Roghiyeh Saeidpoor
Seyyed Mansour Ayyoubi

Keuhkon sytologia -oppimateriaali

Normaalit, benignit ja malignisolut bronkusimu- ja harjanäytteissä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyytikko AMK

Bioanalyytikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

20.11.2012

Metropolia

Tekijät	Roghiyeh Saiedpoor Seyyed Mansour Ayyoubi
Otsikko	Keuhkon sytologia –oppimateriaali Normaalit, benignit ja malignisolut bronkusimu- ja harjanäytteissä
Sivumäärä	46 sivua + 1 liite
Aika	20.11.2012
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto
Koulutusohjelma	Bioanalyytikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalyytikka
Ohjaajat	Irma Niittymäki, Lehtori Pirjo-Riitta Kääriäinen, Asiantuntija

TIIVISTELMÄ

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli laatia opiskelumateriaali keuhkon sytologiasta Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalyytikan opiskelijoille. Oppimateriaalin päätarkoituksena on tukea opiskelijoiden itseopiskelua, mutta olla myös käyttökelpoinen perehdytysmateriaaliksi työelämässä.

Työmme käsittelee pääasiassa bronkiaalisia imu- ja harjausnäytteitä. Tavoitteena on perehdyttää opiskelijaa erottamaan normaaleja, maligneja sekä hyvän laatuisia solumuutoksia toisistaan. Tämän toteuttamiseksi rakensimme oppimateriaalin, joka tarjoaisi opiskelijalle monia eri tapoja tutustua soluihin ja niiden muutoksiin.

Opiskelumateriaali koostuu kahdesta osuudesta, jotka täydentävät toisiaan, mutta eivät ole kuitenkaan riippuvaisia toisistaan. Raportti perustuu laajaan teoriatietoon, kun taas kansiossa olemme keskittyneet sytologisiin kuviin. Kansioon sisältyy käyttämämme näytelasit ja tapauskohtaisessa järjestyksessä olevat 154 sytologista kuvaa selityksineen. Kansion etuja ovat sen kätevyys ja monikäyttöisyys. Opiskelijalla on mahdollisuus mikroskopoida näytelaseja ja löytää samoja löydöksiä kuin me. Näin opiskelija näkee myös solun yksityiskohdat, jotka eivät ole kuvissa selvästi havaittavissa.

Kaikki kansiossa ja raportissa käyttämämme kuvat ovat meidän itse ottamia kuvia itse tekemistä näytelaseista. Alunperin ajatuksena oli käyttää Huslabin Jorvin sairaalan patologian laboratorion arkistolaseja, mutta ottamamme kuvat osoittautuivat liian huonolaatuisiksi eikä lasien kuljetus muuhun rakennukseen esim. oppilaitokseen tai sairaalaan ollut mahdollista. Tästä syystä laboratorio keräsi meille kesän aikana bronkiaalisia imu- ja harjausnäytteitä, joista teimme CytoTek® -valmisteita ja värjäsimme ne Papanicolaoun koneväriäyksellä.

Avainsanat	keuhkon sytologia, sytologia, hengityselimet, bronkusimunäyte, bronkusharjanäyte, karsinooma, oppimateriaali

Authors	Roghiyeh Saiedpoor Seyyed Mansour Ayyoubi
Title	Lung Cytology orientation material: Normal-,Benign and Malignant Cells in Bronchial Washing and Brushing Specimens
Number of Pages	46 pages + 1 appendices
Date	20 November 2012
Degree	Bachelor of Healt Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Irma Niittymäki, Senior Lecturer Pirjo-Riitta Kääriäinen, Cytotechnologist

ABSTRACT

The purpose of our project was to create a learning material for the Biomedical Laboratory Science students of Helsinki, Metropolia University of Applied Sciences, Helsinki, Finland. The guide is meant to support the self-study of the students but also be applicable as an orientation material for hospitals.

In this orientation material, we focused on bronchial washing and bronchial brushing samples. The main idea of this project is to help the student to distinguish normal, benign and malign cells from each other. The orientation material consists of two sections, the theory part that is mainly in this report and the cytological pictures that we have gathered in a different folder that includes the glass slides. The purpose of the folder is to make learning more versatile for the students. We have added the glass slides into the material so the students can microscope themselves and search for our findings to have a “live-view” to see more cell details that cannot be seen in pictures. The photos are categorized case by case (e.g. slide 1, slide 2 etc.).

All the cytological photos that are used in this orientation material are taken by us. We were supposed to use the archive glass slides from pathology laboratory of the Huslab Jorvi Hospital, but the quality of the pictures taken with the laboratory’s microscope appeared to be too low for our work. And the transport of the slides to another building such as a university or another hospital was not possible. That is why we had to make our own cytocentrifuge preparations using the bronchial brushing and washing samples that the pathology laboratory had collected for us during the summer. We stained our CytoTek® -preparations using automatic Papanicolaou staining.

Keywords	lung cytology, cytology, respiratory track, bronchial washing, bronchial brushing, carcinoma, orientation material

Sisällys

1 Johdanto 1

2 Tautidiagnostiikan kehitys 2

3 Yleisen sytologian diagnostiikan perusteet 3

3.1 Maligniteetin kriteerit 3
3.1.1 Tuman muutokset 3
3.1.2 Sytoplasman muutokset 4
3.1.3 Muita muutoksia 5
3.2 Papanicolaoun luokat 5

4 Hengityselinten anatomia 7

4.1 Hengitystiet 7
4.2 Keuhkot 8

5 Sytologisten tutkimusten käyttöindikaatiot 9

6 Alahengitysteiden sytologiset näytteet ja näytteenottomenetelmät 10

6.1 Yskös 10
6.2 Bronkiaaliset näytteet 11
6.2.1 Bronkiaalinen imunäyte 11
6.2.2 Bronkiaalinen harjausnäyte 12
6.3 Bronkoalveolaarinen lavaatio (BAL) 12
6.4 Bronkiaalinen ohutneulabiopsia (ONB) 14

7 Hengityselinten normaalit solulöydökset 14

7.1 Levyepiteeli 15
7.2 Värekarvallinen lieriöepiteeli 15
7.3 Pikarisolut 17
7.4 Basaalisolut 18
7.5 Alveoliepiteeli 18
7.6 Alveolimakrofagit 20
7.7 Neutrofiilit 21
7.8 Eosinofiilit ja eosinofilia 22

8 Hengitysteiden muita löydöksiä 23

9 Hengitysteiden benignit atypiat 27

9.1 Metaplasia 27
9.2 Dysplasia 29

10 Hengityselinten karsinoomat 31

10.1 Levyepiteelikarsinooma 31
10.2 Adenokarsinooma 33
10.3 Pienisoluinen karsinooma 35
10.4 Suurisoluinen karsinooma 36

11 Sytosentrifugivalmisteen tekeminen (CytoTek®) ja värjäys 36

12 Perehdytysmateriaalin luominen 39

13 Pohdinta 42

Lähteet 44

Liitteet

Liite 1. CytoTek –valmisteen konevärjäysohje

1 Johdanto

Sytologia eli soluoppi on solujen mikroskooppista ulkomuotoa tutkiva tiedelaji. Sytologit ovat soluoppiin erikoistuneita henkilöitä, joiden tehtävä on tunnistaa solutyyppejä sekä etsiä morfologisia muutoksia niiden ympäristöstä.

Opinnäytetyömme aihe käsittelee keuhkon ja hengitysteiden sytopatologiaa, ja toimeksi antajina toimivat Metropolia Ammattikorkeakoulu ja Huslabin Jorvin sairaalan patologian laboratorio. Opinnäytetyömme on pääasiassa tarkoitettu Metropolian bioanalyytikan opiskelijoille, mutta on myös käyttökelpoinen työelämässä. Näytemuotoina olemme käyttäneet bronkusnäytteitä eli harjaus- ja imunäytteitä, mutta tietoa löytyy myös yskös-, ja BAL -näytemuodoista. Tarkoituksenamme on perehdyttää opiskelijaa mahdollisimman yksinkertaisella ja monipuolisella tavalla tunnistamaan erityyppisiä solutyyppejä. Emme kuitenkaan käsittele kaikkia solutyyppejä – ainoastaan joitakin normaaleja, benignejä ja maligneja solulöydöksiä. Tutkimme myös niiden kriteerejä; milloin jokin solu on normaali, ja milloin se voidaan luokitella reaktiiviseksi? Milloin tiedetään, että solu ei ole enää reaktiivinen, vaan on patologinen? Sytopatologiassa nämä rajat eivät ole aina helppoja huomata. Siksi olemme pyrkineet kuvaamaan vain äärimmäisiä tapauksia.

Oppimateriaali koostuu raportista, joka on yksinäänkin tarpeeksi kattava itseopiskelumateriaaliksi, mutta sitä tukee myös erillinen kansio. Raportin pohjana on laaja ja monipuolinen teoria sisältäen myös sytologisia kuvia eri solutyypeistä (n. 40 kuvaa). Kansiossa taas käsittelemme 154 sytologista kuvaa, jotka ovat tapauskohtaisessa järjestyksessä. Jokaisella sivulla on kuusi kuvaa, ja sivun alareunassa on kattavat selitykset jokaiseen kuvaan. Kuvien ohella ennen jokaista tapausta olemme kirjoittaneet raportin, jossa mainitaan näytetyyppi, värjäysmenetelmä sekä solulöydökset. Luotettavuuden lisäämiseksi jokaisella näytteellä on myös patologin diagnoosi.

Työtämme varten Jorvin sairaalan patologian laboratorio keräsi meille kesän aikana potilasnäytteitä, jotka olivat valittu aiheenrajauksemme mukaisesti. Alkoholifiksoiduista näytteistä teimme itse omat sytosentrifugivalmisteet (Cyto-Tek®), ja värjäsimme näytelasit Papanicolaoun värjäyksellä käyttäen sytologian värjäysautomaattia.

2 Tautidiagnostiikan kehitys

Sytologian historiasta ja kehityksestä on vaikea keskustella diagnostiselta kannalta viittaamatta niihin henkilöihin, joiden käsitykset ja kehitykset johtivat laajaan ja monimutkaiseen tieteeseen kuin se on tänä päivänä. Käsitteen sytologia juuret ulottuvat jopa vuoteen 1665, jolloin Robert Hooke (1635 – 17039) alkoi kutsua korkkiviipaleessaan näkyviä lokeroita ja onteloita *cellula* –sanalla (kreikk. kytos = ontelo). Myöhemmin vuosina 1838 – 1839 Shwann ja Schleiden totesivat eliöiden, kuten eläinten ja kasvien rakentuvan soluista. Toteamuksesta parikymmentä vuotta eteenpäin mentäessä saksalaissyntyinen Virchow julkaisee ensimmäisen solupatologian oppikirjan. 1800 –luvulla kehittyneen tautidiagnostiikan avulla opittiin hiljalleen erottamaan myös karsinoomasoluja esim. keuhkoputkeneritteessä. (Patologia. 2012: 1144 - 1145.)

Irtosolututkimukset otettiin käyttöön vasta 1930, kun George Nicolas Papanicolaou totesi, että kohdunkaulakanavan karsinoomista irtoilee karsinoomasoluja, jotka ovat mikroskoopilla tutkittavissa. Tätä uraa uurtavaa havaintoa seurasi, myös havainto siitä, että kohdunkaulakanavan karsinoomien esiasteet voidaan havaita irtosolututkimuksessa, jolloin voidaan dysplasia poistaa, ennen kuin syöpä ehtii kehittyä. 1960-luvulla aloitettujen papajoukkotarkastusten ansiosta kohdunkaulan syövän ilmaantuvuus kääntyi laskuun; 15/100 000 → 4/100 000. Papa-tutkimus on vain yksi esimerkki eksfoliatiivisesta eli irtosolututkimuksesta. Muita eksfoliatiivisia ovat esim. virtsan, keuhkojen ja likvoritilan irtosolutunäytteet. Irtosolututkimuksiin sopivia näytteenottotapoja on monia. Näytteet voidaan ottaa joko lastoilla, harjoilla tai sitten huuhtelemalla, jos kyseessä on putkimainen elin. Toinen hieman monimutkaisempi menetelmä on ohutneulatutkimus (fine/thin needle aspiration biopsy). Ohutneulabiopsialle tärkeintä on näytteen edustavuus. Näiden näytteiden otto sisäelimistä on mahdollistunut 1960-luvulla tapahtuneen huikean kehityksen myötä. Suurin osa ohutneulanäytteistä otetaan nykyään ultraääniohjatusti, mutta röntgenohjausta käytetään myös. Toisenlainen merkittävä kehityslinja on immunosytokemia, jonka avulla voidaan entistä jo solunäytteistä tehdä spesifistä kasvaindiagnostiikkaa.

Kliininen sytologia käsittää eksfoliatiivisen sytologian ja ohutneulabiopsian. Se on diagnostinen menetelmä, jonka etuina ovat nopeus, taloudellisuus ja vaivattomuus. Potilaalle hyödyllinen ja tulosta tuottanut sytopatologinen diagnostiikka edellyttää hyvää yhteistyötä kliinikoiden, radiologioiden ja patologien välillä. Sytologisia tutkimuksia teh-

dään myös silloin, kun halutaan ottaa mikroskooppinen näyte jostakin elimestä, mutta elin on teknisesti hankalassa paikassa eikä koepalaa voida ottaa komplikaatiovaaran vuoksi.
(Patologia. 2012: 1144 - 1145.)

3 Yleisen sytologian diagnostiikan perusteet

Kehon kaikki ontelot ja pinnat ovat peittyneet kalvolla, joka on alituisen fysiologisen kulumisen ja uudelleenmuodostumisen alaisena. Tämä kalvo on muodostunut pintasoluista, kuten levy- ja lieriöepiteeli, kuutiomainen ja välimuotoinen epiteeli sekä mesoteeli, endoteeli, ependyymi ja synovia. Pintasolut ovat kiinni tyvikalvossa, jonka alla on useimmiten side- ja tukikudoskerros verisuonineen. Tällaista epiteelinalaista sidekudoskerrosta sanotaan limakalvoissa limanipropriaksi. Ontelosysteemin eritteisiin itsestään irronneet tai mekaanisesti kalvon päältä irrotetut solut ovat kullekin elimelle joko vähemmän tai enemmän tyypillisiä. Tätä seikkaa käytetään hyväksi sytologisessa diagnostiikassa. Sama asia pätee myös elimiin ja kudoksiin, joilla ei ole tiehytsysteemiä ja joista solunäytteet on otettava joko ohutneulabiopsialla tai poistetusta kudospalasta sivelemällä, kaapimalla tai muulla sopivalla menetelmällä. (Koivuniemi. 1994: 7.)

3.1 Maligniteetin kriteerit

Sytologisissa näytteissä on mahdotonta arvioida esim. infiltroivaa kasvutapaa solulöydösten perusteella. Näin ollen sytologisissa löydöksissä maligniteetin diagnoosi perustuu valtaosaltaan Papanicolaoun toteamiin ja systematisoimiin solumuutoksiin, joista tumamuutoket ovat ratkaisevan tärkeitä**.** Tässä kappaleessa kuvataan atyyppisen (epänormaalin) solun piirteitä syöpäkasvaimissa. (Koivuniemi. 1994: 8.)

3.1.1 Tuman muutokset

Maligniteetin diagnostiikassa ratkaisevan tärkeitä tekijöitä ovat tumaan liittyvät muutokset, kuten sen koon suureneminen ja vaihtelu (anisonukleoosi) sekä tumakoon pieneneminen (mikronukleus), joka esiintyy esim. pienisoluisessa karsinoomassa. Tumakoon muutoksiin liittyy myös sen muodon epäsäännöllisyys ja muodon vaihtelu. Atyyp-

pisiin tuma muutoksiin kuuluu vielä monitumaisuus, joka havaitaan esimerkiksi pleomorfisissa sarkoomissa.

Kromatiinin muutoksissa tärkeitä muutoksia, joihin pitää kiinnittää huomiota ovat kromatiinin määrän lisääntyminen (hyperkromasia), sen määrän vaihtelu (aneuploidia), epätasainen jakautuminen eli kokkareisuus, juosteisuus sekä kromatiinin kasautuminen tumakelmun viereen (parakromatiini). Hyperkromaattisuus esiasteiden ja karsinoomien soluissa johtuu lisääntyneen kromatiinin voimakkaasta värjäytymisestä. Suurentunut tumakoko ja tuman hyperkromasia korreloituvat selvästi tuman lisääntyneeseen DNA-pitoisuuteen. Värjäytymisen vahvuus riippuu kromatiinin ohella tuman koosta.

Nukleolissa esiintyviä muutoksia ovat sen koon suureneminen (makronukleolit), niiden epäsäännöllinen vaihteleva muoto, multippelisuus (monta nykleolia) sekä epänormaali värjäytyminen. Tumakelmussa atyyppiset muutokset havaitaan tumakelmun paksunemisena (korostuminen), sen paksuuden vaihteluna sekä epäsäännöllisenä mutkitteluna, sahanterämäisyytenä, kulmikkuutena, poimuiluna ja silmuiluna. Degeneratiivisia tumamuutoksia ovat, kutistuminen (pyknoosi), kromatiinin kokkaroituminen ja hajoaminen (kromatolyysi) sekä koko tuman hajoaminen (karyolyysi) tumakelmun tuhouduttua. (Koivuniemi. 1994: 8.)

3.1.2 Sytoplasman muutokset

Sytoplasmaa tutkittaessa merkittäviä muutoksia ovat sytoplasman määrän vaihtelevuus, ja maligniteetissa sytoplasma on yleensä niukempi kuin vastaavassa normaalissa solussa. Sytoplasman ja koko solun muoto vaihtelee (solupleomorfismi) ja on usein epänormaali: *esim.* nuijapään muotoiset (tod cells), säiemäiset (fiber cells), käärmemäiset solut (snake cells) ja sukkulamaiset solut (spindle cells).

Maligniteetissa sytoplasman värjäytyvyys on vaihtelevaa ja poikeaa normaalista. Muutokset liittyvät solujen kypsymishäiriöön: esim. ylenmääräinen eosinofilia viittaa epänormaaliin keratinisaatioon (dyskeratoosiin) ja heikko tai puuttuva värjäytyminen alhaiseen erilaistumisasteeseen tai erilaistumattomuuteen (anaplasiaan). Sytoplasman rakenteet ja tuotteet, kuten eriterakkulat ja –pisarat (vakuolit), pigmenttijyväset, keratiinin ja liman määrä ym. poikkeavat usein normaalista vastaavasta solusta. Degeneratiivisia muutoksia ovat vakuolisaatio (hydrooppinen degeneraatio), solun hajoaminen omien

entsyymien toimesta eli autolyysi, sekä sytoplasman täydellinen tuhoutuminen sytolyysi (solusta jää jäljelle paljaita tumia).
(Koivuniemi. 1994: 8.)

3.1.3 Muita muutoksia

Muita maligniteetin diagnostiikassa huomioon otettavia muutoksia ovat solukoon suurentuminen ja sen vaihtelevuus. Tuma-sytoplasma-suhde on suurempi benignissä solussa, mikä johtuu useimmiten suurentuneesta tumakoosta. Myös mitoosien lisääntynyt määrä ja epänormaalien (patologiset, atyyppiset) mitoosien esiintyvyys viittaa malignisuuteen. Kypsymiseen (differentaatioon) liittyviä häiriöitä ovat kaikki sytoplasman muutoksissa mainitut erilaistumiset, lisäksi tuma-sytoplasma-suhteen suureneminen ja vaihtelu, ylenmääräinen sytoplasmatuotteiden (liman, keratiinin, pigmenttijyvästen ym.) esiintyminen tai niiden puuttuminen. (Koivuniemi. 1994: 8.)

Maligneissa näytteissä saattaa esiintyä solujen välisen koheesion eli keskenäisen kiinnittyvyyden alenemista yksittäisten solujen ja hajanaisten soluryhmien väillä. Koheesio on luonteenomainen piirre epiteliaalisessa solukossa, myöskin karsinoomissa, ja se on riippuvainen solujen erilaistumisasteesta ollen huonoin erilaistumattomilla soluilla. Muilla kuin epiteliaalisilla ja mesoteliaalisilla soluilla koheesio on yleensä heikko tai puuttuu kokonaan, ja solut ovat sytologisissa näytteissä yksittäisiä tai vain kudosyhteydessä toisiinsa. Atyypisten solujen runsaus näytteessä on yhteydessä suoran solujen välisen koheesion heikkouteen: mitä huonompi koheesio, sitä runsaammin atyyppisiä soluja. Nekroosikuolio on toissijainen kriteeri, joka on yleinen maligneissa kasvaimissa, etenkin nopeasti kasvavissa karsinoomissa ja metastaaseissa. Nekroosissa tuma ja sytoplasma tuhoutuvat useimmiten eosinofiilisesti värjäytyväksi massaksi, jossa solurajat saattavat vielä osittain erottua. (Koivuniemi. 1994: 8, 79.)

3.2 Papanicolaoun luokat

Hyvän irtosolunäytteen lausunto rakentuu hyvistä esitiedoista sekä tutkittavan muutoksen edustavasta solunäytteestä. Suomessa solunäytteiden vastaus annetaan yleensä papa-luokkina (taulukko 1). Korkeammissa papaluokissa löydöksestä tehdään vielä selventävä lausunto lisätutkimuksien perusteella. Ohutneulabiopsioista ja BAL-

tutkimuksista lausunto annetaan aina. Lausunnossa on löydöksistä aina kommentti kliinikolle. Eri sairaaloissa saattaa olla omia patologian ja kliinisten osastojen yhteistyökäytäntöjä joihin kannattaa tutustua. (Patologia. 2012: 1145.)

Taulukko 1. Papanicolaoun luokat. (Patologia. 2012: 1145.)

Luokka 0	Näyte on epäedustava, siinä ei ole soluja tai näyte on jostain syystä pilaantunut ja tulkintakelvoton.
Luokka 1	Kaikki solut ovat benignejä. Näytteessä voi olla kuitenkin jotain poikkeavuutta, kuten tulehduksen aiheuttajia, sieniä tai parasiitteja. Jos nämä eivät aiheuta soluihin muutoksia, papa-luokka pysyy 1:nä.
Luokka 2	Löydös poikkeaa normaalista, mutta ei ole epäilyttävä pahanlaatuisen suhteen. Esim. gynekologisessa näytteessä HPV-infektio synnyttää koilosyyttejä, joiden rakenne poikkeaa normaalista, jolloin papa-luokka nousee 2:een. Samoin esim. sädehoito voi aiheuttaa luokka 2:n löydöksen.
Luokka 3	Epäilyttävä pahanlaatuisen kasvaimen suhteen, tällainen löydös tulee aina tarkistaa joko uudella solunäytteellä, histologisella koepalalla tai muilla keinoin.
Luokka 4	Kyseessä on melko varma malignikasvain, mutta pieni mahdollisuus benigniin on mahdollista.
Luokka 5	Maligni solulöydös. Pyritään siihen, että tulos olisi yhtä varma kuin histologisella menetelmällä saatu diagnoosi. Ennen radikaaleja hoitotoimenpiteitä tulisi luokka 5 aina varmistaa histologisesti tai saada muilla keinoin vahvistusta muutoksen pahanlaatuisuudesta.

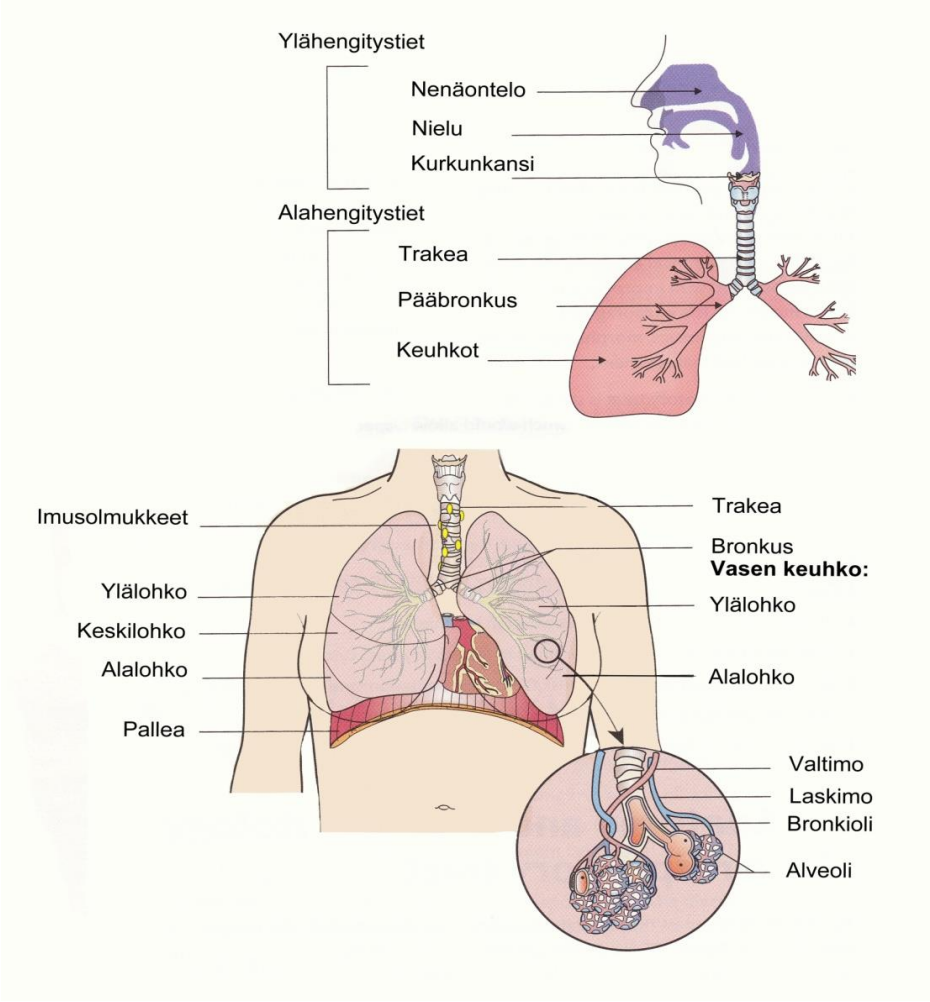
4 Hengityselinten anatomia

Hengityselimistön ensisijainen tehtävä on toimittaa happipitoista verta kaikkialle elimistöön, ja poistaa hapen palamistuotteena syntynyttä hiilidioksidia uloshengityksen yhteydessä. Ihmisen hengityselimiä ovat keuhkot, nenäontelo, henkitorvi ja keuhkoputket. Kuvio 1 esittää hengityselimistön yksinkertaistettua anatomiaa.

4.1 Hengitystiet

Hengitystiet jaetaan kahteen osaan; ylähengitysteihin ja alahengitysteihin. Ylähengitysteihin kuuluu kurkunpää ja kaikki sen yläpuolella olevat eli nielu ja nenäontelot sivuonteloineen. Alahengitysteihin taas kuuluu henkitorvi, keuhkoputket, ja keuhkot. Ylähengitysteiden ensisijainen tehtävä on ilman kuljettaminen keuhkoihin sen lämmittämisen, kosteuttamisen, pölyjen suodattamisen jälkeen. Alahengitystiet ovat myös mukana puolustusjärjestelmässä, ja alahengitysteiden loppupää (alveolit) on vastuussa kaasujen vaihdosta. Ilma siirtyy hengityselimistöön nenän ja suun avulla. Ilma kulkee nenäontelojen ja nielun kautta kurkunpäähän (larynksiin), josta se kulkeutuu vielä keuhkoputkeen. Keuhkoputki haarautuu kahteen pienempään putkeen, jotka johtavat vielä pienempiin putkiin, bronkuspuustoon. Ja ne taas kuljettavat ilman pieniin pusseihin, joita kutsutaan alveoleiksi, jossa elintärkeä kaasujen vaihtomme tapahtuu.

Nenäontelon etuosaa, suuonteloa, epiglottiksen yläosaa, nielun keski- ja alaosaa sekä larynksissa äänihuulia peittää kerrostunut levyepiteeli. Levyepiteelin muodostamia sarakkeita on kurkunpään seinämässä. Värekarvallista lieriöepiteeliä taas löytyy nenäontelossa ja kaikissa nenän sivuonteloissa, nenänielussa, epiglottiksen alapinnalla ja kurkunpäässä. Keuhkoputken rakenne on tyypillisimmillään samanlaista kuin lohko- ja segmenttibronkusten seinämän rakenne. Sen sisäpintaa peittää värekarvallinen hengitysepiteeli, joka lepää ohuen tyvikalvon päällä.
(Ari Koivuniemi. 1994: 143-144.)



Kuvio 1. Hengitysteiden ja –elinten anatomia. (Shambayati. 2011: 248. Muokattu.)

4.2 Keuhkot

Keuhkot ovat parillinen ja kimmoisa elin, jotka sijaitsevat hyvässä suojassa rintaontelossa suojanaan rintalasta, kylkiluut sekä selkäranka. Keuhkoja ihmisellä on kaksi: oikea keuhko ja vasen keuhko. Oikea keuhko jakautuu kolmeen lohkoon; ylä-, keski- ja alalohkoon. Vasen keuhko jakautuu kahteen lohkoon; ylälohko, alalohko. Jokainen lohko taas jakautuu sidekudoksien väliseinien avulla pienempiin jaokkeisiin eli segmentteihin.

Segmenttejä on kummassakin keuhkossa kymmenen. Jokaiseen segmenttiin menee oma keuhkoputkihaaransa. Keuhkoputkien pienimmät haarat, jotka ovat läpimitaltaan noin puolimillimetriä päättyvät puolipallon tai monikulmion muotoisiin keuhkorakkuloihin eli alveoleihin. Alveolien läpimitta uloshengityksen lopussa on 0,1 – 0,2 mm. Sisään-

hengityksen lopussa läpimitta on yli kaksi kertaa suurempi. Keuhkokudoksen muodostuminen noista pienistä alveoleista mahdollistaa hapen ja hiilidioksidin vaihdon. Eri keuhkoputkihaaroihin liittyvät alveolit ovat seläkkäin ja niiden välissä kulkevat keuhkohiussuonet.
(Ihmisen fysiologia ja anatomia. 2008: 267.)

5 Sytologisten tutkimusten käyttöindikaatiot

Alla oleva taulukko 2 kertoo mitä näytetyyppejä käytetään mihinkin elinsysteemiin. Esim. keuhkoihin ja bronkuspuustoon käytetään näytetyyppejä yskös, bronkuslima ja ohutneulabiopsia.

Taulukko 2. Sytologisia tutkimuksia (Patologia. 2012: 1145.)

Elinsysteemi	**Näytetyyppi**
Keuhkot, bronkuspuusto	Yskösnäytteet, Bronkuslima Ohutneulabiopsiat
Ruuansulatuskanava	Mahan, ruokatorven harjairtosolut Mahan, ruokatorvenhuuhtelunäytteet
Synnytyselimet	Portio, kohdunkaula, emätin, ulkosynnytti-met, kohtu
Virtsaelimet	Virtsanäyte, Ohutneulabiopia
Seroosien onteloiden eritteet	Pleura, peritoneum ym.
Selkäydinneste	Selkäydinpunktio
Eturauhanen	Ohutneulabiopsiat
Rintarauhanen	Eritenäytteet, Ohutneulabiopsiat

Keuhkojen ja bronkuspuuston irtosolututkimuksissa tärkein indikaatio on pahanlaatuisten kasvainten toteaminen ja tyypittäminen. Bronkofiberoskopian yhteydessä otetut näytteet mahdollistavat usein myös kasvaimen paikallistamisen.
Benignien atypioden diagnosointiin liittyy **kolme tärkeää** aihetta:

1) ennakoivan, prekanseroottisiin muutoksiin johtavan atypian tunnistaminen;
2) karsinoomien yhteydessä esiintyvän benignin atypian tunnistaminen;
3) väärien positiivisien löydöksen eliminoituminen. (Koivuniemi 1994: 147.)

6 Alahengitysteiden sytologiset näytteet ja näytteenottomenetelmät

Hengitysteistä voidaan kerätä solumateriaalia sytologisiin tutkimuksiin kolmea eri tekniikkaa käyttäen: spontaanit yskösnäytteet, bronkoskopia näytteet ja huuhtelunäytteet. Näytteenottomenetelmän ratkaisee tutkimuksen indikaatio, tutkittavan muutoksen sijainti sekä käytettävissä olevat tekniset valmiudet. Pitkälle kehittyneiden tähystysmenetelmien seurauksena yskösnäytteiden osuus on kuitenkin suuresti vähentynyt. (Koivuniemi. 1994: 174.)

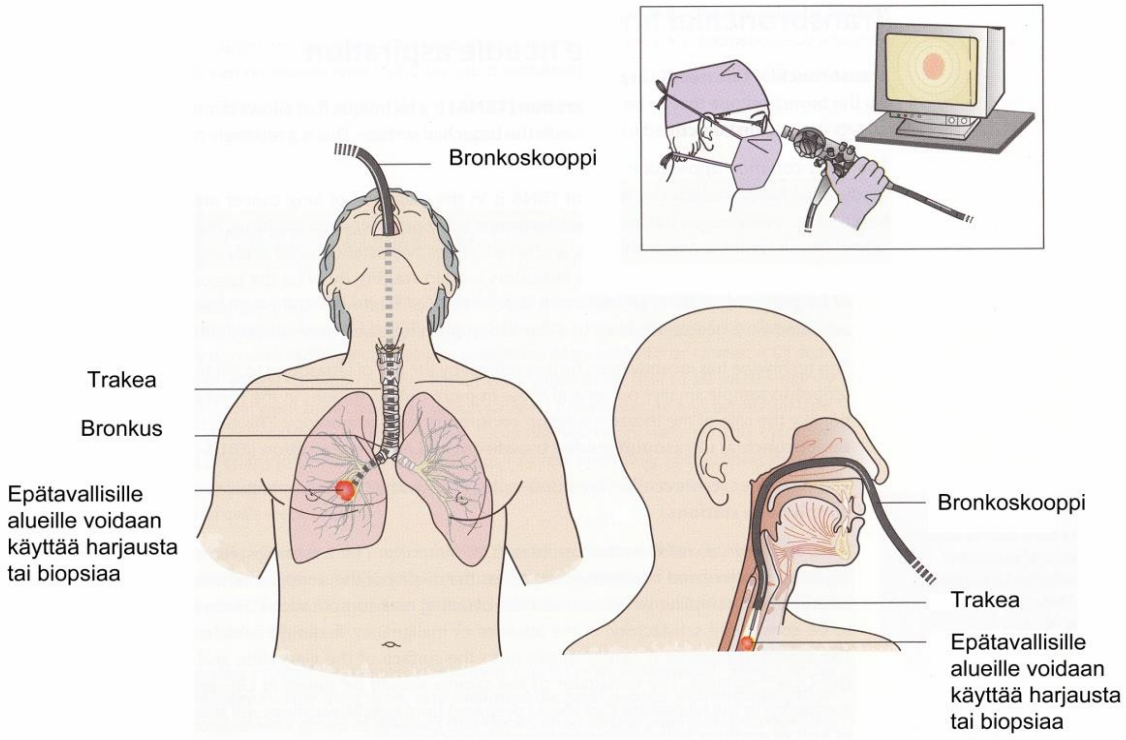
6.1 Yskös

Yskös on monimutkainen limaerite, joka syntyy jonkin sairauden tai hengitystievaurion seurauksena. Ysköksen mikroskooppisten tutkimusten avulla voidaan saada tietoa sekä benigni- että malignisolujen muodostumisesta. Tällä näytteenottotoimeenpiteellä on myös muita tiettyjä etuja verrattaessa muihin menetelmiin, kuten bronkoskopiaan ja keuhkohuuhtelunäytteisiin. Yskösnäytteet ovat non-invansiivisia sekä hyvin taloudellisia, jonka myötä myös hyvin eko-ystävällisiä ja helposti toistettavia. (Gray, McKee. 2003: 17.) Ysköksen huono puoli on se, että näytteenotto tapahtuu kotona eikä se ole ammattilaisen valvottavissa. Näytteet ovat useimmiten vain sylkeä eikä spontaanista ysköstä. Siksi nykyään otetaan enemmän bronkoskoopin yhteydessä otettavia bronkiaalisia näytteitä. (Asiantuntija: Pirjo-Riitta Kääriäinen. 24.4.2012.)

Malignisuuden luotettavaan diagnosointiin suositellaan kolme eri näytettä eri päiviltä. Mieluiten aamulla ennen ruokailua tai sitten kun ruokailusta on kulunut pari kolme tuntia. Tämä siksi, jotta näyte on mahdollisimman puhdas ruokajätöksistä. Näin tulokset voidaan saada jopa 70 %:n tarkkuudella, mikä on todella hyvä ja luotettava tulos. Spontaaniyskökset soveltuvat bronkogeenisen karsinooman toteamiseen kasvaimen lokalisaatiosta riippumatta. (Gray, McKee. 2003: 17; Ducatman – Cibas. 2008: 67.)

6.2 Bronkiaaliset näytteet

Keskeinen parannus alahengitysteiden solujen näytteenotossa tapahtui notkean bronkoskoopin kehittyessä 1960-luvun loppupuolella. Nykypäivänä tämä laite on mahdollistanut näytteenoton kaikista hengitysteistä. (Ducatman – Cibas 2008: 67.) Bronkoskopian yhteydessä otettavia näytemuotoja on monta: bronkiaalinen imunäyte, harjaus, bronkoalveolaarinen lavaatio sekä ohutneulabiopsiat (ONB) (Kuvio 2).



Kuvio 2. Bronkoskopointi. (Shambayati. 2012: 257. Muokattu.)

6.2.1 Bronkiaalinen imunäyte

Bronkiaalinen aspiraatio eli imu on yksi bronkoskooppisista menetelmistä, jota käytetään normaalista poikkeavien solujen etsintään alahengitysteistä. Bronkiaaliset eritteet voidaan joko aspiroida suoraan alahengitysteistä bronkoskoopin kautta. Toinen vaihtoehto on ns. ”pestä” limakalvo valuttamalla 25–30 mL huoneenlämpöistä suolaliuosta (NaCl) bronkoskooppia pitkin ja sitten aspiroida pesuvedet. Siksi tätä menetelmää kutsutaan englanniksi nimellä ”bronchial washing”. Aspiroitua nestettä ei voi käyttää näytteenä ennen sentrifugointia. Vasta sentrifugoinnin jälkeen tiivisteestä voidaan saada

luotettava sivelynäyte. Bronkiaalisen imun tarkkuus on pienempi kuin harjauksen tarkkuus, mutta toimenpide on kuitenkin tärkeää perifeeristen vaurioiden, infektioiden ja bronkoalveolaarisolujen karsinoomien diagnosointiin. (Ducatman – Cibas 2008: 67 - 68.)

6.2.2 Bronkiaalinen harjausnäyte

Harjausnäytteet otetaan yleensä bronkofiberskopian yhteydessä. Otettujen huuhtelu- ja harjausnäytteiden tehtävä on kasvaimen lokaasition varmistaminen. Bronkofiberskooppi sallii suoran visualisoinnin ja näytteenoton bronkuspuustosta. Tässä näytteenottomenetelmässä harja liitetään endobronkiaalisen vaurion pinnalle. Harjaan kiinnittyneet solut ovat silloin hyvin säilyneitä proliferoivaa kudosta. Ne voidaan joko sivellä suoraan itse harjalla lasilevylle tai huuhdella harja liuoksessa, jolloin harjaan kiinnittyneet solut irtoavat harjaspäästä. Soluja sisältävä liuos sentrifugoidaan ja tiivisteestä tehdään sivelynäyte. Kun sivelyt ovat valmiita, on fiksaation aika: näytteet upotetaan 95 %:seen etanoliin tai käytetään sprayfiksaattoria. Fiksaatio on välttämätöntä, jos halutaan taltioida morfologiset yksityiskohdat. Bronkiaalisen imu- tai harjausnäytteen diagnostinen tarkkuus on verrattavissa bronkiaaliseen biopsiaan. Malignisolujen havaitseminen on luotettavinta harjauksella kuin bronkiaalisella biopsialla. Harjausnäytteissä diagnostinen tuotto kehittyy useiden eri näytteenottokertojen myötä. Perifeeriset ja submukoosiset bronkukseen ulkoistuneet vammat eivät tule ottaa harjausnäytteellä. (Ducatman – Cibas 2008: 68.)

6.3 Bronkoalveolaarinen lavaatio (BAL)

BAL on bronkofiberskopian yhteydessä tapahtuva näytteenottomenetelmä, jossa solut irrotetaan alveolaareista huuhtelemalla haluttu alue suolaliuoksella. BAL on erityisen hyödyllinen menetelmä opportunististen infektioiden diagnosointiin immuunivasteen puutoksesta kärsivien potilaiden kohdalla. Toimenpide on polikliininen eikä vaadi potilaan jäämistä sairaalaan. Tutkimusta käytetään diffuusien keuhkosairauksien, kuten sarkoidoosin ja asbestoosin diagnostiikkaan - harvemmin pahanlaatuisten kasvainten diagnostiikkaan. BAL:in luotettavuus alveolitason suhteen on hyvä, mikäli näytteessä ei ole bronkuslimakontaminaatiota tai verikontaminaatiota, jotka häiritsevät proteiinimääräyksiä. (Koivuniemi. 1994: 222.)

BAL:ssa näytteenotto toimii melkein ihan samalla tavalla kuin bronkiaalisessa imunäytteessä. Kummassakin solut irrotetaan alveolaareista valuttamalla suolaliuosta haluttuun kohtaan bronskofiberskopian yhteydessä. Ero BAL:in ja pesun välillä on vain huuhteluerät ja eräannokset. BAL:ssa ensimmäisestä huuhtelukerrasta saa edustavamman näytteen suurien hengitysteiden huokoisista, kun taas myöhemmät huuhtelukerrat heijastavat alveolaariset osat. (Ducatman – Cibas. 2008: 68.)

Ennen näytteenoton aloittamista, tehdään paikallispuudutuksia potilaalle ja tietenkin muita esivalmistuksia. BAL:ssa bronskoskooppi työnnetään niin syvälle kuin se menee ja ohjataan pieneen subsegmentaaliseen bronkukseen mahdollisimman kauas perifeeristä. Diffuuseissa keuhkosairauksissa huuhtelunäyte otetaan yleensä oikeasta keskilohkosta tai vasemman alalohkon lingulaosasta. Rajoittuneissa muutoksissa tähystin ohjataan sairastuneeseen lohkoon tai segmenttiin. Tähystimen asetuttua haluttuun kohtaan, huuhdellaan alue useissa erissä ruiskuttamalla 100 – 200 mL puskuroitua huoneen lämpöistä pyrogeenitöntä keittosuolaliuosta 20mL:n erissä. Jokaisen erän jälkeen liuos aspiroidaan takaisin. (Koivuniemi. 1994: 221, 222.)

Näyteet lähetetään patologian laboratorioon, jossa suoritetaan tarpeelliset toimenpiteet ja vasta sitten jaetaan tutkimuspyynnön mukaisesti eri yksikköihin tutkittavaksi. Jos pyydetään ainoastaan infektion selvitystä, näyte lähetetään sellaisenaan ilman minkäänlaista fiksaatiota suoraan mikrobiologian tai virologian laboratorioon. Mutta kerätylle huuhtelunäytteelle ei voi tehdä samoin; näytteestä pipetoidaan 1 ml koeputkeen, jossa on 1-2ml 96 %:sta etanolia. Jos toimitus on toteutettavissa muutaman tunnin sisällä, näyte toimitetaan viivästyksettä jäämurskassa säilytettynä patologian laboratorioon. Mikäli näytettä ei ole mahdollista toimittaa laboratorioon samana päivänä, natiivinäytteen solut on erotettava huuhtelunesteestä sentrifugoimalla 800–100 rpm 10–15 min. Solusedimentin päälle lisätään soluelatusainetta (esim. RPIM-1640), minkä jälkeen tämä solunäyte sekä siitä sentrifugoimalla erotettu supernatantti voidaan säilyttää yön yli jääkaapissa. (Koivuniemi. 1994: 222.)

6.4 Bronkiaalinen ohutneulabiopsia (ONB)

Keuhkon transtorakaalisessa ohutneulabiopsiassa millimetrin läpimittaisella neulalla aspiroidaan solumateriaalia keuhkoista ultraääni- tai tietokonetomografia ohjausta hyödyntäen. Kerätty solumateriaali fiksoidaan välittömästi 50 %:seen etanoliin tai sivellään ohueksi kalvoksi objektilasille. Fiksoidusta materiaalista tehdään laboratoriossa Papanicolaoun menetelmällä värjätty Millipore –filtterivalmiste (MiPo) tai sytosetrifugi preparaatti. Ilmakuivattuihin sivelynäytteisiin käytetään värjäystekniikkana May-Grünwlad-Giemsaa (MGG). Niihin voidaan tarvittaessa soveltaa myös erilaisia syto- tai immunosytokemiallisia erikoisvärjäyksiä. (Keuhkosairaudet 2005: 96.)

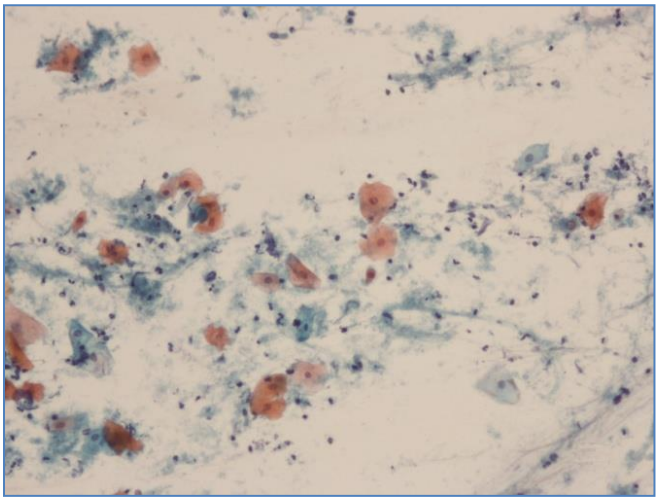
Ohutneulabiopsian tärkein käyttöindikaatio on maligniksi epäilty keuhkolöydös, jota muita tutkimusmenetelmiä käyttäen ei ole onnistuttu tunnistamaan. OBN-menetelmän osuvuus pahanlaatuisten kasvainten diagnostiikassa on keskimäärin 85 %. Väärien positiivisten tulkintojen osuus kaikista keuhkojen pahanlaatuisista diagnooseissa on 1–2 %. Yleisimpiä syitä, jotka johtavat vääriin positiivisiin tulkintoihin ovat tulehdus- ja sädetys muutokset. Vääriä negatiivisia löydöksiä keuhkokasvainten OBN-näytteistä on keskimäärin 15 %. Nämä johtuvat näytteenoton teknisistä epäonnistumisista: esim. neula ei ole osunut haluttuun kohteeseen, näyte on verinen, tai solumäärä ei ole riittävä. (Keuhkosairaudet 2005: 96.)

7 Hengityselinten normaalit solulöydökset

Hengitysteiden epiteeli ja siitä irtoavat solut ovat tyypiltään ja rakenteeltaan hengitysteiden eri tasoilla. Tästä syystä näytteen normaalisolukuva voi siten olla varsin erilainen menetelmästä ja näytteenottopaikasta riippuen. Esimerkiksi ylempien hengitysteiden solumateriaali sisältää neutrofiilejä ja levyepiteelisoluja, kun taas bronkuspuustossa esiintyy enemmän neutrofiilien, lieriöepiteelisolujen ja makrofagien muodostama solukuva, ja alveolaaritasoa edustaa makrofagivaltainen solukko, jossa on myös jonkin verran lymfosyyttejä. (Koivuniemi. 1994: 149.)

7.1 Levyepiteeli

Irtosolunäytteissä näkemämme solut ovat enimmäkseen pinnallisia levyepiteelisoluja suunontelosta, nielusta ja kurkunpäästä. Näillä soluilla on runsas asido- tai basofiilinen sytoplasma sekä pieni sentraalinen tuma, joka on usein myös pyknoottinen (kuvio 3). Tulehdusten ja ulderaatioiden yhteydessä levyepiteelistä voi hilseillä myös intermadiaari- tai parabasaalikerroksen soluja, tai sukkulamaisia soluja, jotka näyttävät virheellisesti dysplastisilta soluilta. Levyepiteelisolujen tumien säännöllisyys sekä keratinisaation puuttuminen ovatkin merkittäviä piirteitä erotusdiagnostiikassa. Kerrostuneesta levyepiteelistä voi kuitenkin joskus irrota myös hyvänlaatuisia keratiinihelmiä, jolla ei ole diagnostista merkitystä. Niitä ei kuitenkaan saa sekoitta neoplastisiin keratiinihelmiin. (Koivuniemi 1994: 149.)



Kuvio 3. Normaaleja levyepiteelisoluja. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x10.)

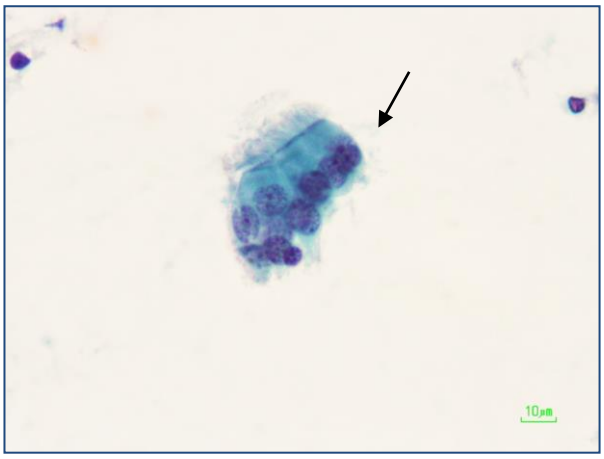
7.2 Värekarvallinen lieriöepiteeli

Hengitysteissä esiintyvien lieriöepiteelisolujen uloimmassa, leveässä päässä on ohut ja tiivis päätelevy, johon värekarvat ovat kiinnittyneet. Näitä soluja kutsutaan nimellä värekarvalliset lieriöepiteelisolut. Värekarvallisten lieriöepiteelien sytoplasma kapenee basaaliosistaan ohueksi rihmaiseksi hännäksi ja värjäytyy useimmiten basofiilisesti. Papavärjäyksessä sytoplasma on sinertävän tai ruskehtavan vihreä. Joskus sytoplasma saattaa olla asidofiilistä, ja siinä voi esiintyä ruskehtavia pigmenttijyväsiä, jotka paikallistuvat tuman yläpuolelle ja ovat todennäköisesti lipofuskiinia. Lieriöepiteelisoluilla tuma on pyöreä tai soikea, tarkkarajainen ja sijaitsee yleensä solun keskellä. Tumassa

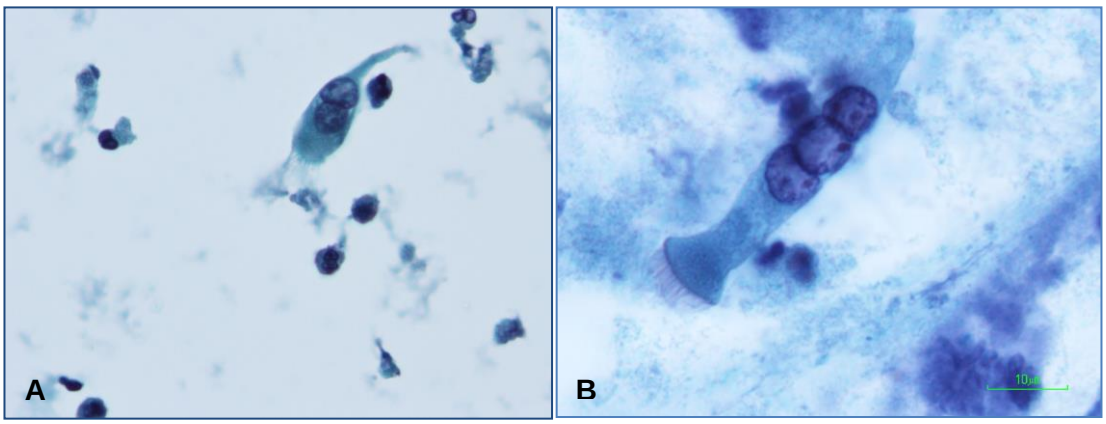
on hienojakoista kromatiinia ja useimmiten yksi tai kaksi kromatiinikokkaretta sekä pieni nukleoli. Tumat voivat kooltaan ja sijainniltaan vaihdella kohtalaisesti. Monimuotoisuutta saattaa esiintyä.

Hengitysteiden lieriöepiteelisoluja sivulta päin katsottaessa värekarvojen ja päätelevyn toteaminen on vaivatonta ja selkeää (kuvio 4.) Mutta jos epiteelisolut esiintyvät näytteessä yhtenäisenä kappaleena, solut ovat pystyasennossa, ja rykelmän yleisrakenne muistuttaa hunajakennoa. Silloin soluja on fokusoitava laajalti ylös-alas värekarvojen huomaamiseksi. Värekarvalliset lieriöepiteelisolut ovat melko alttiita degeneratiivisille muutoksille, varsinkin värekarvojen menettämiselle (kuvio 5).

(Koivuniemi 1994: 149.)



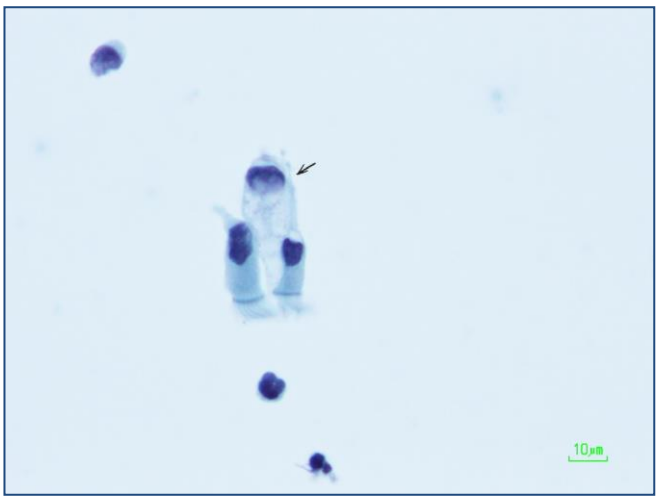
Kuvio 4. Hengitysteiden värekarvallisia lieriöepiteelisoluja, joissa päätelevy erottuu ja värekarvat ovat nähtävissä. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x40.)



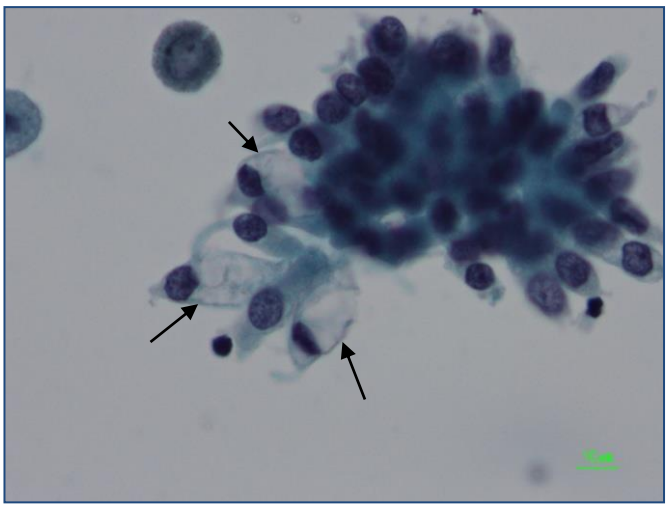
Kuvio 5. Reaktiivinen kaksitumainen värekarvallinen lieriöepiteelisolu, joka on normaalin rajoilla, koska ei ole menettänyt värekarvojaan (vas.). Kolmetumainen värekarvallinen lieriöepiteelisolu (oik.). (Bronkusimunäyte, Papavärjäys, A: x50, B: x100.)

7.3 Pikarisolut

Pikarisolut voidaan tunnistaa pullean soikeasta muodosta. Niissä ei ole värekarvoja eikä päätelevyä. Pikarisoluilla on vaalea ja hienojakoisesti vakuolisoitunut sytoplasma, joka sisältää limaa ja värjäytyy PAS-positiivisesti. Tuma on suhteellisen pieni ja sijainniltaan eksentrinen sekä usein pyknoottinen (kuviot 6 ja 7). (Koivuniemi 1994: 149.)



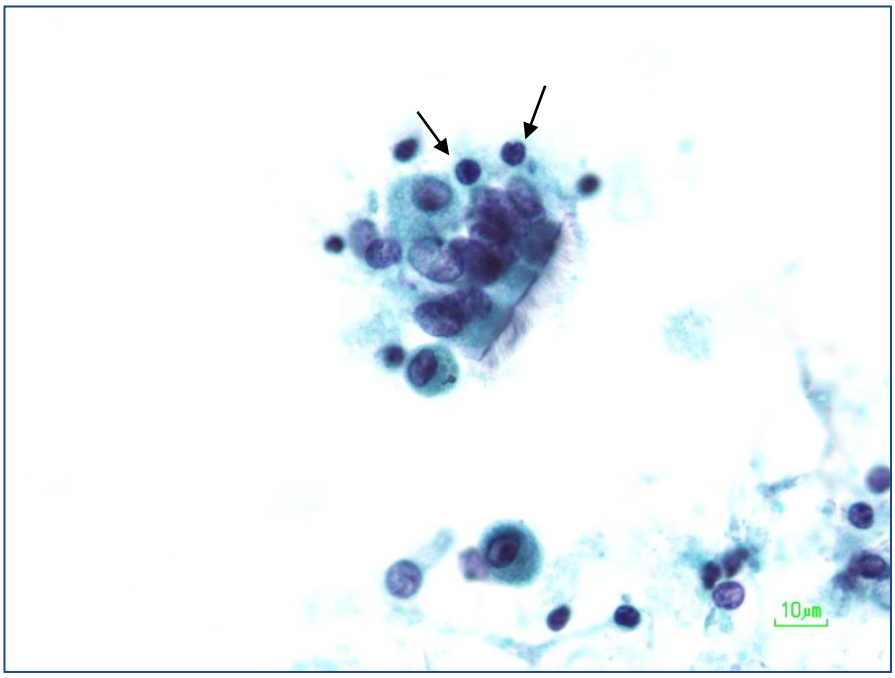
Kuvio 6. Kuvassa on hengitysteiden värekarvallisia lieriöepiteelejä, joiden välissä on nuolen osoittama pikarisolu (goblet cell), (Bronkusimunäyte, Papavärjäys, x50.)



Kuvio 7. Lieriöepiteeliryhmä, ja muutamia pikarisoluja taustalla (nuolet). (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x40.)

7.4 Basaalisolut

Irtosolunäytteissä basaalisoluja esiintyy yleensä hengitystie-epiteelin kappaleissa, ja solurykelmissä lieriöepiteelisolujen tyveen liittyneenä. Basaalisolut ovat lymfosyyttiä hieman kookkaampia, pyöreitä tai polygonaalisia soluja (kuvio 8.) Irrallisina niitä ei tavata. Basaalisolujen sytoplasma on niukka, basofiilistä ja siitä näkyy usein vain tuma yhdellä reunalla. Tuma on pyöreä tai soikea ja sen kromatiinin jakautuminen tasaista. Tuman koon vaihtelu on vähäistä. (Koivuniemi 1994: 149.)



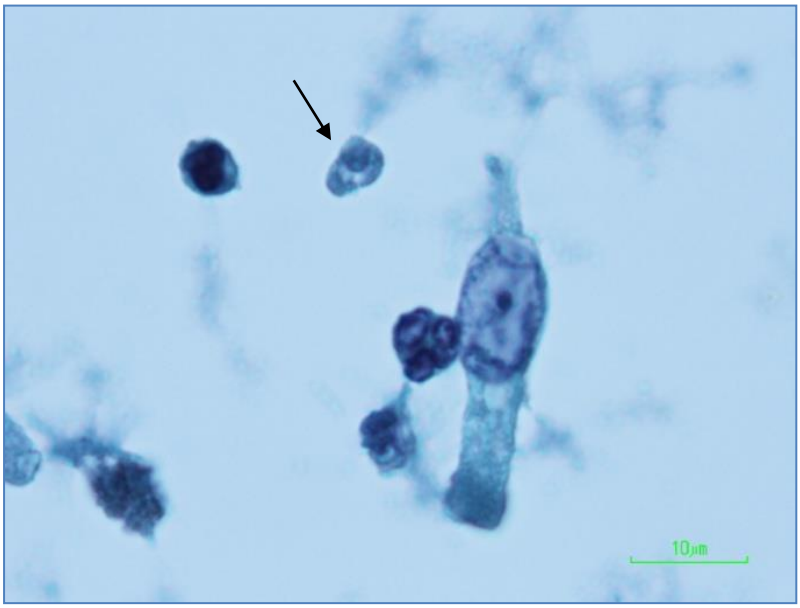
Kuvio 8. Basaalisoluja (nuolet). (Bronkusimunäyte. Papavärjäys, x40.)

7.5 Alveoliepiteeli

Alveolien alueella esiintyy kahdentyyppisiä epiteelisoluja: pneumosyytti I- ja pneumosyytti II –soluja. Näitä kahta alveoliepiteelisoluja käsitellään taulukon 2 avulla.

Taulukko 2. Pneumosyytit I ja II. (Keuhkosairaudet. 2005: 60-61. – Koivuniemi. 1994: 146.)

Pneumosyytti I (40 %)	**Pneumosyytti II** (60 %)
Ovat litteitä ja haaraisia. Läpimitta: n. 50 µm	Ovat pyöreitä, sytoplasmaltaan jyväisiä. Läpimitta: n. 9 µm (ks. kuvio 9)
Voidaan nähdä vain elektronimikroskooppisesti	Tumat nähtävissä myös valomikroskooppisissa leikkeissä.
Muodostavat ohuen solukerroksen kaasujen vaihduntapinnalle.	Erittävät keuhkorakkulan sisäpinnalle surfaktanttia (pinta-aktiivinen, proteiineihin ja hiilihydraatteihin sitoutuneita fosfolipidejä sisältävä seos).
Peittävät pääosan (95 %) alveolin pinta-alasta.	Eniten alveolin seinämän soluista, mutta kuutiomaisen rakenteensa vuoksi käsittävät vain pienenosan alveolin pinta-alasta (5 %).
	Sytoplasmassa on verrattain runsaasti erilasia organelleja sekä tälle solulle tyypillisiä lamellaarisia osmiofiilisiä kappaleita.
Jakautumis- ja vaurionkorjauskyvyn puute - helposti tuhoutuvia ➔ vaurioitumisen seurauksena II – tyypin solujen jakautuminen ja erilaistumien tyyppi I –soluiksi.	Jakautumis- ja vaurionkorjauskykyisiä - hyvä puolustuskyky

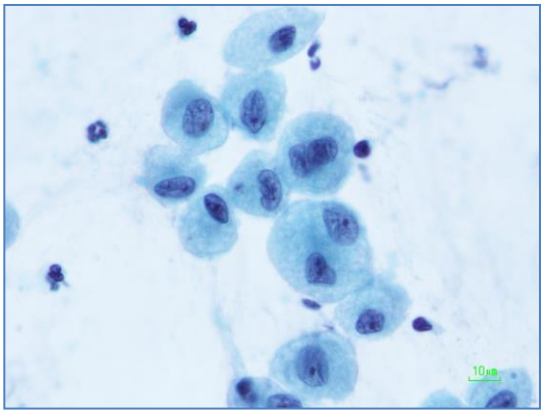


Kuvio 9. Tyypin II Pneumosyytti (nuoli). Huomaa sen koko. Taustalla reaktiivinen lieriöepiteelisolu. (Bronkunimunäyte, Papa-värjäys, x100.)

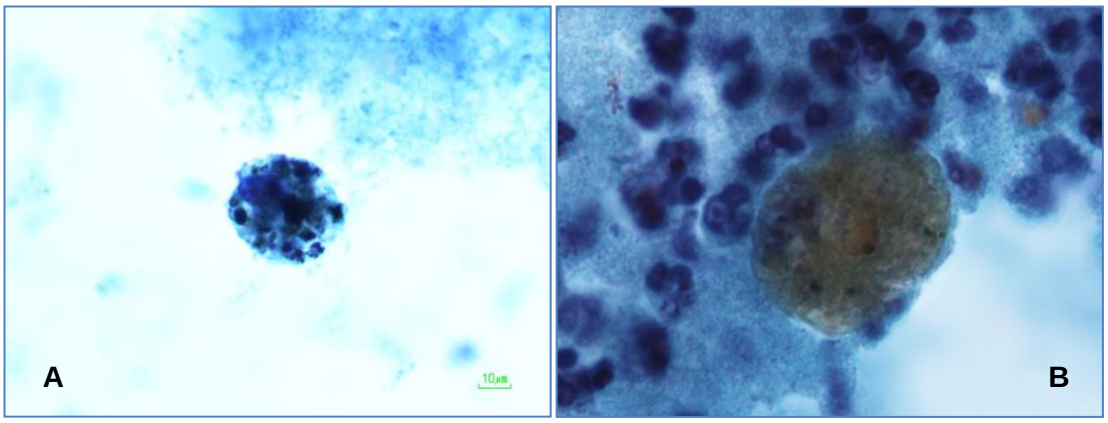
7.6 Alveolimakrofagit

Makrofagit ovat monosyyttisarjan soluista kehittyneitä soluja, jotka muuttuvat kudoksissa erityyppisiksi kudosmakrofageiksi. Kudosmakrofageja esiintyy vapaina serooseissa onteloissa, varsinaisina kudosmakrofageina (esim. Kupferin solut maksassa) ja jättisoluyhdistelminä tietyissä sairauksissa (esim. granulomatoottiset sairaudet). (Keuhkosairaudet 2005: 63.)

Makrofagit ovat useimmiten pyöreitä läpimitaltaan 15-25 µm olevia soluja, jotka värjäytyvät joko baso-, asido- tai amofofiilisesti (kaksi jaksoisesti). Tuman koko suhteessa sytoplasmaan on pieni, 5-10 µm:n läpimittaisia soluja ja muodoltaan varsin vaihtelevia: munuaismaisia, hevosen kenkämäisiä, poimuilevia, pyöreitä tai soikeita. Tuma on tarkkarajainen ja eksentrinen. Kromatiini on yleensä hienojakoista ja tasaista, mutta saattaa sisältää joitakin kookkaita jyväisiä. Monitumaisuus makrofageissa on yleistä ja nukleoli saattaa olla joskus korostunut (kuvio 10). Sytoplasmaa on runsaasti ja se voi olla joko tarkka- tai epätarkkarajaista. Sytoplasmassa on usein hienojakoista fagosytoitua materiaalia, joka on yleensä mustaa hiilipigmenttiä (kuvio 11). Kellertävänruskeaa hemosiidieriiniä sisältävät solut ovat karkeampi granulaisia ja niitä soluja kutsutaan siderofageiksi eli sydänvikasoluiksi (heart failure cells). Sydänvikasoluja tavataan keuhkomuutoksissa, joissa on verenvuotoa joiden syitä ovat mm. kasvaimet, sydämen vajaatoiminta ja eräät harvinaiset diffuusit keuhkosairaudet, joista voidaan mainita esimerkiksi idiopaattinenhemosideroosi ja Wegenerin granulomatoosi. Makrofagien sytoplasmassa saattaa olla vakuolisaatiota, joka on joko toiminnalinen muutos tai sitten se voi johtua myös fagosytoiduista lipidihiukkasista. Lipofagit mudostuvat makrofagien fagosytoidessa kolesterolia, joka vapautuu tulehdukseen tai kasvaimeen liittyvässä kudosvautiossa. (Koivuniemi. 1994: 151.)



Kuvio 10. Magrofageja imunäytteessä, jotka ovat kooltaan ja muodoltaan vaihtelevia. Esiintyy paikoin monitumaisuutta. Voit verrata makrofagit niiden ympäristössä oleviin neutrofiileihin (vas.) ja lymfosyytteihin (oik.). (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x50.)



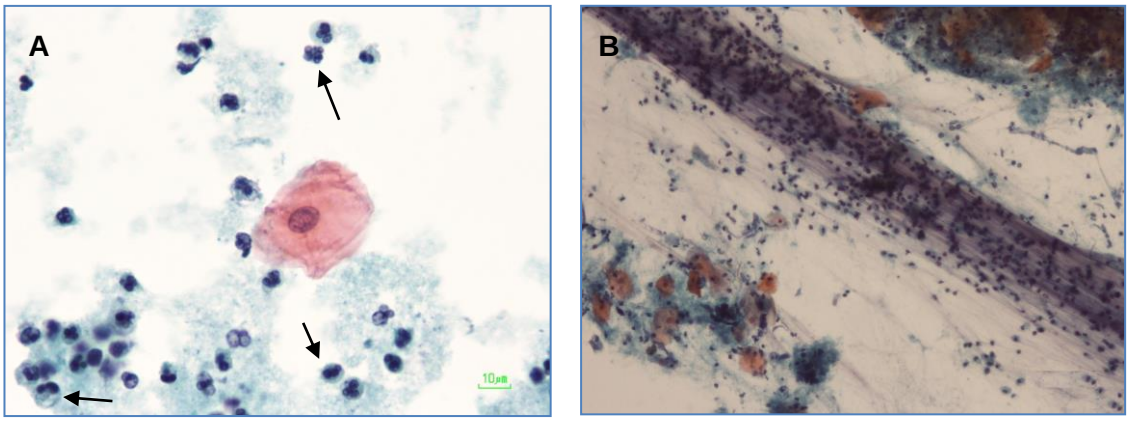
Kuvio 11. **A.** Hiilipigmenttejä sisältävä makrofagi. **B.** Fagosytoitua materiaaleja makrofagissa. Tausta on tulehduksellinen ja nekroottinen. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. A: x50, B: x100.)

Makrofagien puoliintumisaika on kuukausia, eli ne ovat pitkäikäisiä. Makrofagit kulkeutuvat keuhkoihin joko verenkierron kautta (monosyyteistä) tai proliferoitumalla paikallisesti. Näistä kahdesta mekanismista, verenkierron mukana keuhkoihin kulkeutuminen on tärkeämpää kuin paikallisesti proliferoituminen. Tulehdusten yhteydessä monosyyttien kypsyminen ja niiden kulkeutuminen keuhkoihin lisääntyvät voimakkaasti. Alveolimakrofagit edustavatkin keskeisintä solutyyppiä keuhkojen puolustuskyvyn kannalta sekä viruksia, bakteereja että ulkoilman saasteita vastaan. Alveolin solut ovat pääosin muodostuneet alveolimakrofageista. Se nähdään bronkoalveolaarisessa huuhtelussa kerätyistä näytteistä; 90 % soluista ovat normaalitilanteessa makrofageja. Alveolimakrofagit ovat myös yleisin keuhkojen non-parenkymaalinen solutyyppi. Ihmisen keuhkoissa on laskettu olevan 23 x 109 makrofagia eli noin 50 – 100 kappaletta alveoleissa. (Keuhkosairaudet 2005: 63.)

7.7 Neutrofiilit

Neutrofiileja esiintyy luuytimessä, verenkierrossa ja kudoksissa. Neutrofiilit kypsyvät luuytimessä, mutta infektioiden yhteydessä myös verenkierrossa voi esiintyä neutrofiilien nuoruusmuotoja. Keuhkoihin kulkeutuu tulehdusten yhteydessä runsaasti neutrofiilejä (kemotaksis). Niiden tärkein kemotraktantti on makrofageista erittyvä LTB4. Se on kemotaktinen myös eosinofiileille ja monosyytelille sekä lisää keuhkoverisuonten läpäisevyyttä. Toinen keskeinen kemotaktinen yhdiste IL-8 on kemotaktinen neutrofiileil-

le, mutta sillä ei ole vaikutusta esimerkiksi monosyytteihin. Neutrofiilit ovat lyhytikäisiä. Niiden puoliintumisaika verenkierrossa on seitsemän tuntia ja elinikä kudoksissa muutamia kuukauksia. Neutrofilien kohtalo kudoksissa on huonosti tunnettu, mutta tiedetään, että infektioiden yhteydessä neutrofiilien elinikä lyhenee entisestään ja ne häviävät apoptoottisella (ohjelmoitu solukuolema) mekanismilla ja joutuvat makrofagien fagosytoimiksi (ks. kuvio 12). (Keuhkosairaudet 2005: 64.)

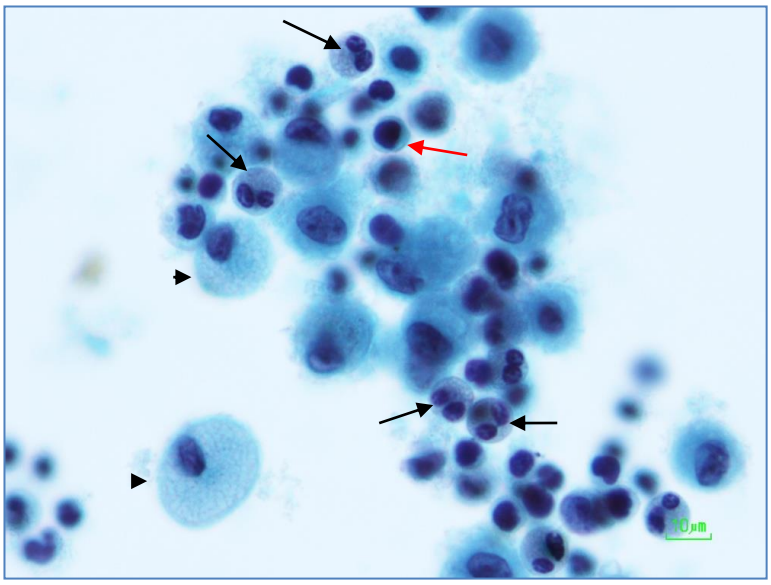


Kuvio 12. **A.** Neutrofiilejä. **B.** Tulehdussoluja limaisella taustalla. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. A: x50, B: x10.)

7.8 Eosinofiilit ja eosinofilia

Papavärjäyksessä leukosyytti –tyyppien tunnistaminen voi olla hankalaa. Eosinofiilien granulat näkyvät usein vain heikosti kellertävinä tai vihreän harmaina. Eosinofiilien kaksilohkoinen tuma ja vihertävä sytoplasma, jossa erotettavissa voi olla granuloiden ääriviivoja ovatkin hyviä tunnusmerkkejä (kuvio 13). (Koivuniemi. 1994: 149-150.)

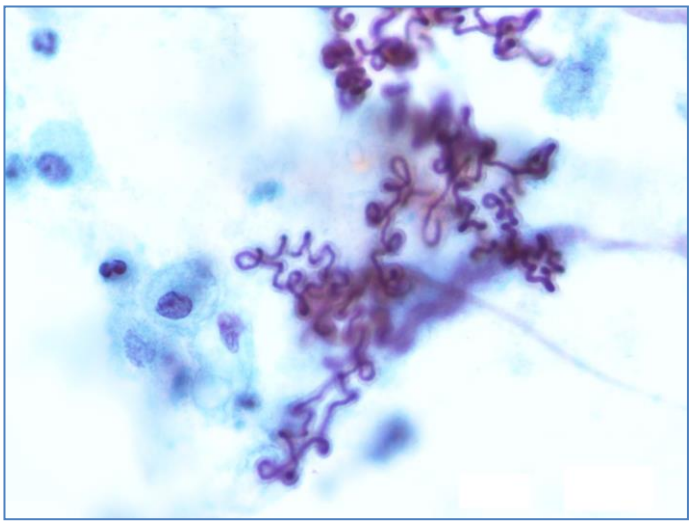
Lievää esinofiliaa esiintyy joskus kroonisten tulehdusten yhteydessä, mutta joskus myös itsenäisenä ysköksissä ja bronkusten huuhtelunäytteissä. Lievää ja kohtalaista eosinfiliaa on erityisesti astman ja muiden allergioiden sekä granulomatoottisten reaktioiden yhteydessä. Vahvempaa eosinofiliaa nähdään mm. eosinofiilisessa pneumoniassa ja prasiitti-infektiossa sekä joissakin lääkeainereaktioissa (esim. nitrofurantoiini ja anti-inflammatoriset analgeetit) ja vaskuliiteissa. (Koivuniemi. 1994: 156.)



Kuvio 13. Eosinofiilejä (nuolet). Huomaa myös lymfosyytti (punainen nuoli). Kuvan makrofagien sytoplasma on hienosti vakuolisoitunut ja tuma eksenterinen (nuolenpäät). Tässä näytteessä eosinofiilejä esiintyy tavanomaista enemmän n. 15 % tulehdussoluista. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x50)

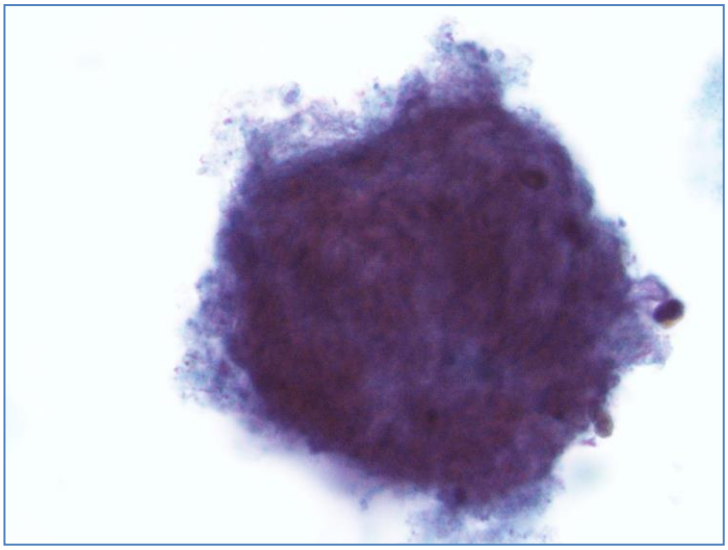
8 Hengitysteiden muita löydöksiä

Hengitysteiden sytologisissa näytteissä voidaan nähdä soluttomia kappaleita, säkeitä tai jousteistä erityisesti kroonisten tulehdusten yhteydessä. Tällaisia soluttomia kappaleita muodostuu yleensä häirintyneen limaerityksen, vierasesinekeräymien tai kudos- ja soluvaurioiden seurauksena. Esimerkki ei-sellulaarisista löydöksistä on mm. Curschmann spiraali. Curschmann spiraalit ovat ohuita ja saattavat olla jopa useiden millimetrien pituisia vieterimäisiä limasäikeitä, joiden perusteella voidaan päätellä häiriintynyttä limaneritystä. Curschmannin spiraaleissä on ohut lankamainen ydin, joka Papavärjäyksessä näkyy basofiilisesti. Ydintä ympäröi osittain läpinäkyvä PAS-positiivinen manteli (kuvio 14). Spiraalien arvellaan syntyvän pienten keuhkoputkien epätäydellisen tukkeutumisen ja häiriintyneen, voimakkaan limanerityksen yhteydessä. Curschmannin spiraalit noudattavat alkuperäbronkiolin muotoa. Niitä on löydetty yli 90 %:llä oireettomista tupakoitsijoista. Spiraaleja esiintyy myös runsaasti kroonisten bronkussairauksien, kuten kroonisen bronkiitin ja astman yhteydessä sekä usein myös karsinoomapotilaiden ysköksissä. (Koivuniemi. 1994: 153.)



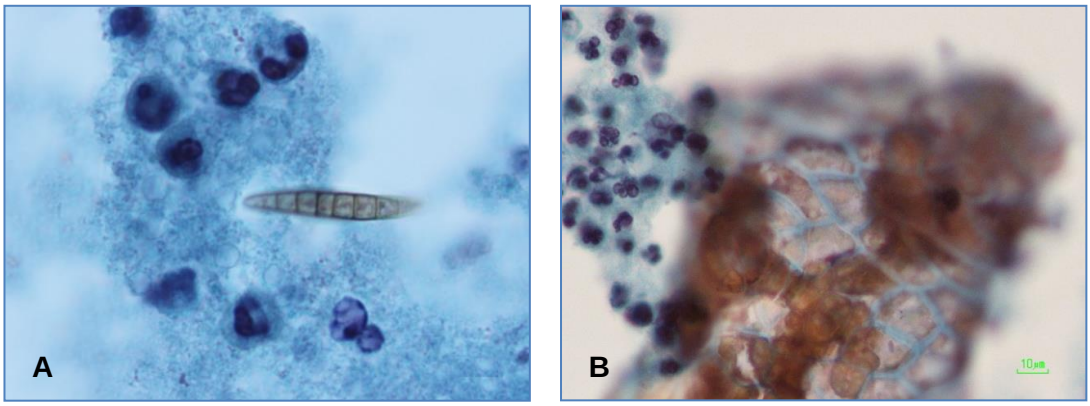
Kuvio 14. Curschmannin spiraali. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x50.)

Bronkusten irtosolunäytteissä saattaa tulehdusten yhteydessä esiintyä valomikroskooppisesti tunnistettavia mikrobeja. Yleisimpiä mikrobeja ovat rihmoina ja itiöinä esiintyvät sienet, kuten Candida hiivasieni, haarautuva Aspergillus –rihmasto, sammakon kutua muistuttavat Pneomocystis cariniin pallomaiset rakkulastot. Varsinkin yskösnäytteissä saattaa ajoittain näkyä actinomyces-pesäkkeitä (kuvio 15). Niiden diagnostinen merkitys on kuitenkin kyseenalainen, koska suurin osa niistä on kontaminaatiota risakudoksen ja suuontelon alueen saorifytaarisesta kasvusta. (Koivuniemi. 1994: 156.)

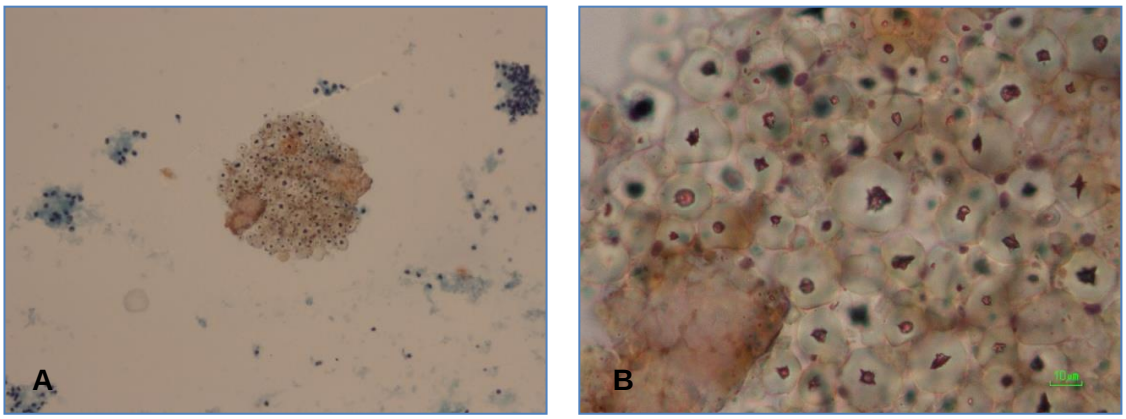


Kuvio 15. Actinomyces -pesäke. Pidettiin aikaisemmin sienenä, mutta kuuluu bakteereihin. (Bronkusimunäyte, Papavärjäys, x100.)

Yskösnäytteissä tulkinnallisia vaikeuksia voivat aiheuttaa suusta peräisin olevat ruuan jätteet. Yleisin löydös on kookkaiden kasvissolujen muodostama rykelmä, joka voidaan tunnistaa säännöllisestä, ruudukko- tai hunajakennomaisesta järjestäytymisestään sekä jäykästä selluloosaa sisältävästä solukalvostaan, joka on kahtaistattava polarisoidussa valossa. Kavissolujen tuma saattaa olla hyperkromaattinen (kuvio 16-19). (Koivuniemi. 1994: 153.)

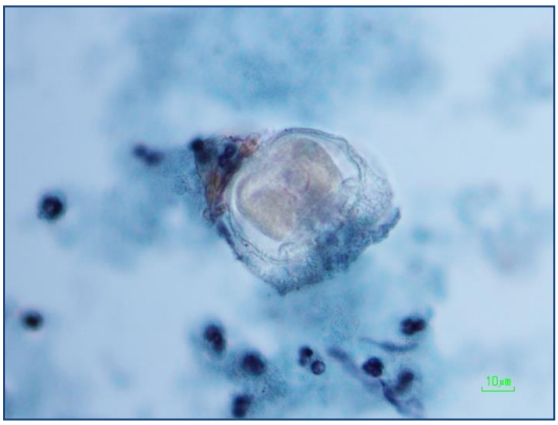


Kuvio 16. Kookkaita, kulmikkaita ja paksuseinämäisiä ruokaperäisiä kasvisoluja. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. A: x100, B: x50.)

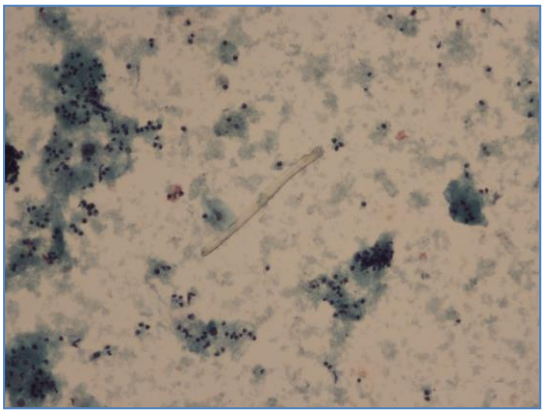


Kuvio 17. Tärkellyshiukkasia imunäytteessä. Saattavat näyttää degeneratiivisilta malignisoluilta. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. A: x10, B: x50.)

Kasvien ja puiden kukinta-aikaan yskösnäytteissä tavataan myös kookkaista pallomaisia siitepölyhiukkasia (kuvio 18), jotka ovat läpimitaltaan 30-40 µm. Siitepölyhiukkasia ei yleensä erehdy pitämään atyyppisina soluina. Niiden solukalvo on vahvasti kahtaistaittava polarisoidussa valossa. (Koivuniemi. 1994: 153.)

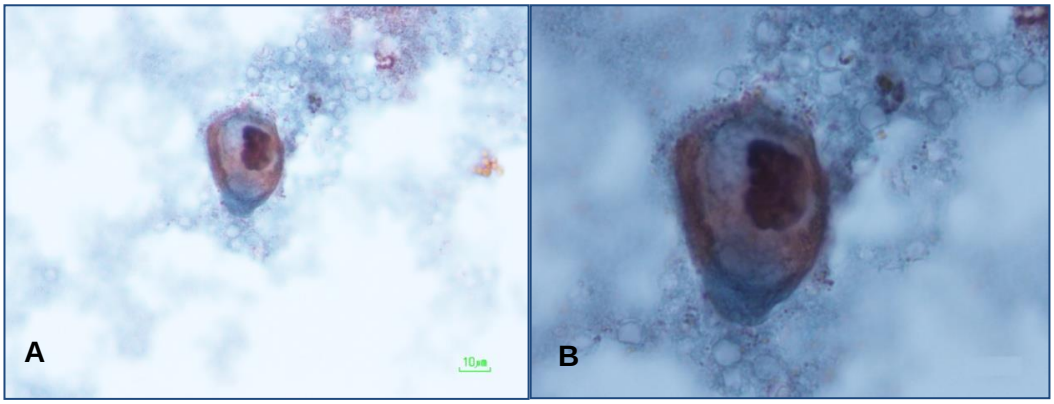


Kuvio 18. Siitepölykontaminaatio imunäytteessä. (Bronkusimunyte. Papavärjäys. x50.)

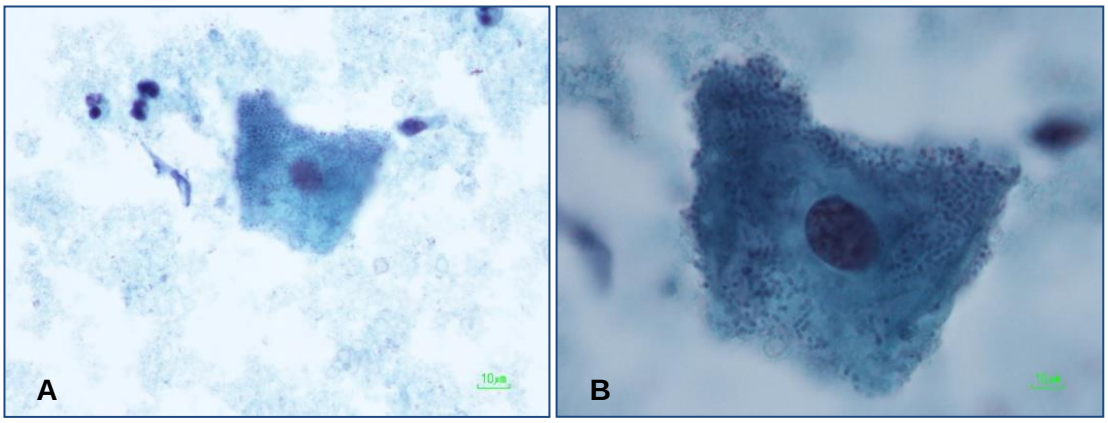


Kuvio 19. Kuitumainen ei-sellulaarinen kontaminaatiolöydös. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x10.)

Virusinfektioiden yhteydessä saattaa esiintyä spesifisiä solumutoksia, kuten tumainkliinisioita, koilosyyttejä (kuvio 20) ja monitumaisuutta. Kondylooma-virusinfektiolle tyypillisin solumuoto on koilosyytti eli ontelosolu, jossa dyskaryoottista, hyperkromaattista tumaa ympäröi kooltaan vaihteleva selvärajainen vaalea värjäytymätön alue. (Koivuniemi. 1994: 12, 57.)



Kuvio 20. Koilosytoottinen solulöydös. (Bronkusharja. Papavärjäys. A: x50, B: x100.)



Kuvio 21. Bakteerien peittämä levyepiteelisolu. Hengitysteiden irtosolunäyteessä pidetään kontaminaationa. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. A: x50, B: x100.)

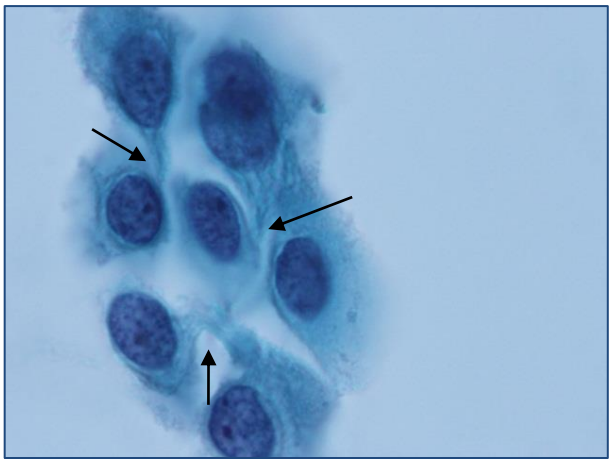
9 Hengitysteiden benignit atypiat

Hengitysteitä verhoava epiteeli on toiseksi laajin solukko, joka on hyvin alttiina erilaisille ärsykkeille. Vakavia ärsykkeitäkeuhkoputkien epiteeleille ovat esimerkiksi hengitysilman haitalliset epäpuhtaudet sekä tupakointi. Atyyppisiä muutoksia voi aiheuttaa lääkeaineiden lisääntyvä käyttö sekä hengitysteiden tulehdukset ja rakenteelliset muutokset. Atyyppisten muutosten tunnistamiseen käytetään irtosolunäytteitä. Hengitysteiden värekarvallisilla lieriöepiteeleillä on kyky muuntua erilaisten ärsykkeiden vaikutuksesta. Muuntuminen seuraa tiettyjä malleja, joista tärkeimmät ovat hyperplasia, metaplasia ja dysplasia. Seuraavissa käsitellään kaksi viimeiseksi mainittua. (Koivuniemi 1994: 158-159.)

9.1 Metaplasia

Tapahtumaa, jossa värekarvallinen lieriöepiteeli muuttuu levyepiteeliksi basaalisoluhyperplasian kautta kutsutaan hengitystie-epiteelin metaplasiaksi. Aikuista 30 - 40 %:lla esiintyy bronkusepiteelin metaplasiaa, ja keuhkojen kroonisissa tai tulehduksellisissa prosesseissa metaplasian osuus nousee 40 -60 %:iin. Myös tupakointi ja ikä (erityisesti yli 65 vuotta) lisäävät metaplasian esiintymistiheyttä. Useista metaplasiaa aiheuttavista sairauksista voidaan mainita esimerkiksi krooninen virusinfektiot (flunssa, tuhkarokko ym.), krooniset interstiellit tulehdukset, sarkoidoosi, asbeesi, bronkiitti, bronkiektasiat, amfyseema sekä astma ja keuhkoinfarkti.

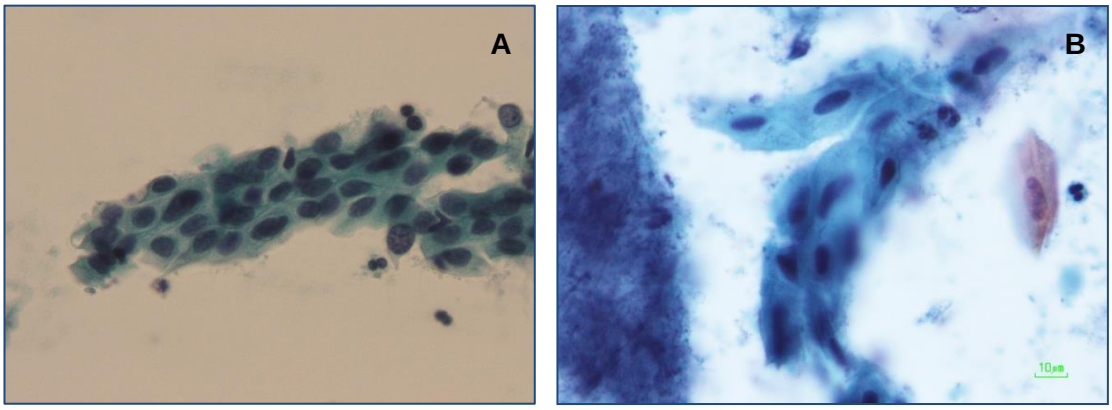
Metaplasiaa voi esiintyä edelleen uremian yhteydessä. Sekä sivuvaikutuksena lääkeaineiden sädetyksen, kemiallisten, fysikaalisten ja mekaanisten tekijöiden aiheuttamassa ärsytyksessä. Metaplasiaa esiintyy hyvin runsaasti bronkogeenisten karsinoomien yhteydessä ja siitä pidetäänkin levyepiteeli- ja anaplastisen karsinooman esiasteena mahdollisesta reversiibelistä luonteestaan huolimatta. Eli metaplasia on todennäköisesti reversiibeli muutos, joka voidaan tavata keuhkoputkistossa (erityisesti bronkusten haarautumiskohdassa) joko läiskittäin tai diffuusina muutoksena. Histologisesti katsottuna metaplasia on yleensä korostunutta levyepiteeliä, jossa solut ovat keskikerrostyyppiä. Kulmikkaat metaplastiset solut värjäytyvät joko asido- tai basofiilisesti. Niissä voi myöskin esiintyä soluvälisiltoja (kuvio 22) sekä epiteelin pinnalla saattaa olla keratiinisaatiota.
(Koivuniemi 1994: 163.)



Kuvio 22. Huomaa nuolten osoittamat soluvälisillat. (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x100.)

Metaplastinen proliferaatio on kuitenkin säilynyt eikä siihen liity mitooseja. Irronnutta solumateriaalia esiintyy yleisesti myös yskös-, huuhtelu-, ja harjausnäytteissä alentuneesta metaplastisen epiteelin koheesiosta johtuen. Löydöstä voidaan pitää todellisena metaplasiana ainoastaan, jos atyyppiset solut ovat bronkusperäisten makrofagien ja värekarvallisten lieriöepiteelisolujen joukossa. Siksi suusta, nenänielusta ja kurkunpäästä hilseilleet levyepiteelisolut voivat helposti johtaa vääriin positiivisiin tulkintoihin.
Metaplastiset solut eroavat normaalin kerrostuneen epiteelin soluista vain pienemmän kokonsa ja suuremman tuma/sytoplasma-suhteensa osalta. Solut voivat olla joko kulmikkaita tai pyöreitä (kuvio 23). Ne esiintyvät joko yksittäin tai usein yksikerroksisina mukulakivimäisinä solulevyinä, joissa soluvaihtelu on vähäistä. Levymäisille rykelmille hyvin tyypillistä on niiden reunassa oleva tasainen suora alue, joka edustaa epiteelin

pintaa. Tumat ovat pyöreitä tai soikeita, mutta yhdenmukaisia ja tarkkarajaisia. Kromatiini on hyvin hienojakoista ja toisinaan voidaan havaita pieni nukleoli. Joskus tumat saattavat olla pyknoottisia. Sytoplasmaa on yleensä melko runsasta suhteessa tumaan. Se on joko asido- tai basofiilistä, eikä keratiinisoitumista tai soluvälisiltoja yleensä havaita. Harjausnäytteissä tumien muodot ja koot vaihtelevat enemmän kuin yskösnäytteissä. Metaplastinen atypia ei yleensä aiheuta ongelmia erotusdiagnostiikassa, ja sen merkitys onkin siinä, että sen tiedetään viittaavan bronkusepiteelin krooniseen ärsytykseen. Ja sen kautta liittyvän myöskin useisiin keuhkojen kroonisiin sairaustilohin. (Koivuniemi 1994: 163.)



Kuvio 23. Metaplasia löydöksiä imunäytteistä. (Papavärjäys. A: x40, B: x40.)

9.2 Dysplasia

Dysplasialla eli atyyppisellä metaplasialla tarkoitetaan bronkusepiteelin metaplastista muutosta, jossa on vähintään kohtalaista soluatypiaa ja häiriintynyt polariteetti. Bronkogeenisen levyepiteelikarsinooman kehittymisessä juuri dysplasia edustaa sitä kriittistä jaksoa, jossa epiteelin atypian katsotaan muuttuvan neoplastiseksi ja samalla irreversiibeliksi. Eli dysplasia on sarja muutoksia, joissa on sekä Papa II-luokan benignisoluja, että III ja IV –luokan suspekteja soluja. Joskus käytetään myös kolmijakoa: lievä, kohtalainen tai vahva dysplasia. Sekaantumisten ja väärinymmärrysten ehkäisemiseksi on kuitenkin suositeltavampaa käyttää käsitteitä benigni ja suspekti dysplasia. (Koivuniemi. 1994: 163-164.)

Hyvänlaatuisessa dysplasiassa atyyppisiä soluja irtoilee sekä yksöksiin että harjaus- ja huuhtelunäytteisiin, johtuen solujen välisen koheesion alentumisesta. Solut vaihtelevat

kooltaan ja muodoltaan kohtalaisesti sekä ovat usein pitkulaisia ja kulmikkaita. Ne esiintyvät pienehköinä rykelminä ja yksittäisinä soluina. Tumissa nähdään kohtalaista pleomorfiaa ja joskus tumakelmun poimuilua sekä lievää hyperkromasiaa. Nukleoli on usein pieni. Sytoplasman määrä vaihtelee verrattain paljon ja useimmiten värjäytyy asidofiilisesti, joskus basofiilisesti. Keratinisoitumiseen vittaavaa orangeofiliaa todetaan vain harvoin ja se liittyy usein suspektiin dysplasiaan. (Koivuniemi. 1994: 163-164.)

Benignissä eli lievässä dysplasiassa epiteeli saattaa olla jonkin verran paksuntunut, mutta sen polariteetti on säilyvyt basaalikerrosta lukuunottamatta. Solun ja tuman koon vaihtelu on kohtuullista ja kromatiini on hienojakoista. Esiintyy lievää hyperkromasiaa. Nukleolit ovat pieniä tai puuttuvat. Sytoplasma värjäytyy joko asido- tai basofiilisesti.
Kohtalaisessa dysplasiassa ominaista on epiteelin paksuntuminen, sekä syvemmissä puoliskossa tavattavat polariteettihäiriöt. Solut värjäytyvät joko asido- tai basofiilisesti ja niissä nähdään selvää tuma- ja solupleomorfiaa. Tuma-sytoplasma-suhde on kasvanut. Tämä atypia vaihe on osittain reversibeeli, osittain progredioiva. (Koivuniemi. 1994: 163-164.)

Vahvassa eli suspektissa dysplasiassa solut voivat esiintyä sekä yksittäisinä tai rykelminä. Voimakasta solupleomorfiaa ja selviä epiteelin polariteettihäiriöitä. Tumat ovat hyperkromaattisia ja epäsäännöllisiä, kromatiini on karkeahkoa ja joskus kokkareista. Nukleolit havaitaan joskus korostuneina ja tuma-sytoplasma-suhde on selvästi suurentunut. Sytoplasma voi värjäytyä asidofiilisesti tai orangefiilisti, joka viittaa keratinisoitumiseen. Mitooseja voi esiintyä koko atyyppisen epiteelin alueella. Muutos on irreversiibeli eli peruuntumaton. Dysplastisen atypian diagnostiikassa tärkeintä ja vaikeinta on benignin ja suspektin muodon erottaminen toisistaan. Jos todetaan, että dysplastinen löydös vaikuttaa reaktiiviselta ja degeneratiiviselta, on aiheellista pyrkiä hoitamaan sen syy (kuten tulehdus, runsas tupakointi, pölyaltistus jne.) sekä uusia sytologinen tutkimus sen jälkeen. Suspektit löydökset edellyttävät aina seurantaa ja uusien näytteiden ottamista sekä muiden tutkimuksien (erikoiskuvaukset, tähystykset ja biopsiat) tekemistä atypian luonteen selvittämiseksi. Dysplasiaa esiintyy joko yksin tai basaalisoluhyperplasiaan ja/tai metaplasiaan liittyneenä usein bronkogeenisen karsinooman yhteydessä. Dysplasian esiintyvyyden syitä ovat levyepiteelikarsinooma tai anaplastiset karsinoomat, sekä muut krooniset ärsytykset ja tulehdukselliset keuhkosairaudet. (Koivuniemi. 1994: 163-165.)

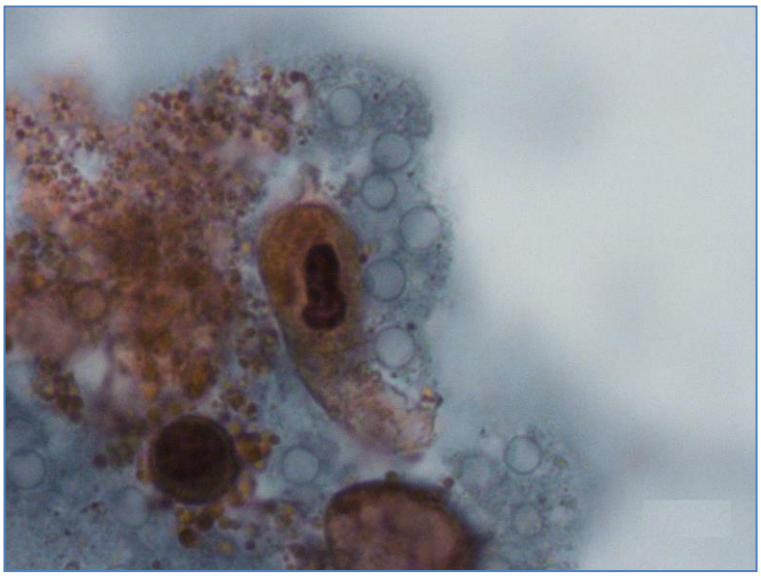
10 Hengityselinten karsinoomat

Keuhkot ovat mainio metastasointipaikka. Keuhkoihin tulee verta joka puolelta kehoa, ja periaatteessa kaikki kasvaimet voivat verenkierron mukana lähettää etäpesäkkeitä keuhkoihin. Keuhkojen kasvaindiagnostiikassa näytemuotoina käytetään mielellään harjairtosolunäytteitä, koska niiden osuvuus on yli 80 - 90 %, jos harjausnäyte saadaan otettua suoraan tähystyksen yhteydessä esiin tulleesta epäilyttävästä keuhkoputken muutoksesta. Yskös- ja huuhtelunäytteiden herkkyys diagnostiikassa on 40 – 60 % huonompi. (Patologia. 2012: 557.)

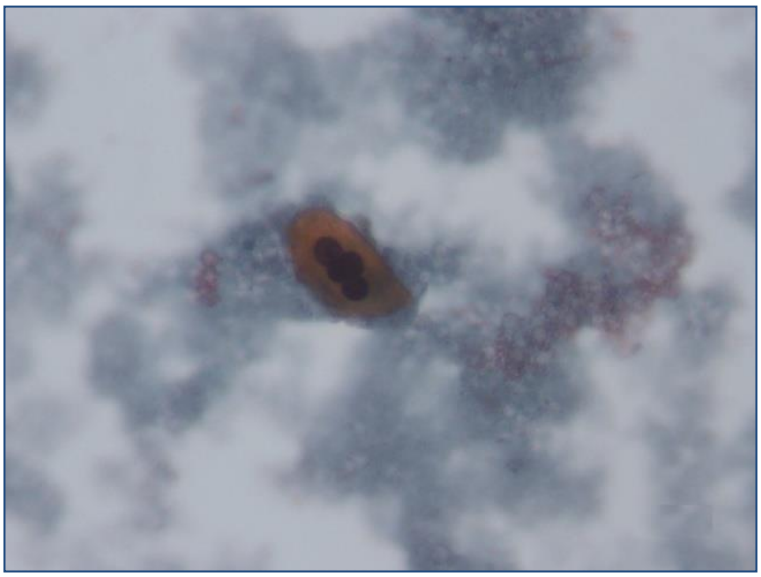
Keuhkosyövät jaetaan kahteen pääryhmään histologisten näytteiden perusteella; ei-pienisoluinen keuhkokarsinooma (non-small cell lung cancer, NSCLC) ja pienisoluinen keuhkokarsinoma (small cell lung cancer, SCLC). Hoidot ei-pienisoluiselle ja pienisoluiselle ovat hyvin erilaisia, tämän kannalta on hyvin tärkeää saadaa suoranainen diagnostiikka joko histologisesti tai sytologisesti. Tutkittavista näytteistä n. 80 % ovat ei-pienisoluisia karsinoomia. Ei-pienisoluinen karsinooma jakautuu kolmeen eri alatyyppiin, joiden diagnostiikka, esiintymistapa, ennuste ja hoidot ovat melko samanlaisia. Näitä alatyyppejä ovat levyepiteelikarsinooma, adenokarsinooma ja suurisoluinen karsinooma. Muiden malignien keuhkokasvainten luokittelu sytologisen näytteen perusteella ei ole luotettava. (Shambayati. 2011: 271.)

10.1 Levyepiteelikarsinooma

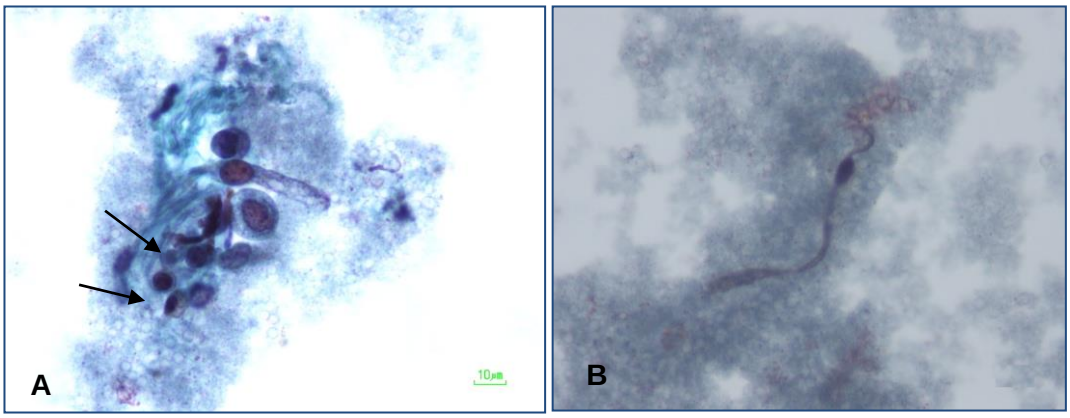
Levyepiteelikarsinooma on yleisin primaarinen bronkogeeninen karsinooma, ja sen osuus on 40 % kaikista keuhkosyövistä. (Syöpätaudit. 2007: 279.) Esiintyy erityisesti miehillä ja tupakoitsijoilla. Levyepiteelikarsinooman tunnistaa sytologisissa näytteissä atooppisista soluista, joissa tuma-plasmasuhde on suurentunut sekä tumissa on hyperkromasiaa ja monimuotoisuutta (kuvio 24 - 25). Sekä sytologisissa että histologisissa näytteissä huomataan solujen keratinisoitumista, tumapleomorfiaa ja hyperkromasiaa sekä joskus keratiini- ja soluhelmiä ja solunvälisiltoja. Spesifisiä maligneja solumuotoja ovat ns. säiesolut, nuijapääsolut (tadpole), kannibaalisolut ja haamusolut. Näytteissä solut esiintyvät pieninä levymäisinä rykelminä tai sitten yksittäisinä soluina (kuvio 26 - 27). (Patologia. 2012: 557 – Koivuniemi 1994: 175.)



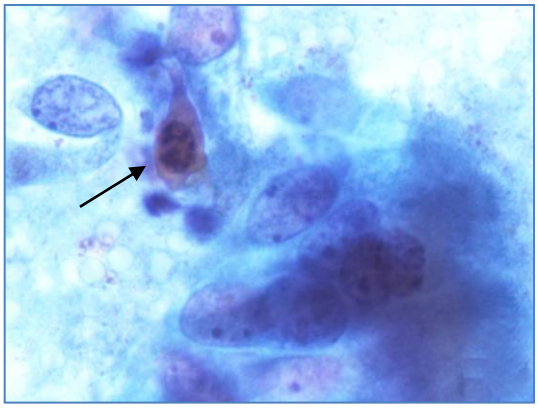
Kuvio 24. Levyepiteelikarsinooma, jossa on hyperkromasiaa ja keratiinisoitunut sytoplasma. Huomaa punasolut, jotka Papa-värjäyksessä värjäytyvät basofiilisesti. (Bronkusharjanäyte. Papavärjäys. x100.)



Kuvio 25. Monitumainen levyepiteelikarsinoomasolu. Vahvasti keratiinisoitunut sytoplasma. Nekroosi taustalla. (Bronkusharjanäyte. Papavärjäys. x40.)



Kuvio 26. Levyepiteelikarsinoomasolulöydökset. **A.** Monta säiemäistä solua (fiber cells). **B.** Yksittäinen säiemäinen solu, jonka taustalla on punasoluja ja muita hajonneiden solujen jätteitä. (Bronkusharjanäyte. Papavärjäys. A: x50, B: x40.)

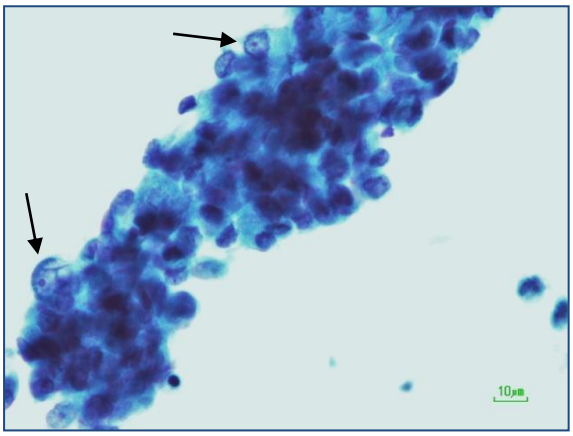


Kuvio 27. Levyepiteelikarsinooma. Huomaa nuijapään muotoinen solu ”tadpole” (nuoli), sekä huonosti näkyvät värekarvalliset lieriöepiteelit.
(Bronkusharjanäyte. Papavärjäys. x100.)

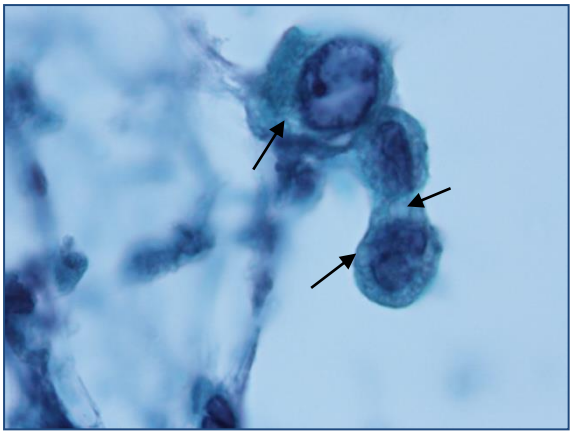
10.2 Adenokarsinooma

Keuhkon adenokarsinoomat ovat usein perifeerisiä ja esiintyy naisilla paljon yleisemmin kuin miehillä. Adenokarsinooman saamiseen ei todennäköisesti ole selvää yhteyttä tupakointiin. Adenokarsinoomat saavat alkunsa bronkusten ja bronkiolien epiteelistä sekä alveoliepiteelin tyyppi II:n pneumosyyteistä. Adenokarsinoomassa solut muodostavat usein pieniä pallomaisia tai putkimaisia rykelmiä. Sytoplasmaa on yleensä vielä kohtalaisesti, ja siinä on joskus vakuolisaatiota (kuvio 28 – 32). Keuhkon primaarinen adenokarsinooma metastasoi levyepiteelikarsinoomaa hanakammin keuhkopostin ja välikarsinan imusolmukkeisiin. Adenokarsinooma leviää myös rintakehän ulkopuolisiin elimiin useammin kuin levyepiteelikarsinooma. Adenokarsinoomien solut ovat paremmin säilyneitä ja kasvainten pinnallisista osista saattaa lohkeilla tunnistettavia asinaari-

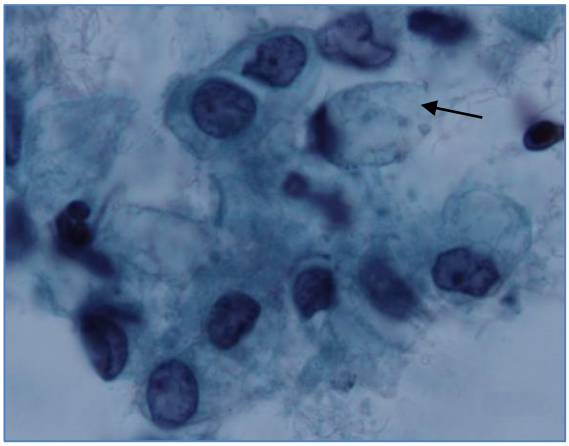
sia tai papillaarisia rakenteita. Edellä luetellut muutokset mahdollistavat usein löydöksen sytologisen tyypityksen. (Kouvuniemi 1994: 181 - Patologia. 2012: 557.)



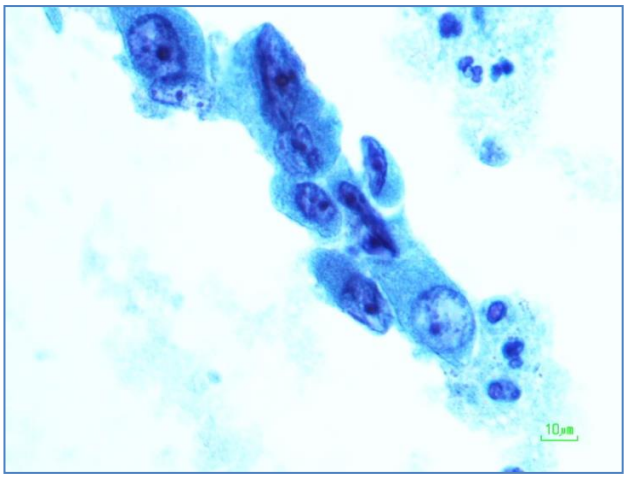
Kuvio 28. Adenokarsinooma rykelmäsoluja, jotka ovat 3D klusterina. Hävinnyt polariteetti ja vahva tumapleomorfia. Ja perifeerisesti katsoen huomataan korostuneet nukleolit (nuolet). (Bronkusimunäyte, Papavärjäys. x40.)



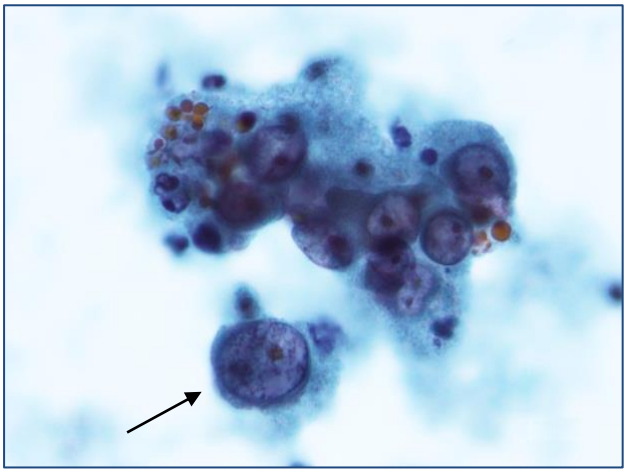
Kuvio 29. Adenokarsinooma. Sytoplasmassa esiintyy valkuolisaatiota sekä nähdään epämääräisiä rauhaspalloja (nuoli). (Bronkosimunäyte. Papavärjäys. x100.)



Kuvio 30. Adenokarsinooma. Runsasta vakuolisaatiota ja lisäksi näkyy sinettisormussolu (nuoli). (Bronkosimunäyte. Papavärjäys. x100.)



Kuvio 31. Huonosti erilaistunut adenokarsinooma. Vähentynyt sytoplasma, tumakoon vaihtelua, nukleodi korostunut, ja paikoin parakromatiinia. Vertaa nukleolit taustalla oleviin neutrofiileihin. (Bronkosimunäyte. Papavärjäys. x50.)



Kuvio 32. Adenokarsinooma. Tumien koot vaihtelevat (anisonukleoosi) ja polariteetti on häiriintynyt. Tuma/sytoplasma-suhde suurentunut. Nuklelit ovat korostuneet ja useimmissa soluissa tuman keskustassa. Huomaa yksittäinen kookas syöpäsolu (nuoli). (Bronkusimunäyte. Papavärjäys. x50.)

10.3 Pienisoluinen karsinooma

Pienisoluinen anaplastinen karsinooma eli pienisolukarsinooma on bronkogeenisten karsinoomien malignein muoto. Tämä kasvaintyyppi esiintyy keski-ikäisillä ja vanhoilla ihmisillä. Pienisoluisen karsinooman sairastaminen on yhteydessä tupakointiin sekä moniin muihin elinympäristön karsinogeeneihin kuten sädetykseen ja eräisiin ammattialtistuksiin. Yli 2/3 pienisolukarsinoomista alkaa kookkaista sentraalisista keuhkoputkista. Kasvaimet infiltroivat bronkusten limakalvossa ja peribronkiaalisesti tukikudoksia, imuteitä tai verisuonia pitkin. Pienisolukarsinooma metastasoi kaikista keuhkokarsinoomista aggressiivisimmin jo varhaisvaiheissa. Penisoluisen karsinooman tunnistaa soluryhmien lomittumisesta ja niiden jonomuodostus muistuttaa histologista näytettä. Yskösnäytteissä pienisoluisen karsinooman solut nähdään yleensä pieninä ja hieman lymfosyyttiä kookkaimpina, kun taas bronkusten harja- tai imunäytteissä solut saattavat olla kookkaampia ja lymfosyyttirakenteet paremmin säilyneitä. Pienisoluisen karsinooman tumien kromatiini on hienojakoinen. Kasvainkudoksessa saattaa esiintyä myös

levyepiteelimäistä tai rauhasmaista erilaistumista tai kasvainsolujen fagosytoosiaktiviteettia. Joskus pienisoluisten ja muiden bronkogeenisten karsinoomien erotusdiagnoosi on mahdoton.
(Patologia. 2012: 557. - Koivuniemi. 1994: 191.)

10.4 Suurisoluinen karsinooma

Suurisoluinen karsinooma on erilaistumaton pahanlaatuinen epiteliaalinen kasvain. Solukuvaltaan suurisoluinen karsinooma ei vastaa muita karsinoomia, kuten pienisoluista levyepiteeli- eikä adenokarsinoomaa. Niin kuin nimikin kertoo, suurisoluisen karsinooman solut ovat suurempia kuin muiden karsinoomien solut. Sitä voidaan myös nimittää suurisoluiseksi anaplastiseksi karsinoomaksi. Kasvain on erilaistumaton, ja joskus voidaan tavata jopa pleomorfisia piirteitä. Suurisoluinen kasvain on aggressiivinen ja sijaitsee yleensä perifeerisesti. Osa suurisoluisista karsinoomista ovat huonosti erilaistuneita adeno- tai levyepiteelikarsinoomia. Joten suurisoluisen karsinooman diagnosointi perustuu muiden karsinoomien poissulkuun immunohistokemiaa hyväksikäyttäen.

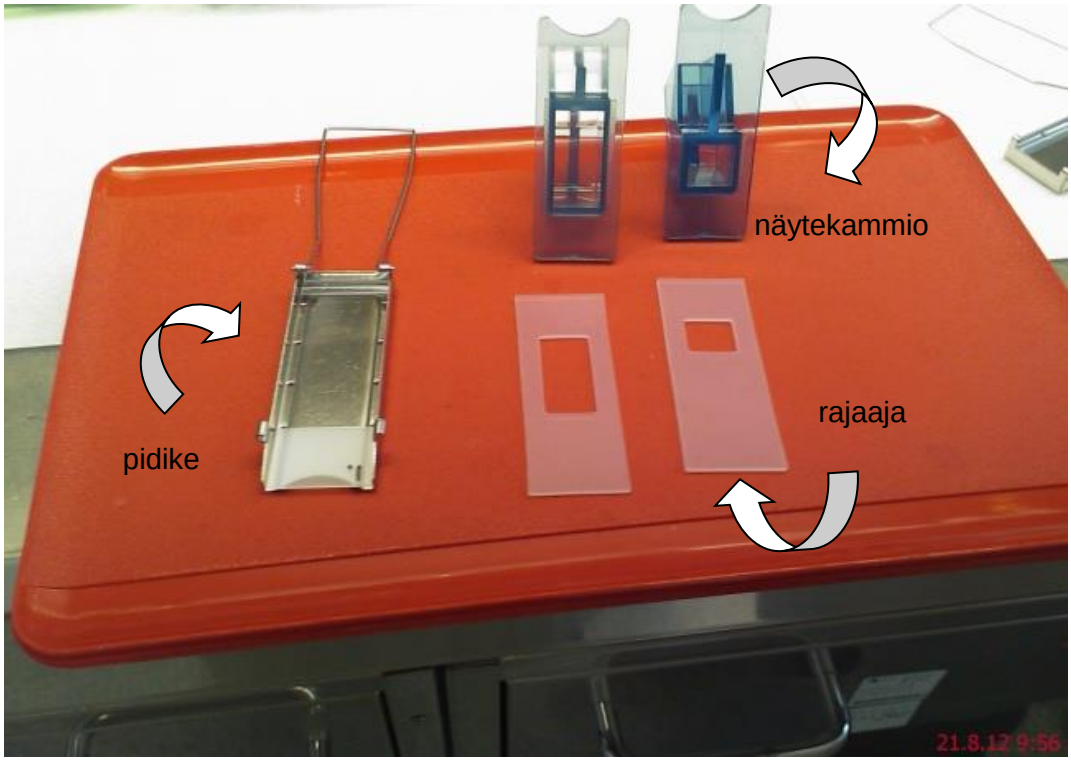
Suurisoluisessa karsinoomassa ei esiinny merkkejä liman erityksistä tai keratiinisaatiosta ja solut ovat kookkaita. Lopullinen diagnoosi saadaan yleensä kuitenkin vasta lopullisessa leikkauspreparaatissa tai ruumiinavausnäytteissä.
(Patologia. 2012: 557.)

11 Sytosentrifugivalmisteen tekeminen (CytoTek®) ja värjäys

Kesän aikana Jorvin sairaalan patologian laboratorio keräsi meille bronkusimu- ja harjusnäytteitä aiheemme rajauksen mukaisesti. Näytteitä oli yhteensä 12 kappaletta, ja niissä oli patologin lausunnot. Alkoholifiksoiduista näytteistä teimme sytosentrifugivalmisteita, ja kuvasimme näytelasit Metropolian hematologian luokassa.

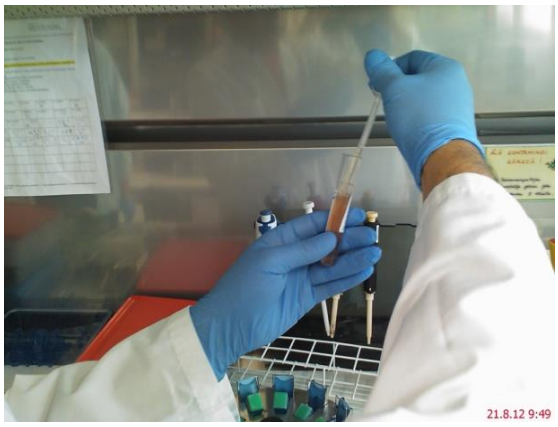
Sytosentrifugivalmiste tehtiin seuraavasti:

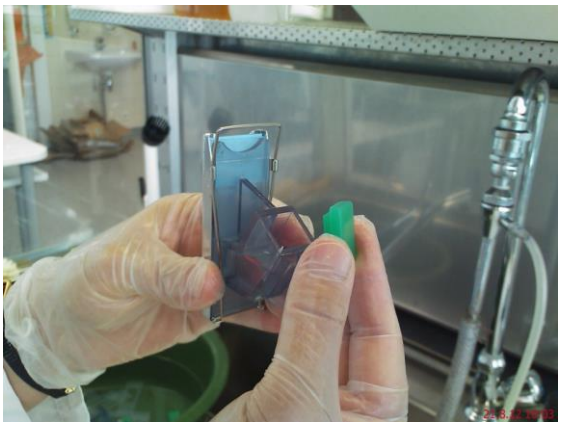
Asetetaan gelatiinilasi pidikkeeseen ja valitaan rajaaja näytekammion tilavuuden mukaan. Me käytimme 6 mL:n ja 12 mL: näytekammioita. Näytekammio kiristetään pidikkeeseen ”metalliklipsillä” (kuvio 33).



Kuvio 33. Kaksi näytekammiota, rajaajat, ja pidike.

Ennen kuin näyte voidaan pipetoida näytekammioon, näyte tuli sekoittaa hyvin. Kaadettavan näytteen määrä riippuu näytteen laadusta ja ulkonäöstä. Tämän jälkeen lisätään 1mL PEG-liuosta näytekammioon. Mutta vain jos näyte on veri- tai proteiinipitoinen, lisätään 2 mL. Tässä vaiheessa pitää olla hyvin varovainen, että annostelijan kärki ei kontaminoi. PEG-liuoksen lisäämisen jälkeen täytetään näytekammio 50%:lla etanolilla kammion merkkiviivaan asti. Sitten kiinnitään korkki näytekammioon, ja sekoitetaan hyvin (kuvio 34 ja 35).

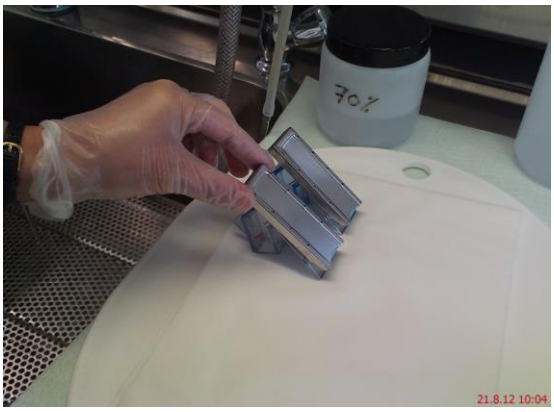




Kuvio 34 ja 35. Näyte pipetoidaan näytekammioon ja näytekammion korkki laitetaan kiinni.

Tämän jälkeen näyte on valmis sentrifugointiin. Näytteet sentrifugoidaan 2000 RPM viiden minuutin ajan (kuvio 36). Sentrifugoinnin jälkeen, kaadetaan supernatantti pois ja annetaan näytekammion valua hetken aikaa sellun päällä (kuvio 37). Näytekammio poistetaan varovasti pidikkeestä ja rajaaja jätetään paikalleen. Jos sytosentrifugivalmiste on liian paksu, rajaaja poistetaan ja sivellään näyte toisella gelatiinilasilla. Ennen värjäystä, lasien pitää kuivua yön yli, eikä rajaajaa saa poistaa kuin juuri ennen värjäämistä. Sytosentrifugivalmisteiden ja mahdollisten sivelyjen värjäys tapahtuu sytologian värjäysautomaatilla.

Kuvio 36. CytoTek® -sentrifugi.



Kuvio 37. Näytekammiot sellun päällä.

Värjäyksen jälkeen valmisteet päällystetään ja annetaan kuivua lämpökaapissa. Mielellään yhden päivän ajan, mutta myös 5-6 tuntiakin on riittävä laadukkaan tuloksen saamiseksi. Kiireelliset näytteet jaetaan erikseen omalle prikalle. Esitarkastajat käyvät hakemassa sytosentrifugivalmisteet ja lähetteen iltapäivällä sytologian työpisteeltä. CytoTek® –valmisteen konevärjäysvaiheet ovat liitteessä 1.

Kaikki näytteiden valmistuksessa käytetyt välineet, kuten pidikeet, kiristimet ja näytekammiot laitetaan Lipsol-veteen ja annetaan olla yön yli. Välinehuoltaja käy hakemassa välineet joka aamu pesuun. Samalla hän laittaa vanhan Lipsol-vesiastian tilalle uuden.
Juuri ennen värjäämistä gelatiinilasista pois otettu rajaaja laitetaan heti puhtaaseen lipsol-veteen ja annetaan olla yön yli (kuvio 38).

Kuvio 38. Lipsol-vesiastia altaassa.

12 Perehdytysmateriaalin luominen

Opetusmateriaalia laatiessa on hyvin tärkeää laatia sisältö kohderyhmän perusteella, jotta aiheen rajaus tiedetään eikä kirjoiteta liian paljon/vähän teoreettista tietoa. Aikaisempien kokemusten ja tietojen tulkinta on vaihtelevaa aina eri yksilöillä. Kaikki eivät opi samoja asioita samasta sisällöstä. Siksi on suositeltavaa käyttää opiskelutapoja, jotka sallivat yksilöllisten tulkintojen esiin tuomiseen ja niistä keskustelun. Aikaisemmilla tiedoilla ja toimintatavoilla oppimistilanteessa on kuitenkin keskeinen merkitys oppimisessa, tämän vuoksi erityistä huomiota kiinnitetään oppijan metakognitiiviseen tietoisuuteen ja strategisiin itsesäätelytaitoihin. Opetuksessa hyvin tärkeää on oppijan oppimisen ja ajattelun aktivointi. Opiskelijoille ei esitetä pelkästään tietoa vaan heidät haastetaan käsittelemään tarjottavaa tietoa esim. antamalla heille ongelmia ja tehtäviä.

Opiskeluun liittyy paljon muutakin kuin vain lukeminen. Konstruktivismissa pedagogiassa painostetaan sosiaalista vuorovaikutusta. Silloinkin kun oppimista tarkastellaan yksilöllisenä prosessina, sosiaalisen vuorovaikutuksen merkitys yksilöllisen tiedon kon-

struktoinnin kannalta nähdään tärkeänä. Sosiaalinen vuorovaikutus on tärkeää siksi, että oppija voi esittää omia ajatuksiaan, saada reflektion aineksia toisilta sekä samaistua toisen opiskelijan kokemuksiin ja saada/antaa tukea. Tärkeintä oppimisessa on kuitenkin oppimisen ja tiedon käytön kytkeminen toisiinsa. Oppiminen on tilannesidonnaista, eli se on aina sen ajan ympäristöön, tilanteeseen ja laajempaan kulttuuriin sitoutunut. Tästä syystä yhdessä tilanteessa opittua asiaa ei välttämättä pysty soveltamaan toisenlaisissa olosuhteissa. Soveltamista pyritään edistämään siten, että jo opiskeluvaiheessa opiskeltavia asioita käytetään erilaisissa yhteyksissä ja asioita tarkastellaan useista näkökulmista.
(Oppiminen ja asiantuntijuus. 1994: 162- 165.)

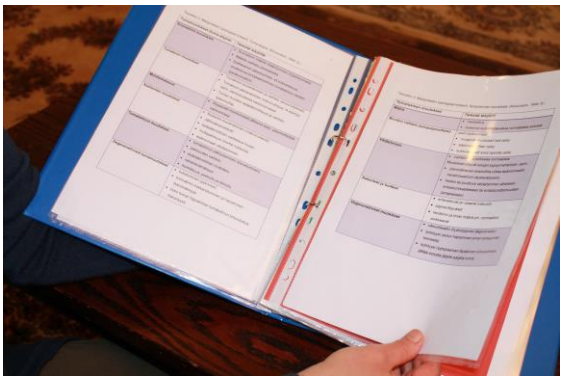
Opinnäytetyön osalta todetaan, että tavoitteena on kehittää ja osoittaa opiskelijan valmiuksia soveltaa taitojaan. Itseohjautuvaan oppimiseen perustuva opetusmateriaali korostaa nimensä mukaisesti sitä, että oppija on itseään hallitseva olento, joka määrää ja hallitsee oman oppimisessa järjestyksen, aikataulun ja sisällön. Tutkivan oppimisen malli tukee ja korostaa oppijaa tutkijana. (Puolimatka. 2002: 151-152.)

Tieteelliseen kirjoittamiseen kuuluu vahvasti, että kirjoittaja siirtää sisältöaineistoa omin sanoin käyttämistään lähteistään omaan tekstiinsä eli referoi jo valmiita tekstejä. Sisältöaineistojen suora kopioiminen kertoo lukijalle, että kirjoittaja on aloittelija tieteellisen tekstin laatija, ja että hänen oma tieteellinen pohdintansa on vähäistä. Hyvän tieteellisen käytäntöön kuuluu toimia eettisesti sekä tutkimusaineiston että lähteiden käytössä. (Tiede ja teksti. 2007: 107.)

Oppimateriaalimme pohjana on konstruktiivinen oppimisteoria. Tämän itseopiskelumateriaalin hyödyntämisen kannalta tärkeää on opiskelijan oma motivaatio ja kiinnostus asiaa kohtaan. Luodessamme oppimateriaalia halusimme saada aikaan jotakin innovatiivista, joka auttasi kaikenlaisia oppijoita opinnoissaan. Tämän tavoitteen kannalta opinnäytetyömme tärkeimpiä etuja ovat sen tieteellinen kattavuus, kätevyys, sovellettavuus ja monikäyttöisyys, jotka on taattu esim. sillä, että opiskelumateriaali on kaksiosainen. Työmme on kokonaisuudessaan mainio, koska kumpikaan osista eivät ole riippuvaisia toisistaan, vaan enemmänkin tukevat toisiaan. Se sopii kaikenlaisille oppijoille; visuaalisielle, kinesteettiselle ja auditiiviselle oppijalle. Visuaalinen oppija saattaa olla kiinnostunut enemmän kuvien tutkimisesta, kun taas auditiivinen oppija haluaa hankkia tietonsa lukemalla laajaa teoriaa, ja kinesteettinen oppija saattaa haluta päästä

itse mikroskopoimaan ja etsimään vastaavia solulöydöksiä näytelaseista. Näistä johtuen työ on hyvin hyödyllinen.

Oppimateriaalin sytologiset kuvat olemme kuvanneet Metropolian Ammattikorkeakoulun tiloissa Vanha Viertotie 23:ssa hematologian luokassa. Kuvauksissa käytimme Nikon Eclipse 50i mikroskooppia, johon on liitetty kahden megapikselin digikamera ja DS-L2 kamerakontrolleri. Kamerassa oli monia erilaisia toimintoja, kuten nuolien ja mittaasteikon merkitseminen kuviin. Kuvia kertyi kuvauksissa 530 kappaletta, ja niistä valitsimme myöhemmin parhaat mahdolliset tapaukset. Kuvaamiseen käytimme paljon aikaa, jotta huomaisimme harvimmatkin tapaukset. Kuvia valitessamme pyrimme käyttämään mahdolisimman edustavia kuvia eri tapauksista, jotka vastaisivat selkeästi sytologisen diagnostiikan kriteerejä. Kuvat ovat tapauskohtaisessa järjestyksessä (tapaus 1, tapaus 2... jne.) ja ennen jokaista tapausta olemme kirjoittaneet raportin ko. näytelasin solulöydöksistä. Raportissa on myös alkuperäinen patologin lausunto**.** Nämä tekijät tekevät kansiosta hyvin kätevän ja monikäyttöisen. Kuvioissa 39 - 41 nähdään minkälainen kansio on todellisuudessa.



Kuvio 39. Kansiossa olemme pääasiassa keskittyneet sytologisiin kuviin, mutta maligniteetin sytologiset kriteerit ja näytteen riittävyyden kriteerit ovat tärkeitä. Otimme ne esille yksinkertaisella tavalla; taulukoimalla.

Kuvio 40. Näin kansion kuvat ovat koottu yhteen. Kuvia on yhteensä 154 ja jokaiseen kuvaan löytyvät selitykset sivun alalaatikosta.

Kuvio 41. Kuvassa nähdään muovitaskussa oleva näytelasitarjoitin, jossa on 12 Cyto-Tek –valmistetta valmiina opiskelijalle mikroskopoitavaksi.

13 Pohdinta

Opinnäytetyömme aihe ja tarkoitus on koko prosessin aikana käynyt läpi monenlaisia muutoksia. Työtä aloittaessamme tarkoitusena oli tehdä lisäoppimateriaalia Metropolian bioanalyytikan opiskelijoille, joka olisi myös käyttökelpoinen perehdytysmateriaaliksi Huslabin Jorvin sairaalan patologian laboratorion uusille työntekijöille. Tarkoitus oli käsitellä normaalien ja malignisolujen eroavuuksia. Tuon toteuttamiseksi, Huslabin Jorvin sairaalan patologian laboratorio suostui yhteistyöhön antamalla meille luvan käyttää arkistolaseja. Kävi kuitenkin niin, että Jorvin patologian laboratoriossa otettujen kuvien laatu oli huono, eivätkä ne olleet siitä syystä käyttökelpoisia opinnäytetyöhömme. Arkistolasien kuljetus muuhun oppilaitokseen kuvattavaksi (esim. Metropolia, Helsingin Yliopisto) olisi ollut mahdollista, mutta sellaista sopimusta emme olleet Jorvin kanssa solmineet. Tämän vuoksi laboratorio keräsi meille bronkiaalisia imu- ja harjausnäytteitä kesän aikana. Kaikilla näytteillä oli patologian lausunnot, mikä tekee tuloksista luotettavampia. Alkoholifiksoiduista näytteistä teimme CytoTek -valmisteita ja värjäsimme ne Papanicoulaoun konevärjäyksellä. Kuvaukset suoritimme Metropoliassa Nikon Eclipse 50i mikroskooppilla. Saimme otettua yhteensä 530 kuvaa, joista valitsimme n. 200 kuvaa käytettäväksi opinnäytetyössämme; 154 kansiossa ja loput ovat raportissa.

Työmme aiheen rajauksen kanssa on ollut ongelmia jo ihan alusta asti. Samasta syystä olemme monesti joutuneet muuttamaan suunnitelmiammekin ja aloittamaan kaikki melkein alusta. Tämä ongelma vei paljon toteutus aikaamme.

Ulkomaalaisena opinnäytetyöprosessimme suureksi haasteeksi nousi suomenkieli. Ajatusten siirtäminen suomeksi paperille ei aina sujunut toivotulla tavalla. Tällaiset haasteet muistuttivat vielä kerran äidinkielen tärkeydestä ja merkityksestä. Mutta olemme erittäin tyytyväisiä tuotokseemme, vaikkakin olisimme toivoneet tiiviimpää yhteistyötä muiden tahojen kanssa.

Keuhkon sytologiasta ei löydy tarpeeksi paljon suomenkielisiä lähteitä, mikä teki kirjoittamisesta hieman vaikeampaa. Mutta englanninkielistä kirjallisuutta aiheesta oli paljon. Siksi tämän oppimateriaalin tekeminen oli tarpeellinen itseopiskelun kannalta.
Eettisiä ongelmia työhömme ei mielestämme liity. Kaikki potilasnäytteet joita olemme käyttäneet, ovat nimettömiä näytteitä ilman minkäänlaisia potilastunnisteita ja kliinisiä esitietoja. Olemme pyrkineet varmistamaan luotettavuutta käyttämällä päälähteinä tunnettuja kirjoja. Myös monen vuoden aikaisempi kokemuksemme gynekologisessa sytologiassa on ollut apuna tässä projektissa.

Toivomme jonkun opiskelijan vievän tämän opinnäytetyön idean korkeammalle. Olimme alunperin suunnitelleet otsikoida opinnäytetyömme näin: *”Neoplastinen ja ei-neoplastisen keuhkon sytologia”*, mutta resurssien puutteesta johtuneet muutokset kuitenkin muokkasivat otsikkoa nykyiseksi otsikoksi. Toinen hyvä aihe olisi myös ei-neoplastisten keuhkosairaudesien tutkiminen sytologisissa tai histologisissa näytteissä erikoisvärjäyksillä. Toivottavasti opinnäytetyöstämme on paljon käyttöä monien vuosien ajan.

Lähteet

Atkinson, Barbara F. 2004. Atlas of Diagnostic Cytopathology. Second Edition. Saunders.

C. R. Payne – J. W. Hadfield – P. G. Stovin 1981. Diagnostic accuracy of lung cytology and biopsy in primary bronchial carcinoma. J. Pathol.

Cytology Stuff. < http://www.cytologystuff.com/index.html > Verkkolähde. Luettu: 11.10.2012.

Chief lexicographer: Anderson, M. Douglas – Keith, Jefferson. Novak, D. Patricia. Elliott, E. Michelle 1994. Dorland's Illustrated Medical Dictionary. Edition 28. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Edmond. S. Cibas – Barbara. S. Ducatman 2009. Cytology Diagnostic Principles and Clinical Correlates. Yhdysvallat: Saunder Elsevier.

Eteläpelto, Anneli – Tynjälä, Päivi 2005. Oppiminen ja asian tuntijuus. Helsinki: Werner Söderström Osakeyhtiö.

Ferida. L. Carson – Christa Hladik 2009. Histotechnology A Self-Instruction Text. American Society for Clinical Pathology (ASCP).

Gray, Winifred – McKee, Grace T. 2003. Diagnostic cytopathology. Second edition. Churchill Livingstone.

G.W. Berg – Co Ab. Nikon Eclipse 50i/55i käyttöohje. Vantaa.

Grönros, Eija-Riitta – Haapanen, Minna – Heinonen, Tarja-Riitta – Joki, Leena – Nuutinen, Liisa – Vilkamaa-Viitala, Marjatta 2006. Kielitoimiston sanakirja. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Heikkilä, Asta – Jokinen, Pirkko – Nurmela, Tiina 2008. Tutkiva kehittäminen. Avaimia tutkimus- ja kehittämishankkeisiin terveysalalla. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy.

Heikki, Helin 2004. Hengityselimistön sairaudet. Ei-neoplastiset tilat. PowerPoint – esitys. Huslab, patologian vastuualue.

Hirsjärvi, Sirkka – Remes, Pirkko – Sajavaara, Paula 1997. Tutki ja kirjoita. Vantaa: Tummavuoren kirjapaino Oy.

Huslabin sairaalan cytotek-valmisteen teko-ohjeet.

Joensuu, Heikki – Roberts, Peter J. – Teppo, Lyly – Tenhunen, Mikko 2007. Syöpätaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Koivuniemi, Ari 1994. Kliininen sytologia; Irtosolu-, harjairtosolu- ja ohutneulabiopsiatutkimukset. Forssa: Forssan kirjapano OY.

Knivilä, Sonja – Lindblom-Ylänne, Sari – Mäntynen, Anne 2007. Tiede ja teksti. Tehoa ja taitoa tutkielman kirjoittamiseen. WSOY oppimateriaalit Oy.

Ko-Pen Wang – Atul C. Mehta – J. Francis Turner, Jr. 2004. Flexible Bronchoscopy, 2nd Edition. Blackwell Publishing.

Koss, Leopold G. – Melamed, Myron R. 2005. Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins.

Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.) 2012. Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Puolimatka, Tapio 2002. Opetuksen teoria. Konstruktiivista realismiin. Vammala: Tammi.

Pirinen, Risto. Erikoislääkäri. 2012. Keuhkosyövän sytologiaa. Mitä päätelmiä näytteistä voi tehdä. PowerPoint –esitys. Jorvin sairaalan patologian laboratorio.

Shambayati, Behdad. Cytopathology 2011. Yhdysvallat; New York: Oxford University Press.

The clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease: An ats clinical practice guideline. <http://www.thoracic.org/statements/resources/respiratory-disease-adults/online-supplement-clinical-utility-blcaild.pdf > Verkkodokumentti. Luettu: 22.9.2012.

Vuokko Kinnula – Pirkko E. Brander – Pentti Tukiainen 2005. Keuhkosairaudet. Hämeenlinna: Karisto Oy:n kirjapaino.

Walter Nienstendt – Osmo Hänninen – Antti Arstila – Stig-Eyrik Björkqvist 2008. Ihmisen fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY.

CytoTek –valmisteen konevärjäysohje

(Huslabin Jorvin sairaalan patologian laboratorio. Cytotek -valmisteen teko-ohje.)

CytoTek® -valmisteen konevärjäys vaiheet	
90 % etanoli	10 min (suoritetaan vetokaapissa)
70 % etanoli	aloituspaikka
50 %	2:00 min
Aqua	15 sec
Gill II hematoksyliini	2:00 min
Juokseva vesi	3:00 min
Skottivesi	1:00 min
Aqua	2:00 min
70 % etanoli	2:00 min
80 % etanoli	2:00 min
96 % etanoli	2:00 min
OG 6	2:000 min
96 % etanoli	2:00 min
96 % etanoli	2:30 min
EA 50	2.00 min
96 % etanoli	2:00 min
96 % etanoli	2:00 min
Absoluutti etanoli	2:00 min
Ksyleeni	viimeinen paikka