

RENAL TRANSPLANT HASTALARINDA POSTOPERATİF DÖNEMDE İDRAR SİTOLOJİSİ BULGULARI

Dr. Canan ERSÖZ (*), Dr. Gülfiliz GÖNLÜŞEN (*), Dr. Ediz F.COŞAR (*), Dr. Yıldırım BEYAZIT (**),
Dr. Sinan ZEREN (**), Dr. Uğur ERKEN (**)

ÖZET: Siklosporin nefrotoksitesi, akut rejeksiyon ve üriner infeksiyonun tanısı idrar sedimentinin sitolojik incelenmesi yoluyla konulabilir. Örneğin, intrasitoplazmik eozinofilik granüller ve sitoplazmik vakuolizasyon gösteren renal tüp epitel hücreleri siklosporin toksitesinin karakteristik bulguları olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada amaç, renal transplant hastalarının idrar sitolojisi bulgularını değerlendirmek ve konu üzerinde ileride yapacağımız çalışmalar için standart sitomorfolojik kriterler sapmamaktır. İncelenen 376 idrar sitolojisi preparatında olguların % 30.6'sında intrasitoplazmik eozinofilik granüller, % 27.6'sında sitoplazmik vakuolizasyon, % 21.8'inde Tip II renal hücreler ve % 27.1'inde lökositüri saptandı. Bu hastaların hepsinde kan siklosporin düzeyleri normalin üzerinde idi (> 400 ng/ml). Sonuç olarak, idrar sitolojisinin renal transplant hastalarının takibinde yararlı, basit bir yöntem olduğu kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELEER: Siklosporin, Nefrotoksite, Renal Transplantasyon, İdrar sitolojisi.

SUMMARY: Cyclosporine toxicity, acute allograft rejection and urinary infection can be reliably diagnosed by means of simple urinary sediment cytology. For example, intracytoplasmic eosinophilic granules and cytoplasmic vacuolisation in renal tubular cells have been described as specific findings in cyclosporine toxicity. In this study, we aimed to evaluate the urinary exfoliative cytology findings of the renal allograft recipients and to suggest some standard criteria for our further studies on the subject. We examined 376 urinary cytologic preparations of 34 patients. Intracytoplasmic eosinophilic granules were seen in 30.6 % and cytoplasmic vacuolisation was seen in 27.6 % of the cases. These patients had high levels of cyclosporine in the blood. Type II renal cells were found in 21.8 % and leucocyturia in 27.1 % of the cases. We believe that cytologic examination of voided urine is a simple diagnostic help for the management of the renal transplant patients..

KEY WORDS: Cyclosporine, Nephrotoxicity, Renal transplantation, Urinary cytology.

GİRİŞ

İdrar sitolojisi, renal transplantasyon uygulanan hastaların klinik takibinde birçok merkez tarafından rutin olarak kullanılan, tamamıyla non-invaziv bir tanı yöntemidir. Akut graft rejeksiyonu (AGR), siklosporin A nefrotoksitesi (CyN) ve başta sitomegalovirus (CMV) infeksiyonu olmak üzere çeşitli infeksiyonların tanısında idrar sedimentinin mikroskopik incelenmesi, oldukça güvenilir ve hasta yönünden risksiz bir yoldur (2,8,11).

İdrar sitolojisinde AGR, CyN ve CMV infeksiyonunun değişik araştırmacılar tarafından tanımlanan çeşitli sitomorfolojik tanı kriterleri vardır.

Örneğin lenfositüri, idrar toplayıcı kanal epitel hücrelerinin sayıca artımı, silindirler ve kirli zemin görülmesi graft rejeksiyonu lehine bulgular olarak bildirilirken, renal tubulus epitel hücrelerinde intrasitoplazmik eozinofilik granüllerin

varlığı, vakuolizasyon, idrarda belirgin sellülarite artımı, lökositüri gibi bulgular CyN'nin idrar sitolojisine yansıyan bulguları olarak öne sürülmüştür. Üriner sistem infeksiyonlarında idrar sitolojisinde renal tübüler hücreler nadiren görülür, ancak çok sayıda polimorf nüveli lökosit (PMNL) ve bakteri izlenir.

CMV infeksiyonunda ise idrardaki tanı kriterleri, çevresinde şeffaf bir halo bulunan, tek, büyük, eozinofilik veya bazofilik intranükleer inklüzyon gösteren renal tüp epitel hücreleri (owl-eye nucleus-baykuş gözü şeklinde nükleus), toplayıcı tüp epitel hücrelerinde sık mitoz, AGR'undakine göre daha az sellülarite, toplayıcı kanal epitel hücreleri ve lenfositlerde hafif artıma karşın üriner granülositlerde sayıca azalmadır (1,3,7-11).

Bu çalışmada amacımız; renal transplantasyon uygulanan ve postoperatif olarak immunosupresif tedavi alan hastalarda ortaya çıkan idrar sitolojisi bulgularını retrospektif olarak araştırmak ve ileriye dönük rutin inceleme ve araştırmalarımız için standardizasyonu sağlayacak sitomorfolojik kriterleri tayin etmektir.

* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

TABLO 1 : RENAL TRANSPLANTASYON HASTALARINA UYGULANAN İMMUNOSPRESİF TEDAVİ PROTOKOLÜ

Süre	CyA	Azathioprine	Methylprednisolone*
Başlangıç dozu	8 mg/kg/gün	Sliding Scale	100 mg/gün/iv
4. Gün	Aynı	Aynı	64 g/gün/p.o.
7. Gün	Aynı	Aynı	48 mg/gün/p.o.
10. Gün	Aynı	Aynı	40 mg/gün/p.o.
14. Gün	Aynı	Aynı	32 mg/gün/p.o.
15. Gün	6 mg/kg/gün	2 g/kg/gün	*
1. Ay	5 mg/kg/gün	1.5 mg/kg/gün	*
2. Ay ve idame	4 mg/kg/gün	1.5 g/kg/gün	*

* Methylprednisolone tedavisinde 14. günden sonra doz her hafta 4 mg. azaltılarak 4 mg/gün/p.o.'e düşürülecek.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda renal transplantasyon uygulanan 34 hastaya ait toplam 376 idrar sitolojisi preparatı retrospektif olarak yeniden incelendi. Ayrıca graft rejeksiyonu ön tanısı ile 4 hastadan alınan böbrek iğne biyopsisi CyN yönünden gözden geçirildi.

Hasta Grubu

Yaşları 12 ile 48 arasında değişen 7 kadın, 27 erkek toplam 34 hastaya renal transplantasyon yapıldı. Bu hastalara uygulanan immunosupresif tedavi protokolü Tablo 1'de özetlenmiştir. Hastalar klinik olarak, kan ve idrar biyokimyası, Cy kan düzeyleri yanı sıra idrar sitolojisi tetkikleri ile takip edilmektedir.

İdrar Sitolojisi Preparatlarının Hazırlanması

Hastalardan posttransplant hospitalizasyon döneminde ve müteakip kontrol muayenelerinde alınan (her hasta için ortalama 11 preparat) ortalama 20 cc. taze idrar örneği öncelikle 3 dakika santrifüj edildikten sonra santrifüj tüpünün dibinde kalan sediment Shandon Cytocentrifuge cihazı ile 2 dakika süre ile 2000 devir/dakika hızla çevrilerek sitosantrifüj preparatları hazırlandı. Alkolde tespit edilen lamalar Papanicolaou boyası ile boyanarak rutin ışık mikroskopunda X10 ve X40'luk büyütmelemlerle incelendi.

İdrar Sitosantrifüj Preparatlarının Değerlendirilmesi

Preparatlar değerlendirilirken aşağıda belirtilen sitomorfolojik bulgular esas alındı:

1- İntrasitoplazmik eozinofilik granüller içeren tüp epitel

hücreleri (çapları 2-5 µm. arasında değişen, eozinofilik boyanan intrasitoplazmik granüller içeren renal tüp epitel hücreleri),

2- Vakuolizasyon (renal tüp epitel hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon),

3- Tip I hücreler (7-9 µm. çapında, hiperkromatik, boyut farklılığı gösteren nükleusa sahip, dar sitoplazmalı, gruplar oluşturmuş epitelyal hücreler),

4- Tip II hücreler (10-80 µm. çapında, hücre sınırları düzensiz; iri, kaba kromatine sahip nükleuslu, tek tek düşmüş epitelyal hücreler),

5- Lenfosit varlığı,

6- PMNL varlığı,

7- Eritrosit varlığı,

8- Bakteri ve/veya mantar varlığı,

9- Zemin kirliliği,

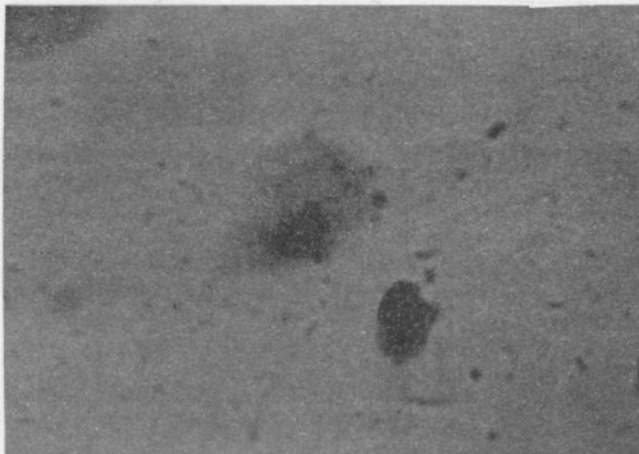
10- Epitelyal hücre gruplarının varlığı,

11- Kristal ve/veya silindir varlığı (örneğin; oksalat kristalleri, hyalen silindirler vb.).

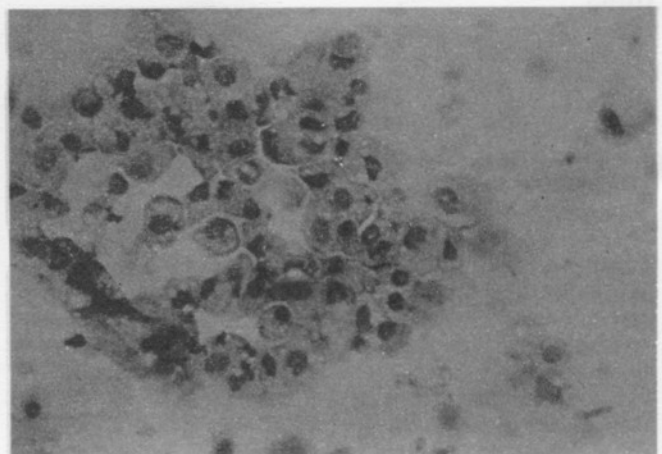
BULGULAR

34 hastaya ait 376 idrar sitolojisi örneğinde yukarıda tanımlanan kriterler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, 58 örnekte (% 15.42) intrasitoplazmik granüller (Resim 1), 52 örnekte (% 13.82) sitoplazmik vakuolizasyon (Resim 2), 51 örnekte (% 13.56) lökositüri, 41 örnekte (% 10.90) Tip II hücre (Resim 3), 41 örnekte (% 10.90) lenfositüri, 40 örnekte (% 10.64) bakteriüri, 28 örnekte (% 7.44) zemin kirliliği, 27 örnekte (% 7.18) hematüri, 24 örnekte (% 6.38) epitelyal hücre grupları, 8 örnekte (% 2.13) silindir, 6 örnekte (% 1.60) mantar, 5 örnekte (% 1.30) Tip I hücre (Resim 4), 5 örnekte (% 1.30) oksalat kristalleri ve 2 örnekte (% 0.53) eozinofili görülmüştür.

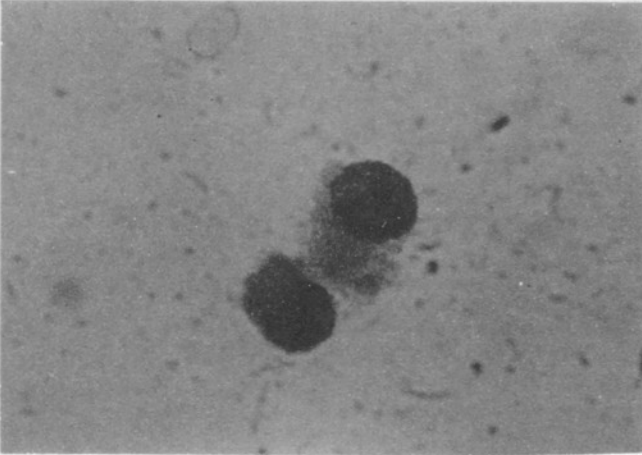
CyN bulguları olan renal tubulus epitel hücrelerinde intrasitoplazmik eozinofilik granüllerin varlığı, vakuolizasyon ve lökositürinin birlikte görüldüğü örnek sayısı 13 (% 3.46)'tır. İEG ve vakuolizasyonun birlikte görüldüğü örnek sayısı 17 (% 4.52) ve İEG ve lökositürinin birlikte görüldüğü örnek sayısı 15 (% 3.98)'dir. Bu hastalardan 4 tanesinin böbrek iğne biyopsi materyallerinin histopatolojik incelenmesinde 2 olguda glomerüllerde mezangial matriks artımı ve fibrin trombları, 3 olguda damarlarda endotel proliferasyonu,



Resim 1: Renal tubulus epitel hücrelerinde intrasitoplazmik eozinofilik granüller. Papanicolaou x 600.



Resim 2: Renal tubulus epitel hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon. Papanicolaou x 375.



Resim 3: Tip II hücreler. Papanicolaou x 600.

2 olguda damar duvarlarında hyalen kalınlaşma, 1 olguda arterit ve obiterasyon, 1 olguda kalsifikasyon ve ayrıca hepsinde interstisyumda fokal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu yanısıra tubulus epitel hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon görülmüştür. Bu olgulardan 3 tanesinin histopatolojik bulguları CyN ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Olgularımızdan hiçbirisinde CMV enfeksiyonuna ait sitomorfolojik bulgu saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Son evre böbrek hastalıklarında renal transplantasyon uygulamasının başlamasıyla beraber, bu hastaların posttransplant dönemdeki idrar sedimenti bulguları birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sonucunda idrar sitolojisi, renal transplant hastalarının klinik takibinde önemli bir yöntem olarak kabul edilmiştir (2,7-9, 11). Siklosporin kullanan renal transplant hastalarında ilaca bağlı renal fonksiyon bozukluğu ile allograft rejeksiyonunun ayırıcı tanısı oldukça güçtür.

Cortesini ve arkadaşları, idrarda intrasitoplazmik eozinofilik granüller içeren proksimal tüp epitel hücrelerinin görülmesinin, Siklosporin-A nefrotoksitesinin karakteristik bir bulgusu olduğunu, ayrıca bu hastaların çoğunda lenfosit veya lenfoblast görülmediğini, ancak çok sayıda epitel frag-

manlarının gözlendiğini bildirmişlerdir (2). Winkelmann ve arkadaşları, transplantasyon sonrası dönemde siklosporin uygulanan 26 hastanın takibinde günlük alınan idrar örneklerinin tamamında geniş ve ileri derecede vakuolize sitoplazmalı renal tüp epitel hücreleri görmüş, bu hücrelerin görülme sıklığı ve sayısının ilacın kan düzeyi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (10).

Bir başka çalışmada Ashton ve arkadaşları, immunosupresif tedavide siklosporin kullanan hastalarda % 93, azathioprine kullanan hastalarda % 62 oranında steril lökositüri görmüşler ve siklosporini renal allograft alıcılarda steril lökositüri nedeni olarak bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, CyA nefrotoksitesinin etyopatogenezisinde lökositürinin mutlaka dikkate alınması gerektiğini savunmaktadırlar (1).

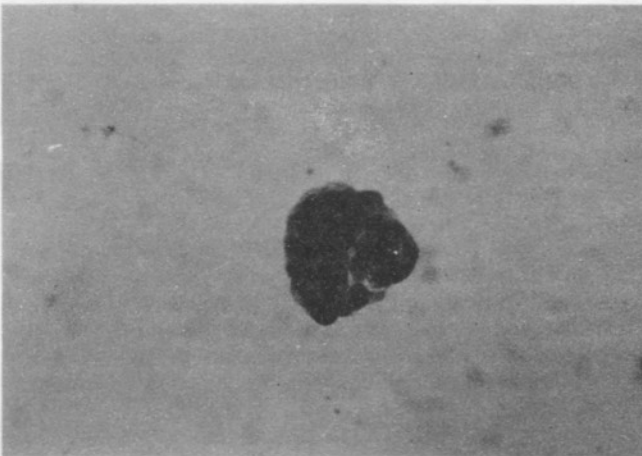
Çalışmamızda yer alan ve idrar sedimentinde intrasitoplazmik eozinofilik granüller ve/veya vakuolizasyon gösteren renal tüp epitel hücreleri gördüğümüz hastaların kanındaki siklosporin düzeyleri normalin üzerinde bulundu (> 400 ng/ml). Ayrıca iki hastanın kan siklosporin düzeyi 800 ng/ml'nin üzerinde idi. Bu hastalardan bir tanesinin böbrek iğne biyopsisinde de CyN bulguları saptanmıştır. Sitoplazmik vakuolizasyon izlenen olgulardan bir tanesinde kan siklosporin düzeyi 800 ng/ml'nin üzerinde, bir tanesinde de toksik sınıra yakın bir değer bulunmuştur.

Bu hastalardan bir tanesinin böbrek iğne biyopsisinde de yine CyN bulguları mevcuttur. Tip II hücreler olarak isimlendirilen ve posttransplant dönemde nonspesifik zamanlarda her hastada ortaya çıkabilen, immunosupresif tedaviye ikincil hücreler 34 hastadan 19'unda en az bir kez görüldü. Bu bulgularımız ışığında idrar sitolojisinde intrasitoplazmik eozinofilik granüllerin varlığı, vakuolizasyon, Tip II hücrelerin görülmesi gibi bulguların bir veya birkaçının bulunması durumunda kliniğin CyA nefrotoksitesi yönünden uyarılması gerektiği kanısındayız.

CyA'nın hücre düzeyindeki toksik etkisi moleküler düzeyde henüz açıklanmamış olmakla beraber, in vitro olarak CyA'nın bilinen renal toksitesi yanısıra hepatotoksik, nörotoksik etkileri olduğu; pankreas, kemik ve deri dokularında da CyA'ya bağlı değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir. Ayrıca CyA'ya bağlı myopati, kardiyotoksikite ve endotel harabiyeti olguları da bildirilmiştir (6). Siklosporin ve enkojenezis bir başka önemli konudur. Cincinnati Transplant Tumor Registry verilerine göre Mart 1986 dönemi itibarıyla Cy tedavisi alan ve malign tümör gelişen 130 transplant hastası bildirilmektedir (5).

130 hastada gelişen 131 malign tümör arasında Non-Hodgkin Lenfomalar en sık olarak görülmekte (% 43), bunu sırasıyla cilt kanserleri (% 16), Kaposi sarkomu (% 8) ve serviks kanserleri (% 2) izlemektedir. Bu tümörlerin posttransplant dönemde ortaya çıkışı da konvansiyonel tedavi alan hastalara göre çok daha erken dönemde olmaktadır. Bununla beraber yazar bu tümörlerin Cy tedavisine spesifik olmadığını ancak immunosupresyonun bir komplikasyonu olduğunu belirtmektedir.

Yaptıkları deneysel hayvan çalışmasında Demetris ve arkadaşları, Cy verilen farelerin lenfoid dokularında atipik B hücre proliferasyonu olduğunu saptamışlar; Cy'nin bu etkisini T hücrelerinden gelen uyarıların inhibisyonu sonucu B hücrelerinin antijenik cevabının dolaylı olarak bozulmasına bağlamışlardır (4). Bilinen ve bilinmeyen yan etkilerine rağmen CyA, transplant hastalarının postoperatif immunosupresif tedavilerinde vazgeçilmez bir ajandır. CyA'nın transplant hastasına en az düzeyde zarar verecek şekilde kullanılmasında kan düzeylerinin ölçümü ve diğer klinik ve biyokimyasal takip yöntemleri yanısıra idrar sediment



Resim 4: Tip I hücreler. Papanicolaou x 375.

bulgularının da önemli katkısı olmaktadır. Yöntemin son derece ucuz, kolay ve tekrar tekrar uygulanabilen non-invaziv nitelikte olması, oldukça güvenilir olması ve sitoloji laboratuvarlarına araç-gereç, yöntem yönünden ek bir külfet getirmemesi de önemli avantajlar olarak karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ashton A., Alexander D.P., Debellis C., Schumann G.B.: Leucocyturia in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Am J Clin Pathol.*, 1989; 113-117, 1988.
2. Cortesini R., Stella F., Molajoni R., Lemeni A.R., Pretagostini R., Alfani D.: Urinary exfoliative cytology in kidney allografts under cyclosporine therapy. *Transplant Proc.*, 16: 1200-1201, 1984.
3. Danovitch G.M., Nast C.C., Wilkinson A., Rosenthal T.: Evaluation of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of renal transplant dysfunction. *Am J Kidney Dis.*, 27: 206-210, 1991.
4. Gill T.W., Shinozuka H.: Sequential analyses of the development of lymphoproliferative disorders in rats receiving cyclosporine. *Transplantation*, 38: 239-246, 1984.
5. Penn I.: Cyclosporine and oncogenesis. *Mount Sinai J Med.*, 54: 460-464, 1987.
6. Rush D.N.: Cyclosporine toxicity to organs other than the kidney. *Clin Biochem.*, 24: 101-105, 1991.
7. Sandoz P.F., Biemann D., Mihatsch M., Thiel G.: Value of urinary sediment in the diagnosis of interstitial rejection in renal transplants. *Transplantation*, 41: 343-347, 1986.
8. Simpson M.A., Madras P.N., Monaco A.P.: Cytologic examination of urinary sediment in renal allograft recipients. *Transplant Proc.*, 21: 3578-3580, 1989.
9. Walloch J.L., Hong H.Y., Bibbo L.M.: *Comprehensive Cytopathology*. Ed: Bibbo M. 1st ed. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Comp. p: 871, 1991.
10. Winkelmann M., Bürrig K.F., Kaldovsky K.F., Witkowski M., Grabense B., Pfitzer P.: Cyclosporine A-altered renal tubular cells in urinary cytology. *Lancet*, 667, 1985.
11. Winkelmann M., Grabensee B., Pfitzer P.: Differential diagnosis of acute allograft rejection and CMV infection in renal transplantation by urinary cytology. *Pathol Res Prac.*, 180: 161-168, 1985.