

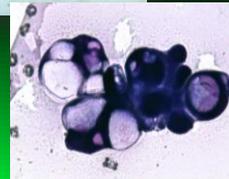
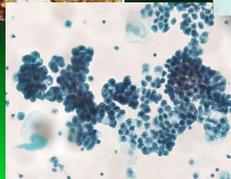
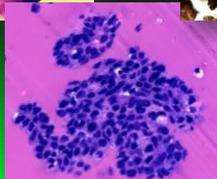
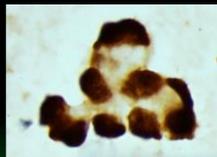
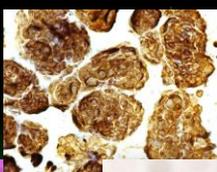
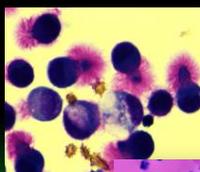
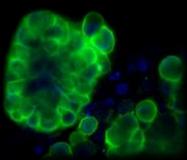


II Ежегодный Конгресс Ассоциации Онкопатологов,
7-8 апреля 2017, г. Москва

Цитоморфологическая диагностика рака яичников. Новый взгляд на проблему.

М.В.Савостикова, К.И.Жорданиа, Ю.Г.Паяниди, Н.Н.Гокадзе

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

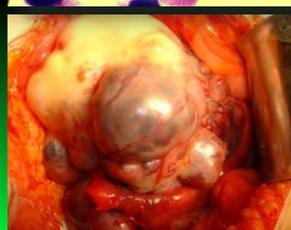
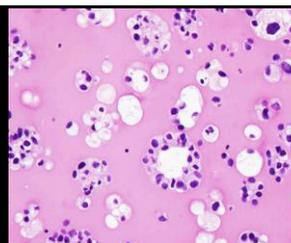


Рак яичников составляет около 90%

всех злокачественных новообразований яичников

В соответствии с новой гистологической классификацией опухолей яичников (пересмотр ВОЗ 2014г.) выделяют следующие гистотипы карцином:

- Серозная (High grade, Low grade)
- Муцинозная
- Эндометриоидная
- Светлоклеточная
- Опухоль Бреннера
- Серомуцинозная
- Недифференцированная





Патогенетические типы «рака яичника»

I тип (25 %)

Дифференцированные:

- ✓ серозный,
- ✓ эндометриоидный,
- ✓ светлоклеточный,
- ✓ муцинозный,
- ✓ опухоль Бреннера.

Мутации: KRAS, BRAF, PTEN, CTNNB1, PIK3CA, ARID1A, PPP2R1A

Развиваются поэтапно, сравнительно доброкачественное течение

II тип (80 %)

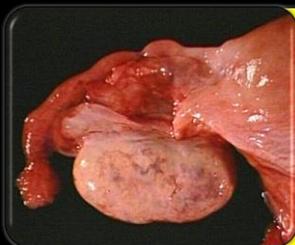
Низкодифференцированные:

- ✓ серозный,
- ✓ эндометриоидный,
- ✓ недифференцированный,
- ✓ карциносаркома

Мутации: TP-53, BRCA 1,2 (I), Vcl-2, HLA-G, HER2/neu, C-kit, дикий тип KRAS, высокий уровень Ki - 67, укороченные теломеры.

Агрессивное течение!

Диагностика рака яичников



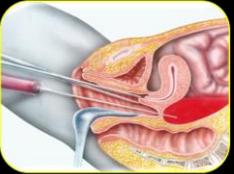
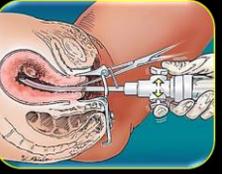
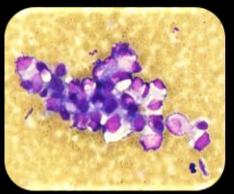
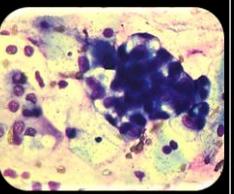
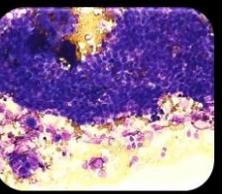
Диагноз основывается

- ✓ на результатах клинических исследований,
- ✓ ультразвукографии (УЗИ) и/или КТ брюшной полости и органов малого таза,
- ✓ измерении уровня в сыворотке крови СА 125, HE4





Цитоморфологическая диагностика рака яичников

			
Выпотные жидкости	Пунктат заднего свода влагалища	Мазки- соскобы с ш/м и ц/к	Аспират из полости матки
			

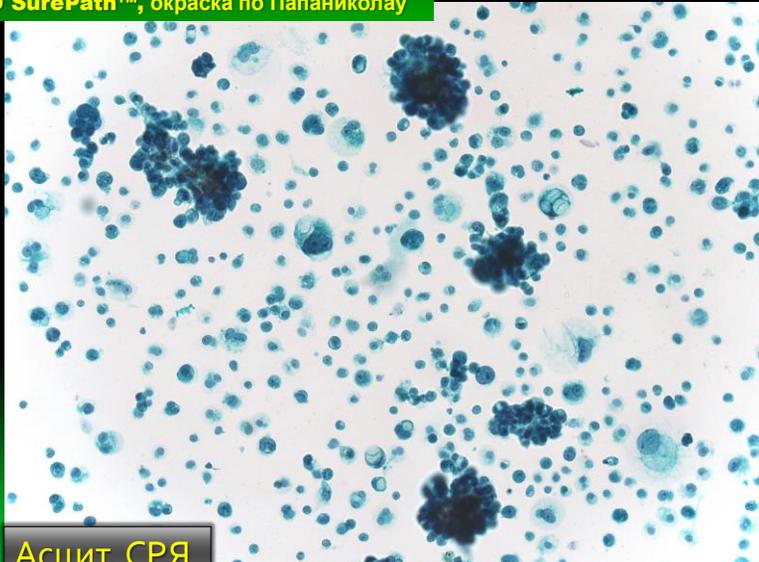


Цитологическое исследование выпотных жидкостей и интраоперационных смывов с брюшной полости при раке яичников – 96% исследований

		
Асцитические жидкости	Метастатический плеврит	Метастазы РЯ в перикард
Асцит при РЯ наблюдался в 79%.	Метастазы РЯ в плевру выявлены у 19% пациенток с IV стадией РЯ.	По данным литературы метастазы рака яичников в перикард наблюдаются редко: у 6,2%
Одновременно асцит и плеврит при РЯ наблюдался в 16%.		

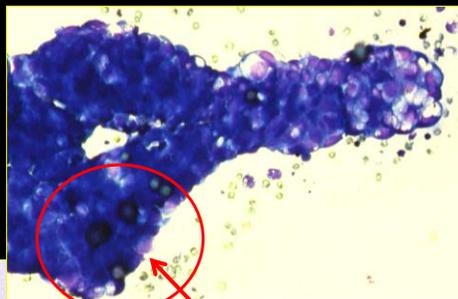
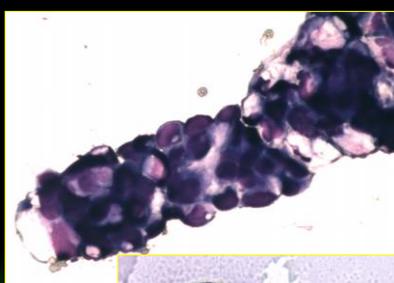
Серозный рак является самым частым гистологическим типом РЯ, составляя 80-85% опухолей яичников.

BD SurePath™, окраска по Папаниколау

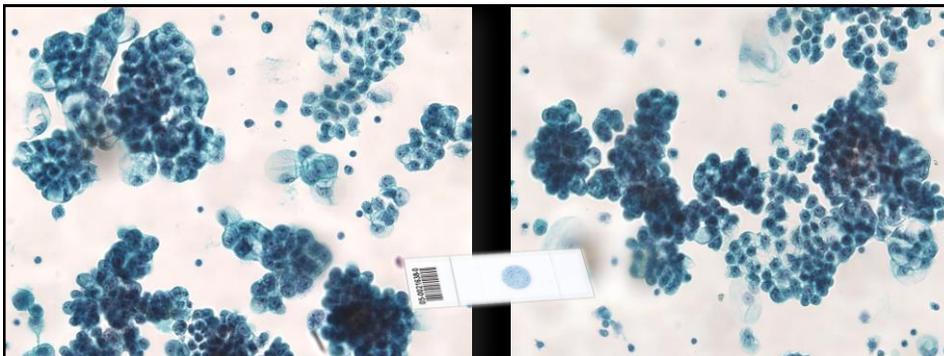


Асцит. СРЯ

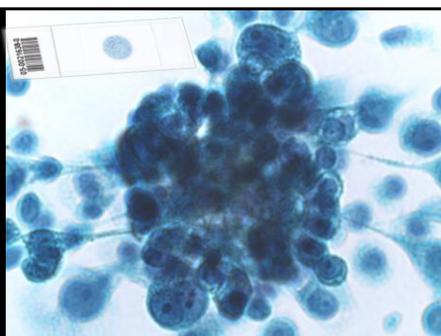
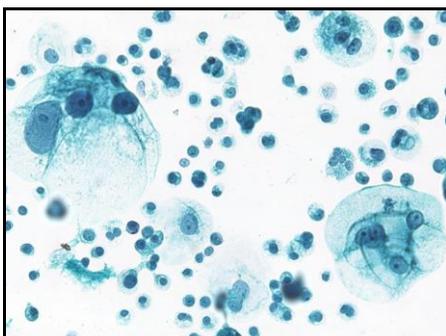
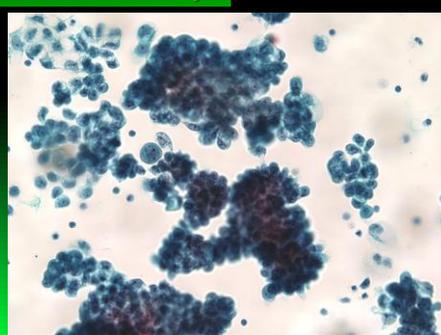
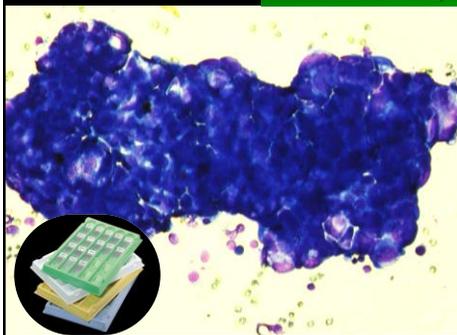
При цитологическом исследовании препаратов выпотных жидкостей хорошо определяются папиллярные структуры опухоли, нередко с кальцинатами в форме псаммомных телец. Выражена атипия клеток. Часто отмечается наличие вакуолизации, из-за чего СРЯ необходимо дифференцировать с муцинозным раком.



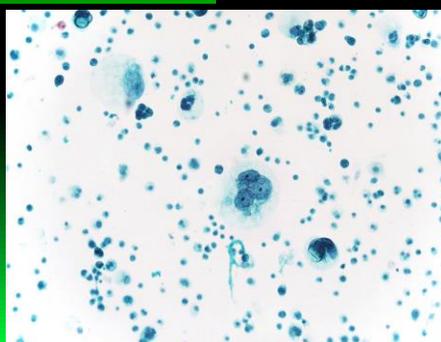
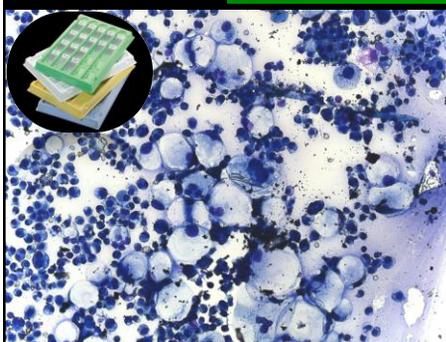
Кальциваты - псаммомные тельца

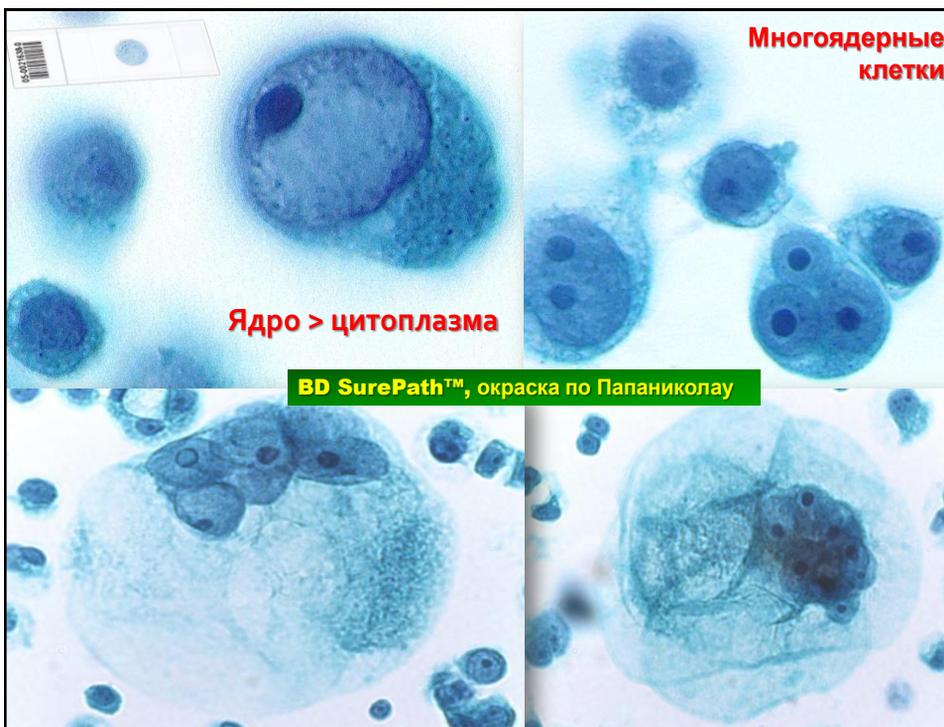


BD SurePath™, окраска по Папаниколау

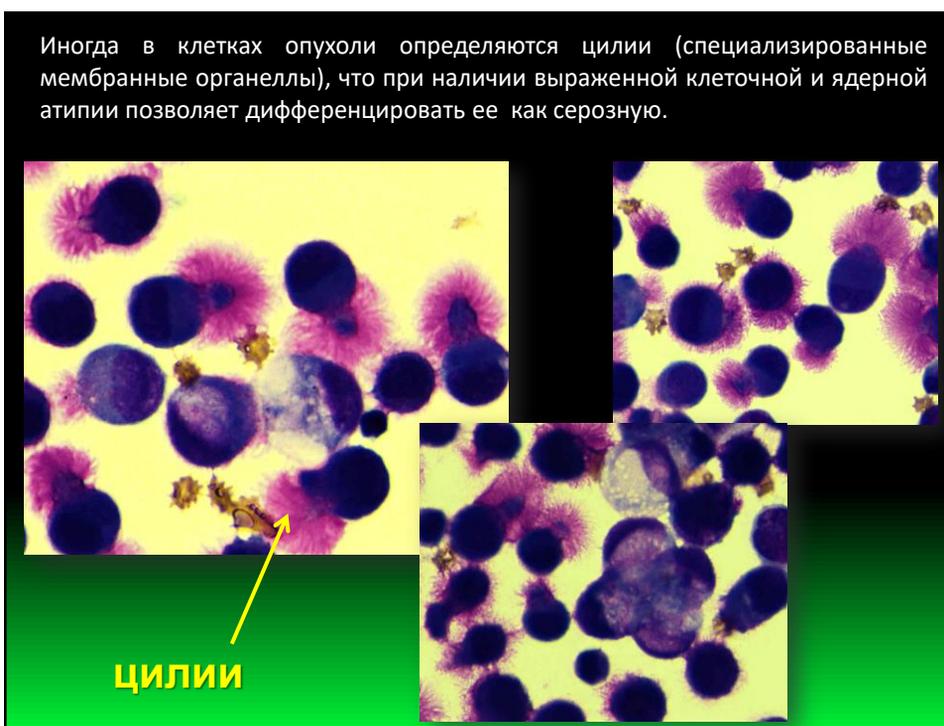


BD SurePath™, окраска по Папаниколау

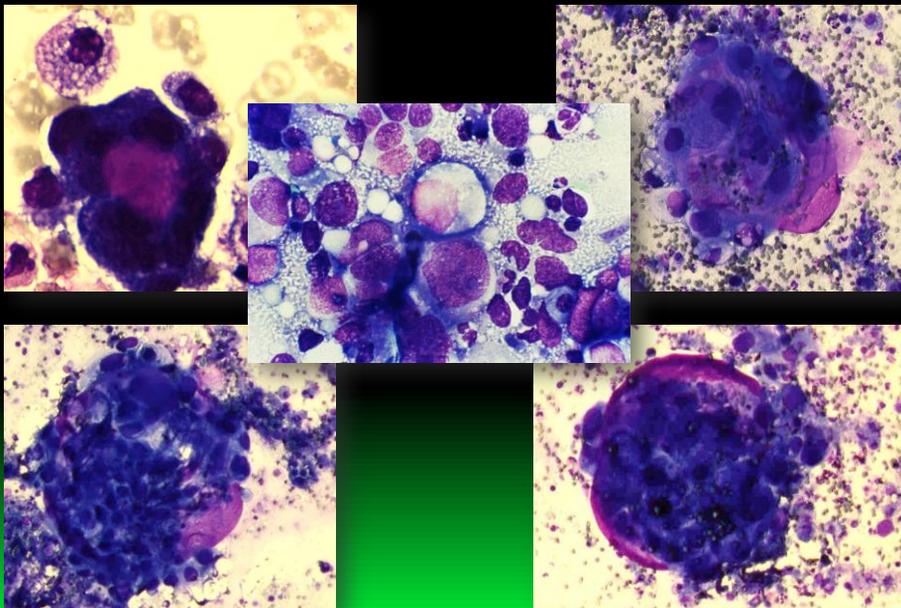




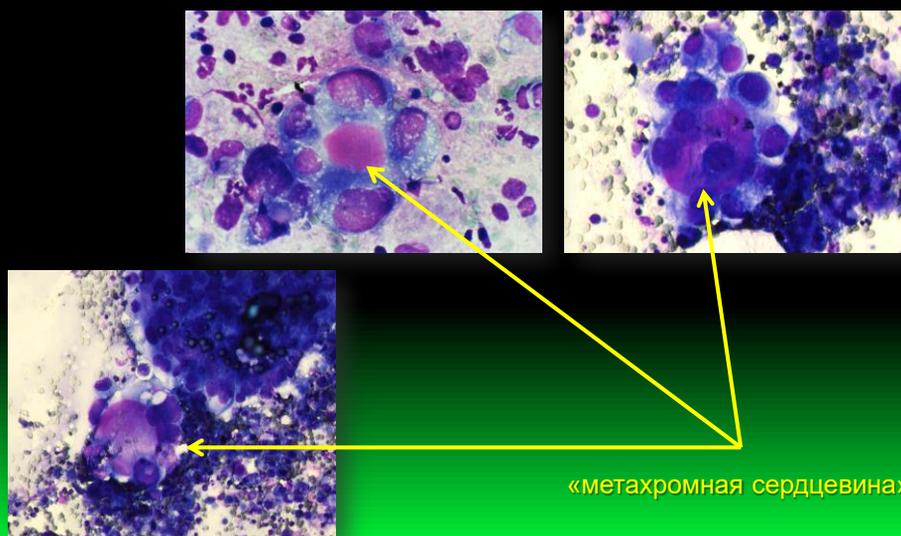
Иногда в клетках опухоли определяются цилии (специализированные мембранные органеллы), что при наличии выраженной клеточной и ядерной атипии позволяет дифференцировать ее как серозную.



Светлоклеточный рак - в 3-5% случаев является причиной асцита при РЯ

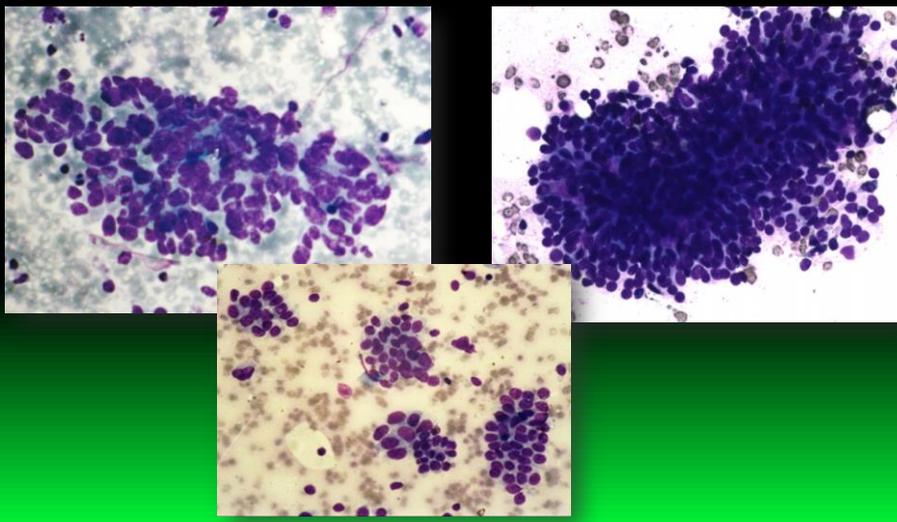


В цитограммах отмечаются ацинарные структуры, в которых клетки расположены в один слой и могут формировать просвет или «**метахромную сердцевину**». Подобная структура является единственным диагностическим характерным признаком этой опухоли в выпотах.

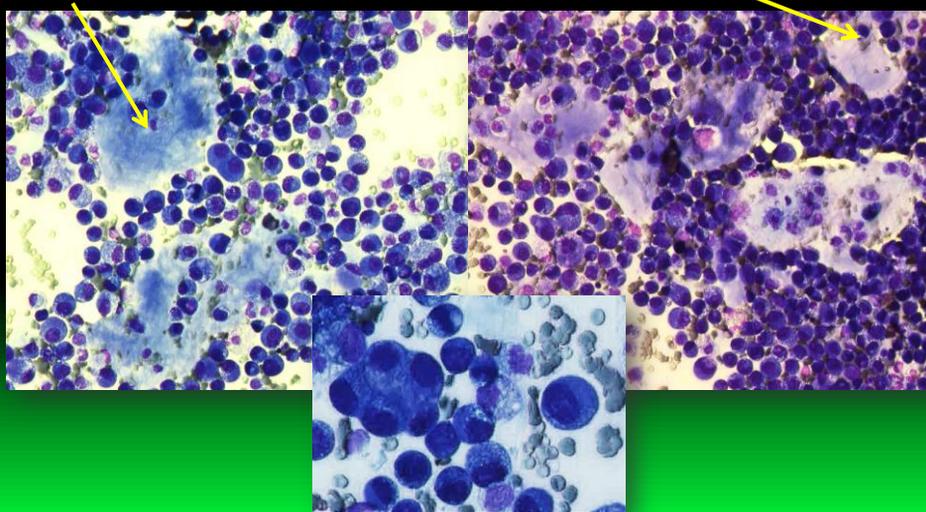


«метахромная сердцевина»

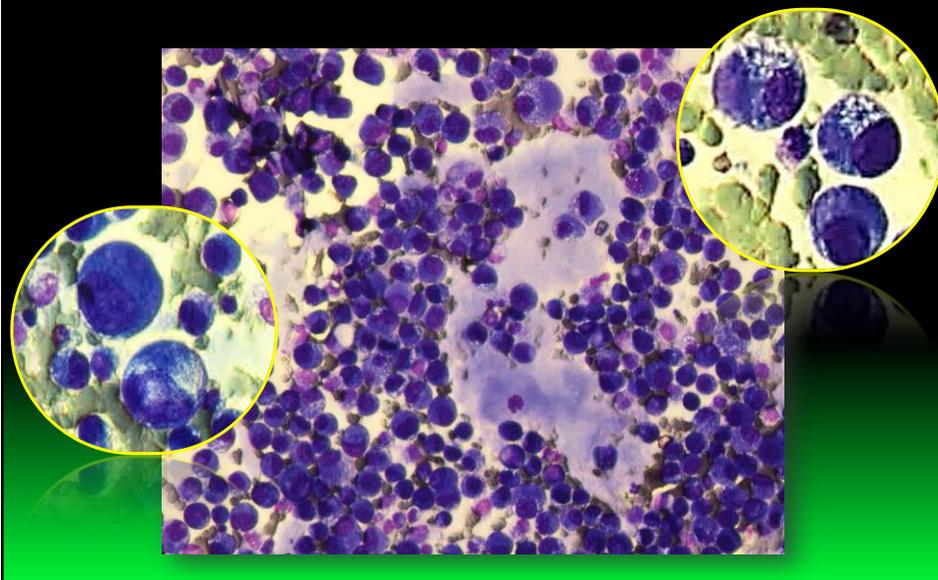
Эндометриоидный рак яичников (ЭРЯ) метастазирует в серозные полости редко и встречается приблизительно в 1% злокачественных выпотов. Высокодифференцированный ЭРЯ морфологически сходен с эпителием эндометрия .



Муцинозный рак яичников (МРЯ) редко метастазирует в серозные полости - менее чем в 1 % наблюдений. При цитологическом исследовании обнаруживаются папиллярные, ацинарные или шаровидные структуры, может определяться **обильная внеклеточная слизь...**

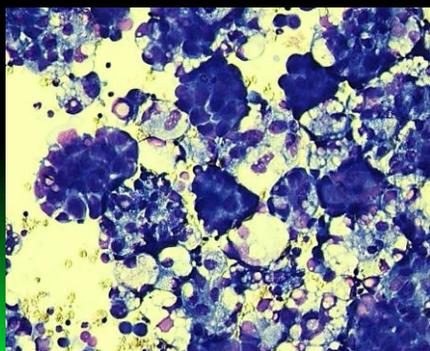


Характерным признаком является наличие клеток типа перстневидных. Клетки муцинозного рака имеют плотную мембрану, цитоплазма нежно вакуолизирована, либо содержит крупные слизистые вакуоли.



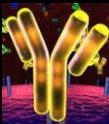
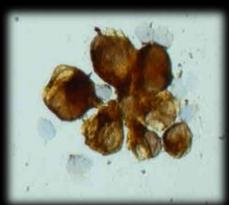
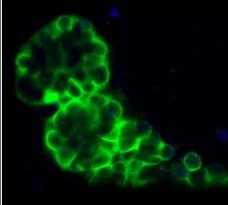
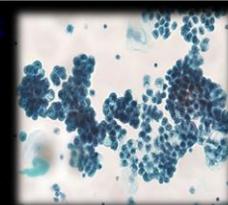
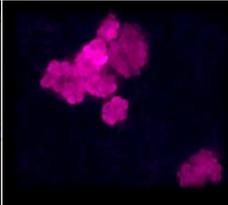
В наших исследованиях около 32% всех выпотных жидкостей составляют плевральные и перитонеальные выпоты при раке яичника. Метастазы карцином хорошо выявляются при традиционном цитологическом исследовании: **специфичность** и **чувствительность цитоморфологического метода** - 96% и 97% соответственно.

Асцит. Серозный рак яичников



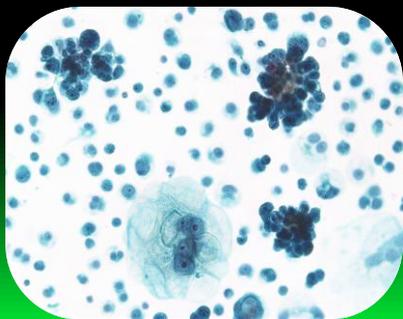


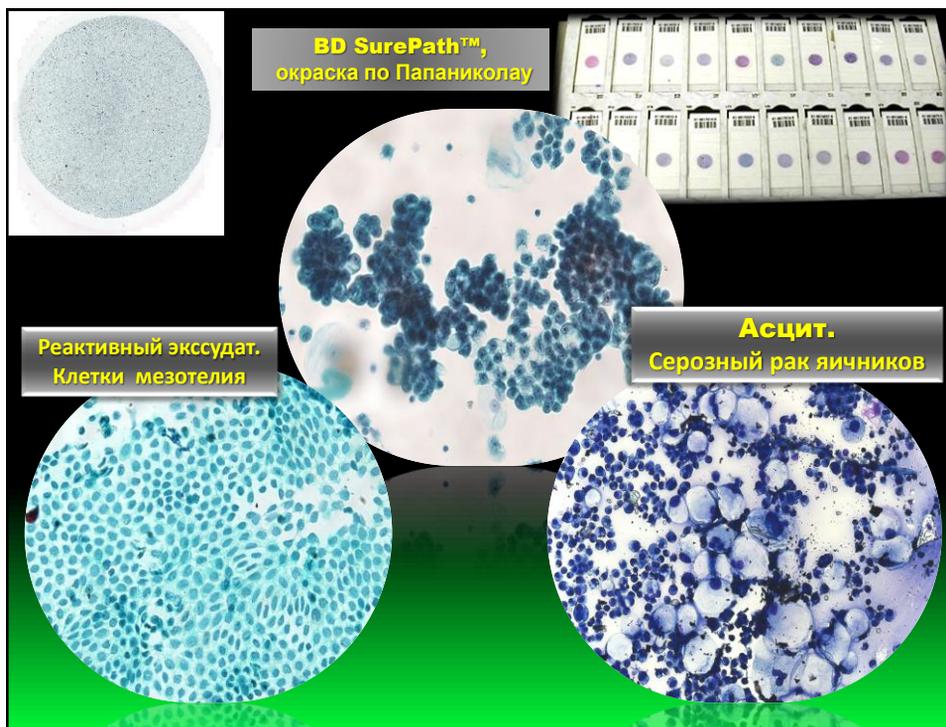
Дополнительные методы цитоморфологической диагностики рака яичников

 Иммуноцитохимическое исследование		Жидкостные технологии		Флуоресцентная иммуноцитохимия на биочипах	
Стандартное	Флуоресцентное				
					

Жидкостная цитология

(Liquid based cytology - LBC) – метод, основанный на стандартизации технологии приготовления цитологических препаратов из жидкой клеточной суспензии.



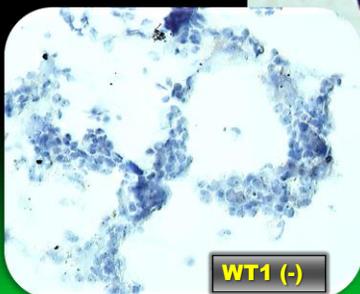


ИЦХ исследования выпотных жидкостей с маркерами **WT-1, ER, RP, PЭА, CK7, CK20** позволяют диагностировать и дифференцировать различные гистотипы карцином яичников в течение одного рабочего дня, до начала какого-либо лечения.

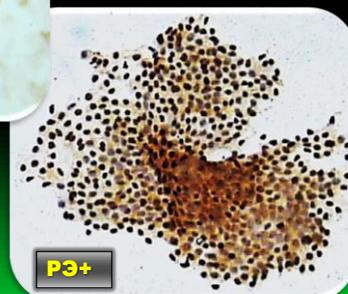
Асцит. Серозный РЯ



WT1+



WT1 (-)



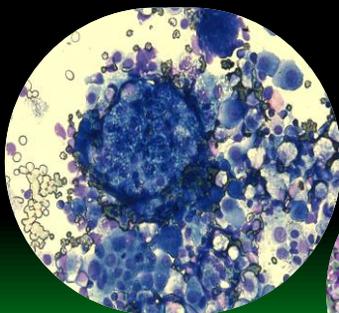
PЭА+

Асцит. Светлоклеточный РЯ

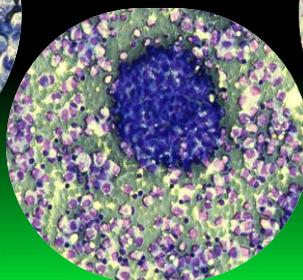
Асцит. Эндометриоидный РЯ

ИЦХ исследования выпотов, смывов и пунктатов крайне актуальны, когда опухоли низкодифференцированные и нет характерных морфологических признаков гистотипа РЯ, при отсутствии информации о источнике метастаза, либо если у пациентки несколько злокачественных новообразований.

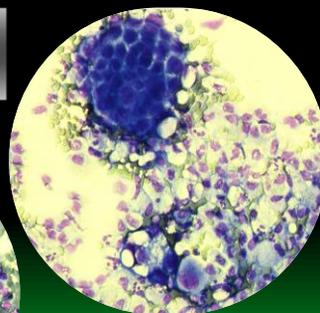
**Асцит.
Рак молочной железы**

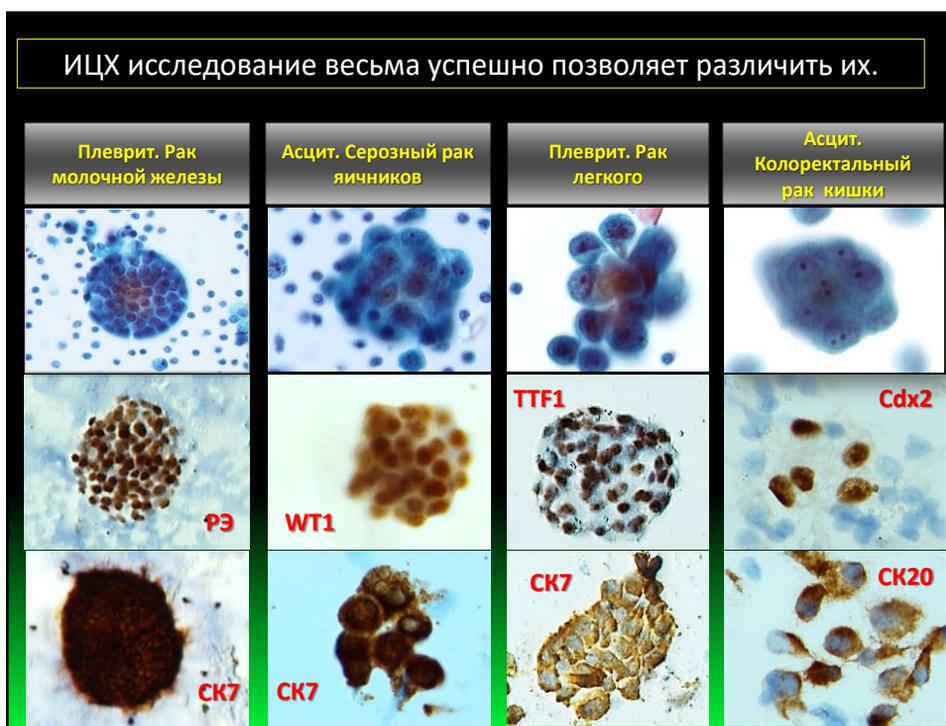
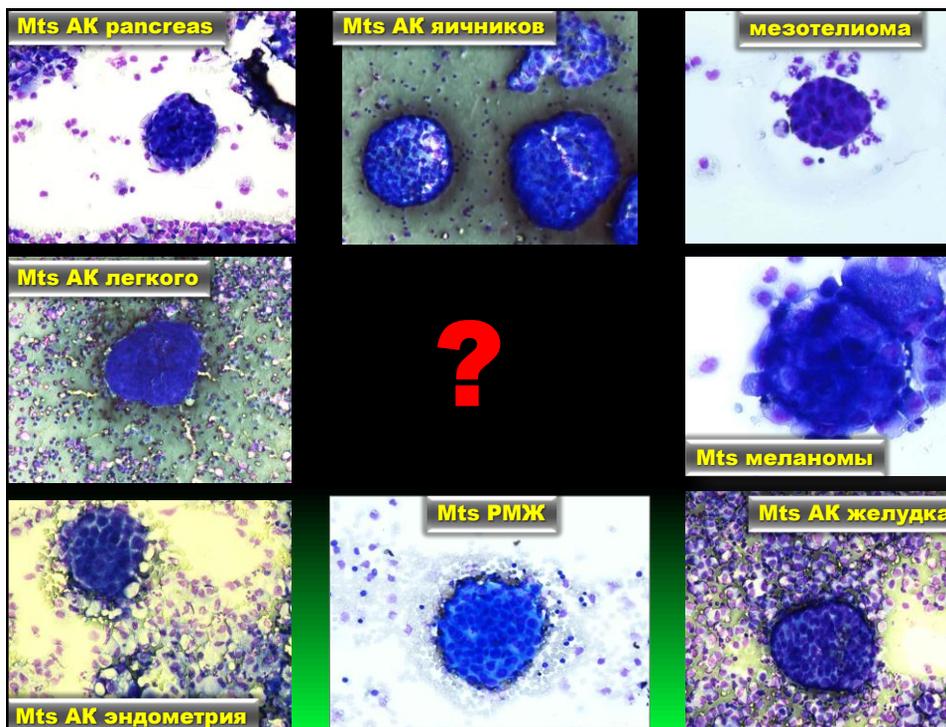


**Реактивный экссудат с
пролиферацией клеток
мезотелия**



**Асцит. Серозный рак
яичников**



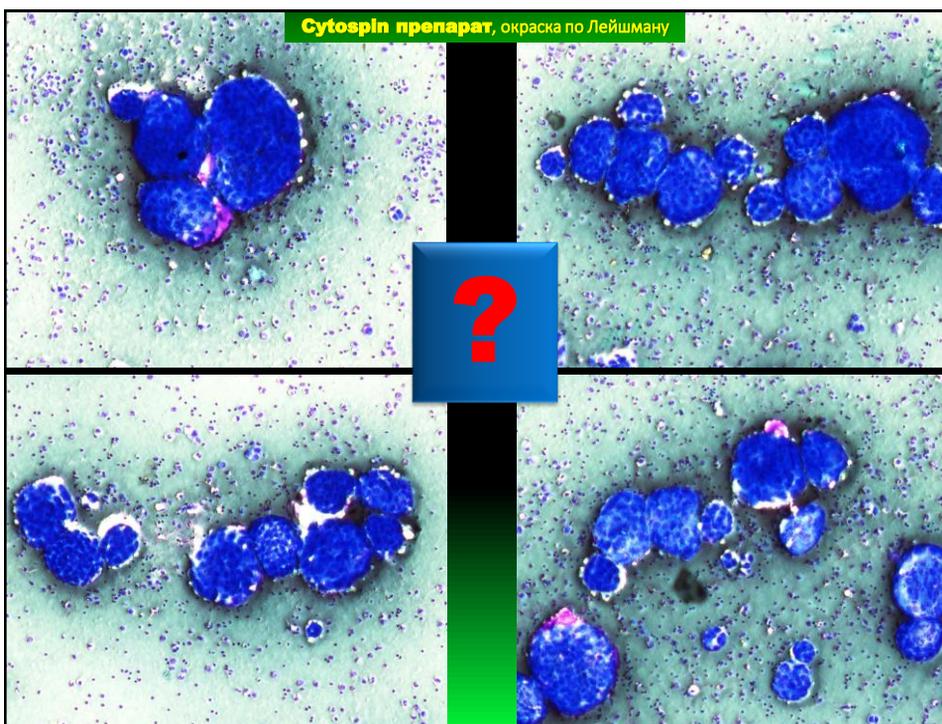
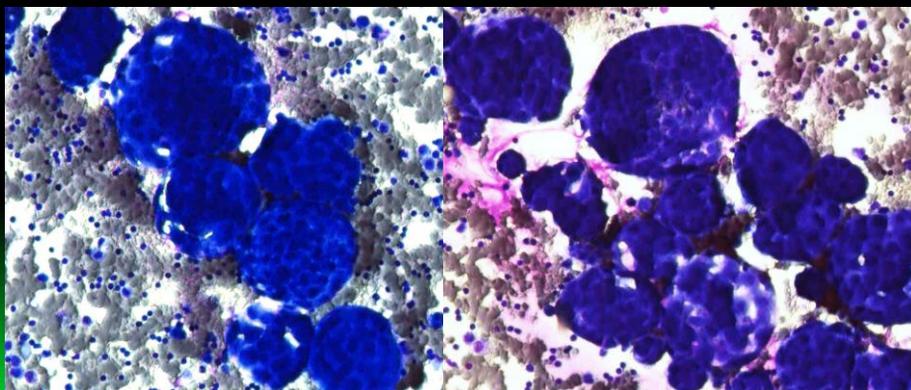


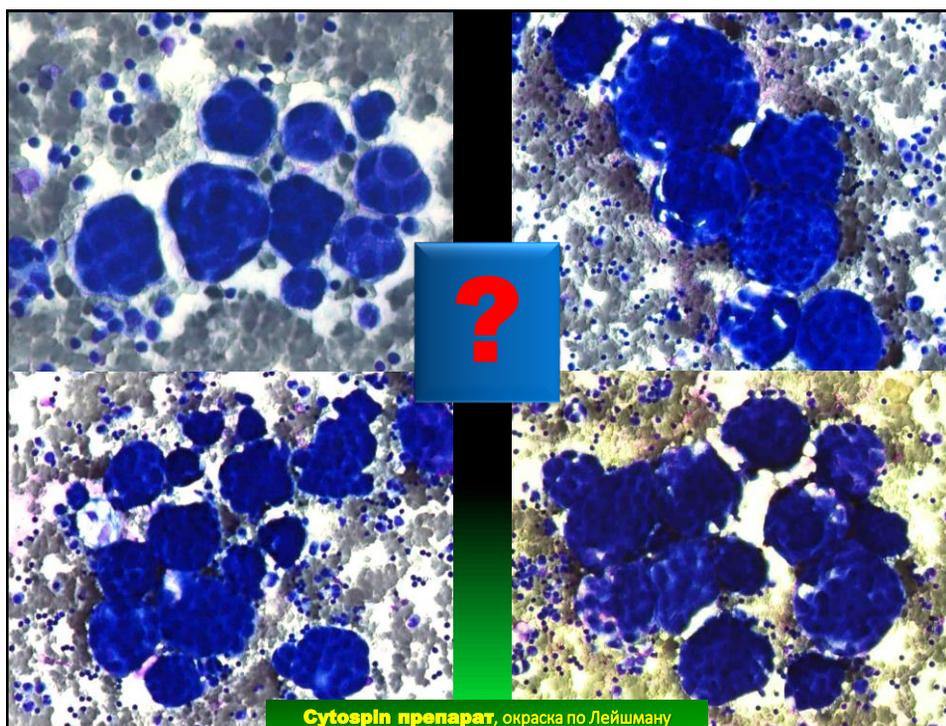
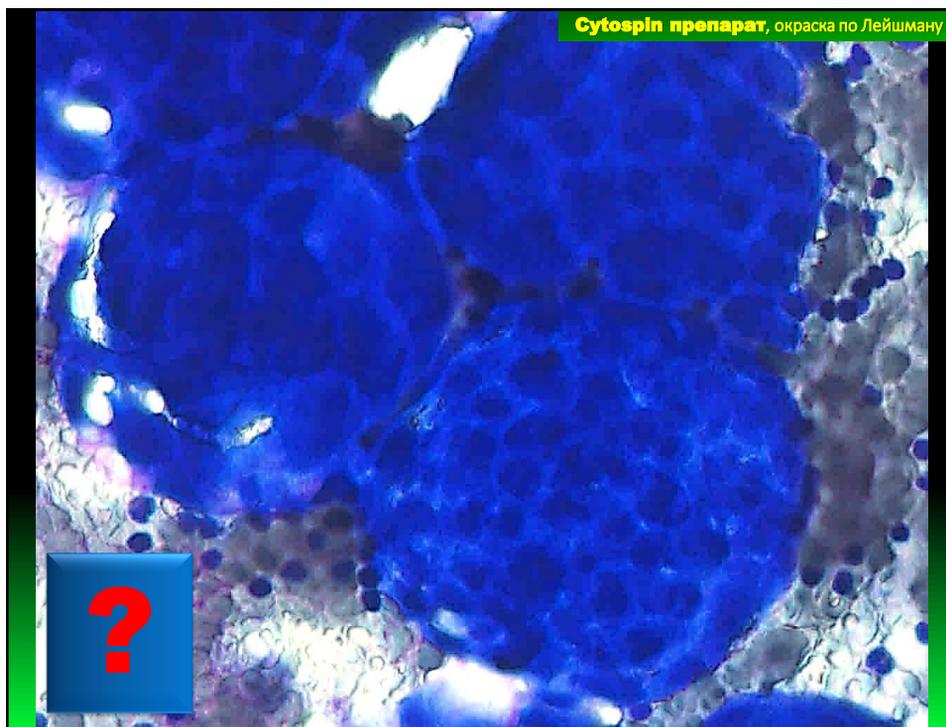
Клиническое наблюдение: пациентка О., 62 года.

Клинический диагноз: плеврит без ПВО. Жидкость из плевральной полости в V=400мл.

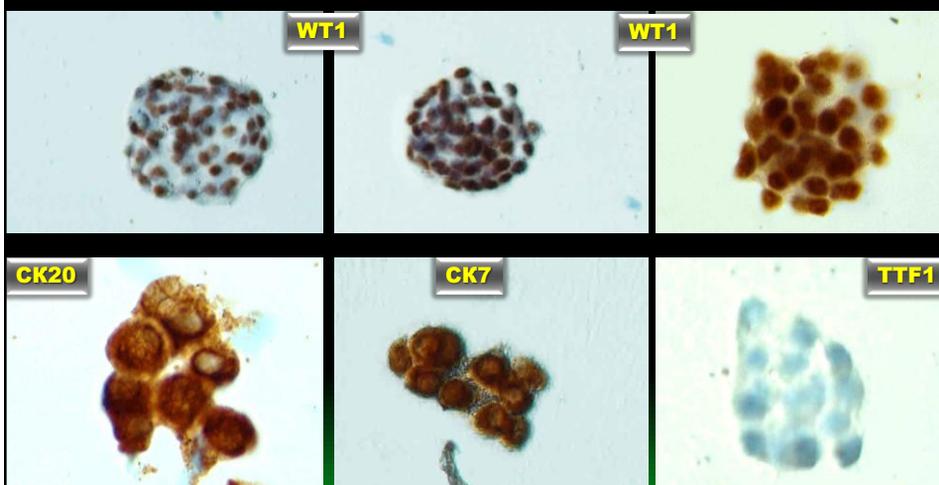
Цитологическое заключение: специфический экссудат с наличием комплексов клеток аденокарциномы.

Жидкостные препараты Cytospin (окраска по Лейшману, X200).



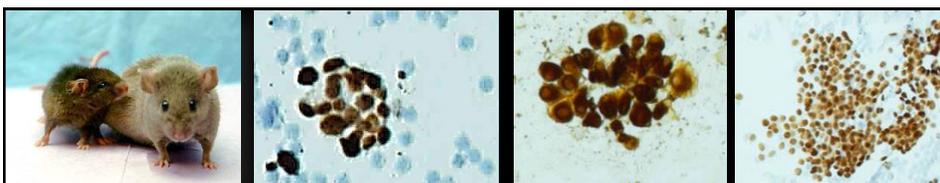


Иммуноцитохимическое исследование:



Заключение:

метастаз серозной аденокарциномы яичников.



Цель ИЦХ исследований		212/%	Используемые МКАТ	Чувствительность	Специфичность
Определение специфичности выпота		131/62%	ЭМА, BerEp4	98%	99%
Определение источника метастаза, либо гистогенез первичной опухоли.	БПО	18/9%	CK7, CK20, CK5/6, TTF1, Cdx2, ТГ, CA125,	92%	91%
	ПМО	24/11%	Melan A, HBME1, белок S100, РЭ, РП, WT1,	89%	92%
	Подтвердить органную принадлежность метастаза	39/18%	виментин, десмин.....	96%	94%

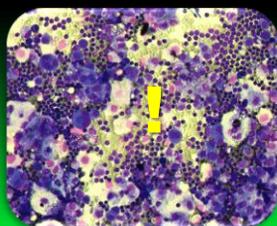
Неуверенное цитологическое заключение, требующее проведения
дополнительных исследования – **14%**.

ПРИЧИНЫ:

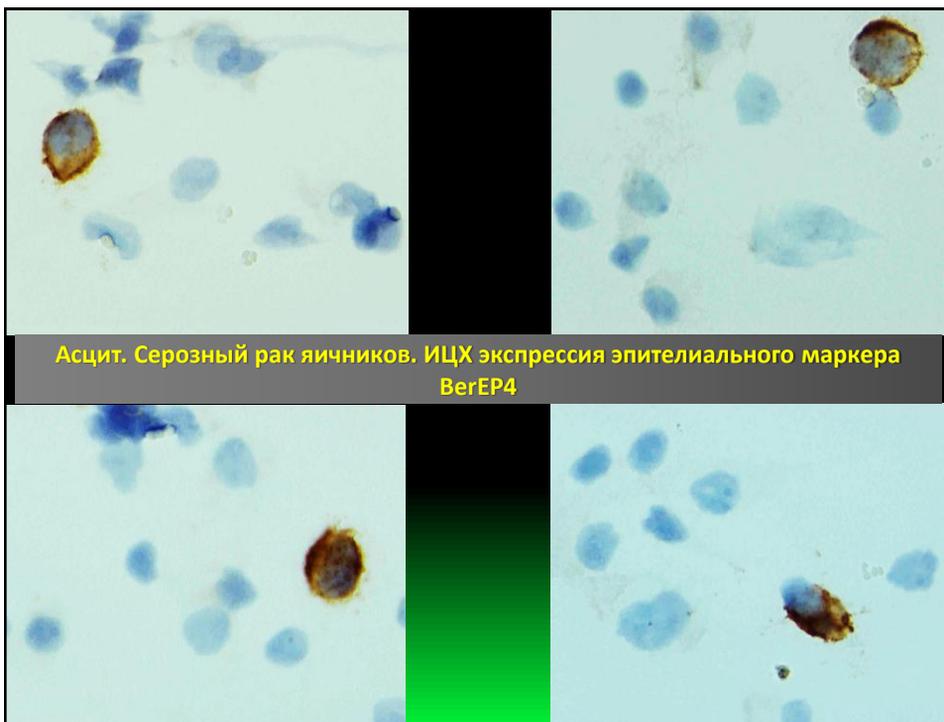
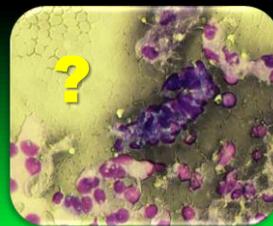
Наличие единичных
клеток опухоли в
клеточном материале

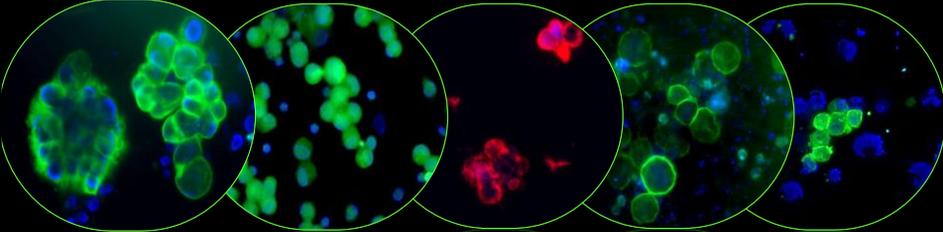


Разнообразие клеточного
состава выпотных
жидкостей и реактивные
изменения клеток
мезотелия



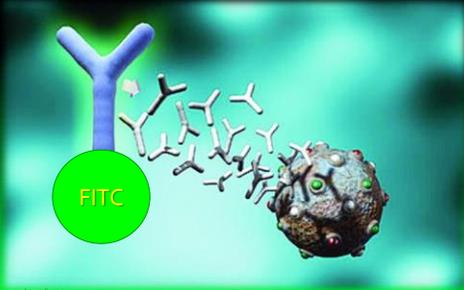
Дегенеративные
изменения клеток
опухоли во время или
после проведенного ХТ
и лучевого лечения





**Чувствительность - 98%,
специфичность - 99%.**

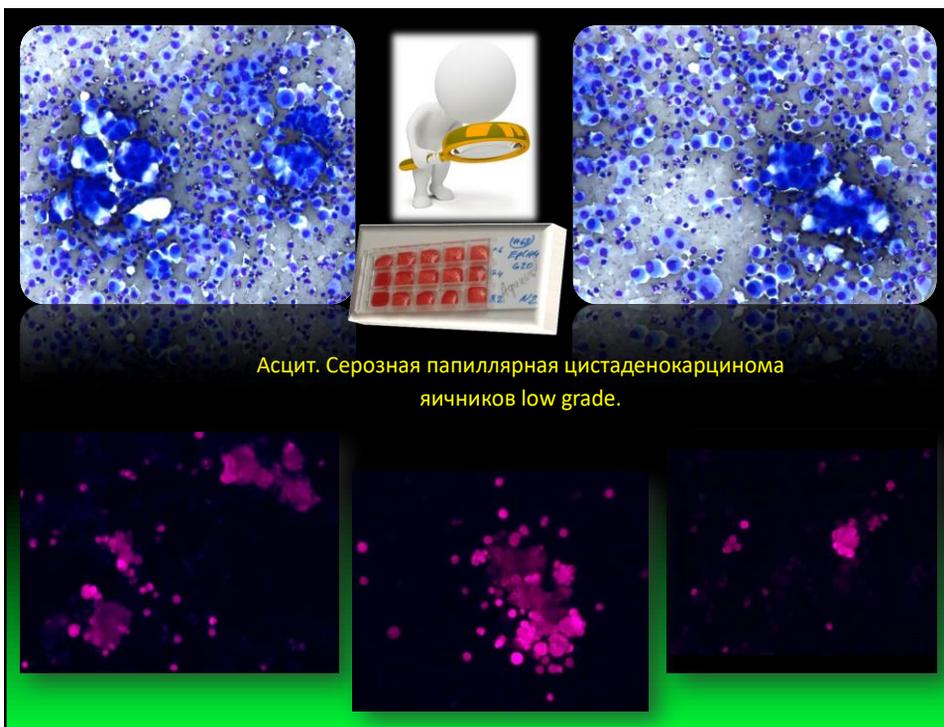
Одной из разновидностей ИЦХ методов исследования является **флуоресцентная иммуноцитохимия**, которая активно применяется для экспресс диагностики метастатических выпотов.



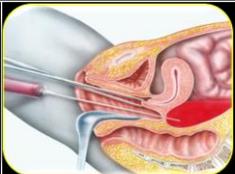
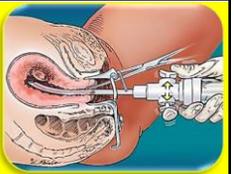
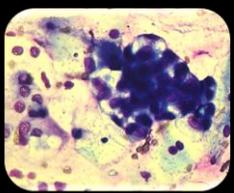
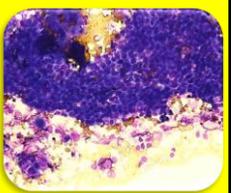
Научно-производственное предприятие «Биочип»
г. Нижний Новгород.
Директор НПП «Биочип» С.В. Зиновьев

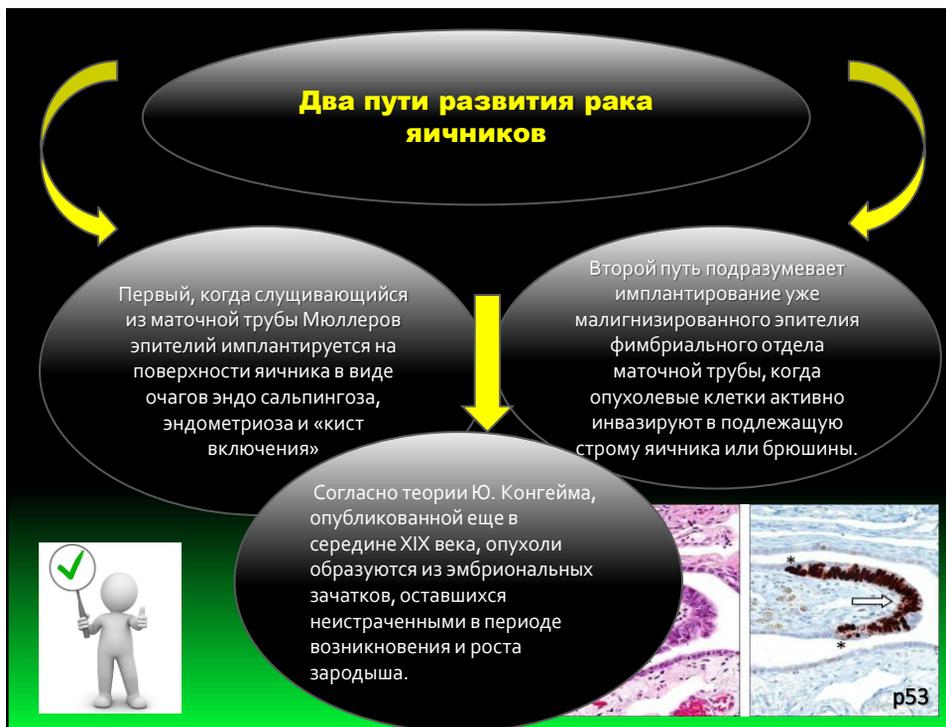
Биочип является высокотехнологичным изделием медицинского назначения, ориентированным для решения различных клинических задач.



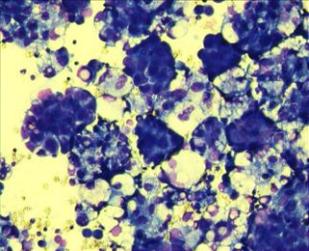
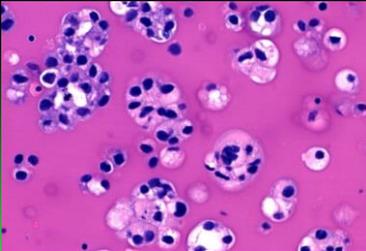
Цитоморфологическая диагностика рака яичников

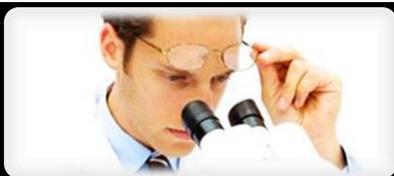
			
			
Выпотные жидкости – 96% исследований	Пунктат заднего свода влагалища – 2,6%	Мазки- соскобы с ш/м и ц/к – 1,4%	Аспират из полости матки!!!
			





Неоспоримым свидетельством участия тела матки в канцерогенезе яичников, служит значительное снижение частоты т.н. «рака яичников» у женщин, ранее перенесших экстирпацию матки, перевязку, удаление маточных труб, а также применявших контрацептивные препараты. Так, например, по данным Kamran M.W., основанных на данных 13 241 наблюдений, только перевязка маточных труб у женщин до 35 лет снижает заболеваемость только эндометриоидным раком яичников на 50%, что безусловно, более чем существенно при этой патологии (Kamran MW, Vaughan D, Crosby D, Wahab NA, Saadeh FA, Gleeson N. Opportunistic and interventional salpingectomy in women at risk: a strategy for preventing pelvic serous cancer (PSC). Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013;170:251–4.).



**В ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина»
МЗ РФ с 2013 по 2016 г.**

Выполнено **79** цитологических и **218** иммуноцитохимических исследований (ИЦХ) смывов и аспиратов из полости матки:

- ✓ у 36 больных карциномой яичников,
- ✓ у 5 пациенток после проведенной химиотерапии (ХТ),
- ✓ у 10 с метастатическим поражением яичников и
- ✓ у 12 с доброкачественными опухолями яичников.
- ✓ В контрольную группу, подвергнутую аспирации из полости матки, вошли 16 практически здоровых женщин-добровольцев.

ТПС – транспортная питательная среда



Преимущества:

Наличие консерванта позволяет сохранить полученный материал до месяца.
Удобная, герметичная крышечка пробирки позволяет свести к минимуму потерю биоматериала: при проколе иглой шприца производится забор среды и обратный возврат материала без потерь.

№ дня исслед. \ t°C исслед.	Цитограмма серозного рака яичников. (X200).	Иммуноцитохимия, экспрессия СК7. (X200).
1 день / +23°C		
3 день / +23°C		
5 день / +23°C		
7 день / +23°C		



Для цитологического исследования полученного материала и проведения ИЦХ реакций, готовили жидкостные цитоспиновые монослойные препараты системы **Cytospin**.

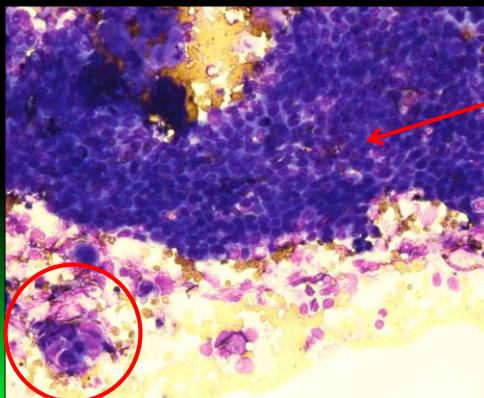


ИЦХ исследования проводились на иммуногистостейнере Ventana (BenchMark ULTRA). Для ИЦХ анализа применяли МКАТ фирмы ДАКО: к **CA125** (клон M11, разведение 1:20), **WT1** (клон 6F-H2), **Ki67** (клон MIB1, разведение 1:75-1:150), **p53** (клон DO-7, разведение 1:25-1:50). Цитопрепараты докрасивали гематоксилином Майера и заключали в бальзам.



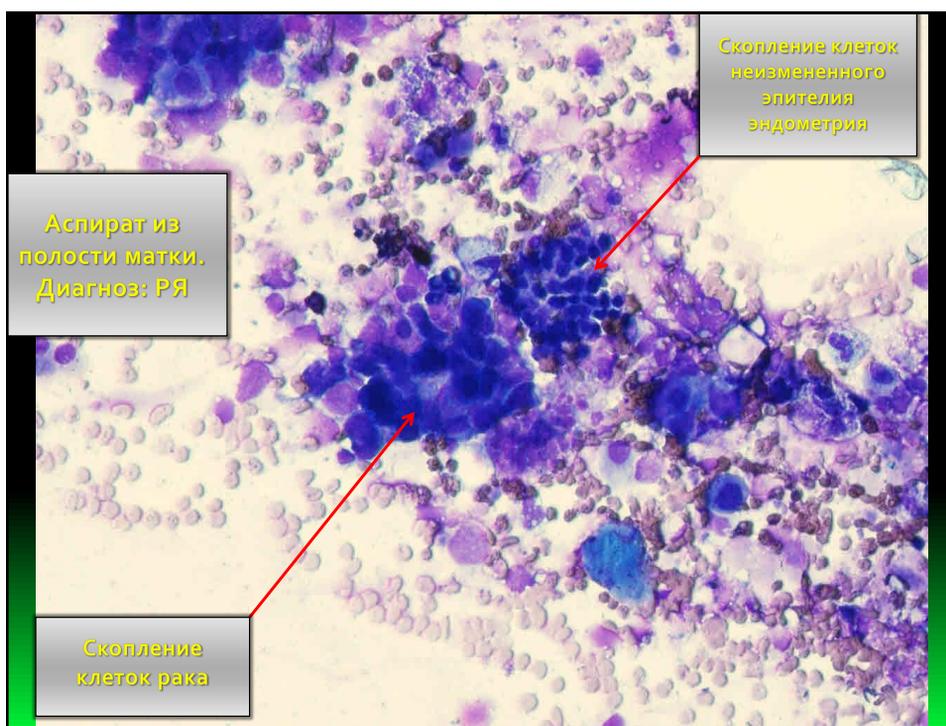
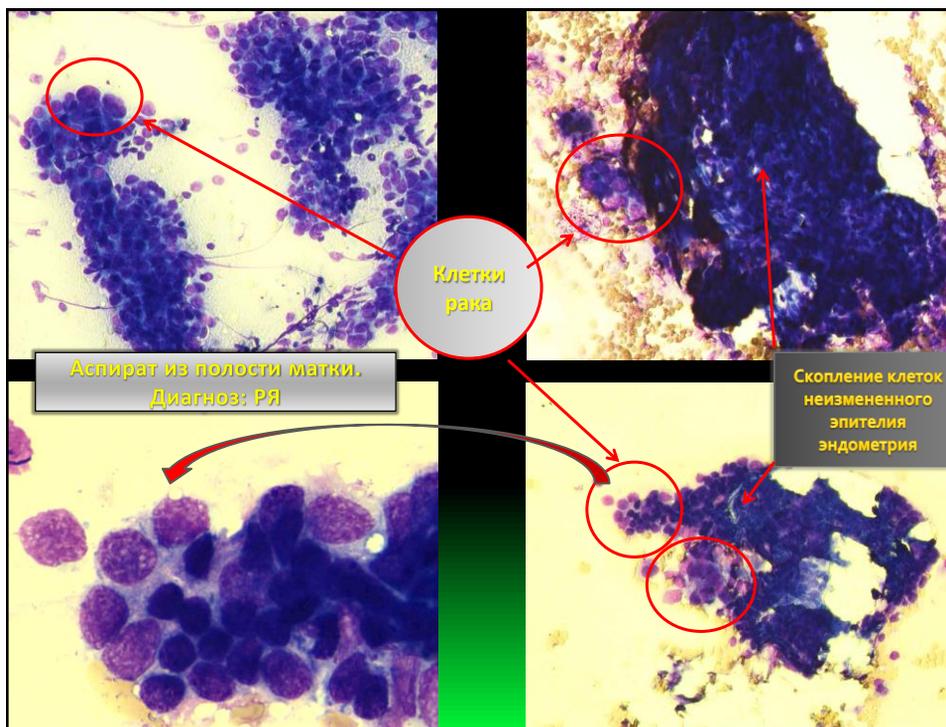
Выводы:

- ✓ При цитологическом исследовании у 29 (81%) из 36 пациенток с диагнозом «рак яичников» в материале из полости матки (в 10 смывах и 19 аспиратах) отмечались **единичные клетки и комплексы клеток соответствующих АК яичников**.



Пласт клеток эпителия эндометрия

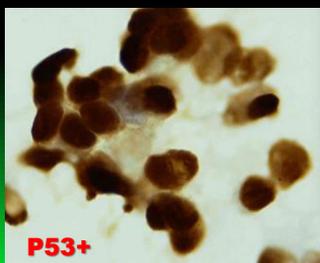
Комплекс клеток АК





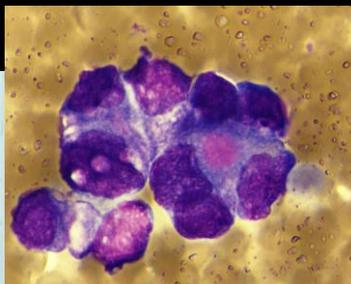
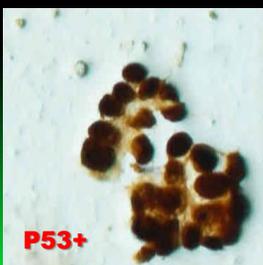
Выводы:

- ✓ При ИЦХ исследовании материала из полости матки у пациенток с диагнозом «рак яичников» - в **86%** (в 31 из 36 наблюдений) определялась **коэкспрессия белков p53, WT1** в клетках соответствующего рака яичника.
- ✓ Большую диагностическую ценность имеет маркер **p53**, поскольку, он экспрессировался клетками карциномы яичников, обнаруженных в полости матки, в **100%** наблюдений.

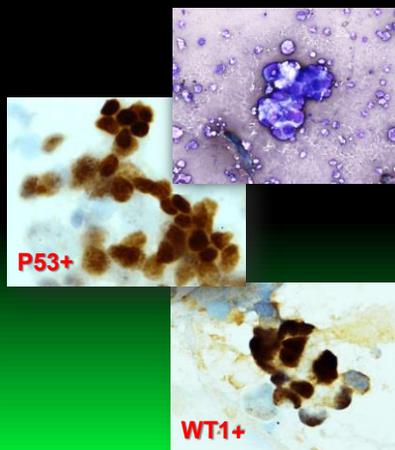


Выводы:

- ✓ При **совместном использовании цитологического и ИЦХ методов** – в **89%** (в 32 из 36 наблюдений) определяются клетки карциномы яичника в полости матки.
- ✓ Маркер серозных карцином яичников и мезотелиомы **WT1** экспрессировался **67%** наблюдений в клетках рака яичников, обнаруженных в полости матки. Данный маркер может быть диагностически значимым для выявления и диагностики раков яичников в смывах и аспиратах из полости матки.



Наличие патологии яичников	Кол-во	Гистологическая форма	смыв	аспират
Карциномы	36	Серозная (25)	12	13
		Эндометриоидная (5)	2	3
		Муцинозная (2)	-	2
		Светлоклеточная (4)	4	-



✓ При **серозном раке яичников** в 80% (в 20 из 25 наблюдений) в аспирате из полости матки, либо смыве, при цитологическом анализе определяются клетки карциномы, при ИЦХ исследовании 84% (в 21 из 25 наблюдений), при совместном использовании цитологического и ИЦХ методов – 88% (в 22 из 25 наблюдений).

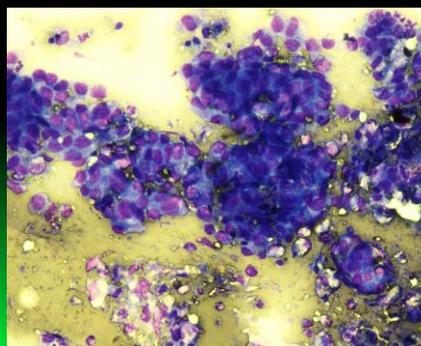
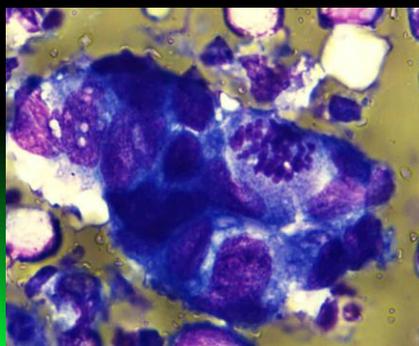
✓ У больных раком яичников при рутинном гистологическом исследовании АК в эндометрии была выявлена только в 2 из 25 наблюдений, в то время как в остальных случаях опухолевой патологии обнаружено не было.

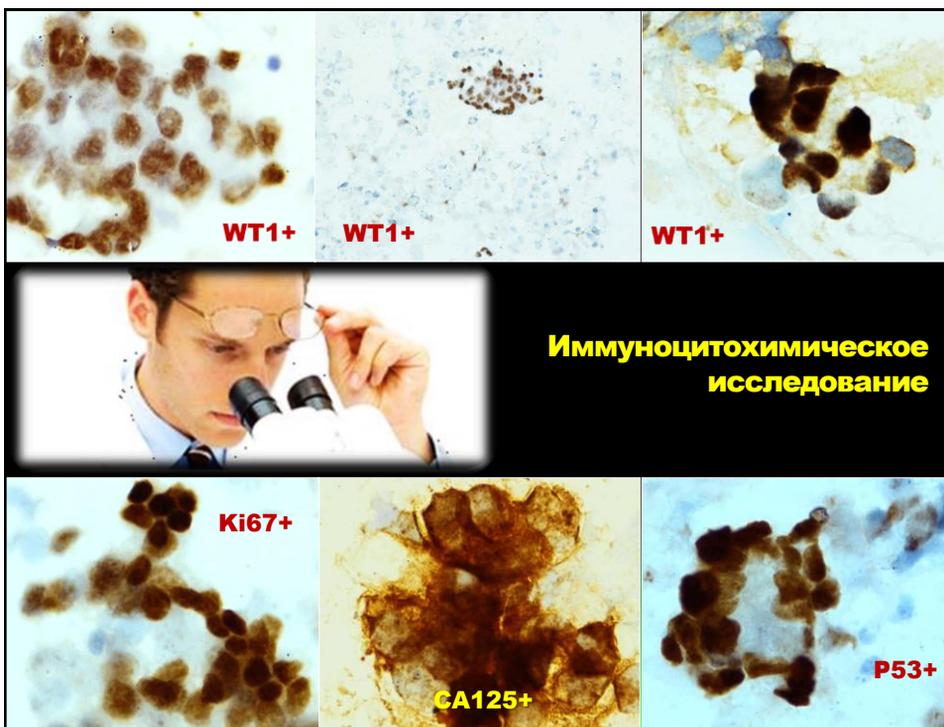
Клиническое наблюдение: пациентка К., 58 лет.

Клинический диагноз: рак яичников.

Гистологическое заключение: серозная папиллярная аденокарцинома в обоих яичниках, в стенке маточной трубы, в сальнике, жировой ткани, метастаз в 4 из 11 лимфатических узлов. Эндометрий атрофичный. Склероз стенки маточной трубы.

Цитологическое заключение: (смыв с полости матки) среди элементов крови, клеток эпителия эндометрия определяются отдельные комплексы серозной папиллярной аденокарциномы.

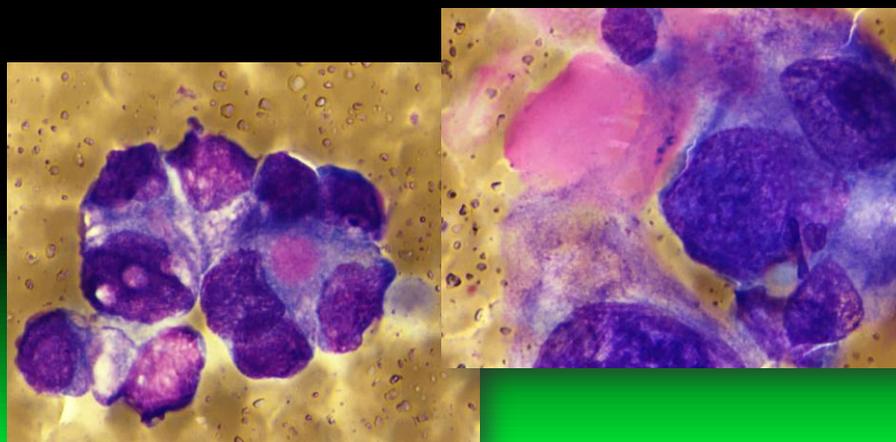


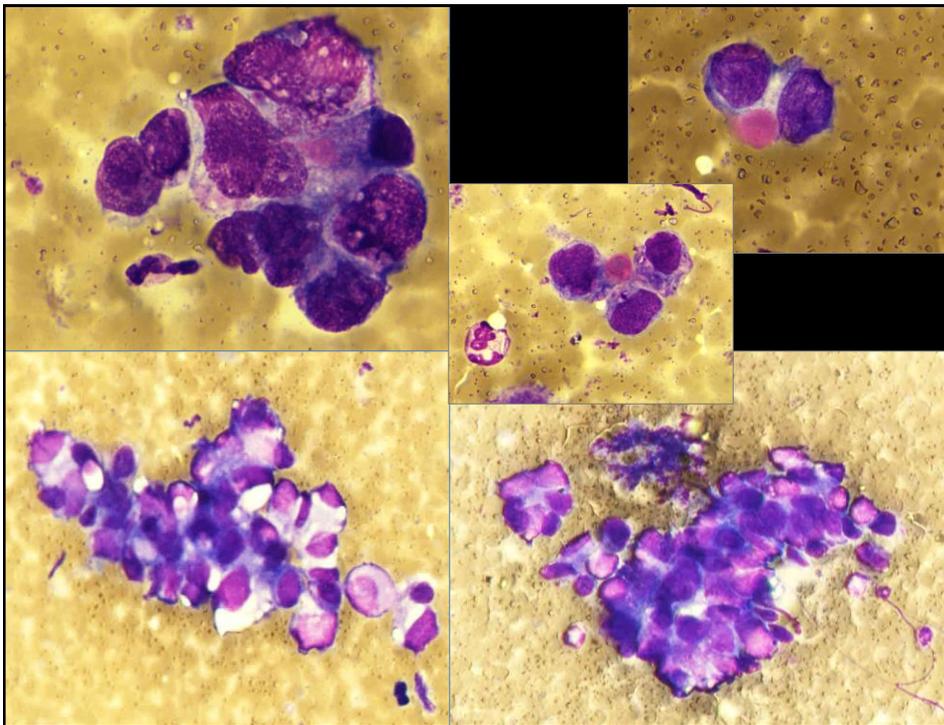


Клинические наблюдения: пациентка Г., 58 лет.

Клинический диагноз: рак яичника. Состояние в процессе комбинированного лечения

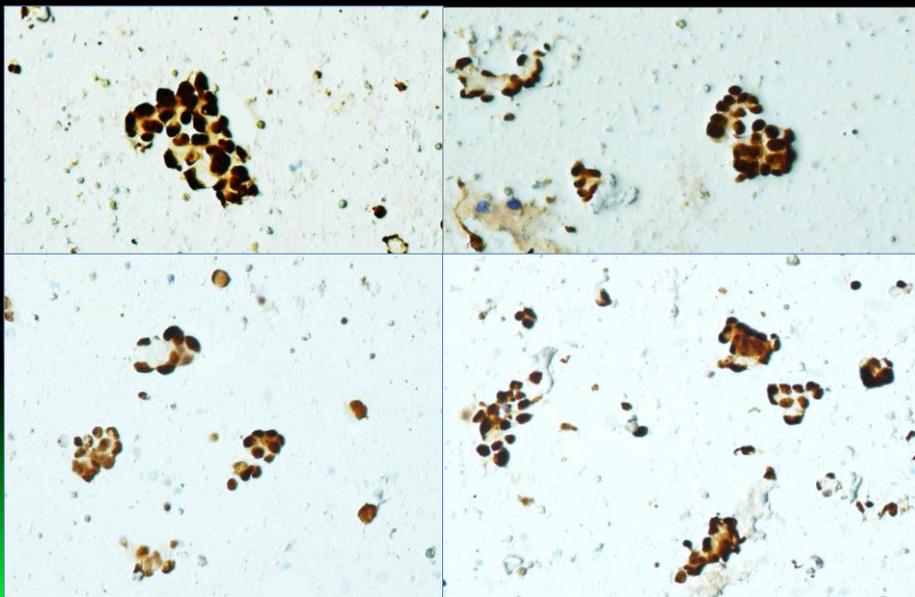
Аспират из полости матки (аспират из полости матки): в полученном материале клетки светлоклеточной аденокарциномы.

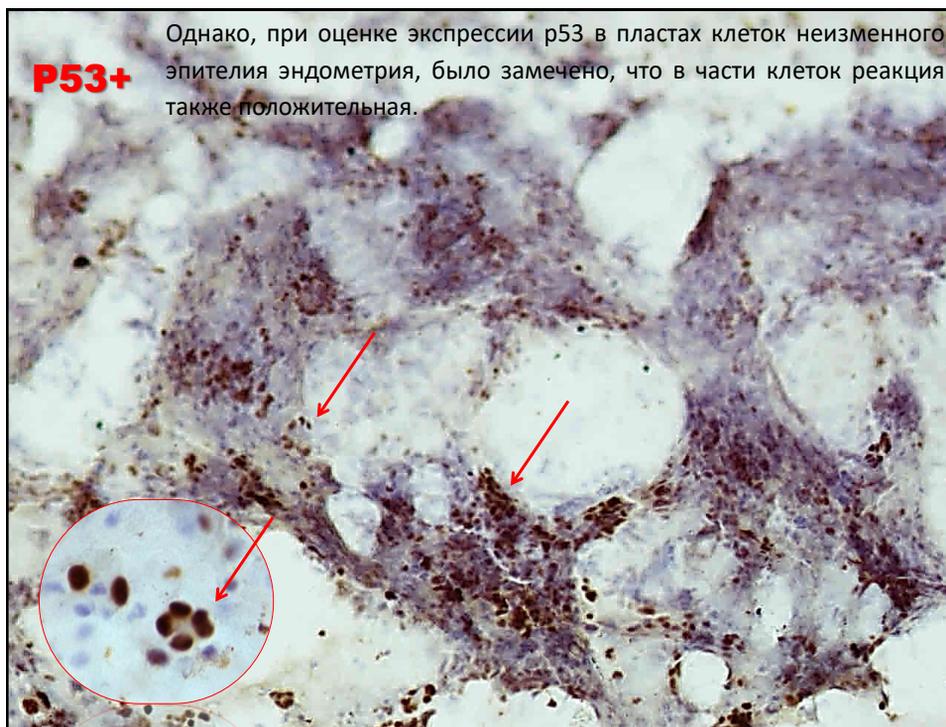




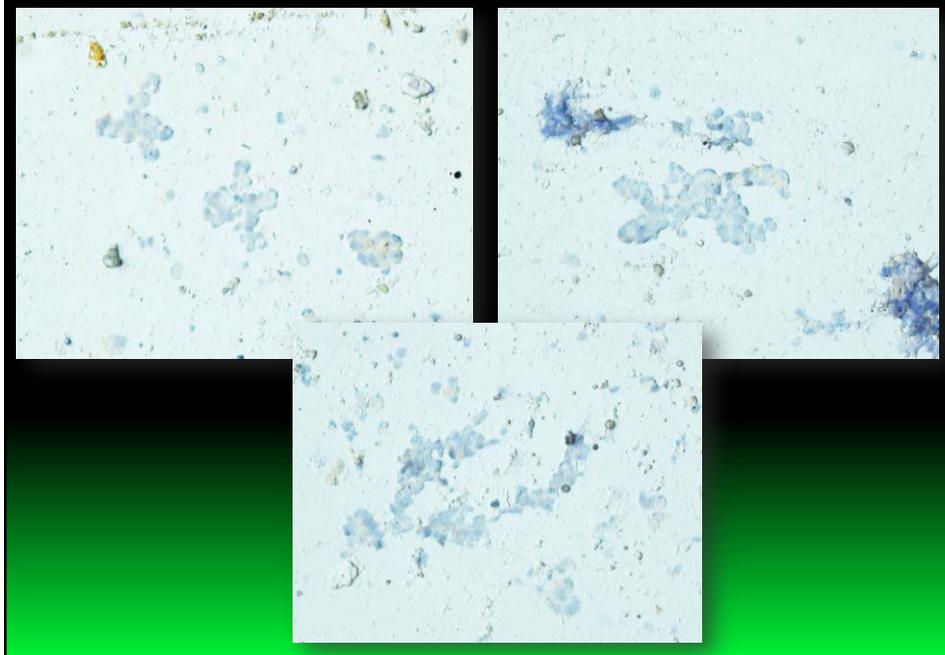
Проведено ИЦХ исследование с антителами к p53 и WT1:

- ИЦХ экспрессия p53: выраженная ядерная в клетках рака.

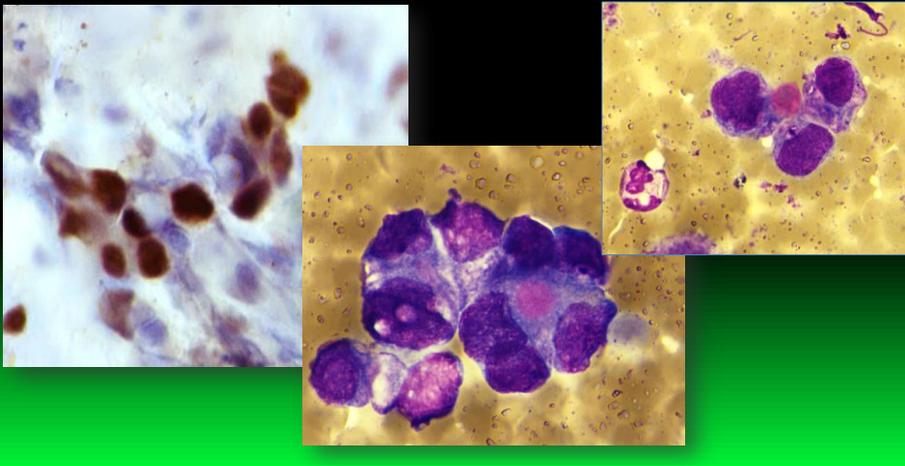




ИЦХ экспрессия WT1 в клетках опухоли – не выявлена!



При гистологическом исследовании: светлоклеточный рак маточной трубы с распространением на эндометрий и на слизистую цервикального канала, с прорастанием миометрия и образованием параметральных опухолевых узлов. В одном из яичников по его поверхности комплексы светлоклеточного рака. Во втором яичнике – метастазы рака. ИГХ исследование не проводилось.



При традиционной гистологии полости матки злокачественности не было, наблюдение слабая и у Пациентки тщательном

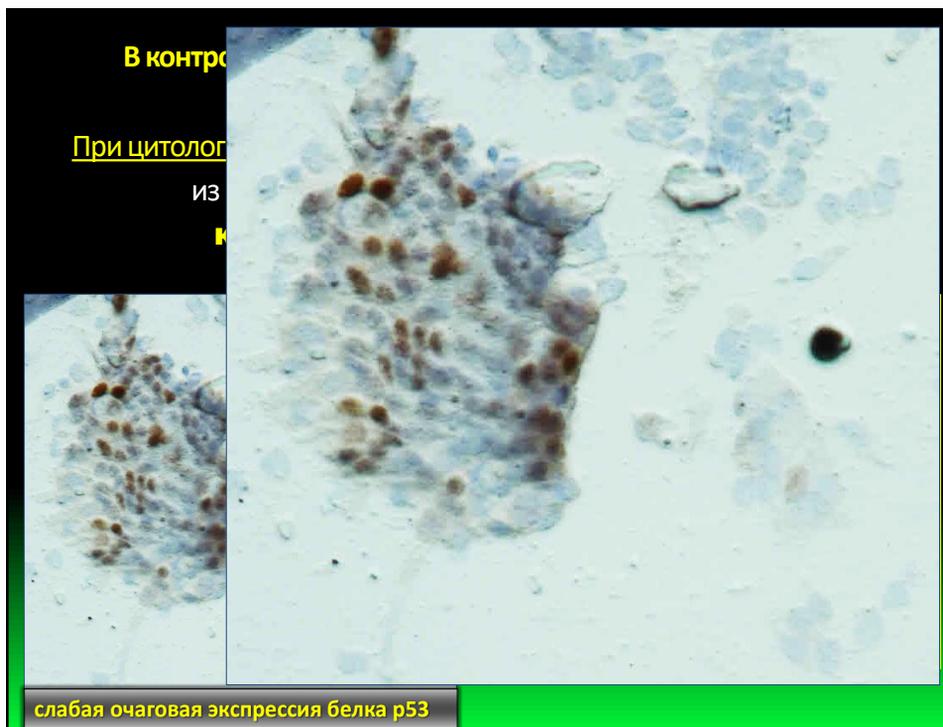
Наличие патологии

Доброкачественности

P53+

P53+

Зрелая тератома (3)	1	2
Дермоидная киста(1)	-	1

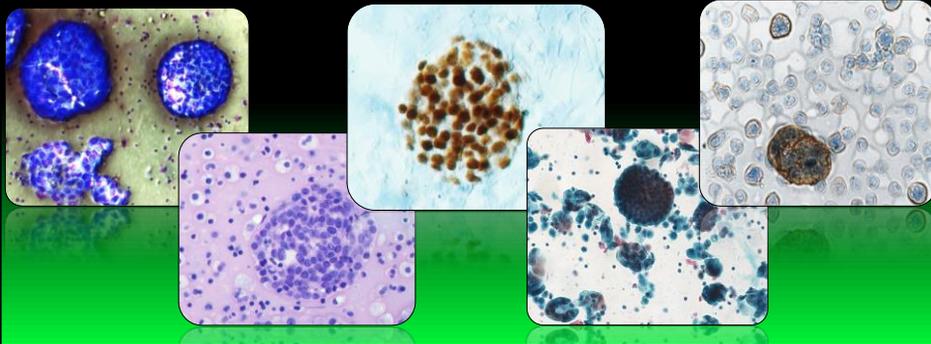



Выводы:

- ✓ Маркер **CA125** не является диагностически значимым для выявления клеток карциномы яичников в материале из полости матки, поскольку положительная реакция определялась не только в комплексах клеток рака яичников (в 100%), но и в клетках рака эндометрия (86%), а также в части клеток с доброкачественной патологией эндометрия (33-78%).
- ✓ Индекс пролиферативной активности **Ki67** – высокий в клетках рака и яичника, и эндометрия – от 55 до 90%, в доброкачественных образованиях он не превышает 20%.
- ✓ При цитологическом определении клеток АК в материале из полости матки у пациентки с карциномой яичника, рекомендуется дополнительное проведение ИЦХ исследования с маркерами **WT1, p53, Ki67**.
- ✓ Только в 10 (24%) из 41 наблюдения карцином яичников гистологически в маточной трубе выявлены опухоли аналогичного строения и в 7 (17%) из 41 – в эндометрии.



Таким образом, исследование аспириатов из полости матки с применением жидкостных технологий и иммуноцитохимических исследований, наряду с традиционной цитоморфологией, позволит создавать группы риска по возникновению опухолей не только матки, но и ее придатков, служа новым подходом к профилактике, диагностике и лечению «рака яичников».



**Благодарим
за внимание**