

# Citodijagnostika raka pluća

---

Šajkunović, Ines

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:025222>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske  
dijagnostike**

**Ines Šajkunović**

**CITODIJAGNOSTIKA RAKA PLUĆA**

**Završni rad**

**Osijek, 2017.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske  
dijagnostike**

**Ines Šajkunović**

**CITODIJAGNOSTIKA RAKA PLUĆA**

**Završni rad**

**Osijek, 2017.**

Rad je ostvaren u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek

Mentor rada: doc. dr. sc. Branka Lončar

Rad ima 25 listova i 5 tablica

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Branki Lončar koja me svojim stručnim savjetima usmjerila ka konačnoj izradi rada i uvijek bila spremna pomoći. Također, zahvaljujem djelatnicima Kliničkog zavoda za kliničku citologiju i Kliničkog zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek na ustupljenim podacima koji su bili velika pomoć pri pisanju rada.*

*Posebno zahvaljujem roditeljima, sestri, dečku i prijateljima koji su mi bili potpora i oslonac u svakom trenutku tijekom školovanja.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Epidemiologija, patogeneza i podjela (klinička, histološka) karcinoma pluća.....	1
1.2. Patogeneza raka pluća.....	1
1.3. Histološka podjela karcinoma pluća.....	2
1.3.1. Karcinom žljezdanih stanica.....	2
1.3.2. Karcinom pločastih stanica.....	2
1.3.3. Karcinom malih stanica.....	3
1.3.4. Karcinom velikih stanica.....	3
1.4. Klinička podjela karcinoma pluća.....	3
1.5. Citološki uzorci u dijagnosticiranju karcinoma pluća.....	3
1.5.1. Sputum ili iskašljaj.....	4
1.5.2. Aspirat bronha.....	4
1.5.3. Bris bronha četkicom.....	5
1.5.4. Otisak ekscidirane sluznice.....	5
1.5.5. Bronhoalveolarna lavaža.....	5
1.5.6. Transbronhalna i transtrahealna punkcija.....	5
1.6. Imunocitokemija i molekularne tehnike u dijagnostici karcinoma pluća.....	5
2. CILJ.....	7
3. ISPITANICI I METODE.....	8
3.1. Ustroj studije.....	8
3.2. Ispitanici.....	8
3.3. Metode.....	8
3.3.1. Metoda bojenja po May-Grünwald Giemsi.....	9
3.3.2. Metoda bojenja po Papanicolaou.....	10
3.4. Statističke metode.....	10
4. REZULTATI.....	12
5. RASPRAVA.....	16
6. ZAKLJUČAK.....	19
7. SAŽETAK.....	20
8. ABSTRACT.....	21
9. LITERATURA.....	22
10. ŽIVOTOPIS.....	25





## 1. UVOD

Rak pluća je jedna od najčešćih malignih bolesti čija incidencija neprestano raste. Smatra se ozbiljnim zdravstvenim problemom zbog velike smrtnosti i loše prognoze oboljelih osoba (1). Porast incidencije raka pluća počinje početkom dvadesetog stoljeća što se objašnjava kao stvarni porast oboljelih, ali i relativnim porastom zbog povećanja osjetljivosti i specifičnosti metoda, te povećanja zainteresiranosti i informiranosti populacije o toj vrsti raka (2). Citološke tehnike imaju važnu ulogu u dijagnostici i procjeni stanja bolesnika (3). Svakim danom dijagnostika raka pluća postaje složenija i zahtjevnija, ali razvoj mnogobrojnih modernih metoda olakšava detekciju, potvrdu, određivanje vrste karcinoma i praćenje stanja pacijenta nakon terapije (4).

### **Epidemiologija, patogeneza i podjela (klinička, histološka) karcinoma pluća**

Rak pluća je jedna od najčešćih malignih bolesti kod muškaraca i žena. Mnogi čimbenici povećavaju rizik oboljenja od raka pluća, a izloženost duhanskom dimu jedan je od ključnih. Pušenje cigareta, uključujući i pasivno pušenje najvažniji je uzrok raka, iako postoje genetske predispozicije kao delecija kratkog kraka 3. kromosoma, p53, k-ras i 16p mutacije. Osim navedenih potencijalnih uzročnika raka, dokazano je da izloženost azbestu, određenim metalima (nikal) i organskim komponentama (benzen) doprinosi razvoju te bolesti. Danas postoje programi čiji je cilj rendgenom i pregledom pulmoloških uzoraka smanjiti pojavnost raka pluća. Osobama koje pripadaju visoko rizičnim grupama, dugogodišnjim pušačima, preporučuju se periodični pregledi. Usprkos mnogim razvijenim tehnikama liječenja, karcinom pluća ostaje teško izlječiva bolest s minimalnom mogućnošću ozdravljenja (4).

### **Patogeneza raka pluća**

Posljednjih stotinu godina razumijevanje patogeneze raka pluća doživjelo je veliki napredak. Otkriveni su mnogi okolišni kancerogeni i mutacije na genima koje nisu bile poznate (5). Molekularna pozadina karcinogeneze raka pluća usmjerila je istraživanja na detekciju biomarkera za ranu dijagnostiku karcinoma i kreiranje učinkovitijih tretmana za pacijente.

Usprkos značajnom razvoju molekularnih tehnika za ranu dijagnostiku raka pluća, morfološka je zlatni standard u ocjeni premalignih promjena na stanicama (2).

### **Histološka podjela karcinoma pluća**

Karcinomi pluća su skupina tumora epitelnog podrijetla koji nastaju iz epitelnih stanica bronha, bronhiola i alveola. Najčešći histološki tipovi karcinoma su karcinom žljezdanih stanica, pločastih stanica, malih stanica i velikih stanica koji se pojavljuju u 96 % slučajeva. Manje česti karcinomi koji se pojavljuju u 5 % slučajeva su karcinoid, karcinom bronhalnih žlijezda i ostali rijetki tipovi karcinoma (2).

### **Karcinom žljezdanih stanica**

Adenokarcinom je najčešći histološki tip raka pluća čija je incidencija u neprestanom porastu. Ta vrsta karcinoma tvori acinarne ili papilarne strukture s mogućim lučenjem mucina koji se akumulira u perifernim dijelovima pluća (6). Izrazito brzo raste, rano metastazira i ima vrlo lošu prognozu. Citološka dijagnostika bazira se na pregledu morfološkije stanica i staničnih nakupina gdje se može utvrditi da je citoplazma stanica obilna, a jezgre su ekscentrično položene, okrugle ili ovalne. Kromatin je fino granuliran i jednoličan (2). Ponekad je ta vrsta karcinoma karakterizirana pojavom trodimenzionalnih nakupina vakuoliziranih stanica (3).

### **Karcinom pločastih stanica**

Karcinom pločastih stanica čini 30 % svih karcinoma pluća i najčešće se pojavljuje kod pušača. Lokaliziran je centralno, odnosno u glavnim bronhijima i često je popraćen opstrukcijom pluća i upalom (6). Razvija se kroz nekoliko stadija gdje najprije dolazi do hiperplazije bazalnih stanica, pločaste metaplazije, atipične metaplazije te do karcinoma in situ (2). Stanice koje se mogu pronaći u uzorcima kod te vrste raka su abnormalne pločaste stanice s povećanom i piknotičnom jezgrom, neuobičajeni oblici stanica s obilnom keratinizacijom, pozadinska nekroza i krv koja se može naći kod invazivnih oblika karcinoma pločastih stanica (6).

### **Karcinom malih stanica**

Karcinom malih stanica je većinom neuroendokrinog podrijetla i s vrlo lošom prognozom. Najčešće je smješten centralno i povezan s pušenjem. Stanice koje se javljaju kod tog karcinoma su u nakupinama s rijetkom citoplazmom i nepravilnom jezgrom s grubim kromatinom, često se mogu pronaći agregati stanica i hiperkromatske, pleomorfne i male stanice. Osim navedenih promjena na stanicama, u uzorcima se može vidjeti pozadina s degenerativnim i nekrotičnim stanicama (6).

### **Karcinom velikih stanica**

Karcinom velikih stanica čini 10 % od svih karcinoma pluća i javlja se većinom kod pušača. Proizlazi od epitelnih stanica centralnih bronhiola do terminalnih bronhiola. Najčešće raste kao periferni, nekrotični tumor i sastoji se od velikih stanica istaknutih nukleola. Tumori velikih stanica većinom su prepoznati kao slabo diferencirani karcinomi žljezdanih ili pločastih stanica (9, 11). Stanice koje se mogu pronaći u uzorcima kod tog karcinoma su neuređene grupe velikih stanica, pleomorfne pojedinačne stanice s varijabilnom citoplazmom i visokim nukleocitoplazmatskim omjerom, intracitoplazmatski neutrofili i nekrotična pozadina (6).

### **Klinička podjela karcinoma pluća**

Klinička podjela karcinoma pluća je podjela koja se koristi u svakodnevnom kliničkom radu. Zbog kliničkih i bioloških obilježja karcinom pločastih stanica, adenokarcinom i karcinom velikih stanica ubrajaju se u jednu skupinu tumora ne-malih stanica. Karcinom malih stanica pluća ne ubrajamo u istu skupinu kao i prethodne karcinome zbog njegove veće brzine metastaziranja, agresivnosti i boljeg odgovora na kemoterapiju (2).

### **Citološki uzorci u dijagnosticiranju karcinoma pluća**

U dijagnostici raka pluća koriste se brojne invazivne i neinvazivne metode s ciljem postavljanja točne dijagnoze i praćenjem tijeka bolesti. Potvrđeno je da korištenje citoloških metoda u dijagnostici malignih bolesti pluća ima najveći uspjeh u otkrivanju bolesti. Stoga,

detekcija raka pluća kreće od kliničkih simptoma, slikovne radiološke metode, pregleda citoloških uzoraka i određivanja tumorskih markera. Metode poput endoskopije i biopsije su bile neizbježne do pojave modernijih metoda kao fiberoptička bronhoskopija, dok se točnost dijagnostike raka pluća povećala pojavom perkutane transtorakalne punkcije (1). Najčešće korištene slikovne radiološke metode su rendgenska snimka pluća, kompjuterizirana tomografija, transkutani ultrazvuk, endoskopski ultrazvuk, magnetska rezonanca (2).

Morfologija stanica respiratornog trakta uveliko ovisi o vrsti uzorka i načinu na koji je obrađen. Uzorkovanje i metode obrade uzoraka vrlo su važne za ispravno postavljanje dijagnoze (4). Najčešće indikacije za citologiju respiratornog trakta su kašalj sa iskašljavanjem koji može i ne mora imati primjese krvi, astma i alergijske reakcije, upale dišnih puteva, traganje za malignim stanicama ukoliko liječnik sumnja na karcinom pluća, abnormalni radiološki nalaz bolesnika (7).

Citološka dijagnostika zasniva se na pregledu detalja individualnih stanica. Razlikujemo eksfolijativne i aspiracijske citološke uzorke (2). Najčešći eksfolijativni uzorci su sputum (iskašljaj), aspirat bronha, bris bronha četkicom, otisak ekscidirane sluznice, bronhoalveolarna lavaža, otisci biopsije pleure. Najčešći aspiracijski uzorak je pleuralni punkt, dok se uzorci još mogu uzimati intraoperativno u obliku otiska tumora ili druge patološke lazije (7).

### **Sputum ili iskašljaj**

Sputum je uzorak dobiven neinvazivnom metodom, a njegova citološka analiza vrlo je jednostavna i jeftina. Sastavni dio sputuma je sluz i stanice respiratornog trakta. Kako bi uzorak sputuma bio adekvatan, za analizu mora sadržavati alveolarne makrofage, stanice pločastog i bronhalnog epitela. Uzorak sputuma razmazuje se na predmetno stakalce, potom suši na zraku i boja metodom po May-Grünwald Giemsi ili se fiksira u 95 %-tnom alkoholu i boja metodom po Papanicolau (9, 11).

#### **1.5.2. Aspirat bronha**

Aspirat bronha dobiva se tijekom pregleda fiberoptičkim bronhoskopom kada se u bronhe uštrca određena količina fiziološke otopine te ponovo aspirira. Uzorak se centrifugira u citocentrifugi i stavlja na predmetno stakalce za mikroskopski pregled (4).

### **1.5.3. Bris bronha četkicom**

Vrlo pouzdana i jednostavna metoda koja se radi tijekom bronhoskopskog pregleda tako da se na endoskop stavi instrument sa četkicom i rotira (4). Materijal sa četkice stavlja se na predmetno stakalce, fiksira alkoholom i boja Papanicolaou metodom. Osim toga, uzeti se materijal može pregledati metodom tekućinske citologije (7).

### **1.5.4. Otisak ekscidirane sluznice**

Otisak ekscidirane sluznice uzima se tijekom bronhoskopskog pregleda, kao i uzorci aspirata i brisa bronha četkicom. Iskustvo je pokazalo da istodobno uzimanje više uzoraka povećava pozitivnost pretrage. Nakon obavljene biopsije, uzorak se tkiva otisne na staklo, boja ROSE (rapid on site) tehnikom i pregledava pod mikroskopom (2).

### **1.5.5. Bronhoalveolarna lavaža**

Bronhoalveolarna lavaža je dijagnostički postupak ispiranja plućnog parenhima i distalnih bronha izotoničnom otopinom natrijevog klorida pomoću fleksibilnog bronhoskopa. U uzorku se mogu naći bronhalne stanice, makrofagi, limfociti, eozinofili, neutrofil, plazma stanice i mastociti (8).

### **1.5.6. Transbronhalna i transtrahealna punkcija**

Uzorci se dobivaju punkcijom uz kontrolu ultrazvukom i iglom 19 - 22 G. Izrazito rijetka komplikacija koja može nastati tijekom izvođenja punkcije je pneumotoraks. (2, 7).

## **Imunocitokemija i molekularne tehnike u dijagnostici karcinoma pluća**

Površinski markeri i produkti stanica mogu se identificirati pomoću specifičnih monoklonskih protutijela. Oni pomažu u identifikaciji slabo diferenciranih i nediferenciranih malignih tumora (2). Osjetljivost imunocitokemijskih pretraga znatno je veća od klasičnih morfoloških

metoda. Detekcija tih promjena kod karcinoma pluća može značiti gubitak heterozigotnosti, mikrosatelitne i metilacijske lažije (7). Također, pomoću imunocitokemijskih metoda mogu se detektirati molekule koje su značajne u terapiji karcinoma pluća. U proteklih nekoliko godina došlo je do velikog napretka molekularnih metoda koje omogućuju bržu dijagnostiku bez korištenja invazivnih kirurških zahvata (2). Najčešće korištene molekularne tehnike u dijagnostici karcinoma pluća su fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) i lančana reakcija polimeraze (PCR). Fluorescentna in situ hibridizacija je tehnika koja koristi fluorescentne DNA probe kako bi se otkrili specifični dijelovi kromosoma u jezgri, što rezultira fluorescencijom koja je vidljiva pod mikroskopom (9). Lančana reakcija polimeraze ili PCR je tehnika bazirana na sposobnosti enzima DNA polimeraze da sintetizira DNA komplementarnu onoj u uzorku koja sadrži ciljnu sekvencu (11).

## **2. CILJ**

Cilj rada je u citološkim uzorcima razmazima uzetim tijekom bronhoskopskog pregleda respiratornog trakta i pertorakalne punkcije pluća procijeniti:

- udio pojedinih kategorija citoloških nalaza
- osjetljivost i pozitivnu prediktivnu vrijednost citološkog nalaza karcinoma pluća.

## **3. ISPITANICI I METODE**

### **3.1. Ustroj studije**

Istraživanje je ustrojeno kao presječno, a kao baza podataka korištena je evidencija citoloških i patohistoloških nalaza Kliničkog zavoda za kliničku citologiju i Kliničkog zavoda za patologiju i sudsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

### **3.2. Ispitanici**

U istraživanje su uključeni ispitanici, čiji su uzorci dobiveni tijekom bronhoskopskog pregleda i pertorakalnom punkcijom lezije u plućnom tkivu, pregledani u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek od 1. siječnja 2011. do 31. prosinca 2015. godine. Citološki uzorci su svrstani u četiri kategorije: neprimjeren, normalan nalaz/maligne stanice nisu nađene, suspektno na karcinom i karcinom.

U istraživanje su uključeni i patohistološki nalazi ispitanika, dobiveni endobronhalnom/transtorakalnom biopsijom i analizom odstranjenog plućnog tkiva arhivirani u Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu KBC Osijek.

Kao baza podataka korištena je evidencija citoloških nalaza Kliničkog zavoda za kliničku citologiju i evidencija patohistoloških nalaza Zavoda za patologiju i sudsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

### **3.3. Metode**

Dosljednost i pouzdanost su najvažnije značajke interpretacije citoloških uzoraka. Za bojenje uzoraka u plućnoj citologiji najčešće se koristi metoda bojenja po May-Grünwald Giemsi, a pri sumnji na karcinom pločastog epitela koristi se i metoda bojenja po Papanicolaou.



### 3.3.1. Metoda bojenja po May-Grünwald Giemsi

U toj vrsti bojenja koristi se otopina May-Grünwald koja sadrži metilensko modrilo i kiseli eozin otopljen u metanolu i otopina Giemsa koja sadrži azur II-eozin i azur II otopljen u glicerinu i metanolu (10).

Otopine se pripremaju na sljedeći način:

May-Grünwald: razrijediti 0,25 g May-Grünwalda u 100 ml metanola, uz zagrijavanje u vodenoj kupelji na 60 °C, miješati 1 sat, ostaviti da stoji 24 sata i nakon toga filtrirati.

Giemsa: razrijediti 0,76 g Giemse u 50 ml glicerola, zagrijavati 3 sata na 60 °C u vodenoj kupelji, dodati 50 ml metanola, ostaviti da stoji 5 dana i nakon toga filtrirati.

Postupak bojenja je sljedeći:

Na položena predmetna stakla koja su smještena na odgovarajući stalak stavlja se:

1. otopina May-Grünwald - 3 minute
2. ispiranje destiliranom vodom - 1 minuta
3. otopina Giemsa - 20 minuta
4. isprati destiliranom vodom – od 1 do 2 minute
5. postavljanje preparata na podlogu za sušenje
6. sušenje preparata na zraku.

### 3.3.2. Metoda bojenja po Papanicolaou

Uzorci koji se boje metodom po Papanicolaou moraju biti fiksirani u 95 % etilnom alkoholu i nakon toga se uranjaju u sljedeće otopine (10):

- |   |   |
|---|---|
| 1. 80 % alkohol - 10 sekundi  | 13. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 2. 70 % alkohol - 10 sekundi  | 14. Orange G - 10 minuta                            |
| 3. 50 % alkohol - 10 sekundi  | 15. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 4. Destilirana voda   | 16. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 5. Haris 1a - 7 minuta  | 17. Polychrom EA 31 - 8 minuta                      |
| 6. Tekuća voda - 10 sekundi   | 18. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 7. HCl + tekuća voda (14 ml HCl +<br>1000 ml vode) - 2 sekunde                  | 19. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 8. Tekuća voda - 10 sekundi   | 20. 96 % alkohol - 10 sekundi                       |
| 9. 50 % alkohol - 10 sekundi  | 21. Apsolutni alkohol                               |
| 10. 70 % alkohol + amonijak (15 ml<br>amonijaka + 1000 ml vode) - 10<br>sekundi | 22. Apsolutni alkohol                               |
| 11. 80 % alkohol - 10 sekundi   | 23. Xylol + apsolutni alkohol 1 : 1 -<br>10 sekundi |
| 12. 96 % alkohol - 10 sekundi   | 24. Xylol - 10 sekundi.                             |

### 3.4. Statističke metode

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički su podatci opisani medijanom i interkvartilnim rasponom. Razlike kategorijskih varijabli testirane su Fisherovim egzaktnim testom. Razina značajnosti postavljena je na  $\alpha = 0,05$ . Za statističku analizu koristio se statistički program SPSS (inačica 16.0, SPSS Inc. Chicago, IL, SAD).

Za ocjenu dijagnostičke vrijednosti citološkog nalaza karcinoma pluća odredili smo osjetljivost (O), specifičnost (S) i prediktivne vrijednosti (PV) usporedbom s patohistološkim nalazom, kroz izračun točno pozitivnih (TP), točno negativnih (TN), lažno pozitivnih (LP) i lažno negativnih nalaza (LN).

Osjetljivost je indikator pouzdanosti testa da otkrije bolest, a opisuje vjerojatnost da će neka osoba s ciljanim poremećajem na ispitivanju biti pozitivna. Izračunava se po formuli  $TP/TP + LN$ .

Specifičnost je indikator sposobnosti testa da zdrave osobe označi nalazom bez abnormalnosti, a opisuje vjerojatnost da će osoba bez ciljanog poremećaja po ispitivanju biti negativna. Izračunava se po formuli  $TN / (TN + LP)$ .

Prediktivne vrijednosti ukazuju na učinkovitost pretrage. Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) predstavlja proporciju točno prepoznatih osoba s bolesti u odnosu na sve osobe s pozitivnim nalazom. Izračunava se po formuli  $TP / (TP + LP)$ .

Negativna prediktivna vrijednost (NPV) predstavlja proporciju točno prepoznatih osoba bez bolesti u odnosu na sve osobe s negativnim nalazom. Izračunava se po formuli  $TN / (TN + LN)$  (12).

## 4. REZULTATI

Za dijagnostiku lezija respiratornog trakta u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek od 1. siječnja do 31. prosinca 2015. godine učinjeno je 2896 citoloških analiza: 1754 obrisaka sluznice nosa na eozinofilne granulocite, 799 analiza bronhoskopski dobivenih uzoraka, 156 iskašljaja na eozinofilne granulocite, 85 pertorakalnih punktata, 83 iskašljaja na maligne stanice i 19 obrisaka drugih lokalizacija respiratornog trakta (larinksa, hipofarinksa, supraglotisa, traheostome i sinusa) (Tablica 1).

*Tablica 1. Raspodjela citoloških nalaza promjena u respiratornom traktu (N = 2896)*

<b>Kategorije citoloških nalaza</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Obrisak sluznice nosa na eozinofilne granulocite	1754	60,6
Bronhoskopija	799	27,6
Iskašljaj na eozinofilne granulocite	156	5,4
Iskašljaj na maligne stanice	83	2,8
Pertorakalni punktati		
Obrisak larinksa, hipofarinksa, supraglotisa, traheostome i sinusa	19	0,7
<b>Ukupno</b>	<b>2896</b>	<b>100,0</b>

U istraživanje je uključeno 608 ispitanika, 427 (70,2 %) muškaraca i 181 (29,8 %) žena (Tablica 2) kojima je temeljem kliničkog i radiološkog nalaza postavljena sumnja na bronhopulmonalni tumor te indicirana daljnja dijagnostička obrada. Središnja vrijednost (medijan) dobi ispitanika je 53 godine (interkvartilni raspon od 25 do 87), a ispitanica 58 godina (interkvartilni raspon od 21 do 83). Odnos muškaraca i žena je 2,4 : 1.

Tablica 2. Dobna i spolna raspodjela ispitanika (N = 558)

	<b>Muškarci</b>	<b>Žene</b>	<b>Ukupno</b>
Broj	427 ( %)	181 ( %)	558 (76,5 %)
Median (raspon)	53 (25 – 87)	58 (21 – 83)	63 (21 – 87) ( 23,5 %)

Za 575 ispitanika je s ciljem dijagnostike bronhopulmonalne lezije učinjena citološka analiza 967 uzoraka: 799 dobivenih tijekom bronhoskopije (aspirat bronha, bris četkicom, transbronhalni punktata, otisak ekscidirane sluznice) (Tablica 3), 85 pertorakalnih punktata i 83 iskašljaja.

Tablica 3. Raspodjela citoloških nalaza u odnosu na vrstu uzorka (N = 967)

Vrsta uzorka	Citološki nalaz				Ukupno (%)
	neprimjeren	Benigno	suspektno	maligno	
Iskašljaj	23	60	-	-	83 (8,6)
Aspirat bronha	4	434	6	9	453 (46,8)
Bris četkicom	-	190	18	104	312 (32,3)
Transbronhalni punktata	-	16	1	5	22 (2,3)
Otisak ekscidirane sluznice	-	8	-	4	12 (1,2)
Pertorakalni punktata	16	20	7	42	85 (8,8)
<b>Ukupno (%)</b>	<b>43 (4,4)</b>	<b>728 (75,3)</b>	<b>32 (3,3)</b>	<b>164 (17,0)</b>	<b>967 (100,0)</b>

U 728 uzoraka maligne stanice nisu nađene, 164 uzorka su sadržavala maligne stanice, za 32 uzorka se zbog nedovoljnog broja očuvanih stanica nije mogla postaviti dijagnoza maligne bolesti pa su uzorci označeni kao suspektni. Za citološku analizu nisu bila primjerena 43 uzorka.

U 41 (7,2 %) ispitanika učinjena je patohistološka verifikacija citološkog nalaza te je učinjena korelacija citoloških i patohistoloških nalaza (Tablica 4).

Tablica 4 . Usporedba patohistoloških nalaza i citoloških morfoloških dijagnoza (N = 41)

Patohistološke dijagnoze	Citološke dijagnoze							Ukupno
	Neprimjeren	MNN*	Suspektno	ADC	SCC	SCLC	NSCLC	
<b>ADC</b>	-	5	1	2	-	-	6	<b>14 (34,1)</b>
<b>SCC</b>	-	5	-	-	-	-	2	<b>7 (17,1)</b>
<b>SCLC</b>	-	1	1	-	-	-	-	<b>2 (4,9)</b>
<b>Carcinoma</b>	1	10	1	-	2	-	1	<b>15 (36,6)</b>
<b>Metastatski karcinom</b>	-	1	1	1	-	-	-	<b>3 (7,3)</b>
<b>Ukupno</b>	<b>1</b>	<b>22</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>9</b>	<b>41</b>

\*maligne stanice nisu nađene

ADC - karcinom žljezdanih stanica (Adenocarcinoma)

SCC - karcinom pločastih stanica (Squamous cell carcinoma)

SCLC - karcinom malih stanica (Small Cell Lung Carcinoma)

NSCLC - karcinom velikih stanica (Non Small Cell Lung Carcinoma)

Radi jednostavnijeg uvida i izračuna dijagnostičke vrijednosti citološkog nalaza bronhopulmonalnih lezija, nalaz bez malignih stanica označili smo negativnim nalazom, a suspektan nalaz i nalaz maligne lezije (bez obzira na tip tumora) pozitivnim nalazom (Tablica 5).

Tablica 5 . Odnos citološkog i patohistološkog nalaza (N = 54)

Citološki nalaz	Patohistološki nalaz		Ukupno
	Pozitivan	Negativan	
Pozitivan	18	-	18
Negativan	23	-	23
Ukupno	41	-	41

Usporedbom citološkog i patohistološkog nalaza, nađena su 23 (56 %) lažno negativna nalaza. U 18 (44 %) ispitanika točno je postavljena dijagnoza maligne lezije. Osjetljivost citološkog nalaza raka pluća bez obzira na vrstu bronhoskopskog uzorka iznosi 44 %, a pozitivna prediktivna vrijednost je 100 %.

## 5. RASPRAVA

Istraživanje je obuhvatilo 608 ispitanika, 427 (70,2 %) muškarca i 181 (29,8 %) ženu kojima je temeljem kliničkog i radiološkog nalaza postavljena sumnja na bronhopulmonalni tumor te indicirana daljnja dijagnostička obrada. Središnja vrijednost (medijan) dobi ispitanika bila je 53 godine (interkvartilni raspon od 25 do 87), a ispitanica 58 godina (interkvartilni raspon od 21 do 83). Odnos muškaraca i žena je 2,4 : 1.

Analizirano je 967 uzoraka, 799 dobivenih tijekom bronhoskopije (aspirat bronha, bris četkicom, transbronhalni punktati, otisak ekscidirane sluznice), 85 pertorakalnih punktata i 83 iskašljaja. U 164 uzorka nađene su maligne stanice, 32 su uzorka zbog nedovoljnog broja očuvanih stanica označeni kao suspektni, a za citološku su analizu neprimjerena bila 43 uzorka. U većine pacijenata sa citološkim nalazom maligne bolesti nije učinjena patohistološka verifikacija najvjerojatnije zbog toga što se radilo o uznapredovaloj fazi bolesti.

U 41 (7,2 %) ispitanika učinjena je patohistološka verifikacija citološkog nalaza te je učinjena korelacija citoloških i patohistoloških nalaza. Patohistološka dijagnoza tumora pluća temeljena na ekstirpiranom tumoru postavlja se u svega 25 % do 30 % bolesnika. Bronhoskopski pregled pacijenta s bronhopulmonarnom lezijom je od temeljne važnosti u dijagnostici endobronhalnih lezija, a u većine bolesnika izvor dijagnoze su citološki nalazi bronhoskopskih uzoraka (13, 14).

U više od 50 % naših citoloških uzoraka patohistološki potvrđenih malignih bolesti nisu nađene maligne stanice. Kvaliteta citološkog uzorka prvenstveno ovisi o iskustvu osobe koja provodi postupak, a mogući su razlozi negativnih citoloških nalaza da se radilo o lezijama smještenim periferno u plućnom tkivu te stoga nisu bile endoskopski vidljive ili je pak tumor zahvaćen opsežnom nekrozom koja dominira uzorkom, ili je kompresija bronha onemogućavala pristup tumoru i uzimanje uzorka (četkicom se nije moglo uzeti uzorak s površine tumora).

Kada je tumor smješten u rubnim dijelovima pluća i kada je bronhoskopski nedohvatljiv, te u situacijama kada je praktički nemoguće provesti bronhoskopski pregled (pa je nemoguće doći do patohistološkog uzorka ili je on nereprezentativan ili lažno negativan), citodijagnostika



perkutnom transtorakalnom punkcijom/biopsijom pod kontrolom UZV-a ili CT-a postaje jedina moguća metoda uzimanja morfološkog uzorka za dijagnozu (osim agresivnije otvorene biopsije) te je od velike dijagnostičke važnosti (2).

Periferne plućne lezije predstavljaju čest klinički problem, pri čemu je ukupna osjetljivost bronhoskopije 25,6 %. Najveću osjetljivost imaju uzorci dobiveni četkanjem bronha. Osjetljivosti za aspirat bronha i bris četkicom perifernih lezija su 14,2 % i 16,5 % (15).

Osjetljivost citološkog nalaza za karcinom pluća je u našem istraživanju 44 %. Osjetljivost, a najčešće se ističe osjetljivost citološkog uzorka dobivenog četkanjem bronha, u različitim se istraživanjima kreće od 48 % do 85 %. Tako širok raspon može se objasniti korištenjem različitih metoda za dobivanje citoloških uzoraka te uključivanjem suspektnih nalaza kao pozitivnih kod izračuna osjetljivosti (16).

Osjetljivost citološke analize sputuma je u rutinskoj praksi niska, oko 40 %. Za aspirate i uzorke dobivene četkanjem bronha osjetljivost iznosi 70 % i 90 %, a za uzorke dobivene transbronhalnom punkcijom iznosi oko 90 %, za centralno smještene lezije 70 - 80 % (17).

Karcinom velikih stanica je najčešća citološka dijagnoza u patohistološki potvrđenim malignim tumorima pluća i to u 9 naših pacijenata. U tri je pacijenta dijagnosticiran karcinom žljezdanih stanica koji je potvrđen u dva pacijenta, a treći je pacijent imao metastazu žljezdanog epitela nepoznatog podrijetla. Karcinom velikih stanica podrazumijeva nekoliko histoloških tipova, a karcinom žljezdanog epitela najčešća je podvrsta primarnih karcinoma pluća. Pojava novih terapijskih postupaka za karcinom velikih stanica čini i citološku i histološku subtipizaciju sve važnijom te razlikovanje karcinoma žljezdanog od pločastog epitela presudnom za učinkovit odabir kemoterapije kao i provođenje ciljane molekularne terapije (18). Karcinom žljezdanog epitela (34,1 %) je uz slabo diferencirani karcinom (36,6 %) najčešće patohistološki dijagnosticirana bronhopulmonalna lezija u našem istraživanju. U više od 60 % (6/14) naših uzoraka citološki označenih kao karcinom velikih stanica, histološki se radilo o karcinomu žljezdanog epitela što je u skladu s rezultatima drugih istraživanja (19).

Poteškoće u klasifikaciji javljaju se kod slabo diferenciranih karcinoma, slabo diferenciranih karcinoma pločastih stanica i neuroendokrinih karcinoma velikih stanica. Ti su karcinomi najbolje klasificirani kao karcinomi velikih stanica temeljem citomorfologije, dok se daljnja subtipizacija oslanja na imunohistokemiju (20).

Citološku diferencijaciju malignih tumora najčešće otežava slaba diferenciranost malignog tumora te često hipocelularni uzorci (16).

Morfologija i dalje ostaje kamen temeljac u klasifikaciji karcinoma pluća. Histološki podtipovi karcinoma pluća koji su morfološki prepoznatljivi u citološkim uzorcima su adenokarcinom, karcinom pločastih stanica i karcinom malih stanica, kao i karcinoidi. Karcinom velikih stanica može se dijagnosticirati temeljem morfologije, ali obično je za konačnu dijagnozu potrebna kirurška ekstirpacija. Kod dobro diferenciranih tumora moguće je dodatno provesti imunocitokemijsku i imunohistokemijsku analizu radi potvrde njihovog podrijetla. Svi slabo diferencirani karcinomi pločastog epitela pozitivni su na p63, a karcinomi žljezdnog epitela na TTF-1 (21).

Stoga je za obradu bolesnika s bronhopulmonarnim lezijama neophodan multidisciplinarni pristup koji uključuje kliničare, molekularne biologe, radiologe, kirurge, citopatologe i patologe (22).

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti:

- citološki su najčešće analizirani aspirati bronha (46,8 % uzoraka) koji su u 96 % uzoraka bili bez malignih stanica
- slijede uzorci dobiveni četkanjem bronha (32,3 % uzoraka) koji su najčešće bili bez malignih stanica (61 %)
- u 49 % razmaza pertorakalnih punktata (8,8 %) nađene su maligne stanice
- neprimjereno je za citološku analizu bilo 4,4 % svih uzoraka
- osjetljivost citološkog nalaza za karcinom pluća iznosi 44 %
- pozitivna prediktivna vrijednost citološkog nalaza za karcinom pluća iznosi 100 %.

## 7. SAŽETAK

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** U citološkim uzorcima razmazima uzetim tijekom bronhoskopskog pregleda respiratornog trakta i pertorakalne punkcije pluća procijeniti udio pojedinih kategorija citoloških nalaza te odrediti osjetljivost i pozitivnu prediktivnu vrijednost citološkog nalaza karcinoma pluća.

**USTROJ STUDIJE:** Presječna studija.

**ISPITANICI I METODE:** U istraživanje su uključeni ispitanici čiji su bronhoskopski dobiveni uzorci i uzorci dobiveni pertorakalnom punkcijom pregledani u Kliničkom zavodu za kliničku citologiju KBC Osijek od 1. siječnja 2015. do 31. prosinca 2015. Uzorci su standardno bojeni metodom po May-Grünwald Giemsi, a pri sumnji na karcinom pločastog epitela uzorci su bojeni metodom po Papanicolaou.

**REZULTATI:** U istraživanje je uključeno 608 ispitanika, 427 (70,2 %) muškarca i 181 (29,8 %) žena kojima je temeljem kliničkog i radiološkog nalaza postavljena sumnja na bronhopulmonalni tumor te indicirana daljnja dijagnostička obrada. U 728 uzoraka maligne stanice nisu nađene, 164 uzorka su sadržavala maligne stanice, u 32 uzorka se zbog nedovoljnog broja očuvanih stanica nije mogla postaviti dijagnoza maligne bolesti pa su uzorci označeni kao suspekti. Za citološku analizu nisu bila primjerena 43 uzorka. U 41 (7,2 %) ispitanika učinjena je patohistološka verifikacija citološkog nalaza te korelacija citoloških i patohistoloških nalaza. Usporedbom citološkog i patohistološkog nalaza nađena su 23 (56 %) lažno negativna nalaza. U 18 (44 %) ispitanika točno je postavljena dijagnoza maligne lezije. Osjetljivost citološkog nalaza raka pluća bez obzira na vrstu bronhoskopskog uzorka iznosi 44 %, a pozitivna prediktivna vrijednost je 100 %.

**ZAKLJUČAK:** U dijagnostici bronhopulmonalnih lezija potreban je multidisciplinarni pristup koji uključuje kliničare, molekularne biologe, radiologe, kirurge, citopatologe i patologe.

**KLJUČNE RIJEČI:** Rak pluća, bronhoskopija, aspirat bronha, bris bronha četkicom, citohistološka korelacija

## 8. ABSTRACT

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to evaluate share of each category of cytological assessments in cytological specimens which were taken during bronchoscopy of respiratory tract, and also evaluate sensibility and positive predictive value of lung cancer cytological assessments.

**STUDY DESIGN:** A cross-sectional study.

**PARTICIPANS AND METHODS:** Specimens of participants who were included in the study were taken during bronchoscopy and perthoracalpunctionod lung tissue from January 1<sup>st</sup>,2015 until December 31<sup>st</sup>, 2015 at Clinical institute for clinical cytology at Clinical Hospital Centre Osijek. Most common staining in cytology is May Grünwald Giemsa, but when there is suspicion for squamous cell carcinoma, then it is better to use Papanicolaou staining.

**RESULTS:**The study included 608 participants, 427 (70.2%) men and 181 (29.8%) women who were diagnosed with bronchopulmonary lesion by clinical and radiology methods, and thenrequested for further diagnostic analysis. In 728 samples malignant cells were not found, in 164 samples malignant cells werefound, in 32 samples, because of insufficient number of well preserved cells, malignant diagnosis could not be set. Then, samples were marked as suspect. 43 samples were not appropriate for cytological diagnosis. For 41 (7.2%) participants pathological verification was made as well as correlation of cytological and pathohistological assessment. By comparison of cytological and pathohistological assessments, there were 23 (56%) false negative assessmentsfound. For 18 (44%) participants malignant diagnosis was accurately set. Sensitivity of cytological assessment of lung cancer is 44% and positive predictive value is 100%.

**CONCLUSIONS:** In cytological diagnostics multidisciplinary approach is needed and includes clinicians, molecular biologists, radiologists, surgeons and pathologists.

**KEY WORDS:** Lung cancer, fiberoptic bronchoscope, bronchial washing, bronchial brushing, cytohistological correlation



## 9. LITERATURA

1. Kotaida TP, Jasani JH, Vekaria PN. Comparison of bronchial biopsy, bronchoalveolar lavage(BAL), brush cytology and imprint cytology in suspected cases of lung cancer. *IJBAR*. 2013;4:579-6.
2. Vrabec Branica B. Primjena lužnate lize u izolaciji DNA kao novi pristup analizi genskih biljega bronhalne sluznice iz rutinskih citoloških uzoraka dobivenih tijekom bronhoskopije. Doktorska disertacija. Zagreb, 2010.
3. Idowu MO, Powers CN. Lung Cancer Cytology: potential pitfalls and mimics-a review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2010;3(4):367-19.
4. Respiratory tract. *Eurocytology*. Dostupno na adresi: <http://www.eurocytology.eu/en/course/822>. Datum pristupa: 1.2.2017
5. Miller YE. Pathogenesis of lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005; 33(3): 216–223.
6. Giles TE, McCharty J, Gray W. Respiratory tract. U: Gray W, Kocjan G. *Diagnostic Cytopathology*. London. Elsevier, 3 izd. 2010. Str 17-111.
7. Znidarčić Z, Jeren T, Kaić G, Kardum-Skelin I, Knezević-Obad A, Smojver-Jezek S, i sur. Clinical Cytology and Primary Health Care of Children and Adults. *Coll. Antropol*. 34 (2010) 2: 737-748.
8. Smojver-Jezek S. Morfometrija i statička DNA citometrija makrofaga u bronhoalveolarnom ispirku bolesnika sa sarkoidozom. 2009;1-108.
9. Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine. Dostupno na adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3917523/>. Datum pristupa: 15.2.2017.
10. Koss LG, Melamed MR. *Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases*. 5. izd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

11. Agne Alves Valones M, Lima Guimarães R, Cavalcanti Brandão LA, Eleutério de Souza PR, de Albuquerque Tavares Carvalho A, Crovela S. Principles and applications of polymerase chain reaction in medical diagnostic fields: a review. *Braz J Microbiol.* 2009 ; 40(1): 1–11.
12. Raslich M.A, Markert RJ, Stutes S. Odabir i tumačenje dijagnostičkih pretraga. *Biochemia medica* 2007;17;151-161. Dostupno na adresi:<http://hrcak.srce.hr/18122>. Datum pristupa: 17.04.2017.
13. Rossi G, Pelosi G, Graziano P, et al. A reevaluation of the clinical significance of histological subtyping of non-small-cell lung carcinoma: diagnostic algorithms in the era of personalized treatments. *Int J SurgnPathol* 2009;17:206 –218.
14. Edwards SL, Roberts C, McKean ME, et al. Preoperative histological classification of primary lung cancer: accuracy of diagnosis and use of the non-small cell category. *J Clin Pathol* 2000;53:537–540.
15. Labbé C, Beaudoin S, Martel S, Delage A, Joubert P, Drapeau C, Provencher S. Diagnostic yield of non-guided flexible bronchoscopy for peripheral pulmonary neoplasia. *Thorac Cancer.* 2015;6:517-23.
16. Mufti ST, Mokhtar GA. Diagnostic value of bronchial wash, bronchial brushing, fine needle aspiration cytology versus combined bronchial wash and bronchial brushing in the diagnosis of primary lung carcinomas at a tertiary care hospital. *Biomedical Research* 2015; 26: 777-784.
17. Giles TE, McCharty J, Gray W. Respiratory tract. U: Gray W, Kocjan G. *Diagnostic Cytopathology.* Elsevier, 2010. Str 17-111.
18. Kim MJ, Shin HC, Shin KC, Ro JY. Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens. *Ann Diagn Pathol.* 2013;1:85-90.
19. Sakra L i sur. Cytology-based treatment decision in primary lung cancer: Is it accurate enough *Lung Cancer* 2012;75:293–299.



20. Vazquez MF, Koizumi JH, Claudia I. Henschke CI, Yankelevitz DF, Reliability of Cytologic Diagnosis of Early Lung Cancer. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2007;111:252–8.
21. Hasanovic A,Rekhtman N,Sigel CS,Moreira AL. Advances in Fine Needle Aspiration Cytology for the Diagnosis of Pulmonary Carcinoma. *Patholog Res Int.* 2011;2011:1-7.
22. Travis WD1, Brambilla E, Riely GJ. New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials.*J Clin Oncol.* 2013 Mar 10;31:992-1001.
23. Nizzoli R, Tiseo M, Gelsomino F, Bartolotti M, Majori M, Ferrari L, i sur. Accuracy of Fine Needle Aspiration Cytology in the Pathological Typing of Non-small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.*2011;6:489-5.
24. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, i sur. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(2):244-98.
25. the National Cancer Institute Act. The National Cancer Institute. Dostupno na adresi : <https://www.cancer.gov/types/lung/hp/non-small-cell-lung-treatment-pdq>. Datum pristupa: 20. 2. 2017.
26. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, i sur. Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(5):668-42.
27. Alonso Fernández A, García Río F, Mayoralas Alises S, Sánchez Fraga S, Mediano San Andrés O, Villamor León J. Usefulness of induced sputum cytology in the study of central masses in elderly patients. *Rev Clin Esp.*2001;201(8):444-7.

## 10. ŽIVOTOPIS

Ines Šajkunović, studentica 3. godine preddiplomskog sveučilišnog studija Medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu u Osijeku.

### Osobni podatci:

Datum rođenja: 25. 10. 1995.

Adresa: Zelena 36a, Brijesće, 31000 Osijek

E-mail: ines.sajkunovic@gmail.com

### Obrazovanje:

Pohađala sam OŠ Vladimira Nazora u Čepinu.

Godine 2010. upisala sam Medicinsku školu u Osijeku te 2014. završila srednjoškolsko obrazovanje.

Medicinski fakultet u Osijeku upisala sam 2014. godine.

### Radno iskustvo:

Većinu iskustva na području laboratorijske dijagnostike stekla sam tijekom srednjoškolskog obrazovanja na stručnoj praksi i nastavi. Osim obavezne stručne prakse tijekom studija, radila sam različite studentske poslove i stekla različita radna iskustva.

### Osobne vještine:

Materinski jezik: hrvatski

Strani jezici: engleski

Godinama sam se bavila jogom, plesom, pilatesom i gimnastikom.