

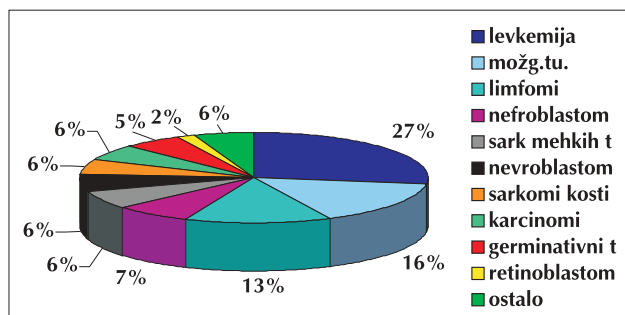
Citopatologija v diagnostiki tumorjev otroške dobe

Živa Pohar Marinšek

Otroška doba je v medicini definirana s starostjo do 15. leta, čeprav pediatri v primarnem zdravstvu in v bolnišnicah zdravijo tudi najstnike do 19. leta starosti. V onkologiji je treba otroke do 15. leta obravnavati ločeno, ker imajo številni tumorji v tem starostnem obdobju drugačne lastnosti od morfološko enakih tumorjev pri mlajših in starejših odraslih.

Kako pogoste so maligne novotvorbe pri otrocih?

V Sloveniji odkrijemo med otroki do 15. leta starosti na leto približno 50 novih primerov raka. Po podatkih Registra raka za Slovenijo so se v obdobju 1991–2002 številke gibale od 34 do 67 novih primerov na leto. Ker se pojavlja redko, je rak navadno ena zadnjih diagnoz, na katero pomislimo ob bolnem otroku, zato ga je lahko prezreti. Prepoznava začetnih znakov raka je zahtevna, ker so odvisni od mesta rasti tumorja in niso specifični. Približno polovico primerov raka pri otrocih predstavljajo levkemije, možganski tumorji in limfomi, ostala polovica obsega vse druge vrste (slika 1).

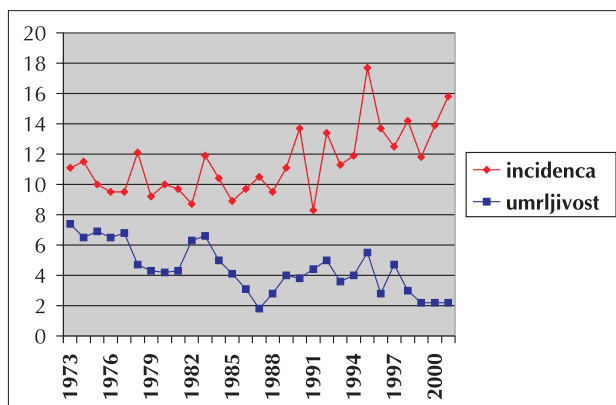


Slika 1. Deset najpogostejših malignih tumorjev otrok do 15. leta (Register raka za Slovenijo, 1991–2001)

Zato se zdravniki redko srečamo s tovrstnimi raki in izkušnje so temu ustrezne. Kljub nizki incidenci je rak pri otrocih do 15. leta pomembna bolezen, saj je med vzroki smrti v tej starostni skupini na drugem mestu (1). Medtem ko incidenca raka v Sloveniji pri odraslih strmo narašča, je pri otrocih dvig minimalen (slika 2). Vzrok za to je verjetno dejstvo, da so za nastanek raka pri otrocih odgovorni predvsem genetski dejavniki, manj pa vplivi okolja, saj so jim otroci izpostavljeni manj časa.

Koliko otrok z rakom uspemo pozdraviti?

Slika 2 prikazuje, da je razlika med stopnjo incidence in umrljivostjo otrok za rakom vsako leto večja. V štiridesetih in petdesetih letih je ozdravelo le 10 do 20 % otrok z rakom, v devetdesetih pa že 60 do 90 %. Glavni vzrok je



Slika 2. Gibanje stopnje incidence in umrljivosti zaradi raka pri otrocih do 15. leta (Register raka za Slovenijo, 1973–2002)

uvedba kemoterapije. K boljšim uspehom zdravljenja pa so pripomogle tudi izboljšane tehnike kirurgije in radioterapije, boljše podporno zdravljenje ter zgodnejša in natančnejša patološka diagnostika z uporabo novih dopolnilnih tehnik, kot sta imunokemija in molekularna biologija.

Kaj vpliva na izbiro vrste in intenzivnosti zdravljenja?

Na izbiro zdravljenja vplivata vrsta raka in prognostična skupina, v katero bolnika uvrstimo. S pomočjo napovednih dejavnikov izida bolezni, kot so starost bolnika, razširjenost bolezni, mesto rasti tumorja in včasih histološka zgradba, določimo prognostično skupino, od katere je odvisno, kako intenzivno bomo otroka zdravili. Pri otrocih v prognostično ugodnih skupinah dosežemo dober rezultat že z manj intenzivnim zdravljenjem in tako povzročimo manj neželenih poznih posledic. Nasprotno je treba otroke v prognostično neugodnih skupinah intenzivno zdraviti, s čimer za ceno ozdravitve tvegamo, da bo prišlo do hujših posledic.

Kako pridemo do morfološke diagnoze?

Raka ni mogoče uspešno zdraviti brez morfološke diagnoze. Pred pričetkom zdravljenja potrebujemo natančno diagnozo in pri nekaterih vrstah raka tudi napovedne dejavnike, ki izvirajo iz morfoloških značilnosti tumorja. Med zdravljenjem je včasih treba ovrednotiti učinek kemo- ali radioterapije na tumorsko tkivo ter potrditi morebitno ponovitev bolezni, zasevke ali pojav sekundarnih novotvorb. Na voljo imamo dve metodi: kirurško biopsijo za histološki pregled tkiva in aspiracijsko biopsijo s tanko

iglo (ABTI) za citopatološki pregled celičnega vzorca (2). Histopatološka preiskava je zanesljivejša, vendar je odvzem vzorca lahko povezan z zapleti, ki lahko odločilno vplivajo na način in/ali obseg zdravljenja ter celo na izid bolezni (3, 4). Odvzem vzorca z ABTI je varen, saj so zapleti pri njem redki in blagi. Poleg tega je odvzem hiter, skoraj neboleč in ekonomičen. Priprava vzorca je prav tako hitra in ekonomična, do rezultata pridemo prej kot pri pripravi histološkega preparata. Slaba stran ABTI je majhna količina vzorca in odsotnost arhitekturne ureditve, zaradi česar je lahko vzorec nereprezentativen, diagnostična zanesljivost pa je manjša, kot jo nudi histopatologija. Zaradi njenih izrazitih prednosti uporabljamo ABTI pred pričetkom zdravljenja kot prvo metodo in posežemo po kirurški biopsiji le, če nam ABTI ne da zadovoljivega odgovora.

Kako vzamemo vzorec za citopatološko preiskavo?

Čeprav je odvzem vzorca z ABTI približno tako boleč kot odvzem krvi, je za vsakega otroka vbod z iglo psihična travma, zato vzorcev ne jemljemo na silo. Pri topljivih lezijah skušamo doseči otrokovo sodelovanje in poseg, ki traja le 10 do 15 sekund, izvršimo v lokalni anesteziji. Mesto ABTI namažemo z anestetično kremo Emla 30 minut do ene ure pred odvzemom vzorca. Kremo odstranimo tik pred posegom in bolnik ne čuti vboda igle. Pri majhnih otrocih, pri katerih ne moremo doseči sodelovanja, je potrebna sedacija ali blaga splošna anestezija. Za varnost poskrbi lečeči pediater na Pediatrični kliniki Kliničnega centra, ki preveri, da otrok nima okužbe, uvede anestezijo in je med posegom zraven. Pri netipljivih lezijah izvršimo ABTI pod nadzorom ultrazvoka. Pri majhnih otrocih je za to potrebna blaga splošna anestezija. Poseg opravi izkušen radiolog, citopatolog, ki je vselej poleg, pa s hitrim orientacijskim pregledom delčka vzorca poda mnenje o ustreznosti vzorca in poskrbi, da je pravilno fiksiran.

Kako poteka obdelava vzorca za citopatološki pregled?

Razmaze, ki jih naredimo takoj po odvzemu vzorca, rutinsko barvamo po metodah Giemsa in Papanicolaou dan po odvzemu, v nujnih primerih še isti dan. To pomeni, da je vzorec lahko pripravljen za mikroskopski pregled že v eni uri. Enako kot v histopatologiji lahko tudi v citopatologiji uporabimo pomožne diagnostične metode. Zato del vzorca vselej shranimo v posebnem mediju, iz katerega lahko pripravimo preparate za imunocitokemično barvanje na steklih, ali pa vzorec uporabimo za imunofenotipizacijo (5) ali za meritve DNK s pretočnim citometrom. Čeprav ustreznost vzorca preverimo že ob odvzemu, to ne zagotavlja, da je dovolj vzorca tudi v tekočem mediju za pomožne metode, brez katerih velikokrat ne moremo postaviti dokončne, zanesljive diagnoze. Tega dela preverjanja ni mogoče narediti ob bolniku, saj je potrebno centrifugiranje ali štetje celic v posebni komori. V nujnih primerih ga naredimo v laboratoriju takoj po odvzemu, običajno pa naslednji dan. Dokončna izvedba dodatnih tehnik zahteva 2–3 ure, kar je več kot rutinsko barvanje, zato jo praviloma opravimo dan po odvzemu.

Pri nekaterih rakah otroške dobe, npr. Ewingovem sarkomu/primitivnem nevroektodermalnem tumorju

(ES/PNET), nevroblastomu ali rhabdomyosarkomu, se pojavljajo citogenetske napake, ki so pomembne za diagnozo in prognozo bolezni. Na Onkološkem inštitutu določanja teh napak še ne izvajamo rutinsko, kadar pa je taka preiskava potrebna, pošljemo del vzorca, ki smo ga dobili z ABTI, v ustrezen laboratorij.

Kako pogosto in katere citopatološke vzorce pregledujemo na Onkološkem inštitutu?

Kadar pri otroku opazimo bulo, to še ne pomeni, da je rakasta. Bula ali "tumor" je lahko prirojena napaka, vnetje, benigna ali maligna novotvorba. Na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta smo v zadnjih destih letih pregledali 2395 vzorcev (180 do 299 na leto), ki so bili odvzeti 1834 otrokom (137 do 216 na leto). Večinoma so vzorci ABTI, 13 % je vzorcev eksfoliativne citologije (izlivi v telesne votline, seč, likvor, izcedki). Izidi so prikazani v Tabeli 1, kjer vidimo, da je delež malignih primarnih tumorjev med vsemi pregledanimi vzorci razmeroma majhen. Najpogostejši so bili vzorci bezgavk (38 %) in mehkih tkiv (25 %), medtem ko so bile druge lokacije zastopane v majhnem odstotku (največ do 3,5 %). Pogostost pregledanih vzorcev po lokacijah ne odraža lokacij najpogostejših malignih tumorjev pri otrocih (slika 1). Diagnostika levkemij je namreč v domeni pediatrov hematookologov, možganski tumorji niso dostopni ABTI, večina sprememb v mehkih tkivih pa je benigne narave.

Tabela 1. Izidi citopatoloških preiskav pri otrocih do 15. leta (1994–2003)

Izvid	Število preiskav	%
Negativno	1660	69,3
Primarni tumorji	209	8,7
Ponovitve/zasevki	100	4,2
Sumljivo	85	3,6
Neuporabno	341	14,2
SKUPAJ	2395	

Kolikšna je diagnostična zanesljivost ABTI pri tumorjih otroške dobe in zakaj ni boljša?

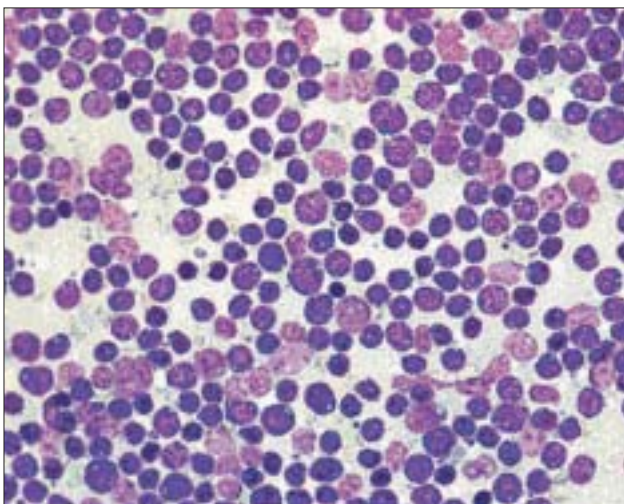
V literaturi zasledimo podatke, da je diagnostična zanesljivost pri ločevanju malignih od benignih sprememb z ABTI pri otrocih 92–97 % (6, 7). Zelo malo pa je poročil o zanesljivosti specifičnih diagnoz (8). V citopatologiji je verjetno najtežje razlikovati maligne od benignih sprememb iz vzorcev bezgavk. Pri drugih malignomih je neoplastično naravo lažje prepoznati, težko pa je opredeliti natančno vrsto tumorja. Z izjemo osteosarkoma, germinalnih tumorjev in še nekaj redkih izjem so si tumorji otroške dobe morfološko zelo podobni. V skladu z njihovo morfologijo jih uvrščamo v skupino drobnoceličnih okrogloceličnih tumorjev (DOT).

Pred uvedbo imunokemije v patologijo je slonela diagnoza le na morfologiji, zato je diagnostična zanesljivost v današnjem času boljša. Vendar pa uporaba imunocitokemičnih oz. imunohistokemičnih metod še zdaleč

ne reši vseh težav, s katerimi se pri prepoznavanju tumorjev otroške dobe srečujejo tako citopatologi kot histopatologi.

Limfomi

Bezgavke so najpogostejše mesto odvzema ABTI, limfomi pa najpogostejši rak, s katerim se sreča citopatolog pri otrocih. 35 % limfomov v otroški dobi predstavlja Hodgkinov limfom, 65 % pa ne-Hodgkinovi limfomi (NHL), ki v 95 % spadajo v skupino visoko malignih limfomov (limfoblastni, Burkittov, velikocelični anaplastični ALCL, difuzni velikocelični B-limfom). Nizko maligne NHL citopatolog zlahka spregleda, ker so morfološko skoraj identični reaktivnemu limfadenitisu, vendar so pri otrocih izjemno redki; v zadnjih desetih letih nismo imeli nobenega primera. Pri visoko malignem NHL je maligna narava lažje prepoznavna; izjema je limfoblastni limfom, ki ga morfološko lahko zamenjamo z reaktivnim limfadenitisom (slika 3). Dodatne težave so ločevanje NHL od ostalih DOT



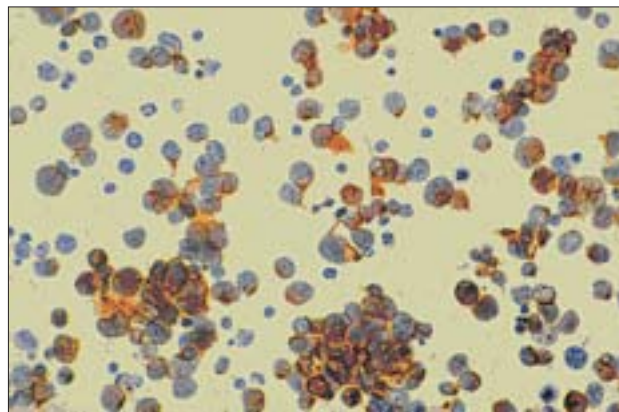
Slika 3. Limfoblastni limfom (Giemsa, x60)

in opredelitev podskupine NHL. Zato v takih primerih nujno potrebujemo ustrezno fiksiran vzorec za imunocitokemična barvanja oziroma za imunofenotipizacijo s pretočnim citometrom. Ker pri visoko malignih NHL bolezen hitro napreduje, je dokončna citološka diagnoza običajno dovolj za pričetek zdravljenja. Po uspešnem zdravljenju bezgavke niso več tipljive in kirurška biopsija ni potrebna. Hodgkinov limfom je v celičnih vzorcih lahko prepoznati kot malignom samo, kadar je vzorec reprezentativen, kajti maligne celice so pri Hodgkinovem limfomu v bezgavki praviloma redko posejane in jih zato z ABTI ne zajamemo vselej. Dodatni težavi sta v tem, da iz celičnega vzorca ni mogoče določiti tipa Hodgkinovega limfoma, težko pa je tudi ločevanje Hodgkinovega limfoma od ALCL, ki ima citološko identično morfološko sliko, zato tudi imunocitokemija ne pomaga vselej. Ker je za zdravljenje razlika med Hodgkinovim limfomom in ALCL zelo pomembna, pomemben pa je tudi tip Hodgkinovega limfoma, je tudi pri dokončnem citološkem izvidu teh dveh entitet pred pričetkom zdravljenja večinoma potrebna histološka potrditev.

V desetih letih (1994–2003) smo na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta ABTI izvršili pri 33 otrocih z NHL. 19 otrok so zdravili pediatri le na podlagi citološke diagnoze (12 – limfoblastni limfom, 4 – Burkittov limfom, 1 – ALCL, 1 – neopredeljeni NHL). Pri 14 je bila narejena kirurška biopsija, in sicer v devetih primerih zato, ker je bil citološki izvid neuporaben, negativen, sumljiv ali pa ni bilo natančne opredelitve limfoma. Kirurška biopsija je bila narejena le pri petih bolnikih z dokončno citološko diagnozo: pri treh ALCL, ki smo jih pravilno opredelili, in pri dveh primerih citološko limfoblastnega limfoma. Eden od teh je bil histološko opredeljen kot atipični Burkittov limfom, drugi pa je ostal histološko neopredeljen. Pri vseh 15 bolnikih s Hodgkinovim limfomom, za katere imamo vzorce ABTI, je bila narejena tudi kirurška biopsija. Pri 11/15 primerov smo postavili pravilno specifično diagnozo, v preostalih štirih primerih pa pravilno posumili na Hodgkinov limfom. V enem primeru je bila kirurška biopsija nereprezentativna in otrok je bil zdravljen na podlagi citološke diagnoze in kliničnega vtisa.

Sarkomi mehkih tkiv

Najpogostejši sarkom mehkih tkiv pri otrocih je rhabdomyosarkom (RMS), ki predstavlja 60 % vseh sarkomov otroške dobe (slika 4). Po pogostosti mu sledi ES/PNET,



Slika 4. Rhabdomyosarkom, pozitivna imunocitokemična reakcija na desmin (x40)

druge vrste sarkomov pa so pri otrocih izjemno redke. Tako RMS kot ES/PNET spadata v skupino DOT, zato je za zanesljivo diagnozo potrebna imunocitokemija. Kako pomemben napredek predstavlja uporaba imunocitokemije v citopatologiji, nam pokaže primerjava zanesljivosti diagnoze RMS v obdobju brez uporabe imunocitokemije in z njo. V letih 1974–1984 je bila zanesljivost specifične citopatološke diagnoze RMS na našem oddelku 44-odstotna, v obdobju 1985–2000 pa 87-odstotna. Pri RMS je treba določiti tudi podtip, ker je prognostično pomemben. Ugotovili smo, da je mogoče iz celičnega vzorca razlikovati med embrionalnim in alveolarnim RMS v 80 % primerov. Glavni vzroki za to, da približno 15 % RMS ne prepoznamo, so slaba diferenciacija tumorjev, ki ne izražajo značilnih antigenov, premajhen vzorec zaradi težko dostopnega tumorja in degeneriran vzorec zaradi intravitalnega propadanja tumorskih celic.

Sarkomi kosti

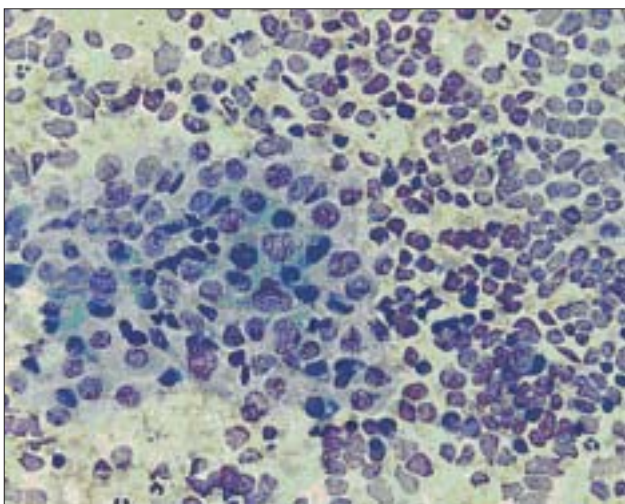
Benigne kostne tumorje pri otrocih v citopatologiji malokrat vidimo, ker večinoma ležijo pod ohranjeno kompakto kosti, zato ni mogoče odvzeti vzorca s tanko iglo. Nasprotno opažamo, da so sarkomi kosti v 90 % že prodrli v mehka tkiva, ko bolniki pridejo na odvzem vzorca. Najpogostejša sarkoma v otroški dobi sta osteosarkom in ES/PNET, medtem ko je hondrosarkom redek. Pri osteosarkomu ločimo več histoloških različic. V citologiji najlažje spoznamo klasični tip, ki ima jasne značilnosti malignoma. Hondroblastni in periostealni tip sta citološko večinoma enaka hondrosarkomu, fibroblastni pa je zelo podoben osteoklastomu, ki je benignen tumor. Podobno tudi parostealni osteosarkom citološko nima jasnih značilnosti malignoma. Drobncelični osteosarkom je izredno redek, morfološko pa podoben drugim DOT. Imunocitokemija nam v potrditvi diagnoze osteosarkoma ne pomaga.

V 16 letih (1988 do 2003) smo napravili ABTI pri 24 otrocih z osteosarkomom. Le v treh primerih je bil vzorec nereprezentativen, pri 19 smo podali pravilno diagnozo, pri enem smo pravilno posumili nanj. ES/PNET je redkejši od osteosarkoma, saj smo v 26 letih (1977–2003) zbrali na našem oddelku le 20 primerov. Trinajst smo jih pravilno opredelili, ostalih sedem smo spoznali kot malignom, vendar jih nismo nadalje diferencirali oziroma smo za nekatere menili, da so morda zasevki nevroblastoma. ES/PNET spada v skupino DOT, zato pridejo v diferencialni diagnozi vselej v poštev limfom kosti, zasevki ali neposredno vraščanje drugih DOT v kost ter drobnocelični osteosarkom.

Iz navedenega so razvidne glavne težave pri diagnostiki kostnih sarkomov iz ABTI: morfološka podobnost nekaterih kostnih sarkomov benignim in nekaterim malignim tumorjem ter včasih nedostopnost tumorja za tanko iglo.

Drugi drobnocelični okroglocelični tumorji

Tumorji, ki poleg že omenjenih spadajo v skupino DOT, so nefroblastom (Wilmsov tumor), nevroblastom in hepatoblastom (slika 5). Kadar so ti trije dobro diferencirani, imajo jasne morfološke značilnosti in jih lahko spoznamo.



Slika 5. Nefroblastom, bifazni vzorec (Giemsa, x40)

Slabo diferencirani so za oko skoraj enaki, imunocitokemične reakcije pa malo koristne. V primeru ganglionevroblastoma je citološka diagnoza lahko napačna, če v vzorcu dobimo le eno tumorsko komponento. Pri razlikovanju med nefroblastomom, nevroblastomom in hepatoblastomom bi se citopatolog načeloma lahko orientiral po mestu rasti tumorja, vendar iz prakse vemo, da to pogosto ne drži. Na podlagi slikovnih preiskav ni mogoče vselej natančno določiti mesta rasti, še posebno pri velikih tumorjih, kjer ni jasno, ali tumor izrašča iz nekega organa ali vrašča vanj od drugod.

V letih od 1970 do 2003 smo pri 54 od 56 otrok z nevroblastomom postavili pravilno diagnozo malignoma, od tega pri 43 bolnikih (75 %) pravilno specifično diagnozo nevroblastoma. Pri nefroblastomu smo med 1975 in 1993 vse primere pravilno opredelili kot malignom, specifična diagnoza nefroblastoma pa je bila pravilna v 74 % primerov (23/31). V obdobju 1994–2003 je bila pravilnost specifične diagnoze boljše, 86 % (33/38), vendar smo postavili eno napačno negativno in eno napačno pozitivno diagnozo.

Germinativni tumorji

Morfološko delimo germinativne tumorje v številne skupine. Iz celičnega vzorca večinoma lahko spoznamo, da tumor spada med germinativne, a le nekatere vrste je mogoče natančno opredeliti. Germinativni tumorji so namreč pogosto grajeni iz več komponent, ki zavzemajo različno velika področja tumorja. Ker v vzorcih ABTI običajno dobimo le prevladujočo komponento, je lahko izvid zavajajoč. Kadar je v vzorcu jasno maligna komponenta germinativnega tumorja, je to za pričetek kemoterapije dovolj. Kadar je v vzorcu le zrela komponenta, seveda ni mogoče zanesljivo izključiti možnosti, da vsebuje tumor tudi nezrelo, maligno komponento. Zato je zdravljenje izbora v takih primerih operacija.

Med letoma 1994 in 2003 smo na Onkološkem inštitutu izvršili ABTI pri 20 otrocih z germinativnimi tumorji. V osmih primerih je bil prisoten morfološko jasen malignom, dva smo ocenili kot sumljiva in malignoma sta bila histološko potrjena. V preostalih desetih primerih je bila v vzorcu le komponenta zrelega teratoma, histološka preiskava operiranih tumorjev pa je v polovici primerov odkrila tudi nezrelo komponento.

Zaključek

Rak je pri otrocih do 15. leta starosti redka bolezen, zato jo malokrat srečajo tako pediatri na terenu kot citopatologi v perifernih bolnišnicah. Majhno število primerov je ovira pri nabiranju izkušenj, ki so potrebne za prepoznavanje in uspešno zdravljenje teh redkih in obenem raznolikih tumorjev. Le v večjih diagnostičnih centrih lahko sčasoma zberemo dovolj bolnikov in vzorcev tumorjev, kar omogoča zanesljivejšo analizo rezultatov zdravljenja in preučevanje morfoloških in fenotipskih značilnosti tumorskih vzorcev.

Pri odraslih s tipljivimi »bulami« vselej svetujemo, da že splošni zdravnik napoti bolnika naravnost na ABTI v lokalno specialistično ustanovo. Pri otrocih pa se nam to ne zdi priporočljivo. Približno polovica vseh »tumorjev« pri

otrocih so povečane bezgavke in večina tistih, ki pridejo na odvzem vzorca, je reaktivne narave. Citopatološka diagnoza limfoma je precej zanesljiva le z uporabo imunofenotipizacije. Pošiljanje naravnost na ABTI ni smotno, ker laboratoriji v perifernih bolnišnicah nimajo pretočnih citometrov, obstoječi na Onkološkem inštitutu pa časovno in finančno ne bi zmogel obremenitve takega presejanja. Zato je prav, da o indikacijah odloča izkušen pediater onkolog.

Tudi pri sumu na rak zunaj bezgavk je priporočljivo, da otroka najprej pregleda pediater onkolog (če gre za kostno lezijo, pa ortoped) in se nato odloči za način in mesto ABTI v sodelovanju s citopatologi Onkološkega inštituta. Pomanjkanje izkušenj in tehničnih diagnostičnih možnosti v splošnih bolnišnicah lahko vodi v neustrezno začetno zdravljenje, s čimer ogrozi izid bolezni.

Literatura:

1. Jereb B. Rak pri otrocih. *Med razgl* 1993; 32: 331–339.
2. Us-Krašovec M. Vloga citopatologije pri otroških tumorjih. Zbornik 13. onkološkega vikenda, 1998.
3. Mankin HJ, Mankin CJ, Simon MA. The hazards of the biopsy, revisited. *J Bone Joint Surg* 1996; 78-A: 656–63.
4. Springfield DS, Rosenberg A. Biopsy: complicated and risky. *J Bone Joint Surg* 1996; 78-A: 639–43.
5. Kloboves-Prevodnik V: Flow cytometry in lymphoma diagnosis: pros and cons of flow cytometry versus immunocytochemistry for primary diagnosis, staging and follow-up. Vizjak A, Ferluga D, Bussolati G (eds): Update in pathology. 19th european congress of pathology; Nephropathology pre-congress meeting: advances in nephropathology; Pulmonary pathology pre-congress meeting, Ljubljana 2003. Ljubljana, University of Ljubljana-Faculty of medicine; Institute of pathology 2003, 396–398.
6. Layfield LJ, Glasgow B, Ostrzega N, Reynolds CP. Fine-needle aspiration cytology and the diagnosis of neoplasms in the pediatric age group. *Diagn Cytopathol* 1991; 7: 451–61.
7. Gorczyca W, Bedner E, Juszkiwicz P, Chosia M. Aspiration cytology in the diagnosis of malignant tumors in children. *Am J Ped Hematol Oncol* 1992; 14: 129–35.
9. Frostad B, Bjork O, Skoog L. Fine needle aspiration cytology in the clinical management of childhood rhabdomyosarcomas. *Int J Pediatr Hematol/Oncol* 1996; 3: 89–94.