

Impression Cytology in the Diagnosis of Ocular Surface Melanocytic Lesions

Heidary F, MD¹; Hosseini B, MD²; Aliakbar-Navahi R, MD³; Aghaei H, MD³; Rezaei Kanavi M, MD^{1,2*}

¹ Ocular Tissue Engineering Research Center, Shahid Beheshti University of Medical sciences, Tehran, Iran; ² Central Eye Bank of Iran, Tehran, Iran; ³ Rassoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding author: mrezaie47@yahoo.com

Purpose: The aim of this case series was to describe the results of impression cytology (IC) in clinically diagnosed ocular surface melanocytic lesions.

Methods: Impression cytology (IC) was conducted for 18 patients with the clinical diagnosis of an ocular surface melanocytic lesion, using cellulose acetate strips and Periodic acid Schiff Papanicolaou staining. For those cases with atypical cells on IC or at patient's request, excisional biopsies of lesions were performed and subjected to histopathological analysis. Agreement between clinical diagnoses and IC results and between IC results and histopathology were evaluated.

Results: Clinical diagnoses were nevi in 13, conjunctival choristoma versus amelanotic nevus in 1, primary acquired melanosis (PAM) with atypia/melanoma in 2, and atypical nevus versus pigmented conjunctival intraepithelial neoplasia (CIN) in 2 cases. IC results showed a benign nevus in 15, PAM with atypia/melanoma in 2, and CIN versus an atypical epithelioid type melanocytic lesion in 1 case. IC results were consistent with the clinical diagnoses in 16 cases (Cohen's kappa index = 0.84) and excluded CIN in 1. Histopathology in 7 cases disclosed benign melanonevus in 4, malignant melanoma in the context of PAM with atypia in 2, and CIN in 1 case. There was a relatively high correlation between the histopathologic results and the IC features (Cohen's kappa index = 0.76).

Conclusion: By showing typical cytomorphological characteristics of ocular superficial layers, IC diagnosed the true nature of melanocytic ocular surface lesions in the most cases in this case series. Based on the fact that IC does not substitute histopathology, given the high correlation between results of IC and histopathology, it can be of excellent help in diagnosis and management of ocular surface melanocytic lesions.

Keywords: Impression Cytology, Nevus, Ocular Surface Melanocytic Lesion, Primary Acquired Melanosis

- Bina J Ophthalmol 2018; 23 (2): 93-101.

کاربرد سیتولوژی ایمپرشن در تشخیص ضایعات ملانوسیتی سطح چشم

دکتر فاطمه حیدری^۱، دکتر سیدباقر حسینی^۱، دکتر روشنگر علی اکبر نواهی^۲، دکتر حسین آقائی^۳، دکتر مژگان رضایی کنوی^۳

هدف: توصیف نتایج حاصل از سیتولوژی ایمپرشن (Impression Cytology, IC) در ضایعات ملانوسیتی سطح چشم که به صورت بالینی تشخیص داده شده‌اند.

روش پژوهش: سیتولوژی ایمپرشن (IC) برای ۱۸ بیمار با تشخیص بالینی ضایعه ملانوسیتی سطحی چشم با استفاده از کاغذ فیلتراسات سلولزی و رنگ آمیزی Periodic acid Schiff-Papanicolau صورت گرفت. در موارد وجود سلول‌های آتیپیک در IC و یا درخواست بیمار، بیوپسی اکسیژنال از ضایعات انجام شد که نمونه‌ها مورد ارزیابی هیستوپاتولوژی قرار گرفتند. توافق بین تشخیص بالینی و نتایج IC و بین نتایج IC و هیستوپاتولوژی بررسی شد.

یافته‌ها: تشخیص‌های بالینی در ۱۳ بیمار خال ملتحمه، کوریستوم ملتحمه در مقابل خال ملتحمه آملانوتیک در ۱ مورد،

ملانوزیز اولیه اکتسابی (PAM) در مقابل ملانوم در ۲ مورد و خال ملتحمه آتیپیک در مقابل (Conjunctival Intraepithelial Neoplasia (CIN) در ۲ مورد بود. نتایج IC نشان‌دهنده خال ملتحمه خوش‌خیم در ۱۵ مورد، PAM با آتیپیا در مقابل ملانوما در ۲ مورد و CIN در مقابل یک مورد ضایعه ملانوسیتی نوع اپیتلیوئید غیرطبیعی در یک مورد بود. نتایج IC با تشخیص بالینی در ۱۶ مورد مطابقت داشت (شاخص کاپا کوهن = ۰/۸۴) و CIN را در ۱ مورد رد کرد. در ۷ مورد هیستوپاتولوژی انجام شده، خال ملتحمه خوش‌خیم در ۴ مورد، ملانوم بدخیم در زمینه PAM با آتیپیا در ۲ مورد و CIN در ۱ مورد بود. بین نتایج هیستوپاتولوژی و ویژگی‌های IC، همبستگی نسبتاً بالایی وجود داشت (شاخص کاپا کوهن = ۰/۷۶).

نتیجه‌گیری: سیتولوژی ایمپرشن، با نشان دادن ویژگی‌های سیتومورفولوژی شاخص لایه‌های سطحی چشم، ماهیت واقعی ضایعات ملانوسیتی سطح چشم را در اکثر موارد بیماران معرفی شده تشخیص داد. با توجه به این واقعیت که IC جایگزین هیستوپاتولوژی نیست، نظر به همبستگی بالا بین نتایج IC و histopathology در مطالعه اخیر می‌توان از IC به عنوان روش کمکی مناسب در تشخیص و پی‌گیری درمان ضایعات ملانوسیتی سطح چشم استفاده کرد.

کلمات کلیدی: سیتولوژی ایمپرشن - ضایعات ملانوسیتی سطح چشم - ملانوزیس اکتسابی اولیه - خال

• مجله چشم‌پزشکی بینا ۱۳۹۶؛ دوره ۲۳، شماره ۲: ۱۰۱-۹۳.

• **پاسخ‌گو:** دکتر مژگان رضایی کنوی (e-mail: mrezaie47@yahoo.com)

۱- فلوشیپ پاتولوژی چشم - چشم‌پزشک - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

۲- فلوشیپ پاتولوژی چشم - چشم‌پزشک - بانک چشم جمهوری اسلامی ایران - تهران - ایران

۳- استادیار - چشم‌پزشک - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

۴- استادیار - چشم‌پزشک - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

۵- دانشیار - چشم‌پزشک - مرکز تحقیقات مهندسی بافت چشم - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

تهران - پاسداران - بوستان نهم - خیابان پایدارفرد (خیابان امیر ابراهیمی) - پلاک ۲۳ - مرکز تحقیقات مهندسی بافت چشم

مقدمه

ضایعات ملانوسیتی سطح چشم شامل ملانوزیس ملتحمه‌ای وابسته به نژاد (Conjunctival racial melanosis)، ملانوزیس خوش‌خیم اولیه (Benign acquired melanosis, BAM)، ملانوزیس اکتسابی اولیه (Primary acquired melanosis, PAM)، ملانوزیس ملتحمه‌ای ثانویه (Secondary conjunctival melanosis)، خال ملتحمه (Conjunctival nevi) و ملانوم بدخیم می‌باشد^{۱-۴}. اکثر زخم‌های ملانوسیتی سطح چشم خوش‌خیم هستند. با این حال ملانوم ملتحمه که به ندرت بروز می‌کند، مرگ و میر حدود ۲۶ درصد دارد^{۱-۳}. اکثر ملانوم‌های ملتحمه در زمینه PAM با آتیپیا که بالقوه بدخیم است بروز می‌کنند. افتراق ضایعات خوش‌خیم ملتحمه از ضایعات ملانوسیتی بدخیم یا بالقوه بدخیم ملتحمه نه تنها در درمان این ضایعات بلکه در پایش پیشرفت ضایعه و پی‌گیری تاثیر مداخلات درمانی حائز اهمیت است^{۵،۶}. به عنوان مثال، اجتناب از انجام بیوپسی غیرضروری در نواحی اطراف لیمبوس برای حفظ و نگهداری سلول‌های بنیادی لیمبوس که مسئول تجدید اپیتلیوم قرنیه در سرتاسر زندگی هستند امری ضروری و قابل توجه می‌باشد^{۷،۸}.

برای تشخیص سیتولوژی ضایعات ملانوسیتی سطح چشم، به جای انجام بیوپسی‌های تهاجمی که ممکن است شکایاتی در بیمار ایجاد نمایند^۵ و به عنوان یک روش جایگزین برای سیتولوژی خراشی (Brush) که ممکن است تغییرات مورفولوژی در ساختار سلولی ایجاد کند^۶، سیتولوژی ایمپرشن Impression Cytology (IC) روشی راحت، سریع، غیرتهاجمی و ارزان است که بر روی بیماران سرپایی قابل انجام بوده و به منظور نمونه‌گیری از اپی‌تلیوم سطحی چشم در گروه وسیعی از بیماری‌های سطح چشم مانند خشکی چشم، نقص سلول‌های بنیادی لیمبوس، عفونت‌های میکروبی و نئوپلاسم‌های سطح چشم مورد استفاده قرار می‌گیرد^{۹-۱۴}.

ویژگی‌های ضایعات ملانوسیتی ملتحمه در IC پیش‌تر در یک سری مطالعات گزارش شده است^{۱۳،۱۴}. نتایج سیتولوژی ایمپرشن ارتباط نزدیکی (حدود ۷۳ درصد) با تشخیص‌های هیستوپاتولوژی در ۲۴ ضایعه پیگمانته ملتحمه داشته است^۵. این روش هم‌چنین در افتراق ضایعات ملانوسیتی آملانوتیک از ضایعات غیرملانوسیتی فاقد رنگدانه کمک‌کننده بوده و در ۴/۹۱ درصد موارد، تشخیص بالینی ۳۵ خال ملتحمه‌ای را تایید کرده است^{۱۵}. با مرور مقالات

وجود، گزارشی مبنی بر حساسیت و ویژگی IC در تشخیص ملانوم سطح چشم یا هر نوع ضایعه ملانوسیتی دیگر وجود ندارد. با توجه به ماهیت نمونه برداری سطحی این تکنیک برای داشتن نمونه حاوی مقادیر کافی سلول‌های ملانوسیتی جهت تشخیص، به تکرار این روش نیاز می‌باشد. علاوه بر این، اگرچه این تکنیک جایگزین روش استاندارد طلائی هیستوپاتولوژی نیست ولی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص و درمان بیماران مبتلا به ضایعات ملانوسیتی سطح چشم داشته باشد^{۱۵}. این مطالعه به منظور بررسی کاربرد IC در مجموعه‌ای از بیماران برای تشخیص بیماری‌های ملانوسیتی سطح چشم صورت گرفت.

ویژگی‌های سیتولوژی ایمپرشن (IC) ضایعات ملانوسیتی

خوش خیم در مقابل بدخیم یا بالقوه بدخیم سطح چشم

حضور لانه‌ها یا دستجات ملانوسیت‌ها با هسته‌های آرام، با یا بدون رنگدانه سیتوپلاسمی و فاقد میتوز به عنوان یک ضایعه ملانوسیتی خوش خیم سطح چشم در IC در نظر گرفته شد. چسبندگی لانه‌های ملانوسیتی به سلول‌های اپی‌تلیال به ظاهر طبیعی با یا بدون سلول‌های جامی و با یا بدون متاپلازی سنگفرشی از دیگر مشخصات IC برای ضایعات خوش خیم بودند. چنین مشخصاتی در IC بین خال‌های ملانوسیتی خوش خیم و PAM بدون آتیپی مشترک بودند^{۱۶، ۱۷}.

ضایعات ملانوسیتی بدخیم یا بالقوه بدخیم سطح چشم از نظر سیتولوژی زمانی تشخیص داده شدند که تجمعاتی از سلول‌های آتیپیک پلئومورفیک که شباهتی به سلول‌های اپی‌تلیال نداشتند، مشاهده گردیدند. این سلول‌های آتیپیک با یا بدون رنگدانه سیتوپلاسمی، در اندازه‌های مختلف و با الگوی نامنظم کروماتین هسته‌ای، هسته‌های نامنظم و بزرگ با هستک‌های مشخص و میتوز سلولی دیده می‌شوند^{۱۷، ۱۸}. ملانوزیس اکتسابی اولیه (PAM) با آتیپی بر اساس تعریف ارائه شده توسط Folberg و همکاران^{۱۸} از نظر IC زمانی تشخیص داده شدند که نسبت ملانوسیت‌های آتیپیک در گستره سیتولوژی پایین بود. ضایعات ملانوسیتی بدخیم سطح چشم، معادل ملانوم بدخیم، زمانی از نظر سیتولوژی تشخیص داده شدند که تعداد ملانوسیت‌های آتیپیک مشاهده شده در گستره سیتولوژی فراوان بودند^{۱۸}.

معیارهای هیستوپاتولوژی برای تشخیص ضایعات

ملانوسیتی خوش خیم از ضایعات بدخیم یا بالقوه بدخیم

سطح چشم

حضور لانه‌های به هم پیوسته متشکل از ملانوسیت‌های مدور تا دوکی شکل با هسته‌های بیضی به ظاهر آرام داخل اپیتلیوم ملتحمه و یا استروما به عنوان خال خوش خیم در هیستوپاتولوژی تشخیص داده شدند^{۱۹، ۲۰}. مشخصات هیستوپاتولوژی PAM با آتیپی، یا به اصطلاح ملانوم *in situ*، حضور ملانوسیت‌های آتیپیک داخل اپیتلیوم بدون عبور از غشا پایه اپیتلیوم و واکنش‌پذیری

موجود، گزارشی مبنی بر حساسیت و ویژگی IC در تشخیص ملانوم سطح چشم یا هر نوع ضایعه ملانوسیتی دیگر وجود ندارد. با توجه به ماهیت نمونه برداری سطحی این تکنیک برای داشتن نمونه حاوی مقادیر کافی سلول‌های ملانوسیتی جهت تشخیص، به تکرار این روش نیاز می‌باشد. علاوه بر این، اگرچه این تکنیک جایگزین روش استاندارد طلائی هیستوپاتولوژی نیست ولی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص و درمان بیماران مبتلا به ضایعات ملانوسیتی سطح چشم داشته باشد^{۱۵}. این مطالعه به منظور بررسی کاربرد IC در مجموعه‌ای از بیماران برای تشخیص بیماری‌های ملانوسیتی سطح چشم صورت گرفت.

روش پژوهش

بیماران

در این مطالعه، بیماران با تظاهر بالینی ضایعه ملانوسیتی سطح چشم که از مراکز چشم پزشکی به واحد پاتولوژی بانک چشم جمهوری اسلامی ایران ارجاع داده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. تاییدیه انجام مطالعه از کمیته اخلاق مرکز تحقیقات چشم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (تهران- ایران) کسب گردید. داده‌های دموگرافیک بیماران، تظاهرات بالینی ضایعه شامل سمت، موقعیت، تعداد ضایعه و هر نوع گزارش هیستوپاتولوژی قبلی ثبت شد.

سیتولوژی ایمپرشن (IC)

پس از معاینه ضایعه با اسلیت‌لمپ توسط دو متخصص چشم که پاتولوژیست چشم نیز بودند و تصویربرداری با اسلیت فتوگراف، بیماران تحت نمونه برداری برای IC که روش انجام آن قبلاً گزارش شده است^{۱۱}، قرار گرفتند. سطح چشم با قطره چشمی تتراکائین ۰/۵ درصد (شرکت داروسازی سینادارو، تهران، ایران) بی‌حس شد و کاغذ فیلتر استات سلولزی به ابعاد ۵ × ۵ میلی‌متر (۴۷ میلی‌متر، با منافذ ۰/۴۵ میکرونی، Schleicher & Schuell Microscience, GMBH, Dassel, آلمان) بر روی سطح ضایعه قرار گرفت. پس از فشار ملایم به مدت چند ثانیه، کاغذ فیلتر به دقت از سطح ضایعه برداشته و در یک تثبیت‌کننده سیتولوژی قرار داده شد. هر ناحیه از ضایعه دو بار به طور پی‌پی با استفاده از کاغذ فیلتر استات سلولزی تحت IC قرار گرفت. کاغذهای فیلتر با Periodic acid Schiff-Papanicolaou (PAS/PAP) رنگ آمیزی شده و روی اسلایدهای شیشه‌ای با استفاده از مخلوط distyrene به عنوان نرم‌کننده و زایلن چسبانده شد. اسلایدها با میکروسکوپ نوری

ایمنی سلول‌های آتیپیک برای S-۱۰۰ و HMB-۴۵ بود. در ملانوم بدخیم invasive، مشخصات آسیب‌شناسی به صورت رشد عمودی ملانوسیت‌های آتیپیک اپی‌تلیال به داخل substantia propria و تجاوز از غشا پایه اپی‌تلیال، درگیری Pagetoid اپیتلیوم و واکنش‌پذیری ایمنی ملانوسیت‌های آتیپیک برای S۱۰۰ و HMB۴۵ تعریف گردید. به منظور افتراق خال‌های ملتحمه از ملانوم بدخیم، واکنش‌پذیری ایمنی برای Ki-۶۷ به عنوان نشانگر تکثیر سلول‌های ملانوم مورد بررسی قرار گرفت^{۳،۴}. آزمایش‌های آسیب‌شناسی در آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی ایران - تهران، انجام شد.

تحلیل آماری

از فراوانی و درصد برای توصیف داده‌ها استفاده شد. توافق بین تشخیص‌های بالینی و نتایج IC و بین نتایج هیستوپاتولوژی و نتایج IC با محاسبه شاخص کاپاکوهن (Cohen's Kappa index) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه از بین ۵۱۷ بیمار که بین سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۹۶ تحت IC قرار گرفته بودند، ۱۸ بیمار با مشخصات بالینی یک ضایعه ملانوسیتی سطح چشم بررسی شدند. اطلاعات دموگرافی بیماران و نیز تشخیص‌های بالینی، IC و هیستوپاتولوژی در جدول ۱ نمایش داده شده‌اند. میانگین سنی بیماران ۲۹ سال (محدوده ۷ تا ۷۲ سال) بود و ۶۷ درصد آن‌ها مرد بودند. به جز ۲ مورد که ضایعات متعدد پیگمانته سطح چشم داشتند، سایر ضایعات ملتحمه منفرد بودند. موقعیت آناتومیکی ضایعات پیگمانته در همه موارد ملتحمه بولبار بود به جز یک مورد که یک ضایعه فورنیکس نیز علاوه بر ضایعه بولبار داشت. با در نظر گرفتن موارد متعدد، ربع‌های (کوآدرانت) درگیر شامل نواحی تمپورال (۱۳) چشم، ۵۴ درصد، نازال (۵) چشم، ۲۱ درصد، فوقانی (۳) چشم، ۵/۱۲ درصد و تحتانی (۳) چشم، ۵/۱۲ درصد بودند. تشخیص‌های بالینی شامل خال پیگمانته چشم در ۱۳ مورد، کوریستوما ملتحمه در مقابل خال غیر پیگمانته در ۱ مورد، ملانوم راجعه ملتحمه به همراه PAM با آتیپی در ۱ مورد، PAM با آتیپی در ۱ مورد و خال آتیپیک در مقابل نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی پیگمانته ملتحمه (CIN) در ۲ مورد بودند. ایمپرشن سیتولوژی حضور ملانوسیت‌های خوش‌خیم به نسبت پیگمانته را

در بین سلول‌های اپی‌تلیال و مطرح‌کننده خال خوش‌خیم در ۱۵ چشم (۸۳ درصد)، حضور نسبی ملانوسیت‌های آتیپیک به نسبت پیگمانته و مطرح‌کننده PAM با سلول‌های آتیپی / ملانوم را در ۲ چشم (۱۱ درصد) و حضور سلول‌های اپی‌تلیویدی آتیپیک به همراه رنگدانه ملانین و مطرح‌کننده CIN پیگمانته در مقابل ضایعه ملانوسیتی اپی‌تلیویدی آتیپیک در یک چشم (۶ درصد) را آشکار کرد. نتایج IC با تشخیص بالینی اولیه در ۱۶ مورد (۸۹ درصد) مطابق بود (شاخص کاپا کوهن = ۰/۸۴) و حضور CIN در یک مورد (مورد شماره ۹) و نیز وجود کوریستوما در ۱ مورد (مورد شماره ۱۷) رد شد. اگرچه نتایج IC در مورد شماره ۳ حضور سلول‌های آتیپیک را آشکار ساخت، ولی نتوانست تمایزی بین CIN پیگمانته و ضایعه ملانوسیتی اپی‌تلیویدی آتیپیک قائل شود و برای تشخیص قطعی، نیاز به بررسی آسیب‌شناسی ضایعه برداشته شده بود. هفت نفر از بیماران (۳۹٪) تحت بیوپسی برشی ضایعه و تشخیص هیستوپاتولوژی قرار گرفتند که در ۴ مورد خال خوش‌خیم ملتحمه، در ۲ مورد ملانوم بدخیم ملتحمه در زمینه PAM با آتیپی و در یک مورد CIN بودند. در خال‌های خوش‌خیم، واکنش‌پذیری ایمنی برای Ki-۶۷ کم‌تر از ۱۰ درصد بود. در ۲ موردی که تشخیص ملانوم بدخیم در زمینه PAM با آتیپی داشتند، واکنش‌پذیری ایمنی برای S۱۰۰ و HMB۴۵ را نشان دادند. تظاهرات آسیب‌شناسی در تمام موارد در مطالعه حاضر ارتباط خوبی با نتایج IC داشتند (شاخص کاپا کوهن = ۰/۷۶). فقط در یک مورد (مورد شماره ۳) که IC مطرح‌کننده CIN پیگمانته یا یک ضایعه ملانوسیتی اپی‌تلیویدی آتیپیک بود، هیستوپاتولوژی تشخیص CIN را تایید کرد. مثال‌ها در تصاویر ۱ تا ۳ نمایش داده شده‌اند.

بحث

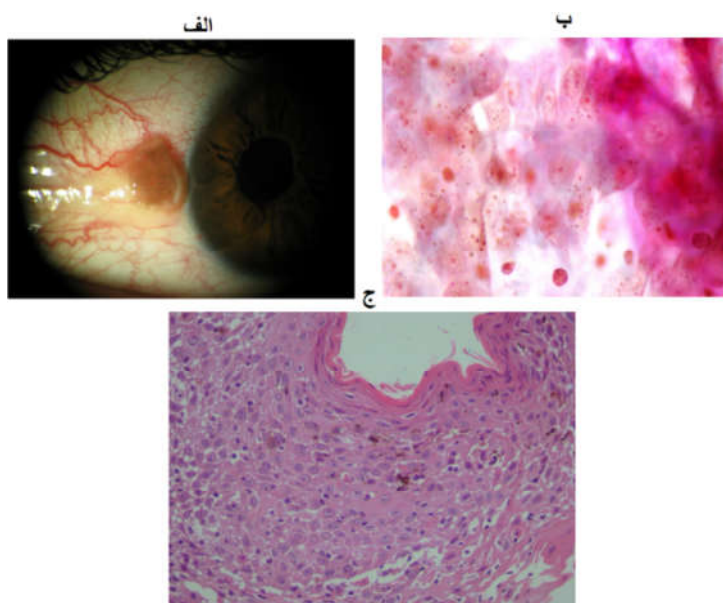
نتایج IC نقش مهمی در تشخیص و درمان بعدی بیمارانی که به لحاظ بالینی ضایعات ملانوسیتی سطح چشم داشتند ایفا نموده است. نتایج IC در مجموعه بیماران ما تا حد زیادی مطابق با تشخیص‌های بالینی اولیه بودند و به وسیله هیستوپاتولوژی تایید شدند، به ویژه در مواردی که سلول‌های آتیپیک در سیتولوژی داشتند. ایمپرشن سیتولوژی در مطالعه حاضر به عنوان روشی با حداقل تهاجم، به تشخیص هر دو ضایعات اولیه و راجعه کمک نمود.

جدول ۱- اطلاعات دموگرافیک، ایمپرشن سیتولوژی و مشخصات هیستولوژیک ۱۸ بیمار با تظاهرات بالینی ضایعه ملانوسیتی سطح چشم

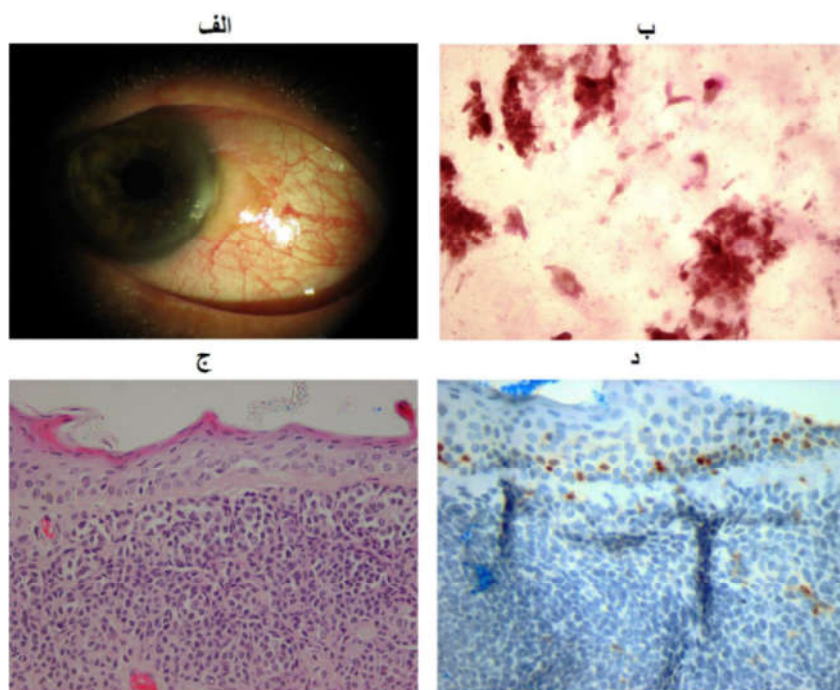
مورد	جنسیت	سن	چشم درگیر	نژاد	تعداد	محل ضایعه	ربع	تشخیص بالینی	وجود ملانوسیت آتیبیک در سیتولوژی	ملانوسیت شبه خوش خیم در سیتولوژی	تشخیص IC	هیستوپاتولوژی
۱	زن	۵۱	راست	قفقازی	متعدد	لیمبوس کورنیواسکلرال- فورنیکس فوقانی	همه	Recurrent conjunctival melanoma with PAM with atypia	+	-	A. PAM with atypia B. Recurrent melanoma	Melanoma in the context of PAM with atypia
۲	مرد	۲۵	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	Compound Nevus
۳	مرد	۳۰	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	NB	Atypical nevus vs Pigmented CIN	+	-	Pigmented CIN vs atypical epitheliod type melanocytic lesion	CIN
۴	زن	۹	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۵	زن	۱۴	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۶	مرد	۷۲	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	Compound Nevus
۷	مرد	۲۰	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	NB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۸	زن	۷۰	راست	قفقازی	متعدد	لیمبوس کورنیواسکلرال	SB, TB, NB, IB	PAM with atypia	+	-	PAM with atypia	Malignant Melanoma in the context of "PAM with atypia" NP
۹	مرد	۵۷	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	Atypical nevus vs Pigmented CIN	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۰	مرد	۱۳	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	Compound Nevus
۱۱	مرد	۳۸	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۲	زن	۲۵	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۳	زن	۱۷	چپ	Caucasian	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	IB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۴	زن	۱۲	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	NB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۵	مرد	۲۱	چپ	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	Compound Nevus
۱۶	مرد	۲۷	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	SB	خال	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۷	مرد	۷	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	Conjunctival choristoma vs amelanotic nevus	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP
۱۸	زن	۱۱	راست	قفقازی	منفرد	لیمبوس کورنیواسکلرال	TB	خال آملانوتیک	-	+	Benign- looking melanocytic lesion	NP

TB: بولبار تمپورال، NB: بولبار نازال، SB: بولبار فوقانی، IB: بولبار تحتانی،

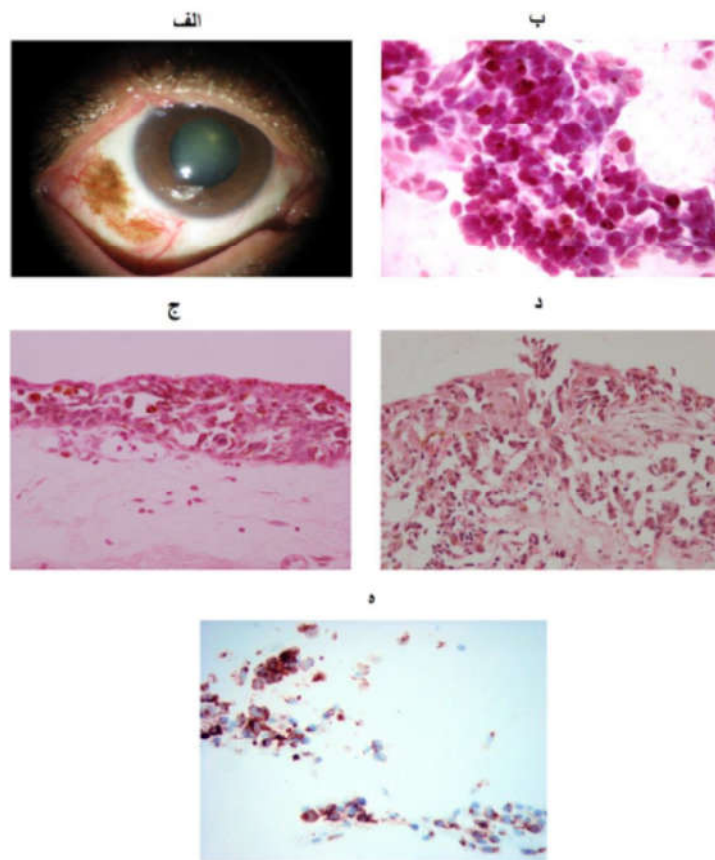
IC, impression cytology; CIN, conjunctival intraepithelial neoplasia; PAM, primary acquired melanosis; NP, not performed.



تصویر ۱- تصویر بیمار شماره ۳: الف) تصویر بالینی از توده ملتحمهای حاوی رنگدانه ملانین مشکوک به خال آتیپیک در مقابل CIN حاوی رنگدانه ملانین؛ ب) سیتولوژی ایمپرشن ضایعه، سلول‌های آتیپیک اپی‌تلیویدی با پلئومورفیسم هسته‌ای، هستک‌های واضح، به همراه رنگدانه ملانین را نشان می‌دهد (بزرگنمایی اصلی، $\times 1000$)؛ ج) تصویر ضایعه خارج شده، نشان‌دهنده آکانتوز به همراه کراتینیزه شده سطحی خفیف، تغییر قطبیت سلول‌ها و پلئومورفیسم هسته‌ای قابل توجه می‌باشد که تمام ضخامت اپی‌تلیوم را درگیر کرده است (بزرگنمایی اصلی، $\times 400$).



تصویر ۲- تصویر بیمار شماره ۲: الف) تصویر بالینی از خال ملتحمهای حاوی مختصر رنگدانه ملانین در چشم چپ؛ ب) سیتولوژی ایمپرشن ضایعه، دستجاتی از سلول‌های خال با هسته‌های طبیعی، حاوی رنگدانه ملانین در سیتوپلاسم و بدون فعالیت میتوزی را نشان می‌دهد (بزرگنمایی اصلی، $\times 400$)؛ ج) معاینه هیستوپاتولوژی ضایعه خارج شده، لانه‌های ممتدی از ملانوسیت‌های گرد تا دوکی شکل با هسته‌های طبیعی بیضی شکل را در اپیتلیوم و استرومای ملتحمه با واکنش‌پذیری ایمنی خفیف (د) به Ki-67 را نشان می‌دهد (بزرگنمایی اصلی، $\times 400$).



تصویر ۳- تصویر بیمار شماره ۱: الف) تصویر اسلیت لامپ از تکه‌های حاوی رنگدانه ملانین در ملتحمه اپی‌بولبار چشم راست، ضایعه مشکوک به ملانوم بدخیم را نشان می‌دهد که در زمینه PAM با آتیپی می‌باشد؛ ب) سیتولوژی ایمپرشن ضایعه، تعداد متعددی از ملانوسیت‌های آتیپیک با هسته‌های بزرگ و نامنظم و هستک‌های برجسته را نشان می‌دهد (بزرگنمایی اصلی، $\times 400$)؛ ج، د) تصویر ضایعه خارج شده، نشان دهنده ملانوسیت‌های آتیپیک در اپیتلیوم ملتحمه (ج) به همراه تهاجم به غشا پایه اپیتلیوم (د) می‌باشد. ملانوسیت‌های آتیپیک واکنش پذیری ایمنی به HMB-45 (ه) را نشان می‌دهند (بزرگنمایی اصلی، $\times 400$).

خوش‌خیم ملتحمه، در ۲ مورد ملانوم بدخیم در زمینه PAM با آتیپی و در یک مورد CIN بودند. از این ۷ مورد در ۶ مورد یافته‌های هیستوپاتولوژی، نتایج IC را تایید کرده بودند. در ۱ مورد باقی‌مانده با تشخیص هیستوپاتولوژی CIN پیگمانته، اگرچه IC حضور سلول‌های آتیپی را شناسایی کرد، ولی نتوانست بین یک ضایعه ملانوسیتی اپی‌تلیویدی آتیپیک و یک CIN پیگمانته تمایزی قائل شود. با این حال، نتایج IC مطرح‌کننده ضایعه آتیپیک بودند که نیاز به مداخلات درمانی را مطرح می‌کرد. توافق بالای بین IC و هیستوپاتولوژی در مجموعه ما ممکن است به دلیل حضور اجزای اپی‌تلیال در ضایعات ملانوسیتی شکل و هم‌چنین تجربه بالای پاتولوژیست‌های چشم ما در نمونه‌برداری سطح چشم، آماده‌سازی نمونه و بررسی‌های میکروسکوپی باشد. با این حال، مطالعات بعدی با استفاده از تعداد بیش‌تر بیماران مبتلا به ضایعات

در ملانوم بدخیم، باید از بیوپسی برشی به علت خطر انتشار موضعی پرهیز نمود^۲. تظاهرات IC در مجموعه ما نه تنها تشخیص سیتولوژی ضایعات را نشان داد بلکه لزوم انجام بیوپسی برشی بعدی ضایعات بدخیم را که می‌توانست همراه با خطر انتشار موضعی تومور باشد، مرتفع نمود. اگرچه در مواردی که در سیتولوژی سلول‌های آتیپی داشتند، بیوپسی برشی به عنوان یک مرحله مهم در درمان چنین ضایعاتی انجام شد.

مشابه مطالعات قبلی^{۱۲، ۵}، نتایج IC ما ارتباط زیادی با تظاهرات هیستوپاتولوژی داشت. مشابه نتایج ما، Paridaens و همکاران^۵، در یک مجموعه تومورهای پیگمانته اپی‌بولبار، ۷۳ درصد همبستگی بین IC و هیستوپاتولوژی گزارش نمودند. از ۱۸ مورد معرفی شده در گزارش ما، ۷ نفر از بیماران (۳۹ درصد) تحت بیوپسی برشی و بررسی‌های هیستوپاتولوژی قرار گرفتند که در ۴ مورد خال

با استفاده از کاغذ فیلتراسات سلولزی در سطوح دیگر ملتحمه به غیر از مرز بین صلبیه و لیمبوس پیش‌تر گزارش شده است.^{۱۶}

نتیجه‌گیری

IC روش تشخیصی با حداقل تهاجم در تشخیص، درمان و پی‌گیری بیماران با شک بالینی ضایعات ملانوسیتی سطح چشم می‌باشد و زمانی که توسط فرد مجرب انجام شود، همبستگی زیادی با هیستولوژی ضایعه دارد. اگرچه تعداد موارد مجموعه گزارش شده محدود بودند، ما برای اولین بار در ایران و خاورمیانه، سعی کردیم تا اهمیت IC را در تشخیص و درمان مناسب بیماران با شک بالینی ضایعات ملانوسیتی سطح چشم نشان دهیم. با توجه به نتایج این مطالعه، ما انجام IC را به عنوان رویکرد اول و روش تشخیصی غیرتهاجمی در مواردی که تشخیص بالینی ضایعه ملانوسیتی خوش‌خیم یا بدخیم دارند پیشنهاد می‌کنیم. نتایج IC برای درمان بیش‌تر بیماران به دور از بیوپسی‌های غیرضروری جراحی مفید خواهد بود. اگرچه، باید خاطر نشان کرد که در موارد با نتایج منفی یا نامشخص IC، ارزیابی هیستوپاتولوژی نمونه بیوپسی اکسیژنال ضایعه ضروری است.

ملانوسیتی سطح چشم باید انجام گیرد تا حساسیت و ویژگی IC وقتی که توسط افراد باتجربه انجام می‌شود تعیین گردد.

اگرچه IC قادر به تمایز ملانوم آملانوتیک از دیگر ضایعات بدون رنگدانه^{۱۷} بوده است، اما در تفکیک CIN پیگمانته از یک ضایعه ملانوسیتی اپی‌تلیوبیدی آتیپی در یک مورد از مجموعه ما کمک‌کننده نبود. در چنین مواردی، ترکیب جدید IC و ایمونوسیتوشیمی (ICC) برای S۱۰۰ و یا سیتوکراتین‌ها می‌تواند ارزش تشخیصی داشته باشد. این روش ترکیبی که توسط Krenzer و Freddo^{۲۱} توصیف شده است، به ارزیابی هم‌زمان سیتومورفولوژی و بررسی ایمونوسیتوشیمی نمونه‌های IC کمک می‌کند. اگرچه حساسیت و دقت این روش ترکیبی در تشخیص ضایعات ملانوسیتی سطح چشم نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر می‌باشد. در مجموعه ما، تمامی ضایعات در ملتحمه بولبار در مجاورت مرز بین صلبیه و لیمبوس قرار داشتند، به جز یک مورد که ضایعه اضافی در بخش فورنیکس فوقانی وجود داشت. با استفاده از کاغذ فیلتر اسات سلولزی، نمونه‌گیری IC در تمام این موقعیت‌های آناتومیکی امکان‌پذیر بود. در مقایسه با مشکلات نمونه‌گیری در مواردی که از غشاهای Biopore استفاده شده، سهولت نمونه‌برداری

منابع

- Shields CL, Demirci H, Karatza E, et al. Clinical survey of 1643 melanocytic and nonmelanocytic conjunctival tumors. *Ophthalmology* 2004;111:1747-1754.
- Shields CL, Schields JA. Tumors of the conjunctiva and cornea. *Surv Ophthalmol* 2004;49:3-24.
- Eagle Jr. RC. Conjunctiva. In: *Eye Pathology: An atlas and textbook*. Chapter 5 (Conjunctiva). 2nd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2011. pp. 70.
- American Academy of Ophthalmology, The Eye MD Association. Conjunctiva. In: *Ophthalmic Pathology and Intraocular Tumors*. Section 4. San Francisco; 2014-2015. pp. 69.
- Paridaens AD, McCartney AC, Curling OM, et al. Impression cytology of conjunctival melanosis and melanoma. *Br J Ophthalmol* 1992;76:198-201.
- Barros JN, Almeida SRA, Lowen MS, et al. Impression cytology in the evaluation of ocular surface tumors: Review article. *Arq Bras Oftalmol* 2015;78:126-132.
- Nolan GR, Hirst LW, Bancroft BJ. The citomorphology of ocular surface squamous neoplasia by using impression cytology. *Cancer* 2001;93:60-67.
- Tole DM, McKelvie PA, Daniell M. Reliability of impression cytology for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia employing the biopore membrane. *Br J Ophthalmol* 2001;85:154-158.
- Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetate impressions of the ocular surface: Dry eye states. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1869-1872.
- Puangsricharern V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995;102:1476-1485.
- Kanavi MR, Hosseini B, Javadi F, et al. Impression cytology in eyes with clinical and confocal scan features of acanthamoeba keratitis. *J Ophthalmic Vis Res* 2013;8:207-212.
- Tananuvat T, Lertprasertsuk N, Mahanupap P, et al. Role of impression cytology in diagnosis of ocular surface neoplasia. *Cornea* 2008;27:269-274.
- Barros JN, Lowen MS, Ballalai PL, et al. Predictive index to differentiate invasive squamous cell carcinoma from preinvasive ocular surface lesions by impression cytology. *Br J Ophthalmol* 2009;93:209-214.
- Nolan GR, Hirst LW, Wright RG, et al. Application of impression cytology to the diagnosis of conjunctival neoplasms. *Diagn Cytopathol* 1994;11:246-249.
- Barros JN, Lowen MS, Mascaro VL, et al. Impression cytology features of conjunctival nevi reported as more noticeable. *Arq Bras Oftalmol* 2009;72:205-210.
- Keijser S, Missotten GS, De Wolff-Rouendaal D, et al.

- Impression cytology of melanocytic conjunctival tumours using the Biopore membrane. *Eur J Ophthalmol* 2007;17:501-506.
17. Barros J de N, Motono M, Costa FD, et al. Amelanotic corneally displaced malignant conjunctival melanoma: A case report evaluated with impression cytology. *Arq Bras Oftalmol* 2014;77:57-59.
18. Folberg R, McLean IW, Zimmerman LE. Primary acquired melanosis of the conjunctiva. *Hum Pathol* 1985;16:129-135.
19. Font RL, Craxatto JO, Rao NA. AFIP Atlas of tumor pathology, Series IV: Tumors of the eye and ocular adnexa. Washington D.C.:American Registry of Pathology; 2007.
20. Lim L, Madigan MC, Conway RM. Conjunctival melanoma: A review of conceptual and treatment advances. *Clin Ophthalmol* 2013;6:521-531.
21. Krenzer KL, Freddo TF. Cytokeratin expression in normal human bulbar conjunctiva obtained by impression cytology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:142-152.
19. Font RL, Craxatto JO, Rao NA. AFIP Atlas of tumor