODENO</b>	<b>1</b>
<b>METÁSTASIS</b>	<b>4</b>

Tabla II

<b>ESTENOSIS EXTRINSECA</b>	<b>6</b>
<b>PANCREATITIS</b>	<b>5</b>
<b>COLEDOCOLITIASIS</b>	<b>7</b>
<b>COLANGITIS</b>	<b>2</b>
<b>ARTEFACTO</b>	<b>1</b>

Tabla III.

	<b>Sensibilidad %</b>	<b>Especificidad %</b>	<b>VFP %</b>	<b>VPN %</b>
<b>TOTAL</b>	<b>74</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>68</b>
<b>otras series</b>	<b>30%- 71%</b>	<b>90%- 100%</b>	<b>94%- 100%</b>	<b>84%- 62%</b>
<b>Colangiocarcinoma</b>	<b>100</b>			
<b>otras series</b>	<b>&gt; 50% (20%-100%)</b>			
<b>ADC páncreas</b>	<b>32</b>			
<b>otras series</b>	<b>&lt;65% (0-91%)</b>			
<b>ADC vesícula</b>	<b>100</b>			
<b>Otros</b>	<b>67</b>			

Tabla IV.

## Bibliografía

Ponchon T et al: Value of endobiliary brush cytology and biopsy for the diagnosis of malignant bile Duct stenosis: results of prospective study. *Gastrointest Endosc* 1995;42:565-72.

Foutch PG.: Diagnosis of cancer by cytologic methods performed during ERCP. *Gastrointest Endosc* 1994;40:249-52.

Selvaggi SM: Biliary brushing cytology. *Cytopathol* 2004;15:74-79.

De Bellis M et al: Tissue sampling at ERCP in suspected malignant biliary structures (part 1). *Gastrointest Endosc* 2002;56:552-561

De Bellis M et al: Tissue sampling at ERCP in suspected malignant biliary structures (part 2). *Gastrointest Endosc* 2002;56:720-30.

Wight CO et al: Improving diagnostic yield of biliary brushings cytology for pancreatic cancer and cholangiocarcinoma. *Cytopathology* 2004;15:87-92.

Jailwala J et al.: Triple -tissue sampling at ERCP in malignant biliary obstruction. *Gastrointest Endosc* 2000;51:383-90.

Logrono R et al.: Analysis of false-negative diagnoses on endoscópica brush cytology of biliary and pancreatic structures. The experience at 2 university hospitals. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:387-92.

Henke AC et al.: Cytology diagnosis of adenocarcinoma in biliary and pancreatic duct brushings. *Adv Anat Pathol*. 2002;9:301-8.

Ylagan LR et al.: Endoscopy bile duct brushing of malignant pancreatic biliary structures: retrospective study with comparison of conventional smear and thinprep® techniques. *Diagn Citopathol* 2003;28:196-204.

Bardales RH et al.: Diagnostic value of brush cytology in the diagnosis of duodenal, biliary, and ampullary neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 1998;109:540-8.

Govil H et al.: Brush cytology of the biliary tract: Retrospective study of 278 cases with histopathologic correlation. *Diagn Cytopathol* 2002;26:273-77.