

EL PROBLEMA DEL CITODIAGNÓSTICO DE LOS TUMORES UROTELIALES DE BAJO GRADO

AUTORES

Fernando Guerra, Adriana Esther Rocher, Carlos Martínez Figueroa, Luis Palaoro

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

Laboratorio de Citología-Departamento de Bioquímica Clínica-Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires-Hospital de Clínicas José de San Martín-INFIBIOC.

Dirección: Av. Córdoba 2351 (C1120AAR) Ciudad Autónoma de Buenos Aires-Argentina
Teléfono: 5411-5950-8000

Mail: informes@hospitaldeclinicas.uba.ar

TÍTULO ABREVIADO

Abbreviated Title

Citología de Tumores Uroteliales de bajo grado
Low Grade Urothelial Tumor Cytology

PALABRAS CLAVE

Keywords

Tumores uroteliales de bajo grado (LGUN); Tumores uroteliales de alto grado (HGUC); Sistema de París para reportar Citología urinaria; Citología urinaria

Low-grade urothelial tumors (LGUN); High-grade urothelial tumors (HGUC); Paris System for Reporting Urinary Cytology; Urinary cytology

RESUMEN

Summary

Introducción: La sensibilidad en el citodiagnóstico de tumores uroteliales de bajo grado (LGUN, según sus siglas en inglés) en muestras de orina es baja. En muchos casos, las patologías reactivas, virales o inflamatorias son sobre-diagnosticadas, o incluidas en la categoría de "atípicas", e inversamente, grupos celulares con células de aspecto normal o con mínimas alteraciones se consideran como no tumorales, cuando en realidad provienen de un LGUN.

Material y Métodos: 77 pacientes con tumores de tracto urinario inferior fueron seleccionados para este estudio, de los cuales 45 presentaban tumores papilares de bajo grado (LGUN) y 32 eran portadores de tumores uroteliales de alto grado (HGUC, según sus siglas en inglés), adenocarcinomas y carcinomas pavimentosos.

Resultados: Los 45 LGUN fueron correctamente diagnosticados por citología en 26 casos (58%). Nosotros utilizamos los siguientes criterios: Grupos papilares (tridimensionales) de células de aspecto benigno, con relación núcleo/citoplasma (N/C) > 0,5 y núcleos ligeramente elongados.

A diferencia del Sistema de París (TPS), no observamos los "cores fibrovasculares" ni el efecto de plumaje en los grupos papilares. TPS privilegia el diagnóstico de los HGUC y minimiza el diagnóstico de los LGUN debido a la baja sensibilidad en la evaluación de esta patología. Sin embargo, nuestro objetivo fue re-valorizar el citodiagnóstico de los LGUN, a pesar de sus mayores dificultades y no sólo privilegiar los HGUC donde el consenso para aplicar los criterios diagnósticos está ampliamente generalizado.

Conclusiones: La aplicación de estrictos criterios permitió el citodiagnóstico de los LGUN en un importante número de casos, a pesar de que el valor del diagnóstico de los tumores uroteliales de bajo grado fue minimizado en el último Consenso realizado en París.

Introduction: The sensitivity in the cytodiagnosis of low-grade urothelial tumors (LGUN) in urine samples is low. In many cases, the reactive, viral or inflammatory pathologies are over-diagnosed, or included in the category of "atypical", and conversely, cell groups with cells with normal appearance or with minimal alterations are considered non-tumoral, when in fact they come from a LGUN.

Material and Methods: 77 patients with lower urinary tract tumors were selected for this study. 45 had low-grade papillary tumors (LGUN) and 32 had high-grade urothelial tumors (HGUC), adenocarcinomas and squamous cell carcinomas.

Results: The 45 LGUN were correctly diagnosed by cytology in 26 cases (58%). We use the following criteria: Papillary groups (three-dimensional) of benign-looking cells, with nucleus / cytoplasm ratio (N / C) > 0.5 and slightly elongated nuclei.

Unlike the Paris System (TPS), we did not observe the "fibrovascular cores" or the effect of plumage in the papillary groups. TPS favors the diagnosis of the HGUC and minimizes the diagnosis of the LGUN due to the low sensitivity in the evaluation of this pathology. However, our objective was to revalue the cytodiagnosis of the LGUN, despite its greatest difficulties and not only to privilege the HGUC, where the consensus to apply the diagnostic criteria is widely generalized.

Conclusions: The application of strict criteria allowed the cytodiagnosis of the LGUN in a significant number of cases, despite the fact that the diagnostic value of low-grade urothelial tumors was minimized in the last Consensus carried out in Paris.

INTRODUCCIÓN

El citodiagnóstico de las patologías del tracto urinario a partir de la orina no es sencillo por varios motivos: las células tienen escasa adhesividad a los portaobjetos, sufren alteraciones por su permanencia en la orina y durante años no hubo uniformidad en los criterios para establecer benignidad o malignidad. En especial, el diagnóstico de los tumores uroteliales de bajo grado (LGUN) tiene baja sensibilidad debido a la semejanza de las células tumorales con las normales.

Se comunicaron bajas sensibilidades en el diagnóstico de un LGUN. Algunos autores informaron valores que varían en un amplio margen, entre 10% y 70% (1), mientras que otros comunicaron una sensibilidad de 18,3% en la detección de las mismas lesiones (2).

Se ha intentado establecer criterios citológicos claves (homogeneidad citoplásmica, alta relación N/C) y criterios arquitectónicos (fragmentos papilares con núcleos fibrovasculares) para el diagnóstico de los LGUN. Sin embargo, la concordancia entre los observadores para el diagnóstico citológico de los LGUN es pobre, con muchos resultados falsos positivos por incorrecta interpretación de procesos reactivos (3,4). En muchos casos, las patologías reactivas, virales o inflamatorias son sobre-diagnosticadas, o incluidas en la categoría de "atípicas", e inversamente, grupos celulares con células de aspecto normal o con mínimas alteraciones son consideradas no tumorales, cuando en realidad provienen de los LGUN.

El objetivo del presente trabajo fue revalorizar el diagnóstico citológico de los LGUN, minimizado en la reunión de Consenso que propuso el Sistema de París para informar la citología urinaria, y establecer nuestras objeciones a algunos de los criterios para la evaluación de los LGUN.

MATERIALES Y MÉTODOS

El grupo estudiado se compone de 77 pacientes con tumores de tracto urinario inferior, que acudieron al Hospital de Clínicas José de San Martín de CABA, Argentina, 45 presentaban tumores papilares de bajo grado (LGUN) y 32 eran portadores de tumores uroteliales de alto grado (HGUC), adenocarcinomas y carcinomas pavimentosos. Las muestras de orina fueron recogidas de micciones espontáneas, concentradas por centrifugación y extendidas en portaobjetos para su observación por microscopía óptica en fresco y coloreadas con las tinciones de Papanicolaou y Giemsa. Todos los pacientes participantes en el presente estudio firmaron el consentimiento informado correspondiente.

RESULTADOS

De los 32 pacientes con patologías malignas, la citología correlacionó con el diagnóstico histológico de HGUC en 26 casos (81%), 4 casos fueron sospechosos (12%) y en 2 casos no se observaron células neoplásicas. Todos los adenocarcinomas y carcinomas

pavimentosos pudieron diagnosticarse correctamente. Los 45 LGUN fueron correctamente diagnosticados por citología en 26 casos (Sensibilidad 58%).

DISCUSIÓN

Los tumores de alto grado (HGUC) son diagnosticados con alta sensibilidad en las muestras de orina, pues los criterios para su evaluación son claros y permiten un acuerdo entre diferentes observadores.

Estos tumores se caracterizan por la alta relación núcleo/citoplasma (N/C), la irregularidad de la membrana nuclear, hiper cromatismo, pleomorfismo nuclear y el patrón grueso de la cromatina (5,6).

Recientemente, una reunión de consenso sobre los criterios para el diagnóstico de la citología urinaria realizada en París (TPS), estableció siete categorías diagnósticas (7,8):

- 1) Muestra insatisfactoria
- 2) Negativa para HGUC (NHGUC)
- 3) Células uroteliales atípicas (AUC)
- 4) Sospechoso para HGUC (SHGUC)
- 5) Positivo para neoplasia urotelial de bajo grado (LGUN)
- 6) Positivo para HGUC
- 7) Otros (Tumores no uroteliales y metástasis) (No se analizarán en el presente trabajo todas las categorías, sólo aquellas de mayor frecuencia, y en especial HGUC y LGUN).

La aplicación de TPS permitió aumentar la sensibilidad especialmente en el diagnóstico de HGUC, cuando se realizó la evaluación o re-evaluación de las muestras de orinas archivadas (9,10,11).

Los criterios de este sistema para el diagnóstico de HGUC, establece como mínimo de 5 a 10 células uroteliales muy anormales con una relación N/C de 0,7 o más. Las células deben ser hiper cromáticas, con cromatina gruesa y membrana nuclear marcadamente irregular (Figuras 1 y 2).

La diferencia entre los tumores de bajo y alto grado tiene su correlación molecular. Los tumores no invasivos, de muy buen pronóstico, presentan una mutación activadora del receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico (FGFR3) (12), mientras que los tumores músculo-invasivos muestran una amplia gama de alteraciones genómicas, donde se destaca la mutación o delección de p53 en aproximadamente 70% de los casos, y una sobrevida inferior al 60% (13). La categoría "Negativa para HGUC" es interesante, porque aquí entra un grupo de

células que podrían ser confundidas con aquellas provenientes de lesiones más avanzadas, pero que son benignas (14). Entre las más importantes figuran:

- a) Células reactivas: con cromatina irregular, a veces gruesa, pudiendo presentar grandes nucleolos o cromocentros, pero manteniendo una membrana nuclear tensa y una relación N/C no elevada (Figuras 3-5).
- b) Células con cambios inflamatorios por litiasis: con núcleos agrandados, membranas nucleares gruesas, cromatina irregular, pero con gran número de células en sombrilla, que constituyen un criterio de benignidad (Figuras 6 y 7).
- c) Células provenientes de instrumentación, radiación o quimioterapia, que muestran anomalías nucleares que a veces son sospechosas (Figuras 8 y 9).
- d) Células infectadas por virus de poliomavirus, hipercomáticas, con muy alta N/C, pero con una estructura de cromatina uniforme, amorfa, típica de infecciones virales (Figura 10).
- e) En las orinas normales, sin ningún cambio sospechoso, se observan células uroteliales en sombrilla (superficiales) y en menor grado, células intermedias. Las células profundas del urotelio aparecen cuando se realizan exploraciones instrumentales o en algunas patologías como la litiasis.

Los criterios para el diagnóstico de Neoplasia urotelial de bajo grado (LGUN), según The Paris System for Reporting Urinary Cytology son: Relación N/C > 0,5, células de núcleo elongado, monótomas (no sombrilla) agrupadas y con formación de "plumas" (células que parecen desprenderse del grupo) y presencia de cores fibrovasculares en el interior de los grupos celulares. No se ha logrado uniformidad en los criterios de LGUN. Se ha comunicado que aplicando estos criterios para el diagnóstico de LGUN, aproximadamente la mitad de los casos provenían de lesiones no tumorales (15,8). Según la Organización Mundial de la Salud, las neoplasias uroteliales papilares (PUN) han sido categorizados como papiloma urotelial (UP), papiloma invertido (IP), neoplasia urotelial papilar de bajo potencial maligno (PUNLMP), carcinoma urotelial papilar de bajo grado (LGPUC) y carcinoma urotelial papilar de alto grado (HGPUC) (16). El UP y el IP se presentan como una pequeña masa única. PUNLMP es un tumor papilar que se asemejan a UP exofítico, excepto por un aumento de la proliferación celular (mayor grosor). LGPUC está formado por ramificaciones papilares complejas y HGPUC

presenta atipias moderadas a marcadas. La diferenciación entre estas categorías es poco reproducible, por eso se ha propuesto un sistema de scores para aumentar la reproducibilidad de estas neoplasias uroteliales papilares, donde el índice mitótico y el grosor de las capas con atipia citológica podrían ser parámetros útiles y reproducibles para que el algoritmo de puntuación discrimine entre tumores uroteliales papilares (17).

Los UP, IP, PUNLMP y LGPUC son los que forman el grupo de los LGUN. En orina, estos tumores aparecen como formaciones papilares, y como no puede efectuarse la sub-clasificación por citología, porque incluso no existe acuerdo en la discriminación en las biopsias de estos tumores, todos son como LGUN.

Ante todo, pensamos que el citodiagnóstico de LGUN para tumores papilares es importante y que puede hacerse con buena sensibilidad si se ajustan algunos criterios. Nosotros utilizamos los siguientes criterios: Grupos papilares (tridimensionales) de células de aspecto benigno, con N/C > 0,5 y núcleos ligeramente elongados (Figuras 11-13). Los tumores papilares de bajo grado se desarrollan sobre prolongaciones del estroma sub-urotelial, a las que cubren como las hojas de un árbol a sus ramas. Estas prolongaciones estromáticas contienen vasos sanguíneos y linfáticos, de ahí el nombre de “cores fibrovasculares”. Cuando se desprenden de las paredes del urotelio, estos conjuntos celulares pueden observarse en la orina como grupos papilares, mientras la sangre de los capilares se derrama a la orina, produciendo la típica hematuria que acompaña a estos tumores (18). En los casos de LGUN que observamos, no hemos detectado el efecto de “plumaje”, aunque sí la disposición monótona de células con N/C > 0,5.

Tampoco hemos observado el “core fibrovascular” en los grupos tumorales desprendidos en la orina. Es más probable que el core no se encuentre visible en los grupos exfoliados, ya que las células se disponen en forma tridimensional, rodeando al estroma sobre el cual crecieron e impidiendo su observación en la orina. El core fibrovascular es observado rutinariamente en las biopsias de estas lesiones, debido a que el fino corte del micrótopo permite ver el interior de las papilas.

Nuestra principal objeción a los criterios de TPS para el diagnóstico de LGUN es la exigencia de la presencia del core fibrovascular. En base a nuestra experiencia, creemos que los grupos tridimensionales de células uroteliales de aspecto normal pueden orientar con gran sensibilidad al citodiagnóstico de LGUN de tumores papilares. La sensibilidad en nuestro trabajo fue de 58%. En muchos casos donde se produjeron errores en el diagnóstico de LGUN, éstos se debieron al considerar como neoplásicas las agrupaciones de células uroteliales bidimensionales, que provienen, en general, de patologías reactivas. Otras causas que condujeron a los errores diagnósticos de los LGUN fueron la escasa celularidad de algunas muestras y la necrosis que acompañaba a otras (Figura 14).

El TPS privilegia el diagnóstico de HGUC y minimiza el diagnóstico de LGUN debido a la baja sensibilidad en la evaluación de esta patología. Sin embargo, tenemos la oportunidad de re-valorizar el citodiagnóstico de LGUN, a pesar de sus mayores dificultades y no sólo privilegiar los HGUC, donde el consenso para aplicar los criterios diagnósticos está ampliamente generalizado.

FIGURAS

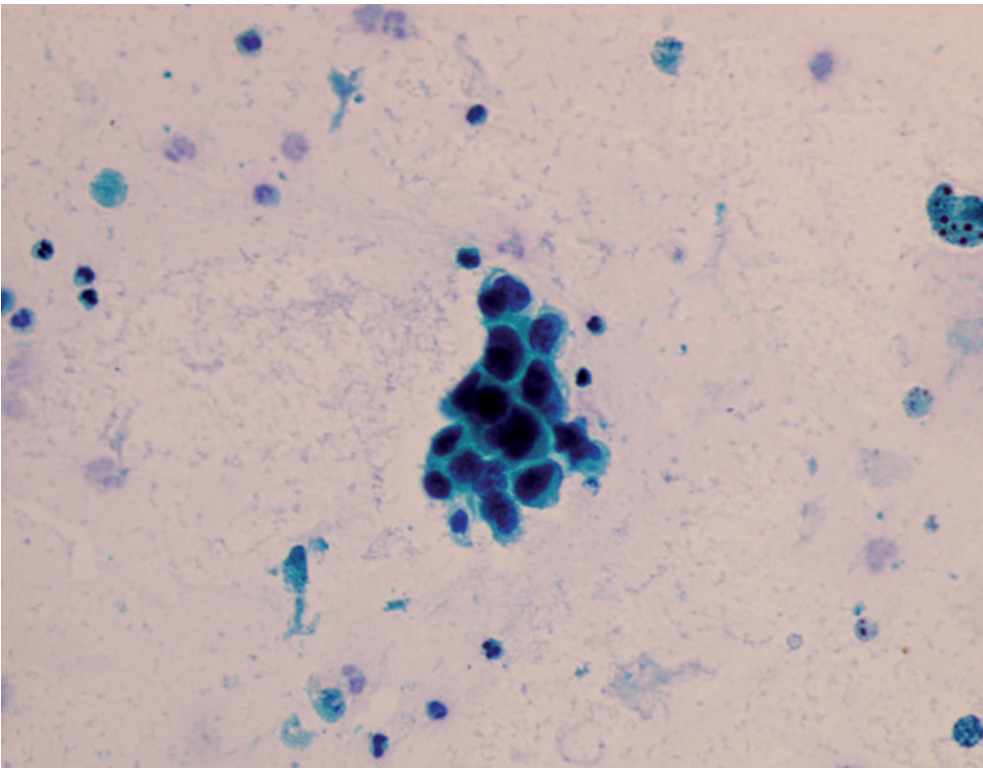


Figura 1
HGUC en una muestra de orina. Las células son hipercromáticas, con N/C > 0,7 (400x- Papanicolaou).

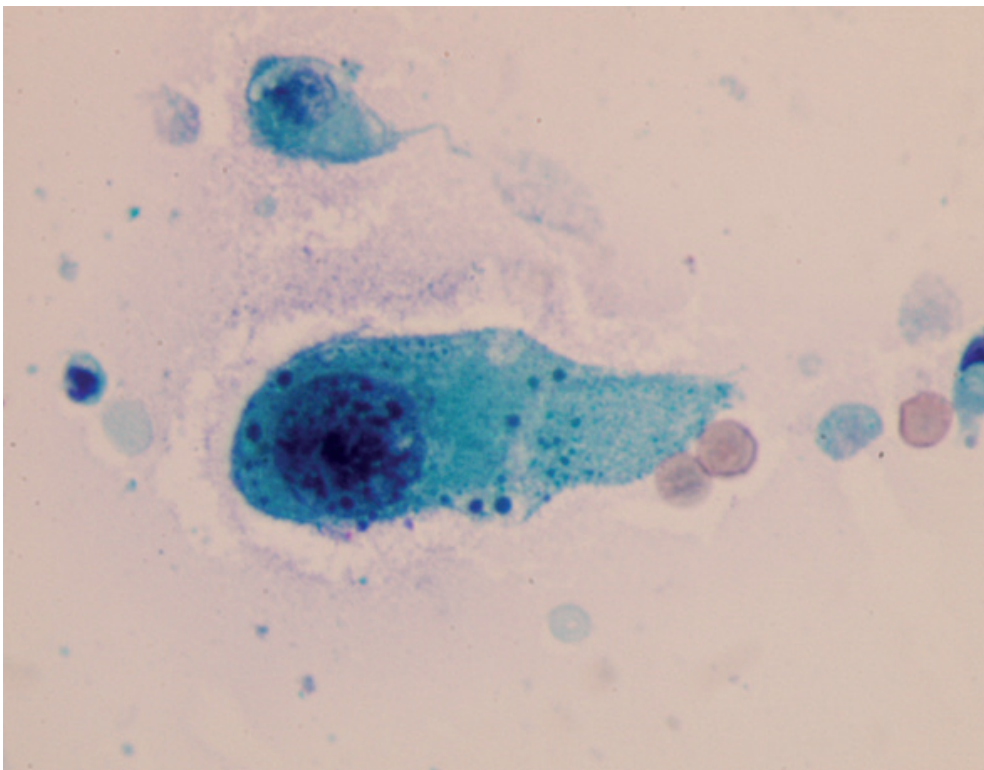


Figura 2
Células provenientes de HGUC en orina. Presenta grumos de cromatina irregulares (800x-Papanicolaou).

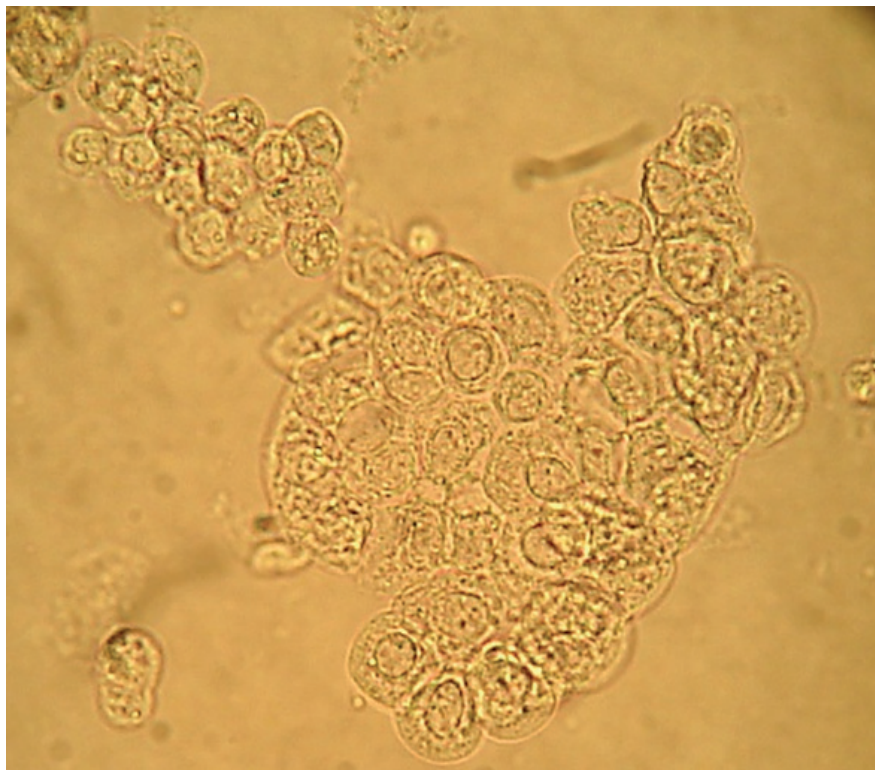


Figura 3
Células levemente reactivas en orina, con ligero aumento de N/C, pequeños nucleolos y membrana nuclear tensa y homogénea. El grupo es bidimensional. (400x-Fresco).

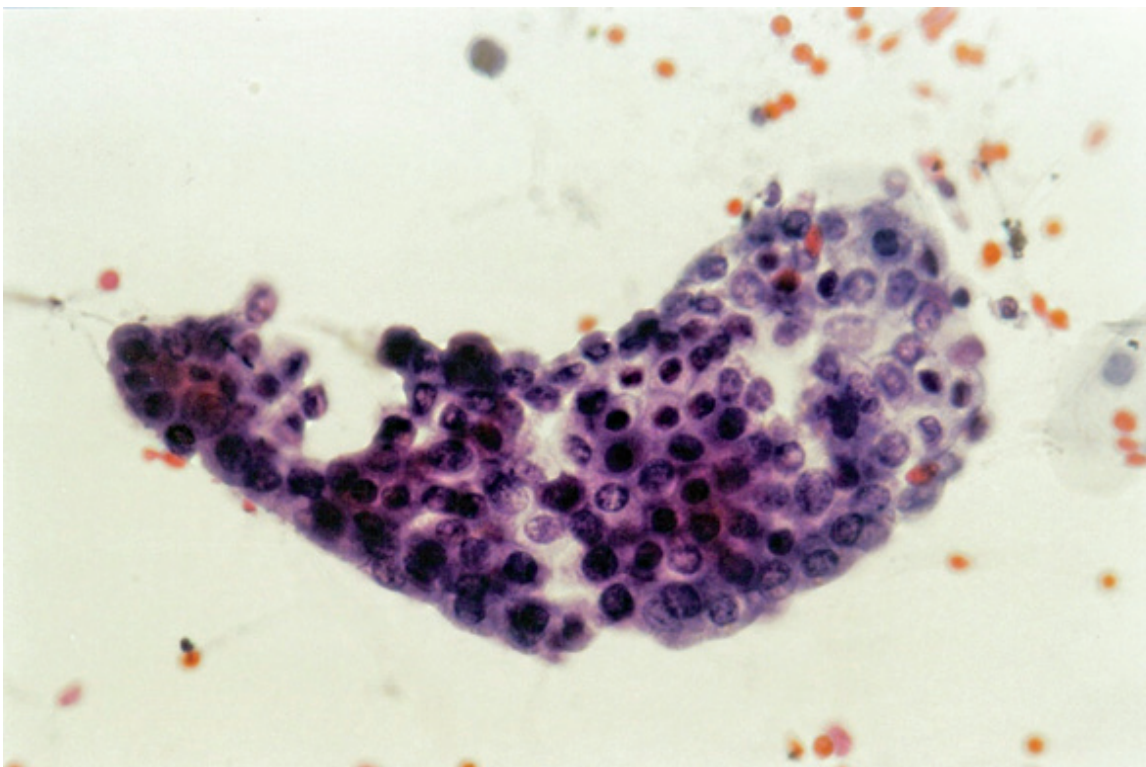


Figura 4
Células reactivas en orina, dispuestas en un plano. N/C está ligeramente aumentada. Los núcleos son hipercromáticos, con cromatina irregular, pero la membrana nuclear es tensa y uniforme. (400x-Papanicolaou).

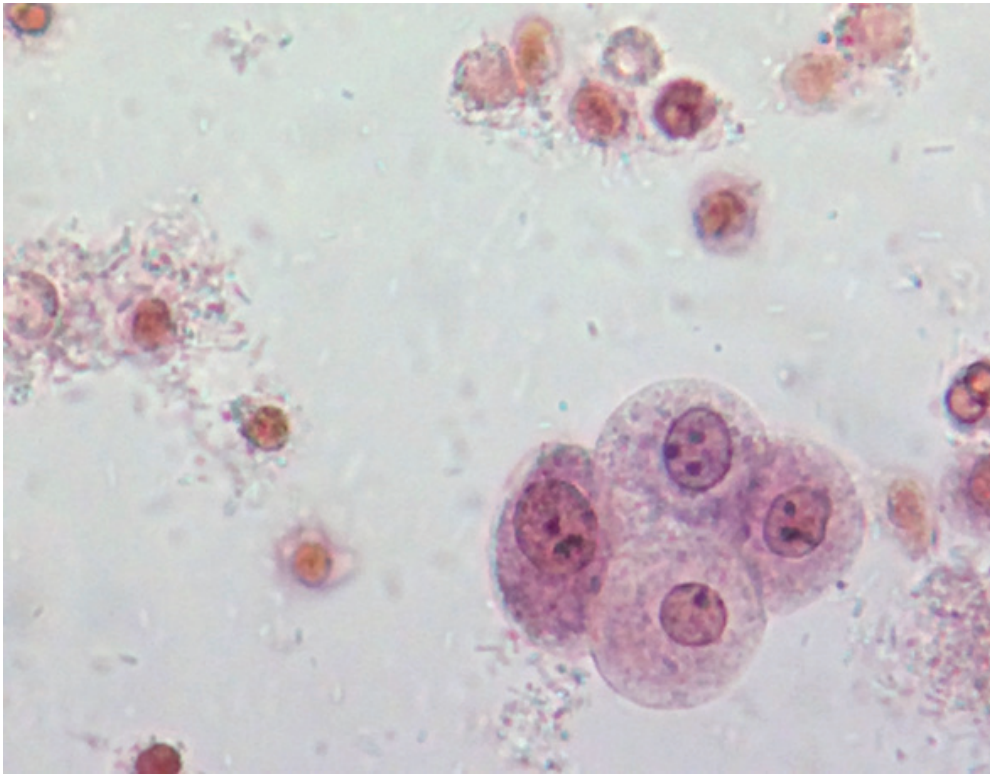


Figura 5
Células uroteliales reactivas, con grandes cromocentros y nucleolos pero manteniendo las membranas nucleares tensas (400x- Azul de Metileno/Safranina).

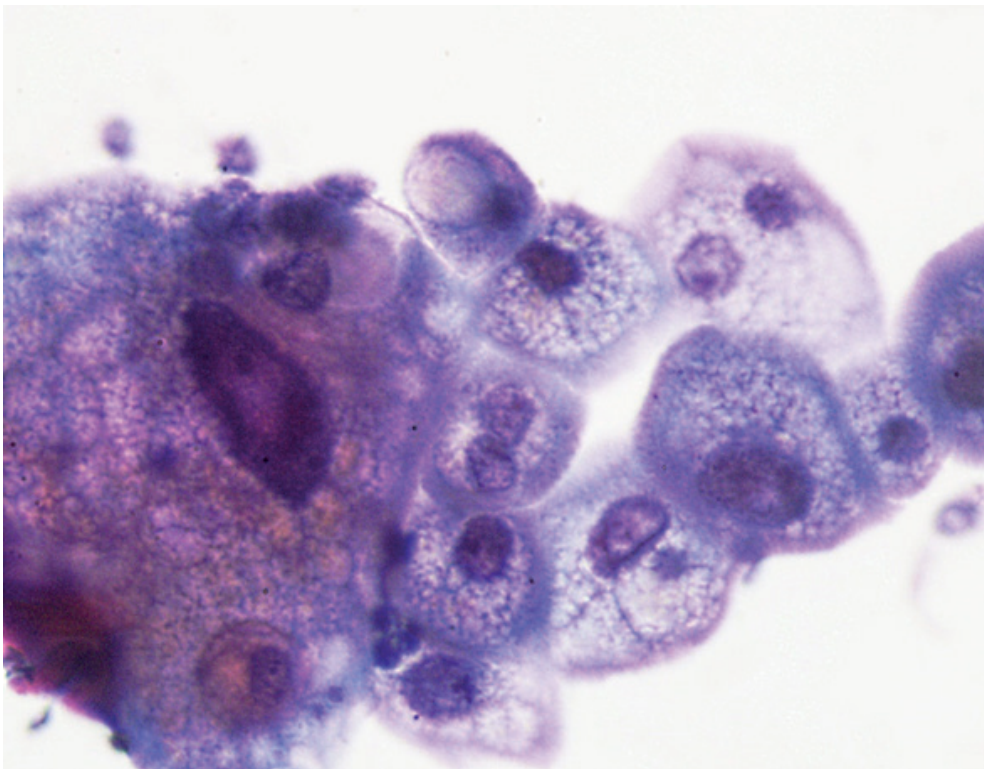


Figura 6
Células provenientes de litiasis en orina. Pese a las anomalías nucleares, con hiper cromatismo, cromatina irregular, megacariosis y citomegalia, su origen en la capa superficial del urotelio asegura su carácter benigno (800x-Papanicolaou).

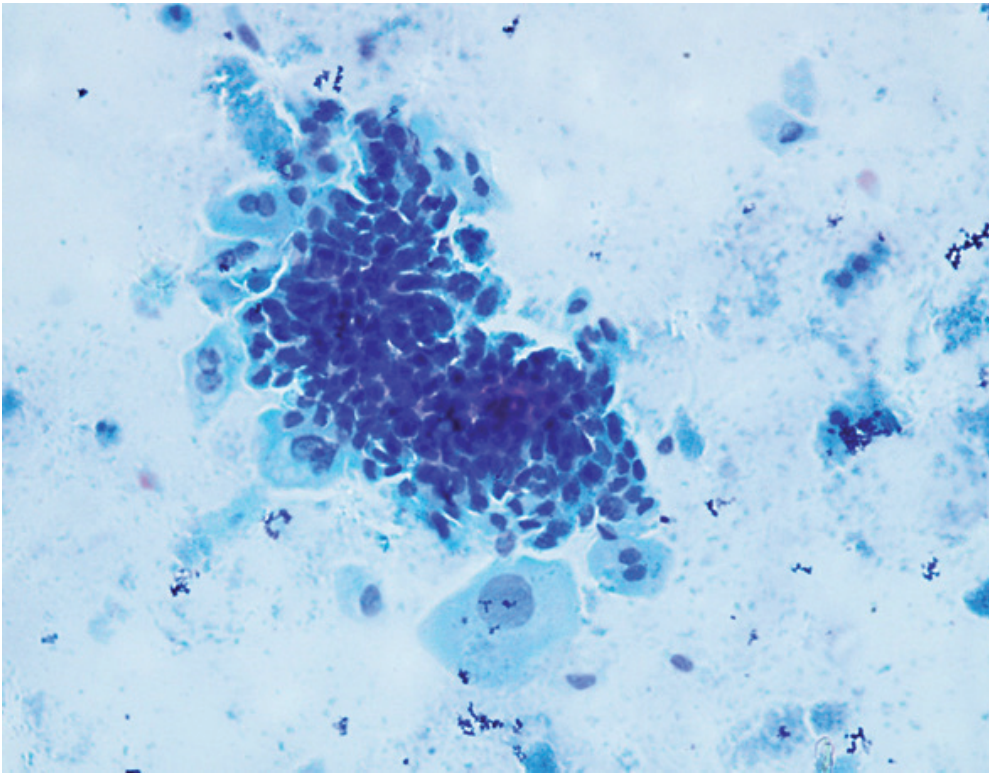


Figura 7

Células en un caso de litiasis en orina. Se observa un grupo de células hipercromáticas, de cromatina irregular, provenientes de las capas profundas del urotelio. El numeroso grupo de células en sombrilla aseguran la benignidad de la muestra (400x-Giemsa).

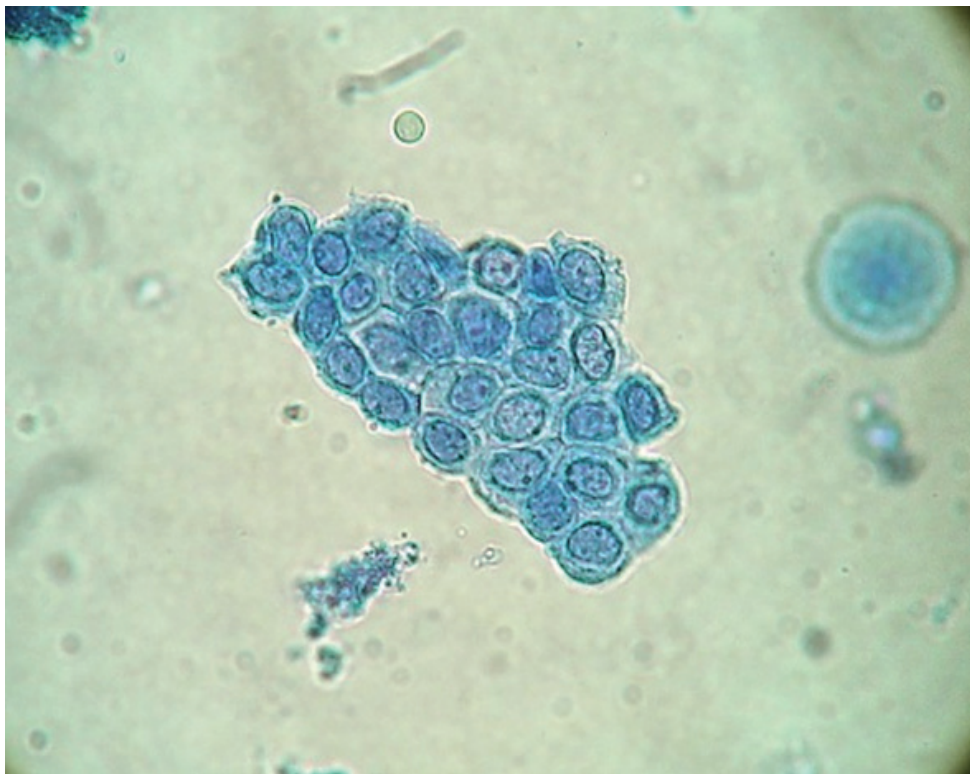


Figura 8

Grupo de células en orina provenientes de una exploración instrumental. Pese a la alta N/C, su cromatina regular, con pequeños nucleolos, la membrana nuclear tensa y fina y la disposición en un plano compacto, aseguran su benignidad (400x-Azul de metileno).

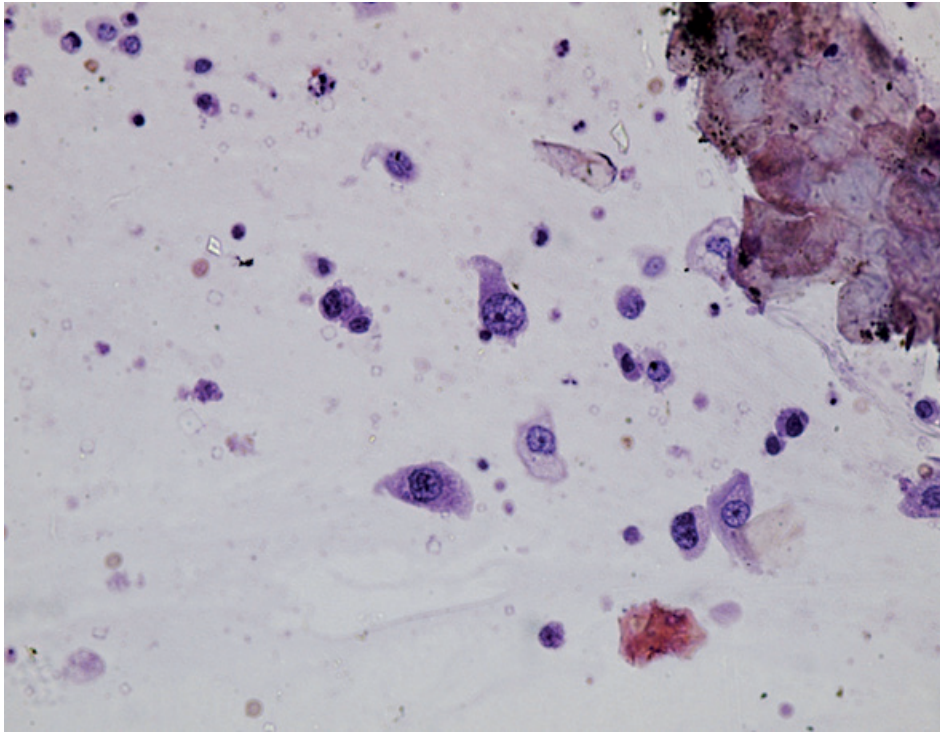


Figura 9
Efecto de la ciclofosfamida sobre el urotelio. Las células en orina muestran cromatina irregular, hiperchromatismo y membrana nuclear gruesa. Aunque benignas, en ocasiones estas células aparecen como sospechosas de malignidad (400x-Papanicolaou).

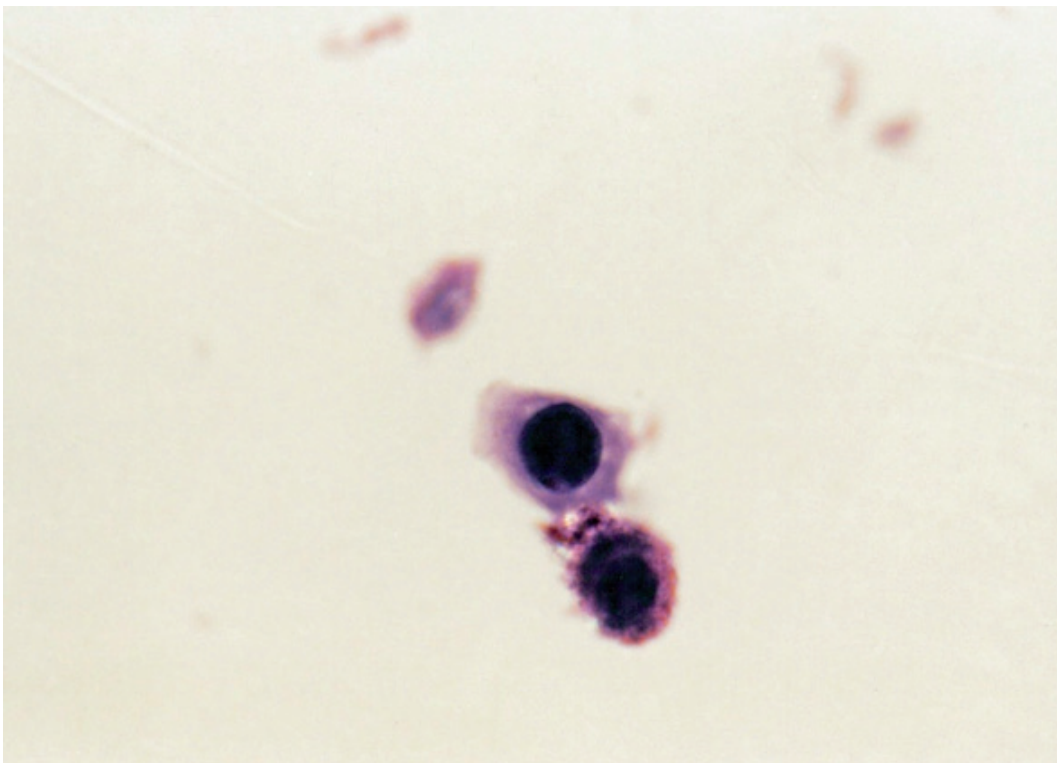


Figura 10
Efecto citopático de Polyomavirus sobre células provenientes de del urotelio en una muestra de orina. N/C es muy elevada, se observa hiperchromatismo, pero la cromatina es amorfa, característica del efecto viral. En ocasiones, la diferenciación con células neoplásicas es difícil (400x-Papanicolaou).

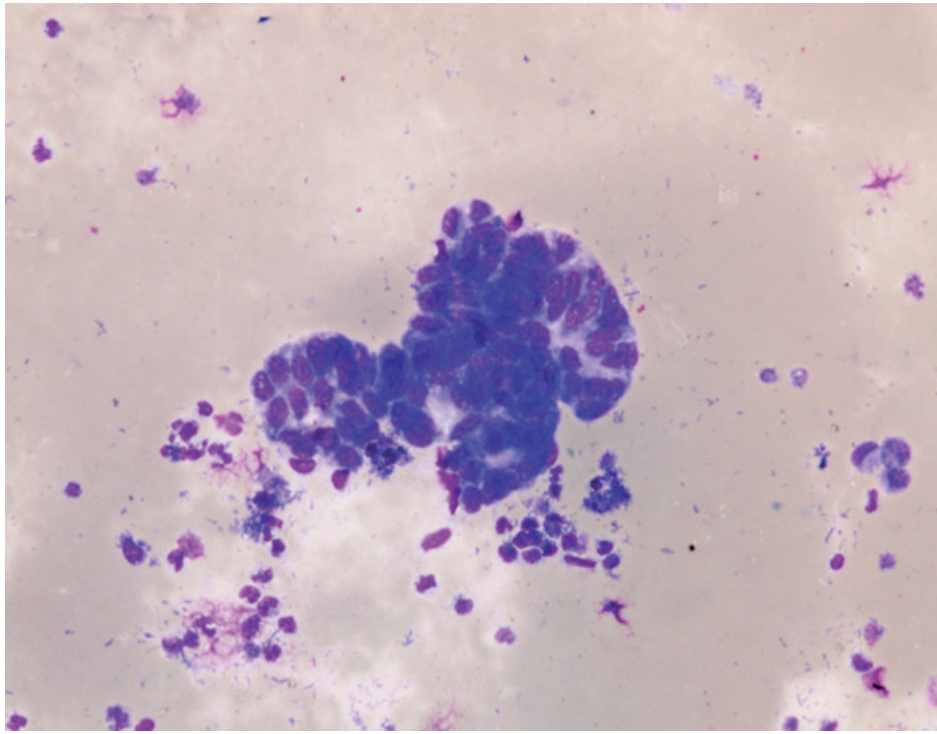


Figura 11
Células en orina procedentes de un LGUN. $N/C > 0,5$, los núcleos son ligeramente alargados y uniformes, y el grupo es tridimensional (400xGiemsa).

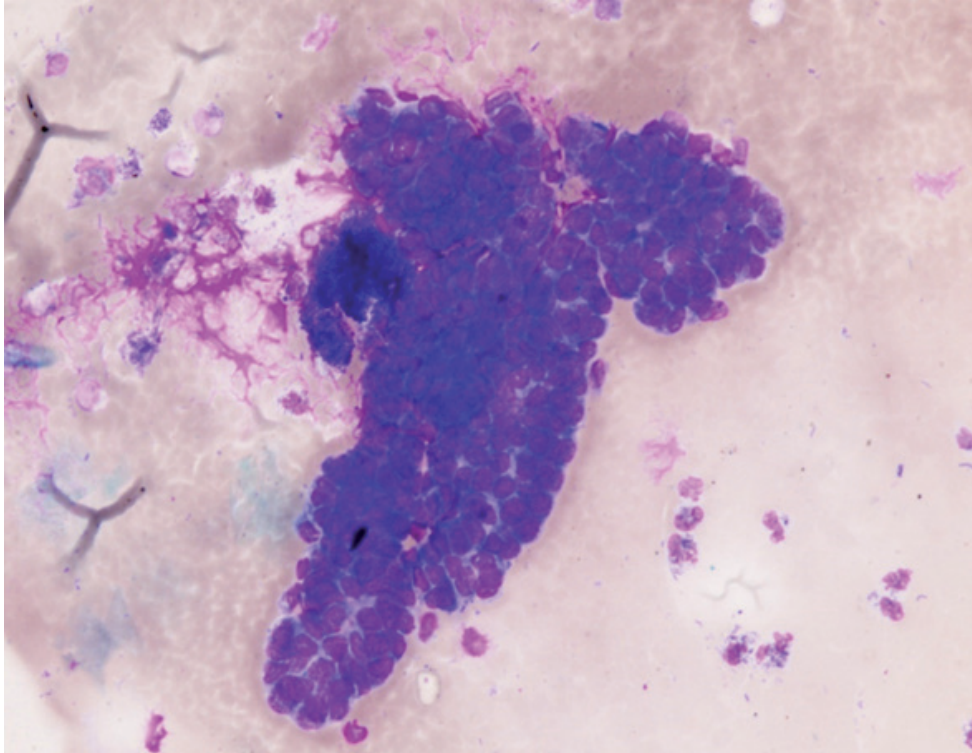


Figura 12
Células en orina procedentes de un LGUN. $N/C > 0,5$, los núcleos son ligeramente alargados y uniformes, y el grupo es tridimensional. Algunas células parecen desprenderse, pero no es suficiente para definirlo como efecto "plumaje" (400xGiemsa).

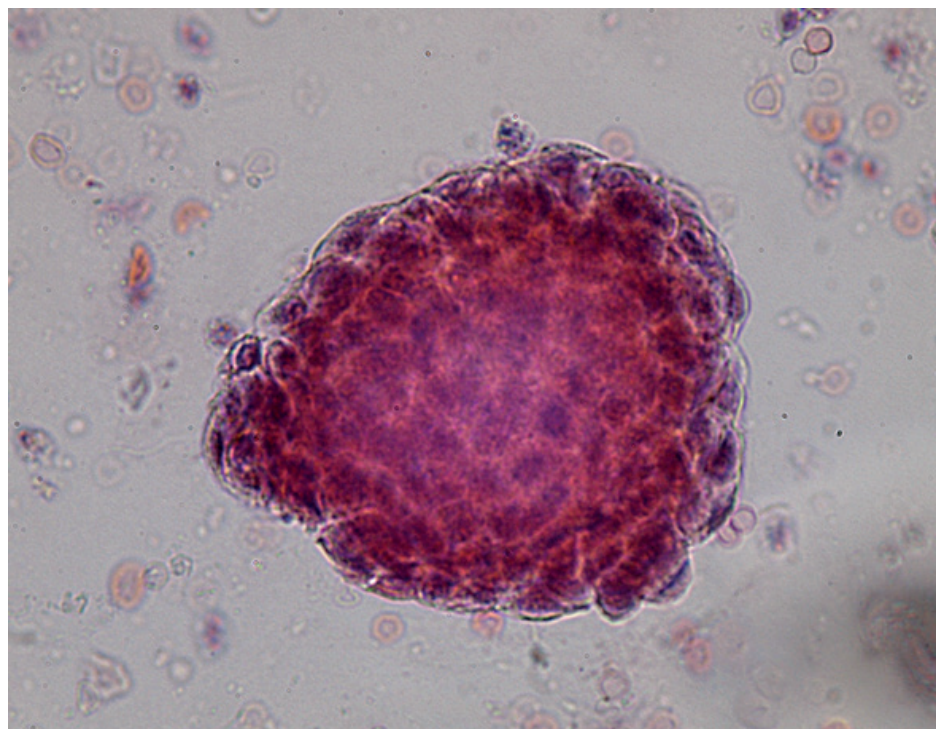


Figura 13
Células en orina procedentes de un LGUN. $N/C > 0,5$. La papila es tridimensional y de límites netos (400x-Papanicolaou).

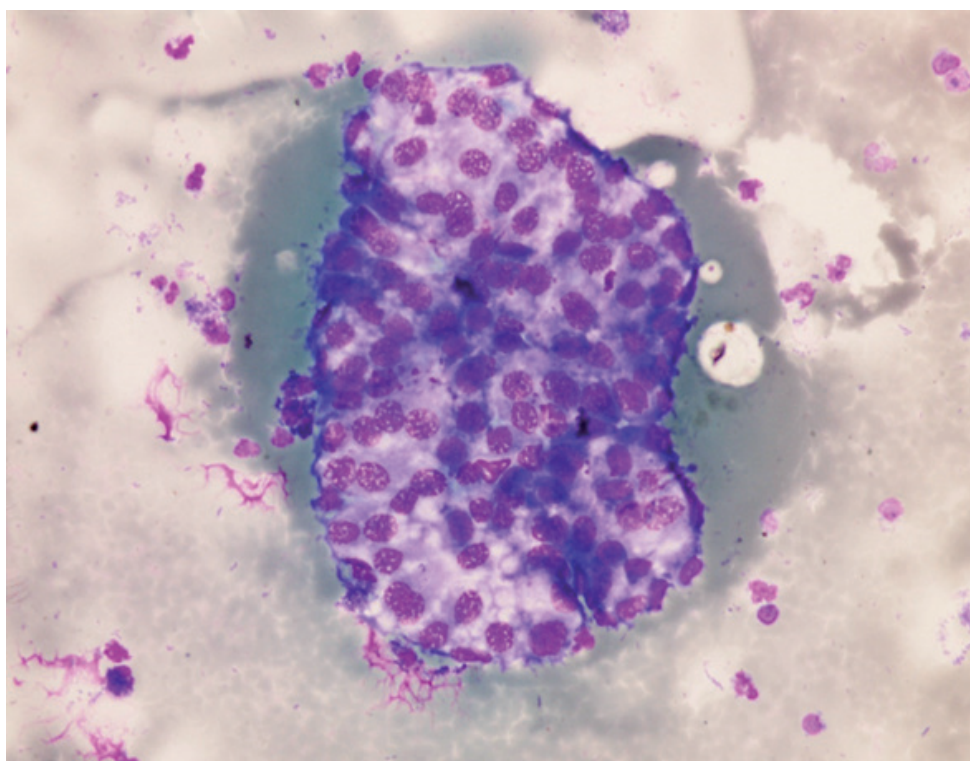


Figura 14
Este grupo de células uroteliales en orina no cumple con los criterios de LGUN. $N/C < 0,5$, la disposición es bidimensional, y como los núcleos muestran irregularidades cromatínicas, es clasificado como reactivo. (400x-Giemsa).

REFERENCIAS

- 1 - Renshaw AA, Nappi D, Weinberg DS. Cytology of grade 1 papillary transitional cell carcinoma. A comparison of cytologic, architectural and morphometric criteria in cystoscopically obtained urine. *Acta Cytol.* 1996;40(4):676-82.
- 2 - Abdullah LS. The value of urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *Cytopathological correlation. Saudi Med J.* 2013;34(9):937-41.
- 3 - Hughes JH, Raab SS, Cohen MB. The cytologic diagnosis of low grade transitional cell carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2000; 114(suppl):S59-S67.
- 4 - Nasuti JF, Fleisher SR, Gupta PK. Significance of tissue fragments in voided urine specimens. *Acta Cytol.* 2001;45(2):147-52.
- 5 - Koss LG, Melamed MR. *Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases.* ed 5. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. P.760.
- 6 - Reid MD, Osunkoya AO, Siddiqui MT, Looney SW. Accuracy of grading of urothelial carcinoma on urine cytology: an analysis of interobserver and intraobserver agreement. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012; 5(9): 882–91.
- 7 - Courtade-Saïdi M, Cochand-Priollet B, Vielh P, Piaton E; Sous l'égide de la Société Française de Cytologie Clinique. Une nouvelle terminologie pour la cytopathologie urinaire : le Système de Paris (2015) [A new terminology for urinary cytopathology: The Paris System for Reporting Urinary Cytology (2015)]. *Ann Pathol.* 2019;39(5):344-51.
- 8 - Barkan GA, Wojcik EM, Nayar R, Savic-Prince S, Quek ML, Kurtycz DFI, et al. The Paris System for Reporting Urinary Cytology: The Quest to Develop a Standardized Terminology. *Acta Cytol.* 2016;60(3):185–97.
- 9 - Roy M, Kaushal S, Jain D, Seth A, Iyer VK, Mathur SR. An institutional experience with The Paris System: A paradigm shift from ambiguous terminology to more objective criteria for reporting urine cytology. *Cytopathology.* 2017;28(6):509-15.
- 10 - McIntire PJ, Snow JT, Robinson BD, Rao RA, Goyal A, Heymann JJ, et al. Improved Correlation of Urinary Cytology Specimens Using The Paris System in Biopsy-Proven Upper Tract Urothelial Carcinomas. *Cancer Cytopathol.* 2018; 126(7): 498-504.
- 11- Bakkar R, Mirocha J, Fan X, Frishberg DP, Peralta-Venturina M, Zhai J, et al. Impact of the Paris system for reporting urine cytopathology on predictive values of the equivocal diagnostic categories and interobserver agreement. *Cytojournal.* 2019 Oct 22;16:21. doi: 10.4103/cytojournal.cytojournal_30_19.
- 12- Van Rhijn BW: Combining molecular and pathologic data to prognosticate non-muscle invasive bladder cancer. *Urol Oncol.* 2012; 30(4):518–23.
- 13- Cheng L, Zhang S, MacLennan GT, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Montironi R. Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice. *Hum Pathol.* 2011;42(4): 455–81.
- 14- Wojcik EM. What should not be reported as atypia in urine cytology. *J Am Soc Cytopathol.* 2015; 4(1): 30–6.
- 15- McCroskey Z, Pambuccian SE, Kleitherns S, Antic T, Cohen MB, Barkan GA, et al. Accuracy and interobserver variability of the cytologic diagnosis of low-grade urothelial carcinoma in instrumented urinary tract cytology specimens. *Am J Clin Pathol.* 2015; 144 (6): 902–8.
- 16- Mostofi FK, Davis CJ, Seterhenn IA. *Histological typing of urinary bladder tumors.* World Health Organization international histological classification of tumors. 1º Ed. New York: Springer; 1999. p.120.
- 17- Shim J-W, Kang Su, Cho KS, Choi Y-D, Park Y-W, Lee D-W, et al. Diagnostic algorithm for papillary urothelial tumors in the urinary bladder. *Virchows Arch.* 2008;452(4):353-62.
- 18- Palaoro L, Angerosa M. Correlation between the cytology of urine sediment in fresh samples and smears stained by Papanicolaou and Giemsa Methods. *J Cytol.* 2014;31(1):25-31