

4. Wstęp do diagnostyki cytologicznej

Diagnostyka cytologiczna (określana również jako cytopatologiczna lub krócej cytodiagnostyka) jest metodą badania komórek (pochodzących z tkanek lub z płynów ustrojowych organizmu) przy użyciu mikroskopu. Celem badania jest z reguły identyfikacja zmian patologicznych w komórkach, które mogą wskazywać na choroby nowotworowe lub stan zapalny. W przypadku wykrycia zmiany nowotworowej, lekarz może zalecić dalsze badania w celu postawienia dokładnej diagnozy i zaplanowania odpowiedniego leczenia.

Diagnostyka cytologiczna jest metodą szybką i tanią (w porównaniu z innymi metodami). Należy do kategorii badań przesiewowych (screeningowych), czyli profilaktycznych badań dla osób zdrowych, jednak znajdujących się w podwyższonej grupie ryzyka konkretnej choroby nowotworowej. W trakcie leczenia może być stosowana również jako metoda monitorowania postępów leczenia lub wczesnego wykrywania nawrotów choroby.

Jest działem patomorfologii, wobec czego pobrany do badań materiał jest oceniany przez odpowiednio wykwalifikowanych patomorfologów (czasem osoby przeprowadzające analizę nazywane są również cytologami). Cytologia zakłada, że wygląd, charakterystyka komórek odzwierciedla biologiczną specyfikę (kondycję) badanego narządu lub niekiedy całego ciała (zależnie od zakresu badania). Ocena mikroskopowa zawiera analizę elementów takich jak:

- skład komórkowy próbek,
- znaki szczególne pojedynczych komórek,
- sposób zgrupowania komórek (wzór),
- obecność innych elementów np. ciał obcych, bakterii

Najważniejsze zalety wykorzystania diagnostyki cytologicznej to:

- Bezpieczeństwo - Procedury, które są stosowane w celu uzyskania próbek cytologicznych są niezwykle bezpieczne. Powikłania zdarzają się bardzo rzadko, a jeśli już wystąpią, to są stosunkowo łagodne.
- Prostota - uzyskanie większości próbek cytologicznych jest proste w porównaniu z innymi metodami. Obecnie większość instytucji przeprowadzających badania bardzo dobrze zna technologię, która jest częścią rutynowej pracy diagnostycznej.
- Szybkość - Procedura jest bardzo szybka, a wyniki mogą być udzielone natychmiast (w czasie procedury), lub w ciągu najbliższych godzin
- Niski koszt - w porównaniu z biopsją chirurgiczną koszt wykonania badania cytologicznego jest znacznie niższy.

Wady:

- Niska czułość: niektóre badania cytologiczne mają niską czułość, co oznacza, że mogą pomijać niektóre przypadki choroby.
- Wysoka liczba fałszywie ujemnych wyników: w niektórych przypadkach badanie cytologiczne może dać wynik fałszywie ujemny, co oznacza, że wynik jest negatywny, ale choroba jest obecna.
- Konieczność powtórzenia badania: w przypadku niejednoznacznych lub negatywnych wyników konieczne może być powtórzenie badania, co zwiększa koszty i opóźnia diagnozę.
- Skomplikowane wyniki: niektóre wyniki badań cytologicznych mogą być trudne do interpretacji, co może prowadzić do błędów i opóźnień w leczeniu.

Historia diagnostyki cytologicznej rozpoczęła się w XVIII i XIX wieku, kiedy podejmowane były pierwsze próby obserwacji i identyfikacji komórek pod mikroskopem. Ważnym wydarzeniem w rozwoju cytologii było wydanie w 1928 roku pierwszej pracy na temat cytologicznej diagnostyki raka szyjki macicy przez greckiego patologa George Papanicolaou. Jednak pomysł spotkał się ze sceptycyzmem i oporem ze strony innych naukowców oraz środowiska lekarskiego. Kolejną pracą była wydana w 1943 roku przez Papanicolaou wraz z Herbertem Trautem monografia "Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear", która stała się podstawą nowoczesnej cytopatologii. W książce omówione zostało m.in. przygotowanie wymazów do badania (szyjki macicy i pochwy), opisane zostały zmiany obserwowane w przypadku obecności raka, czy ogólne zmiany cytologiczne w trakcie cyklu miesięczkowego. Cała procedura postępowania i identyfikacji opisana w publikacji została nazwana testem Papanicolaou (krócej testem Pap), który obecnie jest powszechnie znany jako badanie cytologiczne, które jest stosowane do wykrywania i zapobiegania rakowi szyjki macicy i innym chorobom cytologicznym żeńskiego układu rozrodczego.

W latach 50. XX wieku cytologia zaczęła być szeroko stosowana, a w kolejnych latach metodykę zaczęto stosować, także w diagnostyce raka piersi i tarczycy. W 1958 roku wprowadzono do diagnostyki cytologicznej badanie płynów ustrojowych, takich jak mocz czy płyn mózgowo-rdzeniowy, a w latach 60. i 70. cytologię narządów wewnętrznych, takich jak płuca, trzustka czy wątroba. W kolejnych dziesięcioleciach rozwój diagnostyki cytologicznej był znaczny. Wprowadzono nowe techniki badawcze, takie jak cytometria przepływowa czy analiza obrazu cyfrowego. Dzięki temu możliwe stało się szybkie i dokładne rozpoznawanie chorób onkologicznych, a także innych chorób, takich jak choroby zakaźne czy autoimmunologiczne.

Dopiero w 1989 roku cytopatologia przeszła proces standaryzacji i w tym roku powstała również oficjalna instytucja przyznająca uprawnienia w dziedzinie cytologii (American Board of Examination Cytopathology). Obecnie diagnostyka cytologiczna jest nieodłączną częścią diagnostyki laboratoryjnej, a jej znaczenie w medycynie jest nieocenione.

Materiałem cytologicznym nazywa się pobrane od pacjenta (lub ze zwłok) płyny z jam ciała, tkanki, komórki czy wydzieliny. Materiał przygotowywany jest przez lekarza klinicystę, radiologa lub patomorfologa.

Istnieje wiele różnych metod pobierania materiałów cytologicznych, w zależności od rodzaju wykonywanego badania oraz narządu, który poddawany jest badaniu. Poniżej przedstawiono najczęściej stosowanych metody:

- Rozmaz (lub wymaz) - metoda polegająca na pobraniu komórek za pomocą wacika, pęsety lub szczotki, a następnie rozmazaniu ich na szkiełku mikroskopowym. Rozmaz jest najczęściej stosowany w badaniach ginekologicznych, takich jak cytologia szyjki macicy.
- Aspiracja cienkoigłowa - metoda polegająca na pobraniu próbki tkanek lub płynu za pomocą cienkiej igły i strzykawki. Aspiracja cienkoigłowa jest stosowana w badaniach takich jak biopsja tarczycy, biopsja piersi, czy pobranie płynu z opłucnej.
- Pobranie wydzieliny - metoda polegająca na pobraniu wydzieliny z narządu, takiej jak np. płwocina, czy wydzielina z szyjki macicy. Pobranie wydzieliny umożliwia analizę komórek w płynach i wydzielinach występujących w narządach.

Wybór odpowiedniej metody pobrania materiału cytologicznego zależy od rodzaju badania oraz narządu, który jest badany. Ważne jest, aby pobranie materiału było bezpieczne i minimalnie inwazyjne dla pacjenta.

Preparat cytologiczny - materiał cytologiczny (próbka komórek lub tkanek pobrana w celu diagnostyki cytologicznej) umieszczony na szkiełku podstawowym (czyli prostokątnej szklanej płytce przygotowanej do obserwacji pod mikroskopem), utrwalony i zabarwiony. W celu ułatwienia identyfikacji pacjentów na początku badania preparat oznacza się trwale numerem, dzięki któremu łatwo zidentyfikować osobę, od której próbka pochodzi.

Do wykonania badania potrzebna jest nieduża próbka, która występuje w dwóch postaciach:

- rozmazu cytologicznego - materiał cytologiczny rozprowadzony i utrwalony na szkiełku
- cytobloku - materiał cytologiczny utrwalony, a następnie zatopiony w bloczku parafinowym (używane np. w diagnostyce nowotworów płuc)

Aby przeprowadzić analizę mikroskopową pobranych komórek lub tkanek konieczne jest odpowiednie przygotowanie preparatu cytologicznego, które zazwyczaj obejmuje następujące kroki:

- Pobranie próbki - pobranie próbki może odbyć się różnymi metodami, takimi jak rozmaz, biopsja cienkoigłowa czy wycinek. Metoda pobrania zależy od rodzaju badania oraz narządu, który jest badany. Bardzo ważne jest aby pobranie próbki odbywało się w sterylnych warunkach w celu uniknięcia zakażenia.
- Przygotowanie rozmazu (lub cytobloku) - w przypadku rozmazu, pobrane komórki lub tkanki są rozmazywane na szkiełku podstawowym.
- Utrwalenie preparatu - w celu zabezpieczenia materiału przed zniszczeniem należy utrwalić próbkę z wykorzystaniem środków takich jak np. alkohol, formalina

- Barwienie preparatu - aby zwiększyć widoczność oraz kontrast komórek korzysta się z środków barwiących. Konieczne jest także wysuszenie preparatu. Na szkiełku z preparatem często umieszcza się też szkiełko, które służy jako nakrywka, która chroni próbkę i zapobiega wyblaknięciu zabarwienia.
- Analiza mikroskopowa - przygotowany preparat jest badany pod mikroskopem przez patologa w celu zidentyfikowania i zdiagnozowania wszelkich nieprawidłowości

Warto odnotować, że konkretne kroki i techniki stosowane podczas przygotowywania preparatu cytologicznego mogą się różnić w zależności od rodzaju próbki i celu badania.

W zależności od sposobu pozyskiwania materiału do badania cytologię dzieli się na cytologię złuszczeniową i aspiracyjną.

Cytologia złuszczeniowa, polega na pobraniu i ocenie mikroskopowej próbek komórek z powierzchni narządów (lub tkanek), które uległy samoistnemu złuszczeniu (nazywane złuszczeniem spontanicznym). Obejmuje materiał cytologiczny pobrany z:

- wydzielin i wydalin,
- płynów z jam ciała,
- popłuczyn i wymazów szczoteczkowych

Jako przykład spontanicznego złuszczenia można podać pobieranie komórek jamy opłucnej, które są usuwane przez organizm w postaci płynu opłucnowego. Płyn ten można zebrać różnymi metodami np. strzykawką z igłą

Uzyskanie materiału jest możliwe także w sposób ręczny - poprzez zeszkrobanie (lub zeszcotkowanie) komórek z powierzchni tkanek (nazywane złuszczeniem mechanicznym). Przykładem tego rodzaju badania jest opisywane wcześniej badanie Papanikolaou, które stosuje się do badania komórek szyjki macicy u kobiet. W tym badaniu, lekarz zeszkrobuje próbkę komórek z szyjki macicy za pomocą za pomocą szczoteczki lub łopatki.

Cytologia złuszczeniowa jest stosowana głównie do wykonywania cytologii: szyjki macicy, układu moczowego, płynów z jam ciała czy układu oddechowego.

Cytologia aspiracyjna polega na pobraniu próbki komórek lub tkanek za pomocą cienkiej igły. Do wykonania nakłucia wybiera się miejsca podejrzanego o zmiany chorobowe. W tym rodzaju badania patolog ingeruje w ciało w celu pobrania próbki materiału komórkowego (w odróżnieniu do cytologii złuszczeniowej).

Metoda określana jest bardziej szczegółowo jako biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (FNAC - fine-needle aspiration cytology). Wyróżnia się następujące rodzaje biopsji cienkoigłowej:

- z aspiracją - do nałucia wykorzystuje się igłę iniekcyjną (jałową) z podłączoną strzykawką, którą wykorzystuje się do pobrania materiału komórkowego w celu zwiększenia wydajności
- bez aspiracji - wykonuje się kilkukrotne nakłucie zmianą igłą iniekcyjną (jałową)

Uzyskany z biopsji materiał rozprawdza się na szkiełku podstawowym, a następnie utrwalany w postaci rozmazu cytologicznego lub cytobloku. Wykorzystanie materiału z biopsji (zwłaszcza w postaci cytobloku), pozwala na wykonanie także dodatkowych badań (np.

immunohistochemicznych, czy z zakresu biologii molekularnej). Ważną zaletą opisywanego podejścia jest możliwość ostatecznego rozpoznania bez konieczności stosowania bardziej inwazyjnych metod diagnostycznych.

FNAC może być wykonywany pod kontrolą palpacyjną (lekarz może wyczuć miejsce niebezpiecznej zmiany poprzez dotyk) w obszarach, takich jak szyja, tarczyca lub piersi. FNAC często wspomagany jest także poprzez USG lub tomografię komputerową w celu pobrania próbek ze zmian występujących głęboko w ciele, które nie mogą być zlokalizowane przez palpację. Metoda jest szeroko stosowana, ale powodzenie badania zależy w dużej mierze od umiejętności lekarza.

Przykładem zastosowania biopsji cienkoigłowej jest badanie tarczycy, w którym lekarz pobiera próbkę komórek tarczycy za pomocą cienkiej igły wprowadzonej bezpośrednio do gruczołu.

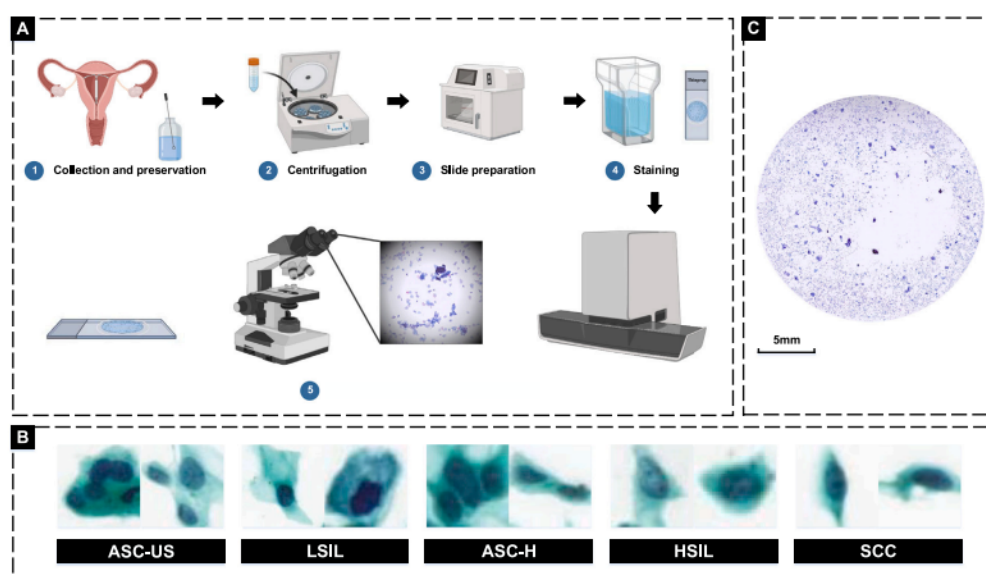


Fig. 1. Illustration of clinical cytology screening. (A) The procedure of cytology specimen preparation (taking the cervix as an example). (B) Cytology images in different categories. (C) Whole slides for digital processing and analysis.

Figure 4.1: Przebieg typowego badania - diagnostyki cytologicznej