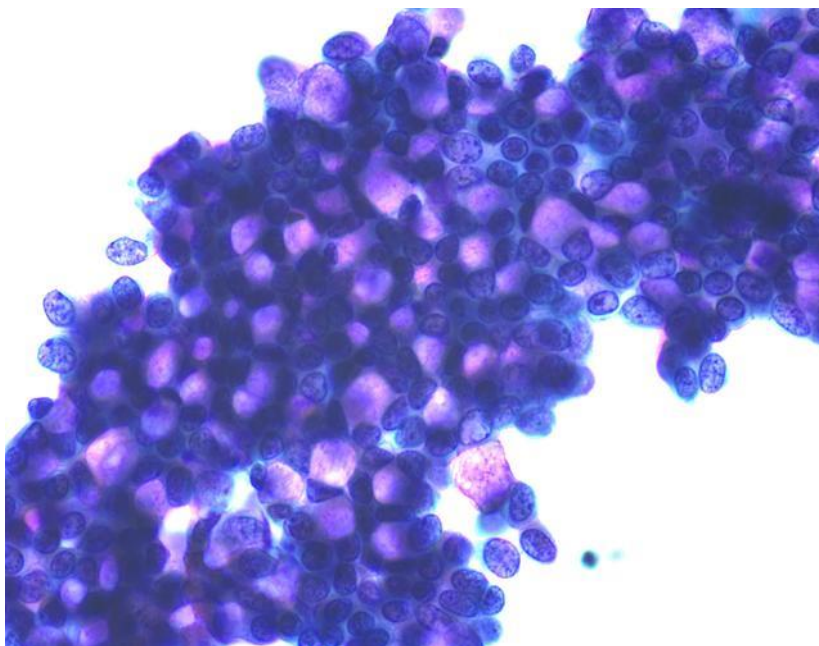




Kompendium i klinisk cytologi

LUFTVEJSCYTOLOGI



Forår 2015

Dorthe Ejersbo, Marianne Schou Martiny & Preben Sandahl

FORORD

Luftvejscytologi er et godt eksempel på et område inden for klinisk cytologi, der har stor diagnostisk betydning og har haft det i mange år. Eksfolieret cytologisk materiale repræsenterer et større anatomisk område end histologiske biopsier og med anvendelse af bronkoskopi er det også blevet muligt at lokalisere lungecancer med cytologi. Indenfor endoskopien har der i det seneste årti været en rivende udvikling, der også har involveret cytodagnostikken. Ultralydsvejledt endoskopisk finnålsaspiration har stort set erstattet mediastinoskopi i dag til gavn for patienten, da det er et langt mere skånsomt og mere præcist indgreb. Mange lymfeknuder i og omkring luftvejene bliver tilgængelige for sampling med denne metode og herved får man bl.a. vigtig diagnostisk information til afgørelsen af, om patienten er operabel eller ej.

Det er afgørende, at aspirationsmaterialet er velegnet til diagnostik og denne afgørelse træffes i dag på operationsstuen tæt ved patienten af cytobioanalytikere. Her er vi en vigtig diagnostisk samarbejdspartner for operationsteamet. Bioanalytikerne farver udstrygningerne, tager aspirationsmaterialet med tilbage til patologiafdelingen, og fremstiller celleblokke af restmaterialet, præscreener alt materialet og nogle besvarer normale prøver selvstændigt, mens abnorme fund altid diagnosticeres i samarbejde med en patolog. Denne funktion fylder meget ressourcemæssigt på de afdelinger, der deltager i den daglige udredning af patienter med mistanke om fx sarkoidose eller lungecancer, men det er samtidigt et spændende og meningsfyldt arbejde, der kræver stor faglig dygtighed.

Det er derfor af største betydning, at bioanalytikere og læger har mulighed for at få en grundig indføring i luftvejscytologi, men også at have lettilgængeligt litteratur til vedligeholdelse af ens viden.

Vi har med dette kompendium forsøgt at begrænse os til det mest basale stof indenfor luftvejscytologi. Ønsker man at gå mere i dybden med emnerne, er der masser af engelsksproget litteratur om emnet og noget af det bedste er nævnt i referencelisten.

Vi vil gerne takke lederne på patologiafdelingerne i Aarhus, Aalborg og Vejle for at give os tjenestefri til vores redaktionsmøder - og tak til Marianne for at lægge hus til og sørge for, at vi bestemt ikke har manglet noget, når vi har mødtes! Vi tager en tur mere med det sidste kompendium om diagnostik af serøse væsker.

Vi håber, at dette danske kompendium om luftvejscytologi vil blive til gavn og glæde blandt vores nuværende og kommende kolleger.

Kommentarer til indholdet i kompendiet modtages meget gerne.

Maj 2015

Dorthe Ejersbo (dorthe.ejersbo@rsyd.dk)

Marianne Schou Martiny (marimart@rm.dk)

Preben Sandahl (pls@rn.dk)

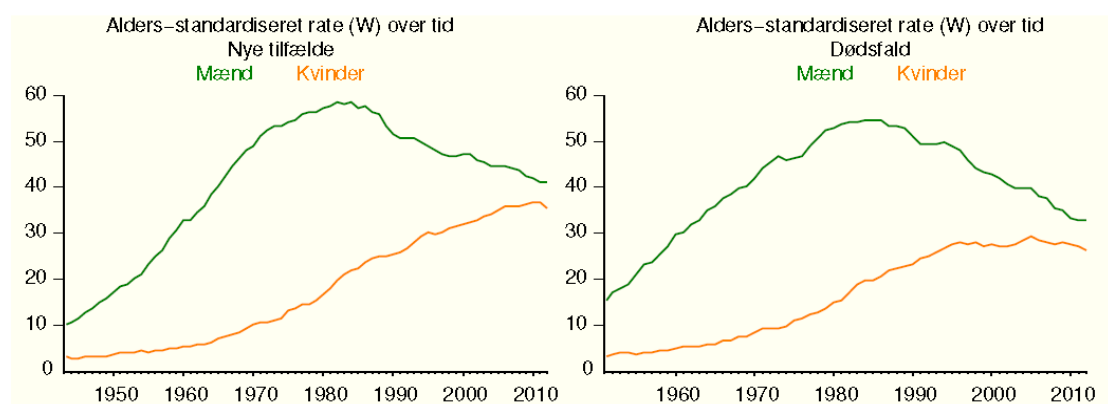
INDLEDNING	4
Symptomer.....	5
Udredningsforløb	6
Udredning af centrale tumorer	7
Udredning af perifert beliggende tumorer	8
ANATOMI OG HISTOLOGI	8
Øvre luftveje	10
Nedre luftveje.....	10
Alveolerummene	10
PRØVETAGNING OG LABORATORIEPROCEDURER	12
Bronkial skyllevæske	13
Børsteudstrygning.....	13
BAL-væske	13
Ekspektorat	14
Trachealsekret	14
Nasalsekret.....	14
Finnålsaspiration (FNA)	14
Celleblok	14
NORMALE FUND OG EGNETHED	15
Ciliebeklædte celler	15
Slimproducerende celler	15
Reserveceller.....	16
Pladeepitel, metaplastisk pladeepitel og keratose	16
Pneumocytter	17
Alveolemakrofager	17
Histiocytære kæmpeceller.....	18
INFLAMMATION OG MIKROBIOLOGI	19
Akut inflammation	19
Kronisk inflammation	19
Eosinofil inflammation	19
Curschmanns spiral	20
Bakterier.....	20
Svampe.....	21
Herpes simplex virus.....	21
Pneumocystis jirovecii	21
REAKTIVE OG REPARATIVE CELLEFORANDRINGER.....	22
Creola legemer	23
BRONKIOLO-ALVEOLÆR LAVAGE (BAL)	24
Egnethedskriterier ved differentieltælling	26
Cellefund ved interstitiel lungesygdom	26
Differentieltælling.....	27
Flowcytometri	28
KLASSIFIKATION	30
PRIMÆR LUNGECANCER I EKSFOLIATIV CYTOLOGI	36
Differentialdiagnoser til adenokarcinom	39

Keratiniserende, planocellulært karcinom	40
Ikke-keratiniserende planocellulært karcinom.....	41
Differentialdiagnoser til planocellulært karcinom	42
Karcinoid og atypisk karcinoid	42
Småcellet karcinom (SCLC)	44
Differentialdiagnoser til SCLC	45
FINNÅLSASPIRATION	48
Normale celler.....	49
Egnethedskriterier for lungefinnåle	50
Inflammatorisk proces	50
Granulomatøs inflammation	51
Bronkialt hamartom	52
Normal lymfeknude histologisk.....	53
Normale celler i en lymfeknude.....	54
Granulomatøs lymfadenitis.....	55
Adenokarcinom.....	56
Planocellulært karcinom	58
Storcellet karcinom	61
Småcellet lungekarcinom (SCLC).	62
Karcinoid.....	63
Storcellet neuroendokrin karcinom.....	64
Differentiering mellem småcellet og ikke-småcellet karcinom	66
Metastaser	66
IMMUNHISTO-CYTOKEMI	68
MOLEKYLÆRBIOLOGISKE METODER	69
STADIUM, BEHANDLING OG KONTROL AF LUNGEKANCER.....	70
Ikke-småcellet lungecancer.....	71
Småcellet lungecancer	72
REFERENCER	73

INDLEDNING

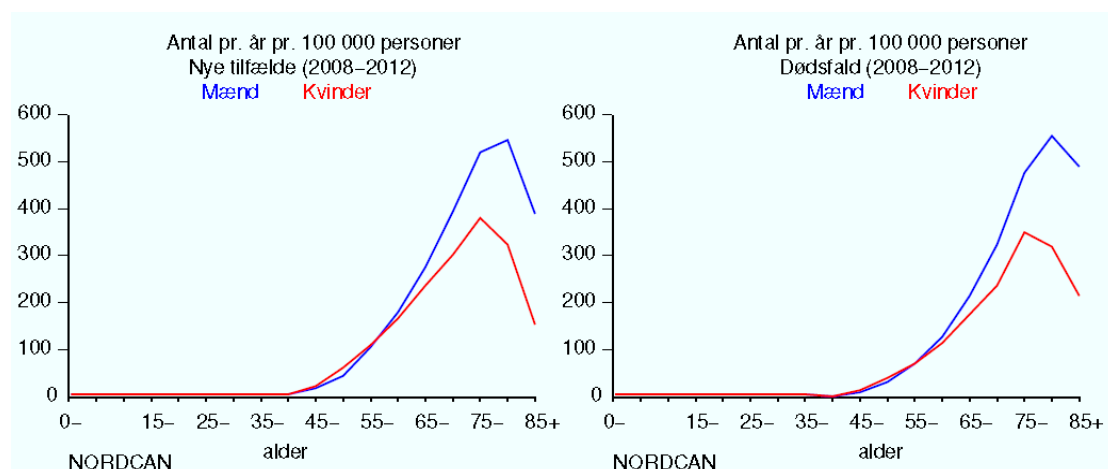
EPIDEMIOLOGI

Lungekræft var indtil begyndelsen af det 20. århundrede en særdeles sjælden diagnose. Herefter har der været en næsten eksponentiel stigning af sygdomstilfælde, der dog begyndte at aftage fra slutningen af 1960'erne. De fleste lungecancertilfælde forekommer efter 45-års alderen og kan relateres til rygning. Til trods for at årsagerne til lungekræft er velkendte, blev der i 2012 diagnosticeret i alt 4.532 nye tilfælde af lungecancer (2.349 mænd og 2.183 kvinder) i Danmark. Hos begge køn er lungekræft den næst hyppigste kræftsygdom målt i nye tilfælde. I perioden 2003-2012 er incidensraten for kvinder steget med 15,3 %, mens den er faldet med 4,3 % for mænd. Denne forskel afspejler udviklingen i kønnenes rygeadfærd (figur 1, 2).



Figur 1. Aldersstandardiseret incidens- og mortalitetsrate ved lungekræft for begge køn fra 1950-2010 (ref. <http://www.cancer.dk/lungekraeft-lunsecancer/statistik-lunsecraeft/>).

Den dominerende årsag til lungekræft er tobaksrygning, som i Danmark er årsag til ca. 84 % af alle lungekræfttilfælde hos mænd og ca. 82 % hos kvinder. Karcinogener på arbejdspladsen, fx asbest, sodpartikler, tjære, nikkel- og kromforbindelser, menes også at være årsag til en del af tilfældene hos mænd. Ioniseret stråling fra naturlige kilder eller fra terapeutisk behandling mener man udgør en mindre del af årsagerne til lungekræft.



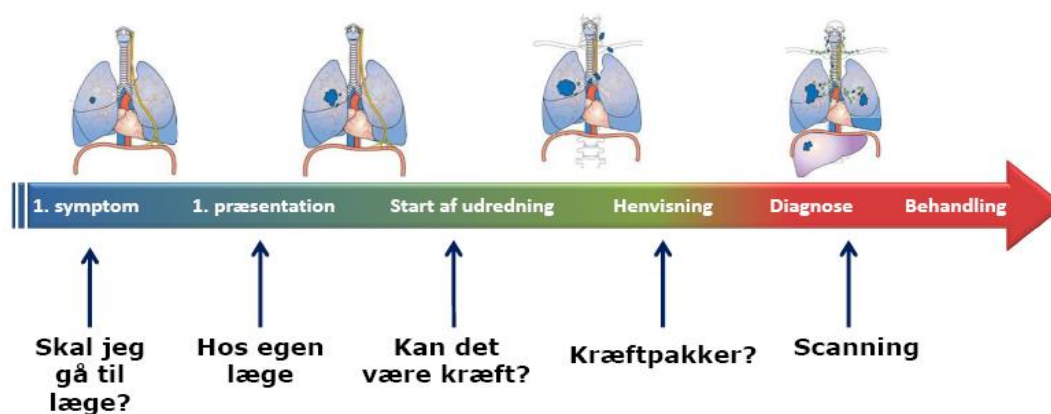
Figur 2. Incidens og mortalitet af lungekræft pr. 100.000 personer fra 2008-2012 fordelt på alder for begge køn (Ref.: <http://www.cancer.dk/lungekraeft-lunsecancer/statistik-lunsecraeft/>).

PAKKEFORLØB FOR LUNGEKRÆFTPATIENTER

På de danske hospitaler udredes der årligt ca. 12.000 patienter mistænkt for at have lungecancer, heraf får ca. 4.500 patienter diagnosticeret sygdommen. En praktiserende læge har ca. én patient med lungekræft årligt, men mange patienter med kronisk obstruktiv lungelidelse (KOL). To ud af 100 henviste til røntgen af thorax får påvist lungekræft.

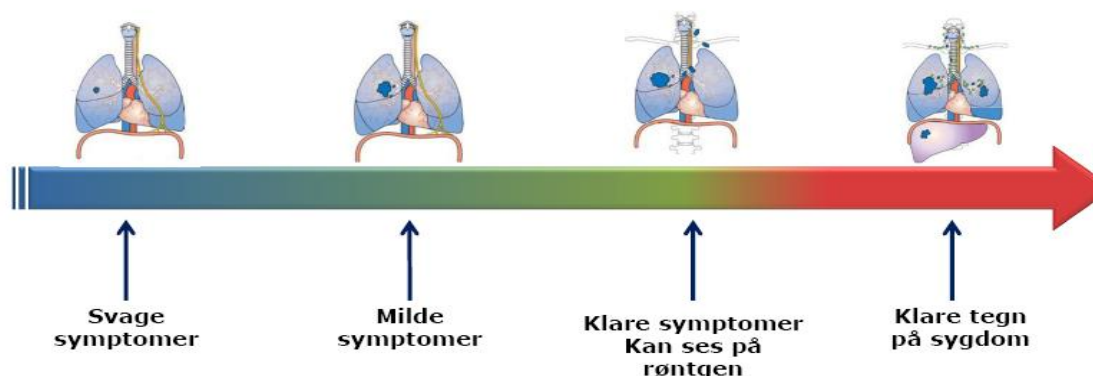
Symptomer

Som nedenstående figurer illustrerer, er behandlingsmulighederne i forbindelse med lungekræft meget afhængig af, hvor tidligt i sygdomsforløbet patienten søger læge (figur 3) og hvor alvorlige symptomer man har på det tidspunkt (figur 4).



Figur 3. De enkelte elementer i udredningsforløbet af en patient med lungecancer set i sammenhæng med sygdommens udvikling fra en lokal proces til dissemineret sygdom.

Ved mistanke om lungekræft er højrisiko-patienter rygere eller tidligere rygere over 40 år. Rygere har 20 gange større risiko for at udvikle sygdommen end aldrig-rygere. Livstidsdosis tobak beregnes som "pakkeår". Et pakkeår svarer til et dagligt forbrug af 20 cigaretter i et år. Det vil sige, hvis man har røget 40 cigaretter dagligt i 5 år, svarer det til 10 pakkeår. Andre former for tobak omregnes til cigaretækvivalenter ud fra tobaksmængden (antal gram) (se www.sundhed.dk).



Figur 4. Den typiske symptomudvikling i forbindelse med sygdommens udvikling fra en lokal proces til dissemineret sygdom.

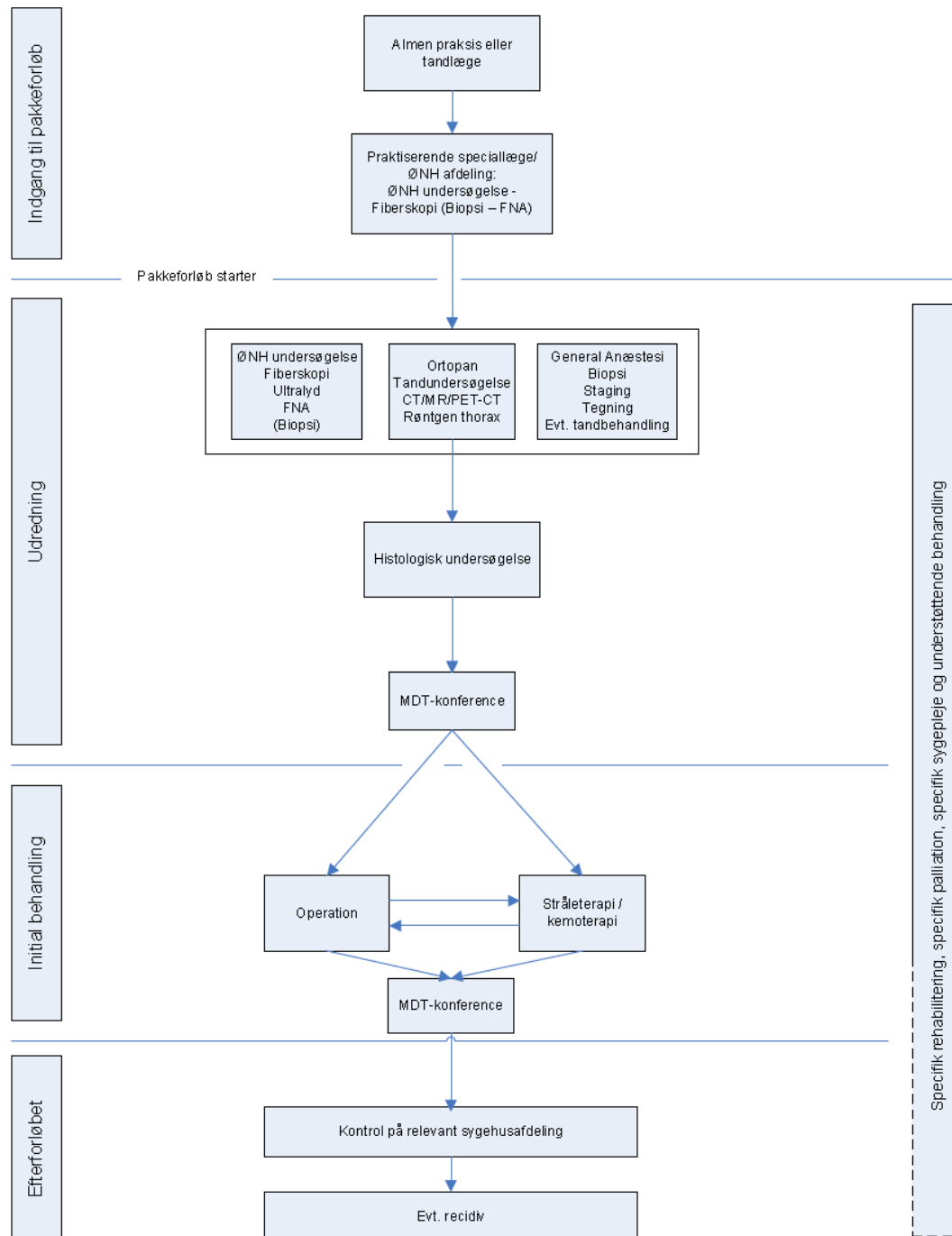
I nedenstående tabel ses en oversigt over forskellige symptomer på lungekræft. Andelen i procent udgør hyppigheden af symptomerne blandt lungecancerpatienter. De fremhævede ”alarm-symptomer” bør give anledning til henvisning til udredning for lungecancer, selvom to ud af tre lungecancerpatienter ikke debuterer med alarmsymptomer.

Symptomer blandt lungekræftpatienter
• Hoste af mere end 4-6 ugers varighed (65 %) • Nytilkommen åndenød/dyspnø (50 %) • Smerter i brystkassen (40 %) • Træthed (35 %) • Vægttab (25 %) • Hæmoptyse (20 %) • Nedsat appetit (20 %) • Hæshed/stridor (pibende vejrtrækning) af mere end 3 ugers varighed (5 %) • Pleuraeffusion • Stokes krave (hævelse af hals og hoved) • Neuropati (kraft- og følenedsættelse) • Knoglesmerter • Trommestikfingre

Udredningsforløb

Indgangen til pakkeforløbet foregår på baggrund af en henvisning fra egen læge, egen tandlæge eller speciallæge i øre-, næse- og halssygdomme (figur 5). Patienter, der skal udredes for lungekræft, henvises primært til røntgenundersøgelse af thorax. Denne undersøgelse har en rimelig diagnostisk sikkerhed ved tumorer større end 2 cm beliggende i lungeparenkymet. Små tumorer og centrale tumorer samt tumorer i mediastinum eller basalt bag hjerteskyggen kan derimod meget let overses. Ca. 15 % af lungecancerpatienter har initialt et ”normalt” røntgen af thorax.

Der er begrundet mistanke om lungecancer, når der på røntgen af thorax eller på CT-scanning ses et malignitetssuspekt infiltrat, når der er normalt røntgen af thorax men samtidigt alarmsymptomer eller når en biopsi fra en metastase tyder på et primært udgangspunkt i lungen. En patient med begrundet mistanke om lungekræft henvises umiddelbart til lungemedicinsk afdeling. Hele pakkeforløbet er 25 kalenderdage (figur 5). Der må gå seks kalenderdage til samtaler og booking af undersøgelser. Patienten skal påbegynde udredning i pakkeforløb senest syvende kalenderdag fra henvisning til lungemedicinsk afdeling. Her foretages journaloptagelse, klinisk undersøgelse af patienten, vurdering af evt. komorbiditet (samtidig sygdom), der tages blodprøver samt lungefunktionsundersøgelse og CT-scanning af thorax og øvre abdomen. Resultatet af CT-scanningen afkræfter mistanken om lungecancer hos ca. halvdelen af pakkeforløbspatienterne. Hvis resultatet af CT-scanningen er suspekt, får patienten foretaget helkropsscanning med PET-CT. Blandt disse patienter vil 40 % have regional sygdom på diagnosetidspunktet og være potentielt helbredelige, mens de resterende 60 % vil have dissemineret (uhelbredelig) lungekræft.



Figur 5. Flowchart over pakkeforløbet for lungecancerpatienter. MDT (multidisciplinært team).
(Ref: www.sundhedsstyrelsen.dk/publ/Publ2012/06juni/.../Lungekraeft3udg.pdf).

Udredning af centrale tumorer

Centrale lungetumorer udredes ved bronkoskopi. Undersøgelsen foregår overvejende i lokalanæstesi og patienten kan udskrives efter få timer. Udføres der bronkoskopi med transbronkial skylning og bioptering, er den diagnostiske sensitivitet selv ved perifere infiltrater ca. 70 %. Bronkialt børstemateriale er velegnet til diagnostik og som supplement til tangbiopsier. Transbronkial nåleaspiration (TBNA) kan udføres under bronkoskopi og bl.a. være led i stadietinddelingen af tumor. Sensitiviteten er gennemsnitlig 76 %. Er aspirationen

vejledt af en endoskopisk bronkial ultralydsscanning (EBUS), kan man skelne mellem T3 og T4 tumorer (se senere) samt evaluere metastasering til mediastinale og hilære lymfeknuder. Man kan også indsamle supplerende finnålsmateriale vejledt af endoskopisk ultralydsscanning fra øsophagus (EUS). Metoden kan udføres i lokal anæstesi. Som det fremgår heraf, spiller cytodiagnostik en væsentlig rolle i udredningen af lungecancer. De cytologiske materialetyper suppleres, hvor det er relevant, med histologisk biopsimateriale.

Udredning af perifert beliggende tumorer

Udredningen foregår ifølge pakkeforløbet primært ved hjælp af en transthorakal finnålsaspiration (TTNA), der sædvanligvis er CT-vejledt. Histologisk grov nålsmateriale kan udtages som supplement.

DIAGNOSTIK AF LUNGEKANCER

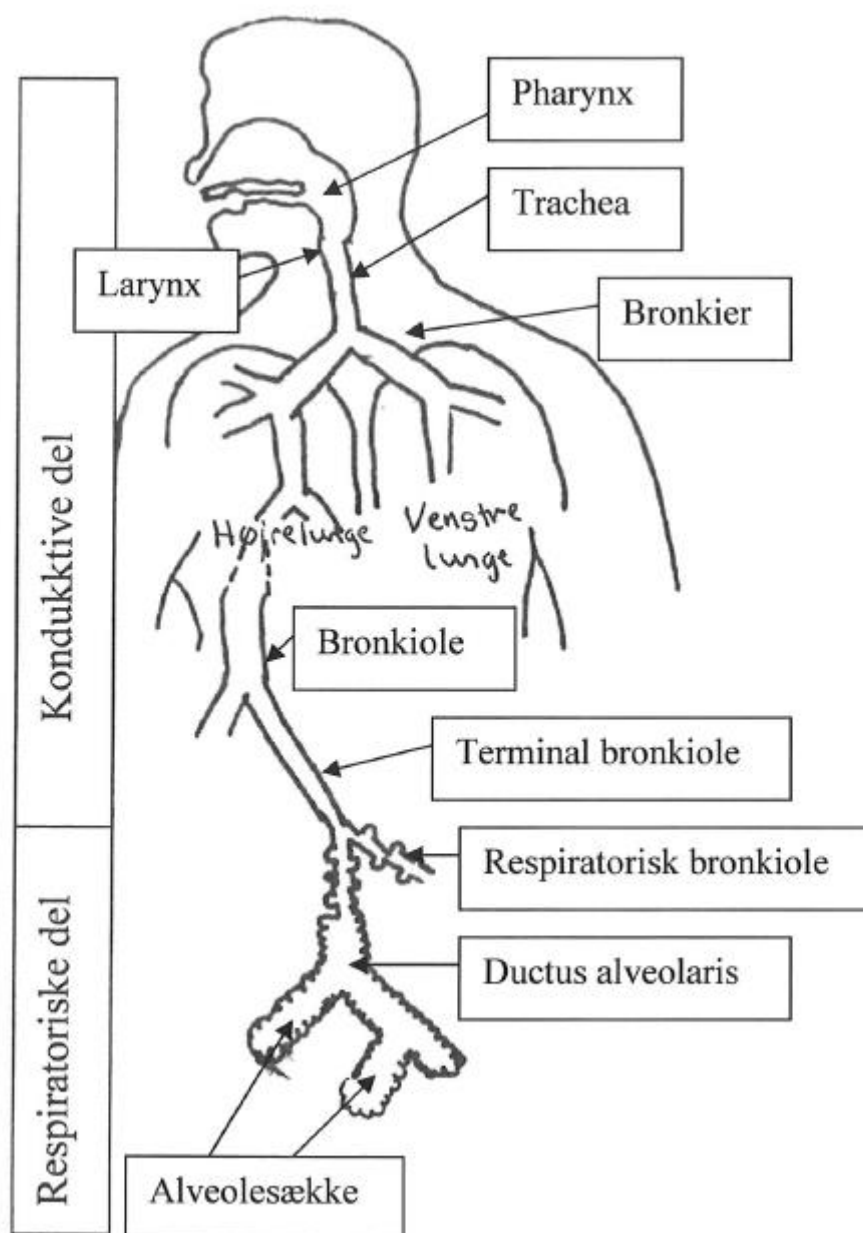
Patologiafdelingen har tre arbejdsdage til at besvare pakkeprøver (cytologisk materiale og biopsier). Lungekræft inddeles primært i en ikke-småcellet (non-small cell lung cancer, NSCLC) og en småcellet type (small cell lung cancer, SCLC). Indenfor de seneste år er der derudover opstået et behov for en præcis angivelse af subtypen af NSCLC, fordi targeteret behandling af patienter med adenokarcinom og genmutationer i fx EGFR-genet (epidermal growth factor receptor) eller ALK (anaplastic lymfoma receptor) -genet har vist sig at have en livsforlængende effekt (se senere).

Da tidlig diagnostik af lungecancer er af afgørende betydning for patientens chance for at overleve sin sygdom, spiller luftvejscytologi som diagnostisk redskab en vigtig rolle i udredningsdelen af patienten. I det følgende vil vi gennemgå cytodiagnostikken i detaljer relateret til den enkelte cytologiske materialetype. Det vil sige bronkialt materiale som skyllevæsker, børsteudstrygninger og bronkiolo-alveolær lavage samt finnålsaspirationer fra lunger og mediastinale lymfeknuder.

ANATOMI OG HISTOLOGI

ANATOMI

Luftvejene, hvis funktion er respiration (lat. *respiro* åndedræt), består af en konduktiv del (lat. *conducere*, føre sammen), en respiratorisk del og en ventilationsmekanisme (lat. *ventilare*, vifte). Den konduktive del udgøres af de øvre luftveje med næsehulen, mundhulen og svælg (pharynx) samt de nedre luftveje med strubehovedet (larynx), luftrør (trachea), bronkier og bronkioler (figur 6). Respirationen foregår i alveolerne, hvor udvekslingen mellem ilt og kuldioxid finder sted. Ventilationsmekanismen, der omfatter brystkassen (thorax), mellemgulvet (diaphragma) og lungernes elastiske væv, transporterer luften til og fra den respiratoriske del.



Figur 6. Den konduktive del består af de øvre luftveje med næsehulen, mundhulen og svelget (pharynx) og de nedre luftveje med strubehovedet (larynx), lufrør (trachea), bronkier og bronkioler. Den respiratoriske del indeholder bl.a. alveolesækkene.

Pharynx forbindes med trachea af larynx, der er en 4-5 cm lang struktur. Trachea, der deler sig i højre og venstre hovedbronkie til hver lunge, er ca. 10 cm lang og har en diameter på 1,5 cm. Trachea afstives af brusk indlejret i væggen. Lungerne adskilles af hjertet og brystskillevæggen (mediastinum), der bl.a. indeholder lymfeknuder. Højre lunge består af tre lapper, mens venstre består af to lapper. Lapperne opdeles i segmenter, der igen kan opdeles i lobuli.

Lungerne indeholder et forgrenet system af bronkier og bronkioler i alt ca. 21 generationer af forgreninger. De største forgreninger, hvor der ses brusk og kirtler i væggen, betegnes bronkier, mens de mindre uden brusk kaldes bronkioler. Hovedbronkierne forgrener sig til de fem lapbronkier i segmentbronkier, som igen forgrenes i bronkioler. De terminale bronkioler

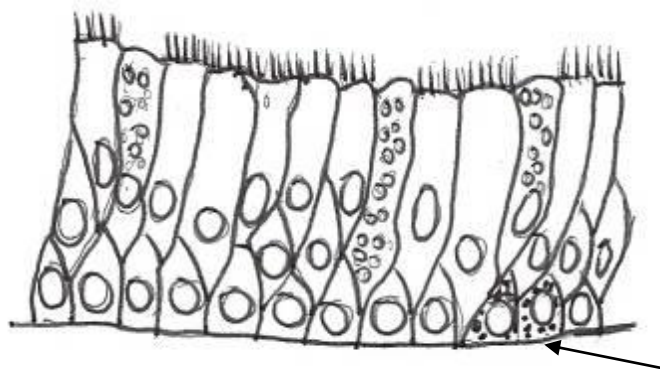
deler sig i respiratoriske bronkioler, der indeholder sækformede udposninger (alveoler). Antallet af alveoler øges gradvist ved hver yderligere forgrening. De yderste bronkieforgreninger kaldes ductus alveolaris, der ender i et atrium med indgang til flere alveolesække bestående af alveoler. Alveolen er det mindste underafsnit af den respiratoriske del (figur 6).

Lungernes ydre overflade er beklædt med den indre lungehinde (pleura visceralis).

HISTOLOGI

Øvre luftveje

Næsehulen og den øvre del af pharynx er beklædt med respiratorisk epitel, der er et pseudolagdelt cylinderepitel med ciliebeklædte celler og bægerceller samt spredte basalt placerede reserveceller (figur 7,8). Den nedre del af pharynx, mundhulen og de mest udsatte områder af larynx er beklædt med flerlaget, uforhornt pladeepitel. Resten af larynx, trachea og bronkierne er beklædt med pseudolagdelt cylinderepitel, dog ses der lidt færre bægerceller i trachea. Bægercellerne secernerer mucus, der transporteres i retning af pharynx af cilierne.



Figur 7. Pseudolagdelte cylinderepitel med ciliebeklædte celler, bægerceller samt spredte basalt placerede reserveceller og neuroendokrine celler (pil)

Nedre luftveje

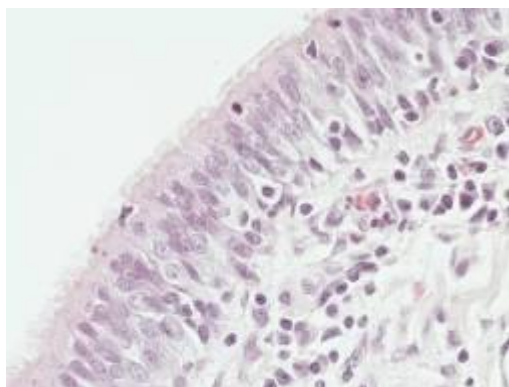
I trachea og bronkierne ses der ud over spredte reserveceller, grupper af neuroendokrine celler, der bl.a. indeholder serotonin (figur 7). Disse kaldes også Kulchitsky celler. Deres funktion i luftvejene er ikke helt afklaret, men de har formentlig betydning for kontraktionen af den glatte muskulatur. Desuden anses de for at være udgangspunktet for udviklingen af de neuroendokrine tumorer i luftvejene. De neuroendokrine celler medregnes i det diffuse neuroendokrine system (DNES), der formentlig er en underafdeling af nervesystemet, da neuroendokrine celler producerer mange af de samme polypeptider og neurotransmitterlignende molekyler, der dannes i de neurosekretoriske celler i centralnervesystemet.

I bronkiolerne aflades epitelet og består nu af ét lag ciliebeklædt cylinderepitel med spredte Clara-celler. Disse har ingen cilier, men producerer et sekret med bakteriedræbende enzymer samt surfaktant (et fosfolipid), der er en vigtig bestanddel af overfladefilmen, som nedsætter overfladespændingen mellem luft og væske i alveolerne. Desuden fungerer de her som stamceller for cilierede cylinderepitelsceller.

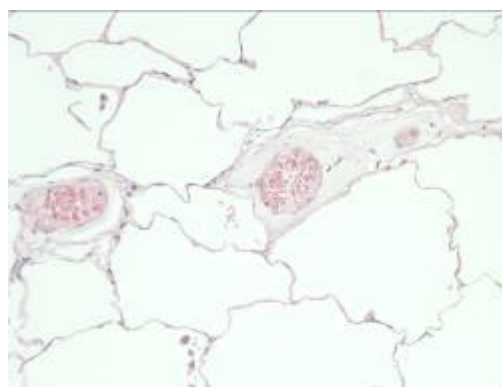
Alveolerummene

Alveolerne er beklædt med et lag specialiserede pladeepitelsceller, kaldet pneumocytter (figur 9). Det består af type 1 pneumocytter og type 2 pneumocytter (figur 10). Type 1 pneumo-

cytterne udgør 90 % af overfladebeklædningen og er lange, afladede epitelceller. Type 2 pneumocytter fungerer som stamceller for type 1 cellerne og dækker kun få procent af den alveolære overflade. Cellerne producerer surfaktant. Under pneumocytterne ses en basalmembran samt et tyndt lag af interstitiel bindevæv med kapillærer (figur 9). Herigennem foregår gasudvekslingen. I bindevævet kan ses fibroblaster, makrofager, mastceller, lymfocytter samt makrofager.

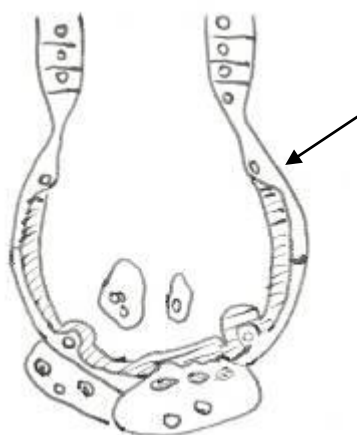


Figur 8. HE. Bronkiegren beklædt med pseudolagdelt cylindrepitel. Bemærk cilierne.

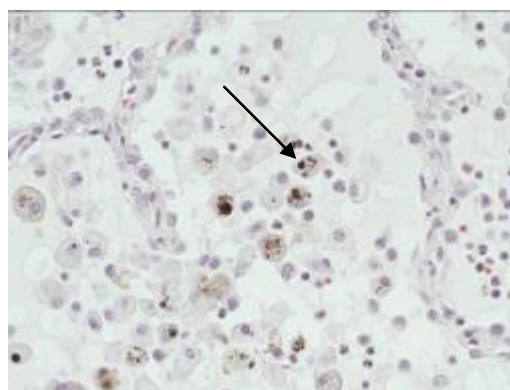


Figur 9. HE. Alveolevæggen beklædt med et tyndt lag af pneumocytter. Centralt i billedet ses et karholdigt bindevæv (interstitielt bindevæv).

Desuden findes der i alveolerummet et stort antal alveolemakrofager, der bevæger sig frit omkring på overfladefilmen. Makrofagerne renser epitelooverfladen ved fagocytose. Ses der et mørkt, fagocyteret materiale i cytoplasmaet (figur 11), består det ofte af kulstøv og dette kaldes antrakose (gr. *anthrax*, kul). Ved blødning fagocyterer makrofagerne hæmosiderin, som kan oplagres i cytoplasmaet. Disse makrofager kaldes hæmosiderofager eller hjertefejlsceller.



Figur 10. Alveole beklædt med et lag af type 1 pneumocytter (pil) og enkelte type 2 pneumocytter. I lumen ses to alveolære makrofager.



Figur 11. HE. Alveoler, hvor pilen viser alveolemakrofager med fagocyteret kulstøv (antrakose).

PRØVETAGNING OG LABORATORIEPROCEDURER

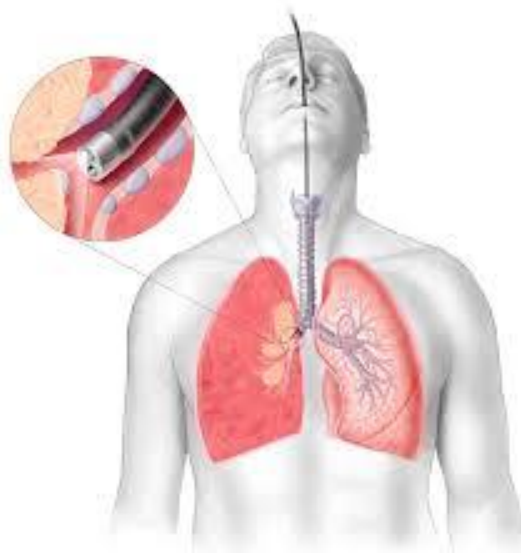
Cytologisk prøvemateriale fra respirationsvejene, der først og fremmest udtages i forbindelse med cancerudredning, omfatter eksfoliativ cytologi og finnålsaspirater. Det er vigtigt, at det oplyses, hvilken prøvetype der er sendt til patologiafdelingen, da dette har betydning for både valg af præparationsteknik, celleindholdet samt cytomorfologien.

EKSFOLIATIVT MATERIALE

Eksfoliativ cytologisk materiale fra luftvejene var tidligere først og fremmest ophost fra lungerne (ekspektorater). Disse tages sjældent i dag, hvor det er skyllevæsker fra bronkierne (sekreter eller opsug), skyllevæsker fra bronkioler og alveolerummet (bronkiolo-alveolær lavage, BAL-væske) samt børstemateriale fra bronkierne, der sendes til cytologisk undersøgelse på patologiafdelingen. Disse materialetyper opsamles i forbindelse med en bronkoscopiundersøgelse af lungerne, hvor der ofte samtidig foretages finnålsaspiration (FNA) eller vævsprøver (bronkiebiopsier). Bronkiebiopsierne er meget små og repræsenterer således, i modsætning til det cytologiske materiale, kun et lille område af bronkieslimhinden. Nasalsekreter og trachealsekreter er andre, men mere sjældne eksempler på eksfoliativt cytologisk materiale.

BRONKOSKOPI

Bronkoscopi er en kikkertundersøgelse af bronkierne ved hjælp af et ca. 1 meter langt, bøjeligt fibroskop med en diameter på ca. 0,5 cm. Det føres gennem trachea ned i lungen (figur 12).



Figur 12. Bronkoscopi. (Ref http://www.lhl.no/Global/Hjerte%20og%20karsykdom/Illustrasjoner,%20lunge/bronkoscopi-lungekreft-innfelt2-ill_1200px.jpg)

Bronkoskopet har indbygget lys og et digitalt kamera i spidsen, som transmitterer billedet af slimhinden til en skærm. Kun de yderste forgreninger, svarende til de sidste tre-fem centimeter af lungevævet ud mod thorax, kan ikke nås med bronkoskopet. I skopet er der en

arbejdskanal på knap to millimeter i diameter. Kanalen bruges til at suge og skylle væske igennem samt til at indføre forskellige instrumenter fx en børste eller en biopsitang.

Bronkoskopi anvendes som led i udredning af et lungeinfiltrat og udføres altid før operation, for at sikre at tumor er teknisk operabel og for at planlægge omfanget af indgrebet. Undersøgelsen foregår overvejende i lokalanæstesi og patienten kan derfor udskrives efter få timer.

KLINISKE OPLYSNINGER OG FREMSENDELSE

Rekvitionen bør oplyse om indikationen for undersøgelsen, herunder radiologiske fund, evt. om tumor er central eller perifer samt indeholde en kort beskrivelse af bronkoskopiske fund.

Ved præparation af respirationsvejsmateriale gælder det om at få koncentreret materialet i et ensartet tyndt lag samt fremstille en celleblok. Dette kan vanskeliggøres af mucusindholdet i specielt BAL-væsker, bronkiesekret og -skyllevæsker. Det er desuden ofte en fordel at få såvel lufttørrede som alkoholfikserede prøver, således at man kan få såvel May-Grünwald Giemsa (MGG) som Papanicolaou (PAP) og eventuelt Hæmatoxylin Eosin (HE) farvet materiale. Luftfikseret materiale farves MGG, mens alkoholfikseret materiale farves PAP. Præparationsmetoderne er forskellige afhængige af rutiner og traditioner på laboratoriet samt tilgængelige præparationsmetoder (se kompendiet om Den cytologiske undersøgelse).

MATERIALETYPER

Bronkial skyllevæske

I forbindelse med en bronkoskopiske undersøgelser kan der opsuges cellemateriale og slim (bronkialsekret) eller der kan skylles med fysiologisk saltvand (10 ml), der derefter aspireres (bronkieskyllevæske). Fremadrettet er fællesbetegnelsen skyllevæsker. Metoden er velegnet til at ophente materiale fra en tumor udenfor bronkoskopets rækkevidde eller hvis en bronkiegren er afklemt (bronkostenose). Materialet kan evt. fikseres i alkoholbaseret fiksativ. Materialet udstryges direkte, centrifugeres eller præpareres efter reduktion af mucusindholdet, ved hjælp af væskebaseret teknik. Materialet farves PAP.

Børsteudstrygning

Bronkialt børstemateriale kan præpareres som væskebaseret cytologi eller udstryges med det samme af prøvetageren. Afhængig af lokal praksis skal udstrygninger fremsendes luftfikseret, hvis de skal farves May-Grünwald-Giemsa (MGG) eller alkoholfikseret, hvis de skal farves Papanicolaou (PAP). Bronkialt børstemateriale er velegnet som supplement til bronkial tangbiopsi, fordi børsten rækker ud over bronkoskopets rækkevidde. Børstebiopsi har i forhold til skyllevæsken de fordele, at cellematerialet generelt er rigeligt og bedre til cytodiagnostik og at prøven refererer til veldefinerede bronkieafsnit. Normale børsteudstrygninger skal udstryges nænsomt for ikke at kvæste cellerne og de er generelt særdeles cellerige.

BAL-væske

Bronkiolo-alveolær lavage (BAL) er den eneste metode, der kan opsamle celler direkte fra alveolummene. Man skyller med 100 ml. fysiologisk saltvand og afhængig af patientens sygdom er den gennemsnitlige mængde aspireret BAL-væske 70-90 ml. BAL fremsendes normalt ufikseres. Metoden anvendes primært til diagnostik af interstitielle lungesygdomme. Interstitielle lungesygdomme er forskellige typer af inflammatoriske sygdomme, der bevirker arvævsdannelse i lungernes interstitielle væv.

Ekspektorat

Ekspektorat er et ophost fra lungerne. Undersøgelsen har en lav sensitivitet og materialet består ofte af mund- og svælgsekret. Metoden er i dag erstattet af skyllevæsker. Materialet fikseres straks i etanol. Ufikserede ekspektorater, evt. opslæmmet i fysiologisk saltvand, bruges til undersøgelser på Mikrobiologisk afdeling.

Trachealsekret

Materialet udtages som regel fra trachea fra patienter på intensivafdelingen. Der ses ofte tilblending af mund- og svælgsekret. Materialet fikseres i alkoholbaseret fiksativ. Materialet kan udstryges direkte, koncentrerer ved centrifugering eller præpareres efter reduktion af mucosindholdet ved hjælp af væskebaseret teknik. Materialet farves PAP.

Nasalsekret

Nasalsekret opsamles fra næsehulen med en børste. Materialet luftfikseres og farves MGG, hvis materialet ønskes undersøgt for eosinofili (eosinofile granulocytter) i forbindelse med allergiudredning.

Finnålsaspiration (FNA)

Materialet tages fra en tumorproces eller lymfeknude med en tynd nål ca. 0,6 mm i diameteren. Prøvetagningen foregår ofte under ultralydsvejledning. Materialet udstryges på 2-5 objektglas, luftfikseres og farves MGG. Materialet kan suppleres med materiale fremsendt i fikseringsvæske til tyndtlagspræparation, der farves PAP. Er der et restmateriale, kan det anvendes til en celleblok.

Ved EBUS og EUS, hvor cytobioanalytikere foretager egnethedsvurdering i forbindelse med prøvetagningen (ROSE, Rapid On-Site Evaluation), farves der en hurtig MGG-farvning. Evt. overskydende udstrygninger farves efterfølgende MGG i afdelingen og der fremstilles celleblokke.

Celleblok

Restmateriale fra eksfoliative celleprøver og finnålspunkturer kan anvendes til fremstilling af en celleblok. Ved finnålsaspiration kan den anvendte finnål skylles med fysiologisk saltvand. Celleblokken præpareres som histologisk materiale og der fremstilles et HE farvet snit (figur 13). Desuden kan materialet bruges til supplerende undersøgelser specielt immunkemiske reaktioner. På dette materiale, der er præpareret som histologisk materiale, kan afdelingens protokoller og kontroller til histologiske materiale anvendes.



Figur 13. Koagelmaterialet formalinfikseres og præpareres i det histologiske laboratorium, men indgår i den cytologiske diagnose sammen med udstrygninger af det pågældende præparat.

NORMALE FUND OG EGNETHED

Cellesammensætningen i et luftvejscytologisk materiale afhænger af, hvorfra prøven er taget og cellelejringen vil desuden afhænge af prøvetagnings- og præpareringsteknikken.

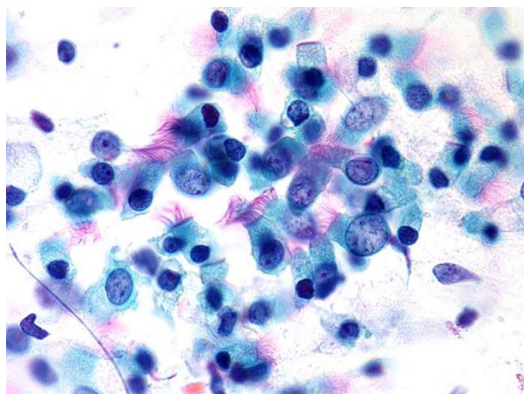
Epitelet i bronkierne er et pseudolagdelt cylinderepitel, der afflades og bliver enlagigt i bronkiolerne. Der ses overvejende ciliebeklædte cylinderepitelceller, men også spredte bægerceller, der i bronkiolerne erstattes af Clara celler. Clara celler kan ikke identificeres cytologisk. Basalt i epitelflager kan ses reserveceller. Normale neuroendokrine celler kan ikke erkendes i cytologiske prøver. Derudover kan der ses pladeepitel og pladeepitelsmetaplasia samt alveolemakrofager og andre ikke-epiteliale elementer.

CYLINDEREPITEL

Respiratorisk cylinderepitel er et pseudolagdelt cilieret cylinderepitel med indskudte slimproducerende celler (bægerceller). Alle celler har direkte kontakt til basalmembranen.

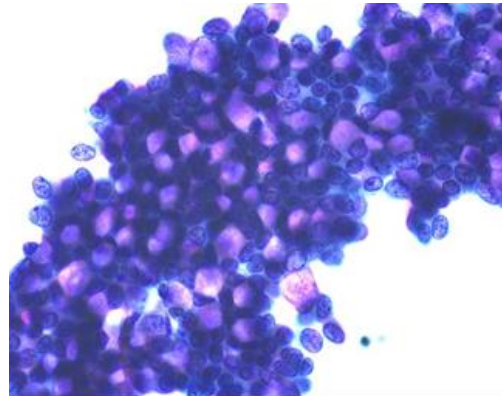
Ciliebeklædte celler

Cilierede celler er overvejende enkeltliggende eller lejret i todimensionelle sheets (strips eller bikagelejring). PAP-farvede cellers karakteristiske kendetegn er de eosinofile cilier, der er forankret til en terminalplade, der ses som en mørk fortætning af den apikale cellemembran (figur 14). Cilier er generelt et benigt tegn. Cellerne kan tabe cilierne og genkendes så på terminalpladen.



Figur 14. Skyllenvæske PAP. Normale ciliebærende cylinderepitelsceller.

(Ref: http://pathology2.jhu.edu/cyto_tutorial/Atlas/Index.cfm)



Figur 15 Børsteudstryg MGG. Hyperplasi af normale slimproducerende cylinderepitelceller.

Cytoplasmaet er homogent og blåligt farvet i PAP (figur 14). Der kan ses brune lipofuscingranula apikalt for kernen. Basalt har cellen ofte en lille "cytoplasmahale". Kernen er rund til oval og overvejende centralt placeret i cytoplasmaet. Kromatinet er fint granuleret og jævnt fordelt. Kernemembranen er regelmæssig. Kernen kan indeholde en mikronukleole. Cilierede cylinderepitelsceller vil talmæssigt dominere cellebilledet i bronkiale skyllevæsker og børsteudstrygninger.

Slimproducerende celler

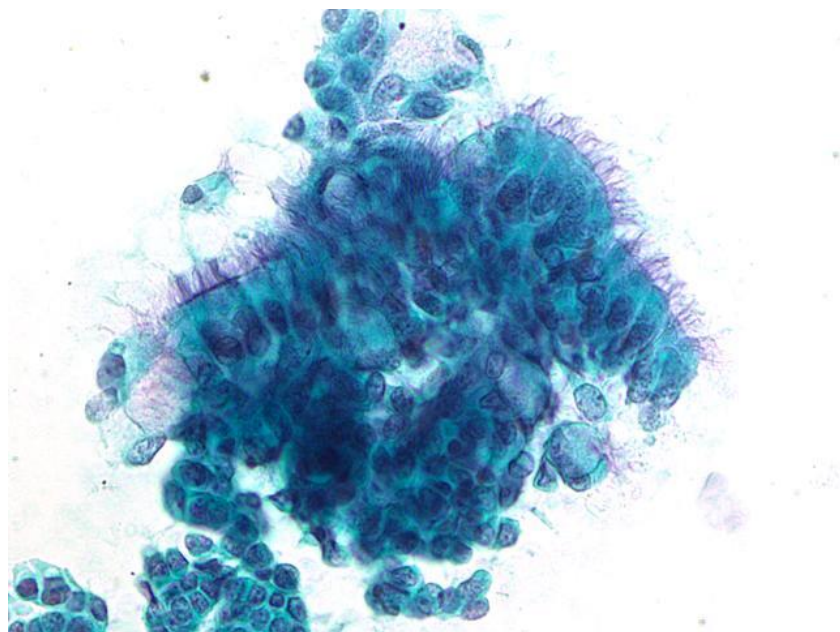
Bægerceller er slimproducerende celler i bronkierne og normalt ses der én bægercelle pr. 5-6 cilierede celler. De er sjældne i trachea. Antallet af bægerceller kan øges i forbindelse med en

kronisk irritativ påvirkning som rygning, astma og bronkitis. De findes enkeltliggende, i sheets eller 3D grupper ved bægercellehyperplasi (figur 15). Cytoplasmaet er rigeligt, fint vakuoliseret, mucusholdigt og lysblåt til ufarvet i PAP. I MGG er mucin farvet lyslilla (figur 15). Kernemorfologien adskiller sig ikke fra kernerne i cilieret cylinder, men i bægerceller er kernen basalt stillet. De kan også optræde som nøgne kerner. Kernen har ofte en mere markeret mikronukleole, end der ses i cilierede kerneceller. En sjælden differentialdiagnose til bægercellehyperplasi er et signetringscelle karcinom. Her vil cellegrupperne vise crowding og overlappende kerner og der vil være fokusdybde. Kernerne er relativt store med prominente nukleoler og uregelmæssige kernemembraner.

ANDRE CELLETYPER

Reserveceller

Reserveceller ligger basalt i det pseudolagdelte respiratoriske cylinderepitel og afstødes derfor næppe spontant. Cytologisk kan de kun identificeres i flager i børstebiopsier eller efter kraftig skylning i sekreter (figur 16). Reservecellehyperplasi kan ses helt normalt i forbindelse med en metaplastisk proces. Cellerne er små, runde, lymfocyt lignende celler med centrale, hyperkromatiske kerner omgivet af et sparsomt cytoplasma (dvs. høj K/C ratio). Flager af reserveceller kan identificeres i relation til afskrabede cylinderepithelsflager og må ikke forveksles med celler fra et småcellet karcinom (se senere).

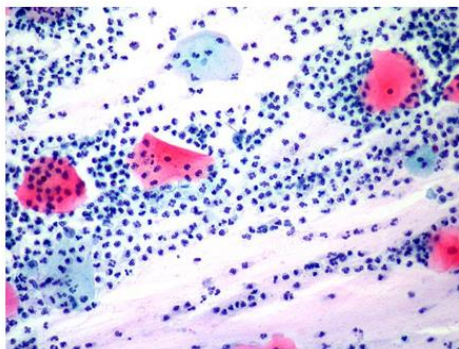


Figur 16. Børsteudstrykning PAP. Mikrobiopsi af tydeligt cilierede cylinderepitel, få bægerceller samt en lille hob af små celler med sparsomt cytoplasma nederst i flagen, der muligvis repræsenterer en reservecellehyperplasi.

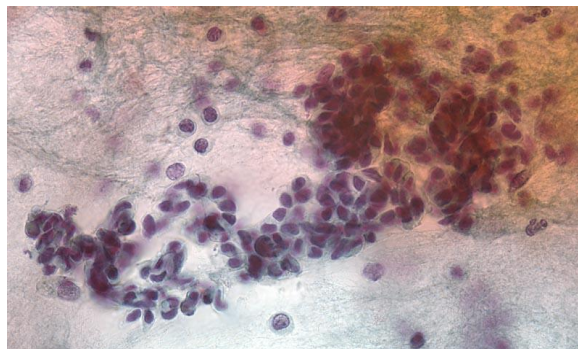
Pladeepitel, metaplastisk pladeepitel og keratose

Materiale fra svælg og larynx indeholder normale superficielle og intermediære pladeepitelceller (figur 17). Det kan være tilblandet materiale fra øvre luftveje eller der kan være tale om en moden pladeepitelmetaplasti i bronkierne. Hvis cylinderepithellet irriteres, kan det omdannes metaplastisk. Metaplasti er omdannelse af en differentieret celletype til en anden. Ændringen er oftest reversibel. Metaplastisk pladeepitel i luftvejene ses fx ved gentagende irritation eller infektion (figur 18).

Der ses undertiden anukleære, keratinholdige pladeepitelceller (hyperkeratose). Cellerne er på størrelse med en moden pladeepitelcelle. Cytoplasmaet farves orange i PAP og lyseblåt i MGG. Cellerne afstødes fra en keratinisering af pladeepitelet. Hyperkeratose kan være en reaktiv forandring, men kan også ses som led i et keratiniserende planocellulært karcinom (se senere). Man skal altid overveje, om cellerne er tilblanding fra mund og svælg eller fx håndtering af objektglas uden handsker.



Figur 17. Ekspektorat PAP. Modne pladeepitelceller i granulocytstrøg.



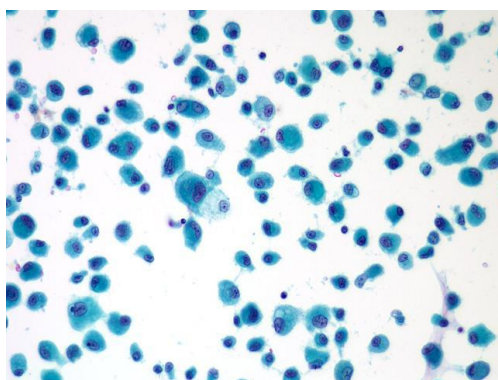
Figur 18. Skyllévæske PAP. Flage af metaplastisk pladeepitel.

Pneumocytter

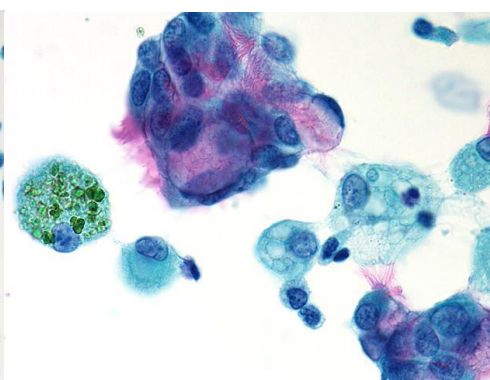
Alveolerne er beklædt med type 1 og type 2 pneumocytter. Disse er små, runde celler med en tydelig nukleole i kernen. Cytologisk kan de ikke erkendes specifikt, da normale enkeltliggende pneumocytter og alveolære makrofager ikke kan skelnes fra hinanden. Bliver type 2 pneumocytterne reaktivt forandrede, afstødes de i tætte grupper, som det er meget vanskeligt cytologisk at skelne fra maligne forandringer (figur 26 og 27).

Alveolemakrofager

To ud af tre alveolemakrofager stammer fra knoglemarven, mens den resterende tredjedel er vævshistiocytter fra den alveolære væg. Alveolære makrofager er runde celler, der varierer i størrelse. De er altid enkeltliggende og ses aldrig i sammenhængende flager, som er karakteristisk for epitelceller (figur 19). Makrofager kan være enkernede, flerkernede eller mangekernede kæmpeceller. Kernerne er runde til bønneformede, lidt excentrisk lejrede og kromatinet er fint granuleret. Der ses ofte en eller flere tydelige nukleoler i hver kerne. Generelt er cytoplasmaet let skummende og uskarpt afgrænset.



Figur 19 BAL PAP. Talrige alveolemakrofager



Figur 20. Skyllévæske PAP. Rygermakrofag til venstrestedvist med flere kerner. Bemærk de røde cilier på cylinderepitelet.
(Ref: http://pathology2.jhu.edu/cyto_tutorial/Atlas/Index.cfm)

Da makrofagerne i alveolerummet fagocyterer ekstracellulært materiale, som de cilierede celler ikke har kunnet fjerne, kan de ”sladre” om, hvad der egentlig foregår der i kraft af deres cellulære indhold, som de også kan navngives efter (se nedenstående tabel).

Rygermakrofager ”dust cells” (figur 20)	fagocyterer grønlig-sort, smågrynet kulstøv hos rygere. Der vil typisk være flere makrofager tilstede i materialet fra en ryger, sammenlignet med en ikke-ryger.
Hæmosiderofager ”heart failure cells” (figur 35)	har indhold af hæmosiderin pigment ifm. blødning i luftvejene (fx ved traume eller hjertefejl).
Lipofager (figur 37)	har et vakuoliseret cytoplasma med indhold af eksogen lipid (fx fra næsedråber) eller endogen lipid (fx vævsdestruktion).
Mucifager	indeholder mucin
Asbestholdige makrofager (figur 36)	har fagocyteret asbestgranula (mere groft og mere brunsort end kulstøv) eller deciderede asbestlegemer ved patienter med asbestose (se senere).

Histiocytære kæmpeceller

Disse kan lejlighedsvis ses hos rygere, hvor de er et uspecifikt fund. Cellerne kan have fra 2-50 ens udseende kerner fordelt i cytoplasmaet. Kernerne har jævnt fordelt kromatin og mikronukleoler. De kan have diagnostisk betydning fx i forbindelse med granulomatøs inflammation, som beskrives nærmere under finnålsaspiration.

EGNETHED

Generelt er en uegnet prøve ikke repræsentativ for det område, der er samlet eller prøven indeholder ikke et tilstrækkeligt antal celler, til at man kan stille en præcis diagnose. Bemærk fund af abnorme celler altid kvalificerer prøven som egnet. Konsekvensen af en uegnet prøve er, at prøvetagningen bør gentages.

For en bronkial skyllevæske gælder det, at prøven er uegnet eller ikke sikkert repræsentativ, når:

1. Prøven er uden indhold af bronkiale cylinderepitelceller
2. Prøven ikke kan vurderes pga. blodtilblanding, autolyse eller inflammation.

Der findes ikke særskilte egnethedskriterier for børsteudstrygninger.

En BAL-væske kan beskrives som mindre egnet eller uegnet, hvis der ses få alveolemakrofager, talrige cylinderepitelceller og/eller talrige pladeepitelceller, udbredt purulent inflammation, blodtilblanding eller autolyse.

INFLAMMATION OG MIKROBIOLOGI

INFLAMMATION

En del af de patienter, der henvises til udredning for lungecancer, har en infektion evt. samtidig med en malign sygdom. Luftvejene kan indeholde et mindre antal neutrofile granulocytter eller lymfocytter, uden der er tale om en inflammation. Desuden ses der normalt alveolære makrofager ved repræsentation af materiale fra de dybere luftveje. Ved inflammation kan der ses reparative og reaktive forandringer i de benigne celler, som kan være differentialdiagnose til maligne forandringer. Man bør derfor være forsigtig med en malign diagnose ved samtidige inflammatoriske forandringer.

Akut inflammation

Ved en akut inflammatorisk proces vil man ud over de normale celler med reparative og degenerative forandringer også kunne se klumper af purulent materiale med mange granulocytter, makrofager og cellulær debris.

Ved reparative forandringer i epitelcellerne ses kerneforstørrelse, fint granuleret kromatin, tydelig nukleole og uskarpe cellegrænser. Mens der ved degenerative forandringer ses pyknotiske kerner, vakuoliseret cytoplasma men bevaret K/C ratio i epitelcellerne.

Cellebilledet ved akut inflammation
• Epitelceller med reparative og degenerative forandringer • Mange neutrofile granulocytter • Cellulært debris • Makrofager • Mikroorganismer (oftest bakterier)

Kronisk inflammation

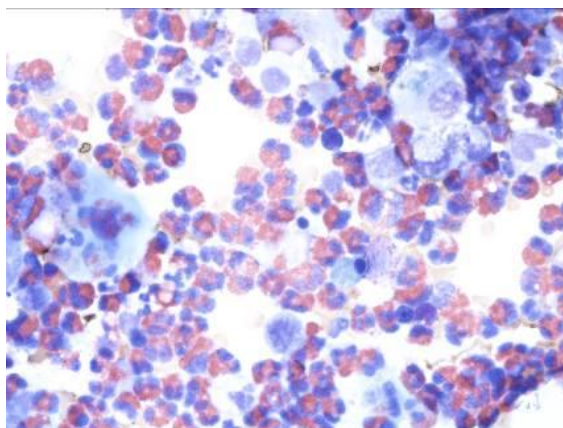
Kronisk inflammation er kendetegnet ved tilstedeværelse af lymfocytter, plasmaceller og makrofager. Lymfocytter kan forveksles med abnorme celler fra et lymfom eller et småcellet karcinom, men de normale lymfocytter er enkeltliggende, former sig ikke efter hinanden (moulding) og har benign kernestruktur. Desuden vil der kunne ses både modne og umodne lymfocytter samt tilstedeværelse af plasmaceller og reticulumceller (tingible body macrophage) med fagocyteret kernedebris.

Cellebilledet ved kronisk inflammation
• Epitelceller med reparative og degenerative forandringer • Et øget antal lymfocytter af varierende modningsgrad • Makrofager • Plasmaceller • Mikroorganismer fx <i>Mycobacterium tuberculosis</i> og <i>Pneumocystis jirovecii</i>

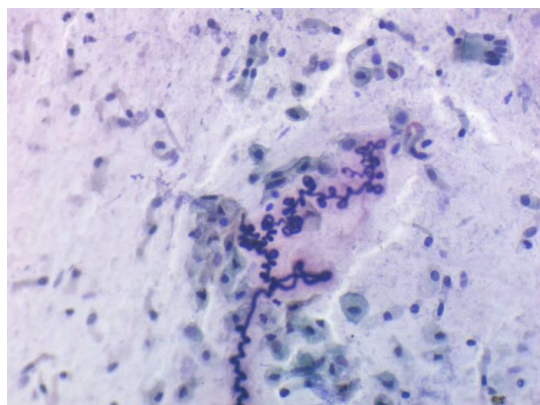
Eosinofil inflammation

Eosinofile granulocytter ses hyppigst ved allergi samt astmatisk bronkitis (figur 21). Eosinofile granulocytter ligger ofte lejret i smågrupper eller strøg og i ufikseret materiale kan der ses ruderformede, orangeofile Charcot-Leyden krystaller, der er dannet af nedbrudte eosinofile granulocytters granula (se også afsnittet om BAL-væsker).

Granulomatøs inflammation identificeres hyppigst cytologisk i finnålsmateriale (se afsnittet om finnålsaspiration).



Figur 21. BAL MGG. med talrige eosinofile granulocytter (eosinofili).



Figur 22. Skyllevæske PAP. Churshmanns spiral iblandt talrige cylinderepitelceller.

Curschmanns spiral

Curschmanns spiral ses hyppigst hos rygere og patienter med øget slim produktion fx ved astma eller kronisk bronkitis (figur 22). Spiralen består af kondenseret slim og opstår formentlig pga. bronkial obstruktion og en ændring i slimens konsistens. Spiralen består typisk af et indre, mørkfarvet område og et lysere i periferien. Forekomsten af Curschmanns spiral har ingen diagnostisk betydning, men den indikerer, at materialet stammer fra bronkierne.

MIKROORGANISMER

Der kan diagnosticeres forskellige specifikke mikroorganismer i cytologisk materiale fra luftvejene. Afhængig af materialetypen og prøvetagningsteknikken skal man dog overveje, om disse mikroorganismer kunne være tilblanding fra mund og svælg. I det følgende gennemgås de hyppigste eksempler på mikroorganismer i luftvejene.

Bakterier

I luftvejscytologisk materiale kan man finde såvel stavformede som kokkoide bakterier, men disse kan kun identificeres korrekt ved dyrkning på mikrobiologisk afdeling. *Actinomyces* er en normalt forekommende bakterie i de øvre luftveje.

Cellebilledet ved tuberkulose er typisk for en granulomatøs inflammation med Langhans kæmpeceller og grupper af epiteloïdceller. Derudover kan der ses reaktive cylinderepitelceller, pladeepitelmetaplasi, leukocytter og plasmaceller på en nekrotisk baggrund. *Mycobacterium tuberculosis*, der forårsager tuberkulose, kan identificeres cytologisk ved farvning med Ziehl Neelsen, der påviser syrefaste stave. Disse bliver farvet røde og findes ved omhyggelig og tidskrævende screening vha. 60x objektiv. I dag findes der dog mere sensitive mikrobiologiske metoder end lysmikroskopi til påvisning af mykobakterier.

Svampe

Tilstedeværelse af svampe ses hyppigt i materiale fra mund og svælg, men kan også ses i de dybere luftveje evt. som del af en lokal eller systemisk svampeinfektion. Den mest almindelige svamp er *Candida albicans*, der ses som pseudohyfer eller gærceller.

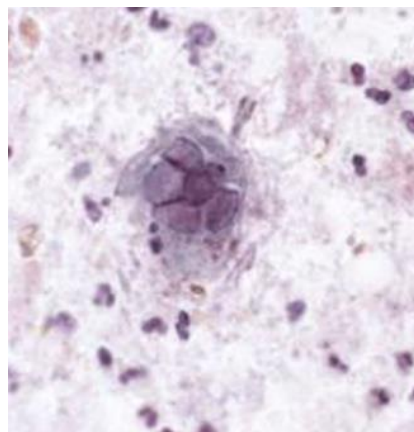
Aspergillus, der er en almindelig saprofyt i tonsillerne, kan også give en infektion i de dybere luftveje (figur 23). Svampen har tykkere, gevirlignende hyfer end *Candida* og hyfernes forgrening har en vinkel på ca. 45 grader. Svampeinfektion kan give anledning til en allergisk reaktion og vækstmønstret kan på røntgen give falsk mistanke om en neoplasia.

Herpes simplex virus

Luftvejene inficeres ofte af virus, der kan give uspecifikke cytologiske forandringer. Infektion forårsaget af *Herpes simplex virus* kan ses i luftvejene fx hos immunsupprimerede personer. Virus partiklerne kan ikke identificeres i lysmikroskopet, men herpesinficerede epitelceller har specifikke herpesforandringer, som er mangekernede celler med kerner, der moulder ("former sig efter hinanden") og har matglasstruktur (figur 24). Der kan ses eosinofile kerneinklusioner.



Figur 23. Bronkieskyl PAP. *Aspergillus*.
(Ref. www.cytologystuff.com)



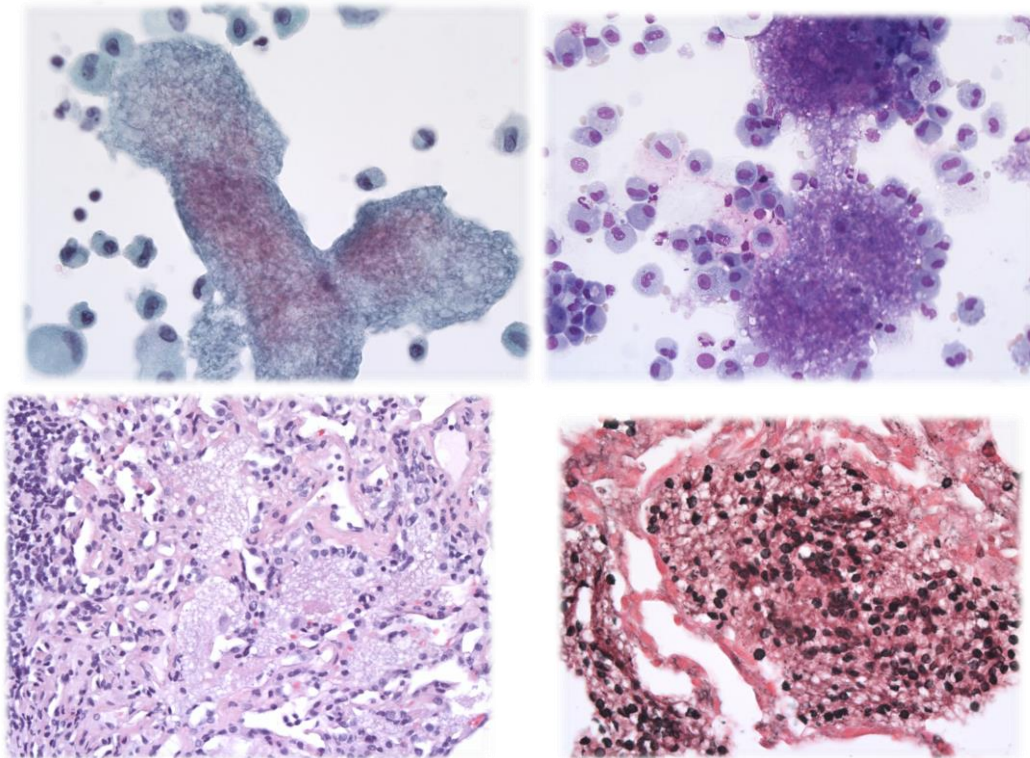
Figur 24. PAP Herpesinficerede celler.

Pneumocystis jirovecii

Pneumocystis jirovecii (tidligere kaldet *Pneumocystis carinii*) er en opportunistisk svamp, der kun ses hos mennesket. Infektionen ses hyppigst hos immunsupprimerede patienter fx transplanterede eller HIV-patienter og var tidligere den opportunistiske sygdom, der afgjorde, at patienten definitivt havde udviklet AIDS. De fleste infektioner stammer sandsynligvis fra aktivering af en latent infektion i alveolummet. *P. jirovecii* kan ikke dyrkes eller påvises ved hjælp af blodprøver og cytologi har derfor en afgørende betydning, for at diagnosen kan stilles. Infektionen kan i værste fald være dødelig. Patienterne er ofte yngre personer med tiltagende funktionsdyspnø, ikke-produktiv hoste og subfebrile. Behandlingen gives kurativt, men kan også gives profylaktisk, når CD4-tallet er under 200 celler/mm³.

Svampen reproduceres vha. type 1 pneumocytter. Sygdommen begynder med, at sporene (tropozocytter) adhærer til og snylter på værtscellen, vokser og transformeres til den cystiske form, der indeholder bittesmå sporer. Disse frigives, når cysten går i stykker. Sporerne modner herefter op til nye cyster. Hvis processen ikke standses af immunsystemet eller antibiotika, fyldes den inficerede alveole med organismer og proteinøst materiale. BAL-væsker er derfor det mest velegnede cytologiske materiale til påvisning af *Pneumocystis*

jirovecii. Cytologisk ses *P.jirovecii* i små eller store grupper af cyster lejret i et amorft proteinøst materiale (figur 25 PAP, MGG, HE). De kugleformede cyster er på størrelse med en erythrocyt og kan påvises med sølvfarvning (figur 25 Grocott) eller immuncytokemisk.



Figur 25 PAP, MGG, HE og Grocott. *Pneumocystis jirovecii*

PAP farver cystevæggen og det proteinøse materiale svagt eosinofilt. Desuden kan der være fortykkede områder af cystevæggen, der ses som kraftigt farvede dots (figur 25). I MGG ses konturen af de ufarvede cyster i et blåfarvede proteinøse materiale.

Mistanken om en *P. jirovecii* infektion opstår ved disse fund i MGG og PAP, men diagnosen præciseres ved en specifik immunreaktion til påvisning af mikroorganismen eller med en sølvfarvning som fx Grocott (figur 25). Denne farver cystevæggen sort og man kan se små sorte prikker i cysterne. En del af cysterne vil være halvmåneformede, idet de er klappet sammen ved frigivelse af indholdet.

REAKTIVE OG REPARATIVE CELLEFORANDRINGER

Hvis bronkieslimhinden skades, i forbindelse med fx infektion, ektasi (udposning), inhalation af toksisk gas eller følger efter stråle/kemobehandling, vil der opstå hyperplasi og celleforandringer, der varierer i sværhedsgrad fra simple reaktive forandringer til svært atypiske, reparative forandringer (tissue repair), der cytologisk kan være umulige at skelne fra neoplasi. Kronisk irritation pga. rygning eller kronisk bronkitis kan også fremkalde reaktive epitelforandringer. I alveolerummene kan type 2 pneumocytter proliferere og give udbredte reaktive forandringer i forbindelse med lungeskade pga. fx infektion, lungefibrose, varmepåvirkning, infarkt eller embolier. Man skal altid være tilbageholdende med at

diagnosticere lungecancer, når det drejer sig om en patient, der har været udsat for ovenstående eksempler på lungeskade eller som er febril.

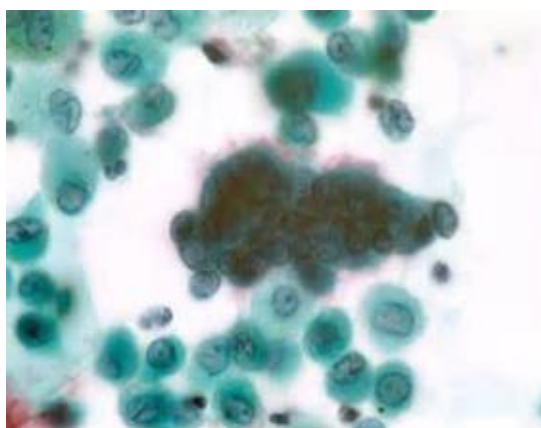
REAKTIVE BRONKIALE CYLINDEREPITELCELLER

Reaktive bronkiale cylinderepitelceller er lavere og mere kubiske end normale og med let øget K/C ratio. Kromatinet er grovere og mere hyperkromatisk og nukleolerne bliver mere prominente. Kernemembranen kan være uregelmæssig. Cellerne hænger godt sammen og ligger i todimensionelle grupper. De cilierede cylinderepitelceller kan blive flerkernede og indeholde fra 2-20 identiske kerner (figur 31).

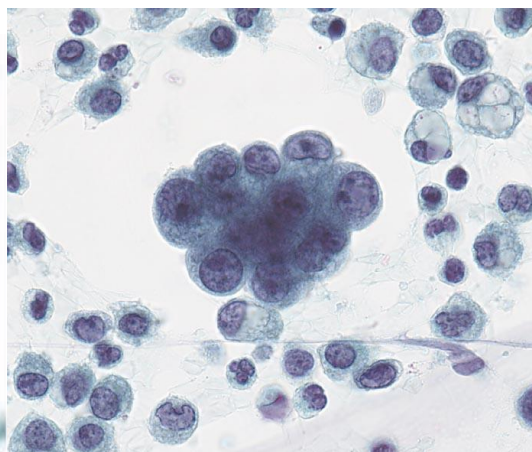
Ciliocytophthoria (dvs. at cellerne taber cilierne, der ligger i isolerede totter) er et reaktivt fænomen, der meget sjældent ses ved fx virusinfektion.

Creola legemer

Man kalder en tæt, tredimensionel cellegruppe af cylinderepitel med cilier for et Creola legeme og fænomenet repræsenterer en hyperplasi med øget afstødning af den bronkiale slimhinde (figur 26). Oprindeligt blev disse cellegrupper beskrevet i ekspektorater fra en patient, der hed Creola og som havde astma. Man tolkede da disse cellegrupper som maligne, men Creola fik aldrig påvist lungekræft. Derfor blev dette cellefund opkaldt efter denne patient, for at minde os om denne væsentlige cytologiske, differentialdiagnostiske problemstilling. Creola legemer er typisk papillære grupper med en kerne af reserveceller omgivet af reaktive, cilierede cylinderepitelsceller. Da cilierede celler ikke kan dele sig, er det reservecellerne, der bliver hyperplastiske som svar på en irritativ tilstand. Nogle gange kan der være bægerceller i celleflagen. Der ses ingen mitoser, ingen makronukleoler og ingen atypiske enkeltliggende celler.



Figur 26. BAL PAP. Reaktivt cilieret cylinderepitel (Creola body).



Figur 27. BAL PAP. Reaktive pneumocytter

Atypiske reparative forandringer kan være umuligt at skelne cytologisk fra et adenokarcinom (se nedestående tabel), fx i en situation hvor man ønsker at udrede en behandlet lungecancerpatient for recidiv af et sådant. Atypiske reparative celler bliver mere varierende, dvs. de mister det homogene præg, som reparative celler typisk har. Kernerne overlapper til dels, er pleomorfe og kromatinstrukturen bliver grovere end normalt. Bemærk at maligne

celler (især småcellet lungecancer) kan ses i tæt relation til normale eller reaktive cylinderepitelceller pga. tumors vækstmønster.

REAKTIVE PNEUMOCYTTER

Det er kun type 2 pneumocytter, der kan identificeres i BAL eller bronkiale skyllevæsker, når cellerne er hyperplastiske eller neoplastiske og i grupper. Er de afstødt enkeltvis, kan de ikke skelnes fra alveolemakrofager. De reaktive celler vil både være enkeltliggende og i tætte clusters, men der er få af dem (figur 27). Hyperplastiske pneumocytter imiterer adenokarcinom og disse forandringer er praktisk talt umulige at adskille cytologisk, når der er mange grupper af atypiske celler (især ved diffus alveolar damage, DAD). I den enkelte gruppe kan man se et bredt spektrum af atypiske træk, hvorimod maligne glandulære celler ofte er mere ensartede. De atypiske cellegrupper har ringe fokusdybde, intercellulære ”vinduer” og cellerne lægger sig perifert som kanten på muslingeskal (hobnail appearance). De har et blåligt, granulært cytoplasma, der kan være fra fint granuleret til vakuoliseret, nogle gange med en enkelt eller flere kæmpestore vakuoler. Cellerne kan være degenerativt prægede og have en øget K/C ratio. Kernerne har en uregelmæssig kernemembran, varierende kromatinstruktur fra fint til groft granuleret, clearing samt runde prominente nukleoler. Cellerne kan også være flerkernede, hvilket mere er et regenerativt end et neoplastisk træk. Læg mærke til hvad der ellers er i cellebilledet: strålepåvirkede celler, mikroorganismer, virusforandringer, reparative forandringer, neutrofile granulocytter og hæmosiderinholdige makrofager (især ved DAD, se afsnittet om BAL).

Træk der støtter reaktive forandringer	Træk der støtter malignitet
• Sammenhængende sheets evt. bestående både af bægerceller og cilieret cylinder • Tilstedeværelse af cilier • Varierende grader af atypi i det enkelte sheet med overgang til normale celler • Ingen eller meget få mitoser eller apoptoser • Regelmæssig kernemembran	• Dissocieret cellebillede • Nekrose • Cellulær crowding • Talrige mitoser og apoptoser • Uregelmæssig kernemembran • Abnorm kromatinstruktur

BRONKIOLO-ALVEOLÆR LAVAGE (BAL)

Indikationen for undersøgelse af BAL-væsker på patologiske afdelinger er som oftest undersøgelse i forbindelse med udredning for interstitielle lungesygdomme (ILS). Undersøgelse for tumorceller specielt ved perifert lokaliserede lungetumorer og opportunistiske lungeinfektioner forekommer også. BAL-væske kan desuden anvendes til kontrol af lungetransplanterede patienter og til mikrobiologiske undersøgelser.

Indikation for BAL

- Udredning af interstitielle lungesygdomme
- Mistanke om alveolær blødning
- Lungeinfektioner
- Infiltrater hos immunsupprimerede patienter
- Vurdering ved akut respirationssvigt
- Udredning af lungecancer
- Kontrol af lungetransplanterede

I det følgende gennemgås anvendelse af BAL-væsker i forbindelse med udredning af interstitielle lungesygdomme. Der fremstilles PAP og MGG farvede cytocentrifugepræparater samt ufarvede glas til eventuelle specialfarvninger. De MGG farvede glas anvendes ved differentialtællingen. Denne foregår manuelt med tælling af minimum 400 celler. Differentialtællingen kan understøtte eller indsnævre ILS diagnosen i den rette kliniske og radiologiske kontekst, men er kun sjældent diagnostisk og har ingen prognostisk værdi for patienten.

NORMALE FUND

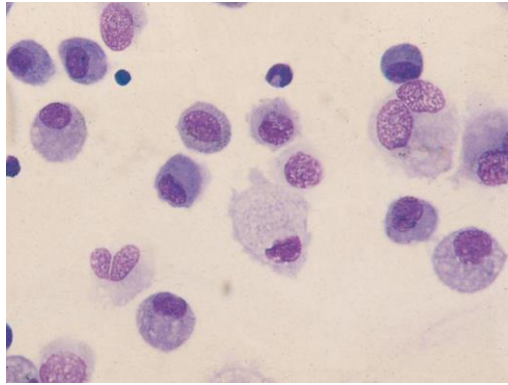
BAL- væsker indeholder normalt overvejende alveolære makrofager og pneumocytter. Pneumocytter kan cytologisk ikke identificeres i et lysmikroskop, hvorfor de i det følgende kun omtales som makrofager. Desuden ses der et varierende antal lymfocytter, neutrofile granulocytter, eosinofile granulocytter og mastceller.

Der ses 3-4 gange flere makrofager hos en ryger sammenlignet med en ikke-ryger. Makrofagerne hos en ryger har typisk fagocyteret materiale i cytoplasmaet bestående af fx tjæreprodukter (figur 28 og 29). Der kan ses mangekernede makrofager (figur 30).

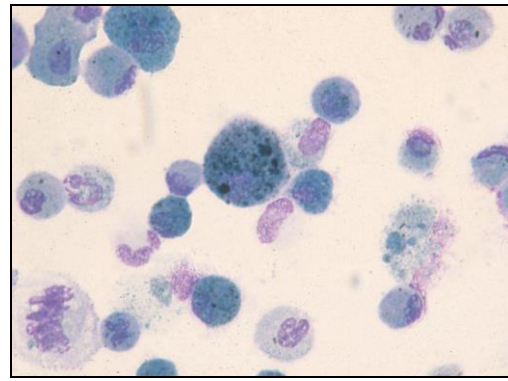
En normal celledeling udelukker ikke patologiske forandringer, men kan udelukke en række tilstande, fx aktiv sarkoidose (se tabel side 55-56) og eosinofil pneumoni.

Cellefordeling ved differentialtælling i BAL hos rask ikke-ryger

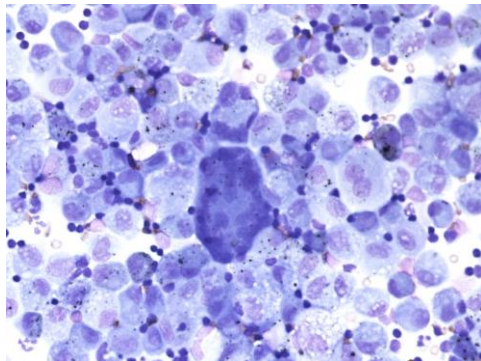
Makrofager og pneumocytter	>85 %
Lymfocytter	10-15 %
Neutrofile granulocytter	<3 %
Eosinofile granulocytter	<1 %
Epiteliale celler (tælles ikke med)	<5 %



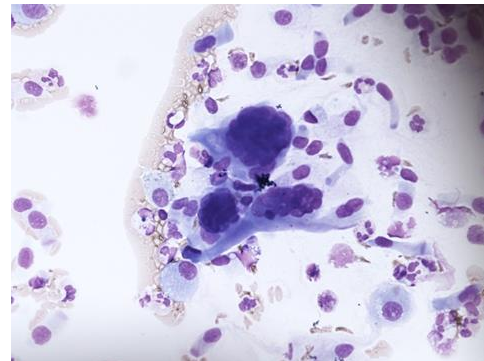
Figur 28.. BAL-væske MGG fra en rask ikke-ryger.



Figur 29. BAL-væske MGG fra en rask ryger.



Figur 30. BAL-væske MGG. Histiocytær kæmpecelle.



Figur 31. BAL MGG. Mangekernet, reaktivt cylinderepitel.

Egnekriterier ved differentieltælling

En BAL-væske er egnet til differentieltælling, hvis den indeholder vurderbare makrofager og inflammatoriske celler. Det vil sige, at prøven repræsenterer de perifere dele af lungevævet og ikke er domineret af purulent inflammation, blodtilblanding eller autolyse. BAL-væsker med indhold af en større mængde erythrocytter pga. blødning er heller ikke egnede, idet leukocytindholdet i blodet vil influere på differentieltællingen.

Det anbefales, at en BAL-væske maksimalt indeholder 5 % plade- eller cylinderepitel, der repræsenterer de mere centrale dele af lungevævet. Såfremt der er plade- eller cylinderepitelceller i materialet, tælles disse ikke med.

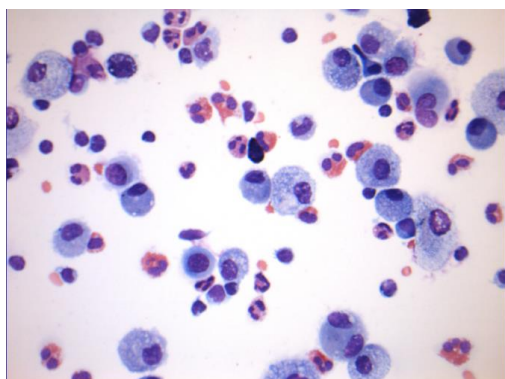
Cellefund ved interstitiel lungesygdom

I tilfælde af infektion optræder der et stort antal blodbårne inflammatoriske celler, det inflammatoriske mønster ændres og det interstitielle bindevæv fortykkes. Cytologisk kan der derfor ses et øget antal lymfocytter, neutrofile granulocytter, eosinofile granulocytter og/eller mastceller. Et cellebillede, der er domineret af enten lymfocytter, eosinofile granulocytter (figur 32) eller neutrofile granulocytter (figur 33), kan hjælpe klinikerens til at indsnævre den specifikke ILS diagnose, selvom et sådant cellebillede er uspecifikt og dermed ikke diagnostisk for en bestemt ILS sygdom.

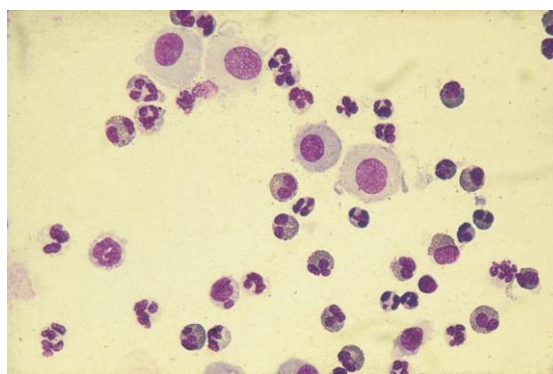
I nedenstående tabel ses de sygdomme, der er forbundet med et specifikt cellebillede. Da de kan forekomme som kliniske oplysninger, er forkortelserne også medtaget. For nøjere beskrivelse af de enkelte lungesygdomme henvises til lærebøger i patologi.

Interstitielle lungesygdomme (ILS)– specifikt cellebillede		
<i>Lymfocytært cellebillede</i> >15 % lymfocytter	<i>Eosinofilt cellebillede</i> >1 % eosinofile gr.	<i>Neutrofilt cellebillede</i> >3 % neutrofile gr.
• Allergisk alveolitis • Sarkoidose • Nonspecifik interstitiel pneumoni (NSIP) • Medikament-induceret pneumonitis • Bindevævs-sygdomme • Strålepneumoni • Cryptogenic organizing pneumoni (COP) • Lymfom/pseudo lymfom	• Eosinofil pneumoni • Medikament-induceret pneumonitis • Knoglemarvs-transplantation • Astma, bronkitis • Churg-Strauss syndrom • Allergisk bronchopulmonary aspergilliosis • Infektion: bakterier, svampe, parasitter • Hodgkins lymfom	• Idiopathic pulmonary fibrose (IPF) • Bindevævs-sygdomme • Infektion: bakterier og svampe • Aspiration af fremmedlegeme • Akut interstitiel pneumonitis (AIP) • Akut respiratorisk distress syndrome (ARDS) • Asbestose • Diffus alveolar damage (DAD) • Bronkitis

Ref: Meyer et al.ATS; AJMCCM 2012



Figur 32. BAL MGG. Eosinofilt cellebillede med talrige eosinofile granulocytter.

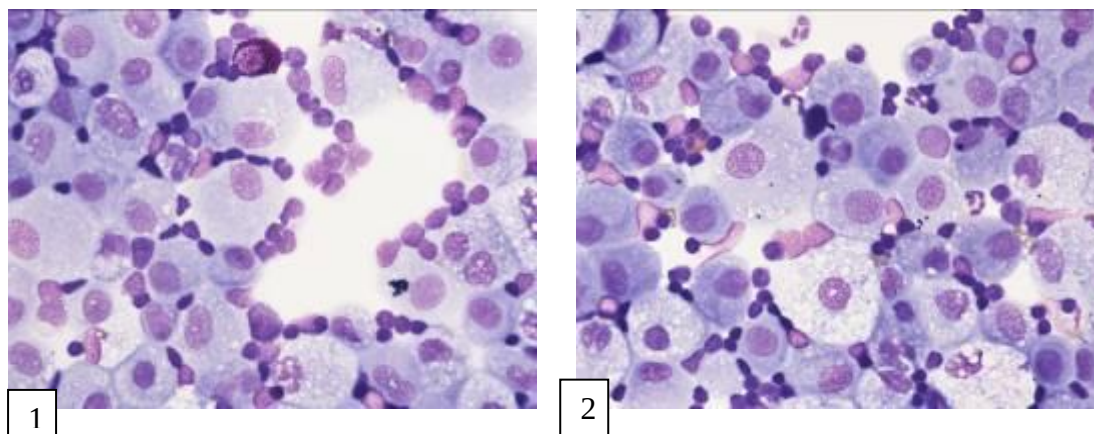


Figur 33. BAL MGG. Neutrofilt cellebillede. Patienten havde idiopathic pulmonary fibrose (IPF).

Differentialtælling

Ved differentialtælling udvælges et repræsentativt område i det MGG farvede cytospin præparat. Antallet af makrofager, lymfocytter af forskellig modningsgrad, eosinofile granulocytter, neutrofile granulocytter samt mastceller tælles. Der tælles områder, til der er talt minimum 400 celler. Det kan være vanskeligt at bestemme alle cellernes oprindelse.

Nedenfor ses et eksempel på differentialtælling i to områder af en BAL-væske med et lymfocytært cellebillede (figur 34). I tabellen ses gennemsnitsresultat af differentialtællinger foretaget af 13 cytobioanalytikere og to patologer. Tælltallet fra disse to områder varierer ikke fra besvarelsen, hvor der blev talt 446 celler.



Figur 34. MGG. To områder mrk. 1 og 2 i en BAL-væske, hvor der er foretaget differentialtælling.

Celletyper	Billede 1 n	Billede 2 n	Samlet celleandele %
Makrofager	44	44	36 %
Neutrofile	1	4-7	3 %
Eosinofile	1	1	1 %
Lymfocytter	66	76	60 %
Mastceller	1	0	0 %

Flowcytometri

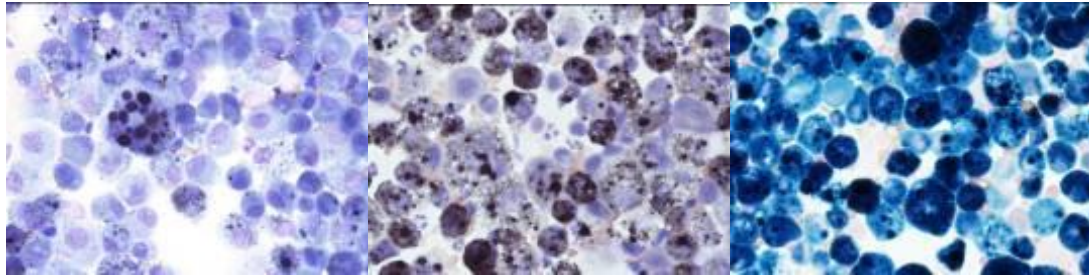
En yderligere differentiering af lymfocytær alveolitis kan foretages vha. flow cytometrisk undersøgelse med måling af CD4/CD8 ratio vha. specifikke antistoffer. Det anbefales ikke at anvende flow undersøgelsen rutinemæssigt, men den er specielt velegnet ved mistanke om sarkoidose og allergisk alveolitis.

T-lymfocytterne i de perifere væv kan deles i to store grupper, afhængig af om overflademembranen udtrykker molekylerne CD4 eller CD8. T-hjælper celler udtrykker CD4, mens T-cytotoksiske celler udtrykker CD8. CD4/CD8 ratio er normalt 2:1, mens der ved lymfocytær alveolitis kan komme forskydning i CD4/CD8 ratio (se nedenstående tabel). Fx er en ratio større end 4, hvor der ikke er forøgelse af andre inflammatoriske celletyper, specifik for sarkoidose, mens en formindsket ratio ses ved allergisk alveolitis.

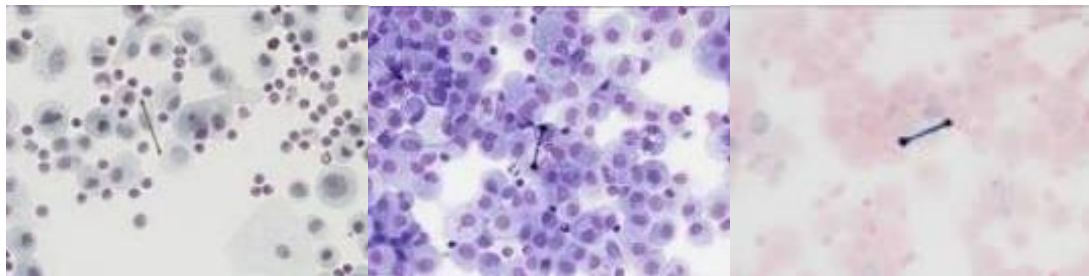
Forhøjet CD4/CD8 ratio	Normal CD4/CD8 ratio	Formindsket CD4/CD8 ratio
• Sarkoidose • Beryllose • Asbestose • Morbus Crohn • Rheumatoid arthritis	• Tuberkulose • Lymfangiose • Malignitet	• Allergisk alveolitis • Silikose • Medikament-induceret alveolitis • Brochiolitis obliterans organiseret pneumonitis (BOOP) • HIV

SPECIALFARVNINGER

Diagnosen på BAL-væsker kan kvalificeres ved brug af supplerende specialfarvninger. En jernfarvning kan bruges ved mistanke om alveolær blødning, idet det kan vurderes om fagocyteret materiale i makrofager består af hæmosiderin og dermed der er positiv (blågrøn) i en jernfarvning (figur 35). Jernfarvningen kan også bruges til farvning af asbestlegemer (ferrogene legemer). Disse ses dog også tydeligt i PAP farvningen, hvor de farves gyldenbrune eller MGG, hvor de farves sorte (figur 36).

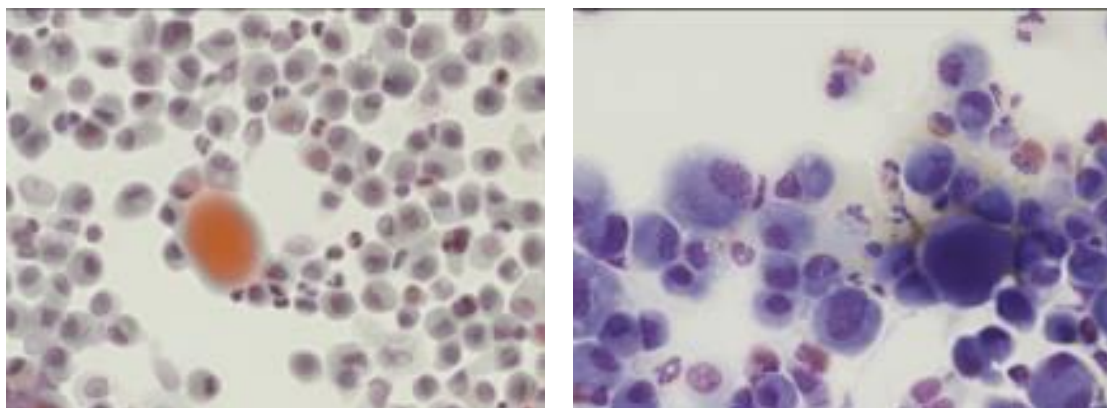


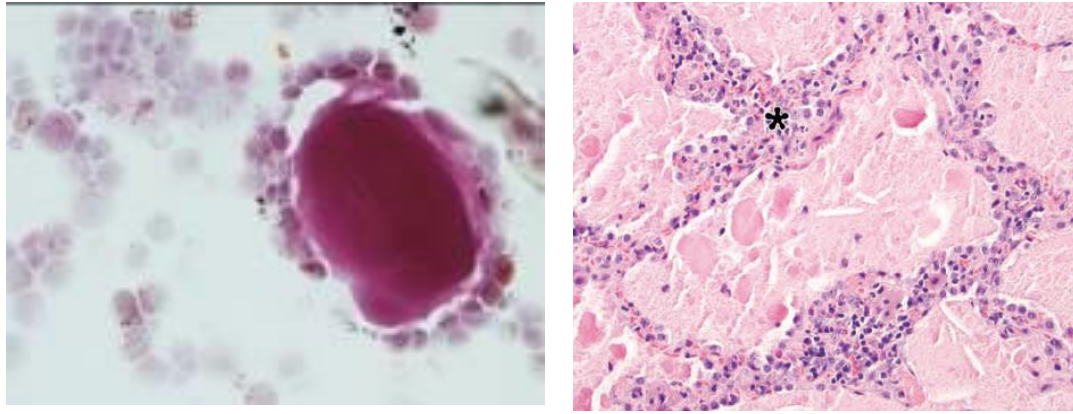
Figur 35. BAL MGG x2 og Perls Berlinerblå. Talrige makrofager med hæmosiderin, der er positivt i en jernfarvning.



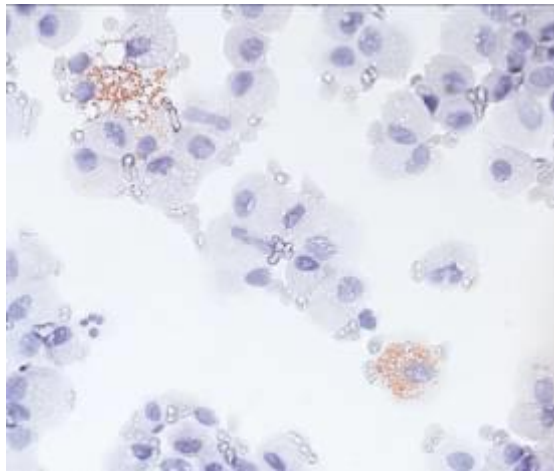
Figur 36. PAP, MGG, jern farvning (Perls Berlinerblå). Asbestlegemer i en BAL-væske.

Perjodsyre Schiff (PAS) farvningen kan bruges ved mistanke om alveolær proteinose. Der ses lipoproteinøst materiale lejet som acellulære, ovale legemer. Disse farves blå i MGG, røde i PAP og er desuden PAS positive. Alternativet til PAS farvning ved svampe eller *Pneumocystis jirovecii* er en sølvfarvning, fx Grocotts sølvfarvning (figur 25). PAS farvningen kan desuden hjælpe ved mistanke om en svampeinfektion, da svampe generelt er PAS-positive(figur 36).





Figur 36. PAP, MGG, PAS & HE. BAL og lungevæv med alveolær proteinose.



Figur 37. BAL Oil-red O. Alveolære makrofager samt enkelte makrofager med indhold af rødt farvet lipid.

I tilfælde hvor patienten har indåndet lipid, kan makrofagerne ses med lipidholdige vakuoler i cytoplasmaet. Lipid kan påvises med en Oil-red O farvning (figur 37).

Immunreaktioner kan desuden overvejes jf. flow cytometri. Ved mistanke om Histiocytosis X kan en CD1 reaktion, der er positiv i Langerhans celler, anvendes. Ved Histiocytosis X ses mere end 3 % CD1 positive Langerhans celler.

KLASSIFIKATION

HISTOLOGI

Maligne lungetumorer diagnosticeres efter WHO-klassifikationen fra 2004, der er beregnet til histologisk materiale, særligt resektater, og ikke til cytologi og små biopsier (se nedenstående tabeloversigt). Den hastige udvikling både i onkologisk og kirurgisk behandling samt diagnostik med anvendelse af molekylærbiologiske teknikker har nødvendiggjort, at især adenokarcinomer klassificeres anderledes end i gældende WHO-klassifikation. Der er derfor foreslået en ny klassifikation af adenokarcinomer til den næste version af WHO-klassifikationen.

Hos mange af patienterne (ca. 80 %) vil der kun være adgang til cytologisk eller biotisk materiale, da disse patienter er inoperable. Lungekarcinomer kan være heterogene og man bør derfor være forsigtig med definitivt at klassificere et karcinom alene på basis af cytologi eller biopsier, da materialet ikke nødvendigvis repræsenterer hele tumor.

WHO klassifikationen er baseret på hæmatoxylin-eosin farvede snit, men den integrerer også brug af histokemiske og immunkemiske farvninger. Diagnoserne kan yderligere suppleres med molekylærbiologiske undersøgelser med terapeutiske konsekvenser. De hyppigst anvendte markører for adenokarcinom er TTF-1, CK7 eller en mucinfarvning. Typiske markører for planocellulært karcinom er p40, p63 og/eller cytokeratin 5/6. De hyppigst anvendte neuroendokrine markører er CD56, chromogranin og synaptophysin. Det kan være vanskeligt eller umuligt at afgøre, om et karcinom er planocellulært, adenomatøst eller storcellet (dvs. NSCLC, NOS – not otherwise specified), hvilket kan have alvorlige terapeutiske konsekvenser for patienten.

Det er også meget vigtigt at afgøre, om karcinomet er småcellet eller indeholder en neuroendokrin komponent i forhold til de gældende behandlingsstrategier. Er der tale om metastatiske tumorceller, er det afgørende at identificere primærtumor andetsteds i kroppen.

2004 WHO-klassifikation	Små biopsier og cytologi IASLC/ATS/ERS*
Adenokarcinom	Tydelig adenokarcinom morfologi:
Blandet type	Adenokarcinom, beskriv vækstmønster inkl. det mikropapillære mønster.
Acinær	Ved rent lepidisk** vækstmønster kan invasiv vækst ikke udelukkes på små biopsier
Papillær	
Solid	
Bronkioloalveolært karcinom (ikke mucinøs)	Adenokarcinom med lepidisk vækstmønster (Ved rent lepidisk vækstmønster kan invasiv vækst ikke udelukkes)
Bronkioloalveolært karcinom (mucinøs)	Mucinøst adenokarcinom (beskriv vækstmønster)
Føtal	Adenokarcinom med føtalt mønster
Mucinøs (kolloid)	Adenokarcinom med kolloidt mønster
Signetringscelle	Adenokarcinom med signetrings morfologi (beskriv vækstmønster)
Clearcelle	Adenokarcinom med clearcelle morfologi (beskriv vækstmønster)
Ingen modsvarende i 2004 klassifikationen	Adenokarcinom morfologi ikke karakteristisk (støttet af specialfarvninger): Klassificeres som ikke-småcellet karcinom favoriserende adenokarcinom.
Planocellulært karcinom	Tydelig morfologi sv.t planocellulært karcinom:
Papillært	Klassificeres som planocellulært karcinom
Clearcelle	
Småcellet	
Basaloid	
Ingen modsvarende i 2004 klassifikationen	Karakteristisk planocellulær morfologi ikke til stede (støttet af specialfarvninger): Klassificeres som ikke-småcellet karcinom, favoriserende planocellulært karcinom.
Småcellet karcinom	Småcellet karcinom

Storcellet karcinom	Ikke-småcellet karcinom NOS
Storcellet neuroendokrin karcinom (LCNE)	Ikke-småcellet karcinom med neuroendokrin (NE) morfologi (positiv for NE markører).
Storcellet karcinom med neuroendokrin morfologi	Ikke-småcellet karcinom med neuroendokrin (NE) morfologi (negativ for NE markører), Kommentar: Dette er et ikke-småcellet karcinom mistænkt for LCNE, men specialfarvninger viste ikke NE uddifferentiering.
Adenosquamøst karcinom	Morfologi viser både en planocellulær og en adenomatøs komponent. Klassificeres som ikke-småcellet karcinom med planocellulært og adenomatøst vækstmønster. Kommentar: Nævn at dette kunne repræsentere et adenosquamøst karcinom
Ingen modsvarende i 2004 klassifikationen	Morfologi ikke karakteristisk for planocellulær eller adenomatøs komponent, men immunfarvninger tyder på både en planocellulær og en glandulær komponent. Klassificeres som ikke-småcellet karcinom (NOS) Kommentar: Nævn at dette kunne repræsentere et adenosquamøst karcinom
Sacomatoidt karcinom	Dårligt differentieret NSCLC med spindel cellekomponent og/eller kæmpecellekarcinom (nævn hvis adenokarcinomkomponent eller planocellulært karcinom er tilstede)

*IASLC: International Association for the Study of lung Cancer, ATS: American Thoracic Society, ERS: European Respiratory Society

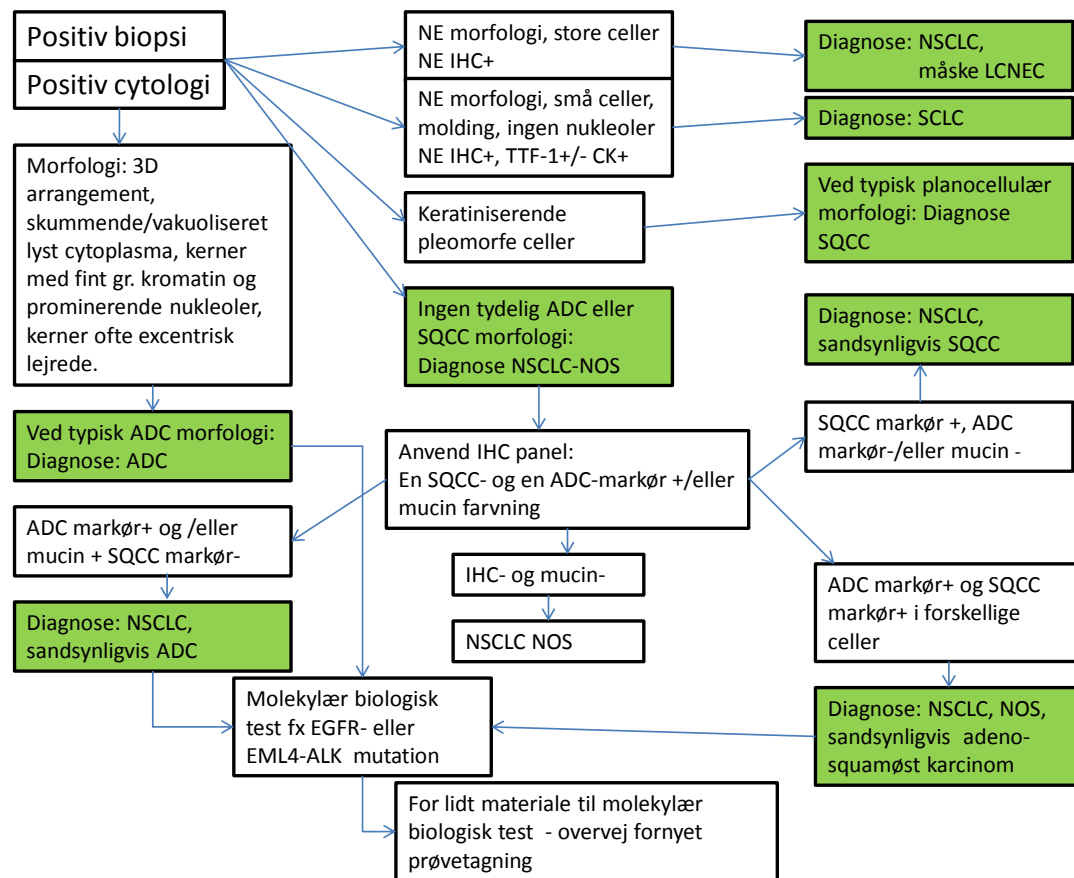
**De neoplastiske celler vokser langs eksisterende vævs-og cellestruktur (langs alveolesækkene) og uden tegn på stromal eller vaskulær invasion.

ALGORITME TIL KLASSIFIKATION AF LUNGEKANCER

Som det ses af figur 38, kan tumor klassificeres uden anvendelse af immunkemi eller mucinfarvninger, hvis cytologien (bronkieskyl, bronkiebørste eller finnålsaspirat) er positiv og morfologien er typisk for adenokarcinom eller planocellulært karcinom. Hvis der er neurokrin morfologi, kan tumor klassificeres som småcellet karcinom eller ikke-småcellet lunge karcinom, sandsynligvis storcellet neurokrint karcinom, hvis de neuroendokrine markører er immunhistokemisk positive. Hvis der ikke ses typisk adenomatøs eller planocellulær morfologi, kan tumor klassificeres som ikke-småcellet lungekarcinom NOS (not otherwise specified).

Man kan ved anvendelse af IHC panel og/eller mucin farvninger forsøge nærmere at identificere fænotypen. Hvis slimfarvninger eller adenokarcinom-markører er positive og de planocellulære markører er negative, kan tumor klassificeres som ikke-småcellet lungekarcinom, sandsynligvis adenokarcinom. Hvis de planocellulære markører er positive og adenokarcinom-markører/slimfarvninger er negative, kan tumor klassificeres som ikke-småcellet lungekarcinom, sandsynligvis planocellulært karcinom. Hvis adenokarcinom markører og planocellulære markører begge er kraftigt positive i forskellige cellepopulationer

klassificeres tumor som ikke-småcellet lungekarinom, sandsynligvis adenosquamøst karinom. Hvis alle markører er negative klassificeres tumor som ikkesmåcellet lunge karinom NOS.



Figur 38. Algoritme for diagnose på små biopsier og cytologisk materiale (Ref. Travis et al).

ADC (adenkarinom), SQCC (planocellulært karinom), NE (neurokrin), SCLC (småcellet karinom), LCNEC (storcellet neurokrint karinom), NSCLC (ikkesmåcellet lunge karinom)

CYTOLOGI

I regi af Dansk Patologiselskab (DPAS) er der udarbejdet "Retningslinjer for god standard af pato-anatomiske undersøgelser for lungecancer" og man anbefaler her, at der ved luftvejscytologi tilstræbes en rubricering i én af følgende overordnede diagnosekategorier:

- **Uegnet eller ikke sikkert repræsentativ** (ved fravær af tumorceller)

Det anføres, hvad der er årsagen til, at prøven betegnes uegnet.

- **Normale celler**

Prøve med normale celler evt. infektion.

- **Atypiske celler**

Prøve med afvigende celler af usikker diagnostisk betydning.

- **Malignitetssuspekter celler**

Prøve med malignitetsdiagnose med forbehold på grund af for få eller for dårligt bevarede Tumorceller eller med planocellulær dysplasi/CIS.

- **Maligne tumorceller**

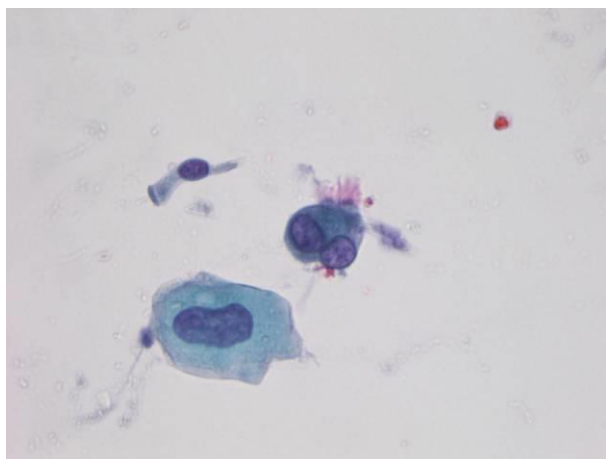
Prøve med uforbeholden malignitetsdiagnose, der så vidt muligt skal subklasificeres fx småcellet karcinom, ikke-småcellet eller andet neuroendokrint karcinom, og om muligt yderligere i planocellulært karcinom/ikke-planocellulært karcinom.

ATYPISKE OG MALIGNITETSSUSPEKTE CELLER

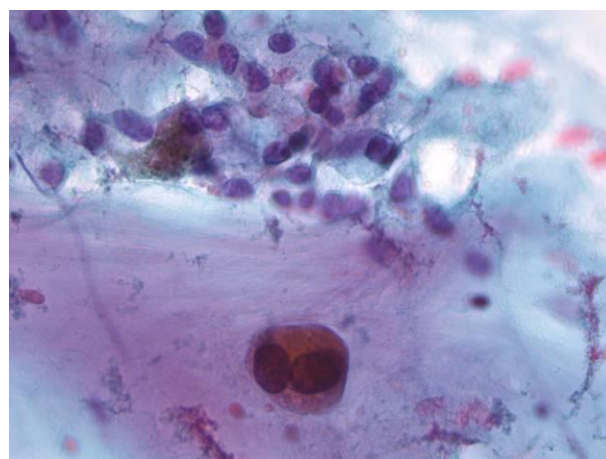
Ved diagnostik af lungecytologi både den eksfoliative cytologi og ved finnåle vil der være celler, der er afvigende, dårligt bevarede eller så sparsomt repræsenteret, at en eksakt diagnose ikke kan stilles. I sådanne tilfælde anbefaler DPAS at benævne celleforandringerne som atypiske eller malignitetssuspekter. Atypiske celler er afvigende men af usikker diagnostisk betydning (figur 39,40,42,43,45), hvorimod malignitetssuspekter celler repræsenterer forstadier eller anvendes hvor der er for få eller for dårligt bevarede maligne tumorceller (figur 41,44,46).

Som tidligere beskrevet kan epitelcellernes normale morfologi påvirkes og ændres og således resultere i degeneration, nekrose, regeneration og hyperplasi. Årsagerne til dette kan fx være infektion med forskellige mikroorganismer, rygning, strålebehandling, kemokur etc. Det er desuden vigtigt at være opmærksom på, at sampling (fx tilblanding af celler fra mundhule), fiksering og præparation af materialet kan forårsage afvigende morfologi, som kan være vanskeligt at tolke. I forbindelse med diagnosticering i sådanne tilfælde er det vigtigt med oplysninger om relevante kliniske og radiologiske fund.

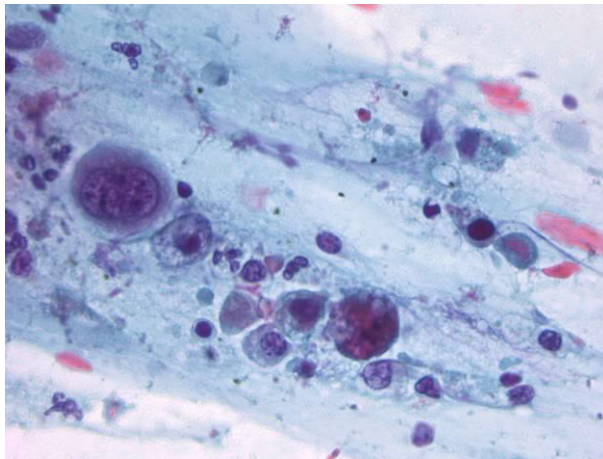
I bronkieepitelet kan ses udvikling af dysplasi og karcinom in situ i det metaplastiske pladeepitel helt på linje med, hvad man ser i cervixcytologien. Forandringerne er vanskelige at diagnosticere alene på baggrund af cytologi, og forandringerne vil derfor oftest blive klassificeret som atypiske eller malignitetssuspekter celler. Svær dysplasi og karcinom in situ kan være vanskeligt at adskille fra et planocellulært karcinom.



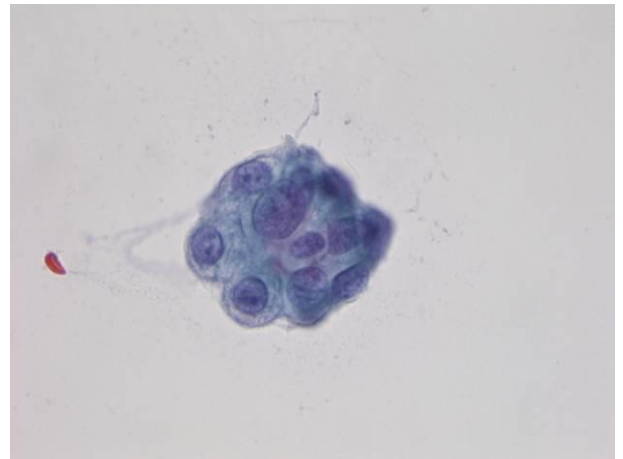
Figur 39. Skyllevæske PAP. Atypisk celle



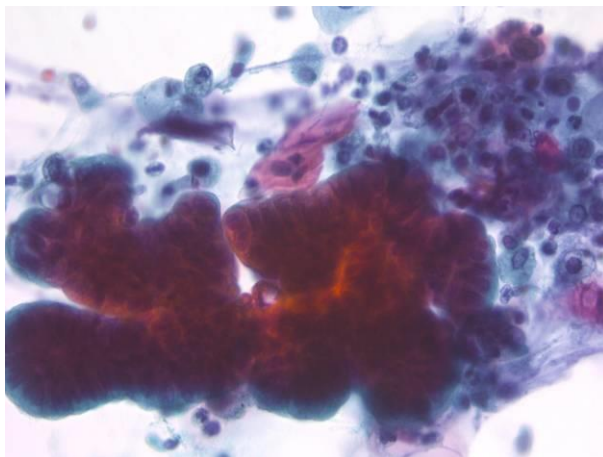
Figur 40. Børsteudstryk PAP. Atypisk celle



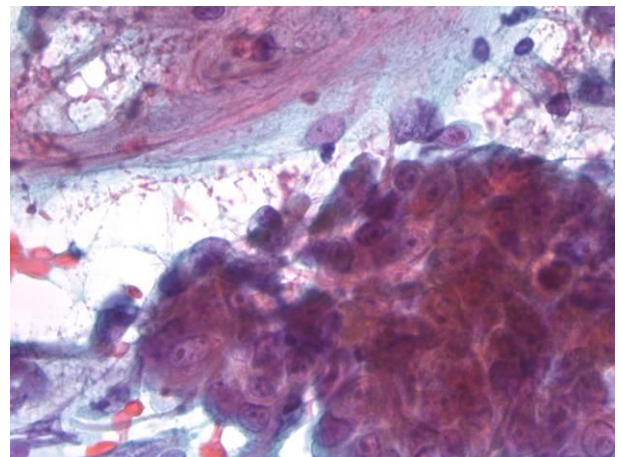
Figur 41. Børsteudstryg PAP. Dårligt bevarede, malignitetssuspekter celler på en nekrotisk baggrund.



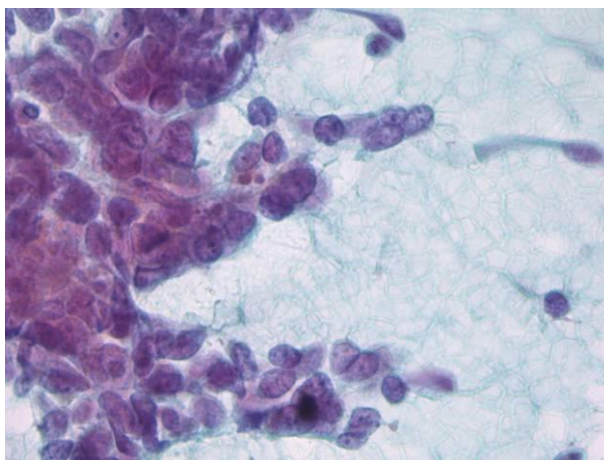
Figur 42. Skyllevæske PAP. Atypiske celler.



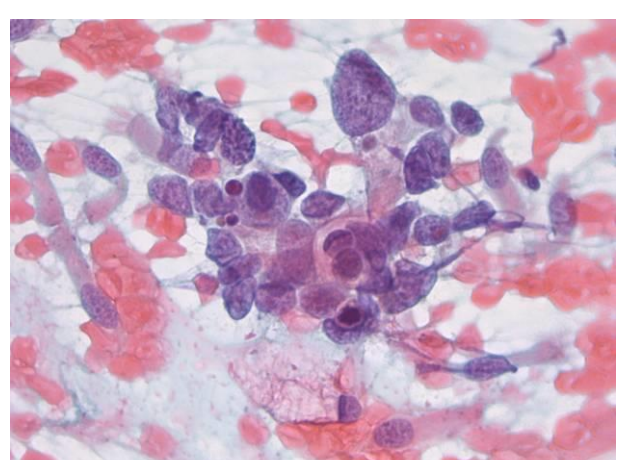
Figur 43. Børsteudstryg PAP. Atypiske hyperplastiske cylinderepitelceller.



Figur 44. Børsteudstryg PAP. Malignitetssuspekter celler (mistanke om adenokarcinom).



Figur 45. Børsteudstryg PAP. Atypiske reserveceller med tendens til molding.



Figur 46. Børsteudstryg PAP. Malignitetssuspekter celler (mistanke om småcellet karcinom).

PRIMÆR LUNGEKANCER I EKSFOLIATIV CYTOLOGI

Den eksfoliative lungecytologi omfatter bronkialsekret, bronkials skyllevæske, bronkiebørstecytologi, BAL-væsker, trakealsekreter og ekspektorater. De maligne cellers morfologi kan variere afhængig af prøvematerialet/prøvetagningsteknik. Den nedenstående beskrivelse af de maligne forandringer er baseret på bronkialsekreter/bronkials skyllevæsker og børstecytologi.

Formålet med bronkialsekreter/skyllevæsker og børstecytologi er at finde og klassificere lungetumorer med hovedvægt på maligne forandringer. Materialerne egner sig ikke til screening for lungecancer.

Ved diagnostik af lungecancer anvendes de generelle cytologiske malignitetskriterier (se nedestående tabel). De maligne celler er større, har en højere K/C ratio end de benigne celler. Herudover kan der ses pleomorfi og kerneforandringer i form af uregelmæssig kernemembran med markerede kanter, hyperkromasi og groft granulært, uens fordelt kromatinstruktur. I eksfoliativ cytologi er fund af mitoser sjældent i benigne celler, hvorimod det oftere ses ved malignitet. Cilierede celler anses altid for at være benigne.

Generelle malignitetskriterier
• Cellepleomorfi • Forhøjet K/C ratio • Kernepleomorfi • Groft granuleret kromatin • Ujævnt fordelt kromatin med clearing • Hyperkromasi • Uregelmæssig kernemembran med markerede kanter • Mange mitoser, evt. abnorme • Apptoser • Tumordiatose

I det følgende vil de hyppigste lungecancer blive beskrevet som rene tumorformer, selvom de fleste lungecancer er blandingstumor. De anvendte billeder i dette afsnit repræsenterer overvejende PAP- og HE-farvede eksempler. I kapitlet om finnålsaspiration er derimod overvejende brugt MGG-farvede billeder af de samme forandringer.

ADENOKARCINOM

Incidensen af adenokarcinomer har været stigende og er nu den hyppigste form for primær lungecancer og den hyppigste form for lungecancer hos ikke-rygere. Adenokarcinom er dog formentlig associeret med rygning, men i mindre grad end planocellulært karcinom og småcellet karcinom.



Figur 47. Formalinfikseret udsnit af lungevæv med perifert beliggende lungetumor.

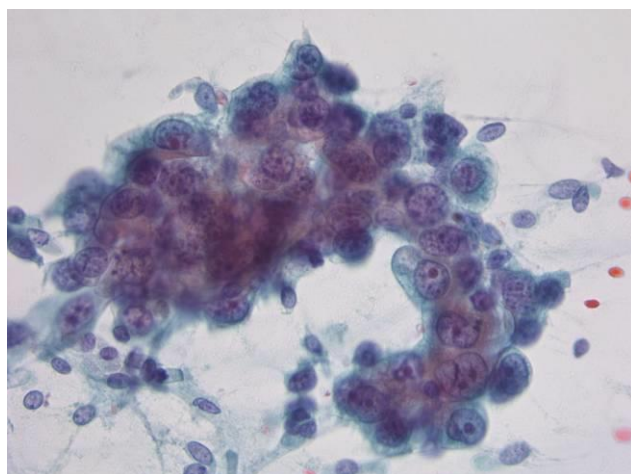
Adenokarcinomer er hyppigst beliggende perifert i lungen (figur 47).

Celler fra et adenokarcinom ses hyppigt lejret i tredimensionelle grupper, som kan være papillære, tubulære, acinære eller cellebolde (figur 50, 51 og 55). I grupperne ses crowding med kerneoverlapping. De maligne celler kan være enkeltliggende, dog især i de lavt differentierede tumorer. Grupperne er typisk størst i børstebiopsier. Antallet af adenokarcinomceller kan variere afhængig af tumorstørrelse eller om den er beliggende meget perifert eller mere centralt. Kernerne er forstørrede og der ses forhøjet K/C ratio (figur 54). Kromatinstrukturen kan variere fra fint til groft granulær, men fremtræder generelt finere granuleret end det ses ved planocellulær

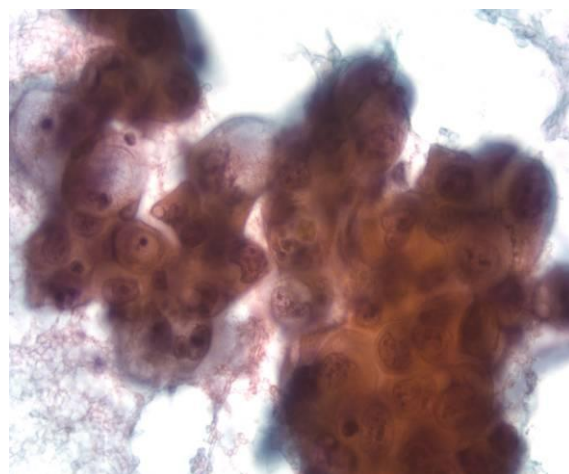
karcinom og småcellet karcinom. Der ses ofte nukleoler. Det kan være en enkelt stor, centralt placeret nukleole i en kerne med et forholdsvis fint granulær kromatinstruktur (figur 48) eller der kan være multiple nukleoler (figur 50). Kernemembranen kan være uregelmæssig.

Cytoplasmaet er oftest basofilt og kan være homogent eller fint vakuoliseret evt. med større vakuoler (figur 49). Hvis cellerne udtørres før fiksering, bliver cytoplasmaet mere eosinofilt (figur 53). Cytoplasmaet er oftest udflydende og der ses ikke så tydelige cellegrænser, som ved de planocellulære karcinomer (figur 48).

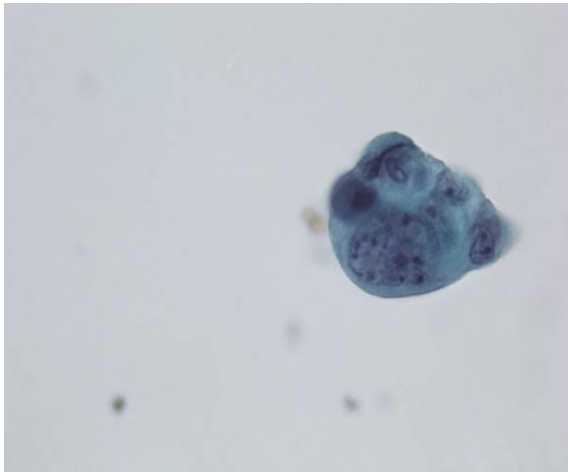
Drejer det sig om mere lavt differentieret adenokarcinom, er kernerne mere hyperkromatiske og med en grovere granulær kromatinstruktur, uregelmæssige kernemembraner og højere grad af cellulær pleomorfi og kan være vanskeligt cytomorfolgisk at adskille fra et storcellet eller et ikke-keratiniserende, planocellulært karcinom (figur 52).



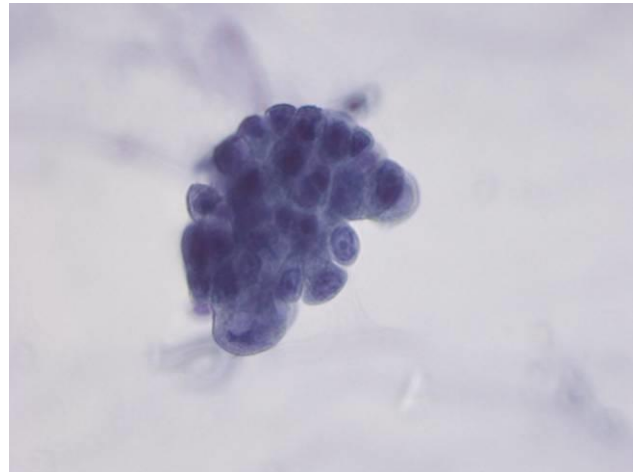
Figur 48. Børsteudstryg PAP. Adenokarcinom. Bemærk de tydelige nukleoler og de utydelige cellegrænser.



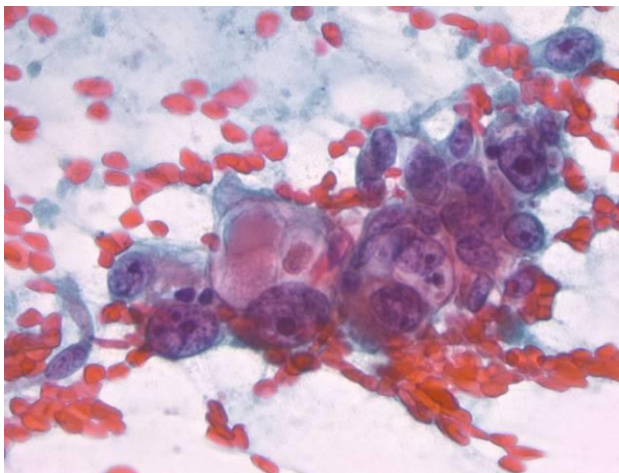
Figur 49. Børsteudstryg PAP. Adenokarcinom. Bemærk de tydelige nukleoler og vakuoler i cytoplasmaet.



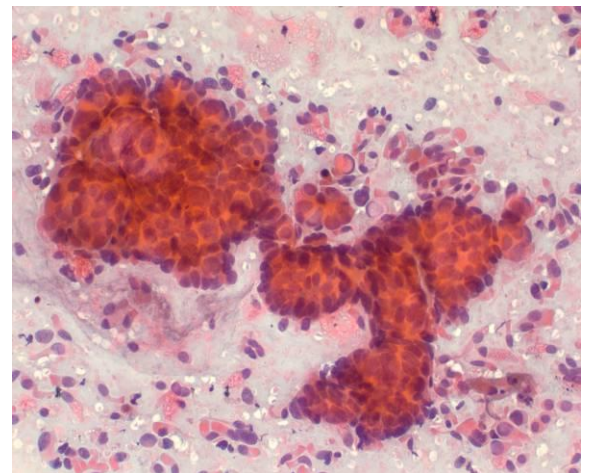
Figur 50. Bronkieskyl PAP. Lille acinær gruppe af adenokarcinomceller.



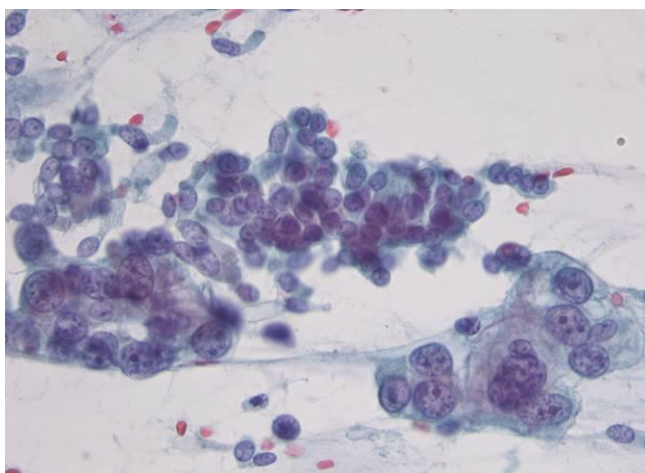
Figur 51. Bronkieskyl PAP. Tredimensionel gruppe af adenokarcinomceller.



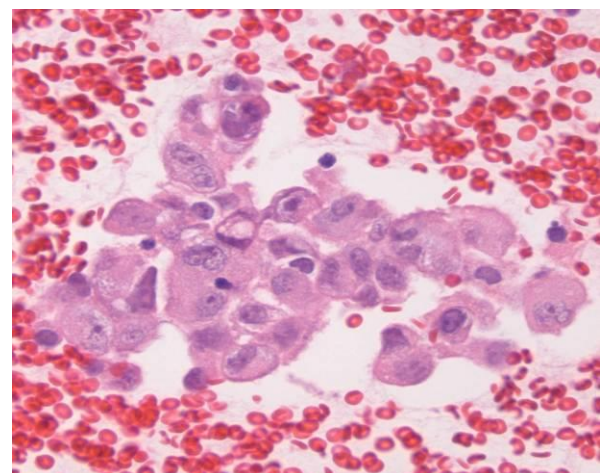
Figur 52. Børsteudstryg PAP. Lavt differentieret adenokarcinom.



Figur 53. Børsteudstryg PAP. Adenokarcinom. Det rødfarvede cytoplasma kan skyldes, at cellerne var udtørrede før fikseringen.



Figur 54. Børsteudstryg PAP: Adenokarcinom



Figur 55. Celleblok HE. Adenokarcinom.

Cytomorfologiske træk ved adenokarcinom

- Tredimensionelle, crowdede grupper (oftest større i børstebiopsier)
- Papillær – og/eller acinær lejrning
- Forhøjet K/C ratio
- Uregelmæssig kernemembran
- Fint granulær kromatinstruktur
- Nukleoler evt. makronukleoler
- Blåligt, vakuoliseret cytoplasma
- Utydelige cellegrænser
- Ingen cilier

Differentialdiagnoser til adenokarcinom

Hyperplastiske bronkiale cylinderepitelceller (creola bodies) (figur 26) kan være en differentialdiagnose til adenokarcinomer, men fund af cilier kan være en hjælp til denne differentialdiagnose. Reaktive pneumocyter, som det kan ses fx ved pneumoni (figur 27), kan være vanskelige at adskille fra adenokarcinomer, men her kan gode kliniske oplysninger hjælpe til med at undgå falsk positive diagnoser. Generelt er reaktive cellers kerner mere ensartede både i størrelse og form. De har oftest mere regelmæssige kernemembraner, fint til grovere granulær jævnt fordelt kromatinstruktur og tydelige nukleoler.

Ses der en glidende overgang fra normale celler til atypiske celler, tyder det på, at det er benigne celler, mens en mere homogen population af abnorme celler tyder på adenokarcinom (se nedenstående tabel).

Forskelle mellem benigne reaktive forandringer og adenokarcinom

<i>Benigne reaktive celler</i>	<i>Adenokarcinom</i>
• Kliniske oplysninger om tidligere akut eller kronisk lungesygdom • Degenererede celler • Færre atypiske celler • Få enkeltliggende celler • Let kerneforstørrelse • K/C ratio bibeholdt • Regelmæssig kernemembran • Regelmæssige nukleoler • Fint til groft granulært, jævnt fordelt kromatin • Cilier eller terminal plade	• Ingen oplysninger om tidligere lungesygdomme • Velbevarede celler • Ensartet population af atypiske celler • Flere enkeltliggende celler • Mere udtalt kerneforstørrelse • Forhøjet K/C ratio • Uregelmæssig kernemembran • Uregelmæssige makronukleoler • Uregelmæssig fordelt kromatin • Ingen cilier

PLANOCELLULÆRT KARCINOM



Figur 56. Formalinfikseret lungevæv med centralt beliggende lungetumor.

Planocellulært karcinom opstår oftest centralt (figur 56). Karcinomerne kan variere fra højt differentierede (keratiniserende) til lavt differentierede (ikke-keratiniserende).

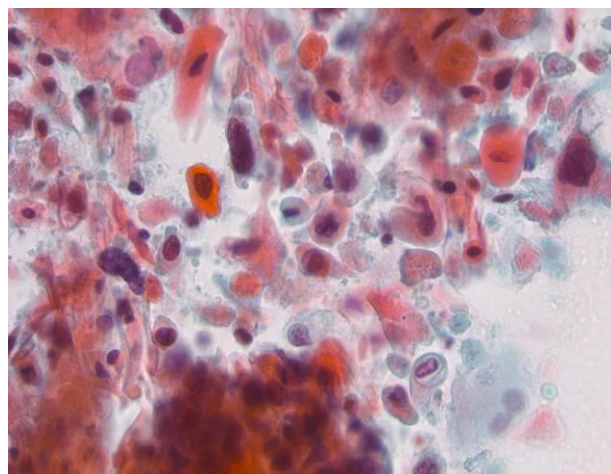
Det planocellulære karcinom er den eneste type af lungecancer, hvor man histologisk kan dokumentere en præmalign forandring i form af dysplasi og karcinom in situ. De intraepiteliale forandringer er dog vanskelige at klassificere cytologisk.

Keratiniserende, planocellulært karcinom

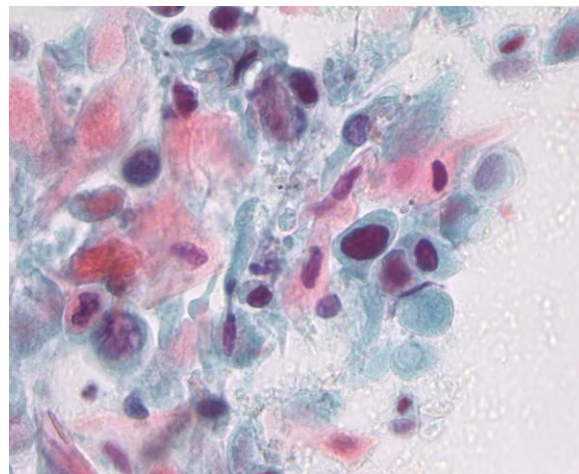
Det keratiniserende, planocellulære karcinom er karakteriseret ved udtalt cellulær pleomorfi. Den cellulære pleomorfi kommer til udtryk ved enkeltliggende, bizarre celler i form af langstrakte, spindle formede, haletudseformede eller store, runde celler med forstørrede, pyknotiske kerner (figur 59). Kernerne er også pleomorfe. Kromatinstrukturen kan variere fra hyperkromatisk, groft granulært, uens fordelt til homogene, forstørrede, pyknotiske kerner. De maligne celler kan også danne epitelperler, hvilket histologisk er diagnostisk for et keratiniserende, planocellulært karcinom (figur 60).

Det keratiniserende cytoplasma fremtræder i PAP-farvningen fra pink til orangeofilt. Cellerne har varierende mængde cytoplasma fra sparsomt til rigeligt (figur 59). Der er tydelige cellegrænser. Der kan ses pleomorfe, anukleære pladeepitelceller (figur 58).

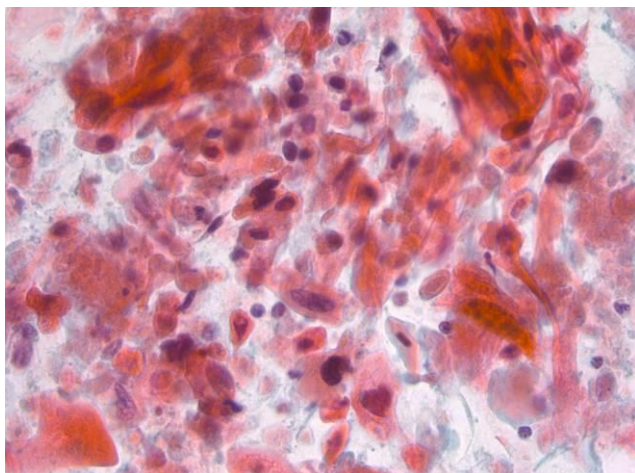
I børstecytologi ses typisk større grupper af maligne celler og kernerne har en mere åben kromatinstruktur end i skyllevæsker og nukleoler kan ses (se nedenstående tabel). Der kan ses tumordiatese med degenererede, pleomorfe, keratiniserende celler (figur 57 og 58).



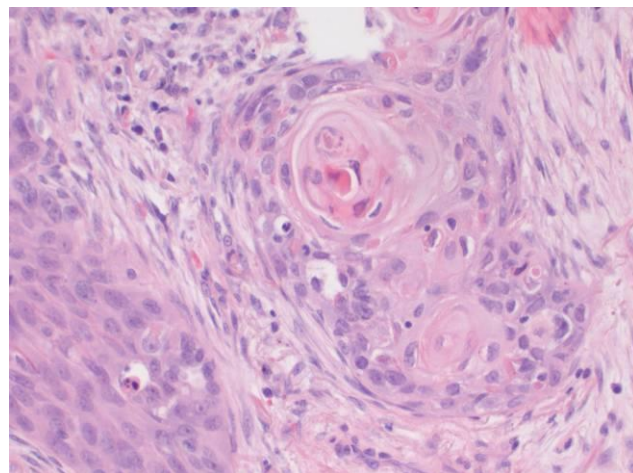
Figur 57. Børste PAP. Keratiniserende, planocellulært karcinom. Bemærk cellulær pleomorfi og tumordiatese.



Figur 58. Børste PAP. Tumordiatese i forbindelse med et planocellulært karcinom.



Figur 59. Børste PAP. Keratiniserende, planocellulært karcinom.



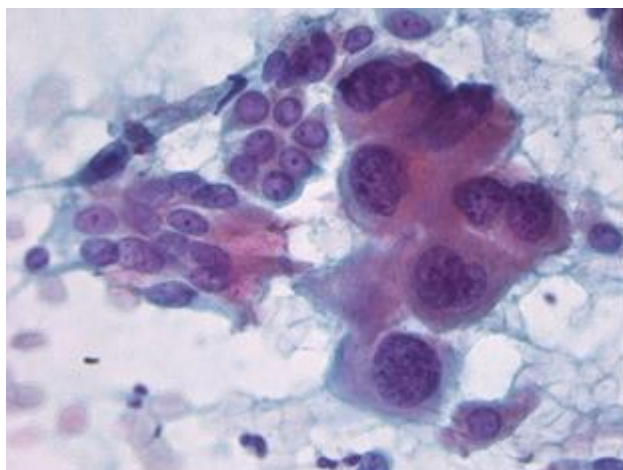
Figur 60. Celleblok HE. Lungevæv med keratiniserende planocellulært karcinom og epitelperler.

Keratiniserende planocellulært karcinom	
<i>Skyllevæske</i>	<i>Børstecytologi</i>
• Abnorm K/C ratio • Pyknotiske kerner • Epitelperler • Få grupper • Sjældent nukleoler	• Abnorm K/C ratio • Sjældent pyknose • Hyperkromasi • Groft granulært, uens fordelt kromatinstruktur • Få enkeltliggende celler • Mange grupper, evt. i sheets • Nukleoler kan ses • Tumordiatese kan ses

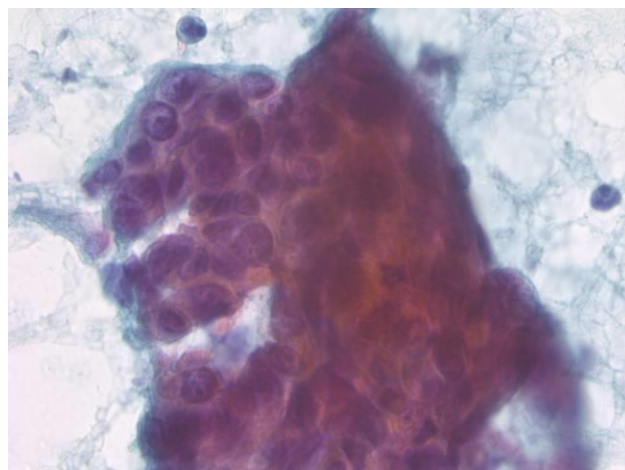
Ikke-keratiniserende planocellulært karcinom

Det ikke-keratiniserende karcinom indeholder mindre keratin end det keratiniserende. Der er mindre pleomorfi af cellerne og der ses ikke epitelperler (se nedenstående tabel). Cellerne hænger bedre sammen og grupper ses derfor oftere end ved det keratiniserende karcinom. Cellerne kan være lejret i sheets, men der ses oftest syncytier med en rodet lejring af kernerne (figur 62). Cytoplasmaet er velafgrænset. Der ses hyppigere enkeltlejrede karcinomceller i skyllevæsker end i børstecytologi.

De maligne celler varierer i størrelse fra små til store, og kan derfor imitere både et småcellet karcinom og et adenokarcinom. Kernerne er hyperkromatiske med groft granuleret kromatin, der er uregelmæssig fordelt (figur 61). Der ses sjældent pyknotiske kerner. En eller flere prominente nukleoler kan ses, men de er dog ikke så hyppige som ved adenokarcinom (figur 52). Der ses oftest tumordiatese.



Figur 61. Børste PAP. Lavt differentieret planocellulært karcinom. Bemærk de størrelsesvarierende kerner med groft granuleret kromatinstruktur og tydelige nukleoler.



Figur 62. Børste PAP. Ikke keratiniserende planocellulært karcinom. Syncytium af karcinomceller med groft granuleret kromatinstruktur og nukleoler i nogle af kernerne.

Ikke-keratiniserende, planocellulært karcinom
--

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Forhøjet K/C ratio • Hyperkromatiske kerner • Groft granulært og ujævnt fordelt kromatin • Sjælden pyknotiske kerner • Blåligt, velafgrænset cytoplasma • Cellegrupper • Nukleoler evt. multiple kan ses • Tumordiatese |
|--|

Differentialdiagnoser til planocellulært karcinom

Højt differentieret, keratiniserende planocellulært karcinom opstår hyppigere i hoved- hals regionen end i lungerne. Det er dog ikke muligt cytologisk at adskille et metastatisk planocellulært karcinom fra et primært planocellulært karcinom i lungerne.

Pneumoni, svampeinfektioner, tuberkulose og tracheostomi er eksempler på årsager til reaktive forandringer, der kan være differentialdiagnoser til planocellulært karcinom. Ved irritative tilstande kan der ses parakeratose både i bronkieepitelet og i mundslimhinden. Parakeratose kan blive atypiske med let kerneforstørrelse og pleomorfi og kan derfor være vanskeligt at adskille fra højt differentieret, keratiniserende, planocellulært karcinom, dog vil kernerne typisk være mindre abnorme.

NEUROENDOKRINE TUMORER

Karcinoid og atypisk karcinoid

Denne tumor opstår typisk i de større bronkiegrene og udvikles sandsynligvis også fra Kulchitsky cellerne. Karcinoid kan opstå i alle aldersgrupper og den er en godartet hormonproducerende tumor, der sjældent metastaserer. Tumorcellerne ses ofte under et intakt

cylinderepitel, hvorfor de bedst kan ses i børstecytologi og finnålsaspirater, men sjældent i skyllevæsker.

Tumorcellerne ses i grupper, sheets, balls, pseudorosetter eller enkeltvis (figur 63). Ved det typiske karcinoid er tumorcellerne små, ensartede, med regelmæssige kernemembraner og der ses meget begrænset moulding. Kromatinstrukturen er groft granuleret og der kan være små nukleoler (figur 66). I nogle tilfælde kan der i udstrygningerne ses karstrukturer med omgivende tumorceller (figur 65). Der ses ikke tumordiatese.

Ved det atypiske karcinoid ses der et øget mitoseantal og fokal tumordiatese, men cellebilledet ligner mere det småcellede karcinom end det klassiske karcinoid (figur 64). Spindle cell karcinoid ligner det typiske karcinoid, bortset fra at cellerne er langstrakte og kernerne kan have let uregelmæssige kernemembraner. Spindle cell karcinoid opstår i modsætning til det typiske karcinoid ofte mere perifert i lungen.

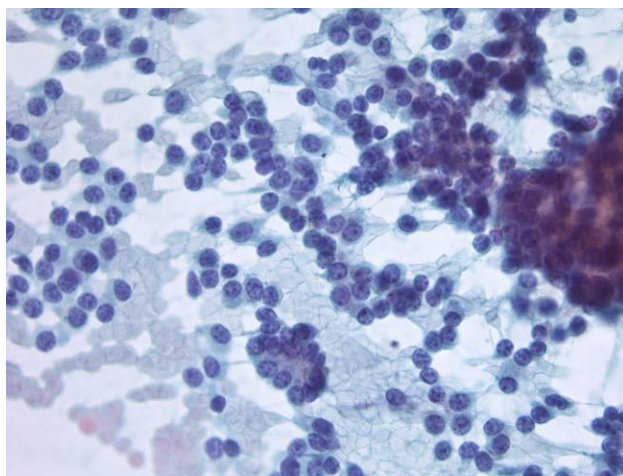
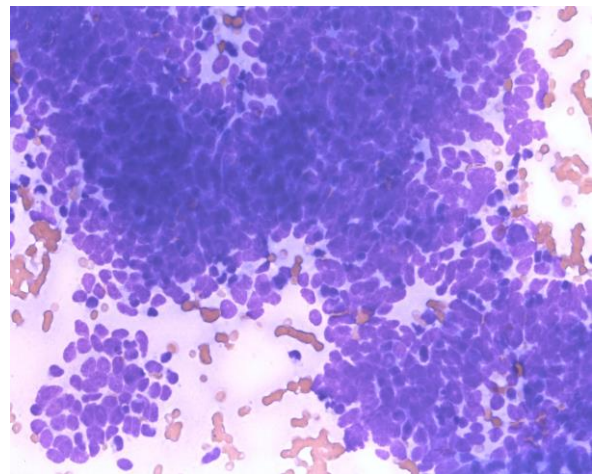
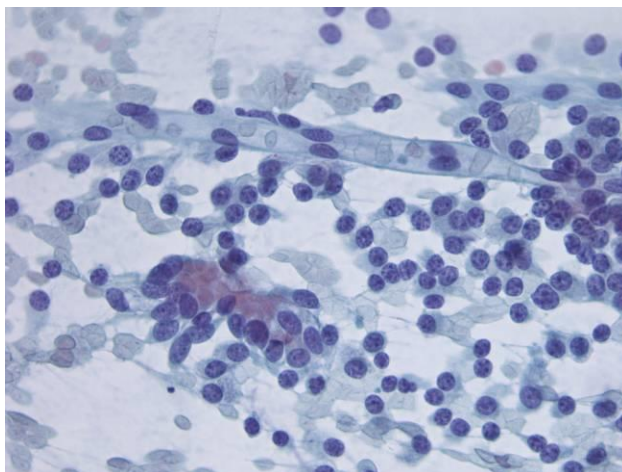


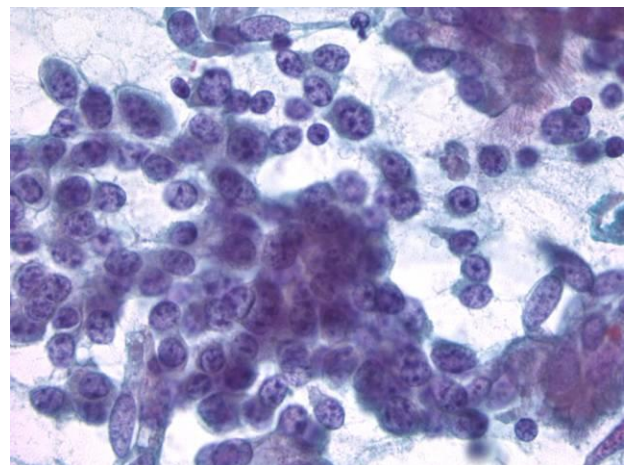
Fig 63. Børsteudstryg PAP. med celler fra en karcinoid tumor. Enkeltliggende og grupper af tumorceller i pseudorosetter.



Figur 64. Børste MGG. Relativt små celler med sparsomt cytoplasma. Tendens til moulding. Ingen nekrose. Ektopipræparat viser atypisk karcinoid tumor.



Figur 65. Børsteudstryg PAP. Enkeltliggende små ensartede celler med begrænset moulding. Karcinoid tumor. Bemærk karstruktur og de normale cylinderepitelceller.



Figur 66. Børsteudstryg PAP. Karcinoid tumor. Grupper af tumorcelle med grovere granulær kromatinstruktur og nukleoler.

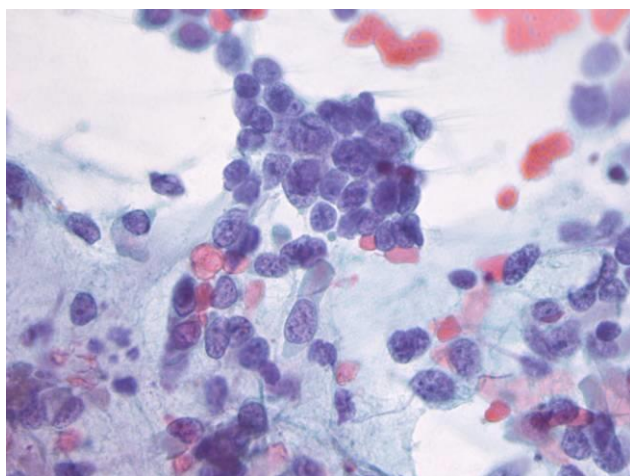
Småcellet karcinom (SCLC)

Småcellet karcinom er den mest aggressive type af lungekarcinomerne og den har oftest spredt sig på diagnosetidspunktet. Operation er derfor sjældent en mulighed ved denne form for lungecancer. Tumoren har oftest sit udgangspunkt i de større bronkiegrene. Man mener, at tumor opstår i Kulchitsky cellerne og producerer polypeptidhormon, som man b.l.a. kan påvises med immuncyto- eller -histokemi.

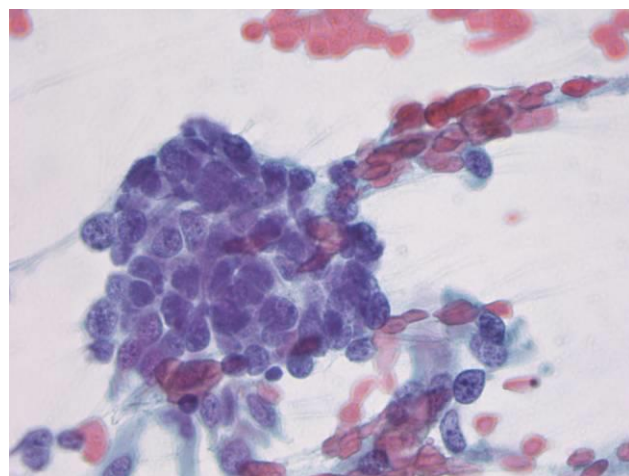
Cellerne er små og er oftest kun 1-4 x størrelsen på en lymfocyt. I væskebaseret cytologi er celler særdeles små og kan have synlige nukleoler. De har en høj K/C ratio og meget sparsomt cytoplasma. De kan lejre sig enkeltvis, få celler sammen eller i større grupper (figur 67 og 68). Når cellerne ses i grupper, ses kernerne at tage form efter hinanden. Det kaldes moulding og er et vigtig diagnostisk kriterium (figur 69 og 72). Kromatinstrukturen varierer fra fint granulært til det typiske mere groft granulære. Der ses sjældent nukleoler. Cellerne er meget fragile, og der kan derfor ses crush-artefakt, som er kvæstet, hårlignende tråde af kernemateriale (figur 71). Der kan ses mitoser og apoptoser (figur 70). Der ses ofte lokal tumordiatese (se nedenstående tabel).

Småcellet karcinom

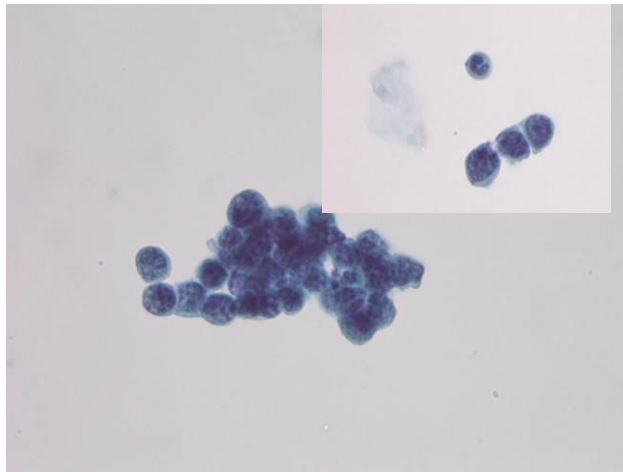
- Varierende størrelse 1-4 x størrelsen på en lymfocyt
- Hyperkromatiske kerner
- Fint til groft granuleret kromatinstruktur
- Ingen nukleoler
- Sparsomt cytoplasma
- Kernemoulding
- Crush artefact
- Enkeltliggende celler, små og store grupper (især i børstecytologi)
- Fokal tumordiatese



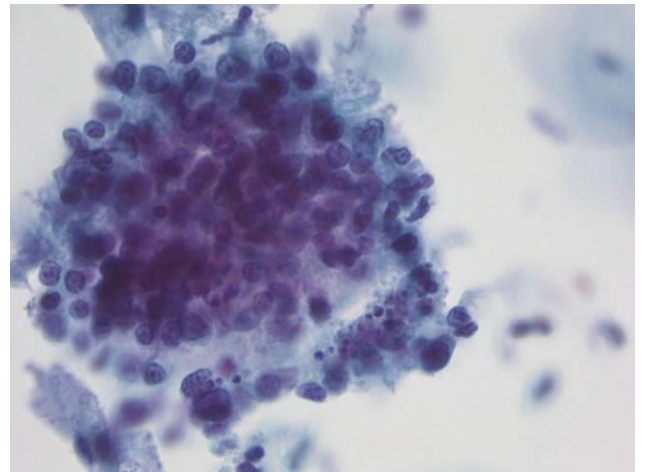
Figur 67. børsteudstryg PAP. Småcellet karcinom. Der ses karakteristisk kernemoulding og hyperkromatiske kerner.



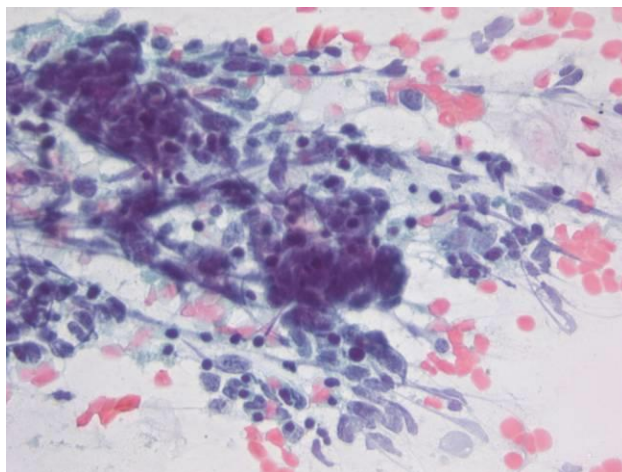
Figur 68. Børsteudstryg PAP. Syncytium af maligne tumorceller fra et småcellet karcinom.



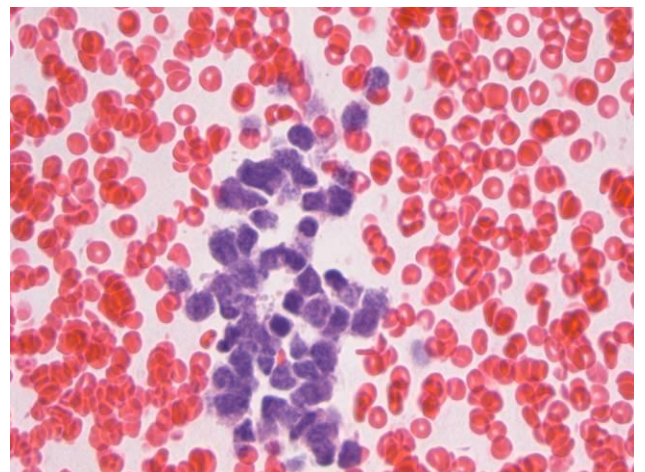
Figur 69. Skyllevæske PAP. Celler fra et måcellet karcinom med kernemoulding, grov kromatinstruktur og høj K/C ratio.



Figur 70. Skyllevæske PAP. SCLC. Bemærk de blå granula, som er apoptotiske legemer.



Figur 71. Børsteudstryg PAP. SCLC. Her ses crush artefact, som er hårlignede kernetråde.



Figur 72. Celleblok HE. SCLC. Bemærk tydelig moulding.

Differentialdiagnoser til SCLC

Reservecellehyperplasi er en differentialdiagnose til småcellet karcinom, men reserveceller er mere ensartede og har en regelmæssig kernemembran og hænger godt sammen i modsætning til celler fra et småcellede karcinom. Reservecellehyperplasi ses ofte sammen med normale cilierede cylinderepitelceller og der er ingen tumordiatese.

Lavt differentieret, planocellulært karcinom og lavt differentieret adenokarcinom samt småcellede, metastatiske karcinomer kan være differentialdiagnoser, men ved det småcellede karcinom ses typisk mere udtalt moulding og crush artefakter.

Kacinoider, især det atypiske karcinoid, kan være vanskeligt at adskille fra det småcellede karcinom cytomorfologisk, men ved det småcellede karcinom er cellerne mere pleomorfe, med udtalt moulding og der kan ses fokal tumordiatese.

	NSCLC		SCLC
	Plano	Adeno	
Lejring	Enkeltvis 3D flager	3D flager	Enkeltvis Løse flager
Celleform	Varierende	Cylindrisk	Rund
Cytoplasma	Velfrænsat, Rigeligt, evt. keratiniserende	Vakuoliseret	Særdeles sparsomt
Kerne	Central, Bizar form Hyperkromatisk Evt. nukleoler	Eccentrisk Oval form Grov kromatin- fordeling Centrale makro- nukleoler	Moulding Hyperkromasi Ikke synlige nukleoler
Baggrund	Massiv tumordiatese	Blodig baggrund	Lokal tumordiatese

STORCELLET KARCINOM

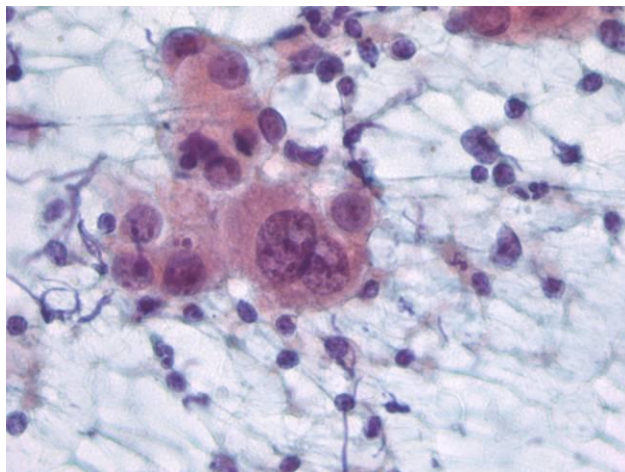
Storcellet karcinom er et ikke-småcellet karcinom, hvor det ikke er muligt morfologisk at klassificere tumor som enten adenokarcinom eller planocellulært karcinom. Er der mulighed for at anvende immuno- eller cytokeratin, kan de fleste tumorer klassificeres nærmere.

Det storcellede karcinom består af morfologisk udifferentierede celler. De kan være ensartede, men er ofte pleomorfe. Cellerne ses enkeltlejlighedsvis eller i syncytielle grupper. Det ofte rigelige cytoplasma kan være basofil, amfofil til mere eosinofilt varierende fra lyst gennemskinnelig til mere tæt eller granulært. Der ses ingen keratinisering eller mucinholdige vakuoler. Kernerne opfylder flere malignitetskriterier. De er store, pleomorfe med uregelmæssige kernemembraner. Kromatinet varierer fra fint til groft granulært og er uregelmæssigt fordelt. Der ses prominente evt. multiple nukleoler og ofte tumordiatese (figur 73 og 74).

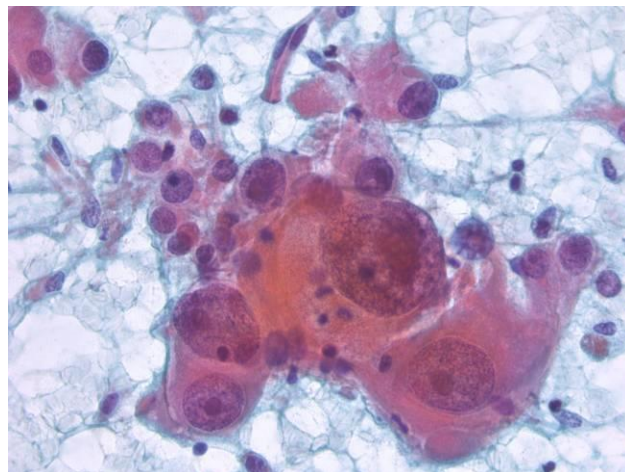
Det storcellede, neuroendokrine karcinom (Large-Cell NeuroEndocrin Carcinoma of the lung -LCNEC) er en subtype af det storcellede karcinom, hvor den immunhistokemiske fænotype indikerer neuroendokrin uddifferentiering. For at kunne klassificere tumor som storcellet,

neuroendokrin tumor kræves immunhistokemisk/cytokemisk påvisning af mindst én neuroendokrin markør fx synaptofysin eller chromogranin.

Cellerne er mindre, der kan være tendens til moulding, høj K/C ratio og kromatinet kan være fra fint til groft granuleret. Cellerne kan dog også være mere pleomorfe og med prominente nukleoler.



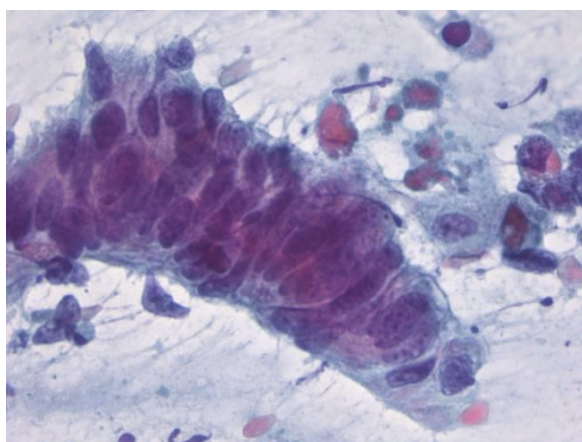
Figur 73. Børsteudstryg PAP. Maligne tumorceller fra et storcellet karcinom.



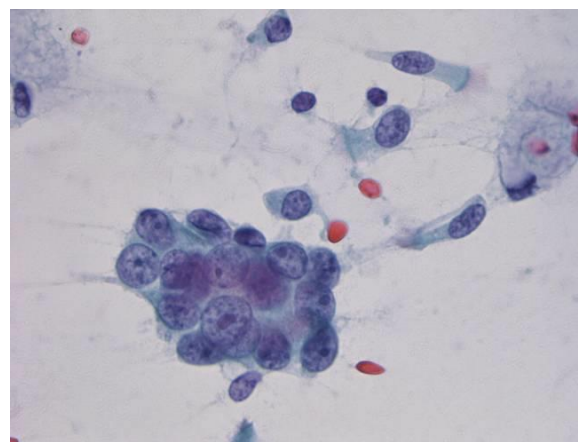
Figur 74. Børsteudstryg PAP. Maligne tumorceller med størrelsesvarierende kerner og makronukleoler fra et storcellet karcinom

METASTASER

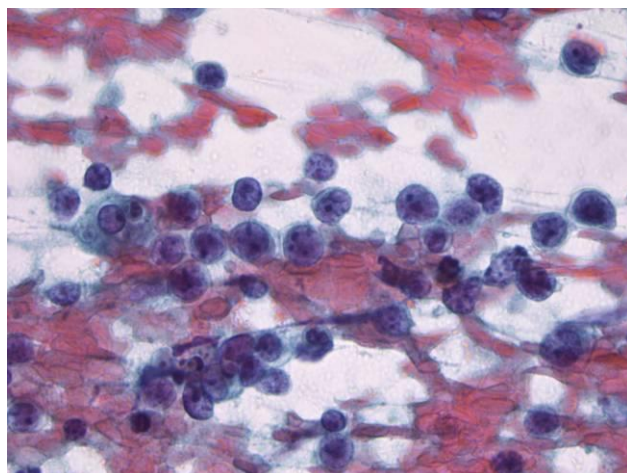
Metastatiske tumorer er hyppigere i luftvejene end primære lungekarcinomer. Blandt de hyppigste sekundære tumorer hører karcinom i mave-tarmkanalen (figur 75), mammacancer (figur 76), urinvejscancer (figur 78) samt lymfom/leukæmi (figur 77). Eksfoliativ lungecytologi er ikke velegnet til at diagnosticere metastatiske tumorer. Nogle tumorer, fx fra colon og mamma, kan metastasere endobronkialt og imiterer primær lungecancer. Man bør være opmærksom på muligheden for metastasering, hvis patienten har anden kendt primær tumor eller hvis morfologien ikke er i overensstemmelse med morfologien for lungekarcinomerne. Det vil dog oftest være nødvendigt at supplere med immuncyto-/histokemi for at afgøre, om det drejer sig om en metastase.



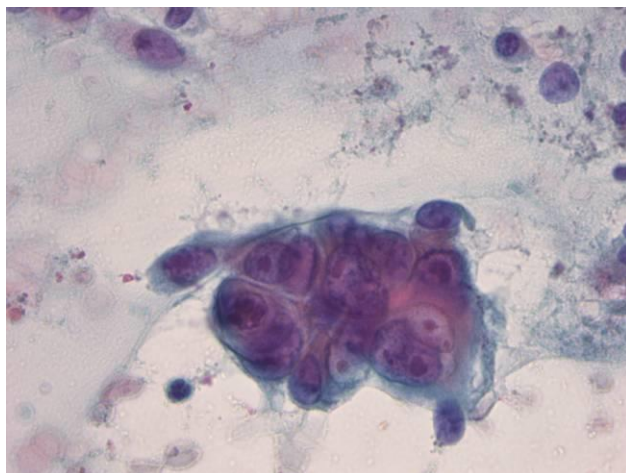
Figur 75. Børsteudstryg PAP. Metastase fra adenokarcinom i colon, hvor høje slanke cylindriske celler og langstrakte kerner er karakteristiske.



Figur 76. Børsteudstryg PAP. Maligne tumorceller fra et metastatisk duktalt mammakarcinom.



Figur 77. Børsteudstryg PAP. Maligne celler fra et storcellet B-celle lymfom.



Figur 78. Børsteudstryg PAP. Metastatiske tumorceller fra et lavt differentieret, urotelialt karcinom.

FINNÅLSASPIRATION

Finnålsaspirationer kan være rettet mod processer i lungevævet eller mod mediastinale lymfeknuder. Det udhentede materiale kan derfor være meget forskelligartet mikroskopisk. Nedenfor beskrives først finnålsaspirater fra processer i lungevævet, dernæst finnålsaspirater fra lungenære lymfeknuder og til sidst cytodagnostik af maligne forandringer.

FINNÅLE FRA CENTRALE PROCESSER

Finnålsaspirater (FNA) fra processer i lungevævet kan udhentes gennem hud og brystvæg, transtorakalt (TTNAB), gennem bronkieslimhinden, transbronkialt (TBNAB), fra bronkieslimhinden, endoskopisk bronkialt (EBNAB), fra spiserøret eller bronkierne, henholdsvis endoskopisk transøsofagealt ultralydvejledt (EUS-FNA) og/eller transbronkial ultralydvejledt (EBUS-FNA, forkortet EBUS)(se nedenstående tabel).

TTNAB anvendes til diagnostik af perifere lungeinfiltrater og aspirationen foretages vejledt af røntgen, ultralyd eller CT-scanning. TBNAB kan anvendes til diagnostik af primære tumorer i lungerne, men er flere steder afløst af EUS-FNA og EBUS. EBNAB foretages, hvis man i forbindelse med bronkoskopi kan se submukøse, frebulende tumorer. EUS-FNA og EBUS foretages med et endoskop med et ultralydshoved på enden af skopet og kan anvendes til diagnostik af tumorer i lungerne, men anvendes hovedsagelig til udredning af metastaser i lymfeknuder i mediastinum (se senere).

Det aspirerede materiale udstryges jævnt på flere objektglas, luftfikseres og farves MGG. Restmateriale fremsendes ufikseret og anvendes til fremstilling af et koagel (celleblok).

Finnålsaspiration

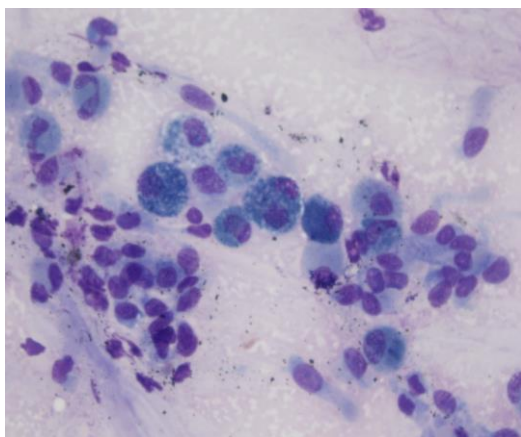
- FNA(B) Finnålsaspirations(biopsi)
- TTNAB Transtorakal FNAB
- TBNAB Transbronkial FNAB
- EBNAB Endobronkoskopisk FNAB
- EBUS FNA Endobronkial ultralydsvejledt FNA
- EUS FNA Endoskopisk ultralydsvejledt FNA via esofagus

Normale celler

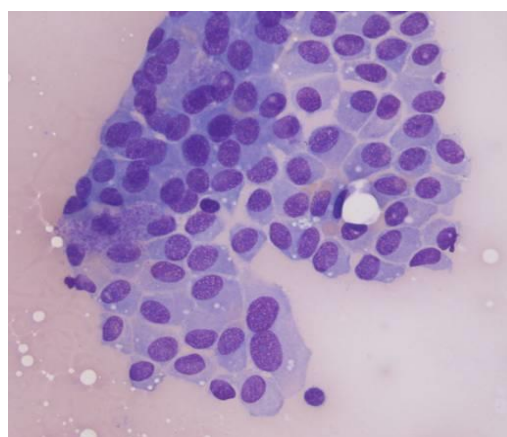
De normale celler vil typisk være bronkiale cylinderepitelceller, metaplastiske pladeepitelceller, alveolært epitel, bindevævsceller og alveolemakrofager (figur 79). Drejer det sig om en TTNAB, er det også muligt at se mesotel, hud, fedtvæv fra thoraxvæggen, brusk og knoglevæv fra ribben samt inflammatoriske celler. Mesotelceller adskiller sig fra cylinderepitelsceller ved at være lejret i sheets med tydelige cellegrænser (figur 80). Aspireres der tæt på diafragma kan i sjældne tilfælde ses celler fra lever eller milt (se nedenstående tabel).

Bronkiale cylinderepitelceller kan være lejret i palisader eller i sheet-lignende aggregater af varierende størrelse. Cellerne har en lav K/C ratio. Kernerne har en fint granuleret kromatinstuktur med kromocentre og små nukleoler. Man vil ofte kunne finde eosinofile cilier på overfladen af disse cellegrupper. Ved reaktive forandringer og ved inflammation kan der ses kerneatypi med varierende kernestørrelse, nukleoler og let hyperkromasi.

Sædvanligvis er der relativt få af disse atypiske celler, hvorimod man ved malignitet ofte ser mange abnorme celler.



Figur 79. MGG. Omgivet af cylinderepitel ses centralt i billedet alveolemakrofager med indhold af fagocyteret kulstøv.



Figur 80. MGG. Benigne mesotelceller lejret i sheet. Bemærk spalterum mellem cellerne og den ensartede, fint granulære kromatinstruktur.

Normale celler i finnål fra lunge

- Bronkialt cylinderepitel
- Pladeepitel
- Metaplastisk pladeepitel
- Alveolært epitel herunder alveolemakrofager

Sjældent:

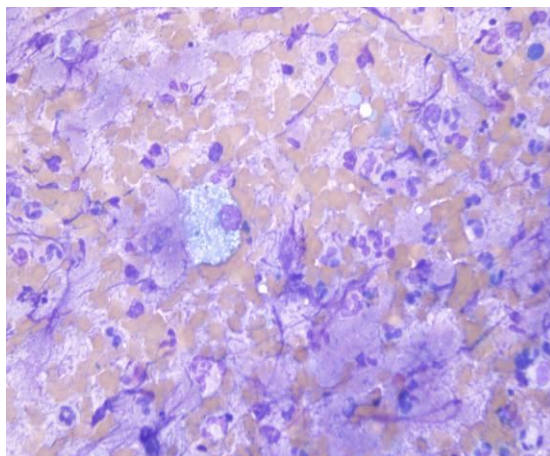
- Mesotelceller
- Fedtvæv
- Brusk og knoglevæv
- Celler fra lever (højresidig aspiration)
- Celler fra milt (venstresidig aspiration)

Egnedetskriterier for lungefinnåle

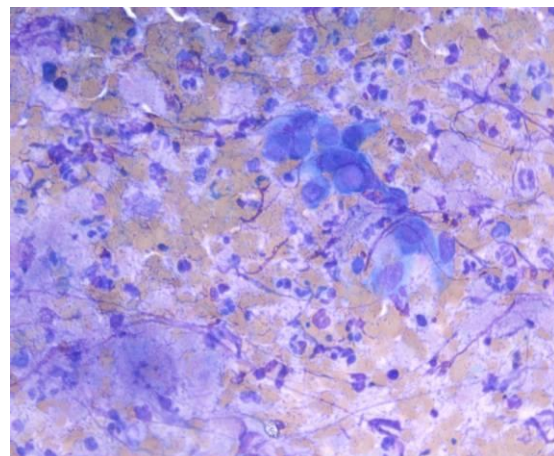
Det er vanskeligt at opstille kriterier for egnethed. Udstrygninger med indhold af normale celler i form af bronkiale cylinderepitelceller, alveolært epitel, alveolemakrofager er repræsentativ for lungevævet, men repræsenterer og forklarer nødvendigvis ikke det kliniske eller radiologiske fund (fx tumor på røntgen).

Inflammatorisk proces

Ved en akut inflammatorisk proces vil man ud over de normale celler også kunne se klumper af purulent materiale med mange granulocytter, makrofager og cellulær debris (figur 81 og 82). Herudover kan der evt. identificeres forskellige mikroorganismer.



Figur 81. MGG. Purulent materiale med enkelt alveolemakrofag centralt.



Figur 82. MGG. Purulent materiale med reaktive bronkiale cylinderepitelceller.

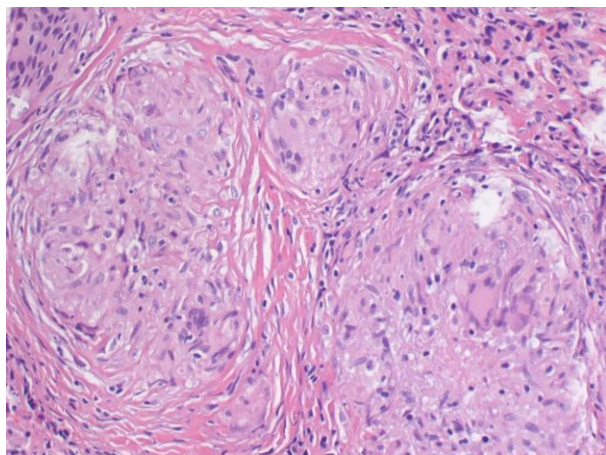
Er der klinisk mistanke om en inflammatorisk proces, kan der sendes materiale til mikrobiologisk undersøgelse.

Ved inflammation kan der ses reparative og reaktive forandringer i de benigne celler, som kan være differentialdiagnose til maligne forandringer. Man bør derfor være forsigtig med en malign diagnose ved samtidige inflammatoriske forandringer.

Den akutte inflammation (se nedenstående tabel) kan gå over i en kronisk inflammation, hvor der kan ses flere lymfocytter og plasmaceller evt. med bindevævsceller og karstrukturer.

Cellebillede ved akut inflammation
• Mange granulocytter • Makrofager • Cellulær debris • Mikroorganismer, oftest bakterier • Reparative og reaktive celleforandringer

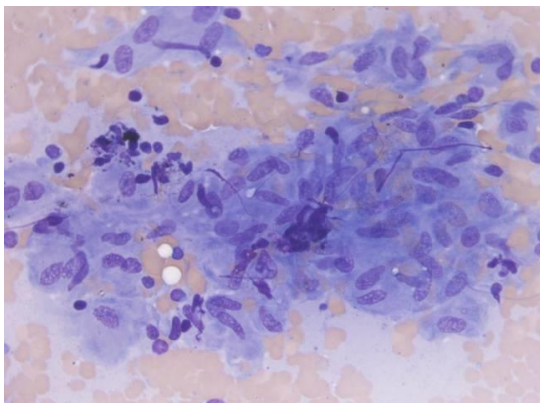
Granulomatøs inflammation



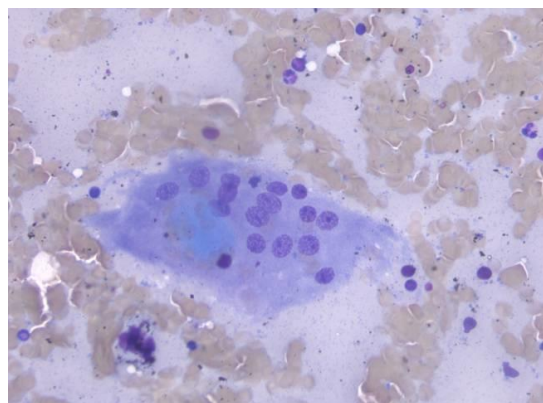
Ved en granulomatøs inflammation ses histologisk et karakteristisk billede med en rundagtig ansamling af epiteloide histiocytaire celler evt. med samtidige multinukleære makrofager. Cytologisk kan der ved granulomatøs inflammation ses epiteloide histiocyter, ofte lejret i grupper (granulomer) (figur 83).

Figur 83. HE. Histologisk snit med granulomer med epiteloidceller og histiocytaire kæmpeceller.

Epiteloidcellekerner er langstrakte eller bønneformede omgivet af et rigeligt lys-blåligt farvet cytoplasma (figur 84). Herudover kan ses multinukleære makrofager ofte uden intracytoplasmatiske pigment og evt. lymfocytter (figur 85). Granulomatøs inflammation kan ses ved fx sarkoidose (se tabel side 55-56) og tuberkulose. Ved tuberkulose kan der også ses cellulær debris, neutrofile granulocytter og evt. mykobakterier (se nedenstående tabel).



Figur 84. MGG. Gruppe af epiteloidceller med langstrakte kerner og en fint granulær kromatinstruktur og et lysblåligt cytoplasma



Figur 85. MGG. Histiocyter kæmpecelle.

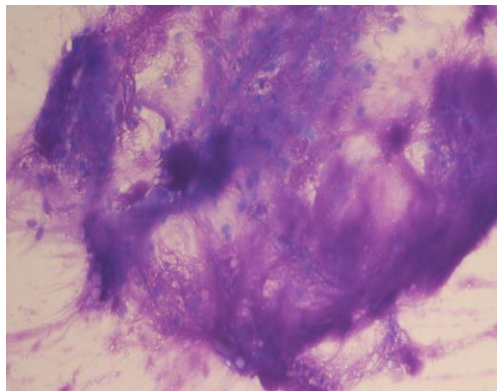
Cellebillede ved granulomatøs inflammation

- Epiteloidceller i sammenhængende grupper
- Få ikke-pigmenterede makrofager
- Kæmpecellemakrofager
- Debris og akut inflammation (afhængig af årsag)
- Lymfocytter
- Reparative og reaktive celleforandringer

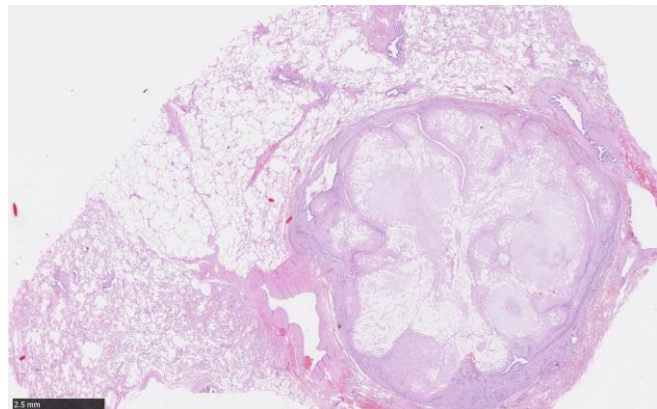
Bronkialt hamartom

Et hamartom er en benign neoplas, som består af de vævselementer, der normalt findes i lungevævet. Det er den hyppigste benigne lungetumor. Den består af brusk, bindevævsceller, glatte muskelceller, fedt og bronkiecylinderepitel (figur 87). Tumoren er perifert beliggende, velafgrænset og ses hyppigst hos mænd over 50 år.

Cytologisk ses varierende antal bronkiale cylinderepitelceller, cilierede og sekretoriske, fedtvæv, brusk, fibromyxoid metakromatisk farvet stroma med langstrakte celler med aflange kerner med en fint granulær kromatinstruktur og små nukleoler (se nedenstående tabel). Den mesenkymale komponent er diagnostisk (figur 86).



Figur 86. MGG. Fibrillær, myxoid, metakromatisk farvet stroma med langstrakte celler med aflange kerner.



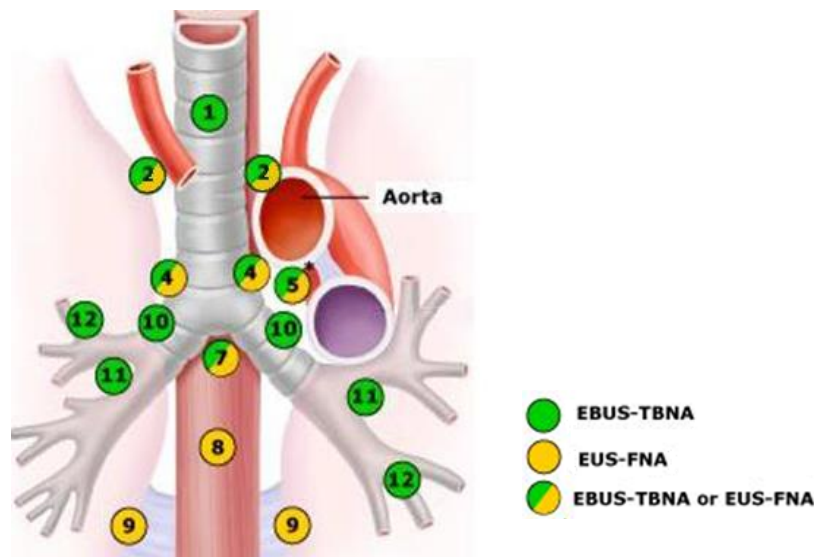
Figur 87. HE-farvet snit med velafgrænset hamartom omgivet af lungevæv.

Bronkialt hamartom

- Fibromyxoid metakromatisk farvet stroma
- Brusk
- fedtvæv
- Bronkiale cylinderepitelceller
- Alveolemakrofager

FINNÅLSASPIRATER FRA MEDIASTINALE LYMFENUDER

Disse tages hovedsageligt i forbindelse med EBUS eller EUS-FNA, hvor cytobioanalytikere ofte er til stede på operationsstuen for at vurdere egnetheden af det aspirerede materiale. Figur 88 viser, hvilke lymfeknude stationer der kan aspireres fra med henholdsvis EBUS og EUS.

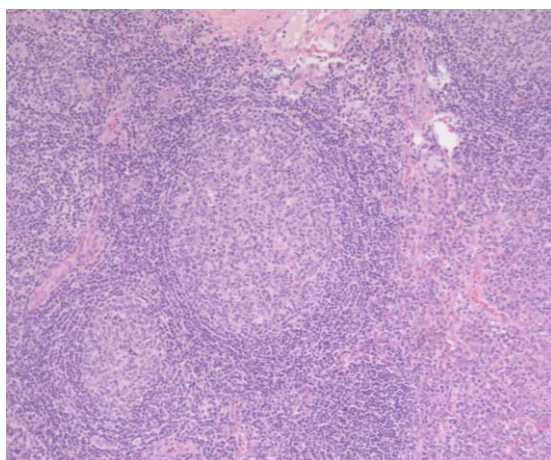


Figur 88. På figuren er markeret, hvilke lymfeknuder der kan udhentes materiale fra ved henholdsvis en EBUS (grøn), EUS (gul) eller med begge (tofarvet).

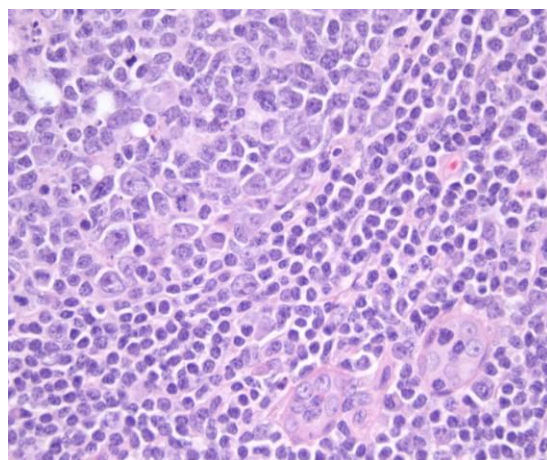
(Ref: <http://www.lungecancer.dk/documents/0A965494-981B-43D3-A3B2-251DD1500894.pdf>)

Normal lymfeknude histologisk

Lymfeknuder varierer i størrelse fra få mm op til et par centimeter. De findes ofte i veldefinerede grupper af lymfeknuder, der modtager lymfe fra bestemte organer eller legemsdele. Lymfeknuden er omgivet af en kapsel bestående af kollagent bindevæv, som også forgrener sig ind i det lymfatiske væv. Lymfocytterne danner follikler eller noduli, som ved antigenstimulation danner kimcentre (figur 89). Kimcentret består dels af store lymfocytter, makrofager og plasmaceller. Kimcentret er omgivet af små lymfocytter (figur 90). Stromaet i en lymfeknude består af et retikulært netværk, reticuloceller og makrofager.



Figur 89. HE. Lav forstr. Follikler med kimcentre.



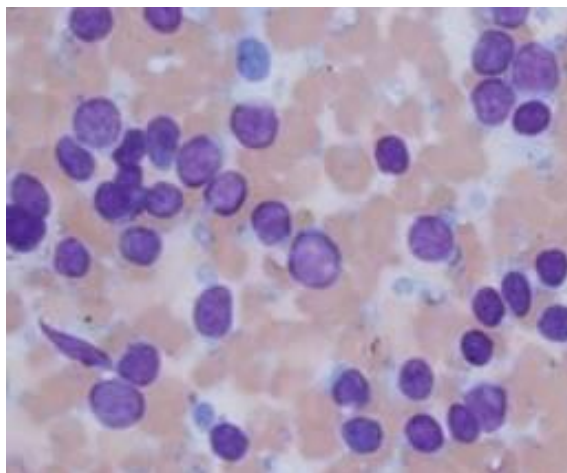
Figur 90. HE. Kimcentret (øverst tv) består af umodne lymfocytter omgivet af modne lymfocytter.

Normale celler i en lymfeknude

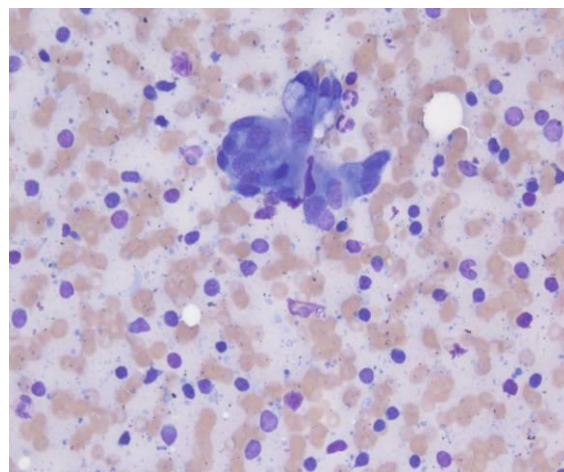
En repræsentativ udstrygning fra en normal lymfeknude er ofte meget cellerig. Lymfocytter har en smal bræmme af cytoplasma. Cytoplasmaet er dog meget fragilt, hvorfor der vil ses mange nøgne kerner med afrundede cytoplasmarester i baggrunden. Disse cytoplasmarester kaldes lymfoglandular bodies og er typisk for en repræsentativ finnål. Lymfoglandulære legemer kan adskilles fra debris ved, at de er afrundede og ensartede (figur 91). Normale celler fra en lymfeknude vil være en blandet population af lymfoide celler, der repræsenterer lymfocyttransformationen fra små modne lymfocytter med mørke runde kerner med en ensartet kromatinstruktur og et sparsomt cytoplasma til immunoblaster som er større med en finere granulær kromatinstruktur med nukleoler og et rigeligere cytoplasma. Lymfocytterne vil oftest være enkeltliggende, men de kan også ses i celletætte grupper (udstrygningsfænomen). Herudover kan ses makrofager med et rigeligt lyst farvet evt. vakuoliseret cytoplasma. Ofte kan der ses fagocyteret, antrakotisk pigment (kulstøv) og debris i cytoplasmaet. Makrofagerne kan ses enkeltliggende eller i grupper. Herudover vil der være stromaceller og karstrukturer med endotelceller. Der kan også identificeres plasmaceller, der ikke ses i perifert blod.

Der vil i en velegnet udstrygning fra en lymfeknude oftest være få granulocytter. Desuden kan der fra selve indstikket ses normale celler fra bronkieepitel i form af cylinderepitel (figur 92), pladeepitel (især ved EUS-FNA) og metaplasie, evt. alveolært epitel, mesotel, makrofager, fedt- og bindevæv (se nedenstående tabel).

Man bør være opmærksom på, at der ved indstikket gennem bronkievæggen også kan aspireres dysplastiske pladeepitelceller eller atypiske reaktive cylinderepitelceller, der kan fejltolkes som maligne metastatiske celler i lymfeknuden. Man bør derfor være forsigtig med en malign diagnose ved få abnormt udseende pladeepitelceller eller cylinderepitelceller.



Figur 91. MGG. Eget udstrygning af et lymfeknudeaspirat med indhold af normale lymfocytter af varierende modenhed. Bemærk lymfoglandular bodies (lyseblå legemer) i baggrunden.



Figur 92. MGG. Eget udstrygning af et lymfeknudeaspirat med indhold af normale lymfocytter og normale bronkiale cylinderepitelceller fra indstikket.

Hvis man finder granulomer eller maligne celler, anses udstrygninger med færre lymfocytter altid for at være egnede.

Er udstrygningerne blodtilblandede, vil fund af større fragmenter af lymfoidt væv i et snit af celleblok af restmaterialet fra finnålen medføre, at aspiratet må anses for at være repræsentativ.

Repræsentativ udstrygning fra en lymfeknude

- En blandet population af lymfoide celler og plasmaceller
- Makrofager ofte med indhold af debris/pigment
- Få granulocytter
- Baggrund med lymfoglandular bodies

Herudover kan ved EBUS og EUS ses:

- Bronkialt epitel (ved EBUS)
- Pladeepitel (ved EUS)
- Alveolemakrofager
- Mesotel

Granulomatøs lymfadenitis

Granulomatøs inflammation i lymfeknuder kan inddeles i tre typer:

- Nekrotiserende
- Ikke-nekrotiserende
- Granulomer associeret med malignitet

Nekrotiserende granulomatøs inflammation ses især ved infektioner som tuberkulose eller svampeinfektion. Cytologisk vil der sammen med de granulomatøse elementer ses tegn på akut inflammation med granulocytter og cellulær debris. Man bør i sådanne tilfælde supplere med farvning for mykobakterier (Ziehl Neelsen) eller svampe (PAS). Cellulært debris og akut inflammation ses ikke ved sarkoidose, der fremkalder en ikke-nekrotiserende granulomatøs inflammation (se nedenstående tabel). Her ses ikke-pigmenterede makrofager af epiteloid type og kæmpecelle-makrofager af Langhans type. Epiteloidcellerne har langstrakte lyse kerner med en fint granulær kromatinstruktur. De ses oftest lejret i sammenhængende celleaggregater med utydelige cellegrænser, evt. kan der ses lymfocytter inde i gruppen (figur 84). Der er ofte få multinukleære celler af Langhans type eller de kan helt mangle. Ikke-nekrotiserende granulomatøs inflammation kan ses i mediastinale glandler hos patienter med symptomer på lungesygdom, udover sarkoidose, ved autoimmun sygdom, fremmedlegemereaktion eller som reaktion på behandling. Desuden kan granulomatøs inflammation ses i forbindelse med metastatisk lungecancer som fx seminom, men også i forbindelse med et malignt lymfom (Hodgkin's eller Non-Hodgkin's).

Sarkoidose

- En kronisk, ikke-nekrotiserende granulomatøs inflammatorisk sygdom af ukendt ætiologi.
- En relativt sjælden sygdom. Man kender ikke hyppigheden af sygdommen med sikkerhed, da mange patienter ikke har symptomer.
- Sygdommen starter som regel hos personer under 40 år, oftest mellem 20 og 29 år, men der ses også nye tilfælde i aldersgruppen omkring 60-75 år.
- Relativ hyppig i Skandinavien. I Danmark opdager man ca. 400 nye tilfælde af sarkoidose hvert år. Man regner med, at ca. 50.000 danskere har eller har haft sygdommen.

- Lige hyppigt blandt mænd og kvinder, og forekommer hyppigere i nogle familier.
- Sygdommen kan optræde i mange organer (især hud, øjne, led og nervesystemet), men involverer hyppigst de mediastinale lymfeknuder og lungerne, hvor den ofte debuterer.
- Hiluslymfeknuderne kan være stærkt forstørrede med en fast, elastisk konsistens, der gør prøvetagningen vanskelig.
- Kan forsvinde spontant uden følger eller medføre fibrose og ardannelse i lungerne eller i værste fald progredierer med tiltagende respirationsinsufficiens.

MALIGN FORANDRINGER I LUNGEFINNÅLE

En del primære lungetumorer bliver alene diagnosticeret på baggrund af cytologisk materiale. Det er i første omgang vigtigt at afgøre, om det morfologisk er benigne eller maligne celler. Er cellerne maligne kan det være vanskelig på ren morfologi at skelne fx mellem adenokarcinomer og planocellulære karcinomer og den endelige subklassifikation opnås ved at sammenholde kliniske oplysninger, samtidige histologiske prøver og immunhistokemiske undersøgelser.

I nedenstående tabel ses de generelle forskelle i cellobilledet ved benigne og maligne forhold i lungefinnåle (transtorakale finnålsaspirater).

Forskelle på benigne og maligne transtorakale finnålsaspirater (TTNAB)	
<i>Benigne TTNAB</i>	<i>Maligne TTNAB</i>
• Få atypiske celler • Velorganiseret gruppe, hvor cellerne er relativt ensartede i gruppen • Hænger godt sammen • K/C ratio normal • Regelmæssig glat kernemembran • Fin/grov regelmæssigt fordelt kromatin • Cilier	• Mange maligne celler • Uorganiserede grupper, hvor cellerne er forskellige • Løse cellegrupper, hvor celler "falder af" • K/C ratio høj • Uregelmæssig kernemembran • Groft granulær uregelmæssigt fordelt kromatin • Ingen cilier

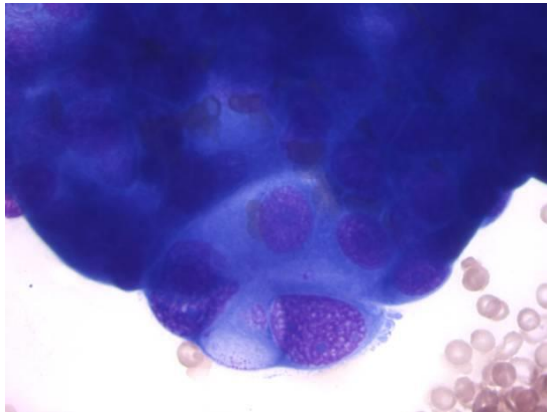
I det følgende beskrives adenokarcinomer, planocellulære karcinomer, neuroendokrine tumorer samt enkelte metastatiske tumorer. Ønsker man beskrivelse af mere sjældne tumortyper, henvises til anden litteratur.

Adenokarcinom

Den cellulære morfologi for adenokarcinomer i lungefinnåle ligner morfologien beskrevet ved børstecytologi og skyllevæsker.

Cellerne kan være lejrede i sheets, rosetter, acinære eller papillifære grupper, i cellebolde eller clusters med overlappende kerner (figur 93 og 96). Kernerne er store, runde eller ovale, og har en relativ fint granulær kromatinstruktur med tydelige nukleoler (figur 94). Kernerne er ofte excentrisk placerede. Cytoplasmaet kan være vakuoliseret enten p.g.a. mucinindhold eller degeneration. Mucinindholdet i de MGG-farvede præparater vil være magenta eller purpur-

farvet, og ses at være homogent i vakuolerne eller som røde granula i lyse vakuoler (figur 93 - 96). Der kan ses intranukleære vakuoler. Cellerne kan være cylinderformede evt. lejret i palisader, hvor der kan ses terminal plade, men aldrig cilier (se nedenstående tabel).



Figur 93. MGG. Celler fra et adenokarcinom med vakuoliseret cytoplasma indeholdende røde granula som udtryk for mucinindhold.

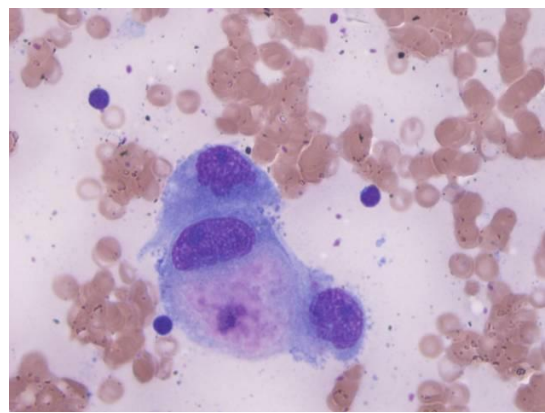
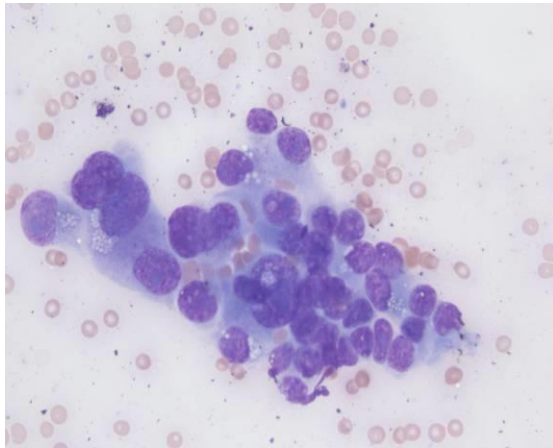
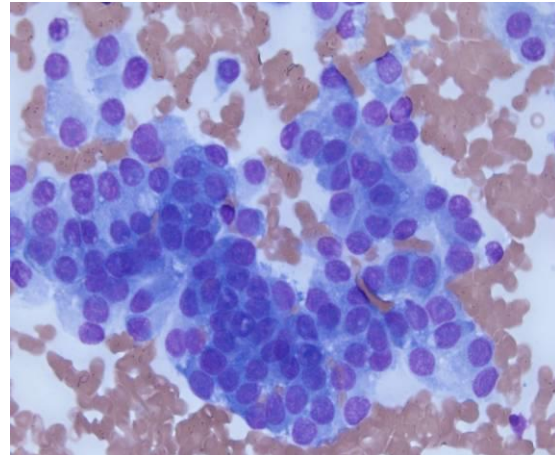


Fig 94. MGG. Celler fra et adenokarcinom med store hyperkromatiske kerner med tydelige nukleoler. I en enkelt celle ses en tydelig vakuole med indhold af mucin.

Adenokarcinom	
Cellelejring	• sheets • rosetter • acinære eller papillifære grupper • cluster (3-D lejring)
Kerner	• runde eller ovale kerner • fint granulær kromatinstruktur • fremtrædende centrale nukleoler næsten i alle kerner • ofte excentrisk lejret
Cytoplasma	• oftest rigeligt cytoplasma • evt. vakuoliseret • Ingen cilier



Figur 95. MGG. Celler fra et adenokarcinom med størrelsesvarierende kerner og tydelige nukleoler. I enkelte celler ses tydelige vakuoler.



Figur 96. MGG. Celler fra et højt differentieret adenokarcinom, der ligger papillært med ensartede, let forstørrede kerner med beskedne overlapning og små nukleoler.

Ved lavt differentieret adenokarcinom uden mucinproduktion og uden glandulær lejring kan det være vanskeligt alene på cytomorfologien at stille en eksakt diagnose. Lavt differentierede planocellulære karcinomer kan også imitere adenokarcinomer (se nedenstående tabel).

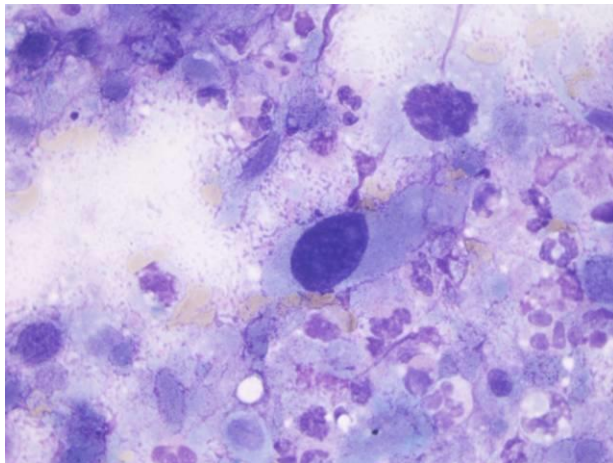
Hvis de maligne celler er ensartede og med store centrale nukleoler, er det mest sandsynligt et adenokarcinom. Er morfologien ikke entydig for adenokarcinom, kan der anvendes immuncytokemi for at bekræfte diagnosen.

Differentialdiagnoser til primært adenokarcinom i lungerne
--

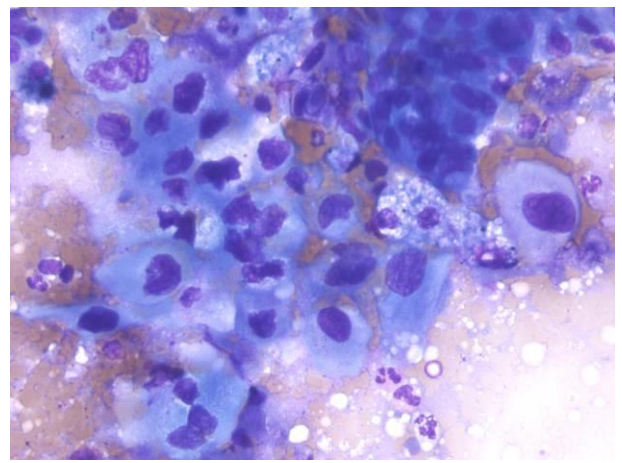
- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Hyperplastisk cylinderepitel • Viruspneumoni • Hamartom • Behandlingsfølger efter cytostatika • Stråleforandringer • Lavt differentieret planocellulært karcinom • Metastaser (mamma, nyre, genitalier, mave-tarm kanalen, prostata) |
|--|

Planocellulært karcinom

Højt differentieret, keratiniserende planocellulært karcinom er cytomorfologisk meget karakteristisk. De maligne celler er pleomorfe og bizarre. Det mest karakteristiske træk er de enkeltlejrede, pleomorfe celler med det karakteristiske klare blå (i MGG farvningen) keratiniserende cytoplasma (figur 97). Kernerne er irregulære, varierende størrelser, hyperkromatiske og ofte uden synlige nukleoler. Cellerne kan også ses i mindre grupper. Der kan ses samtidige dyskeratiniserende celler (figur 98). I baggrunden ses tydelig cellulær debris (figur 97) (se nedenstående tabel).



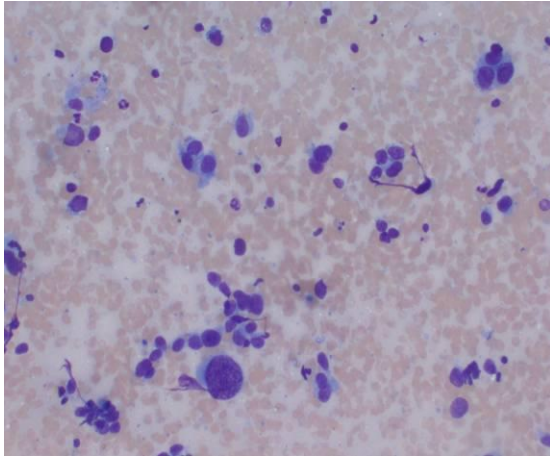
Figur 97. MGG. Keratiniserende, planocellulært karcinom – bemærk pleomorfien og tumordiatesen.



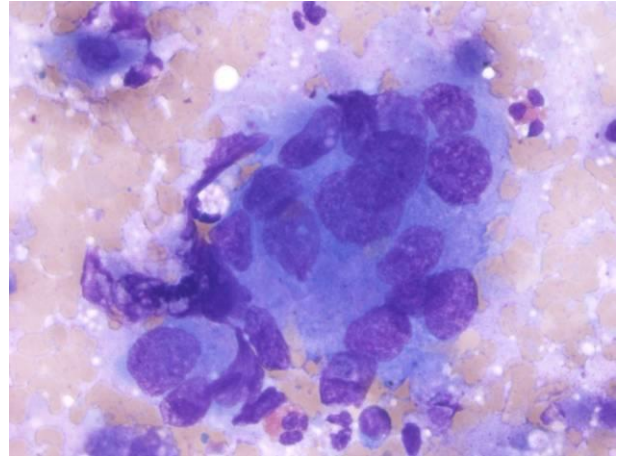
Figur 98. MGG. Dyskeratiniserende celler og alveolemakrofager.

Keratiniserende planocellulært karcinom	
Cellelejring	• enkeltliggende • cellegrupper • grupper af dyskeratiniserende celler
Kerner	• pleomorfe kerner • hyperkromatiske kerner • opake (i de keratiniserende celler) • grovere, granulær, irregulært fordelt kromatinmatinstruktur • nukleoler kan ses
Cytoplasma	• K/C ratio varierende fra lav til høj • blåt tæt (keratiniserende) cytoplasma (MGG farvningen)
Udtalt nekrose i baggrunden	

Det lavt differentierede, ikke-keratiniserende planocellulære karcinom er karakteriseret ved mere sammenhængende grupper af pleomorfe celler. Kernerne ses ofte langstrakte, med varierende grader af hyperkromasi og med irregulært fordelt kromatin. Der er variation i antal og størrelse af nukleoler. Dette er i modsætning til adenokarcinomer, hvor der er et mere monotont nukleolebillede. Cellerne har ofte et mere veldefineret, tæt cytoplasma med tydelige cellegrænser (figur 99 og 100) (se nedenstående tabel).



Figur 99. MGG. Ikke-keratiniserende planocellulært karcinom. Bemærk det pleomorfe cellebillede og de enkeltliggende maligne celler.



Figur 100. MGG. Lavt differentieret planocellulært karcinom. Cellegruppe hvor kernerne har groft granuleret kromatin og kun få har tydelige nukleoler.

Lavt differentieret planocellulært karcinom
Cellelejring • cellegrupper ofte med tydelige cellegrænser Kerner • størrelsesvarierende langstrakte kerner • varierende grader af hyperkromasi • uens fordelt kromatin • nukleoler af varierende størrelse og antal Cytoplasma • tæt veldefineret cytoplasma Nekrotisk baggrund kan ses, men den er ikke så udtalt som ved det keratiniserende Karcinom.

Der kan være vanskeligt at skelne mellem et lavt differentieret, ikke-småcellet karcinom cytomorfologisk (se nedenstående tabel). I sådanne tilfælde kan der anvendes immunhistokemi.

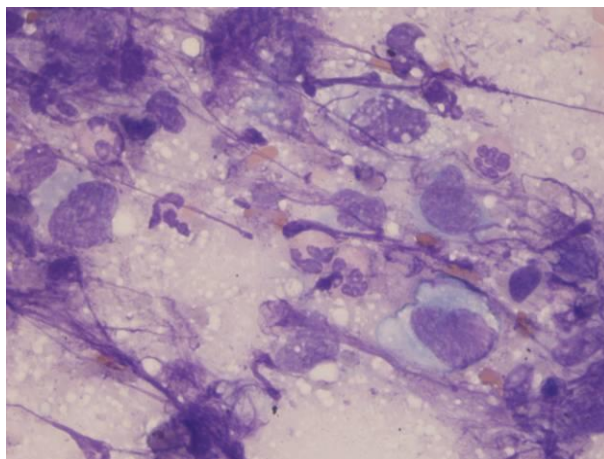
Forskelle mellem adenokarcinom og planocellulær karcinom

<i>Adenokarcinom</i>	<i>Planocellulære karcinom</i>
• Acinære grupper • Cluster/3D grupper • Vakuoliseret cytoplasma • Utydelige cellegrænser • Excentrisk lejrede kerner • Fint granuleret kromatinstruktur • Fremtrædende nukleoler • Mucinvakuoler	• Uregelmæssige cellegrupper • Enkeltliggende celler • Tæt cytoplasma • Tydelige cellegrænser • Hyperkromatiske kerner • Groft granulært, uregelmæssigt fordelt kromatin • Nukleoler af varierende antal og størrelse • Nekrose

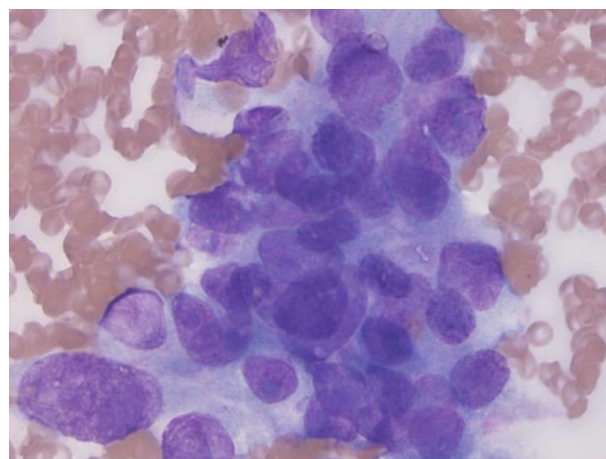
Storcellet karcinom

Et storcellet karcinom er et karcinom, som cytomorfologisk ikke kan karakteriseres som et planocellulært karcinom, et adenokarcinom eller et karcinom med neuroendokrin uddifferentiering.

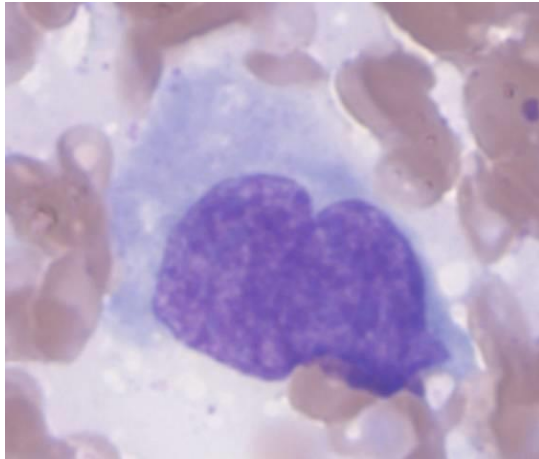
Udstrygningerne er oftest cellerige og har udtalt cellulær pleomorfi. Cellerne er store sammenlignet med det småcellede karcinom. Cellerne ses enkeltliggende eller i større og mindre løse grupper med dårligt defineret cytoplasma. Cellerne har en høj K/C ratio og kan være runde eller uregelmæssige. Kernerne er tydeligt maligne og kromatinet er groft granuleret og ujævnt fordelt. Der ses nukleoler, ofte makronukleoler, i de fleste kerner (figur 101-104) (se nedenstående tabel).



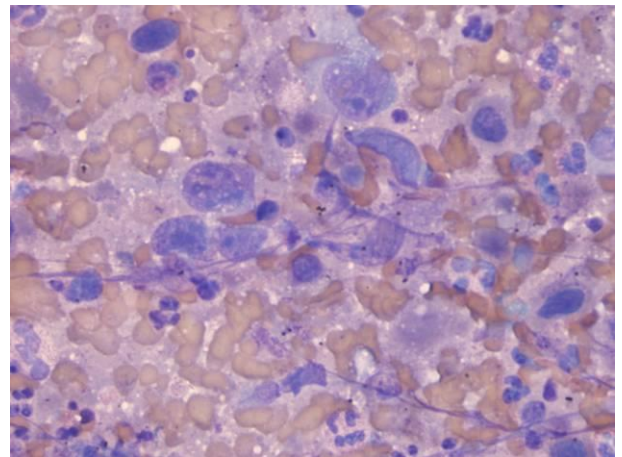
Figur 101. MGG. Storcellet karcinom. Enkeltliggende pleomorfe karcinomceller på en nekrotisk baggrund.



Figur 102. MGG. Storcellet karcinom. Gruppe af maligne tumorceller med størrelsesvarierende kerner og tydelige nukleoler.



Figur 103. MGG. Storcellet karcinom.
Enkeltliggende celle med dobbeltkerner med
groft granuleret kromatinstruktur.

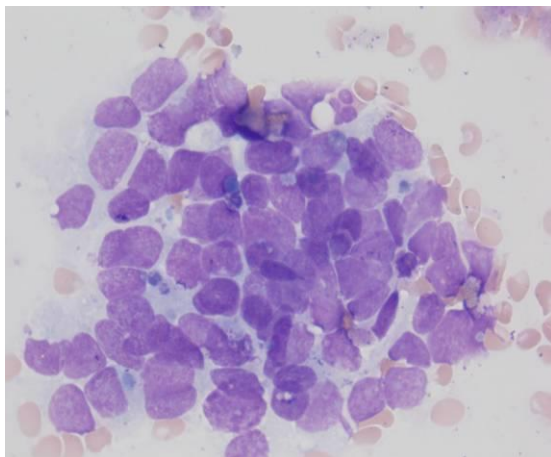


Figur 104. MGG. Storcellet karcinom. "Løs" gruppe
af pleomorfe celler med tydelige nukleoler og
nekrotisk baggrund.

Storcellet karcinom

- Store pleomorfe celler med dårlig defineret cytoplasma
- Enkelt lejrede eller løse grupper
- Groft granuleret kromatinstruktur
- Makronukleoler
- Nekrotisk baggrund

Småcellet lungekarcinom (SCLC).



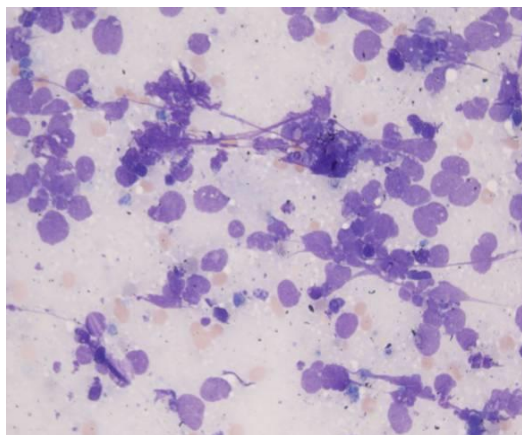
Figur 105. MGG. Celler fra et småcellet
karcinom med tydelig cellemoulding.

Det småcellede karcinom er den mest aggressive type blandt de hyppigste lungecancer. Det er vigtigt at få denne tumor kategoriseret korrekt, idet behandlingen sjælden er operation, men en speciel kemokur-behandling, som er forskellig fra den kemokur, der gives fx til de ikke operable ikke-småcellede karcinomer (se afsnit om behandling).

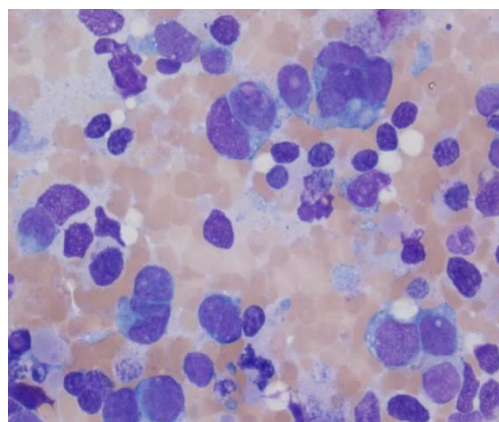
Det småcellede karcinom er karakteriseret ved små celler, der er to til fire gange størrelsen af en lymfocyt og med særdeles sparsomt cytoplasma. Cellerne ses enkeltvis eller i løse grupper. Det vigtigste kendetegn er kernemoulding (kernerne tager form efter hinanden) (figur 105 og 107). Kernerne er

ofte hyperkromatiske og groft granulerede, men kan dog også ses fint granulerede. Cellerne er ofte præget af degeneration, hvilket kan medføre, at kernerne bliver lysere farvet med en

udflydende kromatinstruktur (se nedenstående tabel). Der kan samtidig ses crush-artefakt (hår-lignende), som er kvæstet udtrukket trådet kernemateriale (figur 106). Der kan ses mitoser og apoptoser.



Figur 106. MGG. Småcellet karcinom med crush-artefakt.



Figur 107. MGG. Småcellet karcinom. Enkeltliggende og små grupper af velbevarede celler med sparsomt cytoplasma. Kernerne er hyperkromatiske med groft granuleret kromatinstruktur.

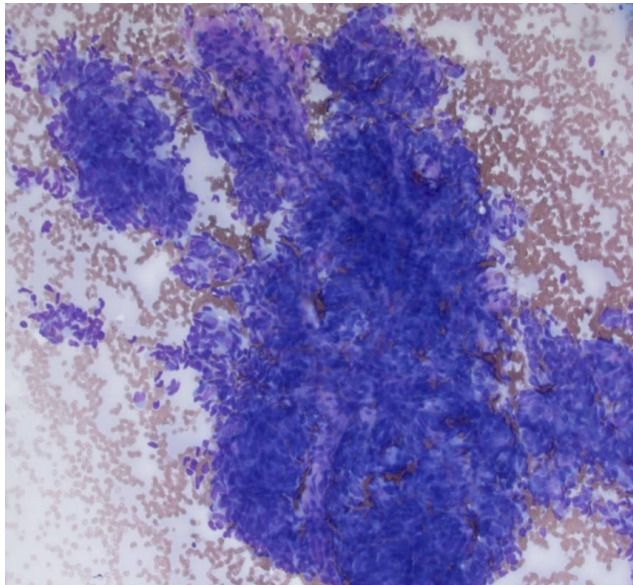
Småcellet karcinom
• Ofte meget cellerige udstrygninger • Enkeltliggende spredte celler og i cellegrupper • Varierende cellestørrelse to til fire x lymfocytstr. • Moulding • Uregelmæssige kerner • Fint til groft granulær kromatinstruktur • Evt. mitoser og apoptoser • Crush-artefakt

Karcinoid

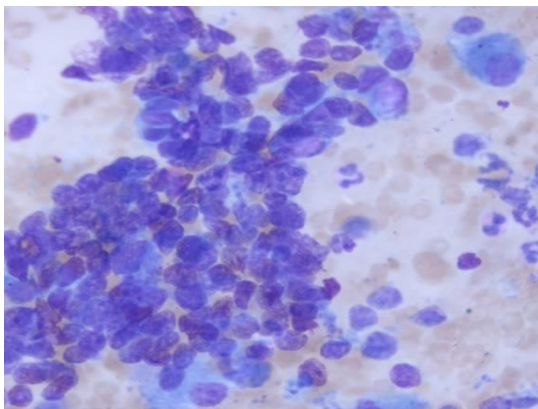
Histologisk opdeler man karcinoider i typisk og atypisk karcinoid på baggrund af mitoseantallet. Denne opdeling er vanskelig på cytologisk materiale, hvor man faktisk sjældent ser mitoser.

Celler fra et karcinoid er ensartede og lejret dels enkeltvis og dels i tætte eller mere løse cellegrupper. Cellebilledet er særdeles cellerigt og monotont. Typisk for karcinoider kan der ses karstrukturer, som tumorceller arrangerer sig rundt omkring (figur 108). Dette ses sjældent ved det småcellede karcinom.

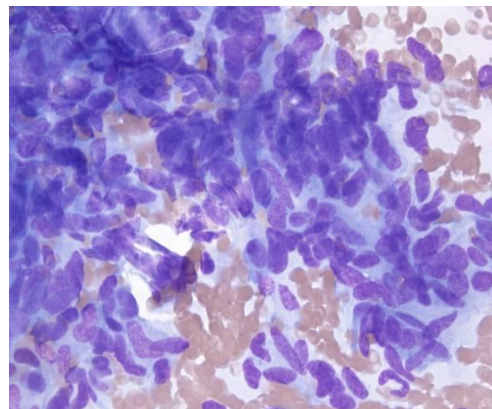
De enkeltliggende celler har bevaret cytoplasma, og kernerne er velbevarede i modsætning til kernerne i det småcellede karcinom, hvor kernerne typisk er udtrukne eller trådede (crush-artefakt). Kernerne fra et karcinoid er runde til ovale med en fin til groft granulær kromatinstruktur og små nukleoler (figur 109). Der kan evt. ses få røde sekretgranula i cytoplasmaet i MGG. I nogle karcinoider kan ses højere grad af celle- og kernepleomorfi, evt. kan cellerne være langstrakte (spindle cells) (figur 110). Baggrunden er ren (se nedenstående tabel).



Figur 108. MGG. Karcinoid.
Centrale karstrukturer, som
tumorcellerne "klæber" til.



Figur 109. MGG Karcinoid. Løs cellegruppe af
ensartede celler, hvor kernerne har en fint
granuleret kromatinstruktur. Desuden ses få
alveolemakrofager.



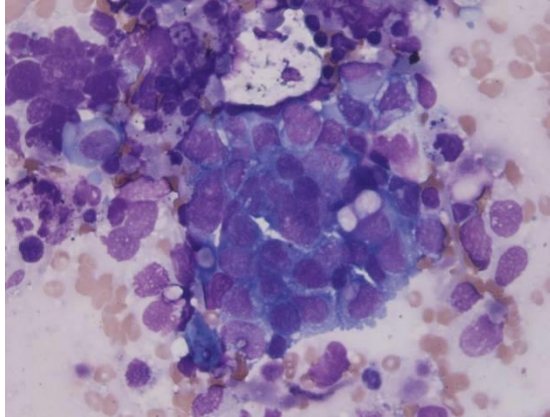
Figur 110. MGG Karcinoid. Løs gruppe af celler
fra et karcinoid af spindle cell type.

Karcinoid
• Cellerig • Enkeltliggende og i cellegrupper • Tumorceller lejret omkring karstrukturer • Ensartede kerner med cytoplasma evt. med røde granula • Runde eller ovale kerner med fin til groft granulær kromatinstruktur • Små nukleoler • Ren baggrund

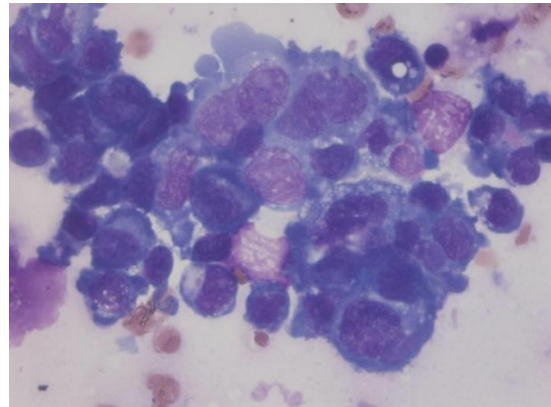
Storcellet neuroendokrin karcinom

Storcellet neuroendokrin karcinom er et storcellet karcinom, hvor der immunkemisk kan påvises neuroendokrine markører fx synaptophysin, chromogranin og CD56. Det er således nødvendigt at anvende immunhistokemi for at stille en korrekt diagnose

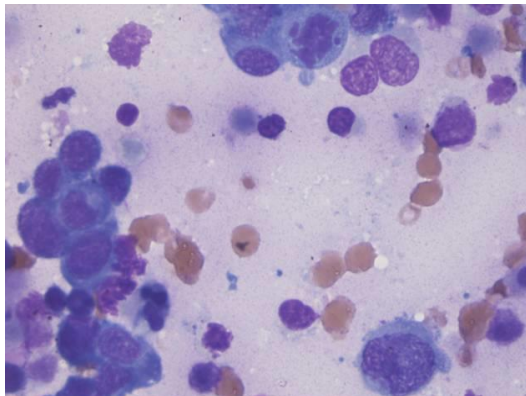
Udstrygninger af finnåslaspirater er oftest cellerige. De maligne cellers morfologi kan være typisk non-småcellet, hvor cellerne er store og pleomorfe og kan ses dels i grupper (sheets, 3-D grupper eller rosetter) og dels enkeltliggende (figur 111-114). I andre tilfælde kan de maligne celler ligne mere et småcellet karcinom med kernemolding og høj K/C ratio, men cellerne er betydelig større end ved det småcellede karcinom (figur 111). I baggrunden kan være med nekrose (se nedenstående tabel).



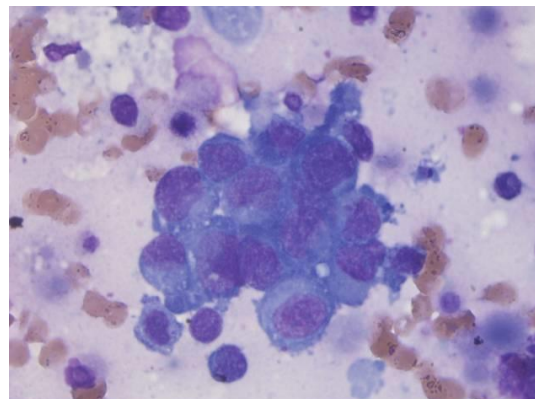
Figur 111. MGG. Celler fra et storcellet, neuroendokrint karcinom.



Figur 112. Grupper af store celler med rigeligt cytoplasma og tendens til celle- og kernemoulding.



Figur 113. MGG. Spredte maligne tumorceller fra et storcellet, neuroendokrin karcinom. Der ses en mitose øverst i midten af billedet.



Figur 114. MGG. Celleflage af maligne tumorceller fra et storcellet, neuroendokrint karcinom.

Storcellet, neuroendokrint karcinom
• Cellerige • Store pleomorfe celler/kerner • Lejring i grupper (sheet, 3-D grupper, mere afrundede grupper evt. rosetter) • Celle-/kernemoulding kan ses • Nekrotisk baggrund • Immunkemisk påvisning af neuroendokrine markører fx synatophysin eller chromogranin

Differentiering mellem småcellet og ikke-småcellet karcinom

Gennem flere år har det været vigtigt at kunne skelne mellem småcellet og ikke-småcellet karcinom, idet behandlingen er forskellig (se afsnittet om behandling).

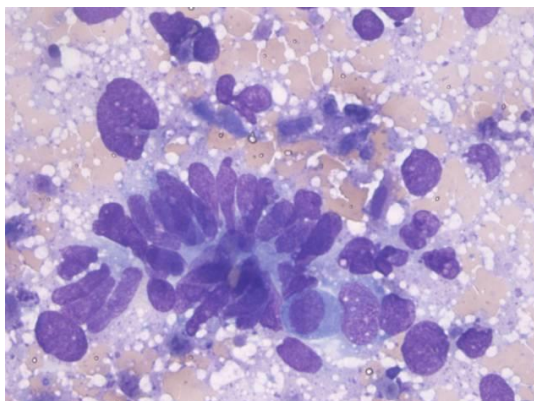
Baseret alene på cytomorfologi kan man opstille forskellige karakteristika for de to hovedgrupper af primære lungekarcinomer (se nedenstående tabel).

Småcellet karcinom (SCLC)	Ikke- småcellet karcinom (NSLC)
• Små celler • Høj K/C ratio • Fint til groft granulær • Ingen/få mindre nukleoler • Sparsomt, udefinerbart cytoplasma • Kernemoulding • Nekrose	• Større celler • Mindre K/C ratio • Mere groft granulær • Ofte større nukleoler • Mere veldefineret cytoplasma • Ubetydelig/ingen moulding • Ingen eller sparsom nekrose

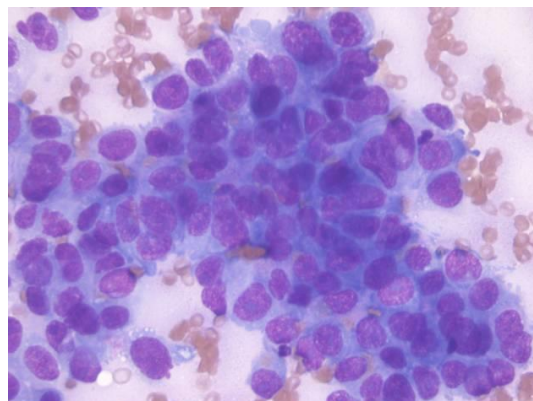
Metastaser

Lungemetastaser er langt hyppigere end primære lungekarcinomer. Nogle af de organer, hvorfra der hyppigst kommer metastaser til lungerne, er colon (figur 115), mamma (figur 116), pancreas, ventrikel og nyrer.

Cytomorfologisk kan det være vanskeligt at skelne mellem primære og metastatiske tumorer. Man bør derfor især ved kendt anden primær tumor overveje muligheden og om muligt supplere med immunhistokemiske farvninger.



Figur 115. MGG. Metastase fra colon-adenokarcinom. Karakteristisk for colon er de høje cigarformede kerner.



Figur 116. MGG. Metastase fra duktalt mammakarcinom, der vanskeligt kan adskilles fra primær luncancer uden brug af immunfarvninger.

MALIGN CELLER I MEDIASTINALE FINNÅLE (EBUS)

Malignitetskriterierne for aspirater fra mediastinale lymfeknuder adskiller sig ikke væsentligt fra de generelle cytologiske malignitetskriterier. Man skal dog være opmærksom på, at tilblanding fra indstikket i form af reaktive, metaplastiske eller atypiske forandrede bronkiale celler kan være årsag til falsk positive diagnoser. De bronkiale celler kan ses i små og større grupper, men har cellerne cilier, evt. kun fokalt i grupperne, må cellerne anses for benigne. Især hos rygere kan der ses metaplastisk og atypisk epitel, som kan være vanskeligt at adskille fra maligne celler. Falsk positive diagnoser kan minimeres ved omhyggelig mikroskopi af de cytologiske detaljer sammenholdt med kliniske oplysninger om fx. rygning eller tidligere strålebehandling.

En anden sjælden faldgrube er fund af benigne mesotelceller. Dog er der ofte få mesotelceller, som ses enkeltliggende eller i grupper. I grupperne kan ses det typiske spalterum (window) mellem cellerne. Generelt kan benigne mesotelceller adskilles fra maligne celler ved det rigelige cytoplasma, lav K/C ratio og lys kromatinstruktur. Hvis der er en samtidig celleblok, kan man ved hjælp af immunhistokemi adskille mesotelceller fra metastatiske celler.

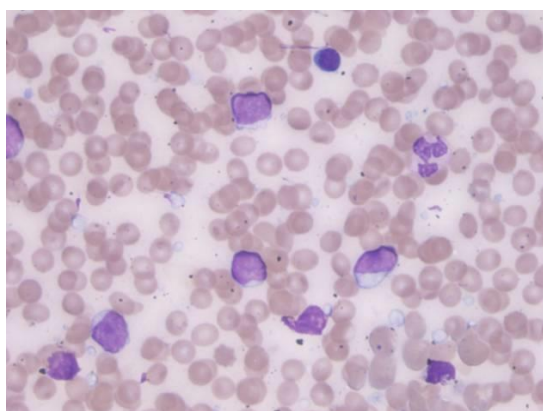
En falsk positiv diagnose kan få større konsekvenser i form af manglende behandling af patienten end en falsk negativ diagnose, idet en falsk negativ diagnose oftest vil blive fulgt op af yderligere billeddiagnostiske undersøgelser suppleret med nye histologiske eller cytologiske undersøgelser.

De hyppigste maligne forandringer i de mediastinale lymfeknuder påvist ved EBUS undersøgelsen er metastase fra primære lungecancer. De cytologiske karakteristika for disse er som beskrevet i det foregående under de transtorakale finnålsaspirationsbiopsier. Hvis man ikke har kliniske oplysninger om maligne tumorer uden for thorax, kan det være vanskeligt morfologisk at adskille metastaser fra disse tumorer fra metastase fra primær lungecancer.

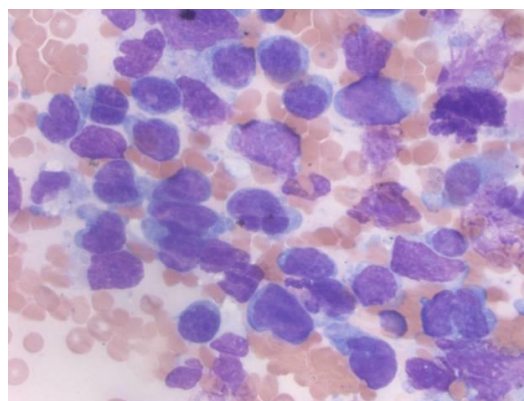
Ved kliniske oplysninger om karcinomer uden for thorax, eller hvis man på morfologien får mistanke om, at de maligne celler kunne være metastase fra en tumor uden for thorax, bør man om muligt supplere med immunhistokemiske undersøgelser på celleblokken.

Er det klinisk fx oplyst, at der er forstørrede lymfeknuder i mediastinum og at der ikke billeddiagnostisk er fundet lungeinfiltrater, bør man ved mikroskopi medtænke muligheden for en hæmatologisk sygdom. Dog vil de i de fleste tilfælde suppleret med immunkemiske undersøgelser, der fastlægger den endelige diagnose. I sjældne tilfælde kan der diagnosticeres malignt lymfom i udstrygninger fra de mediastinale lymfeknuder (se nedenstående tabel). Hvis man i udstrygningen finder små og store lymfocytter, makrofager med fagocyteret antrakose er det karakteristisk for en reaktiv lymfeknude. Findes der derimod et monotomt cellebillede med enten små eller store lymfoide celler eller få meget store atypiske celler bør man mistænke lymfom (figur 117 og 118). Man kan i nogle situationer også blive vejledt af de kliniske oplysninger.

Malignt lymfom	
<i>Non-Hodgkin lymfom</i>	<i>Hodgkin lymfom</i>
• Ophobning af lymfatiske celler af en bestemt kategori. B-cellelymfomer er hyppigst. • Ses i alle aldersgrupper med stigende hyppighed fra 40-årsalderen. • Sygdommen forekommer lidt hyppigere hos mænd end hos kvinder. • Antallet af nye tilfælde pr. år har været stigende de sidste ca. 60 år, mens dødeligheden er faldende. • Ca. 1.500 nye tilfælde pr. år i DK. • Ætiologi og patogenese ukendte. • Kan være langsomt til meget aggressivt forløbende.	• Karakteriseret ved fåtallige neoplastiske Hodgkin- og Reed-Sternberg celler • Ses i alle aldersgrupper, med to toppunkter: et omkring 20-årsalderen og et andet ved 45-års alderen. • Hodgkin lymfom rammer mænd noget hyppigere end kvinder. • Ca 120 tilfælde pr. år i DK • Antallet af nye tilfælde pr. år har været næsten uændret gennem de sidste cirka 40 år, mens dødeligheden i samme periode har været kraftigt faldende • Ætiologi og patogenese ukendte. • Mediastinale lymfeknuder er hyppigt involveret.



Figur 117. MGG. Lavmalignt Non-Hodgkins lymfom
Ensartet cellebillede med relativ små abnorme lymfocytter.



Figur 118. MGG. Højmalignt Non-Hodgkins lymfom.
Store abnorme lymfocytter af varierende størrelse.

IMMUNHISTO-CYTOKEMI

Immunhistokemi og -cytokemi er uundværlige redskaber til en mere nøjagtig klassifikation af både de primære og de metastatiske tumorer i lungerne. Metoden kan anvendes på cytologiske udstrygninger, men celleblokke af præcipitater foretrækkes, fordi det giver mulighed for at følge den samme cellegruppes eller cellepopulations reaktion med forskellige immunkemiske markører.

Ingen markører er specifikke for én diagnose, hvorfor immunresultatet altid skal foreligge som et immunpanel og tolkes i kontekst med morfologi og kliniske oplysninger på patienten.

I nedenstående simplificerede tabel ses de hyppigste anvendte markører til klassifikation af primære lungecancere og deres hyppigste reaktionsmønstre.

Lungecancer	TTF	Napsin	CK 7	CK 5	P63	P40	Synap- tofysin	Chromo- granin
Planocellulært karcinom	-	-	-	+	+	+	-	-
Adenokarcinom	+	+	+	-	-	-	-	-
Neuroindokrint karcinom	+	-	-(+)	-/+	-	-	+	+

MOLEKYLÆRBIOLOGISKE METODER

Gennem de senere år er behandling af lungecancer blevet mere differentierede og individualiseret baseret på molekyler biologiske undersøgelser på dels cytologisk materiale og dels på histologisk materiale. De nye behandlingsformer forlænger overlevelsen og har færre bivirkninger end traditionel anvendt kemoterapi.

De molekylerbiologiske metoder baserer sig dels på FISH og dels på PCR med henblik på undersøgelser for EML4alk fusionsmutationer og for EGFR mutationer. Disse er inden for de seneste år blevet standard ved diagnostik af adenokarcinomer og lungekarcinomer med adenokarcinom-komponent. I Danmark anbefales det ikke at udføre analyserne på planocellulære karcinomer og småcellede karcinomer.

EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR)

EGFR er et transmembrant glycoprotein af typen tyrosinkinase receptor og den har en væsentlig funktion i forbindelse med regulering af bl.a. celledeling og differentiering. Ca. 10 % af lungekarcinomer med en adenokarcinom komponent blandt europæere har EGFR mutationer. Disse ses ofte blandt kvinder, der ikke ryger. Mutationerne ses hyppigst hos asiater.

Mutationerne medfører øget celleproliferation og minimering af de traditionelle reparationsmekanismer og apoptoser. Ikke-operabel lungecancer med EGFR mutationer kan behandles med anti-epidermal growth factor receptor (fx Gefitinib og Erlotinib). Det forlænger dels den progressionsfri overlevelse nogle måneder og dels giver det komplet radiologisk respons hos 1,1 % sammenlignet med 0,6 % hos patienter behandlet med traditionel kemoterapi.

Behandling med anti-EGFR anbefales i dag i Danmark som første linje behandling til lungecancer patienter med EGFR mutationer.

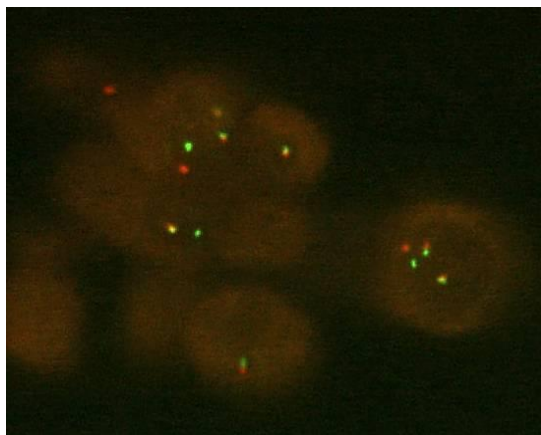
EML4-ALK TRANSLOKATION

Lungekarcinomer uden påvist EGFR mutationer kan undersøges for EML4-ALK translokation, som er en inversion i kromosom 2p. Denne resulterer i dannelse af et fusionsgen, som består af dele af EML4-genet og dele af ALK-genet. Fusionsgenet/proteinet er et onkogen, som kan medføre ukontrolleret celleproliferation og celleoverlevelse og som ses hos 3-5 % af de ikke-småcellede lungekarcinomer og oftest i adenokarcinomer.

Påvisning af translokationen kan ske med immunhistokemi på celleblokke (koagler eller væv) og med en FISH verifikation af de immunhistokemisk positive resultater.

Immunhistokemi er ikke valideret til cytologisk udstrygninger. Har man kun udstrygninger til rådighed anvendes derfor udelukkende FISH metoden. FISH metoden kan udføres på MGG farvede præparater, hvorimod PAP farvede udstrygninger ikke kan anvendes.

FISH analysen til påvisning af ALK fusioner anvendes oftest break-apart FISH probesæt for ALK-genet (figur 119 og 120).



Figur 119. FISH med anvendelse af break-apart probesæt for ALK-genet på histologisk materiale, hvor en cellekerne er ALK positiv, når man kan se adskilte røde og grønne signaler.

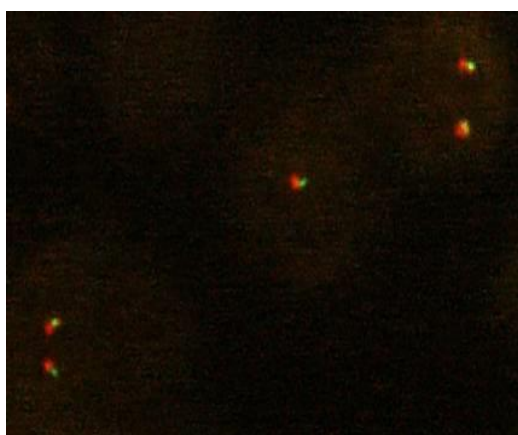


Fig 120. FISH med anvendelse af break-apart probesæt for ALK-genet på histologisk materiale, hvor ALK er normal, idet den grønne og røde signal ligger tæt.

Patienter med EML4-ALK fusion i lungeadenokarcinomer kan få gavn af en relativ ny-udviklet medicin (crizotinib, Xalkori, Pifizer), dog foreløbigt som 2. linie-behandling.

Medicinen viser sig at forlænge den progressionsfri overlevelse med nogle måneder og har tillige færre bivirkninger end den traditionelle kemokurbehandling.

STADIUM OG BEHANDLING AF LUNGEKANCER

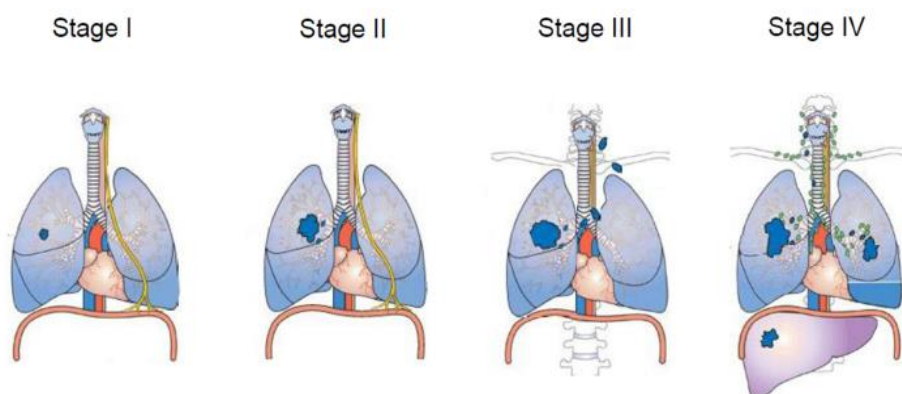
DIAGNOSTIK AF LUNGEKANCER

Efter udredning i pakkeforløbet for lungecancer vil der foreligge et biopsisvar og en eller flere undersøgelser, der viser tumorstadiet. Lungekræft inddeles i ikke-småcellet type (non-small cell lung cancer, NSCLC), hvor man beskriver stadiet med TMN-systemet, der kan oversættes til stadium 1-4 og småcellet type (small cell lung cancer, SCLC), hvor man skelner mellem begrænset og udvidet sygdom. Indenfor de seneste år er der derudover opstået et behov for en præcis angivelse af den histologiske subtype af NSCLC, fordi targeteret behandling af patienter med bronkogen adenokarcinom og genmutationer i fx EGFR-genet (epidermal growth factor receptor) eller ALK (anaplastic lymphoma receptor) -genet har vist sig at have en livsforlængende effekt, som omtalt ovenfor.

TNM-SYSTEMET OG STADIEINDDELING

Når diagnosen lungecancer er stillet, er det vigtigt at få afklaret, hvor udbredt sygdommen er. TNM-systemet, der bruges til tilfælde af NSCLC, beskriver størrelse og lokalisation af tumor

(T), spredning til regionale lymfeknuder (N0-3) og metastaser til andre organer (M). De mange mulige kombinationer kan reduceres til stadium I-IV, hvor stadium I-III har hver to undergrupper. Ved en simpel beskrivelse af stadijerne kan man beskrive stadium I som en tilstand hvor tumor er mindre end 5 cm og uden lymfeknudeinvolvering. Ved stadium II er tumor mere end 5 cm eller har kontakt til thoraxvæggen eller har patologiske lymfeknuder (N1) eller der er flere tumorer i samme lap. Ved stadium III er der involvering af N2 og N3 lymfeknuder og/eller en tumor med kontakt til strukturer i mediastinum. Stadium IV er defineret som en tumor med fjernmetastaser eller en malign pleuraeffusion (figur 121).



Figur 121. Stadiinddelingen af lungecancer fra stadium I- IV.

Ud over de mange primære lungecancertilfælde metastaserer en tredjedel af alle andre maligne tumorer til lungerne (sekundær lungecancer).

BEHANDLING

Man skelner mellem kurativ behandling (operation eller kombineret stråle-kemoterapi) eller palliativ behandling ved uhelbredelig lungecancer. Behandlingsvalget afhænger dels af den histologiske type, stadium samt patientens almentilstand.

Ikke-småcellet lungecancer

NSCLC stadie 1-2 sygdom kan fjernes operativt, men operation er kun mulig hos ca. 20 % af patienterne. Man kan fjerne en lungelap (lumpektomi) eller hele lungen (pneumonektomi). Patienter, der opereres for stadium III eller højere eller tumor større end 4 cm, kan tilbydes præ- eller postoperativ kemoterapeutisk behandling. Hvis operation ikke er mulig eller den ikke kan udføres radikalt, kan man behandle med en kombination af stråle- og kemoterapeutisk behandling eller palliativ behandling. En solitær hjernemetastase eller en metastase i binyrerne kan i nogle tilfælde fjernes radikalt.

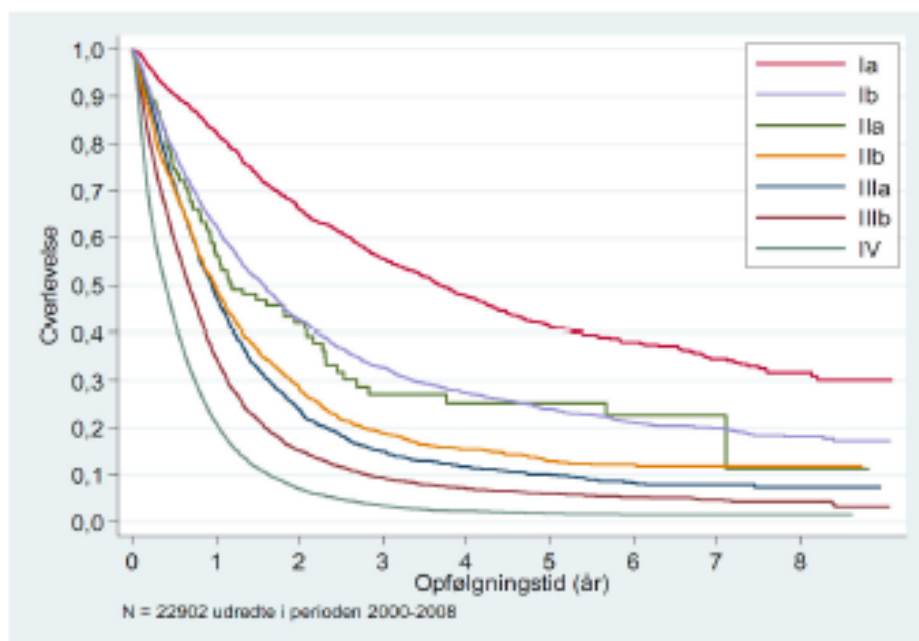
Behandling med EGFR tyrosinkinasehæmmere hos patienter med bestemte mutationer i EGFR genet har vist at have mindst samme virkning på overlevelse som kemoterapi og med forbedret livskvalitet. Man forventer, at der i fremtiden vil komme flere molekylærbiologiske tests, der vil gøre det muligt at tilbyde en mere individualiseret behandling af lungecancerpatienter. På Kræftens Bekæmpelses hjemmeside (www.cancer.dk) kan man desuden finde en lang fortegnelse over targeteret behandling (forsøgsbehandlingstilbud) i Danmark af patienter med ikke-småcellet lungecancer.

Småcellet lungecancer

Andelen af patienter med SCLC har i de senere år været faldende (nu under 15 %), men andelen af patienter med dissemineret sygdom på diagnosetidspunktet har været stigende (ca. 75 %). SCLC er både klinisk og biologisk anderledes end NSCLC. Den er hurtigt voksende og kræver akut behandling, også selvom almentilstanden er svært påvirket. Patienter med småcellet lungecancer behandles som hovedregel udelukkende med kemoterapi. Til trods for hurtig behandlingsrespons hos de fleste patienter er prognosen uændret dårlig. Patienter med begrænset sygdom behandles med kemoterapi og samtidig bestråling af lunge og profylaktiske helhjernebestråling. Patienter med udvidet sygdom behandles med kemoterapi og eventuelt profylaktisk helhjernebestråling. Ganske få patienter kan ved meget begrænset SCLC sygdom tilbydes operativ behandling. Palliativ strålebehandling kan tilbydes ved smertegivende metastaser i knoglerne, ved forsnævring af bronkierne og andre komplikationer.

OVERLEVELSE

Patienter med lungekræft oplever flere svære symptomer/komplikationer (fx smerter, dyspnø og hoste) sammenlignet med end andre cancerpatienter. Trods en voksende behandlingsindsats samt indførelsen af pakkeforløbsprogram for lungecancerpatienter siden 2009 er den gennemsnitlige femårsoverlevelsen for lungecancer særdeles lav dvs. ca. 12 % (figur 122). Ved kombineret kemo- og strålebehandling er 5-års overlevelsen 15-25 %. Medianoverlevelse for udvidet sygdom med SCLC er under 1 år.



Figur 122. Andelen af overlevende (1,0 = 100 %) og antal overlevede år for 22.902 danske lungecancerpatienter, der blev udredt i perioden 2000-2008 i forhold til sygdommens TNM-stadium. (Ref.: www.lungecancer.dk/documents/00141.pdf).

Antallet af nye tilfælde af lungecancer pr. år og dødeligheden er faldende for mænd, men stigende hos danske kvinder, hvor incidensen er næsten fordoblet over de seneste 25 år ifølge Cancerregistret. Den aktuelle forekomst af sygdommen anslås at afspejle patienternes tobaksforbrug for mindst 15 år siden, hvilket understreger, at et permanent rygestop er en nødvendig faktor for at forebygge lungecancer i fremtiden.

REFERENCER

- Bibbo M, Wilbur DC (edi). Comprehensive cytopathology. 3. udgave. Saunders, 2008.
- Dacic S, Nikiforova M N: Present and Future Molecular Testing of Lung Carcinoma. Adv Anat Pathol 2014; 21(2): 94-9.
- Dansk Lunge Cancer Gruppe. Visitation og diagnostik. Referenceprogram, maj 2010.
www.lungecancer.dk/documents/00141.pdf
- Dansk patologiselskab (2011). Retningslinjer for cytologisk undersøgelse af lungecancer:
<http://danskpatologi.dk/default.asp?pid=4#retningslinier> (se under Lungecancer).
- DeMay RM. The art and science of cytopathology. 2. udgave. ASCP Press 2012.
- Gattuso P, Reddy VB, Masood S. Differential diagnosis in cytopathology. 2. udgave. Cambridge Medicine 2015
- Geneser F et al., Genesers histologi, Munksgaard, 1. udgave, 2012.
- Kræftens bekæmpelse. Video af en bronkoskopi-undersøgelse (5 min.):
<http://www.cancer.dk/hjaelp-viden/undersogelser-for-kraeft/kikkertundersogelser/bronkoskopi/>
- Meyer KC, Raghu GG, Baughman RP et al. An official American thoracic society clinical practice guideline: the clinical utility and bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. AM J Respir Crit Med, 2012; 185 (9), 1004-14.
- My Cancer Genome <http://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/>
- Orell S R, Sterrett G F, Whitaker D. Fine Needle Aspiration Cytology. 2005 Elsevier. Forth Edition ISBN 0 443 07364-3
- Sundhedsstyrelsen. Pakkeforløb for lungekræft. 2012.
sundhedsstyrelsen.dk/publ/Publ2012/06juni/.../Lungekraeft3udg.pdf
- The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in Interstitial Lung Disease: An ATS Clinical Practice Guideline.
- Travis et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Soci-ety/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarci-noma. J Thorac Oncol. 2011; 6:244-285.
- VanderLaan P A, Wang H H, Majid A, Folch E. **Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA): An overview and update for the cytopathologist.** Cancer Cytopathology 2014 122:8: 561-576
- Wied GL, Keebler CM, Koss LG et al. Compendium on diagnostic cytology, 7. udgave, TOC Chicago, 1992.
- Wood B, Swarbrick N, Frost F. Diagnosis of Pulmonary Harmartoma by Fine Needle Biopsy. Acta Cytologica 2008; 52: 412-417.