

616—006.04—076

KLINICKÁ CYTOLOGIE V DIAGNOSTICE MALIGNITY*)

Plk. MUDr. Milan JERIE,

oddělení klinických laboratoří Ústřední vojenské nemocnice v Praze
(náčelník plk. doc. MUDr. Miloslav Arient, CSc.)

Kardinálním problémem v cytologickém vyšetřování je zpravidla diagnostika malignity. Cytologická náterová technika byla vypracována k vysoké dokonalosti zásluhou morfologické hematologie. Punkční cytologická biopsie kostní dřeně se stala obecně dostupnou vyšetřovací metodou onemocnění krvevotvorby včetně maligního systémového bujení. Hematolog může přiměřeně použít obecně cytologických diagnostických hledisek i při vyšetřování dalších orgánů krvetvorby, tj. mízních uzlin a sleziny, jakož i při diagnostice zhoubného bujení vycházejícího z jiných orgánů, pokud lze získat cytologický materiál pro vyšetření na podložním skle [11, 12, 13, 19, 20].

Při podezření na maligní proces se volí v běžné klinické praxi zpravidla tyto technické postupy k získání materiálu pro cytologické vyšetření.

1. **Punkce.** Nebudeme popisovat punkci kostní dřeně, jejíž technika je všeobecně známa. Sternální jehla je však pro punkci jiných orgánů nevhodná, poněvadž příliš traumatizuje nabodnutý orgán, zvyšuje riziko krvácení a zaplavuje získaný cytologický materiál periferní krví. Pro punkci měkkých orgánů jsou vhodné dlouhé tenké jehly o zevním průměru 0,6 až 0,8 mm. Velmi dlouhé jehly tohoto kalibru se však obtížně vpichují do kůže, neboť se ohýbají; pak je nutné předem propíchnout kůži silnější jehlou a cytologickou jehlou jako mandrénem provést teprve vlastní vpich do vyšetřované tkáně. Anestézie není třeba, vpich není o nic více bolestivý než jakákoli podkožní injekce. Jehlu používáme bez mandrénu a během pronikání orgánovou tkání kontinuálně nasáváme

nasazenou stříkačkou. Všechny použité jehly i stříkačka musí být bezvadně suché [18].

Získané množství materiálu je malé, jedna nebo dvě kapky, jež ulpí zpravidla v jehle, avšak postačí docela dobře ke zhotovení několika krátkých tenkých náterů dostatečně bohatých na buňky. Popsaným způsobem možno lehce punktovat zvětšené mízní uzliny [3, 6, 8, 9, 10, 16], zvětšenou slezinu [5], různé povrchní tumory, zvětšenou štítnou žlázu, zvětšené slinné žlázy, cervikální cysty, játra [7], plíce, ledvinu i jiné orgány [18]. Odběr materiálu k cytologické biopsii sleziny provádíme často s výhodou současně s punkcí pro splenoportografii pod kontrolou rtg. Nasátí materiálu je samozřejmě nutno provést před vstříknutím kontrastní látky.

2. **Otisky.** Za účelem histologické biopsie chirurgicky excidované orgány či jejich části lze výhodně zpracovat též cytologicky, a to otiskem čerstvé řezné plochy na podložní sklo. Otisk je nutno provést ihned po exstirpaci, nejlépe ještě přímo na operačním sále, dříve než je vyšetřovaný orgán vložen do histologické formolové fixáže. Tvoří-li se při otiskování místo žádoucích polosuchých skvrn na sklíčku kapky, je lépe volným tahem otiskovaného orgánu vytvořit delší náter, který je pak tenčí. Diagnosticky velmi významné je cytologické vyšetření otisků excidovaných mízních uzlin, u nichž toto vyšetření je často cennější než histologické a vždy se s ním vhodně doplňuje, takže nemá být nikdy

*) Předneseno na celoarmádním shromáždění laboratorních pracovníků vojenských nemocnic ve Vojenské nemocnici SNP v Ružomberku 31. 10. 1967.

opominuto. Ale i u ostatních orgánů, zvláště např. jde-li o podezření na hemoblastom nebo hemoblastózu, je velmi cenné a někdy nenahraditelné. Podle našich původních zkušeností lze provádět velmi dobré otisky dokonce i z částí malých válečků tkáňových, získaných bioptickými jehlami pro histologické vyšetření např. jater.

3. Buněčné sedimenty patologických tělesných tekutin, nejčastěji pleurálního exsudátu a ascitu. Punktát k cytologickému vyšetření se zachytí do malé zkumavky (5 až 10 ml) s jednou kapkou heparinu, promíchá a ihned donese do laboratoře k dalšímu zpracování. Podle potřeby se centrifuguje krátce a při nízkých otáčkách (10 až 15 min., 1500 ot./min.) a ze sedimentu se běžným způsobem zhotoví tenké nátěry (1, 2). Celý tento postup nemá trvat déle než 2 hodiny. Jakékoli zdržení při zpracování materiálu znamená značné zhoršení jemných cytomorfológických vlastností a znehodnocení celého vyšetření.

Tzv. exfoliativní cytologie pneumologická, gynekologická a gastroenterologická je zpravidla záležitostí příslušných odborníků samých, proto ji z tohoto obecného přehledu vypouštíme.

Při hotovení cytologických preparátů se musí v každém případě zachovat základní princip nátěrové techniky (14, 15), tj. zhotovit nátěry či otisky dostatečně tenké, aby rychle — během několika vteřin — zaschly a buňky byly pěkně rozprostřeny. Příliš silná vrstva tekutiny vede k dlouhému schnutí a buňky podléhají mezitím nekrobiotickým a nekrotickým změnám, špatně se barví, pozbývají svých typických a právě těch nejjemnějších vlastností a jsou sbaleny do kulaté formy, což vše činí jejich hodnocení obtížným až nemožným. Stejně nepříznivě se uplatňuje jakékoli prodlužování intervalu od izolace z těla do okamžiku zhotovení nátěru. Cytologický materiál ve vlhkém stavu rychle podléhá zkáze. Nezkušený pracovník v tomto bodě zpravidla nejčastěji chybí.

Suché nátěry vydrží několik dní beze změny, nejlépe je po 24 hod. je fixovat bezvodým meta-nolem 3 min. a pak obarvit běžným způsobem jako krevní nátěry technikou panoptického barvení May-Grünwald-Giemsa. Dobu barvení Giemsovým roztokem bývá nutné modifikovat, je vhodné obarvit jeden nátěr napřed na zkoušku a podle výsledku pak přizpůsobit barvení dalších preparátů téhož případu. Použití jiných tinkčních technik nemá proti metodice MGG žádné výhody (2, 15, 21).

Při posuzování cytomorfológických známek suspektních z malignity nutno hned úvodem uvést, že neexistuje žádná cytologická diagnostická známka specifická pro zhoubné bujení, jinak též řečeno, že nelze z jediné úchylné buňky vyslovit diagnózu zhoubného bujení. Teprve integrace počtu, kvality a závažnosti některých fyziologických a patologických úkazů může vést

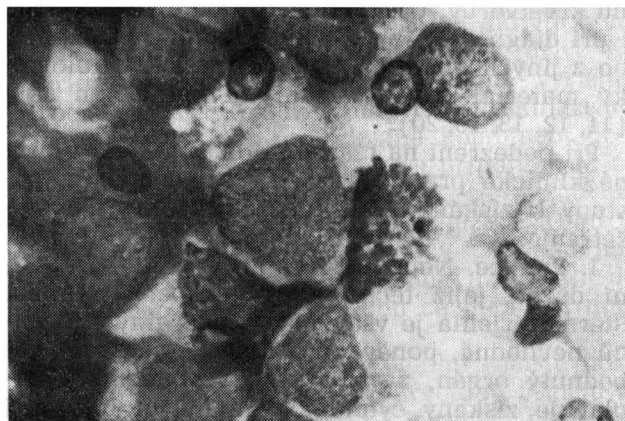
k určitějšímu závěru. Které jsou to **známky, jež mohou vést k výroku o podezření na malignitu?**

Jsou to jednak morfológické jevy indukující překotnou buněčnou proliferaci (někdy i fyziologickou!), jednak patologické anomálie podmíněné hlavně poruchami buněčného dělení a vyzrávání. Tyto anomálie vyplývají ze samé podstaty patofyziologie nádorového růstu, a jsou proto velmi hojně zastoupeny v nátěrech z maligních tumorů; vyloženě specifické pro maligní růst však nejsou, neboť v nepatrném procentu je lze nalézt i v tzv. normální nebo benigní buněčné populaci.

Hlavní morfológické známky budící podezření na maligní charakter patologických nálezů uvádíme souhrnně v následujících odstavcích. Je důležité, že sarkomy a karcinomy se v některých níže uvedených bodech poněkud liší, což je dáno rozdílným patofyziologickým a konec konců i klinickým chováním obou těchto základních nádorových druhů. Karcinomy obecně jeví pomalejší progresi a vyšší stupeň tkáňové a buněčné diference než sarkomy.

1. Zvýšené procento mitóz. Za normálních okolností nacházíme mitózu jen velmi vzácně, 1 až 2 na 1000 buněk příslušného druhu, a to i v tak proliferace aktivních tkáních, jako je mízní uzlina. U sarkomů bývají mitózy velmi hojné, velmi často jde o mitózy patologické, nepravidelné a multipolární mitotické figury s neuspořádanými a aberantními chromozomy. U karcinomů mitózy nemusíme zastihnout (obr. 1).

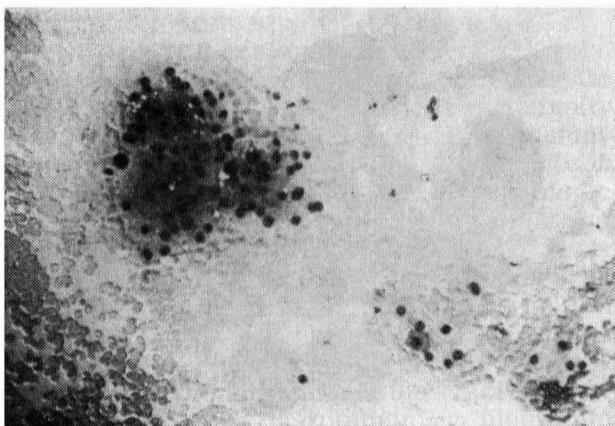
Obr. 1



Otisk excidované uzliny. Metastatická infiltrace uzliny velkými velmi anaplastickými tumorózními buňkami. Mitóza. 1200krát

2. Výskyt buněčných trsů v nátěru. Trsy jsou různě veliké, čítají několik buněk až několik desítek buněk, často rázu syncytií bez zřetelných buněčných hranic, nebo dokonce nahloučené jaderné masy bez viditelného cytoplazmatického lemu (obr. 2).

Obr. 2

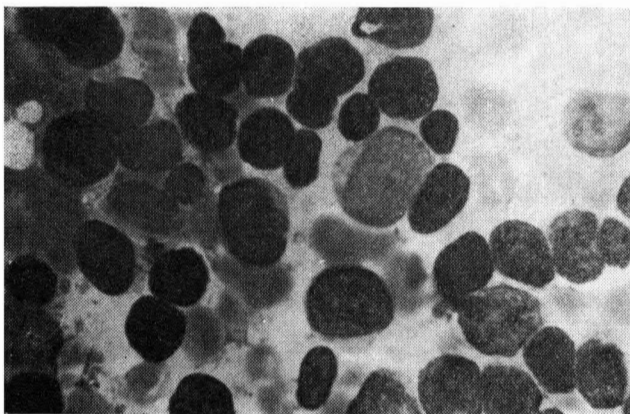


Nátěr sternálního punktátu. Syncytiální trsy maligních buněk metastatického původu (šlo o Grawitzův nádor). Naprostý útlum hemopoetické tkáně. 200krát

V benigních i maligních exsudátech z pleurální a peritoneální dutiny najdeme často pravidelné okrouhlé morulovité trsy většího počtu buněk nepříliš zralých epitelálního rázu (15, 21), jež někdy svou morfologií svádějí k unáhleným závěrům na malignitu. Podle našeho názoru jde v těchto případech o plovoucí rostoucí buněčné kolonie, jež pro cytologickou diagnostiku nemají valné ceny. Tato „tkáňová kultura“ buněk v exsudátu podléhá již zcela svérázným zákonům růstu známým z kultivace tkání. Poněvadž kultivované buňky — jak známo — ztrácejí diferenciaci, nelze za těchto okolností rozlišit, zda jde o benigní či maligní buněčný klonus, jinými slovy, zda jde v našich konkrétních klinických případech o buňky původu mezoteliálního nebo karcinomového.

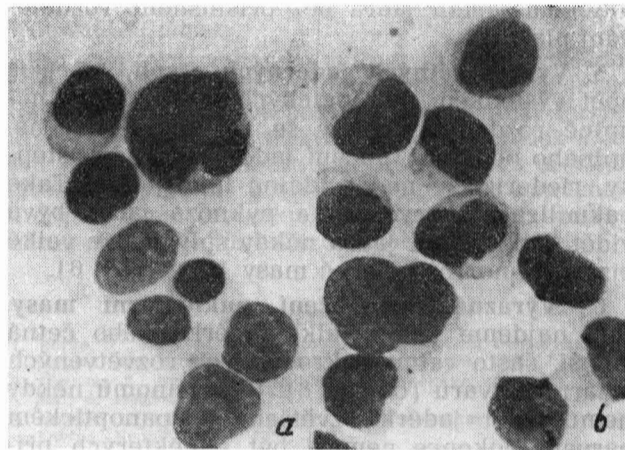
3. Výrazná polymorfie buněk, jádra i plazmy. Polymorfie se týká velikosti, tvaru i struktury (obr. 3, 4). Např. průměr jader kolísá v poměru až 1 : 3 a více. Tvar jádra buněk i z téhož trsu jeví značnou rozmanitost, je kulatý, oválný, laločnatý až monstrózní. Zatím co u sarkomů bývá struktura chromatinu u většiny buněk velmi jemná a řídká, tedy krajně nezralá, u karcinomů jeví často jistý stupeň vyzrálosti nebo je obecně i dosti hrubá.

Obr. 3



Otisk excidované uzliny. Nápadná polymorfie a jaderné atypie u lymfosarkomu. 1200krát

Obr. 4



Otisk excidovaného krčního nádorku. Jaderné atypie a polymorfie u retikulárního sarkomu. 1200krát

Plazma je u některých buněk široká, častěji však najdeme jen uzounký lem plazmatický kolem relativně velkého jádra nebo vůbec jen nahé jádro. Jádrolazmový poměr bývá totiž zpravidla silně posunut u tumorózních buněk ve prospěch jádra. U sarkomů je plazma obvykle bazofilní, u karcinomů někdy také polychromatofilní i oxyfilní. Tumorózní buňky, zvláště karcinomové, jsou často nápadně mimořádnou velikostí, obvykle jsou mnohem větší než homologní buňky normální. Tumorózní buňky jsou všeobecně dosti fragilní, takže v nátěrech nalézáme hojnost buněčných a jaderných stínů, buněčného detritu a s tím v souvislosti — pokud je přítomna mezenchymální tkáň — i rozmnožení a zvýšenou aktivitu fagocytů.

4. Výskyt mnohojaderných buněk a obrovských buněk s četnými jádry navzájem se překrývajícími. Jednotlivá jádra se opět značně mohou lišit navzájem co do velikosti, tvaru a struktury chromatinu (obr. 5). Jde o důsledek anomálií buněčného dělení, k tvorbě obrov-

Obr. 5



Nátěr sedimentu hrudního punktátu. Obrovská mnohojaderná buňka při karcinomu pleury. 1200krát

ských buněk dochází zejména při častém amitotickém dělení jádra bez příslušného rozdělování plazmy.

5. **Výskyt četných jaderných atypií**, jež jsou opět výsledkem patologických mitóz: jádra neúplně rozdělená, někdy se zřetelnou linií neúplného oddělení, pučení jader, jaderné odštěpky, riederizace, nepravidelné laločnatění. Také vakuolizace, karyorexe a pyknóza jader bývá vidět. Pyknotická jádra někdy splývají ve velké bizarní amorfni jaderné masy (obr. 3, 4, 6).

6. **Výrazné rozmnožení nukleolární masy.** Buď najdeme jedno velké jadérko nebo četná menší, často velmi pokroucených rozvětvených bizarních tvarů (obr. 7, 8). U karcinomů někdy nemusí být jadérka zvětšená, v panoptickém barvení dokonce nemusí být v některých případech ani viditelná. Hodnotit velikost nukleolů lze jen v nepoškozených buňkách, neboť při cytolyze se jádro a zejména jadérko arteficiálně značně zvětšuje.

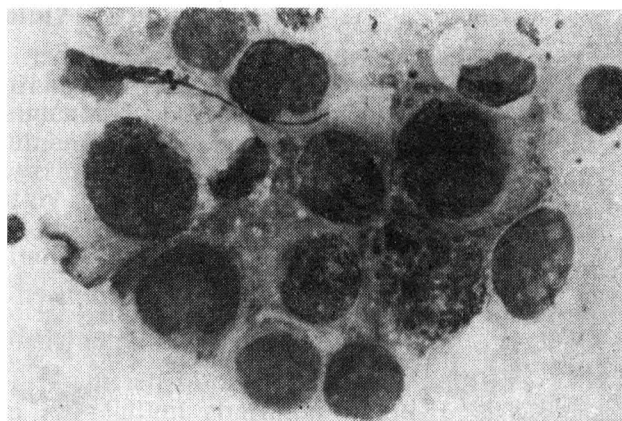
7. **Anaplazie.** Chybění známek morfologické a funkční diferenciacie plazmy, zejména u sarkomových buněk, je naprosto typické, plazma je nezralá, obsahuje nejvýše někdy jen azurofilní granula, nebo je jemně či hruběji vakuolárně degenerovaná (obr. 1, 4, 5). U karcinomových buněk nebývá stupeň anaplazie vždy tak vysoký, takže lze někdy pozorovat i známky sekrece hleny, strádání glykogenu apod. Buňky prsténčité (Siegelringzellen) jsou však běžné v exsudátech za nejrůznějších okolností, mohou být též mezotelového původu a nemusí jít vždy hned o buňky karcinomové.

8. **Heterotopie.** Výskyt buněk morfologicky cizorodých ve vyšetřované tkáni budí vždy vážné podezření na metastaticky zavlečené elementy (3) (obr. 1, 2).

9. **Útlum (až úplné chybění) normálních autchtomních buněk** v určitém orgánu je rovněž suspekt z event. útlaku metastatickými maligními strukturami (obr. 1, 2). Je pochopitelné, že hodnocení uvedené ve dvou těchto posledních bodech vyžaduje zkušenosti v identifikaci normálních struktur při cytologickém vyšetření.

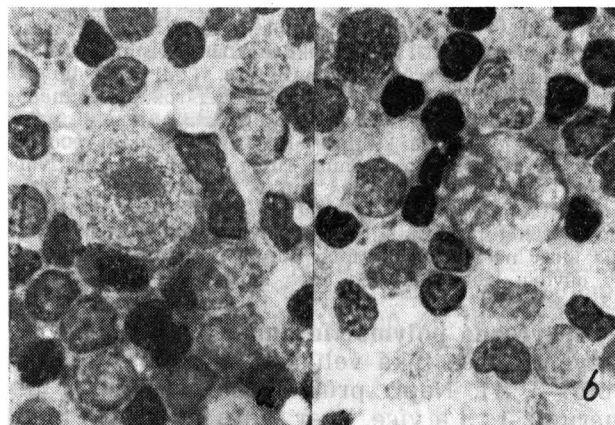
10. **Nález specifických tumorózních elementů.** Jde hlavně o obrovské buňky Reedovy-Sternbergovy, jejichž přítomnost svědčí s vysokou pravděpodobností — a při příslušném korelátu klinickém s jistotou — pro diagnózu maligního lymfogranulomu. I zde však byly popsány vzácnější výjimky (17). Typická Reedova-Sternbergova buňka v nátěru má průměr asi 60 až 80 μm , nepřilíší širokou bazofilní plazmu, v níž je rozloženo několik nestejně velkých, vzájemně se překrývajících jader s chromatinem jemně trámčitým a s obrovskými fialově modrými nukleoly značně nepravidelného tvaru. U buněk více roztažených nebo poškozených je plazmatický lem širší a jeho barva je podstatně bledší. Od typických buněk Reedových-Sternbergových lze nalézt plynulé přechody přes tzv. presternbergovské buňky až k iritovaným velkým buňkám lymfoidního retikula. Tyto přechodné elementy

Obr. 6



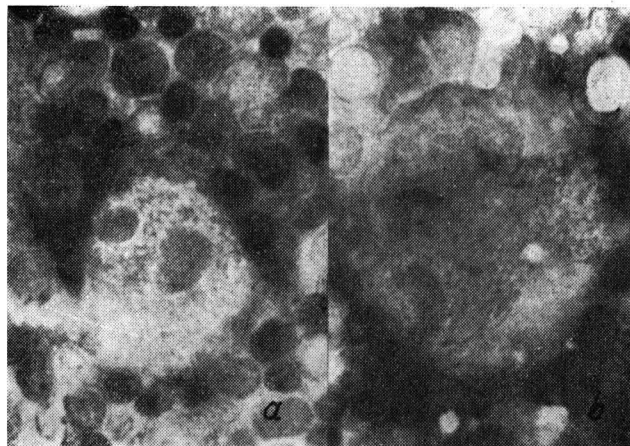
Týž preparát. Karyorexis. 1200krát

Obr. 7



Otisk excidované krční uzliny. a) Patologická velká lymfoidní retikulární buňka s velkým jádrem (tzv. presternbergovská buňka). b) Mitóza téhož buňčného druhu, nad ní eozinofilní granulocyt. 1200krát

Obr. 8



Týž preparát. a) Presternbergovská buňka, ještě více anaplastická než předchozí. b) Pravá Reedova-Sternbergova buňka. 1200krát

mají podobné morfologické vlastnosti jako právě Reedovy-Sternbergovy buňky, ale jen jedno velké jádro (obr. 7, 8).

Jak už zdůrazněno, teprve větší výskyt právě popsaných fenoménů a jejich vzájemná kombinace budí větší či menší podezření z malignity. Nález ojedinělých anomálií je málo významný, dají se nalézt vzácně i u zcela zdravých osob, kde zapadají zřejmě do rámce extrémů biologické variability. U některých proliferativních syndromů zánětlivého a regenerativního rázu nebo následkem působení fyzikálních a chemických nox (záření, cytostatika) se mohou některé z těchto úchylek objevit dokonce ve značně větším počtu. Zejména některé druhy buněk, např. buňky lymfoidního retikula ve dřeni kostní a také buňky mezoteliální v pleurálním exsudátu a ascitu mohou svou polymorfii a zvýšenou proliferativní aktivitou imitovat neoplastické elementy (4, 15). Toto obtížné diferenciálně diagnostické hodnocení vyžaduje již určité zkušenosti. Morfolog proto musí vyslovit svůj soud v každém případě s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu nemocného, jen tak může ve vzájemných souvislostech vytěžit co nejvíce z laboratorního nálezu.

V kladném případě se závěr cytologického vyšetření omezí většinou jen na obecné konstatování malignity s větší či menší mírou pravděpodobnosti. Méně často je možné vyslovit určitější soud též o tom, zda jde o karcinom nebo o sarkom. Při nálezu maligního bujení v mízní uzlině lze někdy pokusit se o bližší specifikaci tumoru, např. lymfogranulom, lymfosarkom, retotelsarkom, lymfogenní metastáza karcinomu. Zařazování karcinomů, zejména jejich metastáz, podle orgánového východiska je ve valně většině případů v cytologické nátěrové praxi nemožné. Zde řekne rozhodující slovo daleko spíše histologické vyšetření.

Souhrn

Popsány základní technické možnosti odběru a zpracování materiálu pro cytologické vyšetření, po-

kud jsou proveditelné v každé klinické laboratoři. Používáno výlučně nátěrové techniky; barvení May—Grünwald—Giemsa.

Pro diagnózu malignity může s určitou pravděpodobností svědčit řada cytomorfologických známek, které jsou však ve své podstatě diagnosticky nespecifické. Teprve velká frekvence těchto úchylek a jejich vzájemná kombinace umožňují vyslovit určitější závěr. Metodika má obecnou platnost pro nejrůznější orgány a může v některých případech významnou měrou přispět ke klinické diagnostice malignity.

Literatura

1. Berge, T., Hellsten, S.: Cytological diagnosis of cancer cells in pleural and ascitic fluid. Acta cytologica, 10, 1966, 2:138—140.
2. Dittich, Z.: Vyšetřování nádorových buněk ve výpocích. Vnitř. lékař., 8, 1960, 10:1084—1087.
3. Donner, L.: Punktionsdiagnostik von Krebsmetastasen in Lymphknoten. Neoplasma, 4, 1957, 3:263—271.
4. Ebner, H.: Grundlagen der Zytodiagnostik. Ärztl. Lab., 12, 1966, 7:201—209.
5. Heřmanský, F.: Über die Bedeutung der Milzpunktion bei Splenomegalie. Neoplasma, 4, 1957, 3:246—262.
6. Hromec, A.: Zytodiagnostik von Hämoblastosen und Retikulosen aus dem Adenogramm. Neoplasma, 4, 1957, 3:238—247.
7. Hrubisko, M.: Über die Bedeutung der Leberpunktion für die Hämatologische Zytodiagnostik, insbesondere der Neoplasmen. Neoplasma, 4, 1957, 3:227—237.
8. Libánský, J.: Diagnostické nábodávání mízních uzlin. Praha, SZdN., 1948, str. 176.
9. Libánský, J.: Diagnostické obtíže s odlišováním zhoubných a nezhoubných onemocnění lymforetikulární tkáně. Vnitř. lékař., 13, 1967, 7—8:737—748.
10. Libánský, J.: Klinische Diagnostik maligner Lymphadenopathien. Neoplasma, 4, 1957, 3:272—282.
11. Lüdin, H.: Cytologie und Histologie in der morphologischen Diagnostik. Schweiz. med. Wschr., 88, 1958, 13:309—310.
12. Papageorgiou, A.: Cytodiagnostische Untersuchungsverfahren in der inneren Medizin. Internist, 4, 1963, 12:546—554.
13. Scheuer-Karpin, R.: Einfache zytodiagnostische Methoden und Hinweise für das klinische Laboratorium. Heilberufe, 12, 1960, 2:48—52.
14. Scheuer-Karpin, R.: Die Technik des Blutaussstrichs. Ärztl. Lab., 13, 1967, 9:383—385.
15. Scheuer-Karpin, R., Singer, B.: Die Technik der Zytodiagnostik von Ergüssen aus Pleural- und Peritonealraum. Ärztl. Lab., 11, 1965, 11:320—327.
16. Schricker, K. T., Witte, S.: Die Bedeutung der Lymphknotenpunktion für die klinische Diagnostik. Folia haematol., N. F., 8, 1963, 1—4:218—221.
17. Schwartz, A., Dort, V.: Reaktivní pseudotumorózní retikulóza po triantoinu. Čas. lékař. Čes., 104, 1965, 26:718—722.
18. Söderström N.: Identification of normal tissues and tumors by cytologic aspiration biopsy. Acta Soc. Med. Upsalensis, 63, 1958, 1—2:53—87.
19. Stolz, J.: Hranice cytologického a histopatologického vyšetřování v morfologické diagnostice chorob. Čas. lékař. Čes., 99, 1960, 41:1312—1313.
20. Šimeček, C.: Cytologická vyšetření v pneumologii. Praha, SZdN, 1963, str. 208.
21. Toušek, M.: Diferenciální diagnosa pleuritického syndromu. Praha, SZdN, 1962, str. 164.

JUBILEA

6. prosince 1968 oslavil své padesátiny náčelník vnitřního oddělení vojenské nemocnice v Jaroměři, t.č. v Hradci Králové, plukovník MUDr. VÁCLAV DOBÍŠ.

Do dalších let mnoho zdraví a osobních úspěchů upřímně přeji spolupracovníci.

UPOZORŇUJEME

vojenské lékaře na Sb. MNO č. 23/1968, ve které je vypsáno konkursní řízení na obsazování volných míst ve vojenských nemocnicích.

Další konkursní řízení bude vypsáno v následující Sbírce MNO v lednu 1969.