

ЗНАЧАЈ АСПИРАЦИОНЕ БИОПСИЈЕ ПЕРИФЕРНИХ ЛИМФНИХ ЖЛЕЗДА ТАНКОМ ИГЛОМ У ПРВОМ ПРИСТУПУ БОЛЕСНИКУ СА ЛИМФАДЕНОПАТИЈОМ НЕПОЗНАТЕ ЕТИОЛОГИЈЕ

Биљана МИХАЉЕВИЋ, Ружица НЕДЕЉКОВ-ЈАНЧИЋ, Весна ЧЕМЕРИКИЋ-МАРТИНОВИЋ

Институт за хематологију, Клинички центар Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Аспирациона биопсија танком иглом је сигурна, једноставна, јефтина и ефикасна техника која брзо обезбеђује информацију о почетној дијагнози и тако усмерава даљи приступ болеснику. Њени налази су нарочито корисни у процењивању увећања масе лимфоидног порекла при дијагностиковању и разликовању метастатских, инфективних, реактивних и лимфоматозних стања, одређивању степена проширености тумора, откривању рецидива болести, у праћењу тока болести, добијању материјала за специјалне студије, као што су микробиолошке културе, имунолошке или генетске студије и електронска микроскопија, али и у охрабрењу анксиозног болесника када је у питању бенигна природа процеса. У трогодишњем периоду на Институту за хематологију Клиничког центра Србије у Београду урађене су 193 аспирационе биопсије иглом код 172 болесника код којих су дијагностиковане увећане периферне лимфне жлезде. Аспирациона биопсија је технички успела у 175 покушаја (91%). Пунктати су анализирани на основу параметара цитоморфологије, чији су налази потом упоређивани са хистопатолошким налазима. У нејасним случајевима је рађено и допунско, имуноцитохемијско, бојење стрептавидин-биотин пероксидазом. У нашим испитивањима имуноцитохемијска анализа је урађена код 63 болесника од 81 (78%), а дијагностичка тачност је била 93,6%, што је у складу с резултатима других аутора. То је значајно кориговало претходну цитоморфолошко-хистолошку подударност од 83%. Имуноцитохемијско испитивање је допринело да цитолошка анализа пунктата добије на дијагностичкој вредности, пре свега у повећању њене дијагностичке прецизности, која је, према наводима већине аутора, око 90%.

Кључне речи: аспирациона биопсија танком иглом; цитолошка дијагноза; имуноцитохемија; лимфаденопатија

УВОД

Почетком прошлог века, 1904. године, Григ (*Grieg*) и Греј (*Gray*) су први описали технику аспирационе биопсије танком иглом (*Fine Needle Aspiration Biopsy – FNAB*), која је примењена код болесника који су били инфицирани са *Tyranosotom gambiense* (узрочник тзв. спавајуће болести) [1]. После периода објављивања спорадичних радова у европској и америчкој литератури, поновно интересовање за технику аспирационе биопсије се обнавља седамдесетих година у смислу дијагностиковања периферне лимфаденопатије и лечења особа оболелих од ове болести. Отада је било низ расправа и контроверзи о улози биопсије иглом у дијагностиковању лимфома, а посебно су се за овај метод залагали лекари из скандинавских земаља (назване “*pro-FNAB*” земље) [2]. Иако је данас јасно да је дијагностиковање увећаних лимфних жлезда крајње софистицирано и да се не задовољава рутинским морфолошким анализама, већ често подразумева примену метода имунохистохемије, цитогенетике и анализе ДНК, још је актуелна потреба за једноставним и брзим методом у првом приступу болеснику за којег се сумња да је оболео од неопластично измењене жлезде. Последњих двадесетак година је објављен велики број радова који потврђује да се на цитолошким препаратима могу спровести и имуноцитохемијска маркирања, а адекватни узорци добијени овом једноставном техником користити у цитогенетским и анализама молекуларне генетике [3-7].

Индикације за примену аспирационе биопсије увећаних лимфних жлезда танком иглом укључују:

одређивање да ли је увећана маса лимфоидног порекла, дијагностиковање и разликовање метастатских, инфективних, реактивних и лимфоматозних стања, одређивање степена проширености тумора, потврду рецидива болести, добијање материјала за посебна испитивања, као што су микробиолошке културе, имунолошке или генетске студије и електронска микроскопија, охрабрење анксиозног болесника када је у питању бенигна природа процеса, документовање малигнитета пре планова за хируршко лечење и праћење тока болести [8-13]. Не постоје контраиндикације за извођење пункционе биопсије лимфне жлезде. Једина ретка компликација је мали хематом. Постоје, међутим, значајна ограничења у дијагностиковању лимфаденопатија овим методом и оно не може бити замена ексцизионе биопсије. Ова ограничења подразумевају неадекватно добијен узорак, преклапање цитолошких налаза извесних бенигних и малигних процеса, као и немогућност распознавања дифузног или нодулног типа инфилтрације [14, 15].

Укупна дијагностичка тачност пункционе биопсије лимфне жлезде зависи од низа фактора. Код неадекватног узорка разлози могу бити лоше примењена техника или лоше направљен размаз. У оба случаја неопходни су искуство и труд. Али понекад разлози могу бити и неприступачност увећане масе, фиброза, некроза или само делимична захваћеност лимфне жлезде. Ипак, сматра се да је у 90-95% случајева могуће добити адекватан узорак [16]. Дијагностичка тачност на основу аспирационе цитологије је 80-90%, али се она повећава са применом имунолошких испитивања [17]. Имуноцитохемијско испитивање се може применити на свежим ћелијским су-

спензијама, као и на размазима. Применом имунофенотипије разликују се бенигни лимфоидни инфилтрат од малигног лимфоидног инфилтрата, те лимфоидни тумори од нелимфоидних тумора, а обезбеђује се и основа за супкласификацију лимфома.

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се испита значај аспирационе биопсије као помоћног метода у дијагностиковању лимфопролиферационих болести.

МЕТОД РАДА

У ово испитивање су била укључена 172 болесника која су се у трогодишњем периоду јављала у амбуланту Института за хематологију Клиничког центра Србије у Београду најчешће због безболног увећања једне периферне лимфне жлезде или више њих, што је често било праћено неком системском тегобом.

Прибор за аспирацију који је коришћен укључивао је: пластични шприц од 20 ml, иглу промера 0,80×50 mm (21 G), алкохол, јод, стерилну газу, 12 плочица, љуспице за прављење размаза, 95-процентни алкохол за фиксацију и фолију. Маса која се аспирира се узима чврсто између палца и кажипрста и после дезинфекције се начини увод у масу, а потом се неколико пута (4-6) мења правац игле у маси и сваки пут помало аспирира, да би се на крају под вакуумом извукла игла и материјал брзо истиснуо на плочице ради прављења размаза. Две плочице су бојене по *May-Grunwald-Giemsa (MGG)*. Остале плочице су после стајања на ваздуху 24 часа паковане у алуминијумску фолију и замрзнуте на -20°C за имуноцитохемијска бојења. Имуноцитохемијски метод је рађен применом стрептавидин-биотиног пероксидазе, која се заснива на секвенцијалној примени биотинилизованог везујућег антитела и стрептавидина обележеног пероксидазом. Коришћен је панел моноклонских антитела: *CD45 (LCA)*, *CD20*, капа и ламбда лаки ланци, *CD45RO*, *CD3*, *CD5*, *CALLA (CD10)*, *CD23*, *CD43*, *CD30*, *HLA-DR*, *bcl-2*, карциноембрионални антиген (*CEA*), хромогранин *A (CHR)*, нуклеаза, цитокератин, виментин, протеин *S-100* и антиген *Ki-67*.

ТАБЕЛА 1. Дијагнозе аспирационе биопсије лимфних жлезда танком иглом.
TABLE 1. Diagnosis of lymph node by fine needle aspiration biopsy.

Дијагноза Diagnosis	Број болесника Number of patients	Број узорака Number of samples	De novo случајеви (H) De novo cases (N)	Релапс болести (P) Relapse of disease (R)	H/P N/R
Лимфаденитис Lymphadenitis	16 (9.3%)	16	16	-	-
Метастатске лимфаденопатије Metastatic lymphadenopathy	14 (8.1%)	14	14	-	-
Хочкинов лимфом Morbus Hodgkin	43 (25.0%)	50	40	13	10
Нехочкински лимфоми Non-Hodgkin lymphomas	81 (47.1%)	95	64	31	14
Неуспели аспирирати Unsuccessful aspirates	18 (10.5%)	18	18	-	-
Укупно Total	172	193	142	44	24

РЕЗУЛТАТИ

Током трогодишњег периода урађене су 193 аспирационе биопсије танком иглом (*FNAB*) код 172 болесника код којих су дијагностиковане увећане периферне лимфне жлезде. Аспирациона биопсија је технички успела у 175 покушаја (91%). У табели 1 су приказане добијене цитоморфолошке дијагнозе.

Лимфаденитиси

Код 16 од 172 болесника (9,3%) цитоморфолошки је доказан лимфаденитис на основу веома полиморфне ћелијске популације: уочене су ћелије центра фоликула, велике и мале, са усеченим једром или без њега, велике лимфоидне ћелије, често са знацима митозе, и елементи позадине, попут пребојених макрофагних телашаца. Такође су уочене плазмоцитоидне ћелије, од зрелих плазмочита до имунобласта. Осим ових елемената запажен су и еозинофили, неутрофили, хистиоцити и ендотелне ћелије. Код седам болесника је утврђена слика реактивне фоликулне хиперплазије, а код пет болесника је евакуисан гнојни садржај, који је потом дат на бактериолошко испитивање. Код два болесника код која се сумњало на саркоидозу у аспирирањима лимфних жлезда уочен је густо збијени гранулом са малим лимфоцитима. Некроза удружена са растреситим грануломом састављеним од агрегираних епителоидних ћелија уз хистиоците и лимфоците у позадини уочена је у аспирирањима болесника са туберкулозним лимфаденитисом (три болесника код која су забележене и клиничко-радиографске одлике туберкулозе). Код једне болеснице је клинички доказан системски еритематозни лупус, а потврђен је и у аспирирању лимфне жлезде налазом типичних лупус-ћелија. Бенигна природа лимфаденитиса утврђена је имуноцитохемијским доказом непостојања моноклоналности (није постојала рестрикција κ и λ лаког ланца).

Метастатске лимфаденопатије

Код 14 болесника (8%) дијагностикована је метастаза у периферној лимфној жлезди. Код по три бо-

лесника дијагностиковани су сквамозелуларни карцином, микроцелуларни карцином и аденокарцином, а код по једног болесника малигни меланом, семином, ембрионални карцином, ангиосарком и лејомиосарком. У аспирицима се најпре уочавало специфично груписање малигну хелија у агрегате, а саме хелије су биле најчешће бизарног изгледа у поређењу са хелијама лимфоидног порекла. На пример, микроцелуларни карцином се цитолошки одликује релативно великим хелијама (поготово у поређењу са малим лимфоцитом); хелије теже груписању, оскудне су цитоплазме и округлог или овалног, ређе фузиформног, једра, са ситнозрнастим густим хроматином и неупадљивим једарцетом, које може и да изостане, уз честу некрозу. Аспират малигну меланом је био хиперцелуларан, са појединачним, али чешће груписаним хелијама, које су биле округле и с релативно обилном цитоплазмом. Често смо наилазили и на двоједарне и мултиједарне форме; у неким хелијама су једарца била упадљива, а запажени су и унутарједарни цитоплазматски усеци. На постављање дијагнозе меланом највише нас је усмерио налаз типичних меланинских гранула у цитоплазми и позадини. Имуноцитохемијска анализа је била од велике помоћи, најпре у доказивању нехематопоетског порекла уочених хелија (метастатске хелије су биле негативне на бојење са *LCA* моноклонским антителима), а потом је уз помоћ панела специфичних моноклонских антитела (цитокератин, виментин, дезмин, фактор *VIII*, *NSE*, хромогранин) одређивано порекло метастатских хелија.

Хочкинов лимфом

Код 43 болесника дијагноза Хочкинове болести у аспирицима лимфних жлезда постављена је на основу следећих цитоморфолошких одлика: полиморфан састав хелија са мултиједарним Ред-Штернберговим (*Reed-Sternberg*) и моноједарним Хочкиновим (*Hodgkin*) хелијама, честа еозинофилија, а у позадини плазмцити, неутрофили и плеоморфне, ретикулоендотелне хелије. Ред-Штернбергова хелија је била од три до пет пута већа од малог лимфоцита, имала је сиву или светлоплаву цитоплазму, са мултилобулираним хиперхроматским једром и са једним једарцетом или два једарцета боје јоргована. За Хочкинову хелију су типични моноједарност, мрежаст хроматин и упадљива тамнољубичаста једарца. Од користи су били анамнеза о редоследу настанка жлезда с обзиром на релативно предвидљив пут ширења процеса код Хочкиновог лимфома, подаци о субјективним тегобама, укључујући и дифузни свраб по кожи, који није редак, а у односу на болеснике са нехочкинским лимфомом честа је троцифрена вредност седиментације.

Нехочкински лимфоми

Аспирати лимфних жлезда са дијагнозом нехочкинског лимфома су се одликовали најчешће уједначеним хелијским саставом и, на основу добијених

резултата, могле су се издвојити хелије које се најчешће јављају у оваквом аспирицима: лимфоцити, пролимфоцити, параимунобласти, центроцити, центробласти, имунобласти, лимфобласти, плазмцитоидне хелије, плазмцити, ретикулинске хелије, бласти и, ретко, елементи крви. У позадини размаза могла су се понекад уочити и лимфогландуларна телашца. У првом приступу анализи аспирицима жлезде код болесника са сумњом на нехочкински лимфом издвојено је шест доминантних хелијских типова сходно морфолошким особинама нехочкинског лимфома датим у Радној класификацији за клиничку употребу (Табела 2). Мале хелије су од један до један и по пут биле веће од еритроцита ($7 \mu m$), док су велике хелије биле два и више пута веће од еритроцита. На великом увећању, уколико доминира хелијска популација малих лимфоцита, види се једна велика хелија, ретко две, док их је код доминације великих хелија на великом увећању више од пет.

Имуноцитохемијско бојење је рађено на 79 аспирицима периферних лимфних жлезда, и то код девет болесника са лимфаденитисом, осам болесника са метастатском лимфаденопатијом и 63 болесника са дијагнозом нехочкинског лимфома. Ради потврде лимфоидног порекла жлезде, примењен је *CD45* (*leucocyte common antigen – LCA*), који је био позитиван код свих болесника са лимфаденитисом и болесника са нехочкинским лимфомом, док је негативан налаз утврђен код метастатских лимфаденопатија. Следећи корак се, после потврде лимфоидног порекла аспирицима, односио на примену *κ* и *λ* и лаких ланца ради утврђивања бенигне или малигне природе процеса: потврда рестрикције лаког ланца у смислу односа ова два параметра 6:1 говорила је у прилогу лимфому. Код сумње на метастатску лимфаденопатију рађен је панел специфичних моноклонских антитела ради утврђивања порекла тумора: код три болесника су хелије биле позитивне на кератин (у прилогу епителном пореклу тумора) и код њих је каснијом хистопатолошким анализом утврђен сквамозелуларни карцином. Код једног болесника је дока-

ТАБЕЛА 2. Доминантан хелијски тип у аспирицима периферних лимфних жлезда код болесника са нехочкинским лимфомом.

TABLE 2. Predominant cell type in peripheral lymph node aspirates in patients with Non-Hodgkin's lymphoma.

Тип хелије Cell type	Број болесника Number of patients
Мали лимфоцит Small lymphocyte	16 (19.8%)
Лимфоплазмцит Lymphoplasmocyte	2 (2.5%)
Мала усечена хелија Small cleaved cell	21 (25.9%)
Мешовита хелијска популација Mixed cell population	18 (22.2%)
Велика хелија Large cell	21 (25.9%)
Буркитова хелија Burkitt cell	2 (2.5%)
Лимфобласт Lymphoblast	1 (1.2%)
Укупно Total	81 (100%)

зана позитивност на дезмин, а хистопатолошком анализом је постављена дијагноза рабдомиосаркома. Код болесника код којег је хистопатолошки налаз говорио у прилог ангиосаркому доказана је позитивност на виментин (мезенхимне ћелије), а позитивност на неурон-специфичну енолазу (*NSE*) и хромогранин (*CHR*) забележена је код болесника са микроцелуларним карциномом плућа. Код болесника са малигним меланомом није уочена позитивност на протеин *S-100*.

Код 63 болесника од 81 (77,7%) са цитоморфолошком дијагнозом неходжкинског лимфома рађено је допунско имуноцитохемијско бојење пунктата лимфних жлезди ради потврде дијагнозе и повећања степена подударности са патохистолошком *REAL* класификацијом (Табела 3). Знајући да се данас за сваки подтип лимфома може начинити имунолошки профил комбиновањем неколико моноклонских антитела, после доказа позитивности на *CD45* и доказа рестрикције лаког ланца, примењена су моноклонска антитела *CD20* и *CD45RO* за разликовање *T* и *B* лимфома. Код 58 болесника је утврђен *B* ћелијски фенотип (92,1%), а код само пет болесника *T* ћелијски фенотип (7,9%). Комбинацијом *CD5*, *CD10*, *CD23* и *CD43* моноклонских антитела могли су се издвојити лимфоми у склопу умерено агресивних и лимфома који се споро лече.

Имуноцитохемијско бојење је рађено ради повећања степена цитоморфолошко-патохистолошке подударности, која је претходно била 83%, а после при-

мене имуноцитохемијског бојења је коригована на 93,6%.

ДИСКУСИЈА

Ради брзог дијагностиковања увећане периферне лимфне жлезде, у многим светским центрима се примењује метод аспирационе биопсије танком иглом [13, 18], којим се брзо долази до почетне дијагнозе лимфаденопатије. Уз то, лекару клиничару помажу и подаци из анамнезе које добија од болесника, као и иницијални клинички преглед. Води се рачуна о постојању неке хроничне или малигне болести, или неких других обољења која би могла да буду узрок увећања лимфне жлезде. Такође су од значаја подаци о системским тегобама, узимању лекова или гајењу животиња, контакту са штетним материјама, као и сваки знак инфекције на месту чији лимфатици дренирају увећану жлезду. Важно је знати колико је дуго жлезда увећана и да ли постоји спленомегалија. У време извођења аспирације посебно се обраћа пажња на следеће кључне клиничке податке: старост болесника, тачно место аспирације, димензије увећане жлезде, раширеност лимфаденопатије, конзистенцију лимфне жлезде за време аспирације и количину добијеног материјала у пунктату. Покушај налажења повезаности између величине жлезде и евентуалног примарног обољења је било теже успоставити с обзиром на то да болесник понекад није ни свестан да

ТАБЕЛА 3. Могуће дијагнозе на основу доминантног типа ћелија у аспирату лимфне жлезде.

TABLE 3. Possible diagnosis on the basis of predominant cell type in lymph node aspirate.

Дијагноза Diagnosis	Бенигне промене Benign changes	Малигне промене Malignant changes
Доминација малих лимфоцита Predominant small lymphocytes	Реактивна жлезда Reactive lymph node	Лимфоцитни лимфом малих лимфоцита (одговара ХЛЛ) Small lymphocytic lymphoma (consistent with CLL) Лимфоплазмоцитни лимфом Lymphoplasmocytoid lymphoma <i>B</i> лимфом маргиналне зоне (<i>MALT</i>) Marginal zone B-cell lymphoma (<i>MALT</i>)
Мешовита популација (мали и велики лимфоцити) Mixed cell population (small and large lymphocytes)	Умерено реактивна жлезда Moderately reactive lymph node	Фоликулни лимфом II степена Follicular lymphoma grade II Дифузни <i>B</i> крупноћелијски лимфом Diffuse large B-cell lymphoma <i>B</i> лимфом маргиналне зоне (<i>MALT</i>) Marginal zone B-cell lymphoma (<i>MALT</i>) Ангиоимунобластна лимфаденопатија (<i>AILD</i>) Angioimmunoblastic lymphadenopathy (<i>AILD</i>) Хочкинова болест, тип нодулне склерозе или мешовите целуларности Hodgkin's disease, type nodular sclerosis or mixed cellularity
Доминација великих ћелија Predominant large cells	Изразито реактивна жлезда Severely reactive lymph node	Фоликулни лимфом III степена Follicular lymphoma grade III Лимфобластни лимфом Lymphoblastic lymphoma Дифузни <i>B</i> крупноћелијски лимфом (центробластни, имунобластни) Diffuse large B-cell lymphoma (centroblastic, immunoblastic) Хочкинова болест, типа нодулне склерозе или лимфоцитне деплеције Hodgkin's disease, type nodular sclerosis or lymphocyte depletion Ангиоимунобластна лимфаденопатија (<i>AILD</i>) Angioimmunoblastic lymphadenopathy (<i>AILD</i>) Анапластични лимфом великих ћелија Anaplastic large cell lymphoma Карцином, сарком, меланом Carcinoma, sarcoma, melanoma

је његова лимфна жлезда увећана или не обраћа пажњу на увећану жлезду. Показано је да болесници са периферним жлездама увећаним до 1 cm углавном имају токсоплазмозу, инфективну мононуклеозу или неко системско обољење. Током првог прегледа код 65% наших испитаника са нехочкинским лимфомом жлезда је била већа од 5 cm.

После детаљне анамнезе и клиничког прегледа болесника са лимфаденопатијом контролисане су потпуна крвна слика са леукоцитном формулом и седиментација еритроцита, а урађен је и преглед периферног крвног размаза. Код неких болесника је на основу прегледа периферног крвног размаза могло да се у хетерогеној и плеоморфној популацији мононуклеарних ћелија запазе нетипични или ненормални моноцити и лимфоцити, те тако посумња на инфективну мононуклеозу. Анализом леукоцитне формуле код неких болесника је запажено скретање улево у мијелоидној лози са настанком токсичних вакуола и грубих гранула (посебно у полиморфонуклеарима), што је сугерисало даље испитивање инфекције. Код појединих болесника је дијагностикована лимфоцитопенија, што је подстицало даље испитивање лимфома. Када је било индиковано, рађена је и анализа културе крви за инфективна и испитивања серума, а рађени су и имунолошки тестови за аутоимунске болести. Параметри запаљењског синдрома су готово увек позитивни код лимфома,

а седиментација еритроцита често и троцифрених вредности.

Понекад је било могуће да се већ током саме интервенције примете неке особине које су упућивале на неопластично порекло жлезде. Тако, на пример, ако је жлезда тврда током аспирације или уколико се аспирациона биопсија адекватно изведе, а добије мало материјала, велика је вероватноћа да је жлезда патолошки измењена или можда малигна. Сумња на лимфом могла је да се постави и код великих лимфних жлезда из којих је добијан оскудан садржај, с евентуалном позадином у виду агрегата великих лимфоцита и макрофага са пребојеним телашцима. Слична искуства наводе и други аутори [19].

После пажљиве анамнезе и детаљног клиничког прегледа, почетне дијагнозе су засноване на анализи величине доминантне ћелијске популације у аспирату лимфне жлезде, уз пратећи налаз елемената позадине. На основу наших испитивања, у пунктатима лимфних жлезда су могли да се издвоје следећи модели ћелијске инфилтрације засновани на броју и односу великих и малих ћелија сходно цитолошким критеријумима Радне класификације: 1) мали лимфоцит; 2) мала ћелија усеченог једра; 3) мешовита ћелијска популација (мале ћелије усеченог једра и велике ћелије); 4) велика ћелија, укључујући и имунобласт; 5) лимфобласт; 6) мала ћелија неусеченог једра (*Burkitt*).

ТАБЕЛА 4. Дијагнозе бенигну и малигну процеса на основу налаза елемената позадине у аспирату лимфне жлезде.
TABLE 4. Diagnosis of benign and malignant processes on the basis of background elements in lymph node aspirates.

Дијагнозе Diagnosis	Бенигни процеси Benign processes	Малигни процеси Malignant processes
Лимфогландуларна тела Lymphoglandular bodies	Хиперпластична лимфна жлезда Hyperplastic lymph node	Лимфоми Lymphoma
Агрегати Aggregates	Грануломи Granuloma	Карциноми, саркоми Carcinoma, sarcoma
	Сегменти центра фоликула Segments of follicular center Бенигне епителне инклузије Benign epithelial inclusions	Ретки лимфоми Rare lymphoma
Грануломи Granuloma	TBC и гљивичне инфекције TBC and fungal infections	Хочкинова болест Hodgkin's disease
	Некротизирајући гранулом (болест маџег гребанџа) Necrotizing granuloma (cat scratch disease)	Лимфоми Lymphoma
	Токсоплазмоза Toxoplasmosis	Семином Seminoma
	Саркоидоза Sarcoidosis	Сквamoцелуларни карцином Squamous cell carcinoma
Некроза Necrosis	Некротизирајући гранулом Necrotizing granuloma	Карциноми, саркоми Carcinoma, sarcoma
	Гнојна бактеријска инфекција Purulent bacterial infection	Хочкинова болест Hodgkin's disease Агресивни лимфоми Aggressive lymphomas
Гранулоцити Granulocytes	Гнојна бактеријска инфекција Purulent bacterial infection	Сквamoцелуларни карцином Squamous cell carcinoma
	Неке гљивичне инфекције Some micotic infections	Хочкинова болест Hodgkin's disease
Макрофаги с обојеним телашцима Macrophages with strained corpuscles	Реактивна хиперплазија Reactive hyperplasia	Агресивни лимфоми Aggressive lymphomas
Еозинофили Eosinophiles	Неспецифична хиперплазија Nonspecific hyperplasia	Хочкинова болест Hodgkin's disease
	Лимфаденопатија изазвана лековима Drug induced lymphadenopathy	Периферни Т ћелијски лимфоми Peripheral T-cell lymphoma

У процени величине мале и велике ћелије коришћени су предложени критеријуми аутора који су користили *FNAB* у дијагностиковању малигних и лимфопрлиферационих болести: мале ћелије су биле од један до један и по пут, а велике ћелије два и више пута веће од еритроцита [20]. Доминација малих ћелија је подразумевала највише једну велику ћелију или повремено две велике ћелије посматрано на великом увећачу, док је доминација великих ћелија подразумевала пет или више великих ћелија, које су уочене у већини поља посматрано на великом увећачу; мешовиту популацију су чинили мали лимфоцити и велике ћелије. На основу наших резултата аспирационих биопсија танком иглом, а у односу на доминантан тип ћелије у аспирату жлезде, уочени су најчешћи бенигни и малигни процеси (Табела 4).

Када су на основу морфологије доминантне ћелијске популације донекле сужене дијагностичке претпоставке, одређивани су елементи позадине у истим размазима. Елементе позадине су чинили: лимфогландуларна тела, ћелијске групе (агрегати), грануломи, некротичан материјал, неутрофили, плазмоцитидне ћелије, еозинофили, макрофаги са пребојеним телашцима и бизарне ћелије. Сви ови елементи су се, изузев бизарних ћелија, могли наћи и у бенигним и у малигним стањима, што је приказано у табели 4, коју предлажемо као следећи корак у систематичном тумачењу дијагностичких претпоставки. Лимфогландуларна тела су сферични плавичасти цитоплазматски фрагменти са ситним вакуолама који се најбоље визуелизују у *May-Grunwald-Giemsa (MGG)* бојеним размазима. Ова телашца сугеришу присуство лимфоцита, али не указују на природу процеса, а корисни су у диференцијалној дијагнози лимфома од карцинома, саркома или меланома [12]. Наши резултати су показали да је њихово присуство било значајно у диференцијалној дијагнози крупноћелијских лимфома са бизарним ћелијама према метастатским карциномима, где их нисмо уочили. Агрегати представљају групе ћелија које се „држе” заједно после прављења размаза. Ова појава се често јавља у карциномима и саркомима, а само повремено код лимфома, и то лимфома малих усечених ћелија, који се некад може помешати са микроцелуларним карциномом [12]. Наши резултати аспирата су потврдили њихово наглашено присуство код метастатских карцинома. Грануломи се формирају од епителоидних хистиоцита: они су овални или фузиформни, са умереном количином сиве цитоплазме у *MGG* бојеним размазима, са типичним једром у облику цигарете [14]. Налаз гранулома који су чинили „лабаво” повезани хистиоцити помогао је у дијагностиковању туберкулозног лимфаденитиса код два наша болесника, док је код једног болесника са саркоидозом гранулом био састављен од „чврсто” повезаних епителоидних ћелија. Некроза, као доминантан налаз у пунктатима жлезда, може да укаже на патолошки процес, а код лимфома је знак високог степена малигнитета [16]. У пунктату три болесника код којих се сумњало на рецидив лимфома запажена је некроза ћелија, а потврђени су агресивни лимфоми, Буркитов (*Burkitt*) и центробластни лимфом. У оваквим случајевима предлажемо да се пункција понови под

другим углом или да се пунктира друга жлезда. Уколико се поново утврди некроза ћелија, потребно је урадити хируршку биопсију жлезде, а пунктат дати на бактериолошко испитивање. Макрофаги с обојеним телашцима су хистиоцити који су „усисали” распаднуте делове ћелија, посебно нуклеарни „дебрис” (остаци распаднутог једра). Они представљају индиректан знак брзо пролиферишуће лимфоцитне популације и јављају се код агресивних лимфома, као и у фоликулној хиперплазији. Макрофаги с обојеним телашцима су запажени код наших болесника са Буркитовим лимфомом, а одликовали су се брзим напредовањем болести. Плазмоцитидне ћелије се најбоље распознају у размазима бојеним *MGG*, а њихова посебна особитост јесте релативно обилна и плава цитоплазма. Ћелије могу бити мали зрели плазмоцити или велики имунобласти. Субпопулација плазмоцитидних ћелија у опсегу од плазмодита до незрелијих форми говори у прилог способности лимфоцита да се диференцирају, што је типично за бенигне процесе. Описане су плазмоцитидне ћелије и код болесника са периферним *T* ћелијским лимфомом. Сличан налаз је забележен и код два болесника са ангиоимунобластним *T* ћелијским лимфомом. Бизарне ћелије се не уочавају у бенигним процесима, што значи да сугеришу на малигни процес. Одликују се величином, посебно када се упореде са ћелијама које их окружују, а и једро показује низ неправилности. Јављају се у карциномима, саркомима и анапластичном лимфому. У нашим узорцима аспирата налаз бизарних ћелија и њихов распоред у виду ћелијских агрегата био је од значајне помоћи у тумачењу и цитоморфолошком дијагностиковању малигног меланома, ембрионалног карцинома и ангиосаркома.

Ограничења *FNAB* укључују немогућност да се одреде „архитектура” инфилтрације (дифузна или нодална), преклапање цитолошких особина неких бенигних и малигних процеса и потенцијална могућност прављења грешке у узимању узорка [15]. Студије тачности (подударности са хистопатолошком дијагнозом) аспирационе биопсије танком иглом у лимфомима је 85-94%. На основу ових резултата из литературе аспирациона биопсија танком иглом је постала значајан део патолошке дијагностике, чија лакоћа извођења, брзина којом се потенцијална дијагноза добија, минимална инвазивност технике, као и ниска цена целе процедуре значајно доприносе све чешћој примени ове технике. Упркос недовољном искуству и можда недостатку воље да се *FNAB* прихвати поред рутинске хируршке биопсије, издвајају се две ситуације у којима је *FNAB* чак супериорнија у односу на хистолошко испитивање, посебно када је удружена с имунолошким анализама. Прво, код болесника код којих доступност жлезде носи одређени хируршки ризик (дубоко локализоване жлезде код болесника који имају и друге медицинске проблеме) и, друго, различитост хистолошке инфилтрације на различито захваћеним местима (што није реткост), што се може превазићи аспирационом биопсијом и тако сугерисати адекватна места за хируршку биопсију [21-25].

Имуноцитохемијско испитивање је допринело да *FNAB* добије на дијагностичкој вредности, пре свега у повећању њене дијагностичке прецизности, ко-

ја је, према наводима већине аутора, већа од 90%. У нашим испитивањима смо имуноцитохемијску анализу урадили код 78% болесника, а дијагностичка тачност је била 93,6%, што је у складу с резултатима других аутора. То је значајно кориговало претходну цитоморфолошко-хистолошку подударност, која је била 83%.

ЗАКЉУЧАК

На основу наших резултата рада потврђујемо значај аспирационе биопсије као помоћног метода у дијагностиковању лимфопрлиферационих болести. Аспирациона биопсија је лако изводљив, брз и јефтин метод који се примењује код болесника код којих се сумња на лимфом, а посебно је драгоцен у потврди рецидива болести. Допунски методи, као што је имунофенотипизација, повећавају дијагностичку прецизност. Могућност клиничко-лабораторијског сагледавања болесника уз резултате аспирационе биопсије пружа драгоцене податке у почетној процени болесника с увећаном лимфном жлездом.

ЛИТЕРАТУРА

- Guthrie CG. Gland puncture as a diagnostic measure. *Johns Hopkins Med J* 1921; 32:266-9.
- Fox CH. Innovation in medical diagnosis: The Scandinavian curiosity. *Lancet* 1979; 1:1387-8.
- Tani E, Johanson B, Skoog L. T-cell-rich B-cell lymphoma: Fine-needle aspiration cytology and immunocytochemistry. *Diagn Cytopathol* 1998; 18:1-4.
- Kardos TF, Kornstein MJ, Frable WJ. Cytology and immunocytology of infectious mononucleosis in fine needle aspirates of lymph nodes. *Acta Cytol* 1988; 32:722-6.
- Pitts WC, Weiss LM. The role of fine needle aspiration biopsy in diagnosis and management of hematopoietic neoplasms. In: Knowles DM, editor. *Neoplastic hematopathology*. Baltimore, MD: Williams/Wilkins 1992; p.385-94.
- Gong Y, Caraway N, Gu J, et al. Evaluation of interphase fluorescence in situ hybridization for the t(14;18)(q32;q21) translocation in the diagnosis of follicular lymphoma on fine-needle aspirates: a comparison with flow cytometry immunophenotyping. *Cancer* 2003; 99(6):385-93.
- Wolska-Szmids E, Jakubowska A, Krzystolik K, Chosia M. Fine needle aspiration biopsy and molecular analysis in differential diagnosis of lymphoproliferative diseases of the orbit and eye adnexa. *Pol J Pathol* 2004; 55(2):51-7.
- Tarantino DR, McHenry CR, Strickland T, Khiyami A. The role of fine-needle aspiration biopsy and flow cytometry in the evaluation of persistent neck adenopathy. *Am J Surg* 1998; 176:413-7.
- Pilloti S, Di Palma S, Alasio L, Bartoli C, Rilke F. Diagnostic assessment of enlarged superficial lymph nodes by fine needle aspiration. *Acta Cytol* 1993; 37:853-66.
- Lal A, Nayar R. Role of fine needle aspiration in lymphoma. *Cancer Treat Res* 2004; 121:181-220.
- Vaillo A, Gutierrez-Martin A, Ballestin C, Ruiz-Liso JM. Marginal zone B-cell lymphoma of the parotid gland associated with epithelioid granulomas. Report of a case with fine needle aspiration. *Acta Cytol* 2004; 48(3):420-4.
- Lee RE, Valaitis C, Kalis O, et al. Lymph node examination by fine needle aspiration in patients with known or suspected malignancy. *Acta Cytol* 1987; 31:563-72.
- Stewart CJ, Duncan JA, Farquharson M, Richmond J. Fine needle aspiration cytology diagnosis of malignant lymphoma and reactive lymphoid hyperplasia. *J Clin Pathol* 1998; 51:197-203.
- Steel B, Schwartz M, Ramzy I. Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of lymphadenopathy in 1103 patients. Role, limitations and analysis of diagnostic pitfalls. *Acta Cytol* 1995; 39:76-81.
- Nedeljkov-Jančić R. Punkcija limfne žlezde u dijagnostici Hodgkinovog limfoma – prednosti i ograničenja. *Bilten za hematologiju* 2000; 28(1; 2/3):39-41.
- Daskalopoulou D, Harhalaksi N, Maouni N, et al. Fine-needle aspiration cytology of non-Hodgkin's lymphomas. *Acta Cytol* 1995; 39:180-6.
- Stetler-Stevenson M, Medeiros LJ, Jaffe ES. Immunophenotypic methods and findings in the diagnosis of lymphoproliferative diseases. In: Jaffe ES, editor. *Surgical pathology of lymph nodes and related organs*. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p.22-57.
- Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1998; 51:189-96.
- Hehn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *J Clin Oncol* 2004; 22(15):3046-52.
- Singh N, Wright DH. The value of immunohistochemistry on paraffin wax embedded tissue sections in the differentiation of small lymphocytic and mantle cell lymphomas. *J Clin Pathol* 1997; 50:16-21.
- Volmar KE, Routbort MJ, Jones CK, Xie HB. Primary pancreatic lymphoma evaluated by fine-needle aspiration: findings in 14 cases. *Am J Clin Pathol* 2004; 121(6):898-903.
- Veerapand P, Chotimanvijit R, Laohasrisakul N, Muennooch W. Percutaneous ultrasound-guided fine needle aspiration of abdominal lymphadenopathy in AIDS patients. *J Med Assoc Thai* 2004; 87(4):400-4.
- Rao M. Primary intraocular lymphoma diagnosed by fine needle aspiration biopsy of a subretinal lesion. *Retina* 2002; 22:512-3.
- Wong PW, Stefanec T, Brown K, et al. Role of fine needle aspirates of focal lung lesions in patients with hematologic malignancies. *Chest* 2002; 121:527-32.
- Stewart CJR, Jackson R, Farquharson M, et al. Fine needle aspiration cytology of extranodal lymphoma. *Diagn Cytopathol* 1998; 19:260-6.

SIGNIFICANCE OF FINE-NEEDLE ASPIRATION BIOPSY OF PERIPHERAL LYMPH NODES UPON THE INITIAL PRESENTATION OF PATIENTS WITH LYMPHADENOPATHY OF UNKNOWN ETIOLOGY

Biljana MIHALJEVIĆ, Ružica NEDELJKOV-JANČIĆ, Vesna ČEMERIKIĆ-MARTINOVIĆ

Institute of Hematology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade

ABSTRACT

Fine-needle aspiration biopsy is safe, simple, cost-effective and efficient technique providing rapid information and, therefore, directing further approach to a patient. Its findings are especially beneficial for verification of lymphoid origin of the enlarged growth, diagnostics and differentiation of metastatic, infectious, reactive and lymphomatous conditions; determination of the extent of tumor; detection of recurrence; monitoring of the course of disease; obtaining of material for special studies such as microbiological cultures, immunological or genetic studies as well as electron microscopy; in addition, for encouragement of patient in case of benign nature of the disease. At the Institute of Hematology, in three-year period, a total of 193 fine-needle aspiration biopsies were performed in 172 patients with the enlarged peripheral lymph nodes. Technically, aspiration biopsy was successful in 175/193 attempted interventions (91%). Punctates were analyzed by cytomorphology and subsequently compared with histopathological findings. In indistinguishable cases, additional immunocytochem-

ical streptavidin-biotin peroxidase staining was carried out. In our studies, immunocytochemical analysis was performed in 63 out of 81 patients (78%), and diagnostic accuracy was 93.6% what was compatible with the results of other authors. It significantly corrected the earlier cytomorphological-histological congruence that used to be 83%. Immunocytochemistry has contributed to diagnostic value of cytological analysis of punctate, before all, in view of its higher diagnostic accuracy, which, according to majority of authors, is about 90%.

Key words: fine-needle aspiration biopsy; cytological analysis; immunocytochemistry; lymphadenopathy

Biljana MIHALJEVIĆ
Institut za hematologiju
Klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2, 11000 Beograd
Tel.: 011 361 7777 / lokal 3720
E-mail: bimih@eunet.yu