

CITODIAGNOSTICUL IN DERMATOLOGIE

E. Vasass și Paraschiva Tuka

Citodiagnosticul este o metodă explorativă a citologiei, cu ajutorul căreia se cercetează atât formațiunile și țesuturile superficiale direct accesibile (tegument, mucoasa bucală, col uterin), cit și cele profunde (ganglioni limfatici, noduli tumorali, singe etc.).

Prin această metodă este posibilă examinarea celulelor izolate, iar prin aplicarea procedurii adecvat de colorare putem studia structura fină a celulei, a nucleului, membrana nucleară, nucleolul, incluziile nucleare etc. (14).

Citodiagnosticul nu este o metodă nouă. Se aplică încă din anul 1867. În dermatologie *Nanta* a studiat la noi în anul 1914 șancerul sifilitic cu ajutorul acestei metode, pe care a aplicat-o mai târziu și în diagnosticul limfogranulomatozei. Contribuții deosebit de importante a adus în 1928 *Aurel Babeș*, *Montgomery* și *Watkins* au aplicat-o în leucemii monocitare (1937), *Papanicolau* și *Traut* au publicat o monografie detaliată despre citologia organelor genitale feminine (1943). *Sweitzer* a descris-o în legătură cu boala lui Hodgkin în 1945, iar *Winer* a publicat cazuri de micoze fungoide studiate prin această metodă în 1947. În anul 1948 *Tzanck* și colab. au descris celulele acantolitice găsite în pemfigusul vulgar și au studiat citogramele tumorilor și ale stărilor precanceroase cutanate.

În 1953 *Hornstein* publică un articol despre citodiagnosticul tumorilor.

În 1954 *Wilson* a întocmit o monografie asupra citodiagnosticului leziunilor maligne cutanate. În 1957 *Degos* și *Ossipowski* au studiat procesele maligne ale sistemului reticuloendotelial. În 1958 *Quero* și *Maso* aplică metoda în diagnosticul diferențial al bolii Paget. *Altgauzen* întocmește o monografie citologică în care arată avantajele biopuncturii, metoda preluată mai târziu de autorii sovietici *Fain* și *Moin*.

Intr-adevăr citodiagnosticul are o serie de avantaje:

— este o metodă mai rapidă (20 de minute) decât metoda histologică extemporanee; permite instituirea unui tratament precoce și scurtează durata internării;

— se pot explora locuri inaccesibile pentru biopsie;

— recoltarea materialului se poate repeta de multe ori;

— nu necesită aparatură specială;

— se poate studia cu ajutorul ei celula vie și celula individuală;

— este un ajutor prețios în studiul stărilor precanceroase, în recunoașterea leziunilor maligne incipiente și a proceselor maligne evaluate;

— se constată schimbări morfologice fine sau devieri, privind gradul de malignitate;

Dezavantajele:

— posibilitățile de aplicare a metodei în dermatologie sînt limitate;

— metoda nu furnizează informații asupra structurii histologice și nu înlocuiește metoda histologică;

— metoda nu permite întotdeauna specificarea tipului și gradului de infiltrație al tumorii,

— rezultatele negative nu exclud prezența unei tumori.

Metode

Se cunosc două metode: una exfoliativă și una neexfoliativă.

În cea exfoliativă esența examinării constă în faptul că materialul citologic se va presa sau se întinde pe o lamă în prealabil degresată, apoi se va colora cu metoda preferată și se va examina cu imersie.

În cea neexfoliativă materialul se recoltează prin biopunctură, prin aspirație, prin excizie etc.

Se pot obține frotiuri și prin gratajul suprafețelor acoperite cu epiderm. În aceste cazuri trebuie să ne ferim de sîngerările capilare care vor conturba examinarea frotiului. Pentru prevenirea lor se poate administra o injecție intrafocală de adrenalină-novocaină. Frotiul astfel obținut se usucă la aer. Utilizarea fixatorilor chimici este dezavantajoasă, deoarece celulele se deformează, se contractă, se dezlipesc în lichidul fixator și limbul de colorare se prelungește. Celulele fixate prin uscare se colorează tot atît de bine ca și cele fixate cu substanțe chimice.

Pentru colorare pot fi utilizate următoarele metode:

- colorația cu hematoxilină-eosină,
- colorația May-Grünwald-Giemsa,
- colorația Wright, care este mai rapidă decît cele precedente, și
- colorația Papanicolau (15).

Metodele speciale tinctoriale pot fi folosite în unele cazuri, ca:

- Metoda lui Schiff cu acidul periodic pentru polizaharide,
- colorația verde de metil pironină pentru acizi nucleici.
- colorația cu albastru de Alcian, pentru mucopolizaharide acide,
- colorația Mann modificată de Kopciowska, pentru incluziuni, și
- metoda cu contrast de fază pentru preparate native.

Materialul recoltat se transportă imediat la institutul de specialitate, unde se va proceda la colorarea frotiului.

Sistemul de preferință ales în citodiagnostic trebuie să țină seamă de anumite reguli, deoarece se urmăresc rezultate de o riguroasă precizie.

Prelevarea și recoltarea materialului vor decurge în așa fel, încît să se evite artefacte mecanice, morfologice sau chimice.

Materialul recoltat să nu conțină cantitate însemnată de hematii.

Materialul întins pe lamă să nu fie prea gros ci să fie cît se poate de transparent.

Metodele tinctoriale să fie cît mai rapide și să asigure o colorație cît mai electivă pentru boala respectivă.

Interpretarea citodiagnosticului să fie asigurată de un specialist care a studiat metodic citologia normală și cea patologică (3).

În dermatologie citodiagnosticul are o utilizare vastă. Ca să ne pronunțăm despre specificitate în cazul unei dermografe, este necesar să cunoaștem aspectul unui frotiu normal.

Dermograma normală obținută după scarificare conține 3—4 celule într-un câmp cu mărire de 1000 x. În medie dermograma conține 20% polinucleare neutrofile, 20% histiomonocite, 10% celule epidermice și 50% celule limfoide. Dermograma patologică prezintă alterații cantitative și calitative (2), fiind caracterizată prin abundența câmpului microscopic în elemente celulare-patologice, ceea ce reprezintă semnul cel mai distinctiv al unei malignități sau al unui proces degenerativ.

Utilizarea citodiagnosticului în pemfigusul vulgar

Elementul fundamental găsit în toate cazurile de pemfigus este reprezentat de celula epitelială acantolică numită celula lui Tzank (fig. 1).

Aceste celule sînt uneori mai mici, alteori mai mari decît cele epiteliale normale. Se colorează intens bazofil. Relația dintre nucleu și citoplasmă este deviată în favoarea nucleului, care este mare, rotund și intens cromatic, și în jurul căruia citoplasma este îngustă. Citoplasma adesea prezintă vacuole, iar la marginea ei se vede o bandă întunecoasă îngustă (15, 16). Celulele apar totdeauna în grupe. Un singur element acantolitic nu poate constitui baza diagnosticului de pemfigus (7).

Alte elemente caracteristice sînt alterațiile grave nucleare asociate cu degenerare citoplasmatică și reprezentate prin anisocarie, policario-kineză, picnoze și anisocromie (fig. 2). Aceste leziuni celulare nu apar în alte dermatoze buloase. În dermatita herpetiformă Dühring se observă puține elemente epiteliale, în schimb domină celulele de origine sanguină (eozinofile, leucocite polinucleare (fig. 3). Sub acțiunea corticosteroizilor dispar celulele acantolitice din pemfigus (16).

Prin examenul citologic al frotiurilor obținute din baza veziculelor de herpes și varcielă, s-au putut pune în evidență celule gigante cu nucleul mult mărit de volum, ocupînd întreaga celulă (9). Aceste celule nu se pot pune în evidență în cazuri de eritem polimorf, variolă, erizipel bulos.

Utilizarea citodiagnosticului în tumori cutanate

Celula tumorală malignă prezintă după gradul și incidența modificărilor, diverse tipuri de atipii morfologice.

În general citoplasma prezintă o dezorganizare atît morfologică cît și biochimică. Prin pleomorfismul nucleilor se observă modificări apreciable, ei îmbrăcînd o formă bizară sau se prezintă ca forme multinucleare. Raportul nucleoplasmatic (N/P) deviază în favoarea nucleului, ceea ce depinde de cantitatea și concentrarea ADN din nucleu. Leziuni elementare ușor perceptibile sînt anisomorfia și anisocaria. Colorabilitatea nucleului este net crescută, datorită abundenței de bazicromatină. Nucleolii se măresc considerabil și conțin mult ARN. Cromatina nucleară este grupată la periferia lui. Modurile de multiplicare celulară sînt cele mai variate: mitoză tipică, mitoză multipolară, endomitoză, amitoză. Toate aceste modificări sînt asociate și prezintă un sindrom patomorfic al leziunilor nucleare în boala canceroasă (3, 12).

O importanță capitală are citodiagnosticul în cazuri dubioase de nevocarcinom, care clinic pot avea aspect asemănător cu granulomul piogen, însă nevocarcinomul prezintă celule sarcomatoase cu nucleoli giganti și nuclei enorm de mari, precum și elemente pigmentare care lipsesc în granulomul piogen. Un citodiagnostic efectuat la timp previne ivirea metastazelor deoarece permite o imediată acțiune terapeutică (13).

Celulele tumorale din melanoame sînt mai mari decît acelea din alte tumori cutanate. Pigmentul se găsește în citoplasmă sub formă de granule fine mici sau în masă (fig. 4). Din loc în loc vedem melanoblaști uriași cu foarte mici nuclei și cu granule de pigment. Acești macrofagi reticulari nu-i vedem în bazaliomul pigmentar (13).

În bazaliom se observă abundența îngrămădirilor celulare (cell-clusters) cu nuclei ovali, mari, hiperchromi, de dimensiuni uniforme. Citoplasma este relativ redusă și la marginea plajelor celulare se observă un aranjament palisadic al celulelor (fig. 5).

În epiteliomul spinocelular celulele sînt polimorfe, nucleul este clar, neregulat, adeseori picnotic. Nucleolii sînt remarcabili, dar mai mici ca în nevocarcinom. Citoplasma este foarte abundentă și keratinizată (fig. 6).

În ceea ce privește dermatozele precanceroase se demonstrează existența unei continuități lezionale citologice între ele și cancerul propriu zis (10).

Aspectul citologic al leziunilor precanceroase adesea este similar cu cel al epiteliomului spinocelular. Din frotiurile tumorilor maligne se poate pune ușor diagnosticul datorită celulelor care sînt separate unele de altele. În frotiurile leziunilor precanceroase găsim un număr redus de celule separate fapt ce arată existența probabilă a unui înalt grad de coeziune celulară atît timp cît leziunea rămîne „carcinoma in situ” (5). Saltul calitativ menit să marcheze trecerea de la precancer la cancer nu se realizează decît cu condiția „sine qua non” ca celulele precanceroase să sufere în cele din urmă dereglarea uneia din funcțiunile lor fundamentale și anume, aceea a ritmului normal de diviziune și de multiplicare (10).

Citogramele bolii Bowen, Paget, Darier, prezintă celule neobișnuite, grupate sau independente, caracteristice acestor boli. Ele sînt rotunde sau ovale, cu citoplasmă abundentă, cu nucleu mari, uneori duplicate, triplicate. Ca aspect general se notează prezența celulelor scuamoase keratinizate și prezența segregatelor celulare. Aspectul keratozei seboice seamănă și poate fi confundat cu epiteliomul bazocelular.

Pentru interpretarea justă a dermogramelor prelevate din leziuni suspecte de a fi tumori redăm clasificarea lui Papanicolau: grupa I.: conține celule epiteliale fără atipie, eventual elemente inflamatorii minime. Grupa II.: prezintă atipie minimă benignă, procese inflamatorii regenerative și proliferative. Grupa III-a: prezintă celule atipice ale căror natură malignă nu este dovedită (suspiciune de stări precanceroase). Grupa IV: atipie pronunțată, raportul N/P inversat (tumoare malignă). Grupa V: atipie pronunțată, multe celule tumorale în placarde (tumoare malignă).

Clasificarea lui Sicard cuprinde 3 grupe. În prima grupă care corespunde grupelor I, II din clasificarea Papanicolau, sînt integrate leziunile considerate negative d.p.d.v. tumoral. Grupa II (corespondența grupei III Papanicolau) cuprinde leziunile suspecte. Ultima grupă din clasificarea Sicard corespunde grupelor IV—V din clasificarea Papanicolau și în ea sînt integrate leziunile sigur pozitive, adică tumorale.

În general putem concluda că: stările precanceroase se pot distinge de cele normale, dar nu se disting întotdeauna de cele canceroase; care la rîndul lor se disting net de cele normale (1).

Atipiile celulare nu sînt patognomonice pentru tumori și diagnosticul lor se bazează pe ansamblul modificărilor celulare (6).

Sînt diferențe considerabile din punct de vedere citologic între frotiurile proceselor benigne și maligne cutanate. Se găsesc diferite aspecte în apariția celulelor individuale și între numărul și aranjamentul celulelor de pe frotiu. În general frotiul leziunilor benigne conține puține

Fig. nr. 1.: *Pemfigus vulgar*. Numeroase celule acantolitice (Tzanck). Elemente celulare epiteliale de diferite mărimi, cu citoplasmă relativ mai îngustă, la margine cu bandă întunecoasă și cu nuclei mari cromatofili, intens colorați. (Col. May-Grünwald-Giemsa).

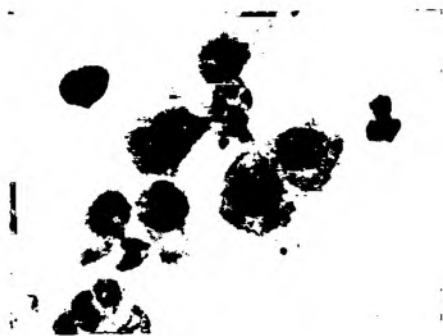


Fig. nr. 2.: *Pemfigus vulgar*. Leziuni grave nucleare cu degenerare citoplasmatică cu caractere de atipic, picnoze, anizocarie, policariokineză (Col. May-Grünwald-Giemsa).

Fig. nr. 3.: *Dermatită herpetiformă Dubring*. Puține elemente epiteliale, în schimb domină celulele de origine sanguină, leucocite neutrofile, eosinofile. (Col. May-Grünwald-Giemsa).





Fig. nr. 4.: *Melanom malign.* Celule tumorale bizate mari, cu relația nucleo-plasmatică crescută, cu forme multinucleare, cu nucleoli proeminenți și cu figuri mitotice (Col. Papanicolau, după Graham)

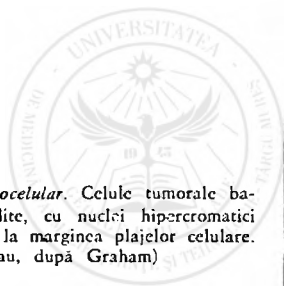


Fig. nr. 5.: *Epiteliom bazocelular.* Celule tumorale bazale multiforme, îngrămădite, cu nuclei hiperchromatici și cu aranjament palisadic la marginea plăjelor celulare. (Col. Papanicolau, după Graham)



Fig. nr. 6.: *Epiteliom spinocelular.* Celule tumorale polimorfe cu nuclei hiperchromici și mari, altelei picnotice. Celule mari atipice vacuolizate, altele keratinizate. (Col. May-Grünwald-Giemsa).

celule și dacă leziunea este de origine epitelială, celulele keratinizate sînt prezente și se recunosc ușor după nucleii mici și denși, după citoplasma abundentă, palidă, și după forma lor poligonală.

În timp ce diagnosticul diferențial al leziunilor benigne și maligne este de obicei posibil, diagnosticul precis al tipurilor anatomopatologice aparținînd acestor leziuni (benigne sau maligne) este mult mai dificil.

Pe lângă dezavantajele ei, metoda de mai sus poate fi aplicată pe scară largă tocmai din cauza simplității ei, furnizînd în numeroase cazuri rezultate rapide și precise.

Sosit la redacție: 28 decembrie 1963.

Bibliografie

1. BARÓCZY J.: Magyar Onkológia (1961), 5, 19/25; 2. DEGOS R., OSSIPOWSKI B.: Bul. Soc. Med. Paris (1958), 162, 37; 3. COSTACHEL O., BUNESCU M.: Oncologia Generală, Ed. Med. Buc. (1961), 174; 4. FAIN P. B., MOIN I. E.: Laboratornoe delo (1962), 6; 5. GRAHAM J. H. și colab.: J.A.M.A. (1961), 179, 380; 6. HAUSER W.: Arch. Klin. Exp. Derm. (1960), 210, 339; 7. JABLONSKA I. și colab.: Przegł. Derm. Vener. (1958), 8, 401; 8. IONESCU V.: Viața Medicală (1959), 35; 9. NEUMAN M., ROȘCA M.: Dermato-Venerologia (1957), 2, 450; 10. NICOLAU GH. ȘT., BĂLUȘ L.: Precancerul pielii. Ed. Acad. R.P.R. (1963), 9; 11. QUERO R., MASO C.: Y. Invest. Derm. (1958), 31, 307; 12. STANKOVICI M. I.: Laboratornoe delo (1958), 6, 13; 13. TZANCK A. și colab.: Modern Trends in Dermatology vol. 6. Butter-Worth-London (1954); 14. VADÁSZ E.: A Dermato-Venerologia Haladásá (1957), 7; 15. VADÁSZ E.: Bőrgy. és Vener. Szemle (1958), 34, 193; 16. VASASS E. și colab.: Dermato-Venerologia (1963), 8, 35;

