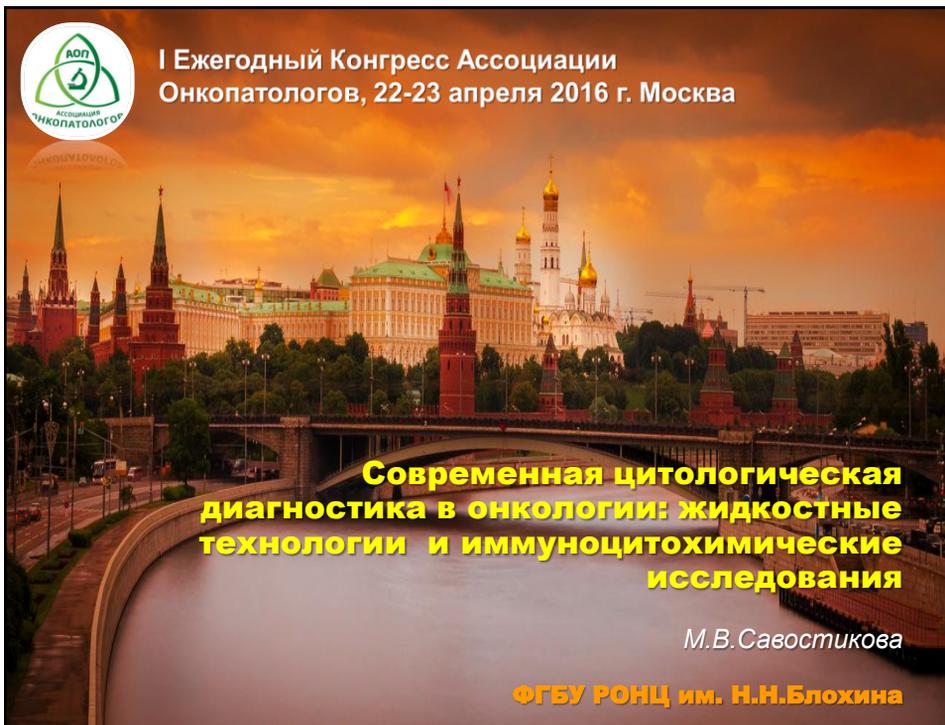




I Ежегодный Конгресс Ассоциации
Онкопатологов, 22-23 апреля 2016 г. Москва



**Современная цитологическая
диагностика в онкологии: жидкостные
технологии и иммуноцитохимические
исследования**

М.В.Савостикова

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина

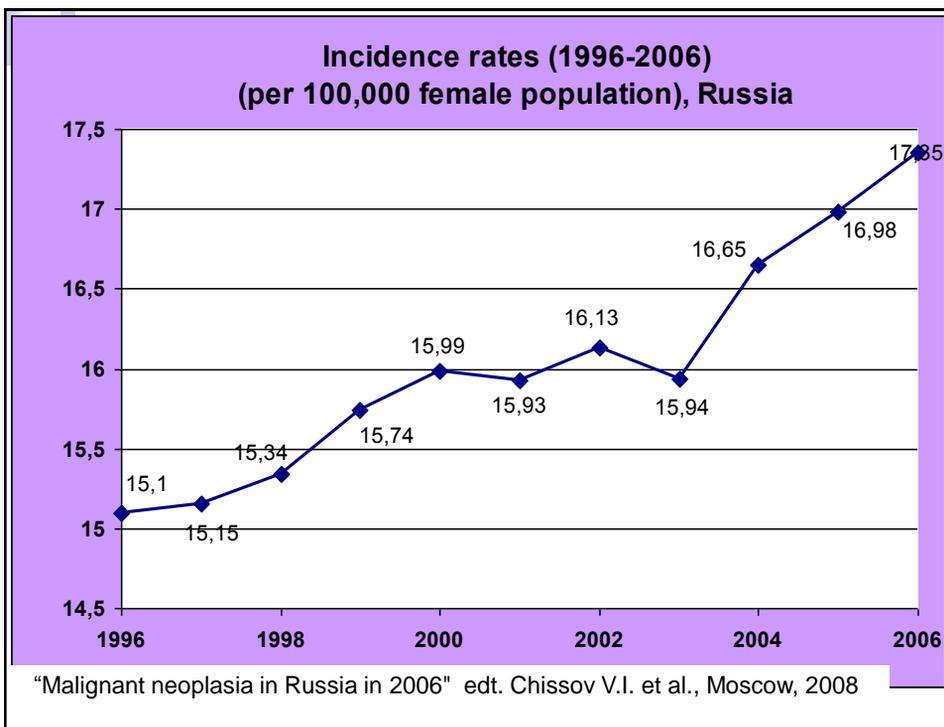


**Современная цитологическая
диагностика**

**Информативность
и качество
препаратов**

**Профессионализм
цитолога**

**Дополнительные
современные
методы**



РШМ является одной из немногочисленных нозологических форм злокачественных новообразований, которые могут быть выявлены на ранних стадиях путем проведения популяционного скрининга, ибо:

- это заболевание широко распространено,
- имеет распознаваемую преклиническую фазу,
- длительный период развития
- и, что особенно важно, на сегодняшний день существует надежный скрининг-тест – цитологическое исследование мазков, взятых с экзо- и эндоцервикса.



Диагностическая эффективность цитологического метода для выявления **HSIL**

Автор	Численность группы	Чувствительность,%	Специфичность,%
Reid R. (1991)	1012	52	92
Soost H..J. (1991)	277842	78,1	94,4
Tabarra S. (1992)	75	66	82
Echini (1993)	2105	62,5	99,3
Mayeaux J. (1995)	453	45	80
Schneider A. (1996)	967	28,9	97,5
Matsuura Y. (1996)	151	51	95
Bishop J.W. (1997)	2320	63,6	99,7
Шабалова И.П. (2001)	210	64-74	77-89
Petry K.U. (2003)	8466	46	98

**Информативность
и качество
препаратов**

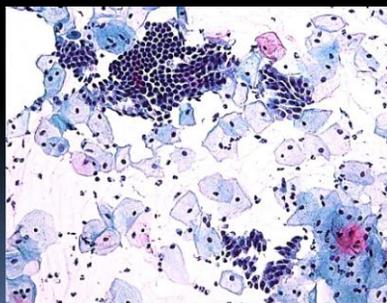


Жидкостная цитология

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



Жидкостная тонкослойная технология — это способ получения монослойных цитологических препаратов при переносе клеток из фиксирующего или транспортного раствора на стекло с использованием различных физических методов: центрифугирования, осаждения и/или фильтрации.



Принцип работы жидкостных технологий:

Активное осаждение

— цитоцентрифугирование.

Цитоцентрифуга
Cytospin



Пассивное осаждение

— цитологический процессор.

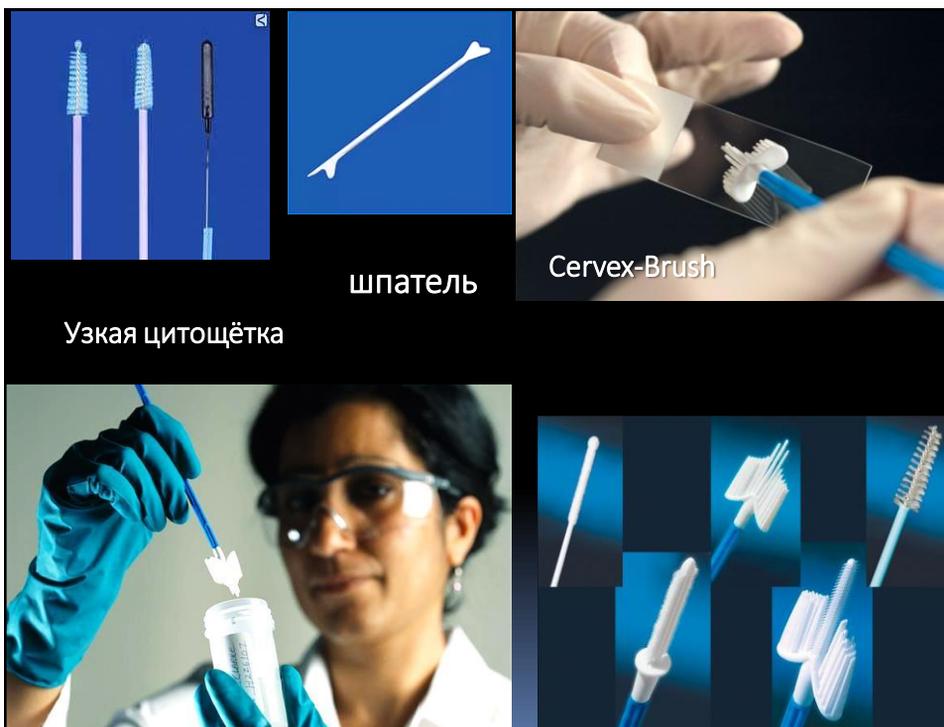
BD Prep Stain™
Slide Processor



StatSpin
Cytofuge

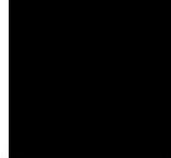


Novaprep



Варианты методик жидкостной цитологии:

- **ручной способ** – цитоцентрифугирование,
- **полуавтоматический способ** – клеточное обогащение на градиенте плотности или фильтрация,
- **автоматический способ** – цитологический процессор.



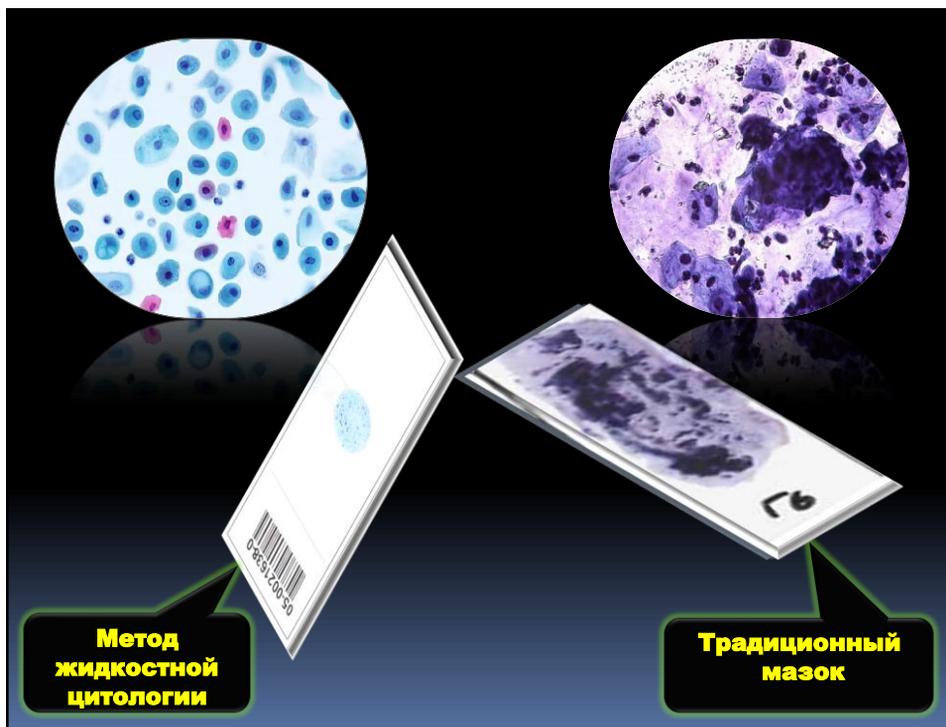
BD Prep Stain™
Slide Processor



Thin Prep

E-Prep

Novaprep

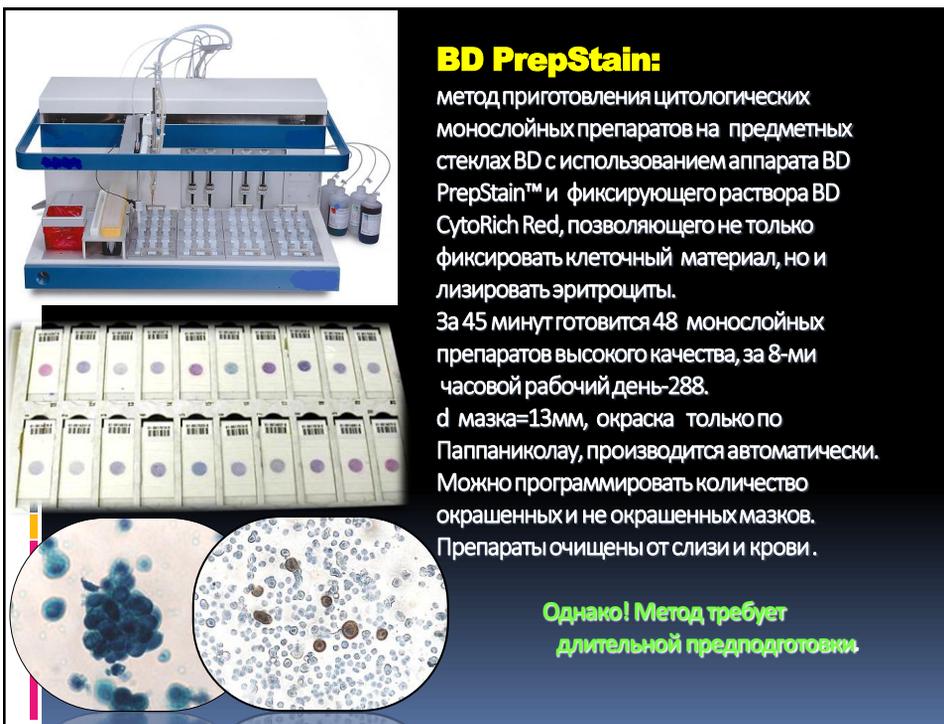




Cytospin
(Thermo Scientific Shandon, UK):

- можно использовать небольшой объем жидкости, содержащей небольшое число клеток,
- быстрое приготовление препарата (5 минут-12 мазков),
- можно использовать любой метод окрашивания,
- быстрый и удобный просмотр: препарат однослойный, занимает небольшую площадь ($d=5\text{ мм}$).

Однако! Всегда есть некоторая (незначительная) потеря клеток за счет абсорбции на фильтр.
Метод непригоден для материала, содержащего большое количество слизи.



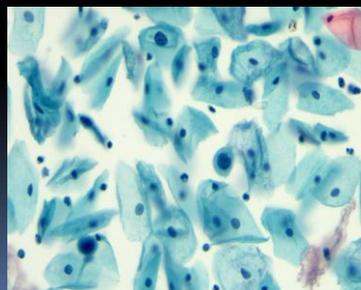
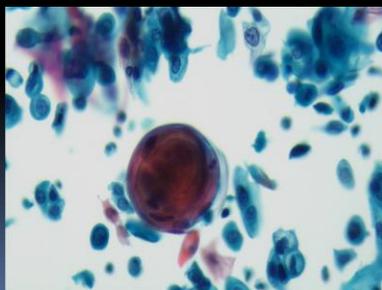
BD PrepStain:
метод приготовления цитологических монослойных препаратов на предметных стеклах BD с использованием аппарата BD PrepStain™ и фиксирующего раствора BD CytoRich Red, позволяющего не только фиксировать клеточный материал, но и лизировать эритроциты.

За 45 минут готовится 48 монослойных препаратов высокого качества, за 8-ми часовой рабочий день-288.
 d мазка=13мм, окраска только по Паппаниколу, производится автоматически. Можно программировать количество окрашенных и не окрашенных мазков. Препараты очищены от слизи и крови.

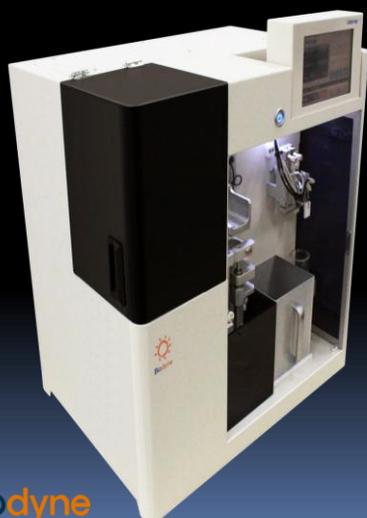
Однако! Метод требует длительной подготовки

BD TriPath™ - технология способствует
повышению чувствительности (%) цитологического
метода

LSIL	98%
HSIL	98,1%
РШМ	100%



**АВТОМАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ МОНОСЛОЙНОГО
ПРЕПАРАТА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ
CELLPREP PLUS, КОРЕЯ**



Biodyne

BioLine
ИЗГОТОВИТЕЛИ

Особенности прибора CellPrep Plus

Все операции выполняются в одном модуле, перемещение образцов между отдельными операциями вручную не требуется.

Максимальная производительность прибора до 120 препаратов в час.

Время изготовления одного стекла – 26 секунд.

3. Широкий выбор протоколов для исследований различного материала

Стандартные протоколы не требуют предварительной подготовки материала (встряхивание на вортексе, центрифугирование).

Возможность использования материала для дополнительных исследований (вирус папилломы человека, иммуноцитохимическое исследование).

Новая технология бесконтактного переноса материала на стекло после фильтрации, обеспечивающая эффективный и деликатный перенос клеток.



МИНИМАЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ



1. Виалы с фиксирующим раствором
2. Сменные мембранные фильтры
3. Предметные стекла с адгезивным покрытием
4. Щеточки для забора гинекологического материала



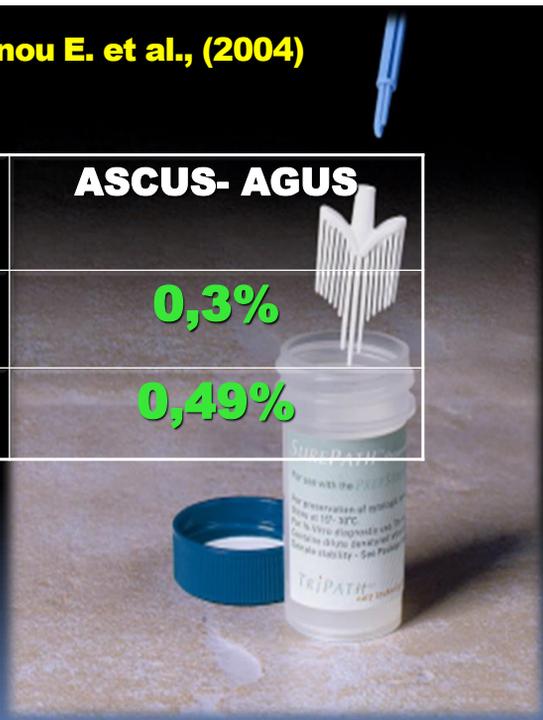
Преимущества транспортной среды:



- ✓ транспортная среда «консервирует» собранный клеточный материал,
- ✓ препятствует повреждению клеток,
- ✓ позволяет сохранять их морфологические и молекулярные свойства,
- ✓ позволяет избежать бактериального загрязнения,
- ✓ создает оптимальные условия доставки собранных клеток в лабораторию.

Dorovitsa C., Lavranou E. et al., (2004)

	ASCUS- AGUS
Обычный способ приготовления препаратов	0,3%
Жидкостная цитология	0,49%



Weintraub J., Morabia A. (2000)

	Адекватность мазков	Выявлены патологические изменения	Вероятность выявления CIN3 ASCUS	Совпадение результатов гистологии и цитологии
Обычный способ приготовления препаратов	72,2%	2,2%	1,68	82%
Жидкостная цитология	91,9%	5,5%	3,41	87%

Bai Hongwei et al., (2000)

	количество цитологических исследований цервикального канала	Выявлена атипия железистого эпителия неясного значения в клетках эндоцервикса	Диспластические изменения железистого эпителия и преинвазивная АК выявлены	аденокарцинома обнаружена
Обычный способ приготовления препаратов	82754	112 (0,014%)	2,8%	4.2%
Жидкостная цитология	82252	580 (0,07%)	14,3%	2,9%

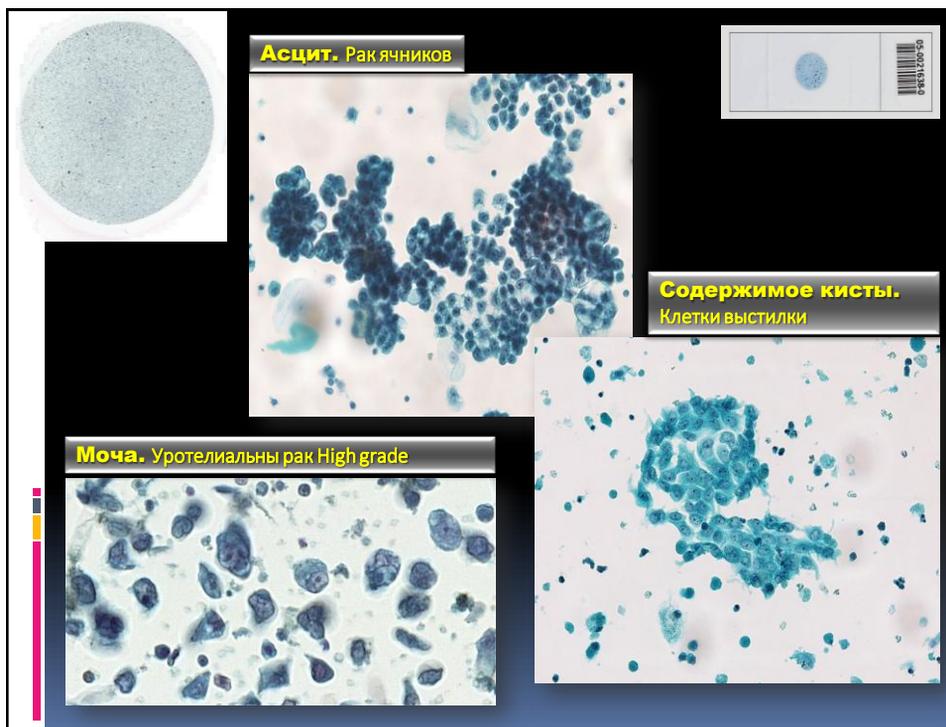
Транспортные среды - стабилизирующие многокомпонентные растворы

- фиксирующие спиртовые смеси 30–50% (этанол, метанол, изопропанол);
- муколитические вещества, разрушающие слизь;
- 2–3% растворы кетонов и альдегидов (фиксаторы клеточных структур);
- водно-солевые буферные растворы;
- полиолы и детергенты (дезагреганты и стабилизаторы жидких суспензий)



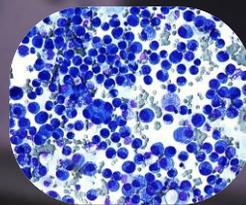
Биологические жидкости



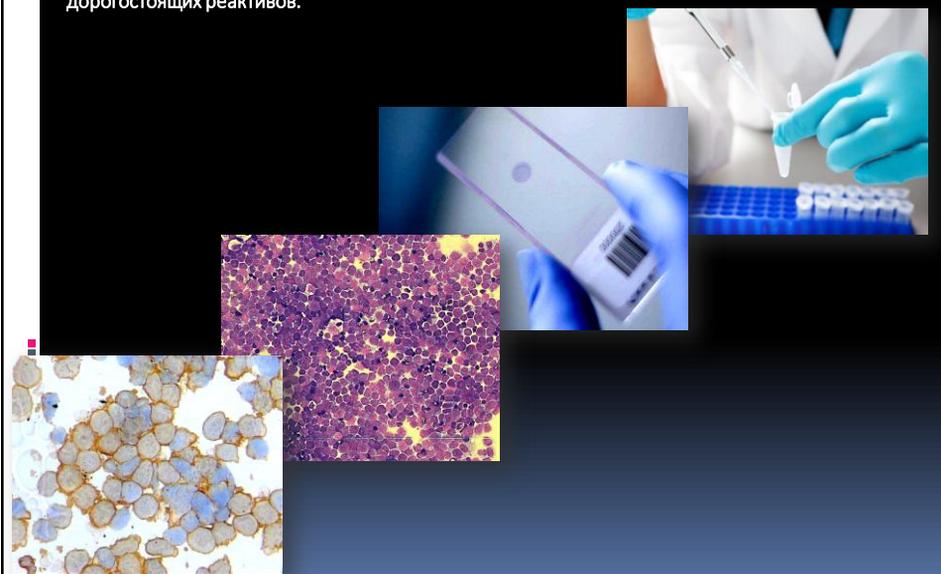


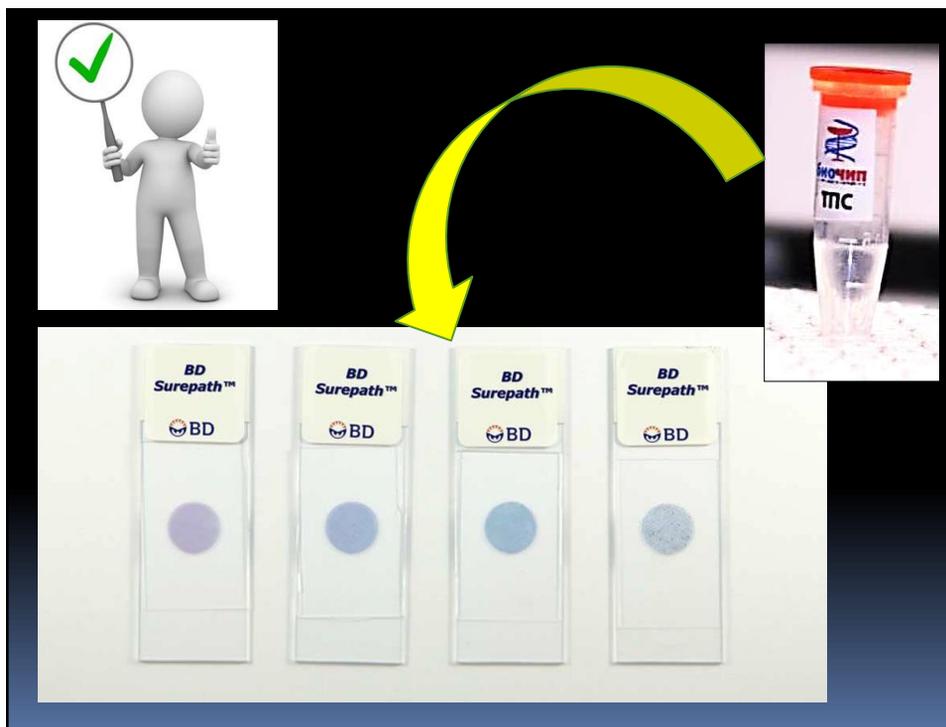
Преимущества:

- Наличие консерванта позволяет сохранить полученный материал до 6 месяцев.
- Удобная, герметичная крышечка пробирки позволяет свести к минимуму потерю биоматериала: при проколе иглой шприца производится забор среды и обратный возврат материала без потерь.



Жидкостная технология цитологических мазков с использованием питательной среды накопления (патент на изобретение № 2246110) способствует получению высококачественных цитологических препаратов, облегчает их просмотр, улучшает результаты иммуноцитохимических исследований на 23,3% и практически в 6 – 8 раз уменьшает расход дорогостоящих реактивов.

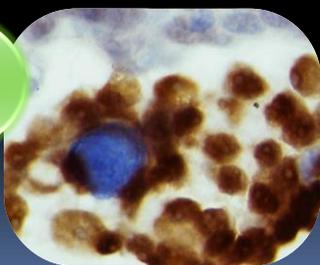




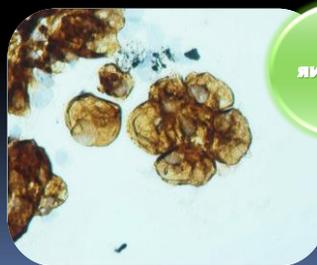
Иммуноцитохимия - это один из методов окраски биологических объектов, изучаемых под микроскопом, основанный на высоко специфической реакции **антиген – антитело**, при изучении цитологических препаратов с целью идентификации и установления локализации в клетках разнообразных молекулярных структур и соединений.

Данные исследования начали применяться в конце 90-х и в основном в гематологии для фенотипирования лимфолейкозов. В начале 2002 года ее активно стали использовать в онкологии, в МНИОИ им. П.А. Герцена, чему очень способствовало внедрение в цитологию жидкостных технологий приготовления цитопрепаратов. Именно с этого момента **иммуноцитохимия** стала самостоятельным вспомогательным исследованием в цитологической диагностике опухолей.

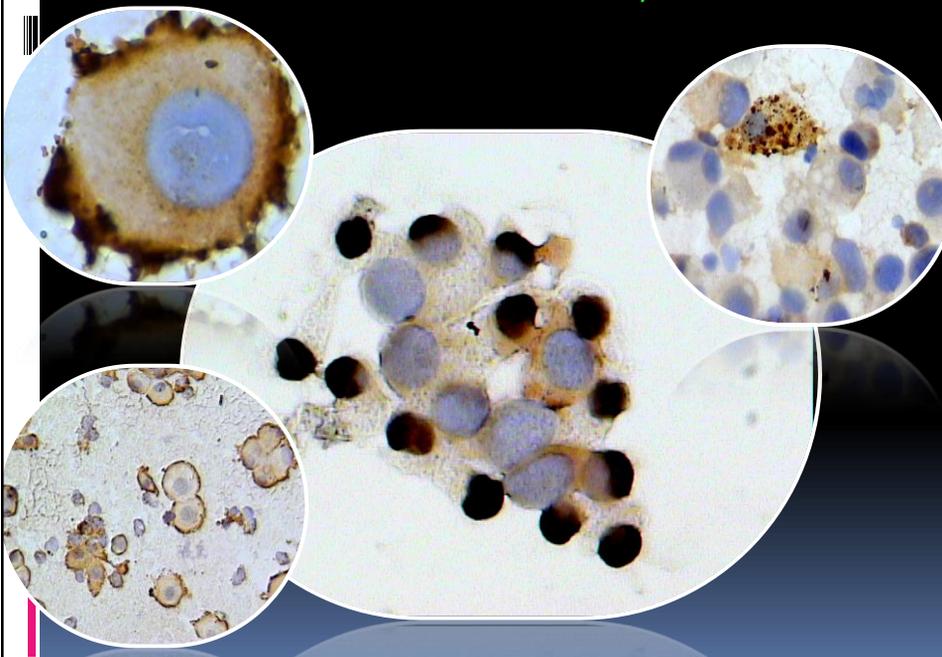
Рак
яичников
WT1

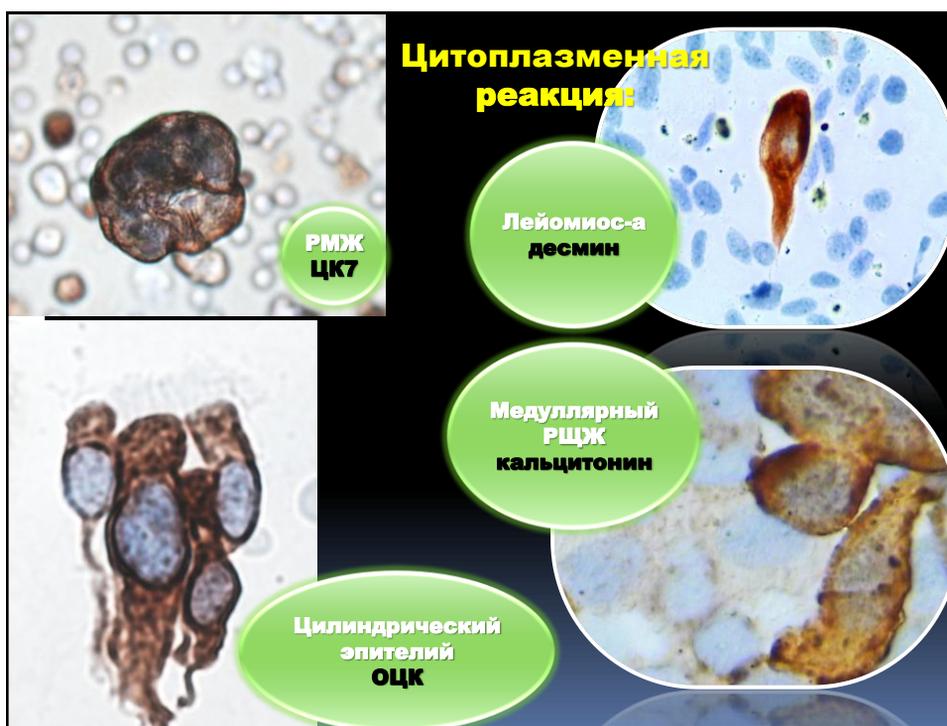
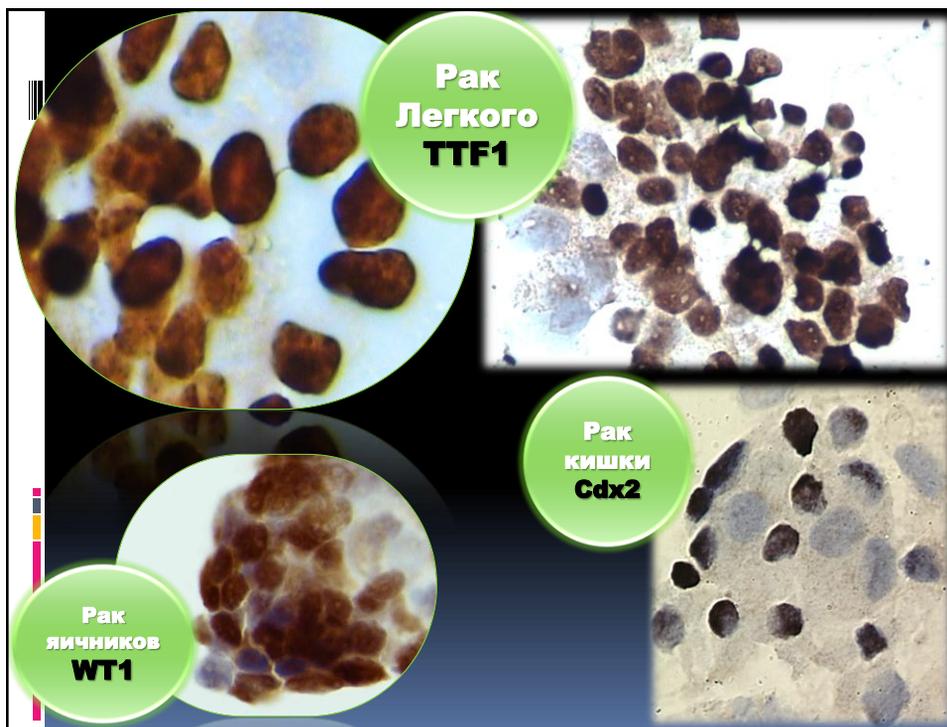


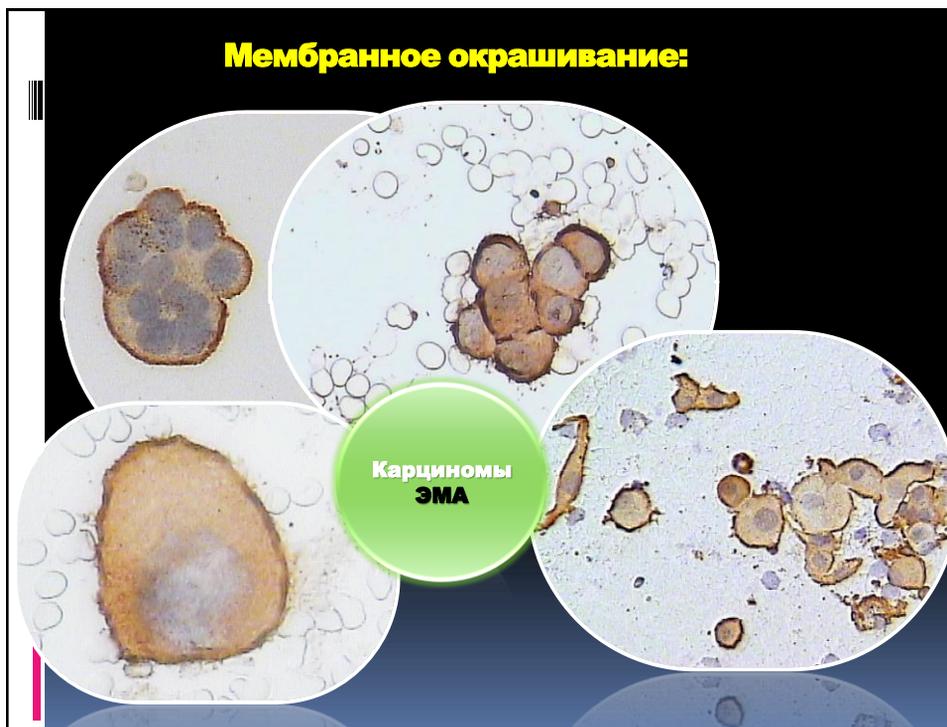
Рак
яичников
CK7

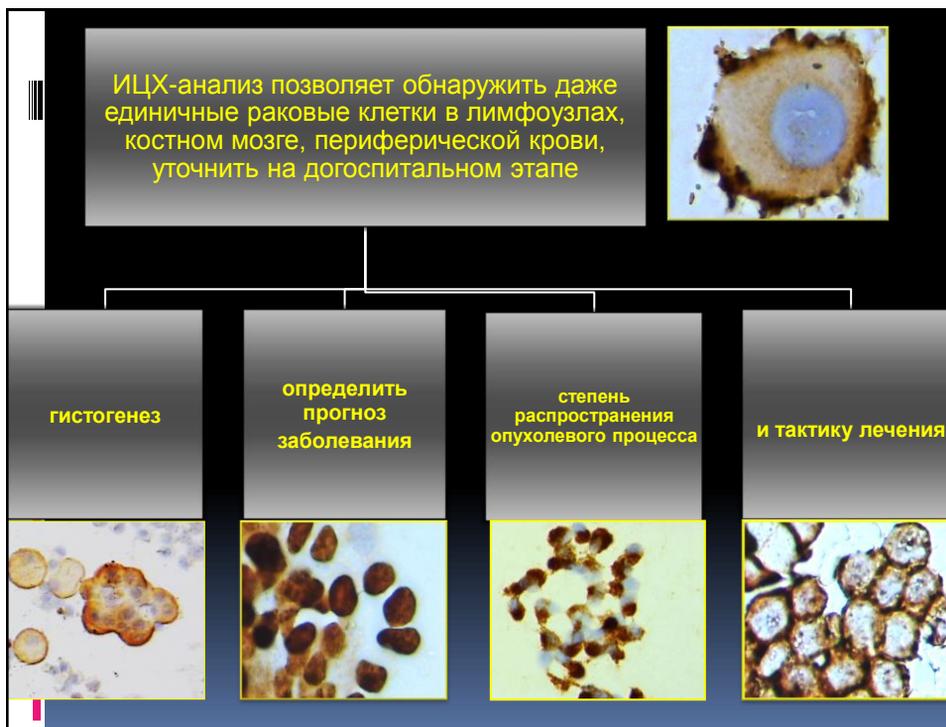


Антигены - локализация в клетке:







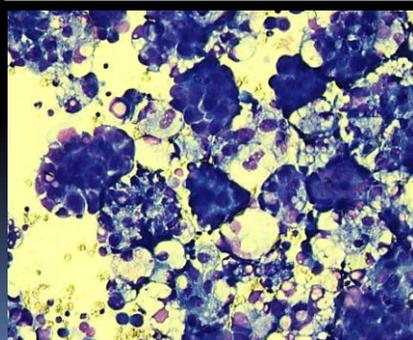


В лаборатории клинической цитологии ФГБУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина проанализировано 3500 ИЦХ исследований 657 пациентам

Структура ИЦХ исследований (2013-2016гг.)	Количество наблюдений	%
Биологические жидкости	212	32
Новообразования легких	194	30
Лимфатические узлы	159	24
Печень	20	3
Эндо метрий	18	2,7
Мягкие ткани	15	2,3
Опухоли средостения	10	1,5
Опухоли молочной железы	8	1,2
Опухоли костей	7	1,1
Опухоли щитовидной железы	6	0,9
Почка	2	0,3
Кожа	1	0,15
Поджелудочная железа	1	0,15
Надпочечник	1	0,15
Пищевод	1	0,15
Желудок	1	0,15
Моча	1	0,15
Всего	657	100%

ИЦХ-анализ незаменим при изучении биологических жидкостей, а возможность стандартизации технологии приготовления высококачественных тонкослойных цитопрепаратов («жидкостная» цитология) обеспечивает высокий уровень информативности.

Асцит. Серозный рак яичников



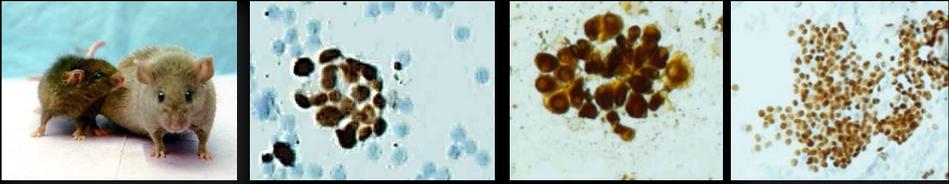
По данным литературы: Longato F.(2002), Глэзман Д.Ф. (2003), Савостикова М.В. (2007), Борисова О.В. (2010), Rossi ED (2015)

•ИЦХ методика в **79%** подтверждает диссеминацию опухоли в серозные полости, заподозренную рутинным цитологическим исследованием, и в **3 - 7%** позволяет избежать гипердиагностики опухолевого процесса.

•Дифференциальная диагностика реактивных и метастатических экссудатов при аденокарциноме осуществляется **чувствительным эпителиальным маркером Ber-EP4: чувствительность - 96%, специфичность - 99%.**

•Иммуноцитохимическое исследование плевральных и перитонеальных выпотов в сложных диагностических случаях повышает результативность цитологического метода: **чувствительность с 62% до 93% и специфичность с 95% до 99%.**

•При не выявленном первичном опухолевом очаге сочетание цитологического и ИЦХ исследований с использованием широкой панели моноклональных антител в **93%** устанавливает локализацию опухоли.

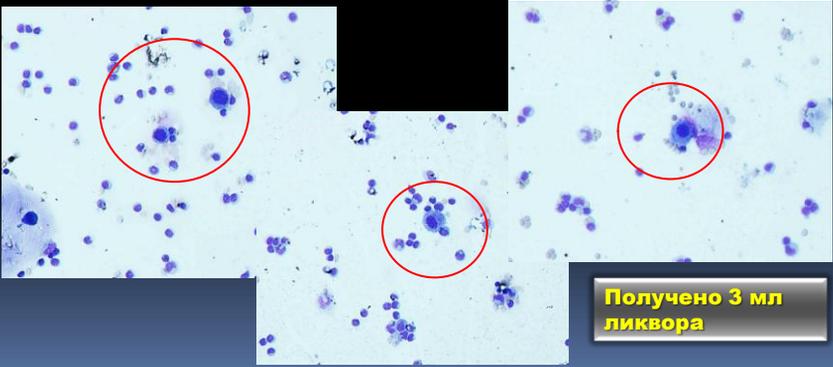


Цель ИЦХ исследований		212/%	Используемые МКАТ	Чувствительность	Специфичность
Определение специфичности процесса при наличии АК		131/62	ЭМА, VerEp4	98%	99%
Определение источника метастаза, либо гистогенез первичной опухоли.	БПО	18/9	CK7, CK20, CK5/6, TTF1, Cdx2, ТГ, СА125,	92%	91%
	ПМО	24/11	Melan A, HBMЕ1, белок S100, PЭ, PП, WT1, виментин, десмин.....	89%	92%
	Подтвердить органную принадлежность метастаза	39/18		96%	94%

Клиническое наблюдение : пациентка С., 36 лет.

Клинический диагноз: рак молочной железы, канцероматоз оболочек спинного мозга. В 2014-2016 комплексное лечение по поводу РМЖ. В апреле 2016г. Поражение оболочек спинного мозга.

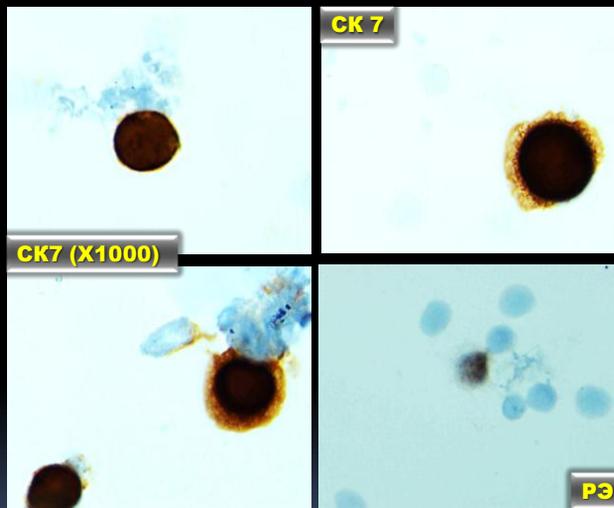
Цитологическое заключение: (люмбальная пункция) среди немногочисленных лимфоидных элементов определяются единичные атипичные клетки, вероятнее всего, принадлежащие карциноме.

Получено 3 мл ликвора

Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

метастаз рака молочной железы.

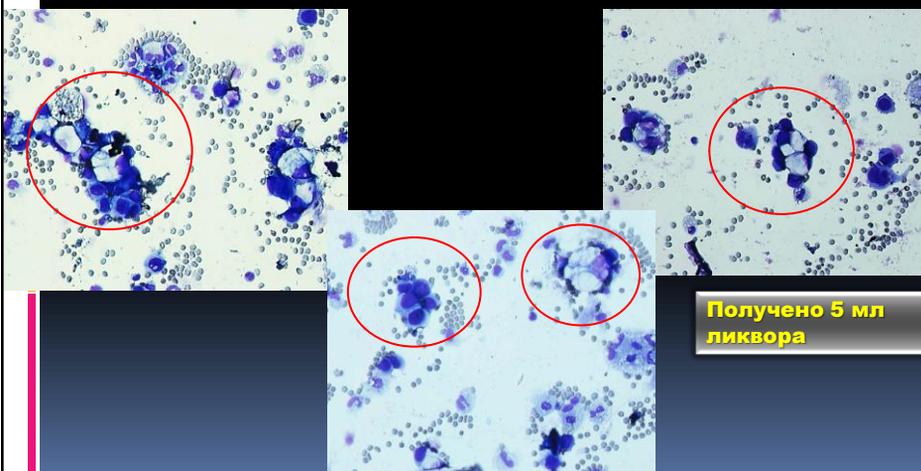


Гистологическое заключение: образование в ткани мозга представлено метастазом солидно-альвеолярного рака, не противоречащего по строению метастазу рака молочной железы.

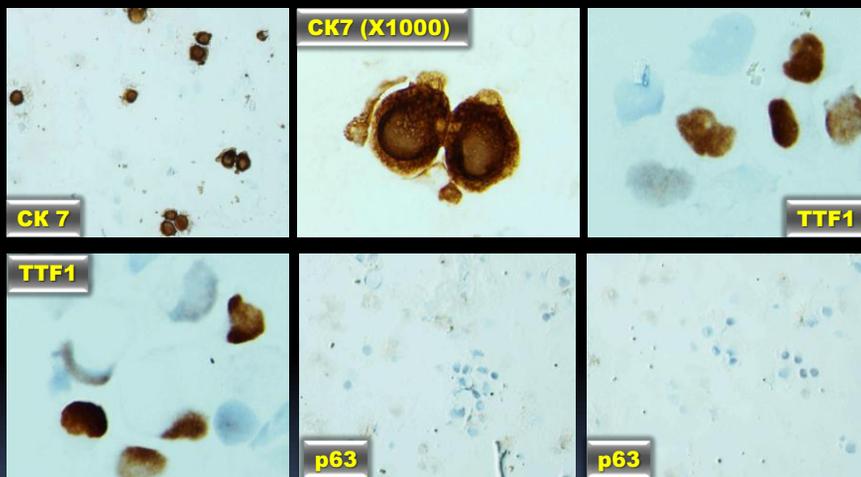
Клиническое наблюдение : пациент Ю., 65 лет.

Клинический диагноз: в 2012 г. плоскоклеточный рак легкого (в другом учреждении). Оперативное лечение. В апреле 2016г. метастаз в головной мозг.

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



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:
метастаз аденокарциномы легкого.



Гистологическое заключение: (пересмотр препаратов)
аденокарцинома легкого.

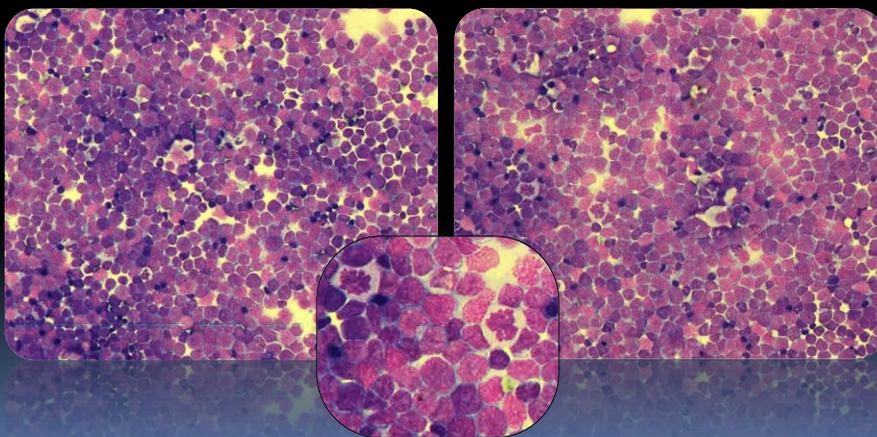
Клиническое наблюдение : пациент Б., 48 лет.

Клинический диагноз: опухоль гипофиза. Лимфома?

Цитологическое заключение: (люмбальная пункция)
цитограмма соответствует лимфоме.

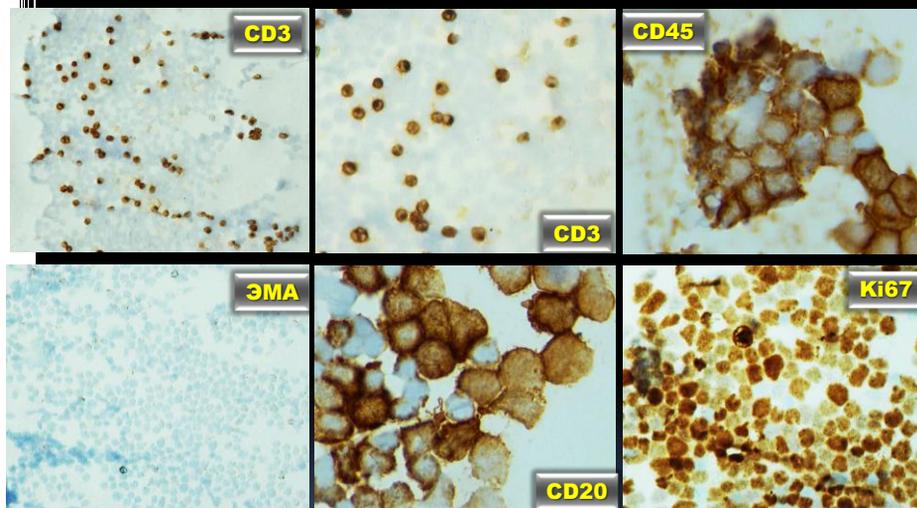


Получено 6 мл
ликвора



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

В-клеточная лимфома.

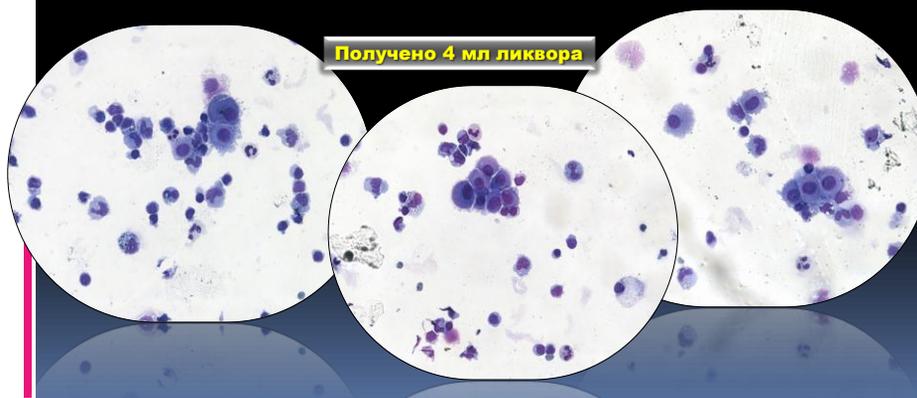


Проточная цитофлуориметрия: В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности

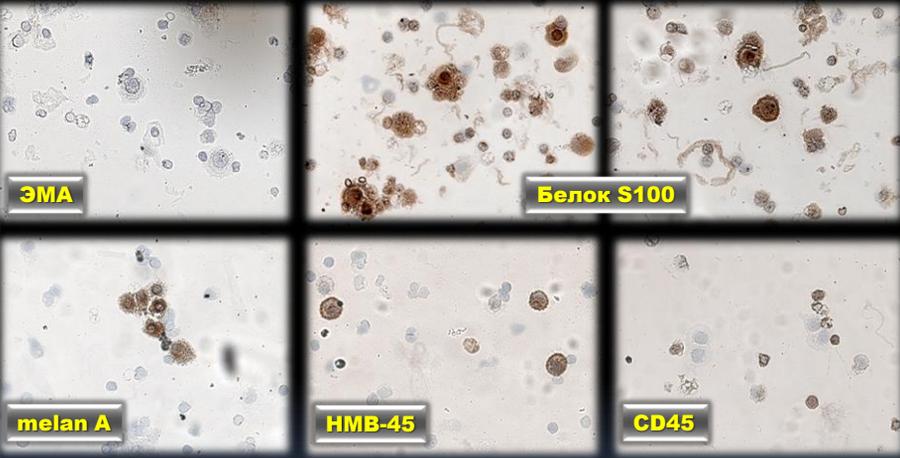
Клиническое наблюдение : пациентка Б., 36 лет.

Клинический диагноз: меланома кожи левого предплечья T2N0M0 после хирургического лечения в 2010 году. В октябре 2012 выявлены множественные объемные образования головного мозга. Кровоизлияние в вещество головного мозга, генерализованный судорожный припадок от 30.10.12.

Цитологическое заключение: (люмбальная пункция) цитограмма подозрительна по наличию метастаза меланомы.



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:
метастаз меланомы.



ЭМА **Белок S100**

melan A **HMB-45** **CD45**

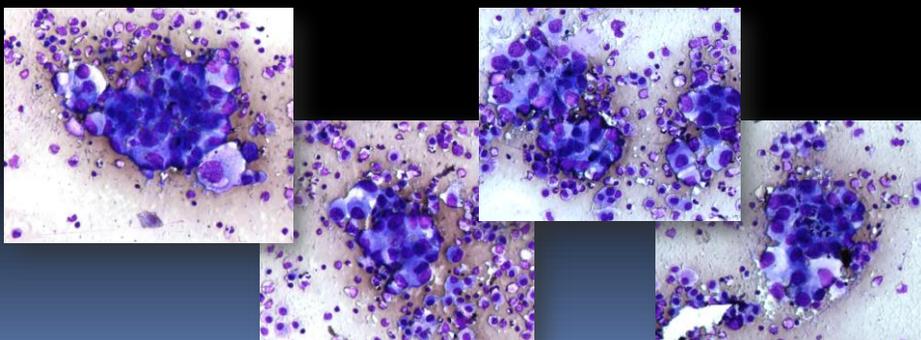
Гистологическое заключение: эпителиоцелочная пигментная меланома кожи.

ИЦХ исследование биологических жидкостей	212/%	Чувствительность	Специфичность
БПО	18/9%	92%	91%
ПМО	24/11%	89%	92%

Клиническое наблюдение: пациент В., 49 лет.

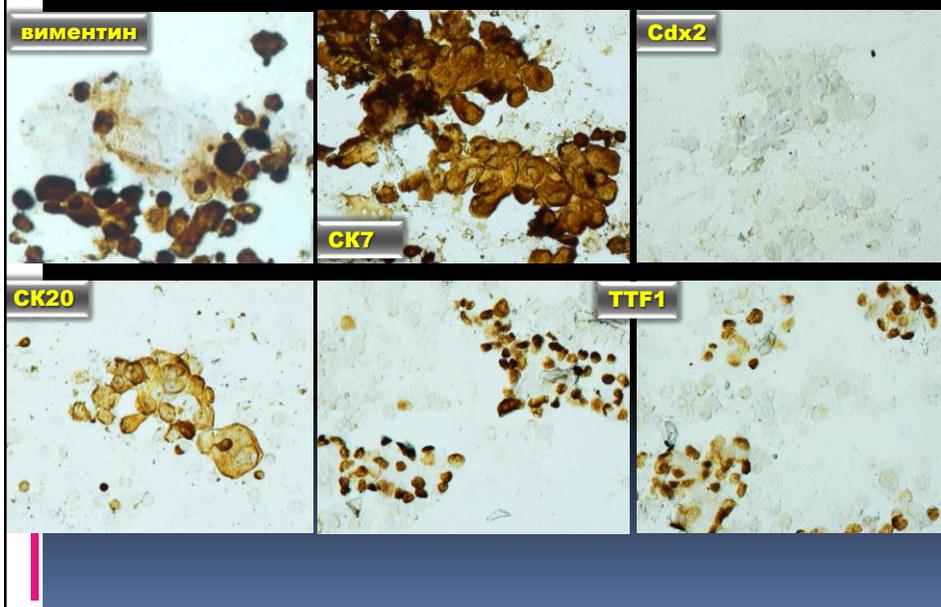
Клинический диагноз: поражение костей, легких, лимфатических узлов. Лимфома?

Цитологическое заключение: (плевральная жидкость V=400мл) цитограмма соответствует метастазу аденокарциномы.



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

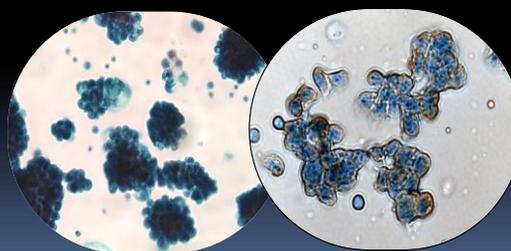
метастаз аденокарциномы легкого.



[Rossi ED¹](#), [Bizzarro T](#), [Schmitt F](#), [Longatto-Filho A](#)

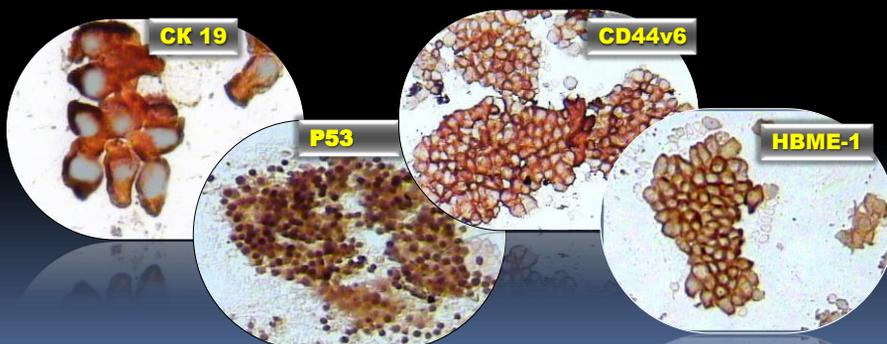
// The role of liquid-based cytology and ancillary techniques in pleural and pericardial effusions: an institutional experience //
([Cancer Cytopathol.](#) 2015 Apr):

Препараты 3171 серозных выпотов, приготовленные с помощью ЖЦ, были распределены на диагностические категории негативных, подозрительных и позитивных по наличию злокачественного поражения. Для 411 наблюдений были сделаны ИЦХ-исследования, для 47 - молекулярно-генетические. В итоге чувствительность метода ТИАБ/ЖЦ составила 88%, специфичность 100%, диагностическая точность 98%, 98% негативная и 100% позитивная предсказательная значимость.



Дифференциальная диагностика папиллярного рака и доброкачественных заболеваний щитовидной железы с использованием ИЦХ

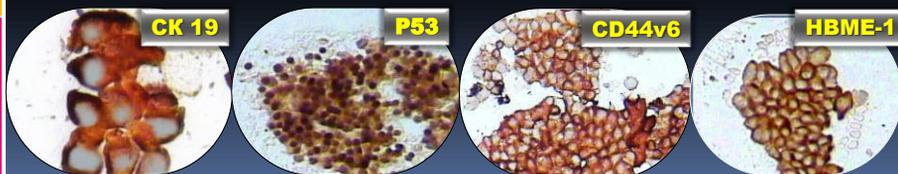
1. Афанасьева З. А. //Комплексная диагностика рака щитовидной железы// Работа выполнена в Казанской государственной медицинской академии (май, 2000).
2. Казанцева И.А., Федосенко А.К., Гуревич Л.Е., // Иммуногистохимические исследования в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных поражений щитовидной железы. // Архив патологии 2001; 4: 18.
3. Петров С.В., Райхлин Н.Т. //Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека // Казань 2004 С.7 –57.....



Дифференциальная диагностика папиллярного рака и доброкачественных заболеваний щитовидной железы с использованием ИЦХ

Патологический процесс	Число больных	ТГ	ТТГ-1	CK 19	p53	HBME-1	CD44 v6	KI-67
Папиллярный рак	30	94 %	94%	98%	10%	78%	80%	нет
Доброкачественный процесс (зоб, аденома, тиреоидит)	21	94 %	94%	нет	нет	нет	нет	нет

Волченко Н.Н., Решетов И.В., Славнова Е.Н., Борисова О.В., Голубцов А.К. //Иммуноцитохимическое исследование в цитологической диагностике папиллярного рака и доброкачественных образований щитовидной железы//Российский онкологический журнал. – 2008. - № 6.-С.17 – 21.

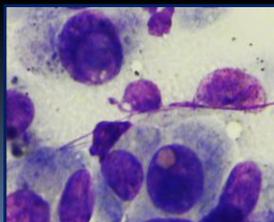


Дифференциальная диагностика злокачественных и доброкачественных образований

Bizzarro T¹, Martini M¹, Marrocco C¹, D'Amato D¹, Traini E², Lombardi CP², Pontecorvi A³, Fadda G¹, Larocca LM¹, Rossi ED¹

//The Role of CD56 in Thyroid Fine Needle Aspiration Cytology: A Pilot Study Performed on Liquid Based Cytology / ([PLoS One](#). 2015 Jul 17):

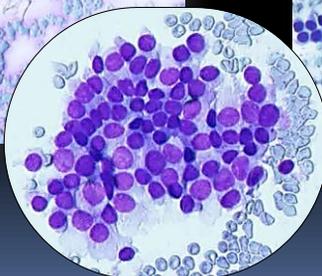
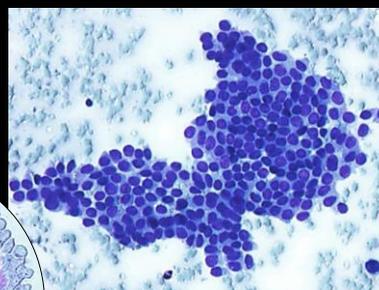
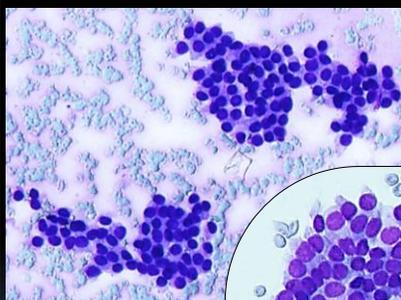
В работе применяли HBME-1, Galectin-3 и CD56 для диагностики доброкачественных и злокачественных поражений ЩЖ, препараты для ИЦХ были приготовлены с помощью ЖЦ. Результаты подтверждены гистологически. CD56 показал чувствительность 96%, но низкую специфичность 69%. Панель, включающая помимо CD56 HBME-1 и Galectin-3, позволяет повысить чувствительность в дифдиагностике доброкачественных и злокачественных поражений ЩЖ до 98% и специфичность до 86%.



Клиническое наблюдение: пациентка Н., 25 лет.

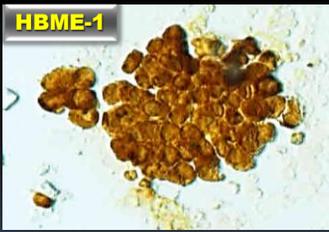
Клинический диагноз: опухоль щитовидной железы. Рак?

Цитологическое заключение: (ТИАБ образования левой доли щитовидной железы) Цитограмма подозрительна в отношении высокодифференцированной папиллярной карцинома.



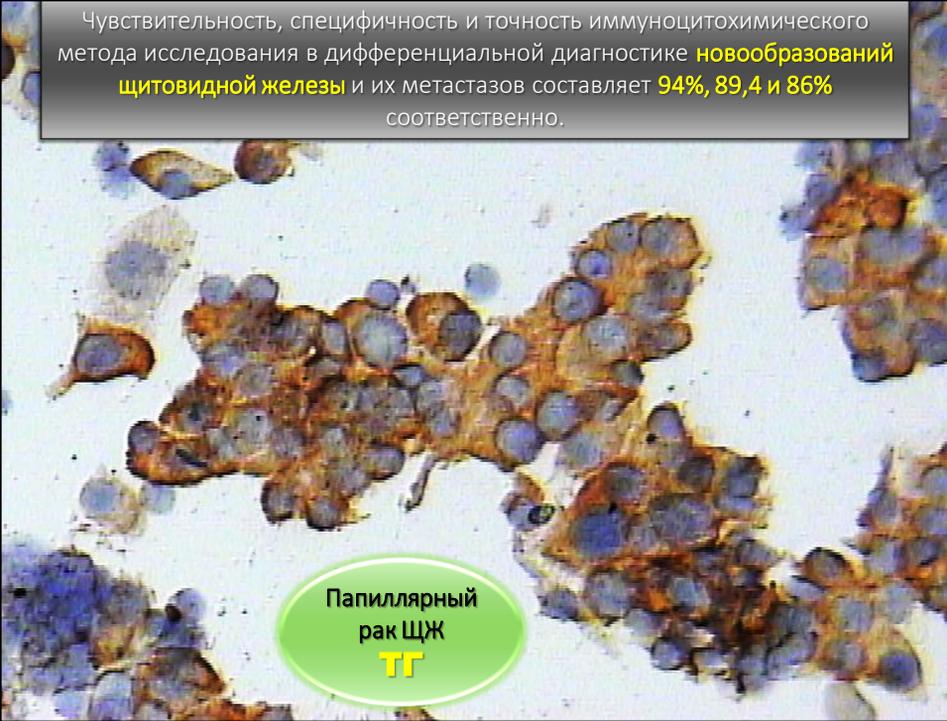
УЗИ: узел d=8мм

Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:
папиллярная карцинома щитовидной железы.

CK 19	TГ	TTF1
		
CD44	HBME-1	p53
		

Гистологическое заключение: папиллярный рак щитовидной железы без прорастания капсулы.

Чувствительность, специфичность и точность иммуноцитохимического метода исследования в дифференциальной диагностике **новообразований щитовидной железы** и их метастазов составляет **94%, 89,4 и 86%** соответственно.



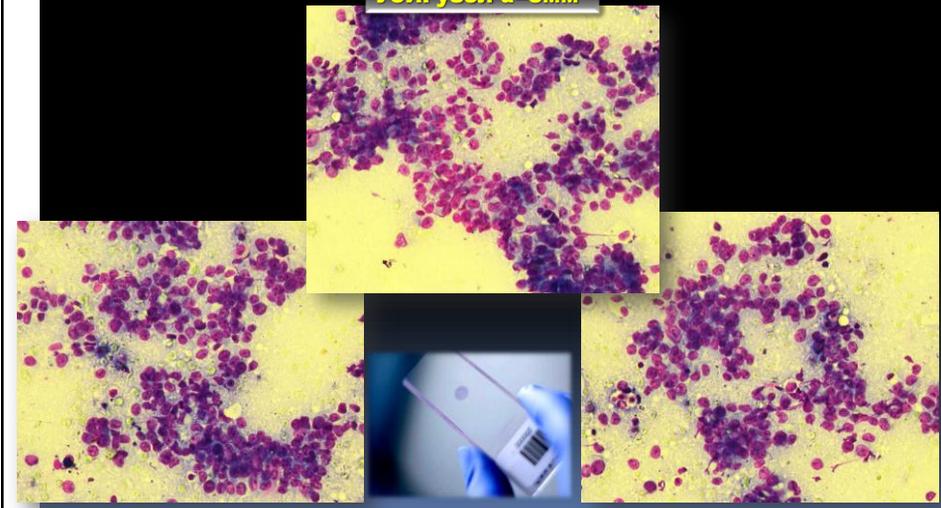
Папиллярный
рак ЩЖ
TГ

Клиническое наблюдение : пациент П., 26 лет.

Клинический диагноз: опухоль щитовидной железы. Рак? Лимфома ?

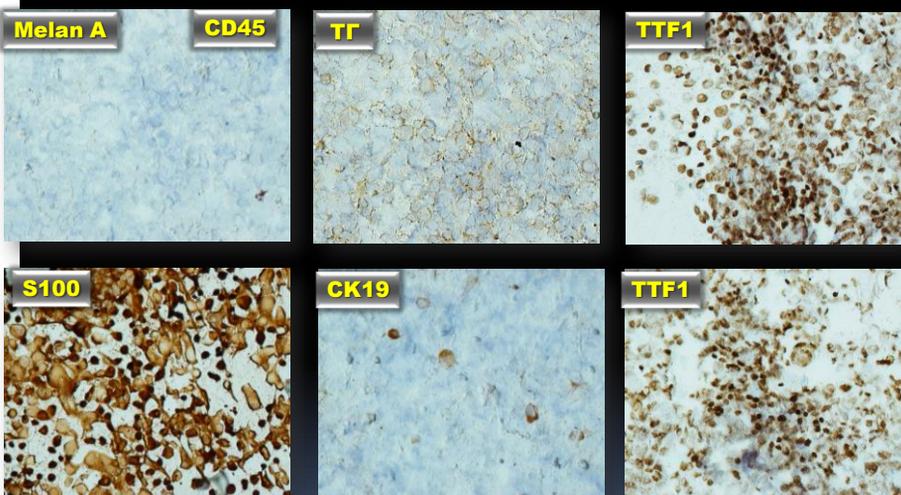
Цитологическое заключение: (ТИАБ образования щитовидной железы)
злокачественное новообразование, вероятнее всего рак.

УЗИ: узел d=8мм



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

низкодифференцированная карцинома щитовидной железы.



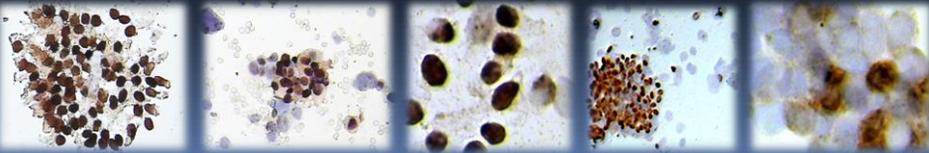
Гистологическое заключение: низкодифференцированный рак щитовидной железы.



**Определение рецепторов
стероидных гормонов:
эстрогенов
прогестерона
андрогенов**

РМЖ
Рак эндометрия
Рак яичников
Фиброма десмоид

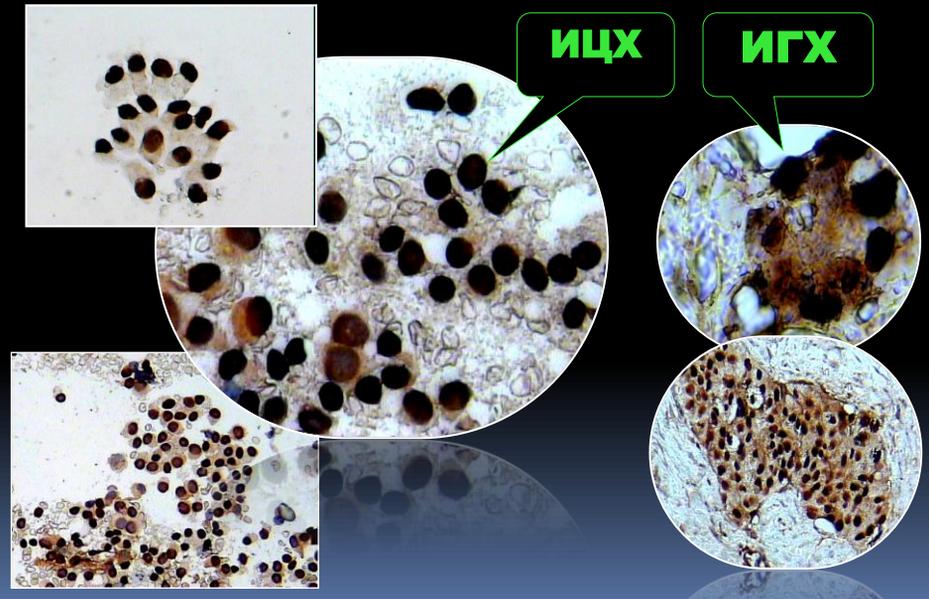
доброкачественная
патология МЖ

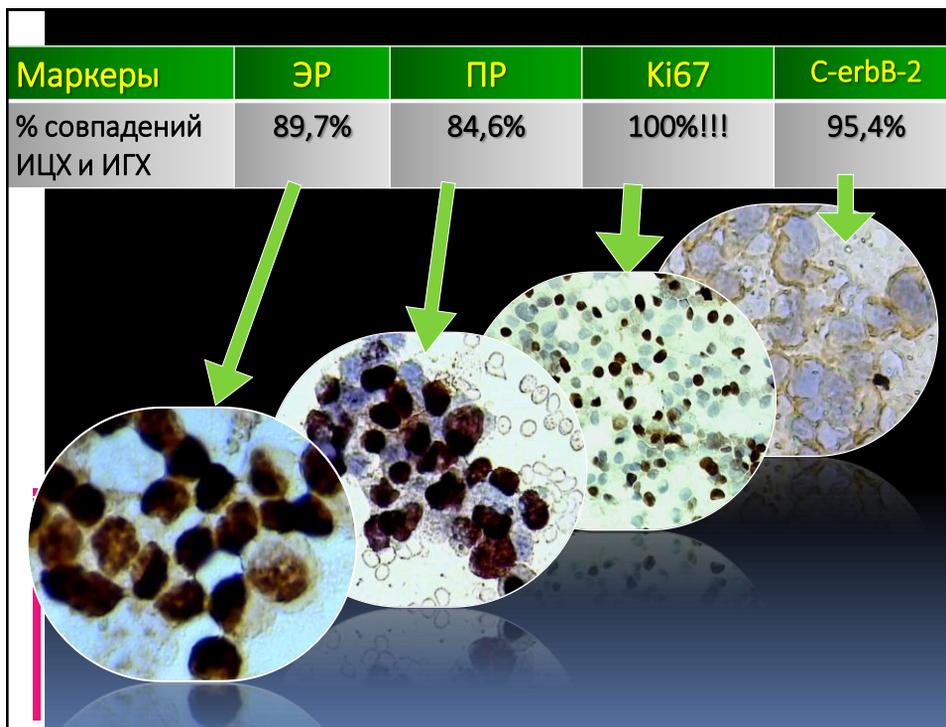


Экспрессия РЭ и РП в клетках РМЖ

ИЦХ

ИГХ

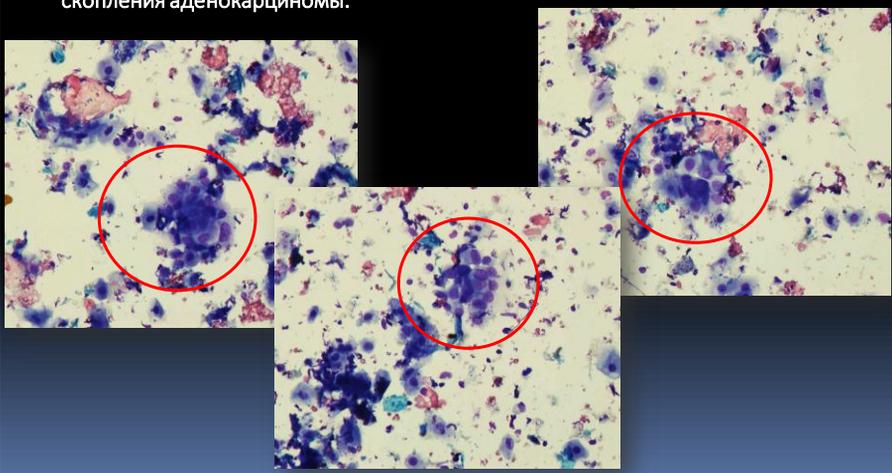


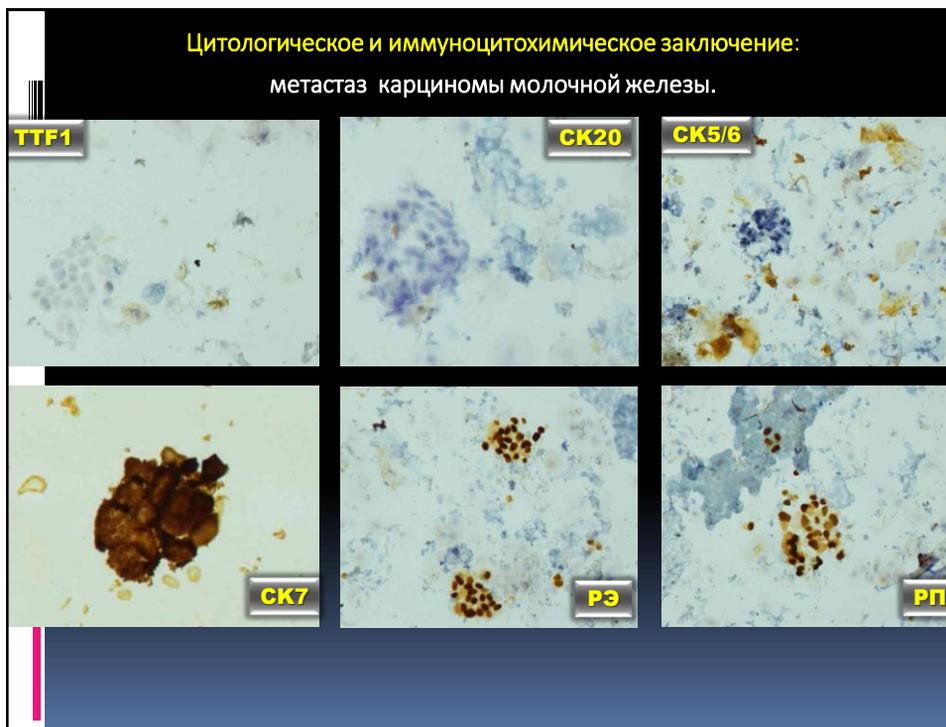


Клиническое наблюдение : пациентка Н., 59лет.

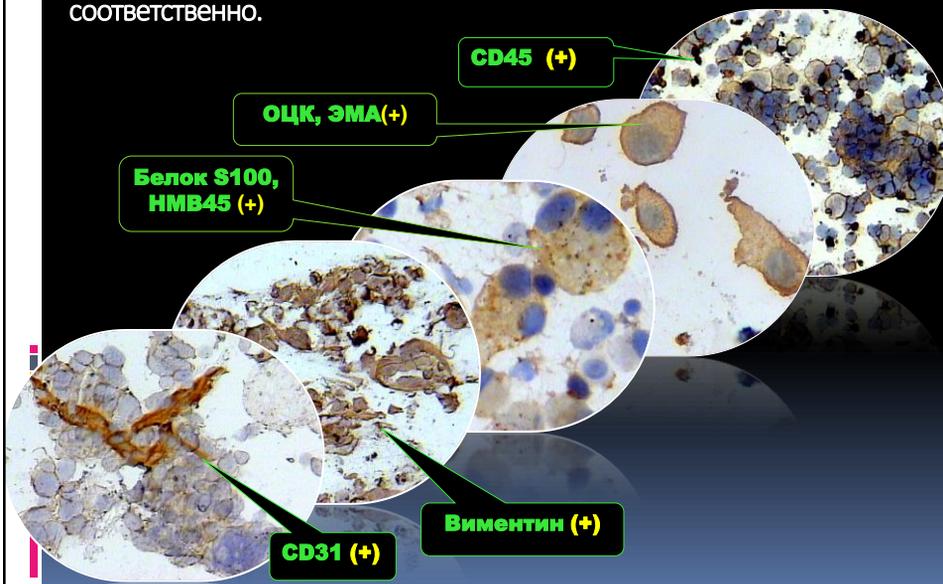
Клинический диагноз: рак молочной железы. Прогрессирование заболевания . Метастаз в пищевод? Метастаз в легкое? Рак легкого?

Цитологическое заключение: (ТИАБ образования пищевода) среди клеток плоского эпителия определяются единичные скопления аденокарциномы.



Злокачественные недифференцированные новообразования-иммуноцитохимические исследования позволяют диагностировать рак, меланому и лимфому с точностью до 90,3%, 100% и 87,5% соответственно.



Клиническое наблюдение : пациентка Г., 67 лет.

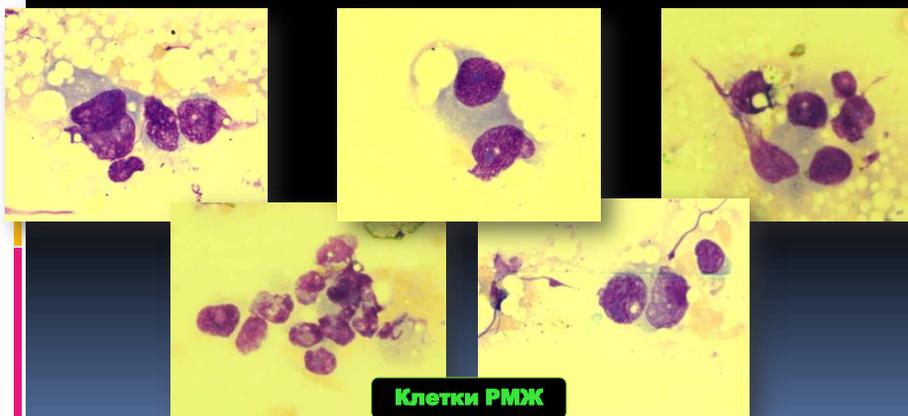
АНАМНЕЗ:

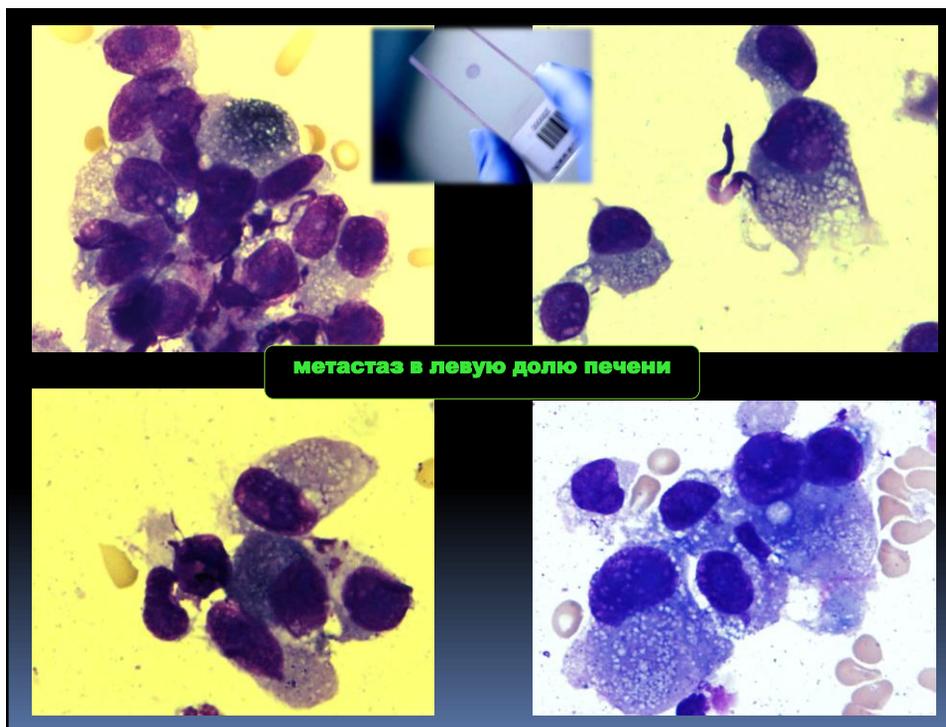
2005г. – гиперплазия эндометрия,

2010г. – рак молочной железы,

2013г. – увеальная меланома глаза. Брахитерапия.

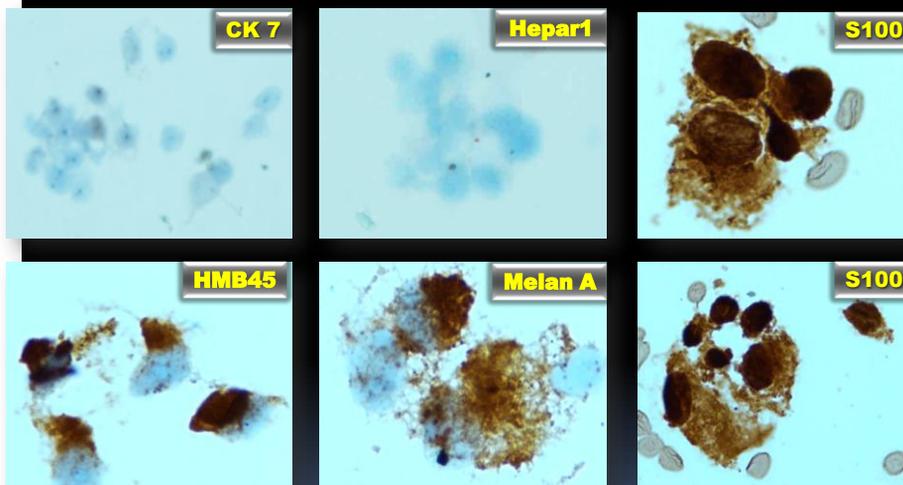
2015г. – метастаз в левую долю печени.





Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

Метастаз эпителиоцелочной пигментной меланомы.

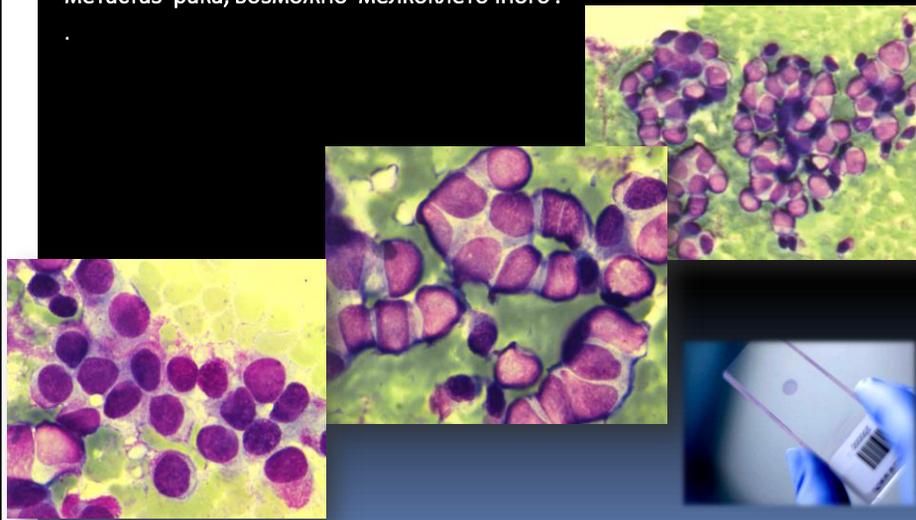


Гистологическое заключение: метастаз эпителиоцелочной пигментной меланомы.

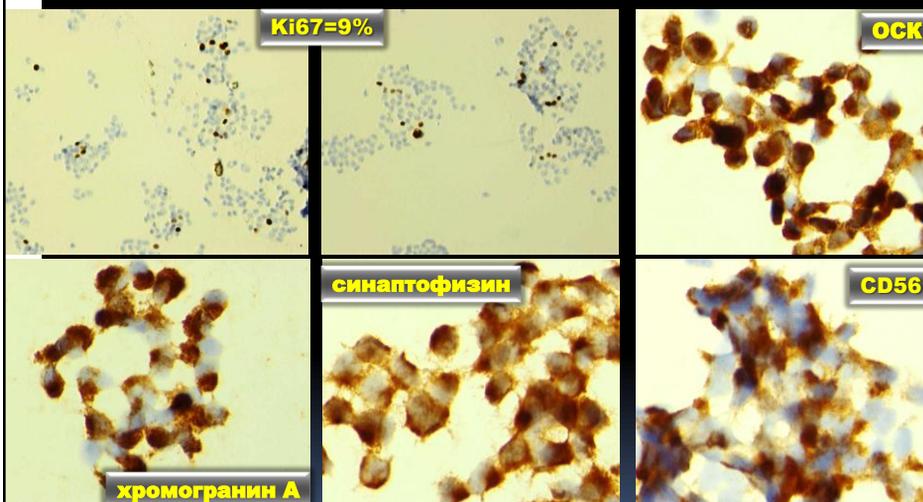
Клиническое наблюдение : пациент И., 50 лет.

Клинический диагноз: внеорганные новообразования в малом тазу
65x70x44мм. Метастаз в левую долю печени.

Цитологическое заключение: (пункт образования левой доли печени)
метастаз рака, возможно мелкоклеточного .



Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:
высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль.



Гистологическое заключение: метастаз атипического карциноида.



24% ИЦХ исследований проводится на пунктатах лимфатических узлов. ИЦХ исследования повышают достоверность определения **гистогенеза новообразований в метастатически пораженных лимфатических узлах с 67% до 97%**.

Rossi ED¹, Martini M¹, Straccia P¹, Bizzarro T¹, Fadda G¹, Larocca LM¹

// The potential of liquid-based cytology in lymph node cytological evaluation: the role of morphology and the aid of ancillary techniques
(*Cytopathology*, 2016 Feb):

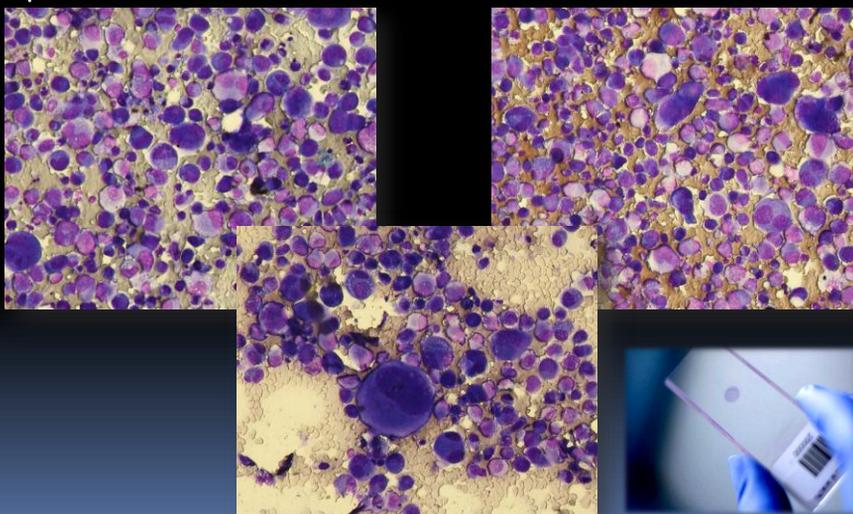
Проведена морфологическая оценка 263 препаратов л/у, приготовленных с помощью ЖЦ. Кроме того, были проведены 62 ИЦХ и 28 молекулярно-генетических исследований, что в некоторых случаях позволило опровергнуть первичный морфологический диагноз. Итоговая чувствительность метода составила 98.6%, специфичность - 100%, диагностическая точность 99%, 97.2% негативная и 100% позитивная предсказательная значимость..

Клиническое наблюдение : пациент В., 49 лет.

Клинический диагноз: метастазы в кости, легкие, лимфатические узлы . Плеврит. Асцит.

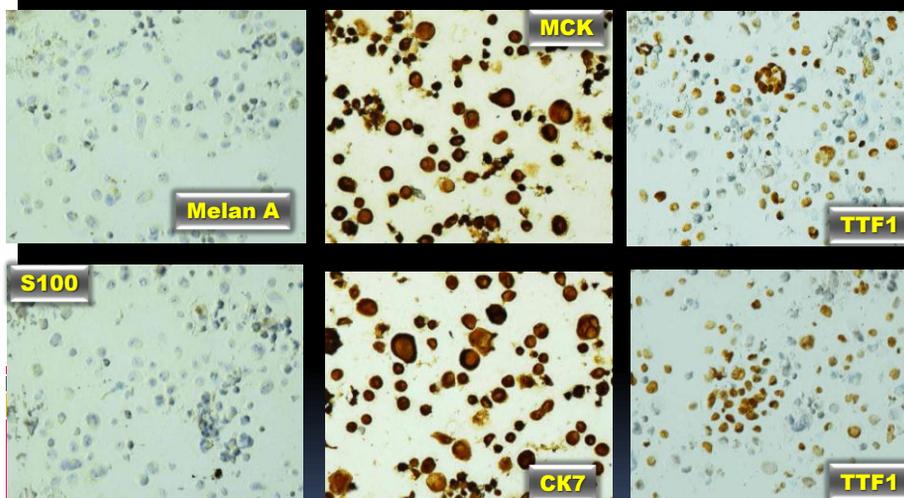
Цитологическое заключение: (пунктат надключичного лимфоузла)

Метастаз злокачественного недифференцированного новообразования: рак? Меланома?



22.07.14г. Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:

Метастаз аденокарциномы легкого.



Гистологическое заключение 23.07.14г.: маленький кусочек злокачественной опухоли солидного строения из довольно крупных клеток с оксифильной цитоплазмой и округлыми ядрами с одиночным ядрышком.

Органоспецифические маркеры:

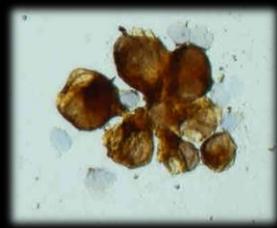
Экспрессия тиреоглобулина в папиллярном раке щитовидной железы

Экспрессия кальцитонина. Медуллярный рак. МТС в л/узел.

Экспрессия ПСА в клетках АК простаты



Определение органной принадлежности первичной опухоли

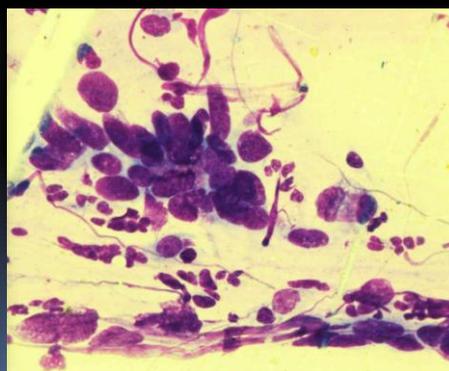


ЦК7+ ЦК20+	ЦК7+ ЦК20-	ЦК7- ЦК20+	ЦК7- ЦК20-
уротелиальный рак (p63, уроплакин)	АК легкого (ТТФ1)	АК кишки (Cdx2)	Почечно-клеточный рак (RCC, TFE3)
АК ВПЖВП (Dpc4/SMAD4)	АК молочной железы (ER;PR)		Гепатоцеллюлярный рак (АФП)
АК желудка	Серозный рак яичников (CA125, WT1)		Рак простаты (ПСА, AR)
			Мезотелиома (HBMЕ1, WT1)

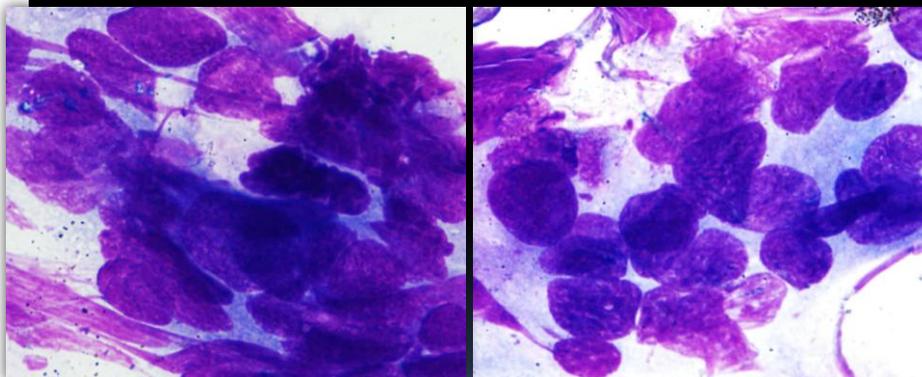
Клиническое наблюдение: пациентка Б., 58 лет.

Клинический диагноз: рак шейки матки?

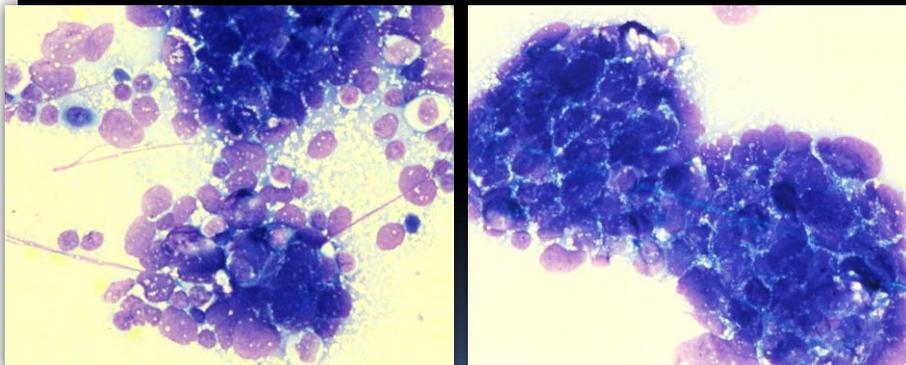
Цитологическое заключение: (цервикальный канал) среди элементов крови, клеток цилиндрического и плоского эпителия определяются отдельные комплексы низкодифференцированной аденокарциномы, возможно, метастатической.

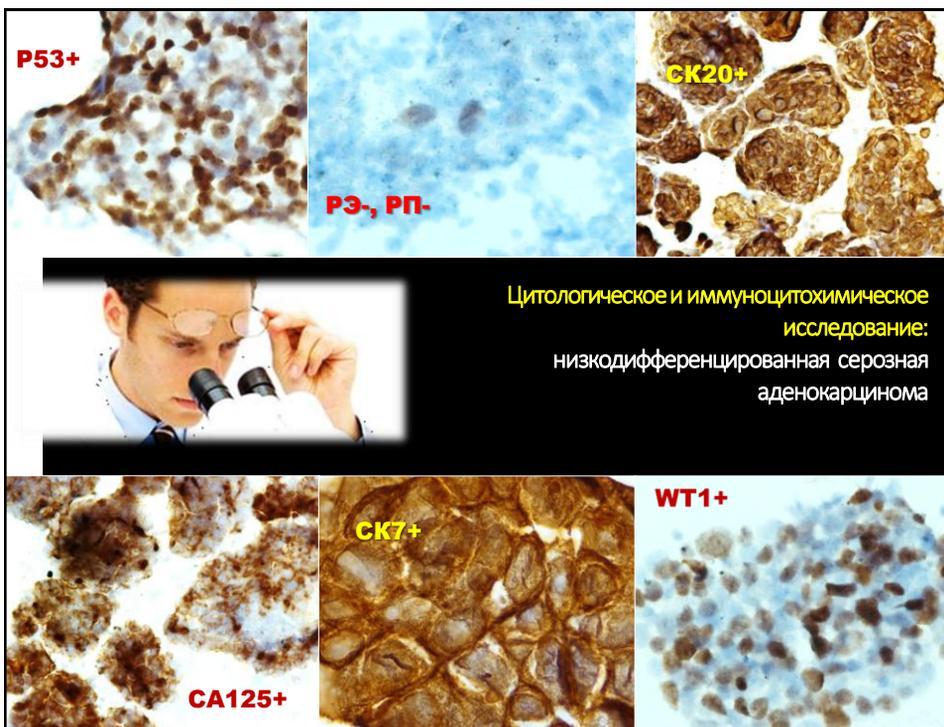


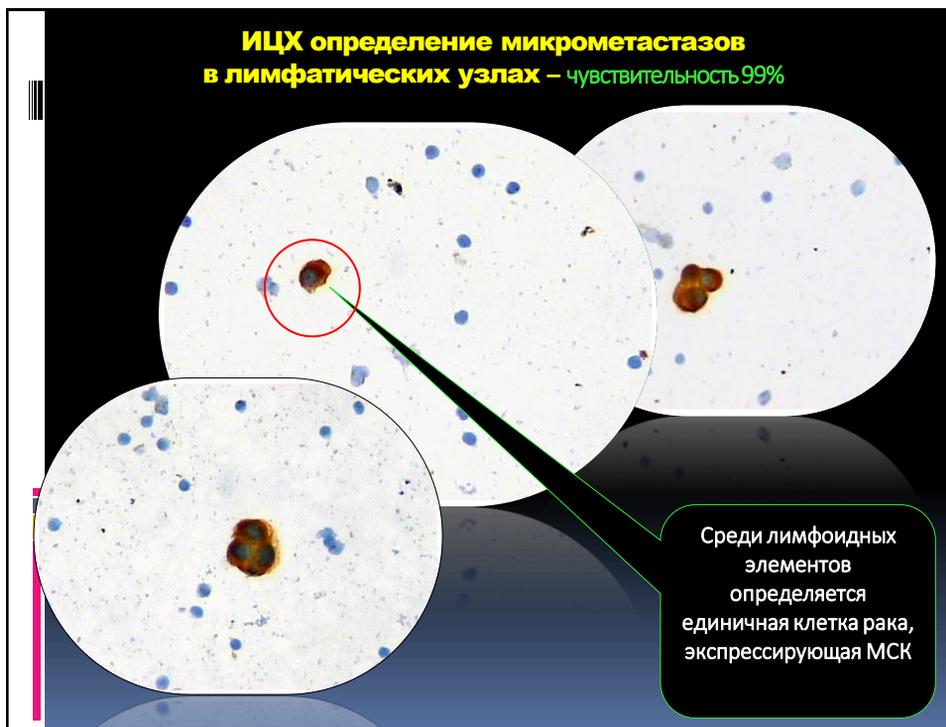
Цитологическое заключение: (аспират из полости матки) среди элементов крови, клеток эпителия эндометрия определяются отдельные комплексы низкодифференцированной аденокарциномы



Цитологическое заключение: (выпот из брюшной полости – 20мл) в полученном материале определяются папиллярные комплексы аденокарциномы.

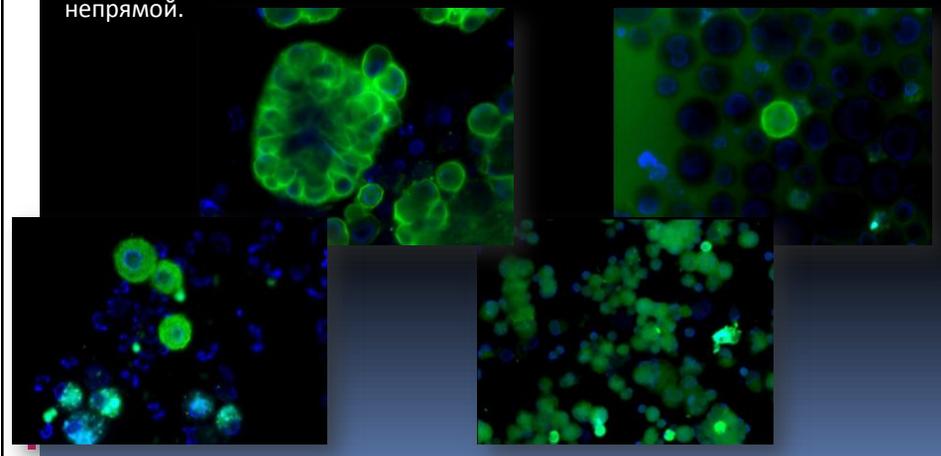






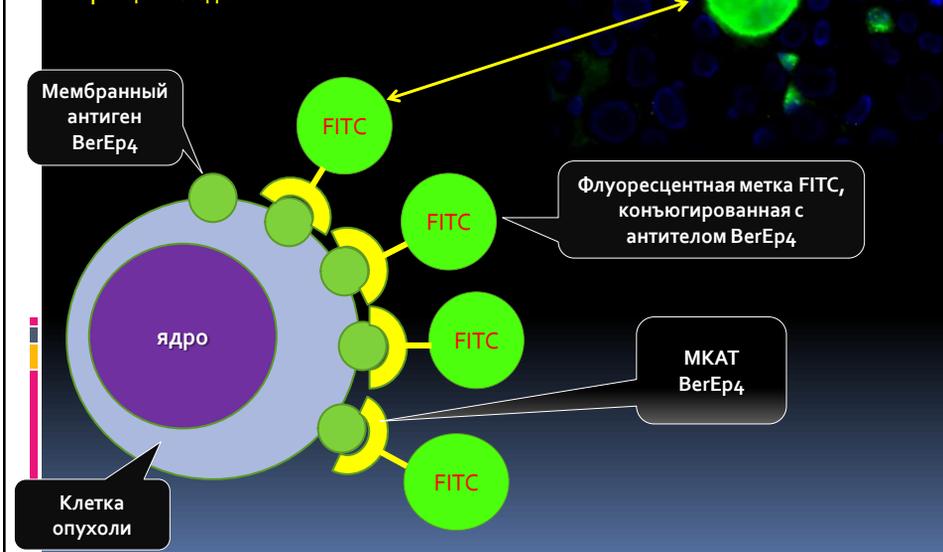
Флуоресцентная иммуоцитохимия -

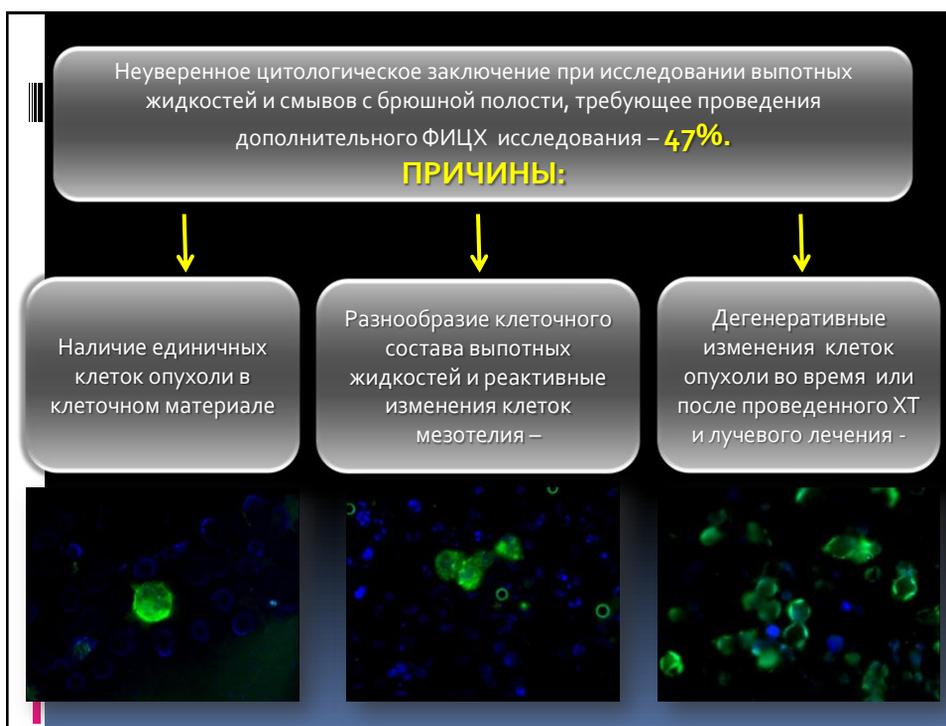
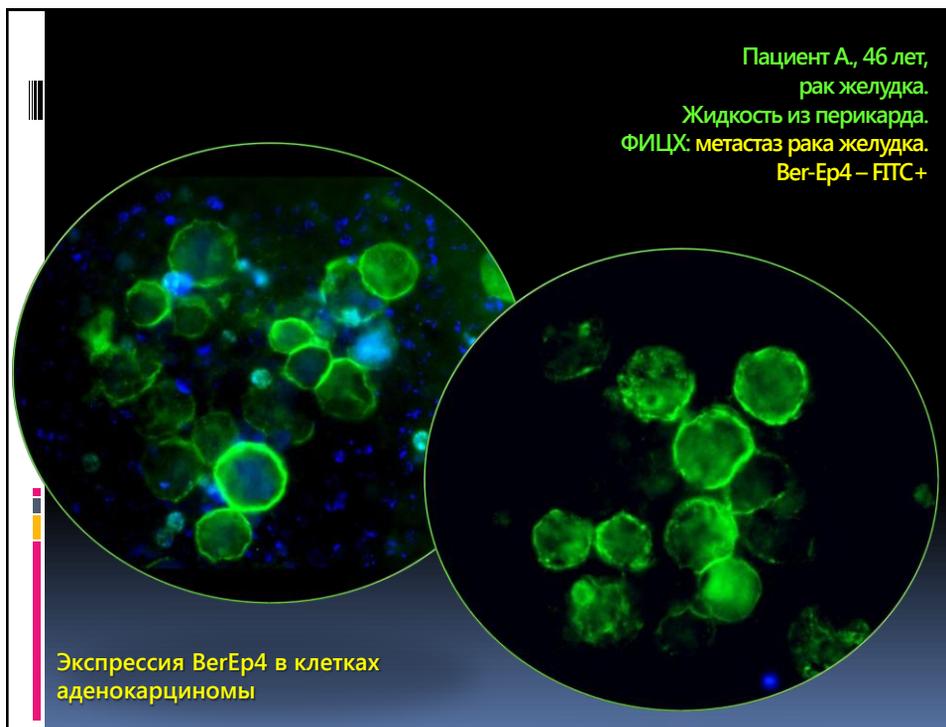
- это один из вариантов иммуоцитохимического исследования, когда для выявления реакции антиген-антитело используют флуоресцентные красители (флуорохромы), наблюдаемая в флуоресцентный микроскоп,
- существует 2 метода проведения этого исследования – прямой и непрямой.



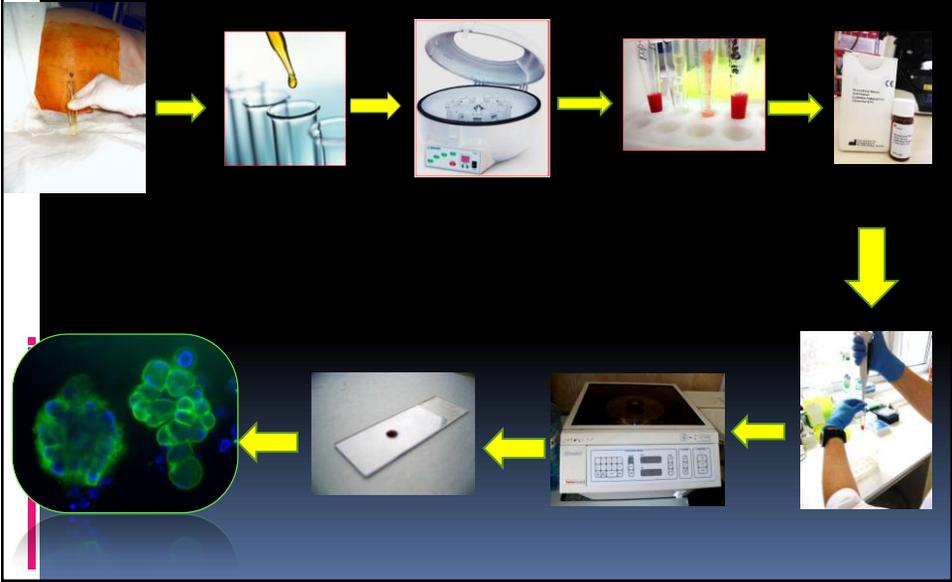
Прямой метод ФИЦХ диагностики
с антителами VerEr4, меченными
флуорохромами.

Принцип метода:





В наших исследованиях мы используем метод стандартного прямого иммуоцитохимического исследования с нанесением конъюгированных с FITC антител к BER-Ep4. Методика прямого выявления BER-Ep4 по времени занимает до 10-15 минут.

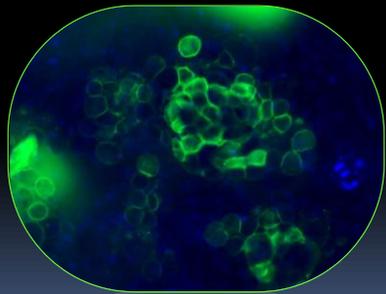
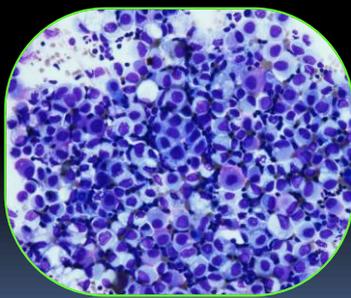


Пациентка М., 57 лет,
диагноз: рак толстой кишки. асцит.
Цитологическое заключение: пролиферация клеток мезотелия.
ФИЦХ: метастаз рака.

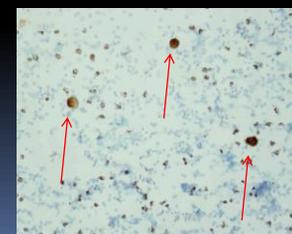
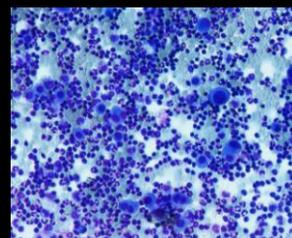
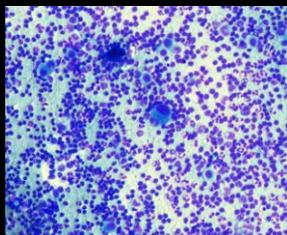
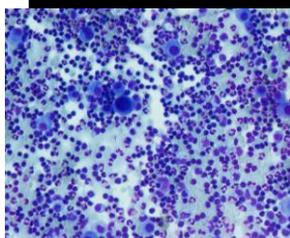
пролиферация
клеток
мезотелия



Ber-Ep4 – FITC+



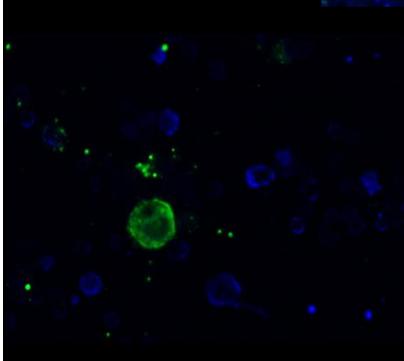
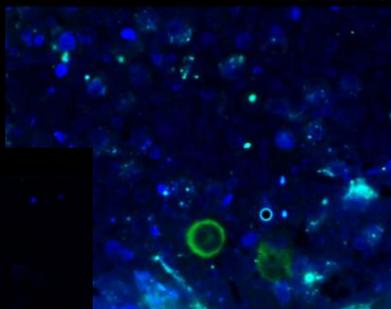
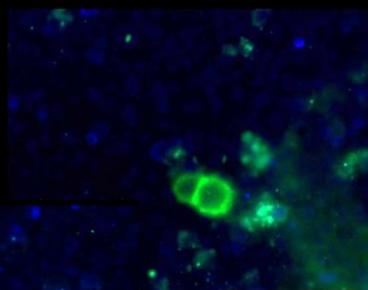
Наличие единичных клеток опухоли в клеточном материале-



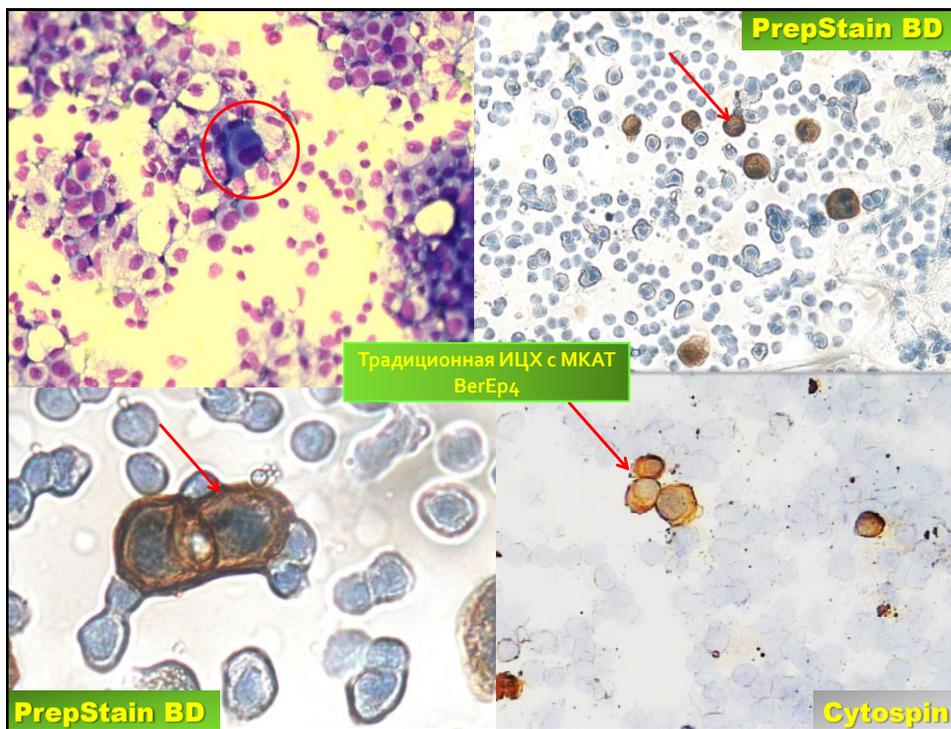
Традиционная ИЦХ с МКАТ
BerEp4

Сложности анализа:

- дистрофия клеток,
- долгий поиск,
- потеря клеток при приготовлении препаратов

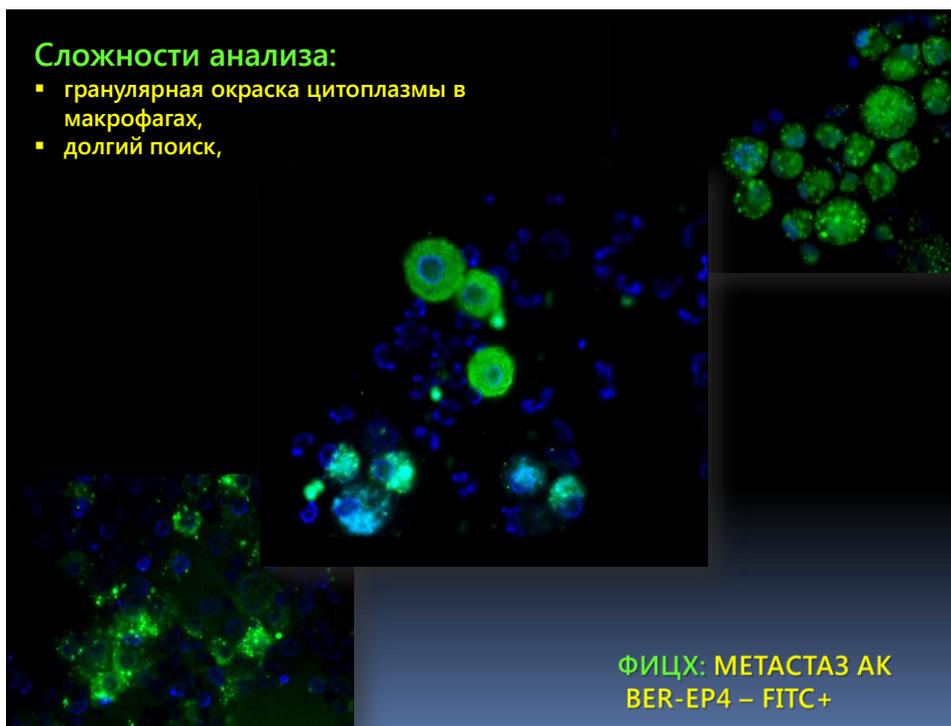


ФИЦХ: МЕТАСТАЗ АК
BER-EP4 – FITC+

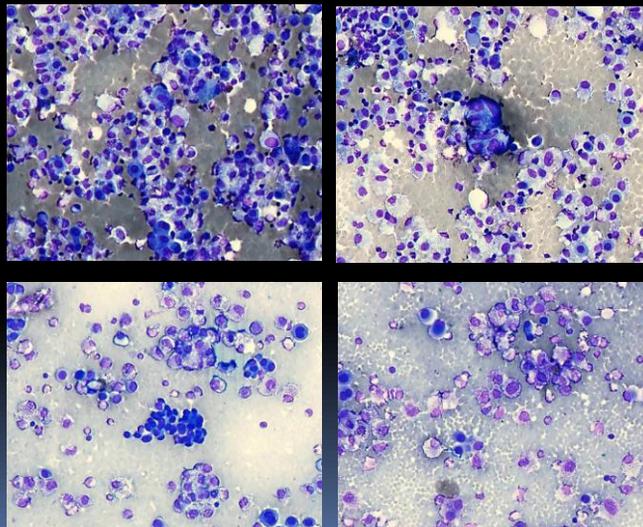


Сложности анализа:

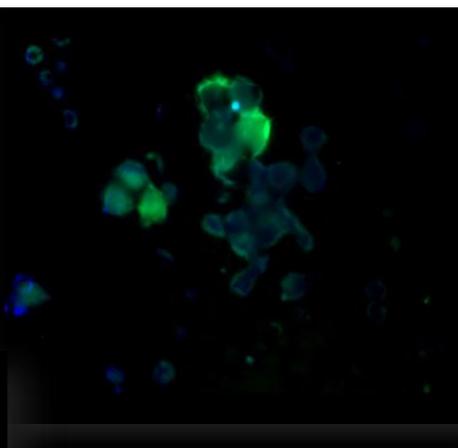
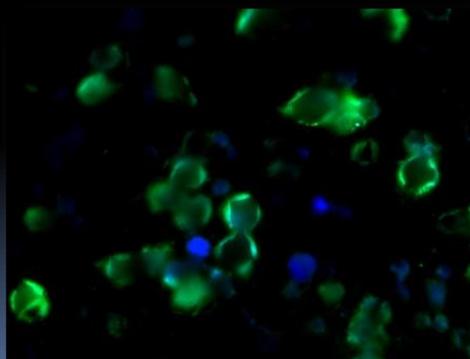
- гранулярная окраска цитоплазмы в макрофагах,
- долгий поиск,



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



Пациент П., 82 года,
 диагноз: колоректальный рак.
 Состояние после 6 курсов ПХТ. Асцит,
 плеврит.
 Цитологическое заключение: среди
 клеток мезотелия определяются клетки
 аденокарциномы с признаками
 дегенерации .
 ФИЦХ: метастаз аденокарциномы.



Сложности анализа:

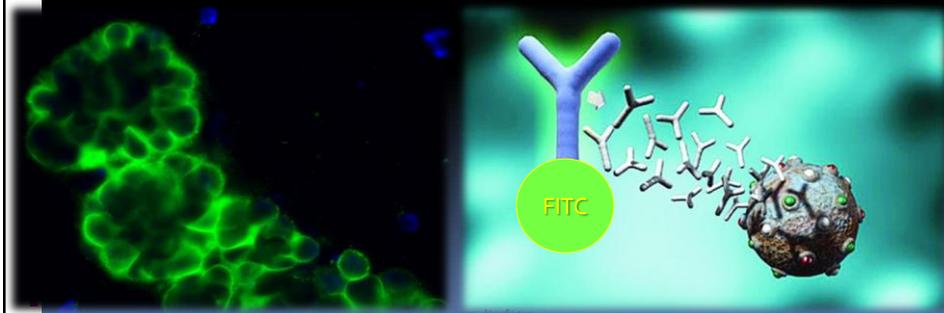
- в клетках рака отмечается прерывистое и местами слабое окрашивание мембраны,
- могут встречаться окрашенные обломки мембран клеток опухоли,
- дистрофия клеток

Прямая ФИЦХ обладает рядом преимуществ:

Протоколы для прямой, как правило, короче, так как они требуют только один шаг маркировки.

1. Меньшее количество этапов в протоколе значительно упрощает методологию.
2. Виды перекрестной реактивности минимизируется в прямых методах, так как флуорохром уже конъюгирован с первичным антителом.
3. Неспецифическое связывание снижается за счет использования конъюгированных первичных антител.

Чувствительность – 98%, специфичность - 99%.



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.



Cell Block Cytology



Improved Preparation and Its Efficacy in Diagnostic Cytology

Nithyananda A. Nathan, CFAC, Eddie Narayan, BApp Sci, Mary M. Smith, BS, and Murray J. Horn, MApp Sci

Было оценено 1.009 образцов – 465 были получено с помощью тонкоигольной пункции, 544 составили выпоты и смывы.

Распределение образцов ТИАБ по локализациям:

Голова и шея	59
Слюнная железа	13
Лимфатические узлы	41
Щитовидная железа	72
Молочная железа	114
Легкие и средостение	85
Печень	30
Подкожные образования	10
ПЖЖ	4
Кости и мягкие ткани	20
Почки	4
Надпочечник	5
Яичник	3
Яичко	1
Поражения брюшной полости	4

Распределение образцов выпотных жидкостей и смывов по локализациям:

Бронхиальный смыв	107
Бронхо-альвеолярный лаваж	63
Слюна	2
Плевральная жидкость	182
Перикардиальный выпот	8
Выпот из брюшной полости	108
Смыв с брюшной полости	30
Жидкость из кисты яичника	15
Синовиальная жидкость	11
Моча	12
Жидкость из кисты мозга	2
Церебро-спинальная жидкость	4

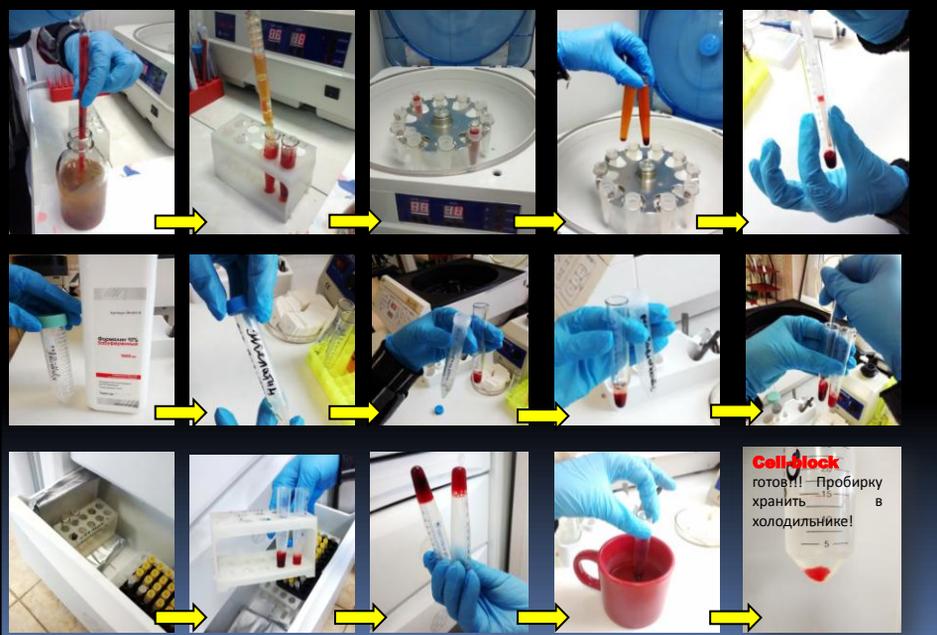
Сопоставление чувствительности цитологической диагностики по мазкам и cell-block:

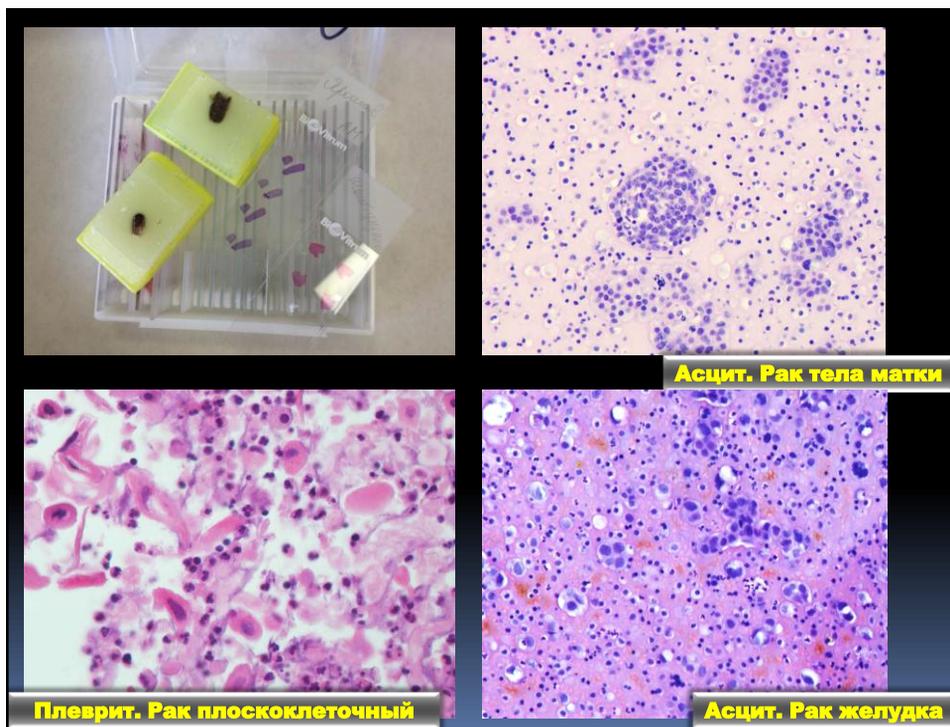
Образец/категория	Мазки	Cell-blocks
ТИАБ		
Данных за злокачественный процесс нет (n=160)	131 (81.9%)	86 (53.7%)
Доброкачественное поражение (n=29)	12 (41%)	19 (66%)
Подозрение на злокачественный процесс (n=24)	21 (88%)	21 (88%)
Злокачественный процесс (n=196)	183 (93.4%)	174 (88.8%)
Всего n=409	347 (84.8%)	300 (73.3%)
Жидкости		
Злокачественный процесс (n=95)	95	93
Доброкачественный процесс (n=11)	11	10
Всего (n=106)	106 (100%)	103 (97.2%)
Итого: n=515	453 (88.0%)	403 (87.2%)

1. Kung ITM, Chan SK, Lo ESF. Application of the immunoperoxidase technique to **cell block** preparations from fine needle aspirates. *Acta Cytol.* 1990;34:298-303.
2. Krogerus LA, Andersson LC. A simple method for the preparation of paraffin-embedded **cell blocks** from fine needle aspirates, effusions and brushings. *Acta Cytol.* 1988;32:586-587.
3. Leung SW, Bedard YC. Methods in pathology: simple **miniblock** technique for cytology. *Mod Pathol.* 1993;6:630-632.
4. Domagala WM, Markiewski M, Tuziak T, et al. Immunocytochemistry on fine needle aspirates in paraffin **miniblocks**. *Acta Cytol.* 1990;34:291-296.
5. Keyhani-Rofaga S, O'Toole RV, Leming MF. Role of the **cell block** in fine-needle aspirations. *Acta Cytol.* 1984;28:630-631.
6. Axe SR, Erozan YS, Ermatinger SV. Fine-needle aspiration of the liver: a comparison of smear and rinse preparations in the detection of cancer. *Am J Clin Pathol.* 1986;86:281-285.
7. Kern WM, Haber M. Fine-needle aspiration minibiopsies. *Acta Cytol.* 1986;30:403-408.
8. Wojcik EM, Selvaggi SM. Comparison of smears and cell blocks in the fine-needle aspiration diagnosis of recurrent gynaecological malignancies. *Acta Cytol.* 1991;35:773-776.



Cell Block методика





Клиническое наблюдение : пациент А., 34 года.

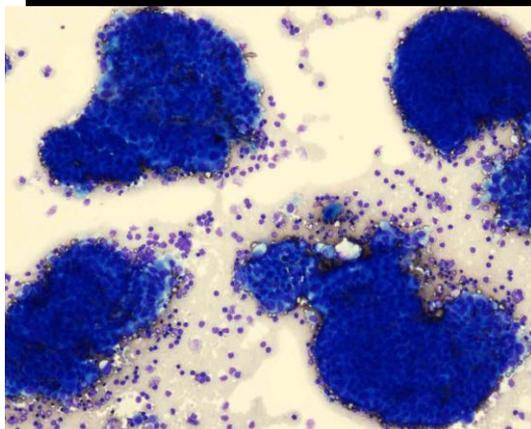
АНАМНЕЗ:

2012г. – новообразование МЖ, операция по месту жительства. Гинекомастия

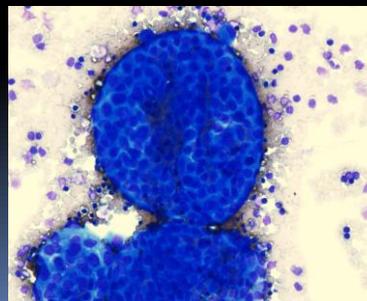
2013г. – бронхит, лечение по месту жительства без эффекта.

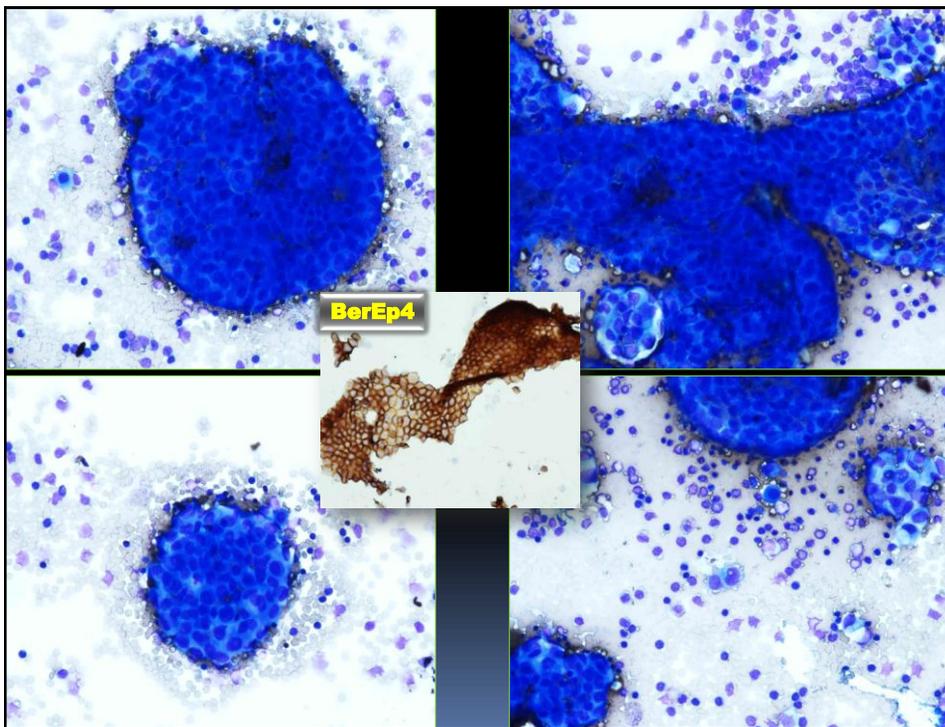
2014г. – саркоидоз легких, лечение по месту жительства без эффекта

2015г. – пневмония, плеврит.



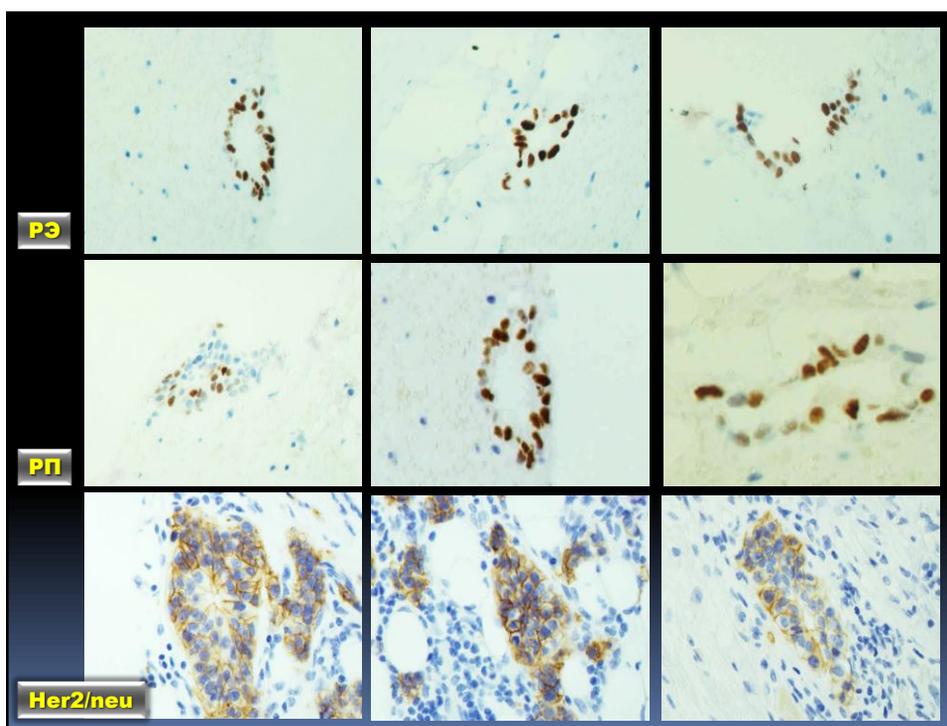
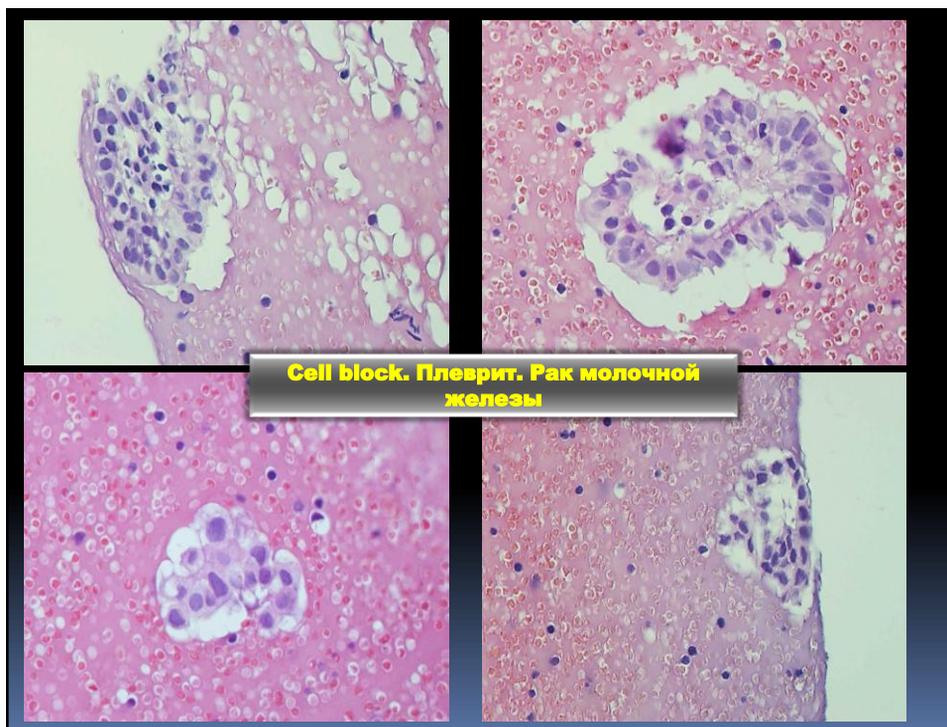
**Доставлено 400 мл
плеврального выпота.**





Цитологическое и иммуноцитохимическое исследование:
метастаз рака молочной железы







Таким образом, использование иммуноцитохимических исследований и жидкостных технологий в цитологической диагностике опухолей позволяет на дооперационном этапе определить гистологическую форму новообразования, его степень распространения и дифференцировку, определить прогностические и предиктивные свойства в течение нескольких часов.....

