



OCENA MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA CYTOLOGII ODBITKOWEJ W SZYBKIEJ DIAGNOSTYCE NOWOTWORU ZŁOŚLIWEGO

The feasibility of imprint cytology
for accelerating cancer diagnosis



Sylwia Kustalik¹, Piotr Klejszmit¹, Jacek Kordiak¹, Dominik Sygut², Sławomir Jabłoński¹

1. Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 2 Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska
2. Zakład Patomorfologii i Cytopatologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Sylwia Kustalik –  0000-0002-6696-4959

Piotr Klejszmit –  0009-0006-7811-1802

Jacek Kordiak –  0000-0002-9991-9070

Dominik Sygut –  0000-0002-0752-8292

Sławomir Jabłoński –  0000-0002-6059-8791

Streszczenie

Wprowadzenie i cel: Badanie patomorfologiczne stanowi jeden z głównych filarów diagnostyki w onkologii, a informacje uzyskane dzięki niemu mają istotne znaczenie w podejmowaniu decyzji leczniczych. Jednym z jego rodzajów jest cytologia odblaskowa, w której komórki są pozyskiwane poprzez przesuwanie szkiełka podstawowego po świeżo wykonanym przekroju badanej tkanki, np. przekroju guza lub węzła chłonnego. Głównym celem pracy było zbadanie, czy cytologia odblaskowa może być alternatywą dla badania śródoperacyjnego przeprowadzonego techniką mrożakową.

Materiał i metody: W Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej Szpitala im. Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi w latach 2020–2023 przeprowadzono analizę wyników badania cytologii odblaskowej oraz badania śródoperacyjnego wykonanego techniką mrożakową i porównano je z ostatecznym wynikiem badania histopatologicznego. Badanie przeprowadzono w grupie 58 pacjentów operowanych w trybie planowym, u których wykonano resekcję guza nowotworowego jelita grubego, pęcherzyka żółciowego, żołądka, płuca oraz śródpiersia.

Wyniki: Zarówno badanie doraźne, wykonane techniką mrożakową, jak i odblaskowa cytologiczna okazały się w 97% zgodne z wynikiem ostatecznym badania histopatologicznego. W badaniu cytologii odblaskowej w dwóch przypadkach uzyskano wynik fałszywie ujemny, natomiast w badaniu doraźnym i ostatecznym badaniu histopatologicznym potwierdzono nowotwór złośliwy. W dwóch przypadkach w cytologii odblaskowej zdiagnozowano nowotwór złośliwy drobnokomórkowy, co później potwierdzono w badaniu ostatecznym, natomiast w badaniu doraźnym uzyskano wynik niezgodny z badaniem rutynowym. **Wnioski:** Cytologia odblaskowa jest wiarygodnym badaniem, które może być wykonywane w celu przyspieszenia rozpoznania choroby nowotworowej. W przypadku braku możliwości wykonania badania śródoperacyjnego cytologia odblaskowa daje możliwość szybkiego uzyskania rozpoznania, a jednocześnie pobrany preparat nie musi być natychmiast przetransportowany do zakładu patomorfologii.

Abstract

Introduction and objective: Pathomorphological examination is one of the main pillars of cancer diagnosis, and the information obtained is important for making treatment decisions. Imprint cytology is a type of pathomorphological examination, where cells are obtained by moving a glass slide over a fresh cross-section of the tissue being examined, such as a cross-section of a tumour or a lymph node. The main objective of the paper was to investigate whether imprint cytology can be an alternative to intraoperative frozen section analysis. **Materials and methods:** The results of imprint cytology and intraoperative frozen sections performed in the Department of Thoracic Surgery General and Oncological Surgery at the Military Medical Academy Hospital in Łódź between 2020 and 2023 were analysed and compared with the final histopathological examination. A group of 58 patients undergoing elective surgery for malignant tumours of the lung, mediastinum, colon, stomach and gallbladder was included in the study. **Results:** Both frozen section analysis and imprint cytology showed 97% concordance with final histopathology. Imprint cytology yielded a false-negative result in two cases, with a malignant neoplasm confirmed in frozen section and the final histopathological examination. In two cases, a small-cell malignant neoplasm was diagnosed with imprint cytology, which was later confirmed in the final examination, while frozen section yielded a result inconsistent with the routine examination. **Conclusions:** Imprint cytology is a reliable method that can be used to accelerate the diagnosis of cancer. When intraoperative examination is not possible, imprint cytology allows for obtaining a rapid diagnosis, while at the same time the specimen taken does not have to be immediately transported to the pathomorphology department.

Słowa kluczowe: badanie histopatologiczne; badanie śródoperacyjne; cytologia odbitkowa

Keywords: histological examination; intraoperative examination; imprint cytology

DOI 10.53301/lw/192299

Praca wpłynęła do Redakcji: 21.06.2024

Zaakceptowano do druku: 13.08.2024

Autor do korespondencji:

Sylvia Kustalik

Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi, ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź
e-mail: sylwiakustalik@gmail.com

Wstęp

Badanie patomorfologiczne stanowi jeden z głównych filarów diagnostyki w onkologii, a informacje uzyskane dzięki niemu mają istotne znaczenie w podejmowaniu decyzji leczniczych. Podstawowym badaniem, niezbędnym do uzyskania diagnozy, jest badanie histopatologiczne, które wymaga czasu, więc aby uzyskać rozpoznanie szybciej, trzeba sięgnąć po inną metodę, taką jak badanie techniką mrożakową lub badanie cytologiczne. Badanie cytologiczne, zwane również cytopatologicznym, to metoda diagnostyczna polegająca na ocenie komórek pod mikroskopem świetlnym. Materiał do tego badania może stanowić wydzielina ciała lub płyn z jam ciała (cytologia złuszczeniowa) albo komórki pobrane drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej [1].

Cytologia złuszczeniowa polega na ocenie mikroskopowej komórek, które samoistnie złuszczyły się na powierzchni narządu, tkanki lub zostały pobrane w postaci wymazu. Materiałem może być np. płwocina, wydzielina lub popłuczyny z drzewa oskrzelowego, płyn z jam ciała, zawartość torbieli, wymaz z szyjki macicy. Płyn należy pobrać do czystego naczynia z kilkoma kroplami heparyny i nieutrwalony przesłać jak najszybciej do pracowni lub zakładu patomorfologii. Aby wykonać rozmaz, pozyskuje się materiał z powierzchni zmiany lub błony śluzowej, a następnie nanosi go bezpośrednio na szkiełko mikroskopowe.

Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (BAC) jest metodą, w której materiał do badania mikroskopowego jest pobierany z miejsc podejrzanych o zmiany chorobowe poprzez nakłucie i zaaspirowanie komórek. Szczególnymi odmianami BAC są ultrasonografia wewnątrzoskrzelowa (ang. *endobronchial ultrasound*, EBUS) oraz ultrasonografia endoskopowa (ang. *endoscopic ultrasound*, EUS). Uzyskany materiał jest natychmiast rozprowadzany na szkiełkach podstawowych i utrwalany (rozmazy cytologiczne) bądź część zaaspirowanego materiału lub jego całość jest natychmiast utrwalana w utrwalaczu, podobnie jak materiał tkankowy (cytoblok) [2]. Cytoblok powstaje poprzez utrwalenie zaaspirowanego materiału komórkowego i zatopienie go w bloczku parafinowym. Cytobloki pozwalają na wykonanie skrawków mikroskopowych i tym samym przeprowadzenie większej liczby badań dodatkowych niezbędnych do ustalenia rozpoznania i określenia czynników predykcyjnych, koniecznych do wyboru terapii. Można również zastosować w badaniach preparaty miazdżone, gdzie materiał jest rozcierany lub rozdrabniany bezpośrednio na szkiełku podstawowym.

Inną, coraz bardziej popularną metodą, jest cytologia odbitkowa, w której komórki są pozyskiwane poprzez przesuwanie szkiełka podstawowego po świeżo wykonanym przekroju badanej tkanki, np. przekroju guza lub węzła chłonnego. Podobny preparat możemy uzyskać przez rozgniatanie fragmentu tkanki na szkiełku podstawowym [1, 3].

Dalsze postępowanie zależy od rodzaju pobranego materiału i sposobu jego zabezpieczenia. Materiał przekazywany do pracowni cytologicznej może być utrwalony lub nieutrwalony. W przypadku materiału przeznaczonego do cytobloku jest on zabezpieczony w 10-procentowej zbuforowanej formalinie o pH 7,2–7,4 lub w 96-procentowym alkoholu (w niektórych przypadkach 50–70-procentowym). Preparaty miazdżone i odbitkowe są utrwalane w alkoholu [3].

Badanie śródoperacyjne zwykle jest wykonywane tzw. techniką mrożakową. Pobrany chirurgicznie materiał, nieutrwalony, jest przekazywany do pracowni patomorfologicznej i poddawany badaniu, które polega na zamrożeniu wycinków w niskiej temperaturze, a następnie skrawaniu w kriostacie oraz barwieniu hematoksyliną i eozyną [3].

Cel pracy

Głównym celem pracy była ocena, czy cytologia odbitkowa może być metodą alternatywną dla badania śródoperacyjnego przeprowadzonego techniką mrożakową, która jest uznawana za złoty standard.

Materiał i metoda

Badanie opierało się na analizie wyników cytologii odbitkowej oraz badania śródoperacyjnego wykonanego techniką mrożakową i porównaniu ich z ostatecznym wynikiem badania histopatologicznego. Przeprowadzono je w grupie 58 pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej Szpitala WAM w latach 2020–2023. Objęto nim pacjentów poddanych zabiegom w trybie planowym, u których wykonano resekcję guza nowotworowego płuc, śródpiersia, jelita grubego, żołądka lub pęcherzyka żółciowego. U każdego z pacjentów wykonano resekcję guza, z którego pobrano odbitkę cytologiczną, wykonano badanie doraźne techniką mrożakową oraz rutynowe badanie histopatologiczne. Materiał pobrany do badania śródoperacyjnego techniką mrożakową nie był w żaden sposób utrwalany. Materiał pobrany w celu wykonania badania cytologicznego został

pozyskany poprzez przesuwanie szkiełka podstawowego po świeżo wykonanym przekroju badanej tkanki i został utrwalony w alkoholu. Niezależnie od pozytywnej kwalifikacji do badania, uczestnictwo w nim było dobrowolne. Każdy uczestnik w każdej chwili mógł odmówić lub wycofać zgodę na udział w badaniu, bez podania powodu i bez jakichkolwiek konsekwencji, z zachowaniem prawa do leczenia w tej samej Klinice.

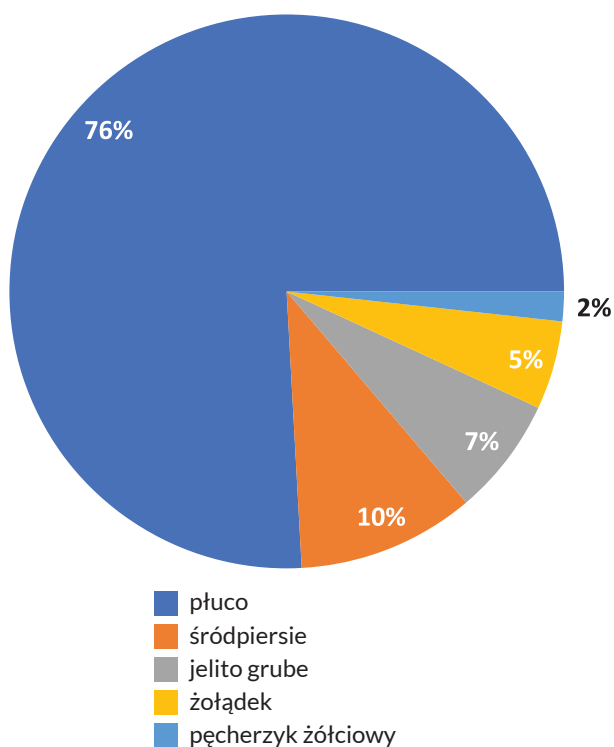
Wyniki

Badanie przeprowadzono wśród 58 pacjentów operowanych z powodu guzów nowotworowych (ryc. 1). U 54 badanych potwierdzono nowotwór złośliwy, u 4 zdiagnozowano zmianę łagodną, która została potwierdzona we wszystkich trzech badaniach (cytologii odbliskowej, badaniu doraźnym i rutynowym badaniu histopatologicznym).

W badaniu cytologii odbliskowej w 52 przypadkach uzyskano potwierdzenie obecności komórek atypowych lub nowotworu złośliwego, w dwóch przypadkach rozpoznanie cytologiczne fałszywie ujemne, natomiast w badaniu doraźnym i ostatecznym badaniu histopatologicznym potwierdzono nowotwór złośliwy. Wyniki fałszywie ujemne uzyskano w badaniu guzów płuc. W jednym przypadku był to rak płaskonabłonkowy płuca, a w drugim przerzut czerniaka do płuc.

W dwóch przypadkach w cytologii odbliskowej zdiagnozowano nowotwór złośliwy drobnokomórkowy płuca, co później potwierdzono w badaniu ostatecznym, natomiast w badaniu doraźnym rozpoznano nowotwór złośliwy niedrobnokomórkowy oraz raka anaplastycznego.

W badaniu doraźnym w 44 przypadkach postawiono trafne rozpoznanie raka niedrobnokomórkowego, natomiast



Rycina 1. Umiejscowienie guza

w 8 przypadkach uzyskano bardziej szczegółowe rozpoznanie raka płaskonabłonkowego oraz gruczołowego i wyniki te również były zgodne z wynikami badania histopatologicznego (ryc. 2).

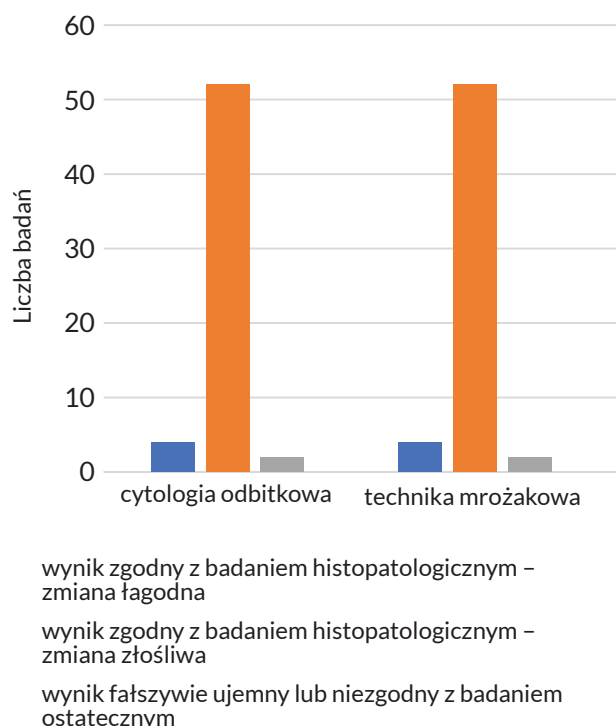
Zarówno w badaniu śródoperacyjnym wykonanym techniką mrożakową, jak i w cytologii odbliskowej skuteczność wynosi 97%.

Omówienie

Wraz z rozwojem onkologii pojawiają się wyzwania stawiane chirurgom i patomorfologom, które mają na celu szybkie, małoinwazyjne oraz dokładne ustalenie rozpoznania histopatologicznego w celu szybkiego wdrożenia leczenia onkologicznego. W literaturze można znaleźć kilka badań, które potwierdziły użyteczność i skuteczność cytologii odbliskowej jako śródoperacyjnej metody diagnostycznej. Z badań tych wynika, że zaletą cytologii jest to, że jest znacznie mniej czasochłonna, łatwa w zastosowaniu i oprócz mikroskopu nie wymaga dodatkowego specjalistycznego sprzętu.

Badania cytopatologiczne w porównaniu z badaniami histopatologicznymi są mniej inwazyjne, można je powtarzać, istotne są również niższe koszty materiałowe oraz krótszy czas trwania badania. Ich wada to niemożność oceny topografii tkankowej, co powoduje, że w przypadkach wątpliwych ocena cytopatologiczna powinna być potwierdzona badaniem histopatologicznym, które umożliwia ocenę większej liczby szczegółów obrazu mikroskopowego [4].

Esbona i wsp. dokonali przeglądu piśmiennictwa dotyczącego oceny marginesów wyciętych tkanek u pacjentek, u których zastosowano leczenie oszczędzające w raku



Rycina 2. Zgodność wyników cytologii odbliskowej i badania techniką mrożakową z wynikiem ostatecznego badania histopatologicznego

sutka. Wykorzystano dwie śródoperacyjne metody oceny marginesu: badanie techniką mrożakową i cytologię odbitkową. Badanie techniką mrożakową było wykonywane najczęściej, jednak wykazano artefakty w tkance tłuszczowej w wyniku procesu zamrażania i rozmrażania, powodujące utratę tkanki. Z tego względu zaproponowano cytologię odbitkową jako metodę alternatywną. Stwierdzono, że ta technika oceny marginesu u pacjentów z rakiem piersi poddawanych leczeniu oszczędzającemu jest wystarczająco szybka i wiarygodna, aby można było ją stosować jako badanie śródoperacyjne. Wykorzystanie tej metody może skutecznie zmniejszyć potrzeby dodatkowych operacji w celu osiągnięcia ujemnych marginesów w tych populacjach pacjentów. Podczas operacji badanie metodą cytologii odbitkowej trwało mniej niż 15 minut, a badanie śródoperacyjne techniką mrożakową około 30 minut [5].

Ahuja i wsp. przeprowadzili metaanalizę badań dotyczących diagnostyki przerzutów do węzłów chłonnych w raku sutka. Mimo że czułość badania techniką mrożakową była wyższa niż cytologii odbitkowej w wykrywaniu mikroprzerzutów, cytologia odbitkowa jest szybką i niedrogą techniką, którą można wykorzystać np. w przypadku braku kriostatu. Czułość obu technik w odniesieniu do wykrywania przerzutów była porównywalna, co czyni cytologię odbitkową przydatną metodą do szybkiej diagnostyki przerzutów do węzłów chłonnych. Metaanaliza ta podkreśla dokładność cytologii odbitkowej i badania techniką mrożakową w diagnostyce przerzutów w raku piersi do węzłów chłonnych [6].

Jaswal i wsp. przeprowadzili badanie 160 odbitek cytologicznych pobranych śródoperacyjnie od 52 pacjentów. Byli to pacjenci z nowotworami o różnym umiejscowieniu, jednak z przewagą nowotworów głowy i szyi. Autorzy ocenili badanie cytologii odbitkowej jako szybką, taną i wiarygodną metodę diagnostyczną. Prostota, szybkość i opłacalność tej techniki wraz z jej zdolnością do maksymalizacji odzyskiwania komórek z bardzo małych kawałków tkanki sprawiają, że cytologia odbitkowa jest cennym badaniem. Ograniczenia cytologii śródoperacyjnej są takie same, jak cytologii ogólnie. Są to: błąd pobierania próbek, niezdolność do odróżnienia nowotworu *in situ* od zmian inwazyjnych, niezdolność do oceny szczegółów głębokości inwazji i ograniczenia w wykrywaniu mikroprzerzutów [7].

Shubha i wsp. przeprowadzili badanie, do którego włączono 50 pacjentów operowanych z powodu nowotworów o różnym umiejscowieniu. Ogólny wskaźnik trafności diagnostycznej cytologii odbitkowej różnych narządów wyniósł 94%, a badania śródoperacyjnego wykonanego techniką mrożakową – 98%. Łączny współczynnik trafności diagnostycznej wyniósł 98%. Odsetek wyników fałszywie ujemnych i fałszywie dodatnich w cytologii odbitkowej wynosił odpowiednio 4% i 2%. Odsetek wyników fałszywie ujemnych w przypadku techniki mrożakowej wyniósł 2%. Z trzech niezgodnych przypadków w cytologii odbitkowej dwa wynikały z błędnej interpretacji, a jeden z powodu błędu podczas pobierania materiału. Dokładność diagnostyczna cytologii odbitkowej i techniki mrożakowej w przypadku nowotworów złośliwych wynosiła odpowiednio 96% i 98% [8].

Pallialil i wsp. ocenili śródoperacyjną cytologię odbitkową i badanie techniką mrożakową. W sumie do badania pobrano 157 odbitek tkanek, które podzielono na próbki ze względu na rodzaj guza, margines guza oraz przerzuty do węzłów chłonnych. Ogólna dokładność diagnostyczna cytologii odbitkowej w wykrywaniu rodzaju guza wyniosła 97,9%, a badania techniką mrożakową – 98,6%. Autorzy ocenili, że cytologia odbitkowa ma wiele zalet, jest prosta technicznie, szybka i charakteryzuje się niską krzywą uczenia się. Ale ma też pewne wady, jak np. brak możliwości odróżnienia raka *in situ* od zmiany inwazyjnej i uzyskania informacji o głębokości inwazji [9].

Biancosino i wsp. oceniali wartość cytologii odbitkowej wykonywanej śródoperacyjnie. W tym celu zbadano łącznie 532 próbki pobrane śródoperacyjnie z 518 wyciętych guzów klatki piersiowej od 360 pacjentów. Próbkę poddano śródoperacyjnej szybkiej cytologii, która później została porównana z ostatecznymi wynikami histologicznymi. Czułość i swoistość cytologii odbitkowej wyniosła odpowiednio 82% i 99%. Autorzy ocenili, że śródoperacyjna cytologia odbitkowa jest szybką, dokładną i czułą procedurą, umożliwiającą podejmowanie decyzji śródoperacyjnych, i jest wyraźnie pomocną alternatywą lub uzupełnieniem dla torakochirurga, pod warunkiem, że jest świadomy prawdopodobnych ograniczeń tej techniki [10].

Oczywiste jest, że zarówno badanie doraźne wykonane techniką mrożakową, jak i cytologia odbitkowa nie dadzą precyzyjnego rozpoznania, jednak samo określenie, czy jest to zmiana łagodna czy złośliwa oraz czy nowotwór jest drobno- czy niedrobnokomórkowy znacznie ułatwia chirurgowi podjęcie decyzji o dalszym postępowaniu.

Znaczenie cytologii odbitkowej wzrasta w przypadku braku dostępności patomorfologa w chwili przeprowadzania zabiegu. W związku z tym, że preparatu nie trzeba natychmiast transportować do zakładu patomorfologii, materiał można pobierać w godzinach popołudniowych, nocnych i w dni świąteczne, kiedy to badanie doraźne zwykle jest niedostępne. Szybkie rozpoznanie ma duże znaczenie w dobie istnienia szybkiej ścieżki onkologicznej. Dzięki uzyskaniu wstępnej diagnozy od razu po zabiegu, pacjent może korzystać z przyspieszonej diagnostyki oraz przygotowywać się do dalszego leczenia onkologicznego.

Wnioski

- W przeprowadzonej analizie wykazano, że cytologia odbitkowa jest wiarygodnym badaniem, które może być wykonywane w celu przyspieszenia rozpoznania choroby nowotworowej i może być alternatywą dla badania śródoperacyjnego wykonywanego techniką mrożakową.
- Łączenie cytologii odbitkowej i badania mikroskopowego wycinka opracowanego w formie preparatu mrożonego pomaga w osiągnięciu wysokiego wskaźnika trafności diagnostycznej.
- W przypadku braku możliwości wykonania badania śródoperacyjnego cytologia odbitkowa daje możliwość szybkiego uzyskania rozpoznania, a jednocześnie pobrany preparat nie musi być natychmiast przetransportowany do zakładu patomorfologii.

Piśmiennictwo

1. Kamatchi V, Babu NA, Sankari SL, Rajesh E. Imprint cytology. *J Pharm Bioallied Sci*, 2015; 7(Suppl 1): S207–S208. doi: 10.4103/0975-7406.155905
2. Langfort R, Marszałek A, Ryś J. Standardy organizacyjne oraz standardy postępowania w patomorfologii. Wytyczne dla zakładów/pracowni patomorfologii. Ministerstwo Zdrowia, 2020
3. Suen KC, Wood WS, Syed AA, et al. Role of imprint cytology in intraoperative diagnosis: value and limitations. *J Clin Pathol*, 1978; 31: 328–337. doi: 10.1136/jcp.31.4.328
4. Langfort R. Znaczenie badania śródoperacyjnego w diagnostyce zmian w płucach i ocenie marginesu chirurgicznego oskrzela. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*, 2007; 4: 267–272
5. Esbona K, Li Z, Wilke LG. Intraoperative imprint cytology and frozen section pathology for margin assesment in breast conservation surgery: a systematic review. *Ann Surg Oncol*, 2012; 19: 3236–3245. doi: 10.1245/s10434-012-2492-2
6. Ahuja S, Yadav P, Fattahi-Darghlou M, Zaheer S. Comparison of intraoperative imprint cytology versus frozen section for sentinel lymph node evaluation in breast cancer. A study along with systematic review and meta-analysis of literature. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2024; 25: 1113–1119. doi: 10.31557/APJCP.2024.25.4.1113
7. Jaswal YP, Gadkari RU. Evaluation of role of intraoperative cytology technique in diagnosis and management of cancer. *J Cytol*, 2020; 37: 126–130. doi: 10.4103/JOC.JOC_94_19
8. Shubha HV, Arun HN, Nirmala C, et al. Role of imprint cytology and frozen section in the diagnosis of tumours. *Tropical Journal of Pathology and Microbiology*, 2018; 4: 578–585. doi: 10.17511/jopm.2018.i08.06
9. Pallialil NC, Annam V, Sharmila P, Maheswari P. Evaluation of intraoperative imprint cytology and frozen section in determination of tumor and tumor margins. *Saudi J Pathol Microbiol*, 2023; 8: 1–9 2023. doi: 10.36348/sjpm.2023.v08i01.001
10. Biancosino C, van der Linde LIS, Kruger M, et al. Frozen section or intraoperative cytology: are we ready for a paradigm shift in thoracic surgery? *Adv Exp Med Biol*, 2022; 1374: 27–31. doi: 10.1007/5584_2021_696