Böbrek ve Karaciğer Transplantasyonu Vakalarında İnce İğne Aspirasyon Sitolojinin Kullanımı

Dr. Gülen Akyol*

ÖZET

Transplant aspirasyon sitolojisi atravmatik ve kolay bir teknik olup, greftte olan değişikliklerin günlük incelenmesine olanak sağlar. Rutin kullanma amaçları a) parankimal hücre değişikliklerini ve immün aktivasyon derecesini saptamak b) yapılan tedavilere cevabı kontrol etmektir. Özellikle postoperatif ilk aylarda akut sellüler rejeksiyon, siklosporin toksisitesi, böbrekte akut tübüler nekroz ve çeşitli enfeksiyonların tespitinde yararlıdır. Ancak kronik rejeksiyon, vasküler komplikasyonlarda kesin tanı iğne biyopsisi ile konulmalıdır. Bu iki yöntem greftle ilgili farklı bilgiler sağladığından birlikte kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Transplantasyon, böbrek, karaciğer, akut rejeksiyon, sitoloji.

GİRİŞ

Transplantasyon yapılan hastalarda başta rejeksiyon olmak üzere görülebilen her komplikasyonun değerlendirilmesinde en güvenilir yöntem iğne biyopsisi (İB) dir. Ancak kanama ve enfeksiyon riski taşıması yanısıra materyalin incelenebilir duruma gelmesini zaman alması sık uygulanmasına engeldir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) ise daha az travmatize edici ve 2 saatte sonuç verebilen bir yöntemdir[1,2,3].

METODA İLİŞKİN TEKNİK BİLGİLER

Biyopsi, lokal anestezi gerekmeksizin, aseptik koşullarda yapılabilir. 0.5-0.6 mm. çapında bir iğne ile grefte girilerek 10-15 ml. kadar materyal albümin ve heparin içeren Hepes'le tamponlanmış solüsyona (Gibco, Grand Islands Biol. Co., NY, USA) alınır. Materyalin böbrek korteksinden alınması şarttır, aksi durumda örnek temsil edici nitelikte değildir. Ağır karaciğer yetmezliği, koagülopatisi ve hatta asidi olan hastalardan bile aspirasyon biyopsisi almak mümkündür. Greftten alınan örneğe paralel olarak parmak ucundan eşit miktarda kan alınır. Böylece greftten alınan materyaldeki kan kontaminasyonu oranını belirlemek mümkündür. Alınan örnekler sitosantrifüjden geçirilerek yayılır ve MayGrünwald-Giemsa (MGG) boyası ile boyanır.

* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

SUMMARY

Transplant aspiration cytology is an atraumatic and easy technique that gives the opportunity to monitorise daily intragraft events. Its routine applications are (a) to determine the paranchymal cellular alterations and the degree of immune activity b) to control its response to the various therapy modalities. The method is very useful to diagnose acute cellular rejection, cyclosporin toxicity, renal tubular necrosis and different infections, especially during the early postoperative period. However the definite diagnosis of chronic rejection and vascular complications should be done by coreneedle biopsy.

Key Words : Transplantation, renal, liver, acute rejection, cytology.

ASPİRASYON MATERYALİNİN HÜCRESEL ANALİZİ

a) Materyalin Yeterliliği

Öncelikle alınan örneğin grefti temsil edip etmediğine bakılmalıdır. Bunun için bir preperatta 100 hücre sayıldığında en az 7(%7) parankimal hücre görülmelidir[4]. Bu oranın % 5'in altına düştüğü preparatlar değerlendirilmemelidir.

b) Parankimal Hücreler

Böbrek aspirasyonlarında proksimal ve distal tübüler hücreler, endotelyal hücreler ve daha seyrek olarak glomerül yumağı görülebilir[4]. Proksimal tübül hücreleri küçük (10-15 mm), bazofilik, granüllü sitoplazmalı, ya da büyük (20-25mm) soluk mavi sitoplazmalı olabilirler. Nukleusları küçük olup, 1-2 nukleol içerirler. Distal tübül hücreleri ise genellikle büyük(20-25mm), bir kısmı soluk, bir kısmı granüllü sitoplazmalı, nükleusları yuvarlak tek nükleollü görünümdedirler. Endotelyal hücreler (20-25mm) oval şekilli, bol soluk sitopazmalı olup, nukleusu gevşek kromatinli, 1-2 nukleol içerebilen hücrelerdir. Çok frajil olup, sıklıkla deforme görünümdedirler[4]. Glomerüler hücreler genellikle kümeler halinde görülürler.

Post-operatif komplikasyonlardan olan akut tübüler nekroz'da (ATN) hücrelerde şişme, sitoplazmik bazofilide artış, irregüler vakuolizasyon ve ağır vakalarda nekrotik değişiklikler görülür ve buna eşlik eden immün aktivasyonu düşündürecek inflamasyon yoktur.

İmmünsupresyonda kullanılan ilaçlardan özellikle

siklosporin A(Cyc A)ya bağlı akut toksisitede tübül hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda hava kabarcığı şeklinde izometrik vakuolizasyon izlenir, ancak spesifik değildir. (Resim 1) Siklosporin dozunu düşürdükten sonra, morfoloji 1- 2 hafta içinde normale döner. İzometrik vakuolizasyon kronik toksisitede görülmez, kronik toksisitede tübüler atrofi dejenerasyon, intersisiyel fibrozis mevcuttur.

Akut sellüler rejeksiyon başlangıcında tübüler ve endoteliyal hücreler normal görünümdedirler. Rejeksiyon devam ettiğinde ise giderek artan şişme, bazofilide artış ve kaba vakuolar değişiklikleri gibi dejenerasyon bulguları gösterirler. Bu bulgulara çarpıcı infalamasyonda eşlik eder ki bu ATN'den ayırımda oldukça önemlidir[4]. Ağır ve uzamış rejeksiyonda tübül hücrelerinde nekrozda tabloya eklenir. Ağır nekrotik değişiklikler uzamış rejeksiyon dışında genellikle vasküler trombüse bağlı greft infarktında da görülebilmektedir[6].

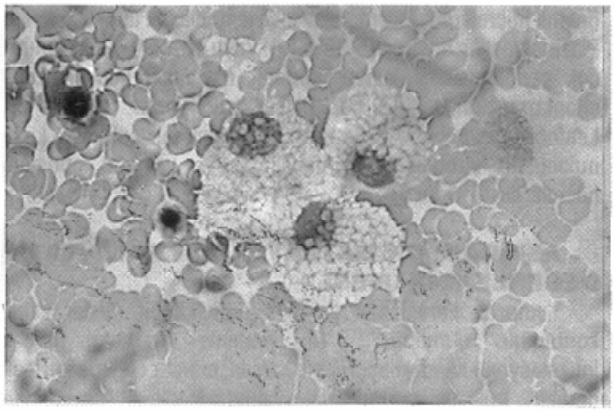
Karaciğerden yapılan aspirasyonlarda kümeler halinde veya tek tek hepatositler yanısıra daha az oranda safra duktus hücreleri ve endotelyal elemanlar izlenir. Esas olarak doku hasarı ile ilgili bilgiyi hepatositlerdeki değişiklik verir. Fokal nekrozları, safra duktusu ve damar değişiklerini değerlendirmek için aspirasyon yeterli değildir[7].

Hepatositlerde vakuolizasyon ve nekrozun belirgin inflamasyon ile birlikte görülmesi akut rejeksiyon ile uyumludur. Nekrotik hücreler ağır doku hasarı habercisidir. Bu bulgulara inflamasyon eşlik etmediği durumlarda ilaç toksisitesi, trombüs gibi damar komplikasyonları akla gelmelidir. Cyc A toksisitesi hepatositlerde de izometrik vakolizasyona neden olur.

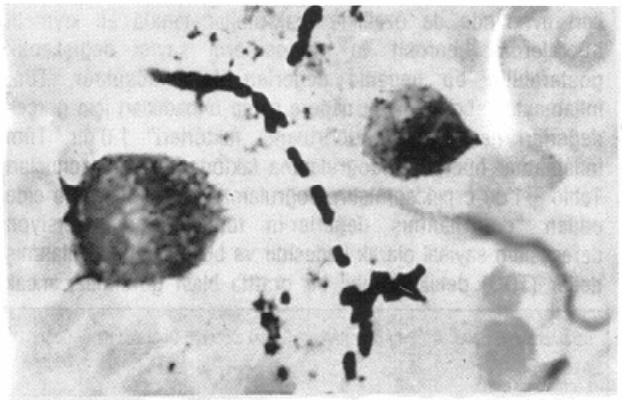
Hepatositlerin içinde ya da arasındaki safra damlacıkları ile karakterli kolestaz, yine inflamasyon ile birlikte ise akut rejeksiyonu düşündürür. (Resim 2) İnflamasyon olmadığında biliyer sistem komplikasyonları düşünülmelidir.

c) Inflamatuar Hücreler

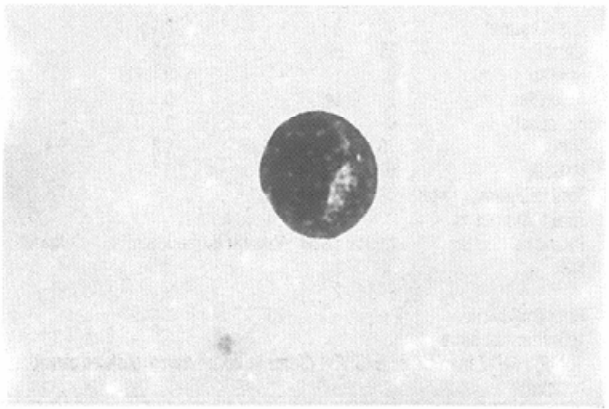
Lenfositler ve monositler transplantasyon sonrası ilk görülen hücrelerdir[4]. Küçük lenfositlerin (6-9mm) yanısarı büyük (12-16 mm) belirgin kabalaşmış kromatin yapısına sahip, sitoplazmaları genişlemiş koyu bazofilik "aktif lenfositler" görülür. (Resim 3) Büyük granüler lenfositler (10-16 mm), sitoplazmasında azurofilik granüller olan hücrelerdir ve fonksiyonel olarak NK hücreleri temsil ederler. (Resim 4) Ayrıca plazma hücreleri de olabilir. Monositik seriye ait farklı matürasyon aşamasında hücreler görülebilir. Küçük monositler (20-30mm); irregüler, multilobüle nukleuslu büyük monositler (30-40 mm) ile makrofajlar izlenebilir. Çok sayıda makrofaj görülmesi ağır ve uzamış rejeksiyonların ya da akut vasküler rejeksiyonun erken dönem bulgusudur. Granülositik seriye ait hücrelerden bazofiller, eozinofiller erken dönemde görülebilir.



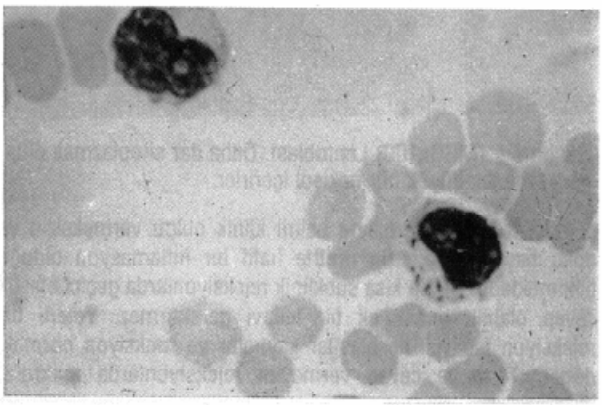
Resim 1: (MGGx40) Tübüler hücrelerde izometrik vakuolizasyon,siklosporin toksisitesi ile uyumlu.



Resim 2: (MGGx100) Hepatositlerde kanaliküler kolestaz (skor 1).



Resim 3: (MGGx100) Aktive lenfosit. Kaba kromatin, koyu bazofilik sitoplazma ve perinükleer halo izleniyor



Resim 4: (MGGx100) Büyük granüllü lenfosit, belirgin sitoplazmik granüller azurofilikdir.

Eozinofiller özellikle immün aktivasyon başlangıcında hem kanda hem greftte yoğun olarak bulunur[8]. Nötrofiller ise genellikle rejeksiyonun geç döneminde ve parankim hücrelerinde nekrozla birlikte yoğun olarak mevcutturlar.

Trombositler rejeksiyonda küçük agregatlar halinde görülebilirler, ancak endotel hücreleri çevresinde büyük agregatlar oluşturmaları kötü prognoz belirtisidir[9].

Lenfoid blastik hücreler akut rejeksiyon tanısı için gerekli en önemli hücrelerdir. Plazmoblastik ve lenfoblastik tipte olabilirler. Plazmoblastlar büyük (15-25 mm), koyu bazofilik sitoplazmalı, çok sayıda nukleol içeren immatür nukleuslu hücreler olup sitoplazmalarında tipik perinükleer halo vardır. (Resim 5). Lenfoblastlar büyük (15-20 mm), 1-2 soluk nukleolü olan koyu nukleuslu, sitoplazmaları daha dar ve vakuolü olmayan hücrelerdir. (Resim 6).

ASPİRASYON MATERYALİNİN KANTİTATİF DEĞERLENDİRİLMESİ

Yumuşak parankimal organlar mutlaka bir miktar kanla kontamine olmuştur[10]. Bu nedenle greftteki gerçek inflamasyonu kandaki hücrelerle karşılaştırarak değerlendirmek gerekir. Bu, aspirasyon materyalindeki lökosit sayısından kandaki lökosit değerlerinin çıkarılması ile mümkündür [4,10]. Ayrıca tüm inflamatuar hücrelerin aynı değerde olmadığı gözlenmiştir. Rejeksiyon başlangıcında blastik hücreler daha ileri evresinde de özellikle makrofajlar tanıda en kıymetli hücrelerdir. Lenfosit ve monositlerin sayısı değişkenlik gösterebilir, bu nedenle değerleri daha düşüktür. Tüm inflamautar hücreler aynı değere sahip olmadıkları için gerçek değerleri hesaplamada doğrulama faktörleri" 1.0'dır. Tüm inflamatuar hücrelerin doğrulanma faktörlerine göre sonuçları Tablo - 1'de örneklenmiştir. Doğrulama faktörlerine göre elde edilen "doğrulanmış değerler'in toplamı ise rejeksiyon derecesinin sayısal olarak ifadesidir ve buna total doğrulanmış değer (TDD) denilir. Stabil bir graftta blast görülmez, ancak immünaktivasyon ile birlikte blast sayısı artmaya başlar. Blast sayısı preperat başına 6'yı geçtiğinde TD ne olursa olsun rejeksiyon lehinedir[11]. TDD 3'ün üzerinde ve blastların olduğu bir aspirasyonda immünaktivasyon başlagıcından söz edilebilir.

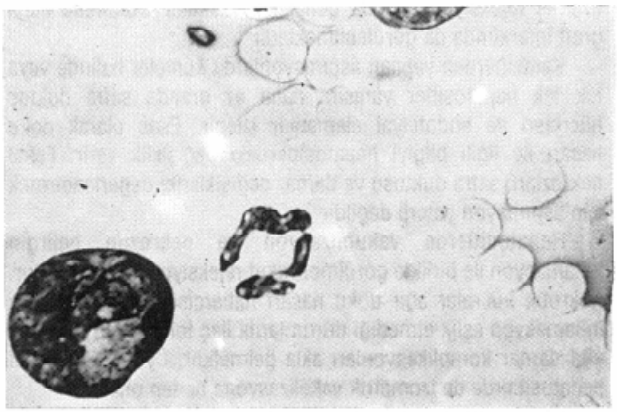
Parankimal hücrelerdeki değişiklikler ise yarı kantitatif bir değerlendirilmeyle, hafif değişiklikler için 1'den başlayarak nekrozu ifade eden 4'e kadar numaralandırılır. (Tablo-1) Kolestaz da yine yoğunluğuna göre 1'den 3'e kadar değerlendirilir.

Inflamatuar Hücreler	İİAB	KAN	Gerçek Değer	Doğrulanma Faktörü	Doğrulanmış Değer
Lenfoblastlar	3	0	3	1	3
Aktive lenfositler	4	0	4	0.5	2
Büyük granüllü lenfositler	1	1	-	0.2	-
Lenfositler	40	13	27	0.1	2.7
PMN					
jüvenil hücreler	0	0	-	0.1	-
nötrofiller	35	62	-	0.1	-
bazofiller	0	2	-	0.1	-
eozinofiller	7	14	-	0.1	-
Monoblast	0	0	-	1	-
Monosit	10	8	2	0.2	0.4
Makrofaj	0	0	-	1	-
Total Doğrulanmış Değer					7.1
Total blast/preparat	22				
Parankimal Hücreler	Normal	Şişkin	Vakuoler dejenerasyon		Nekroz
Skor	1	2		3	4
	-	2		-	-
Parankimal hücre/ 100inflamatuar hücre			20		
SONUÇ : BARİZ BLASTİK REJEKSİYON (Şişme ve vakuolizasyon gösteren parankim hücreleri)					

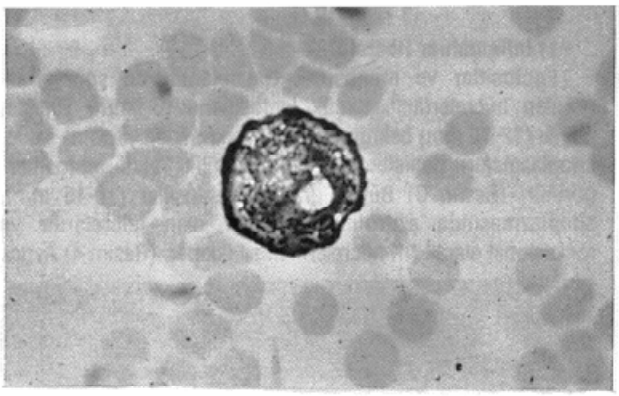
Tablo 1 : Bir rapor örneği

GREFTİN TAKİBİNDE İİAB KULLANIMI

Greftin düzenli olarak İİAB ile takibi süregelen değişiklikleri belirlemede çok yararlıdır. Rejeksiyon tanısı hiçbir zaman sadece aspirasyon bulgularına dayandırılmaz. Transplantasyon



Resim 5 : (MGGx100) Plazmablast, lenfoblastlardan biraz daha büyük olup birden fazla nükleolü ve koyu bazofilik sitoplazması vardır.



Resim 6 : (MGGx100) Lenfoblast. Daha dar sitoplazmalı olup, genellikle tek büyük bür nekleol içerirler.

sonrası ilk hafta içerisinde belirli klinik bulgu vermeksizin ve doku hasarı olmaksızın greftte hafif bir inflamasyon olduğu bilinmektedir. Bu tip kısa subklinik rejeksiyonlarda geçici blastik cevap olabilir ancak ek bir tedavi gerektirmez. Yeterli bir rejeksiyon tedavisi ile blastlar kaybolur ve fonksiyon normale döner. Tedaviye cevap vermeyen rejeksiyonlarda makrofaj

infiltrasyonu, tübül hücre dejenerasyonu tabloya eklenir. İİAB akut sellüler rejekesiyonun tanısı dışında tedaviye cevabın takibinde de kullanılır[3]. Üçlü tedavi postoperatif ilk aydaki akut rejeksiyon oranını % 70'lerden %30'lara indirmiştir. Steroid tedavisine cevap vermeyen rejeksiyonun en başında akut vasküler rejeksiyon gelir [12]. Karakteristik sitolojik bulgular olmasına rağmen kesin tanısı histolojik inceleme ile konmalıdır[13].

Ayrıca greftte inflamasyona neden olan infeksiyonlar ayırıcı tanıda problem yaratabilmektedir. Sistemik enfeksiyonların genelde aspirasyonun inflamasyon profiline bir etkisi yoktur[14]. Bakteriyel enfeksiyonlara cevap genellikle granülositosis şeklinde olduğu için ve kandada benzer değişiklikler yaptığı için greftteki TDD 3'ü geçmez. Viral enfeksiyonlar lenfosit hakim cevap oluşturduklarından ayırımları daha güçtür. Greftte lokalize enfekisyonların ise etken ajanları ne olursa olsun rejeksiyonda ayırımları sorun yaratırlar.

Viral enfeksiyonlar arasında en sık CMV enfeksiyonu tanı güçlüğüne neden olur ve klinik olarak rejeksiyon ile çok karışır[15]. CMV, hastada genel bir immünaktivasyona neden olur ve hem kanda hem de greftte blastik hücreler ile özellikle büyük granüllü lenfositler (NK, LGL) görülür. Kesin tanı viral antijenin veya DNA'nın gösterilmesi ile konulur.

ASPİRASYON SİTOLOJİSİ İLE İĞNE BİYOPSİSİ KORELASYONU

Aspirasyon sitolojisi ile iğne biyopsi sonuçları gerek böbrek gerekse karaciğer vakalarında özellikle akut sellüler rejeksiyon, siklosporin toksisitesi ve böbrekte ATN teşhisinde uyumludur. Bir çalışmada böbrekde rejeksiyon tanısında sitolojinin spesifitesi %96, histolojininki ise %87; sensitivitelerinin ise esitolojide %59, histolojide % 75 olduğu saptanmıştır[16]. Karaciğerde ise bu oran sitoloji için spesifitede %86.9, sensitivitede de %76.7'dir.

İİAB'nin tanıdaki değeri operasyona sonrası aylar geçtikçe azalır. Özellikle kronik rejeksiyon ve vasküler rejeksiyonda histolojik tetkik mutlak gereklidir.

SONUÇ

Transplantasyon aspirasyon biyopsisi greftteki süregelen olayları takip etmek için geliştirilmiştir. En büyük avantajı, gerekirse her gün uygulanabilmesi, kanama riski taşımamasıdır. Ayrıca yapılan immunsupresyon tedavisinin etkisini değerlendirmede ve dozunu ayarlamada yardımcıdır. Aspirasyon biyopsisi ile iğne biyopsisi birbirlerine alternatif metodlar değildir ve farklı bilgiler sağlamaları nedeniyle, birlikte kullanılmaları çok daha yararlıdır.

KAYNAKLAR

1. Von Willebrand E. Fine needle aspiration cytology of human renal transplants Clin Immunol Immunpathol 1980; 17:309-322.
2. Hayry P, Von Willebrand E. Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of human renal allografts. Ann Clin Res 1981; 13:288-306.
3. Lautenschlager I, Höckerstedt K, Hayry P. Fine needle aspiration biopsy in the monitoring of liver allografts. Transplant Int 1991; 4:54-61.
4. Von Willebrand E. Cytological analaysis of fine needl easpirates and interpretation of results. Renal Transplant Cytology 2nd. International Workshop, Paris 1983;23-29.
5. Von Willebrand E, Hayry P. Cyclosporin A deposits in renal allografts. Lancet 1983; II:189-192.
6. Von Willebrand E. Long-term experience with fine needle aspiration biopsy and histology in human liver transplants. Transplantation 1991; 51:1010-1013.
7. Kubota K, Ericson BJ, Reinholt FP. Comparison of fine-needle aspiration biopsy and histology in human liver transplants. Transplantation 1991; 51:1010-1013.
8. Lautenschlager I, Von Willebrand E, Hayry P. Blood eosinophilia, streoids and rejection. Transplantation 1985;40:354-357.
9. Von Willebrand E, Zola H, Hayry P. Trombocyte aggregates in renal allografts. Analysis by the fine needle aspiration biopsy and monoclonal antithrombocyte antibodies. Transplantation 1985; 39X258-262.
10. Hayry P, Von Willebrand E, Ahonen J, Eklund B, Lautenschlager I. Monitoring of organ allograft rejection by transplant aspiration cytology. Ann Clin Res 1981; 13264-287.
11. Helderman JH, Hernandez J, Sagalowsky A. Confirmation of the utility of fine needle aspiration biopsy of the renal allograft. Kidney Int 1988; 34:376-381.
12. Salmela K, Von Willebrand E, Kyllönen L. Acute vascular rejection in renal transplantation diagnosis and outcome. Transplantation 1992; 54: 858-862.
13. Reeve RS, Cooksey G, Wenhem PW, Bourne LD. Comparison of fine needle aspiration cytology and tru-cut tissue biopsy in the diagnosis of acute renal allograft rejection. Nephron 1986; 42068-71.
14. Höckerstedt K, Lautenschlager I, Ahonen J, Isonemi H, Palmu A, Orko R. Differantiation between acute rejection and infection in liver transplant patients. Transplant Poc 1989; 2317-2318.
15. Von Willebrand E, Lautenschlager I, Ahonen J. Cellular activation in the graft and in the blood during CMV disease. Transplant Proc 1989; 21:2080-2081.
16. Gray DWR, Richardson A, Hughes D, Fuggle S, Dunnill M, Higgins R. A prospective, randomized, bilnd, comparison of three biopsy techniques in the management of patients after renal trasplantation. Transplantion 1992; 53:1226-1232.