

Tsütoloogia patoloogia osana tänapäeva meditsiinis

Natalia Lapidus – Põhja-Eesti Regionaalhaigla Hiiu patoloogiaosakond

tsütoloogia, ajalugu, materjali võtmine ja töötlemine, terminoloogia ja klassifikatsioonid, tsütoloogia suutlikkus

Elusrakk on looduse kõige tähtsam leiutis. Raku suutlikkus pidevalt säilitada tasakaalu, mille ilminguks on elu, peaks pidevalt häälestama iga mõtlevat inimest.

Sir Rudolf Peters

British Medical Bulletin 1968;24:99,

Ajalugu

Kliiniline ehk diagnostiline tsütoloogia on ühelt poolt tihedalt põimunud patoloogia kui eriala arenguga, teisalt ka konkreetsete ajaloo vältel tehtud avastustega:

- mikroskoobi leiutamine;
- rakuteooria;
- proovide säilitamise, värvimise ja klaasile seadmise tehnika väljatöötamine;
- mõistmine, et koetükkide ja rakkude uurimise alusel on võimalik määrata kehaliste muutuste olemust (1).

Rakupatoloogia rajajaks on sakslane Rudolf Virchow (1821–1902). 1858. aastal ilmus tema teos "Rakupatoloogia", kus ta püstitas doktriini: "*Omnis cellula e cellula*" ("Kõik rakud tekivad teistest rakkudest"). Rohkem kui 150 aastat tagasi, 1838. aastal, kirjeldas ja illustreeris Mueller esimesena kasvajate rakke sellisena, nagu neid võis näha mikroskoobi all (2).

Diagnostilise tsütoloogia kui tänapäevase meditsiinidistsipliini tunnustamisel võlgname tänu dr George N. Papanicolaou'le, kaasaegse tsütoloogia rajajale. 1928. aastal väitis George Papanicolaou, et tsütoloogiline uuring on emakaelavähi diagnoosimisel oluline diagnostilise protseduur (1). Suurbritannias soovitasid Dudgeon ja Patrick 1927. aastal mikroskoopilise kiirdiagnostika võimalusena kasvajate punkteerimist. Skandinaavia maades algas peennõelaga tehtava aspiratsioonitehnika kõrgaeg eelmise sajandi keskel (2).

Tsütoloogia patoloogia osana

Tsütoloogilised ehk rakupatoloogilised uuringud kuuluvad vaieldamatult patoloogiaosakonna igapäevase tegevuse hulka. Viimase 10–15 aasta jooksul on selles tegevuses toimunud palju muutusi, mille põhjuseks on kiired muutused arstiteaduses ja tehnoloogias ning arvutite kasutuselevõtt ja ökonoomsuse arvestamine.

Muutused tsütoloogias

Tsütoloogias on aset leidnud järgmisi muudatused:

- kirurgiliste erialade materjali uurivad patoloogid on hakanud tegelema süvendatult tsütoloogia kui erialaga;
- tsütoloogilisest diagnoosist on saanud lõpliku patoloogilise diagnoosi osa;
- spetsialiseerumine on muutunud olenevalt sellest, millisele valdkonnale vastav kliinik on kitsamalt spetsialiseerunud;
- kehasiseste protseduuride hulk ja töökoormus on suurenenud;
- aspiratsiooninõelad on muutunud peenemaks ja seega tsütoloogilised proovid väiksemaks (ainult paar rakku);
- kasutusele on võetud uued töötlemis- ja värvimismeetodid (rakutsentrifuug, läbivoolutsütomeetria jne);
- tsütoloogilise diagnoosi progностiline ja terapeutiline tähtsus on järjest suurenenud (3).

Proovide võtmine

Keha erinevatest piirkondadest võetud proovide tsütoloogilise uuringu täpsus sõltub materjali kvaliteedist ning prepareerimise ja värvimise õigsusest. Kui need nõuded ei ole täidetud, on tulemus küsitava väärtusega. Tsütoloogiliste proovide saamiseks on kolm peamist meetodit (2):

1) irdrakud:

- iseeneslikud eritised,
- õõnesised punktsioonid,
- endoskoopia käigus saadud eritised;

2) harjaga kogutud rakud;

3) peennõela aspiratsioonibiopsia.

Intraoperatiivne diagnostika

Tsütoloogilisi meetodeid kasutatakse ka operatsiooniaegseks kiirdiagnostikaks (vana termin on kiiruuring või *cito*-uuring) kas iseseisvalt või koos histoloogilise uuringuga.

Tavaliselt kasutatakse intraoperatiivdiagnostikas järgmisi tehnilisi võtteid:

- 1) materjali visuaalne hindamine,
- 2) sügavkülmutatud materjalist preparaate valmistamine (*frozen section*),
- 3) tsütoloogilised preparaadid.

Kasutatakse nelja põhilist tsütoloogilise preparaadi tüüpi (4):

- 1) puutepreparaadid,
- 2) kaape- ja äigepreparaadid,
- 3) surve-äigepreparaadid,
- 4) intraoperatiivne peennõelaaspiratsioonibiopsia.

Fikseerimismeetodid

Järk-järgult võeti kasutusele erinevaid fikseerimismeetodeid, kuid õhu käes kuivatamine ja alkoholi abil (etanool, propanool või metanool) fikseerimine jäid siiski põhimeetodiks. Rõhutamist vajab, et profülaktilistel günekoloogilistel läbivaatustel on emakakaelast võetud rakuproovid vajalik fikseerida etanooliga – ainult see võimaldab järgnevat üldtunnustatud Papanicolaou järgi värvimist koos rahvusvaheliselt tunnustatud standardse hindamisega.

Värvimismeetodid

Tänapäeval on olemas mitmeid värvimismeetodeid. Laialdaselt kasutusel olevad meetodid on Romanowsky värvimine (metüleensinise ja eosiini kombinatsioonid) või May Grünwald Giemsa, samuti selle variant Diff-Quik'i värvimine, Papanicolaou kolme värvi meetod, hematoksüliini ja eosiiniga värvimine; samuti spetsiaalsed värvimismeetodid paljude rakusiseste osiste jaoks (histokeemilised meetodid) ning veel üks värvimismeetod – immunotsütokeemia, mille puhul rakendatakse antigeen-antikeha reaktsiooni. Võimalik on kasutada mitmeid täiendavaid värvimismeetodeid

Terminoloogia ja klassifikatsioon

Terminoloogia ei ole aja jooksul muutumatu: see areneb paralleelselt paraneva arusaamisega haigustest ning koos ravimuudatustega.

Papanicolaou klassifikatsioon

1950. aastal töötas George Papanicolaou välja viieklassilise diagnostilise süsteemi emakakaela tsütoloogilise leiu hindamiseks. Papanicolaou süsteemis tähendasid klassid järgmist (2):

I klass – normaalsed rakud;

II klass – väiksed healoomulisteks peetavad rakulised anomaaliad;

III klass – vähikahtlusega, kuid kindlaks vähidiagnoosiks ebapiisav leid;

IV klass – kindlalt pahaloomulised rakud;

V klass – kindla vähi tüübile iseloomulikud rakud.

Papanicolaou klassifikatsioon loodi algselt ainult emakakaela tsütoloogiliste proovide hindamise jaoks, kuid hiljem sai sellest universaalne hea- ja pahaloomuliste haiguskollete määramise skaala. Seoses uue teooriaga vähi arengust vähieelsest rakust on osutunud Papanicolaou klassifikatsioon ebapiisavaks, kuna seda sai võimalik erinevalt tõlgendada ning see süsteem ei võimaldanud klassifitseerida mittevähktüvelisi leide (2). Sellele vaatamata selgus 1987. a korraldatud uuringul, et 72% laboratooriumitest kasutavad Papanicolaou klassifikatsiooni (2).

Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO)

klassifikatsioon

Pärast Papanicolaou klassifikatsiooni esitati WHO klassifikatsioon emakakaela rakupatoloogia jaoks, kus oli tarvitusele võetud düsplaasia mõiste. Düsplasia on moodustushäire (väärmoodustus) (5). WHO definitsiooni kohaselt on düsplaasia "kahjustus, mille puhul osa normaalseid rakke epiteelkoe kihis asendavad atüüpilised rakud". Enamik patolooge määravad düsplaasia astmeid atüüpilistest rakkudest haaratud epiteelkoe kihi paksuse järgi, võttes arvesse nende rakkude atüüpilisuse astme.

Kahjustused jaotakse järgmiselt:

1) kerge düsplaasia (atüüpilised rakud haaravad 1/3 epiteeliaalkihi paksusest);

2) mõõdukas düsplaasia (atüüpilised rakud haaravad 2/3 epiteeliaalkihi paksusest);

3) raske düsplaasia / *Carcinoma in situ* (tekkekohaga piirdunud vähk) – atüüpilised rakud haaravad kogu epiteeliaalkihi paksuse. Terminiga *Carcinoma in situ* kirjeldatakse pahaloomulise tunnustega rakkude põhjustatud epiteeliaalkoe kahjustusi, millel puudub invasiivne kasv. *Carcinoma in situ* on tunnustatud kui invasiivse kasvuga pahaloomulisele protsessile eelnev kahjustus;

4) invasiivne vähk.

CIN (emakakaela epiteelkoesiseste haiguskollete) klassifikatsioon

Võeti kasutusele termin "emakakaela epiteelkoesisene neoplasia" (*cervical intraepithelial neoplasia*, CIN). Klassifikatsioon toetub arusaamale, et pahaloomulise kasvaja areng on protsess vähieelsest rakust kuni invasiivse kasvuga vähini (6). See on peaaegu sarnane eelmise klassifikatsiooniga ja sinna kuuluvad järgmised klassid:

- CIN 1,

- CIN 2,

- CIN 3 / *Carcinoma in situ*.

Võiks lisada et WHO ja CIN klassifikatsiooni termineid ei kasutata mitte ainult emakakaela, vaid ka teiste organite tsütoloogiliste ja ka histopatoloogiliste uuringute kirjeldamisel.

Bethesda klassifikatsioon

Bethesda klassifikatsioonisüsteem emakakaela lesiooni kirjeldamiseks võeti kasutusele 1991. aastal. Tänapäeval kasutatakse Bethesda klassifikatsiooni põhielemente nii emakakaela kui teiste organite tsütoloogilise leiu kirjeldamisel. Selle kasutusele võtmise põhiliseks ajendiks oli asjaolu, et tsütoloogiline hinnang peab olema meditsiiniline konsultatsioon ning konsultatsiooniks kasutatakse numbriline PAP klassifikatsioon üksi ei ole vastu võetav nüüdisaegses diagnostilises tsütopatoloogias.

TBSis (*Tumor Bethesda System*) on olemas kolm põhilist elementi:

1) otsus proovi adekvaatsuse kohta:

- hindamiseks rahuldav,

- mitterahuldav,

2) üldine liigitus:

- normaalne,

- ebanormaalne,

3) kirjeldav diagnoos:

- infektsioonid,

- reaktiivsed ja paranemisega seotud muutused,

- epiteeliaalsed rakulised ebanormaalsused,

- mitteepiteeliaalsed maliigsed neoplaasiad,

- hormonaalne hinnang.

On jõutud konsensuseni (7), et lisaks tsütoloogilise leiu üksikasjalikule kirjeldamisele peab tsütoloogi vastus raviarstile olema tekstipõhine ja sisaldama

- hinnangut proovi nõutekohasusele,

- hinnangut epiteelkoe normi olemasolu või puudumise kohta,

- kirjeldavat diagnoosi,

- soovitusi (nt teha lisauuringud, korrata uuring teatud aja pärast jms).

Erinevates süsteemides orienteerumist lihtsustab tabel 1 (8).

Tsütoloogia diagnostiline suutlikkus

Kahjuks ei ole tsütoloogia diagnostiline suutlikkus piiramatult. PAP-meetodil värvitud äigepreparaatide süstemaatiline rakendamise tulemusel on emakakaelavähi esinemine siiski märkimisväärselt

Tabel 1. Emakakaela tsütoloogilise uuringu hindamise erinevad süsteemid

Klasside (PAP) süsteem	WHO süsteem	CIN süsteem	Bethesda süsteem
I	Normaalne	Normaalne	Normi piirides
II	Põletik		Reaktiivsed põletikulised muutused Infektsioon
III	Düsplaasia (kerge – mõõdukas atüüpia) kerge mõõdukas	Tservikaalne epiteelkoesisene neoplaasia (CIN) CIN I CIN II	Lameepiteeli rakude kahjustus (SIL) Madala astme SIL; HPV* Kõrge astme SIL
IV	Raske düsplaasia <i>Carcinoma in situ</i> (tekkekohaga piirdunud vähk)	CIN III	Kõrge astme SIL
V	Invasiivne lamerakuline kartsinoom Adenokartsinoom	Lamerakuline kartsinoom Adenokartsinoom	Lamerakuline kartsinoom Adenokartsinoom

*HPV – inimese papilloomiviirus

vähenenud. Samas aga teadaolevate vale-negatiivsete PAP-proovide osakaal ulatub 6%st kuni 55%ni, tõenäoliselt aga on see umbes 20–30%. Ligikaudu kahe kolmandiku vale-negatiivsete tulemuste põhjuseks on proovide vale võtmine, umbes üks kolmandik vigadest tuleneb aga sellest, kui proovi hindamisel ei pöörata diagnostilistele rakkudele tähelepanu (vaatlusviga) või kui tsütopatoloog märkab diagnostilisi rakke, kuid tõlgendab neid valesi (tõlgendusviga) (9). Kõik preparaadid ei vasta usaldatavatele diagnostilistele kriteeriumidele ja seda tuleb ka teadvustada. Tabelis 2 on näidatud erinevate invasiivsete protseduuride abil saadud preparaatide uurimise tulemuste usaldusväärsus kopsuvähki põdevatel patsientidel (10).

Igal meetodil ja nii ka tsütoloogial on oma piirangud, mille tõttu haigust on võimalik identifitseerida paralleeluuringu, -meetodite abil.

Tabel 2. Erinevate invasiivsete protseduuride abil saadud preparaatide uurimise tulemuste usaldusväärsus kopsuvähki põdevatel patsientidel

Protseduur	Diagnoosi usaldusväärsus %
Transbronhiaalne biopsia	45
Bronhiaalne hariibiopsia	30
BAL (bronhiaal-alveolaarne loputus)	55
FNA (peennõelaaspiratsioon)	65
Avatud kopsu biopsia	71
Video-torakoskoopiline biopsia	100

Näiteid

1. Kui on olemas materjalid mitmetuumalised epitelioidsed rakud, tuleb teha vahet võõrkeha, mükobakteriaalse ning seennakkuse, sarkoidoosi, paraneoplastiliste, Wegeneri, pneumokonioosi ja allergilise granulomatoosi vahel. Pealegi võivad mükobakteriaalsed infektsioonid tekkida nii tüüpilise kui atüüpilise mükobakteriaalse infektsiooni tagajärjel. Ainult tsütoloogilisest uuringust ei piisa haiguskollete olemuse kindlakstegemiseks. Vaja on histoloogilist uuringut, samuti erilist värvingut mükobakterite ja seennakkuste kindlakstegemiseks, aga ka bakterioloogilist uuringut ning mõnikord isegi PCRi (polümeraasahelreaktsiooni) patogeeni täpsemaks määramiseks (11, 12).

2. Kilpnäärme follikulaarse uudismoodustise puhul on invasiooni vältimiseks vaja histoloogiliselt uurida haiguskollet ümbritsevat kapslit (13).

3. Lamerakulise düsplaasia III / *Carcinoma in situ* puhul on võimalik mikroinvasiooni tõestada ainult histoloogilise uuringu alusel (4).

Vaatamata sellele, et mõnikord esinevad tsütoloogilises proovis anomaalsed rakud, pole see pahaloomulisuse kindlaks diagnoosimiseks küllaldane. Anomaalsete rakkude tekkimist põhjustavad:

- bakteriaalsed, viirus- ja seennakkused;
- eelnevalt saadud kiiritus;
- kemoterapia;
- toksilised ained;

Tabel 3. Valepositiivsete diagnooside esinemissagedus hingamisteedest võetud proovide puhul

Haigus	Valepositiivsed vähidiagnoosid (%)
Kopsupõletik	39,5%
Suitsetamine	20,9%
Verikõha	16,3%
Granulomatoos	14,0%
Abstsess	9,3%
Infarkt	4,6%

- epiteelkoe basaalne hüperplasia;
- reparatiivsed muutused.

Sageli on vale-positiivsete tulemuste põhjuseks atüüpiliste rakkude leidmine tsütoloogilises preparaadis. Tabel 3 illustreerib valepositiivsete diagnooside esinemissagedust hingamisteedest võetud proovide puhul (14).

Valenegatiivse diagnoosi põhjuseks on tavaliselt proovi võtmisel tehtud viga või tsütoloogilise eksimuse.

Ebakindla tsütoloogilise diagnoosi puhul on parim viis diagnoosi kinnitamiseks hankida selle histoloogiline proov, milleks võib olla haigus- koldest endoskoopiliselt või kirurgiliselt võetud bioptaat. Pahaloomulisuse korral on vajalik kasvaja klassifitseerida, et määrata adekvaatset ravi. Samas jätkavad arstid hospitaliseerimise vältimiseks vähem invasiivsete ja odavamate diagnostikameetodite otsimist. Selle tulemusena on peennõelaaspiratsiooni biopsia kasvajakoe ots sageli ainuke diagnostiline protseduur.

Kuna tsütoloogiline hinnang on samasugune meditsiiniline spetsialisti konsultatsioon nagu teisedki, tuleb selles kasutada praktilises meditsiinis kasutatavaid ja õigeid diagnostilisi termineid. Tsütoloogia on lahutamatu patoloogia osa ja väärtuslik diagnostikameetod oma valutuse, lihtsuse, kiiruse, odavuse ja usaldusväärsuse pärast.

Kirjandus

1. Kleber CM, Reagan JW. A manual of cytotechnology. Chicago: American Society of Clinical Pathologist.; 1995.
2. Wield GL, Kleber CM, Koss LG, Patten SF, Rosenthal DL. Compendium on diagnostic cytology. Chicago: Tutorials on cytology; 1992.
3. Ruby SG. Changing workload expectations for the pathologist. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1996.
4. Ranchod M. Intraoperative consultation in surgical pathology. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1995.
5. Valdes A, Veski JV. Ladina-estee-vene meditsiini - sõnaraamat. Tallinn: Valgus; 1982. lk. 295.
6. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. W. B. Saunders Company; 1991.
7. Schenck U, Herbert A, Solomon D. General information about terminology. Kättesaadav URL: http://www.zytologie.de/gen.info_engl.htm.
8. Patoloogiline leid emakakaela tsütoloogilise uuringu puhul. Naistekliiniku leht 1998 Mai; lk. 3.
9. DuBray-Benstein B. Diagnostic problems in gynecologic cytology. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1995.
10. Stover DE, Kaner RJ. Pulmonary complications in cancer patients. Cancer J Clin 1996;46:30.
11. Jones D, Fletcher G. How shall we apply the new biology to diagnostics in surgical pathology? J Pathol 1999;187:147-54.
12. Platanos I, Panagouli P, Bartziota E, Bakali O. Diagnosis of sarcoidosis in FNA of lymph nodes. Proceedings of the 27th European Congress of Cytology 2000 Sept 16-19, Lillehammer. Lillehammer: 2000. p.437.
13. Sygut J, Maziearz Z, Kulig A, Goydy S. How often a repeated fine needle biopsy (FNB) of the thyroid should be performed, if follicular neoplasms not treated surgically. Proceedings of the 27th European Congress of Cytology 2000 Sept 16-19, Lillehammer. Lillehammer: 2000. p.453.
14. Jonson WW, Frable WJ. The cytopathology of the respiratory tract. The American Association of Pathologists: Harper and Row Publishers; 1976.

Summary

Cytology is part of pathology in modern medicine

Clinical cytology is part of pathology; it is also termed diagnostic cytology, and its history is interwoven with the story of the development of pathology in general.

The acceptance of diagnostic cytology as a current and a valid discipline in medicine is largely due to the work of Dr. George N. Papanicolaou, the father of modern cytology. Already in 1928, Dr. Papanicolaou suggested that the cytological investigation of the cervix is of value in the diagnosis of cervical cancer.

During recent years many changes have occurred in cytopathology: pathologists have extended their expertise to cytopathology; cytological diagnosis has become part of final diagnosis; subspecialisation of cytopathologists; increasing number of invasive procedures; increasing workload; use of thinner aspiration needles and smaller cytological samples; introducing of new processing and staining methods.

There are three major types of cytologic sampling: exfoliative cytology (spontaneous shedding, cavity fluids, and endoscopic samplings), brushing and fine needle aspiration. The accuracy of the cytological examination of a specimen from any body site depends greatly on the quality of the material collected and on the adequacy of its preparation and staining. There are different widespread systems of classification in cytology: Papanicolaou classification, WHO classification, CIN classification and Bethesda classification. Unfortunately, diagnostic capabilities of cytology are not without limitations.

Cytology is extremely valuable diagnostic method - painless, simple, fast, cheap and reliable.

lapidusfamily@hotmail.com