

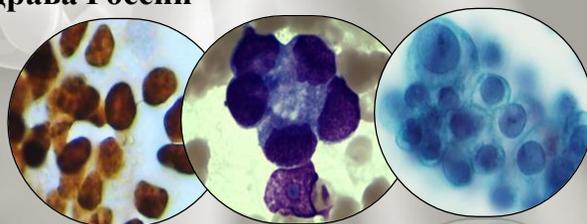


II Ежегодный Конгресс Ассоциации Онкопатологов,
7-8 апреля 2017, г. Москва

Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика метастазов карцином легких. Клинические примеры.

С. В. Сметанина, М.В. Савостикова, В.В. Радовский

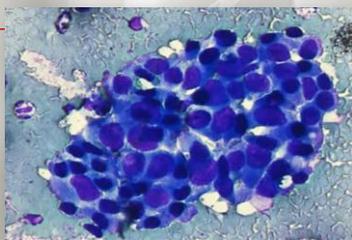
ГБУЗ НО «НОКОД», Нижний Новгород,
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» Минздрава России
ГБУЗ НО «НОДКБ», Нижний Новгород



Эпидемиология

- ✓ Рак легкого в структуре заболеваемости и смертности занимает первое место в мире.
- ✓ В России в 2015 году зарегистрировано 60351 новый случай.
- ✓ Частота встречаемости рака легкого у мужчин 70,97 на 100000 мужского населения, у женщин 15,54 на 100000 женского населения.

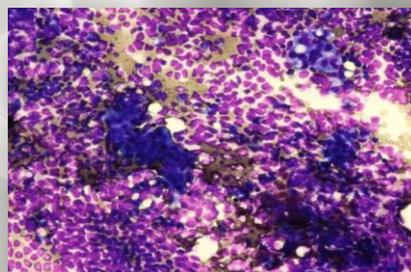
(А.Д. КАПРИН, В.В. СТАРИНСКИЙ, Г.В. ПЕТРОВ 2015г)



Эпидемиология

- ✓ У мужчин доминирует плоскоклеточный рак
иск. Сев.Америка, Китай, Япония.
- ✓ У женщин доминирует аденокарцинома
иск. Англия, Польша (ПКРЛ), Шотландия (МКТЛ).

(Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink KH, Harris CC: 2004)



Карциномы

из всех злокачественных новообразований легкого составляют 95%

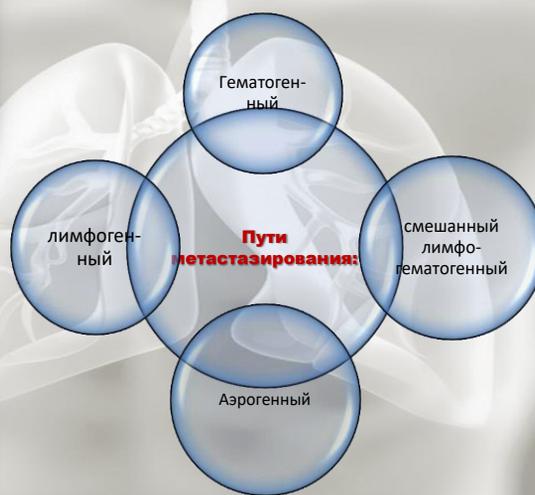
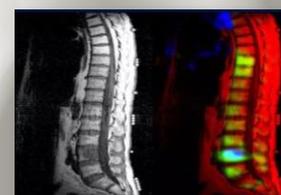


При первичном обращении более 60 % больных имеют распространенные стадии опухолевого процесса, что обусловлено

- объективными трудностями выявления злокачественных новообразований легких,
- недостаточной эффективностью работы амбулаторной онкологической службы.



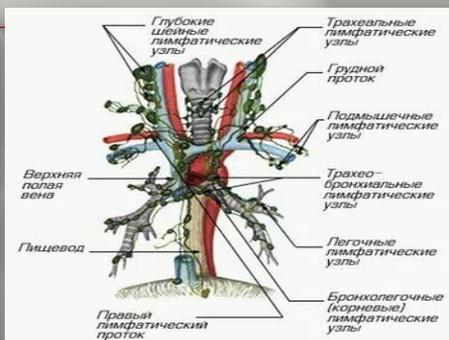
Частота метастазов рака легких, по данным вскрытий, определяется различными исследователями с частотой в 88—100%.



Первым этапом лимфогенного метастазирования являются лимфоузлы ворот легкого, вторым — лимфоузлы бронхов, третьим— лимфоузлы трахеи и средостения. В совокупности лимфатические метастазы в грудной клетке при раке легкого, по мнению большинства онкологов, отмечаются у 75—85% всех пациентов.



BD SurePath™,
окраска по Папаниколау



Наиболее частой локализацией метастазов в другие органы являются: печень, надпочечники, почки, головной мозг, легкое, плевра.

Причины злокачественного плеврита

Причины злокачественного плеврита		
мужчины	Рак легкого	49%
	Лейкозы, лимфомы	21%
	Рак органов ЖКТ	7%
	Рак мочевого тракта	6%
	другие	17%
женщины	Рак МЖ	50%
	Лейкозы, лимфомы	17%
	Рак легкого	15%
	Рак яичников	12%
	другие	6%

Частота встречаемости специфических выпотов:

при плоскоклеточном раке - 10-15%;
при аденокарциноме - 80 %;
при мелкоклеточном раке – 5-10%

Причины злокачественных выпотов

(Волченко Н.Н. Борисова О.В. «Диагностика злокачественных опухолей по серозным экссудатам» 2016)

Причины злокачественного асцита

Причины злокачественного асцита		
мужчины	Рак органов ЖКТ	68%
	Лейкозы, лимфомы	20%
	Рак легкого	7%
	Рак мочевого тракта	5%
	другие	17%
женщины	Рак МЖ	50%
	Лейкозы, лимфомы	17%
	Рак легкого	15%
	Рак яичников	12%
	другие	6%

Исследование 584 специфических выпотов показало, что метастатический рак легкого был обнаружен в 167 случаях (49% всех случаев у мужчин и 15% - у женщин).

В 41,3% наблюдений гистологически была верифицирована АК,

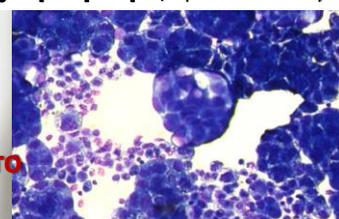
- 24,6 % - мелкоклеточный рак
- 20,3 % - плоскоклеточный рак
- 9,6 % - крупноклеточный рак
- 3,6% - аденосквамозный рак
- 0,6 % - карциноид

Johnston WW, 1985

BD SurePath™, окраска по Папаниколау



Cytospin препарат, окраска по Лейшману



Плеврит.

Метастаз аденокарциномы легкого

Данные по материалу аутопсий показали, что из 143 выпотов РЛ являлся их причиной

в 28,7% у мужчин

в 20,6% у женщин.

DiBonito L. et al., 1992

Плеврит.

Метастаз аденокарциномы легкого



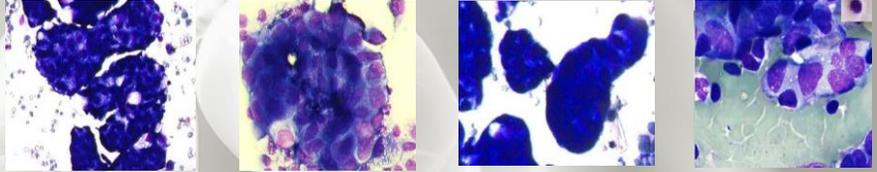
BD SurePath™, окраска по Папаниколау



Cytospin препарат, окраска по Лейшману

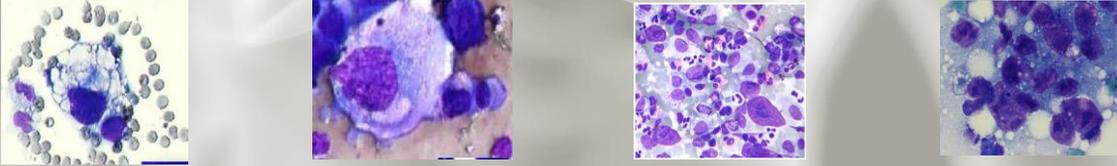
АДЕНОКАРЦИНОМА ЛЕГКОГО

Чаще всего АК легкого представлена в виде комплексов, которые в выпотных жидкостях хорошо контрастируют с мезотелием, но иногда могут имитировать мезотелиому. Опухолевые клетки обычно средних размеров, в скоплениях плотно прилежат друг к другу, цитоплазма вакуолизированна, ядро увеличено, хроматин распределен неравномерно, выражены ядрышки.

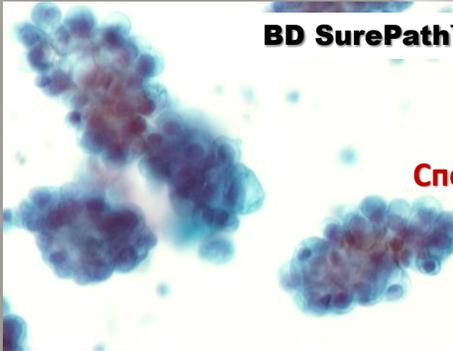


Комплексы опухолевых клеток переменных размеров.

При низкой степени дифференцировки АК легкого чаще обнаруживаются в виде отдельно лежащих клеток с эксцентрично расположенным ядром с выраженной атипией.



BD SurePath™, окраска по Папаниколау

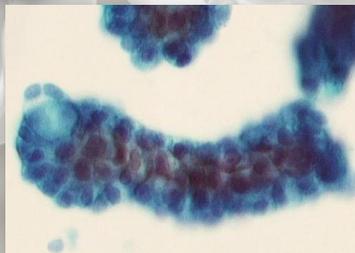
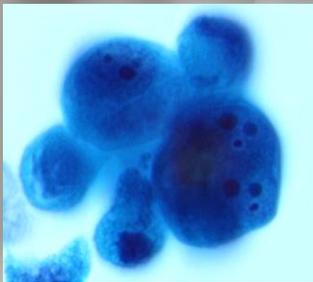


Специфический плеврит

АКЛ



Ацинарная структура



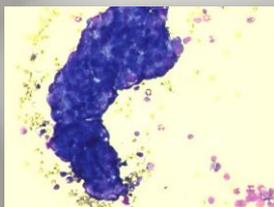
Псевдопапиллярная структура



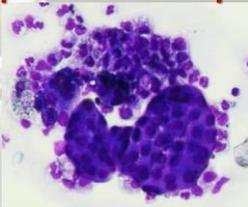
Дифференциальная диагностика

комплексы клеток РЛ следует дифференцировать с РМЖ, РЯ, иногда с карциномами ЖКТ, папиллярным вариантом мезотелиомы и т.д.

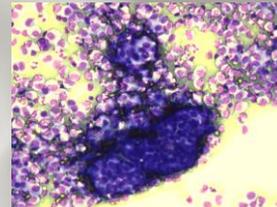
Специфический плеврит



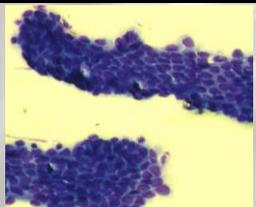
AK яичников



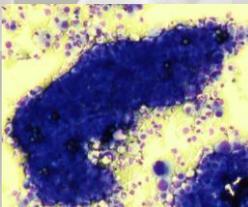
мезотелиома



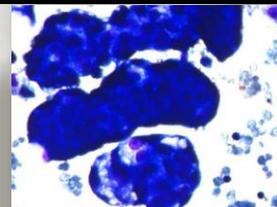
AK желудка



РМЖ



AK эндометрия



AK легкого

Маркеры «принадлежности к легким»

TTF-1 Выраженная экспрессия отмечается в клетках АК и МКРЛ в 80-96% (до 7% ПКРЛ)

Исследования показывают, что данный маркер обладает 92 % чувствительностью (окрашивание 61 из 66 случаев)

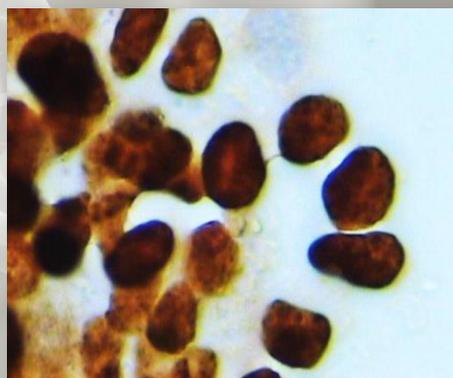
(Mimura T. et al., 2007)

100% специфичностью при дифференцировке АК легкого и мезотелиомы

(Gomez-Fernandez C. et al., 2002; Zhu W. et al., 2007)



TTF-1



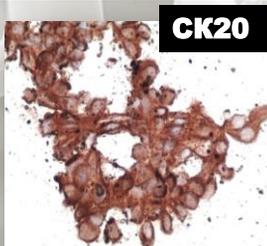
Маркеры «принадлежности к легким»

Napsin-A – экспрессия в 87,5% карцином легкого (*Suzuki A. et al., 2005*).

Napsin-A превосходит в чувствительности TTF-1, в том числе в количественном отношении, что дает возможность использовать его на материале с малым количеством клеток.

CK7 и CK20 – неспецифические маркеры для легких, однако позволяют дифференцировать АК легкого от других первичных опухолей. Рак легкого обычно CK7(+) и CK20 (-) (в 50%).

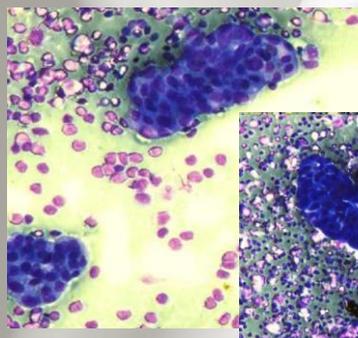
! муцинозный вариант АК имеет противоположный профиль.



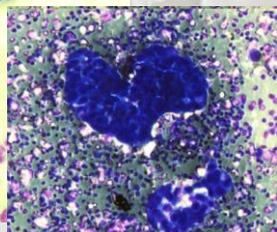
Клиническое наблюдение: пациентка К. 56 лет

Клинический диагноз: рак молочной железы III ст., образование в легком (mts?), плеврит. Жидкость из плевральной полости V= 300 мл.

Цитологическое заключение: специфический экссудат с наличием комплексов клеток карциномы.

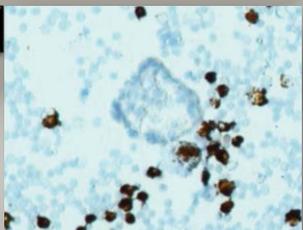


Citospin препарат окраска по Лейшману, X 200

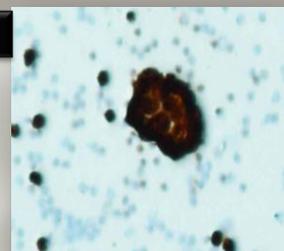
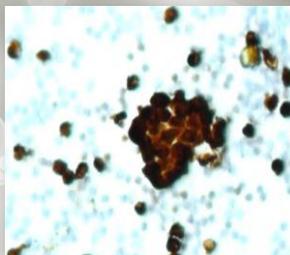


Иммуноцитохимическое исследование:

ЭР (-)



CK7 (+)



Маммаглобин (-)



TTF1 (+)



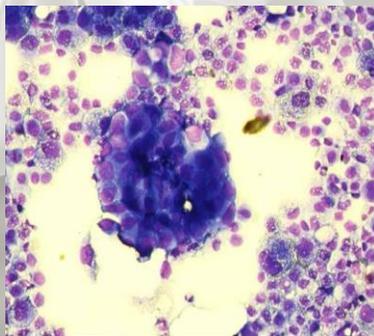
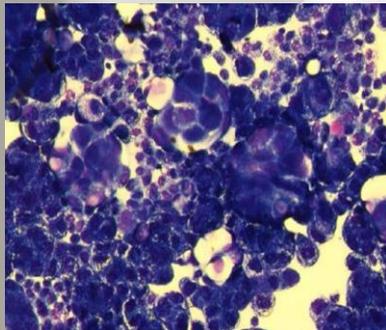
Заключение: метастаз аденокарциномы легкого.

Клиническое наблюдение: пациентка О. 74года

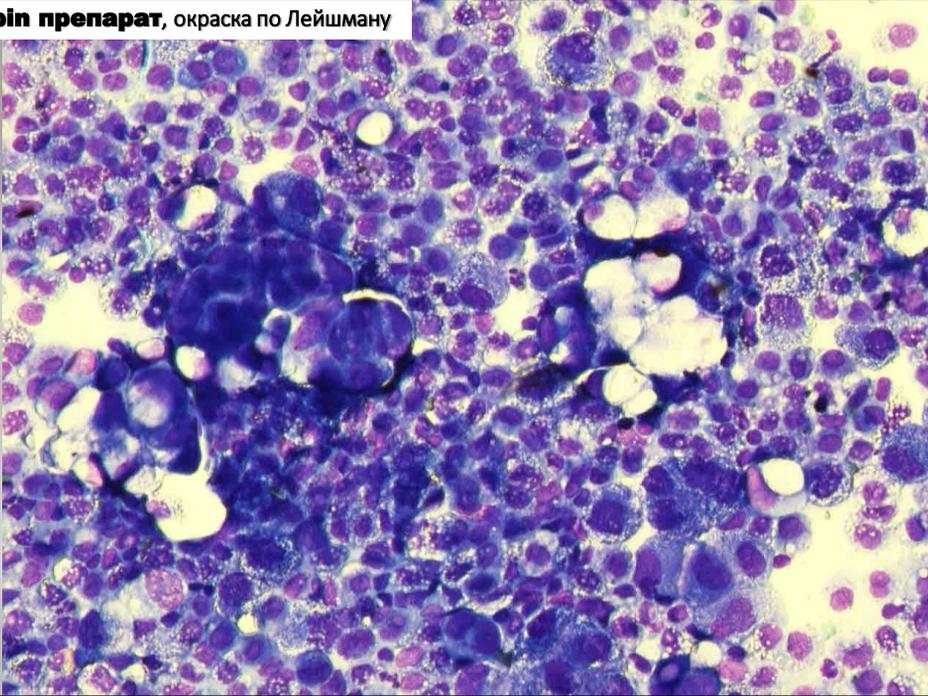
Клинический диагноз: плеврит без ПВО. Жидкость из плевральной полости V= 600 мл.

Цитологическое заключение: специфический экссудат с наличием комплексов клеток аденокарциномы

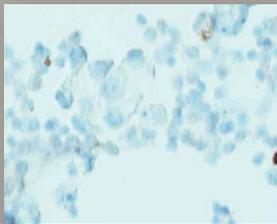
Citospin препарат окраска по Лейшману



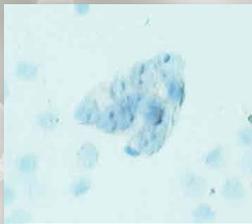
Cytospin препарат, окраска по Лейшману



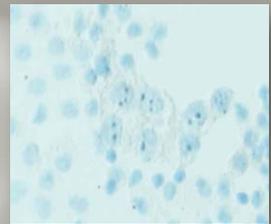
Иммуноцитохимическое исследование:



WT1 (-)



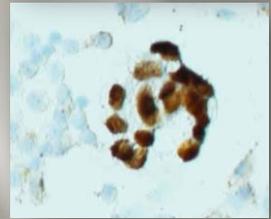
WT1 (-)



TTF1 (+)



TTF1 (+)



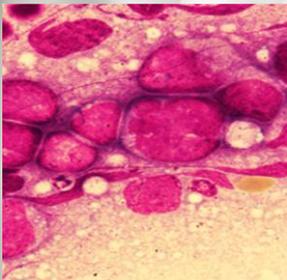
Заключение:

метастаз аденокарциномы легкого.

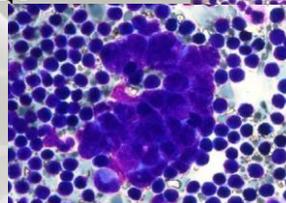
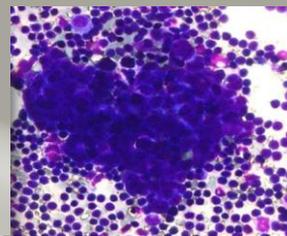
Мелкоклеточный рак легкого

- ❑ МКРЛ редкая находка при исследовании выпотных жидкостей. Клетки небольших размеров (не более 3х диаметров лимфоцита), располагаются в виде небольших групп/цепочек с дегенеративными изменениями. ЯЦО высокое.

В жидкостях цитоплазма клеток может быть более обильная, ядра гиперхромные, нуклеолы не просматриваются.

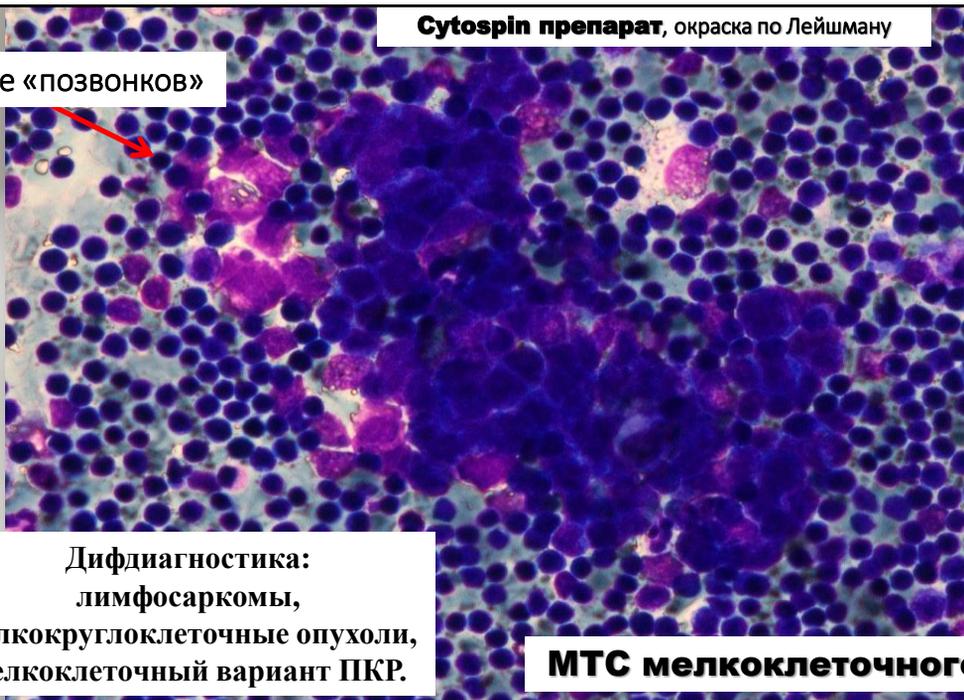


- ❑ При пункции метастатических очагов опухолевые клетки чаще всего лежат в виде цепочек наподобие «позвонков» или разрозненно переменных размеров с нежной структурой хроматина.



подобие «позвонков»

Cytospin препарат, окраска по Лейшману



Дифдиагностика:
лимфосаркомы,
мелкокруглоклеточные опухоли,
мелкоклеточный вариант ПКР.

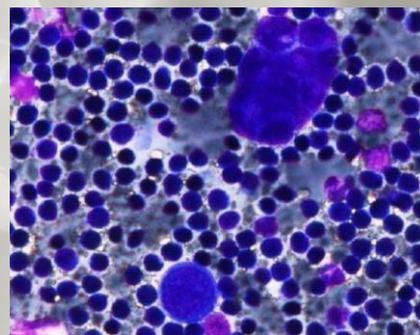
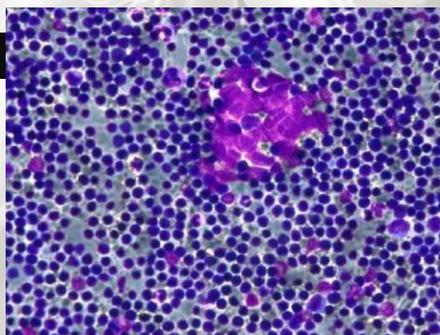
МТС мелкоклеточного рака

Клиническое наблюдение: пациент С. 64 года

Клинический диагноз: Рак легкого. Жидкость из плевральной полости V= 500 мл.

Цитологическое заключение: специфический экссудат с наличием комплексов клеток рака, вероятно, мелкоклеточного.

окраска по Лейшману



Дополнительные методы.

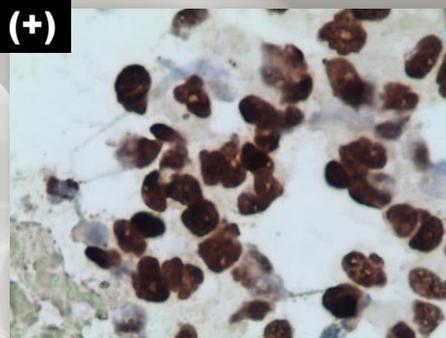
Цитокератины – МКРЛ обычно позитивен по CK8, CK18, CK19.
негативен по CK7, CK20, p63

TTF-1 наблюдается в **94% МКРЛ.**



ОСК (+)

TTF-1 (+)



- The value of thyroid transcription factor-1 in cytologic preparations as a marker for metastatic adenocarcinoma of lung origin / Hecht JL, Pinkus JL, Weinstein LJ, Pinkus GS.// American Journal of Clinical Pathology 2001, 116:483-8.
- Do liquid-based preparations of pulmonary bronchial brushing specimens perform differently from classically prepared cases for the diagnosis of malignancies?: Observations from the college of American pathologists interlaboratory comparison program in nongynecologic cytology / Tabatabai, Z.L., Auger, M, Kurtycz, D.F.I., Laucirica, R., Souers, R.J., Nayyar, R., Khalbuss, W.E., Moriarty, A.T., Fraig M- Archives of Pathology and Laboratory Medicine -Volume 139, Issue 2, 1 February 2015, Pages 178-183
- Role of TTF-1, CK20, and CK7 immunohistochemistry for diagnosis of primary and secondary lung adenocarcinoma.// Su YC, Hsu YC, Chai CY. American Journal of the Medical Sciences - 2006, Jan. 22 (1):14-9.

Дополнительные методы. Иммуноцитохимия.

Хромогранин А позитивен в 50%, высокоспецифичный компонент нейросекреторных гранул.

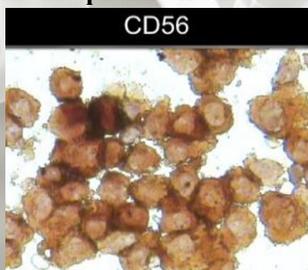
Синаптофизин позитивен в 75% , высокочувствительный маркер даже при малом количестве гранул в клетка МКРЛ.

CD56- экспрессия в 95-100% МКР, также позитивные реакции отмечаются для НЭО яичников, эндометрия, почек.

Наилучшие показатели чувствительности и специфичности отмечены при совместном использовании хромогранина А, синаптофизина и CD56.



Хромогранин А



CD56



Синаптофизин

Плоскоклеточный рак

Редкая находка в серозных выпотах.

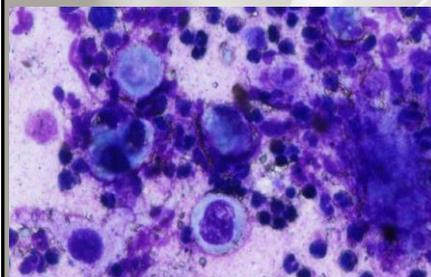
➤ Исследование 9297 выпотов за 33 года выявило 46 случаев метастатического ПКРЛ. (Gamez R.G., Berger M.J., Pambuccian S.E. 2009)

Специфических отличий в морфологии ПКР легкого от другой локализации нет.

Высокодифференцированный ороговевающий ПКР легко узнаваем.

В выпотных жидкостях как правило небольшое количество клеток, расположение - разрозненное.

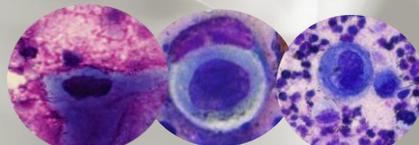
Нередко обнаруживаются небольшие группы из клеток, формирующие подобие «раковых жемчужин»



окраска по Лейшману



BD SurePath™, окраска по Папаниколау



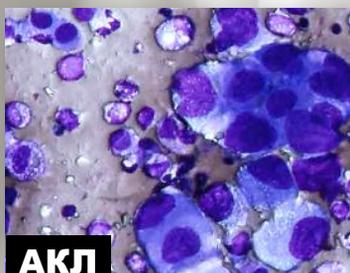
- ❑ Менее дифференцированный ПКР выглядит в виде округлых или уплощенных групп. В клетках ороговевающая цитоплазма может выглядеть «расслоенной», содержать вакуоли.

Дифференциальная диагностика

Мезотелиома – как и при ПКР, «зональная» окраска цитоплазмы, тенденция к образованию клеток друг вокруг друга, формирование межклеточных просветов. При ПКР границы клеток более четкие, плотные, зона просветления – **вокруг ядра**, при мезотелиоме – **по периферии**.

Аденокарцинома – как и при ПКР имеется наличие вакуолей, но не характерно формирование «жемчужин».

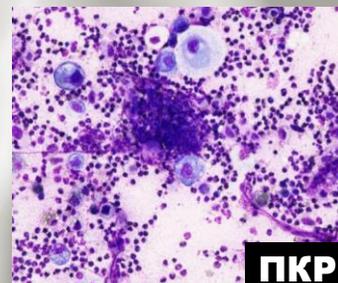
Cytospin препарат, окраска по Лейшману



АКЛ



мезотелиома



ПКР

Дополнительные методы

Мезотелин – экспрессия практически в 100% ММ, до 40% АК легкого, до 27% ПКР легкого.

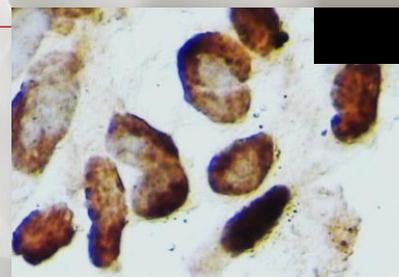
Однако в клетках АК и ПКР окраска как правило цитоплазматическая, фокальная, тогда как при ММ окрашиваются преимущественно мембраны клеток. Также сообщается об экспрессии мезотелина в клетках АК внелегочных локализаций.

WT1 – отрицателен в клетках ПКР и АК легкого, экспрессируется в 43-93% ММ, а также в 83-100% серозных РЯ.

Другие маркеры

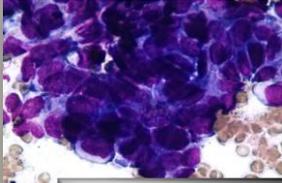
TTF-1 – негативен в клетках ММ и ПКР.

p63 – выраженная ядерная реакция в 80-100% ПКР, в клетках АК легкого и ММ отмечается редко.

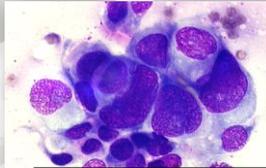


- p63 and TTF-1 Immunostaining / Maoxin Wu, MD, PhD; Beverly Wang, MD; Joan Gil, MD; Edmond Sabo, MD; Lorraine Miller, PhD; Li Gan, MD; David E. Birstein, MD. - American Journal of Clinical Pathology - 2003;119(5)
- Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. /Matoso A, Singh K, Jacob R, Greaves WO, Tavares R, Noble L, Resnick MB, Delellis RA, Wang LJ: Appl ImmunohistochemMolMorphol2010, 18:142-9

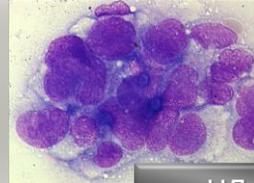
Неороговевающий ПРЛ нередко «подражает» крупноклеточному и мелкоклеточному раку, низкодифференцированной АК, метастатическим опухолям почек и яичников и т.д.



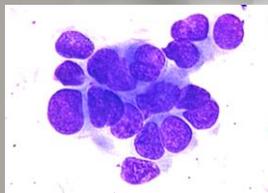
HDAK



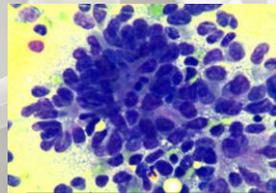
Крупноклеточный рак



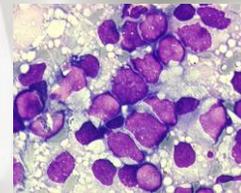
HDPRL



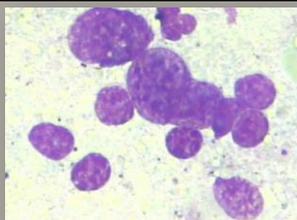
MTC RMJ



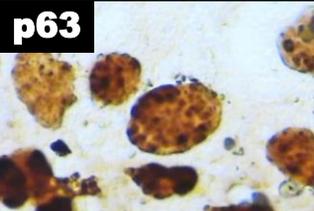
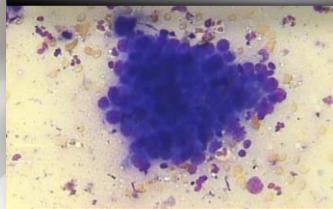
Нейроэндокринный РЛ



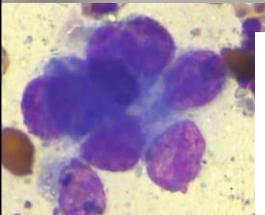
MRЛ



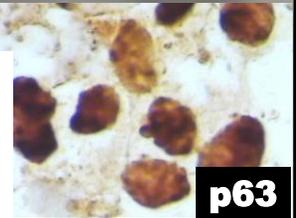
HDPRL



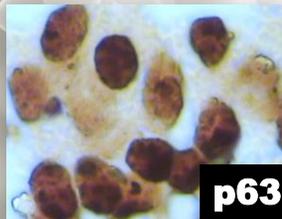
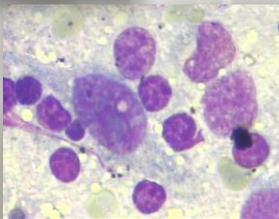
p63



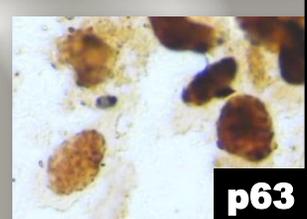
При метастазах РЛ (+клиника) без четких морфологических признаков аденогенной, нейроэндокринной или плоскоклеточной дифференцировки проводятся дополнительные методы с использованием следующей панели антител: p63, TTF1, синаптофизин, напсин А, CD56 (30 % случаев)



p63



p63

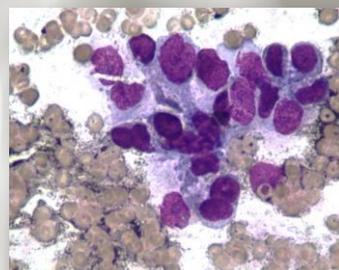
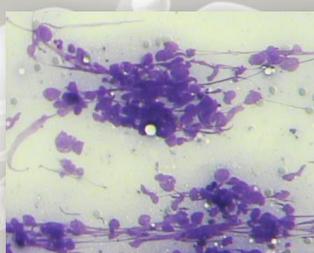
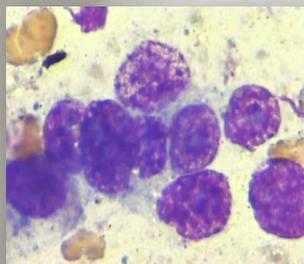


p63

Метастатическое поражение головного мозга:

РЛ составляет 47% всех метастазов в головной мозг

Чаще страдают мужчины



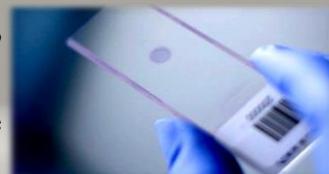
- при плоскоклеточном раке - в 56,5%;
- при аденокарциноме - в 31%;
- при мелкоклеточном раке - в 12,5%.

(дис. Рябуха Д.О. 2010 «Клинико-диагностические особенности церебральных метастазов рака легкого»)

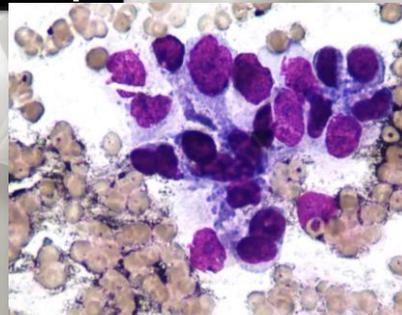
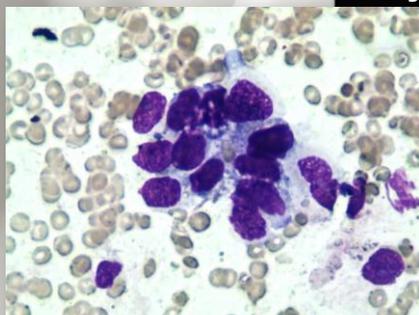
Клиническое наблюдение: пациент К., 76 лет.

Клинический диагноз: в 2013 г. АК легкого. Оперативное лечение, ХТ. В декабре 2016г. метастазы в головной мозг.

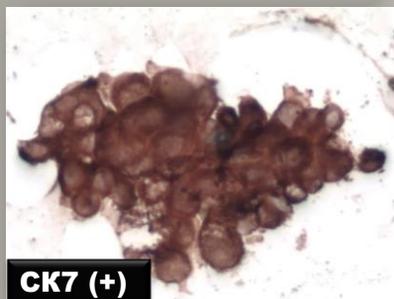
Цитологическое заключение: (люмбальная пункция) определяются отдельные комплексы аденокарциномы.



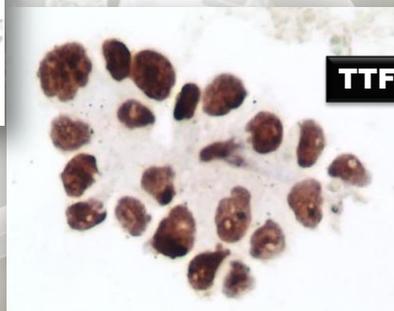
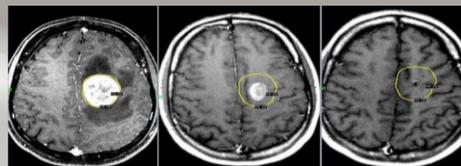
Получено 6 мл ликвора



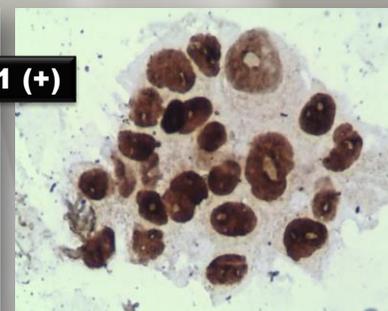
Иммуноцитохимическое исследование:



CK7 (+)



TTF1 (+)



метастаз аденокарциномы легкого

Метастатическое поражение раком легкого костей скелета

Частота метастатического поражения костей скелета при раке легких составляет 30-40%, уступая раку молочной и предстательной железы.

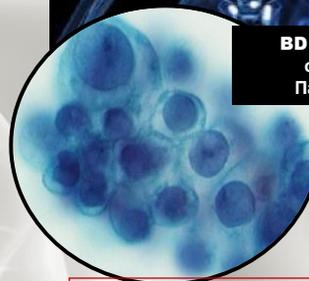
У 2,3% больных раком легкого метастазы в кости являются первичным проявлением заболевания.

При мелкоклеточном раке легкого в 10% случаев кости являются единственным местом метастазирования.

- при плоскоклеточном раке в 25,5%
- при аденокарциноме в 51,2%
- при мелкоклеточном раке в 23,3%



**BD SurePath™,
окраска по
Папаниколау**



**мужчины - 74,4%
женщины - 25,6%**

- И.Э. Кулиева, Т.Д. Карпенко, В.А. Горбунова «Опыт применения резорбты (золедроновой кислоты) при лечении костных метастазов рака легкого ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН/ Онкология, гематология и радиология. 2012, №2
- Бондарук О., Пономарева О., Огородникова Н. и соавт. «Эффективность золендроната при лечении метастатического поражения костей у пациентов с различными первичными опухолями» //Онкология. 2006. т. 8. № 4. С. 348–354

Метастатическое поражение печени раком легкого

- Рылло А.Г., Сидорин В.С., *Диагностика узловых образований печени в онкологической практике/ Под ред. Г.М. Манихаса. СПб. 2007.*
- Еришов В.А. «Морфологические критерии метастазов рака легкого в печени» 2009 Вестник С-петербургского университета Сер. 11 вып.4, С-Петербург.

Рак легкого составляет 42-43% всех метастазов в печень

- при плоскоклеточном раке в 17,1%
- при аденокарциноме в 54,3%
- при мелкоклеточном раке в 28,6%

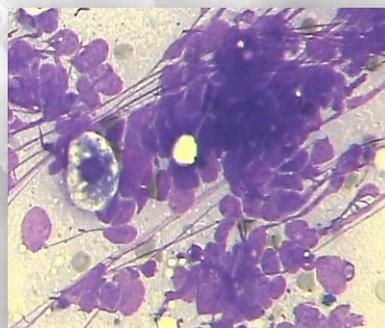
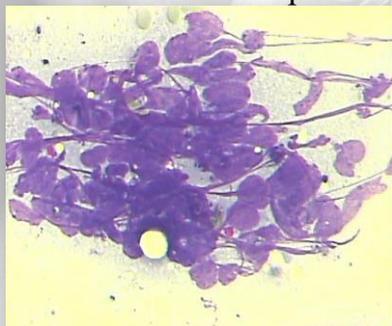
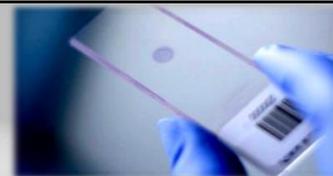


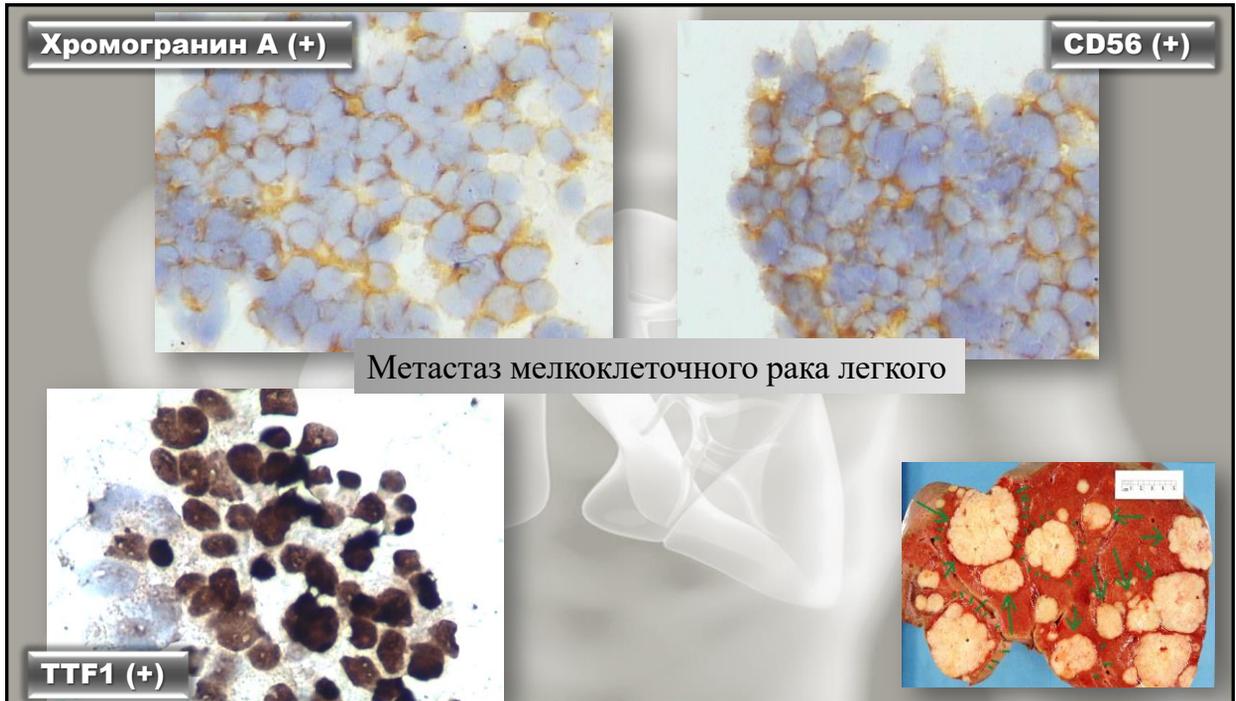
Клиническое наблюдение:

пациент К., 54 года.

Клинический диагноз: в 2015 г. Рак легкого, метастаз в печень.

Цитологическое заключение: (ТИАБ образования правой доли печени) метастаз мелкоклеточного рака с элементами некроза.





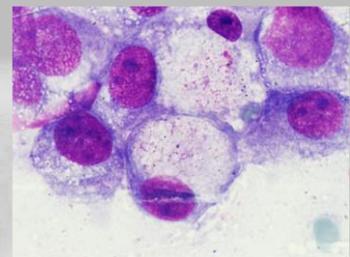
Возможности цитологической диагностики

диагностика

- злокачественных опухолей
- метастатических процессов

установление

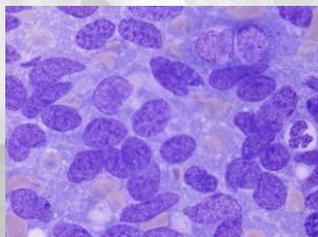
- гистологической формы
- степени дифференцировки опухоли



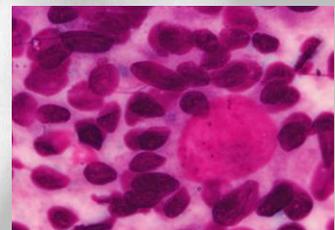
Рак со слизеобразованием



Плоскоклеточный рак



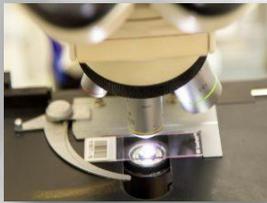
Нейроэндокринная опухоль



Аденокистозный рак

Клиническая цитология полноценный метод морфологического анализа, но существуют определенные ограничения, обусловленные способом получения материала, локализацией патологического очага, особенностями его гистологического строения

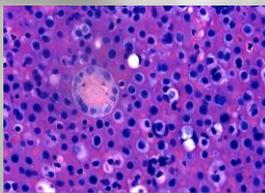
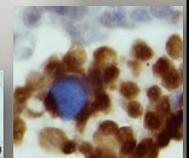
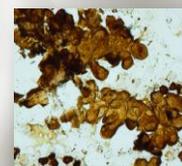
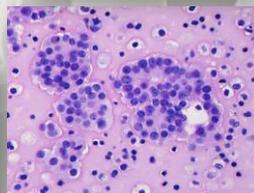
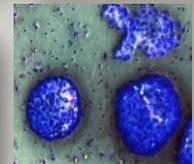
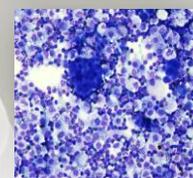
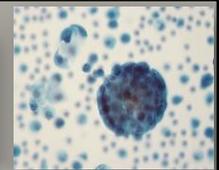
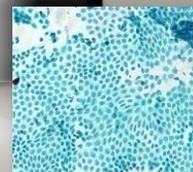
1. Быстрота
2. Простота и относительная безопасность взятия материала;
3. Воспроизводимость = > Возможность динамического наблюдения;
4. Низкая себестоимость
5. В ряде случаев цитологический метод является единственно возможным методом морфологической диагностики



1. Высокая зависимость от качества материала
2. Отсутствие возможности «дорезать материал»



Жидкостная цитология – парафиновый блок



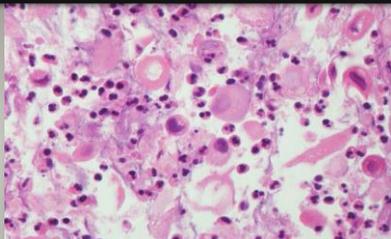
L.P.H. Bahrenberg 1896 г. - впервые применил технику заливки осадка в парафин и изучил его в срезах.

F.S. Mandelbaum 1917 г. - опубликовал результаты своих исследований жидкостей из серозных полостей с использованием парафиновых блоков.

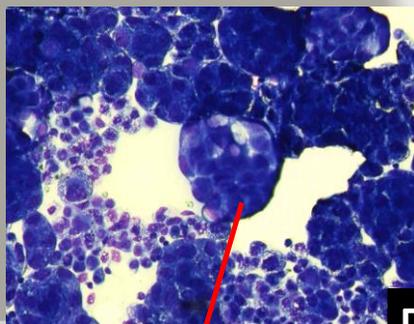
Варианты методик приготовления цитоблоков:

- клеточный блок AgarCyto (*Olson и соавт. 1986.; Kong соавт. 1990 г.*),
- набор Shandon Cytoblock,
- клеточный блок на основе желатина,
- автоматизированная система Cellient (Hologic США).

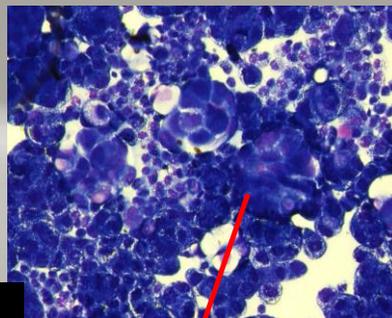
Плеврит. Плоскоклеточный рак легкого



- клеточный блок на основе желатина



Плеврит. АК легкого



- клеточный блок на основе желатина



Преаналитический этап



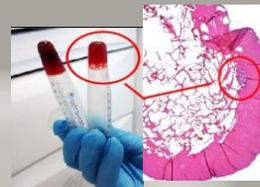
Получение осадка при работе с выпотными жидкостями

- Материал с низкой клеточностью
- После отстаивания жидкости
 1. собрать осадок не менее 100 мл.
 2. Произвести центрифугирование
 3. Объединить осадки
 4. Произвести повторное центрифугирование
 5. Удалить над осадочную жидкость



Полноценный пунктат

Помещение пунктата в пробирку с питательной / транспортировочной средой

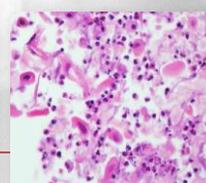
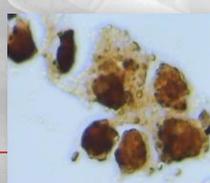
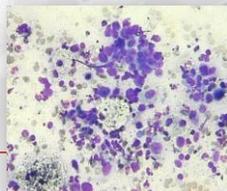


Соблюдение техники приготовления Cell-блока

- При перемешивании желатина с осадком не допускать образование пузырей.
- Не допускать замерзание Cell- блока
- Фиксация в 10% забуферном формалине

Выводы:

- **Цитологическая диагностика** — достоверный метод, позволяющий оперативно получить сведения о характере патологического процесса при условии получения полноценного материала.
- **Иммуноцитохимическое исследование** необходимо при наличии низкодифференцированной карциномы и недифференцированного новообразования, а также при отсутствии сведений о первичном источнике метастаза и наличии первично множественных опухолевых образований.
- **Cell-блоки** целесообразно применять в комплексе с другими морфологическими методами, что значительно повышает информативность исследования.



**Благодарю
за внимание**

