

Ultrazvočno vodena aspiracijska biopsija s tanko iglo v diagnostiki ledvičnih tumorjev

M. Strojjan Fležar, B. Černelč, H. Gutnik in A. Višnar Perović

IZVLEČEK

Ultrazvočno vodena aspiracijska biopsija je v Sloveniji že dolga leta standardna metoda za morfološko diagnostiko radiološko težavnih ledvičnih tumorjev. V zadnjih letih se zanimanje za to diagnostično metodo povečuje tudi v Evropi, predvsem za dodatno diagnostiko majhnih tumorjev, ki merijo največ 3 cm. V naši analizi smo potrdili, da je metoda uporabna za diagnostiko majhnih tumorjev, če so vzorci dovolj celularni in reprezentativni za lezijo. V citopatološki diagnostiki so nam v pomoč tudi imunocitokemična barvanja, s katerimi lahko natančneje opredelimo tip ledvičnega karcinoma: svetlocelični, papilarni in kromofobni karcinom ledvičnih celic.

UVOD

S široko uporabo slikovnodiaagnostičnih metod za ugotavljanje vzrokov težav v trebuhu radiologi naključno odkrivajo vedno več ledvičnih tumorjev. Večinoma lahko postavijo zanesljivo diagnozo, ki je izhodišče za načrtovanje zdravljenja, dodatne diagnostične metode pa so potrebne v nejasnih primerih. Morfološko diagnozo lahko postavimo iz vzorcev aspiracijske biopsije s tanko iglo (ABTI) ali iz vzorcev debeloiglelne biopsije (DI) (1–4). Študije so pokazale podobno specifičnost

in občutljivost obeh metod za diagnozo malignoma, predvsem običajnega svetloceličnega karcinoma ledvičnih celic (3, 4). DI-biopsija je bolj invazivna in za bolnika bolj obremenjujoča, pa tudi tehnično zahtevnejša kot ABTI. Prednost DI-biopsije je ohranena struktura tkiva, ki omogoča tipizacijo in opredelitev gradusa karcinomov ledvičnih celic. Pri ABTI je diagnoza lahko zelo hitra. Diferenciacija med benignim in malignim je zanesljiva, vendar je določanje različnih tipov karcinoma ledvičnih celic manj uspešno (5). Metoda je uspešna tudi za jemanje vzorcev iz majhnih ledvičnih tumorjev, ki so opredeljeni kot tumorji, veliki največ 3 cm (slika 1) (6, 7).

V zadnjih letih so v evropskih uroloških strokovnih revijah objavili več študij o možni uporabi in pomenu ABTI v klinični praksi (2–4, 6, 7). V preteklosti so urologi v tujini predoperativno morfološko diagnozo (ABTI ali DI) zahtevali le izjemoma, npr. če bolnik ni bil sposoben za operacijo, če radiološka diagnoza ni bila dokončna ali ob sumu, da je v ledvici zasevek.

V Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani že 20 let uspešno izvajajo ultrazvočno (UZ) voden odvzem vzorcev iz ledvičnih tumorjev z ABTI in citopatološki izvidi so del rutinske diagnostične obdelave bolnikov z ledvičnimi tumorji.



Slika 1. Ultrazvočna slika majhnega ledvičnega tumorja.

ULTRAZVOČNO VODENA ASPIRACIJSKA BIOPSIJA S TANKO IGLO LEDVIČNIH TUMORJEV IN PRIPRAVA VZORCEV

Odvzem celičnega vzorca iz sprememb v ledvici z ABTI opravi radiolog pod UZ-nadzorom (slika 2). V standardnem postopku uporabljajo 0,7 mm debelo iglo na 10-mililitrski brizgi. Takoj po posegu pripravijo 2 razmaza in ju posušijo na zraku. Preostali celični vzorec v brizgi in igli sperejo v prilagojen celični medij.

Razmaze v citološkem laboratoriju obarvamo po Giemsi, nato pa se na podlagi ocene svetlobnomikroskopske morfološke slike odločimo za pripravo dodatnih vzorcev za morebitna imunocitokemična barvanja. V tem primeru iz celične suspenzije pripravimo testni citospin v citocentrifugi (Shandon cytospin 4 cytocentrifuge, Thermo Shandon Inc, Pittsburg, Pennsylvania, ZDA). Število dodatnih citospinov je odvisno od celularnosti vzorca. Citospine fiksiramo v Delaunayevi raztopini ali v metanolu in barvamo po Papanicolaouovi metodi.

Imunocitokemična barvanja potekajo v avtomatiziranem imunobarvalcu (NexES, Ventana Medical Systems SA, Tucson, ZDA). Za prikaz vezanih protiteles uporabljamo iView kit (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, ZDA). Za tipizacijo ledvičnih neoplazem lahko uporabljamo kombinacijo protiteles, ki so navedena v tabeli 1.

CITOPATOLOŠKE DIAGNOZE LEDVIČNIH TUMORJEV IN UJEMANJE S HISTOPATOLOŠKIMI DIAGNOZAMI

Od marca 2007 do avgusta 2010 smo na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani pregledali 227

vzorcev UZ-vodnih ABTI različnih sprememb v ledvicah. Histopatološko diagnozo smo našli v 98 primerih (43,3 %). Srednja velikost operiranih tumorjev je bila 2,8 cm, povprečno pa 3,4 cm (\pm 2,18; razpon od 1 cm do 13 cm).

Tabela 1. Osnoven nabor protiteles za diagnostiko najpogostejših ledvičnih tumorjev.

Tip tumorja	Protiteles							
	RCC	VIM	CK7	P504S	CD117	HMB45	MelanA	GMA
Svetlo-celični karcinom ledvičnih celic	+	+	-	-	-	-	-	-
Papilarni karcinom ledvičnih celic	+	+	+	+	-	-	-	-
Kromofobni karcinom ledvičnih celic	-	-	+	-	+	-	-	-
Angiomiolipom	-	+	-	-	+/-	+/-	+/-	+
Onkocitom	-	-	-	-	+	-	-	-

RCC: označevalec karcinoma ledvičnih celic (angl. renal cell carcinoma marker), VIM: vimentin, CK7: citokeratin 7; P504S: α -methylacil-CoA racemaza; HMB45 in MelanA: označevalca povezana z melanosomi; GMA: gladkomišični aktin.



Slika 2. Ultrazvočna slika igle v ledvičnem tumorju (puščica).

Neuporabni vzorci in vzorci z ortotopnimi ledvičnimi strukturami

Vzorec je bil neuporaben ali nereprezentativen za citopatološko preiskavo v 9,7 %, v nadaljnjih 7,9 % pa so bile zajete ortotopne strukture ledvice ali pa je vzorec vseboval druge benigne celice. Približno polovica teh bolnikov je bila operirana in histopatološka preiskava je v 6 od 19 primerov (31,2 %) pokazala karcinom ledvičnih celic, v nadaljnjih 3 primerih pa benigni tumor ledvice, nefrosklerozo in kronični pielonefritis.

Ciste

V več kot tretjini vzorcev (35,2 %) je bila v preiskavo poslana tekočina iz ledvičnih cist (tabela 2). Celice iz tekočine skoncentriramo s centrifugiranjem. V enostavnih (benignih) cistah, ki so v sedimentih iz tekočine ali pa v citospinih, navadno najdemo maloštevilne makrofage, drobir, lahko tudi normalne epiteljske celice (ledvičnih tubulov). Dva bolnika sta bila pozneje operirana in pri enem so s histopatološko preiskavo ugotovili svetlocelični karcinom ledvičnih celic, pri drugem pa je bil odkrit retroperitonealni schwannom s cističnimi spremembami. Oba vzorca sta imela za enostavno cisto neobičajno morfološko sliko; v prvem primeru je v tekočini prevladovala stara kri, v drugem pa so bili v tekočini posamezni drobci gostocelularne strome.

Tabela 2. Citopatološke diagnoze v vzorcih UZ- vodenih ABTI in delež histopatološko pregledanih vzorcev.

Citološka diagnoza	Vsi vzorci	Histopatološka preiskava ***
Neuporabno*	22 (9.7%)	12 (54.5%)
Negativno/Normalno tkivo	19 (8.4%)	10 (52.6%)
Cista**	80 (35.2%)	2 (2.5%)
Angiomolipom	11 (4.8%)	2 (18%)
Onkocitom	15 (6.6%)	8 (53.3%)
Sumljivo za karcinom	30 (13.2%)	21 (70%)
Pozitivno za karcinom	50 (22%)	43 (86%)
Skupaj	227 (100%)	98 (43.2%)

*tudi nereprezentativni vzorci (jetra), 1 nekonkluziven

**2 cistična nefroma

*** število (%) histoloških biopsij po citološki diagnozi

Angiomolipom

Pri majhnem deležu bolnikov (11 primerov, 4,8 %) smo s citopatološko preiskavo diagnosticirali angiomolipom. Pri 6 od 11 je bilo dovolj celičnega materiala za imunocitokemična barvanja, v 2 od 4 primerov je bil pozitiven MelanA, v 2 od 6 HMB45 (oba sta označevalca melanosomov), v 5 od 5 pa gladkomišični aktin (GMA). Operirana sta bila le 2 bolnika (brez imunocitokemičnih barvanj); pri enem je histopatološka preiskava pokazala svetlocelični karcinom ledvičnih celic, pri drugem pa onkocitom.

Onkocitom

Diagnozo onkocitom smo postavili pri majhnem deležu bolnikov (15 primerov, 6,6 %); pri 3 smo v diagnozi opozorili, da ne moremo povsem zanesljivo izključiti kromofobnega

tipa karcinoma ledvičnih celic. V 4 primerih smo opravili tudi imunocitokemična barvanja na vimentin (značilno negativen), CD117 (pozitiven), CK7 (negativen). Operirali so 8 bolnikov (53,3 %), pri vseh so tudi s histopatološko preiskavo potrdili onkocitom.

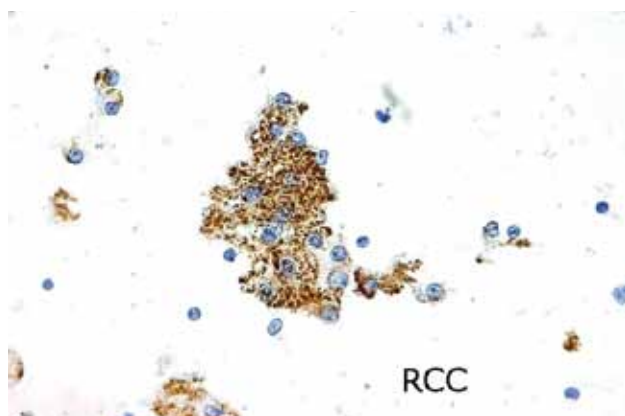
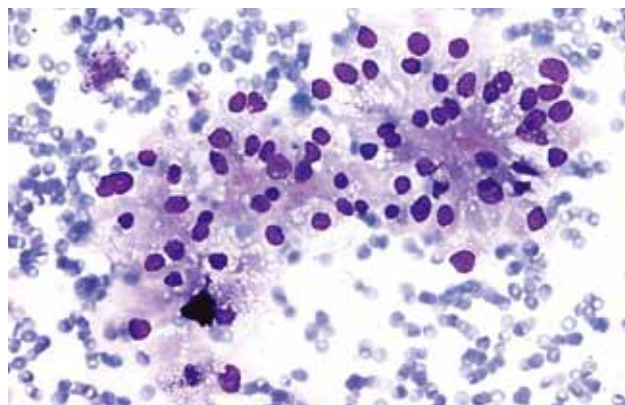
Vzorci, sumljivi za karcinom

V 30 primerih (13,2 %) so vzorci vsebovali maloštevilne skupke atipičnih celic. Nekatere so bile slabše ohranjene, v nekaterih vzorcih je bila zajeta nekroza, zato dokončna diagnoza karcinoma ni bila mogoča. Histopatološka preiskava je pričakovano sledila kar v 70 % primerov. V 15 primerih (50 %) je bila histopatološka diagnoza karcinom ledvičnih celic, v 4 pa benigni tumorji (cistični nefrom in jukstaglomerulni tumor).

Karcinom ledvičnih celic

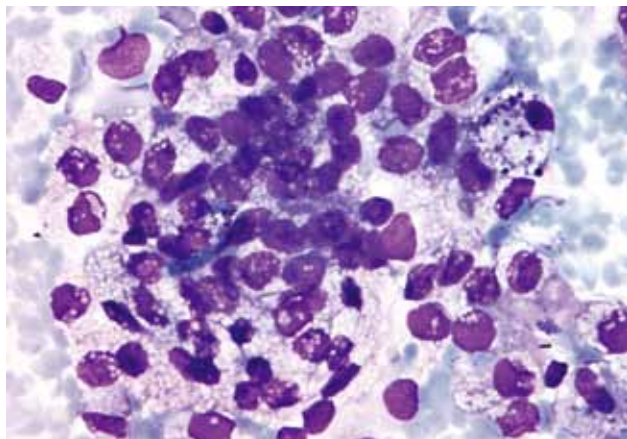
V 50 primerih (22 %) smo postavili citopatološko diagnozo karcinom ledvičnih celic in v 43 primerih (86 %) smo imeli pozneje še histopatološko diagnozo.

V 17 od 20 (85 %) primerov smo postavili pravilno diagnozo svetloceličnega karcinoma ledvičnih celic (slika 3A, slika 3B), v 3 primerih so s histopatološko preiskavo ugotovili papilarni karcinom ledvičnih celic, v 3 primerih pa histopatološka preiskava ni bila narejena.



Slika 3. Značilna citomorfološka slika svetloceličnega karcinoma ledvičnih celic, običajni tip (Giemsa, x600) (zgoraj). Pozitivna imunocitokemična reakcija na označevalec karcinoma ledvičnih celic (RCC) (spodaj) (x600).

Papilarni karcinom ledvičnih celic smo pravilno ugotovili pri 14 od 15 (93,3 %) histopatološko potrjenih tumorjev (slika 4A, slika 4B). V vseh primerih smo opravili imunocitokemična barvanja (RCC+, CK7+, VIM+, P504S+). Enkrat smo ugotovili, da je bila naša diagnoza napačna, saj je histopatološka preiskava pokazala benigni mešani epitelijski stromalni tumor ledvice. V 2 primerih histopatološke diagnoze nismo našli.



Slika 4. Citomorfološka slika papilarnega karcinoma ledvičnih celic s svetlo citoplazmo (Giemsa, x600) (zgoraj). Pozitivna imunocitokemična reakcija na označevalec P504S (racemaza), ki je značilno pozitiven v teh karcinomih (spodaj) (x600).

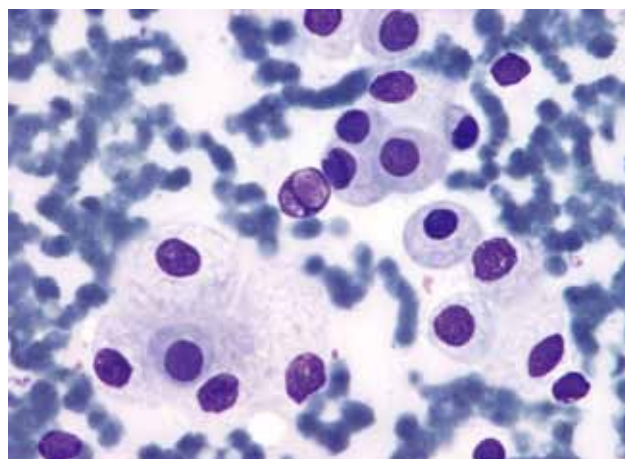
Vseh 5 (100 %) kromofobnih karcinomov ledvičnih celic smo pravilno diagnosticirali s citopatološko preiskavo in pri vseh smo opravili imunocitokemična barvanja (RCC+/-, VIM-, CK7+, CD117+) (slika 5A, slika 5B).

V 5 primerih smo podali samo diagnozo karcinom, v 3 primerih pa je bila pozneje narejena histopatološka preiskava, ki je pokazala 2 kromofobna karcinoma ledvičnih celic in svetlocelični karcinom.

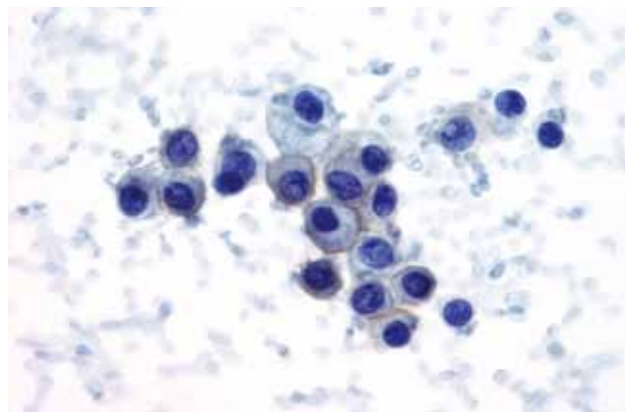
PREDNOSTI IN SLABOSTI CITOPATOLOŠKE DIAGNOSTIKE LEDVIČNIH TUMORJEV

V citološki literaturi že od 80. let prejšnjega stoletja objavljajo članke o uspešnosti UZ-vodene aspiracijske biopsije s tanko

iglo v diagnostiki ledvičnih tumorjev (1). Opisane so bile citomorfološke značilnosti benignih in malignih ledvičnih tumorjev, poročali so tudi o možnostih natančnejše tipizacije karcinomov ledvičnih celic (1, 5, 8). Študije so pokazale, da je citopatološka preiskava uspešna pri razlikovanju malignih in benignih neoplazem, manj zanesljiva pa je pri natančnejši tipizaciji karcinomov (5, 8–10).



Slika 5. Citomorfološka slika kromofobnega karcinoma ledvičnih celic (Giemsa, x600) (zgoraj). Šibko pozitivna imunocitokemična reakcija na označevalec CD117, ki je značilno pozitiven v teh karcinomih (spodaj) (x600).



V zadnjih letih radiologi v sklopu slikovnodiyagnostičnih preiskav zaradi drugih simptomov in znakov v predelu trebuha naključno odkrivajo vedno manjše ledvične tumorje. Glede na podatke v literaturi in tudi glede na naše izkušnje je UZ-ABTI uspešna metoda tudi za pridobivanje celičnih vzorcev iz majhnih tumorjev, ki so v literaturi opredeljeni kot tumorji, veliki največ 3 cm (6, 7). Dostikrat so majhni tumorji radiološkodiyagnostično težavni, saj je slika benignih tumorjev (angioliroma in onkocitoma) lahko zelo podobna karcinomu ledvičnih celic. Radiološke značilnosti so zanesljiveše pri tumorjih, večjih od 3 cm. Zato je pri majhnih tumorjih potrebna dodatna morfološka diyagnostika. Tudi v naši analizi smo potrdili, da lahko dobimo ustrezen material in postavimo zanesljivo citopatološko diyagnozo tudi pri majhnih tumorjih, saj je bila srednja velikost operiranih ledvičnih tumorjev, ki smo jih izmerili med makroskopskim opisom resektata, 2,8 cm (povprečje 3,4 cm; razpon od 1 cm do 13 cm). Splošno pravilo v citopatologiji je, da je zanesljivost diyagnoze

odvisna od količine vzorca in od pravilnosti mesta odvzema vzorca (reprezentativnosti), kar smo znova ugotovili tudi v naši analizi. Kliniki se dobro zavedajo pomanjkljivosti citopatološke preiskave v teh primerih, saj je bila več kot polovica bolnikov v tej skupini pozneje operirana, predvidevamo, da na podlagi slikovnodiaagnostičnih izvidov. Histopatološka preiskava odstranjenih tumorjev je v znatnem deležu (6 od 19 primerov, 31,2 %) potrdila karcinom ledvičnih celic.

Enostavne ledvične ciste so razmeroma pogosta najdba, in če je izvid citopatološke preiskave tekočine, odvzete iz ciste z UZ-ABTI, skladen s slikovnodiaagnostičnim izvidom, zdravljenje ni potrebno. Kadar pa s citopatološko preiskavo ne najdemo značilnih elementov za enostavno cisto (makrofagi, drobir), ampak razpad ali staro kri, moramo biti previdni (1, 5). Tudi karcinomi ledvičnih celic imajo lahko (psevdo) cistične predele, iz katerih dobimo tekočino, kar so ugotovili s histopatološko preiskavo operiranega tumorja pri 1 bolniku v naši raziskavi. Podobne (psevdo)cistične spremembe lahko vsebujejo tudi retroperitonealni tumorji, ki se v dvodimenzionalni UZ-preiskavi lahko projicirajo v ledvico, kar smo opazili pri bolniku s cistično spremenjenim retroperitonealnim schwannomom.

Benigni tumorji v naši analizi so bili glede na citopatološko diagnozo večinoma angiomiolipomi in onkocitomi, vendar predvsem bolniki z angiomiolipomi niso bili operirani, zato pravilnosti citopatološke diagnoze nismo mogli preveriti. V diagnostično pomoč pri citopatološki diagnostiki so lahko imunocitokemična barvanja (tabela 2), zavedati pa se moramo, da je morfološka slika lahko zavajajoča, prav tako tudi rezultati imunocitokemičnih barvanj. Gostocelične drobce strome lahko dobimo tudi pri svetloceličnem karcinomu ledvičnih celic, zato moramo pri ne povsem značilni citomorfološki sliki natančno iskati morebitne majhne skupke nevpadljivih svetlih karcinomskih celic.

Uspešni smo bili v opredeljevanju onkocitomov. Imunocitokemična barvanja imajo pri teh primerih manjši pomen, saj se rezultati prekrivajo s tistimi pri kromofobnem karcinomu, ki glede na morfološko sliko celic prihaja v diferencialno diagnozo pri teh tumorjih (5, 8, 10).

Pri citološki diagnozi, sumljivi za karcinom, ki je običajno povezana s celično pičlimi vzorci, pričakujemo nadaljnje diagnostične postopke za potrditev ali izključitev karcinoma. Dejansko so v polovici primerov s histopatološko preiskavo resektata ledvice odkrili karcinom ledvičnih celic, v 4 primerih pa benigne tumorje, med njimi zelo redke, kot sta cistični nefrom in jukstaglomerulni tumor. Oba tumorja vsebujeta citološko atipične celice, ki jih brez preostalih tkivnih arhitekturnih značilnosti s citopatološko preiskavo ne moremo diagnosticirati (5, 10).

Podobno velja tudi za neopredeljene karcinome, kjer je bila citološka slika dovolj značilna za odločitev o malignosti, nadaljnja opredelitev pa ni bila mogoča.

Presenetljivo uspešni smo bili pri citopatološki diagnozi različnih tipov karcinomov ledvičnih celic, še posebno papilarnega in kromofobnega (slike 3, 4 in 5). K pravilni diagnozi so znatno pripomogla imunocitokemična barvanja, ki smo jih lahko opravili zaradi bogatih celičnih vzorcev (11). V literaturi opozarjajo, da paneli, navedeni v tabeli 1, niso popolnoma zanesljivi. Pri katerem koli tumorju lahko pride do aberantne ekspresije

antigenov, zato moramo rezultate imunocitokemičnih barvanj vedno interpretirati v skladu z morfološko sliko tumorja.

Čeprav je citološka slika svetloceličnega karcinoma ledvičnih celic značilna, smo bili pri tej diagnozi manj uspešni, saj so v tej skupini zajeti tudi vzorci z manj celičnega materiala, kjer je morfološka slika lahko zavajajoča. Morfološke slike različnih tipov karcinomov ledvičnih celic se lahko tudi prekrivajo (5, 10). Tako ima papilarni tip karcinoma ledvičnih celic lahko enako drobno vakuolizirano citoplazmo kot običajni svetlocelični tip, zato ga ob odsotnosti prepričljivih papil lahko ne spoznamo, kar smo opazili pri 2 bolnikih.

SKLEP

V analizi smo potrdili, da je UZ-vodena aspiracijska biopsija s tanko iglo uspešna metoda za diagnostiko ledvičnih tumorjev, tudi tistih, ki so manjši od 3 cm. S citopatološko preiskavo lahko opredelimo malignost tumorja, pa tudi različne tipe karcinomov ledvičnih celic, če je celični material reprezentativen, dovolj bogat, kar omogoča, da opravimo tudi imunocitokemična barvanja. Kliniki se dobro zavedajo omejitvev citopatološke preiskave pri nereprezentativnih, pičlih in za karcinom sumljivih vzorcih, kjer večinoma pozneje naredijo histopatološko preiskavo.

LITERATURA

1. Renshaw AA, Granter SR, Cibas ES. Fine-needle aspiration of the adult kidney. *Cancer* 1997; 81: 71–88.
2. Laguna MP, Kümmerlin I, Rioja J, de la Rosette JJMCH. Biopsy of renal mass: where are we now? *Curr Opin Urol* 2009; 19: 447–453.
3. Volpe A, Kachura JR, Geddie WR, Evans AJ, Gharajeh A, Saravanan A, Jewett MAS. Techniques, safety and accuracy of sampling of renal tumors by fine needle aspiration and core biopsy. *J Urol* 2007; 178: 379–386.
4. Kümmerlin IPED, Smedts F, ten Kate FJWHorn T, Algaba F, Trias I, Wijkstra H, de la Rosette JJMCH, Laguna MP. Cytological punctures in the diagnosis of renal tumors: a study on accuracy and reproducibility. *Eur Urol* 2009; 55: 187–198.
5. Renshaw AA, Lee KR, Madge R, Granter SR. Accuracy of fine needle aspiration in distinguishing subtypes of renal cell carcinoma. *Acta Cytol* 1997; 41: 987–994.
6. Volpe A, Mattar K, Finelli A, Kachura JR, Evans AJ, Geddie WR, Jewett MAS. Contemporary results of percutaneous biopsy of 100 small renal masses: a single center experience. *J Urol* 2008; 180: 2333–2337.
7. Shannon BA, Cohen RJ, de Bruto H Davies RJ. The value of percutaneous preoperative needle core biopsy for diagnosing benign lesions among small, incidentally detected renal mass. *J Urol* 2008; 180: 1257–1261.
8. Masoom S, Venkataraman G, Jensen J, Flanigan RC, Wojcik EM. Renal FNA-based typing of renal masses remains a useful adjunctive modality: evaluation of 31 renal masses with correlative histology. *Cytopathology* 2009; 20: 50–55.
9. Adeniran AJ, Al-Ahmadie HA, Iyengar P, Reuter V, Lin O. Fine needle aspiration of renal cortical lesions in adults. *Diagn Cytopathol* 2010; 38: 710–5.
10. Renshaw AA. Subclassification of renal cell neoplasms: an update for practicing pathologist. *Histopathology* 2002; 41: 283–300.
11. Skinnider BF, Amin MB. An immunohistochemical approach to the differential diagnosis of renal tumors. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22: 51–68.