

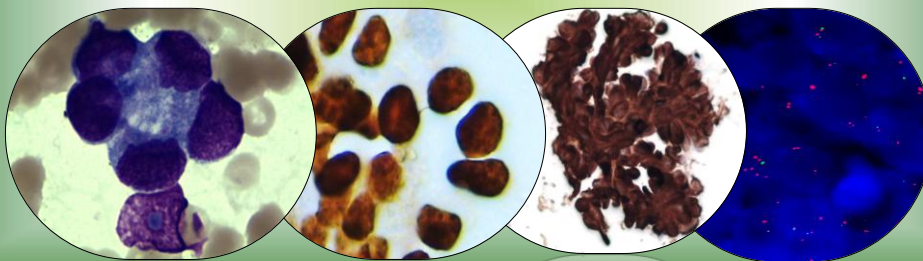


Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика опухолей легких

Е.Ю.Фурминская,

М.В.Савостикова

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина



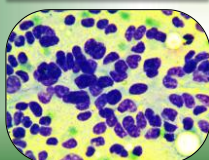
По данным Н.А.Шапиро, распределение больных в зависимости от формы заболевания легких (в том числе доброкачественные и инфекционные) следующее:



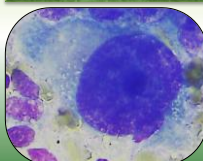
Карциномы из всех злокачественных новообразований легкого составляют 95%



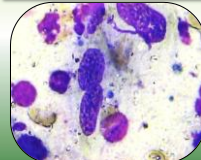
Мелкоклеточный, крупноклеточный
20%



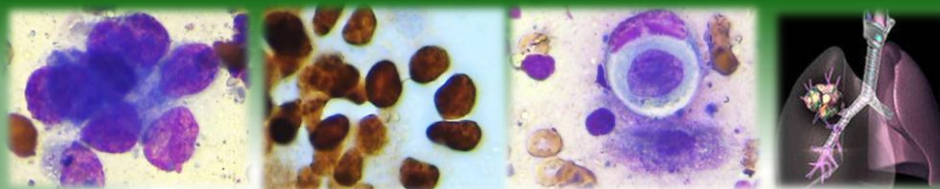
Недифференцированный
9%



Плоскоклеточный:
44% у мужчин,
25% у женщин



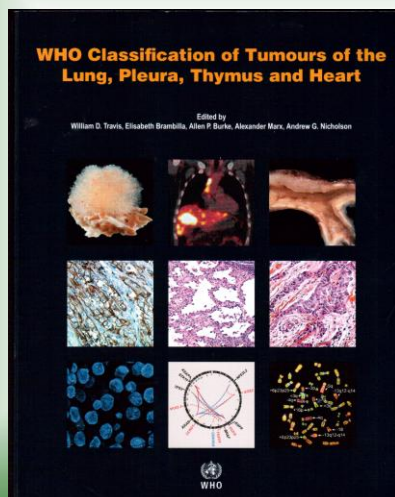
Аденокарцинома:
28% у мужчин,
42% у женщин



✓ **Чувствительность** цитологического исследования (процент выявленных злокачественных новообразований) колеблется в пределах **92,7% – 97,3%** (Stolnicu S, 2006).

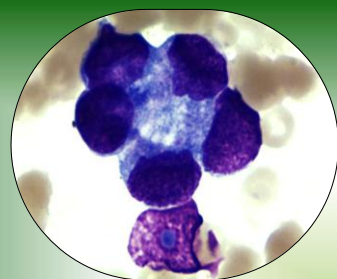
✓ **Специфичность**, которая показывает процент случаев совпадения гистологического и цитологического исследований при различных локализациях и гистологической природе опухолей – **79,0% – 99,2%** (Eskleinin M, 1989; Bianchi S, 1995; Stolnicu S, 2006).

Классификация опухолей легких ВОЗ 2015 г.



WHO classification of tumours of the lung^{5b}

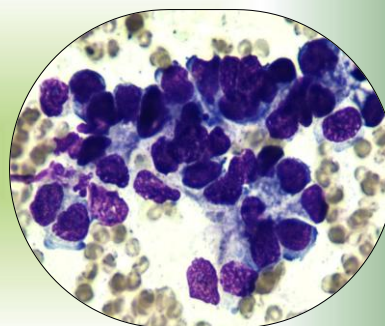
Epithelial tumours			
Adenocarcinoma	81403	Pleuropulmonary carcinoma	81405
Lepidic adenocarcinoma	81502*	Squamous cell carcinoma	81402
Acinar adenocarcinoma	81501*	Epithelioid	81505
Papillary adenocarcinoma	81503	Glandular carcinoma	81506
Mucicystic adenocarcinoma	81504*	Mixed squamous cell and glandular carcinoma	81507
Small adenocarcinoma	81505	Adenoma	81508
Invasive mucinous adenocarcinoma	81506*	Scalloped pneumocytoma	81509
Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	81507*	Alveolar adenoma	81510
Colloid adenocarcinoma	81508*	Papillary adenoma	81511
Foal adenocarcinoma	81509	Mucinous cystadenoma	81512
Cranioid adenocarcinoma	81510	Mucous gland adenoma	81513
Embryoid adenocarcinoma	81511		
Minimally invasive adenocarcinoma	81512*	Mesenchymal tumours	
Invasive micropapillary adenocarcinoma	81513*	Pulmonary hamangioma	81514
Mucicystic adenocarcinoma	81514*	Carcinoma	81515
Pre-invasive lesions		PEC carcinoma tumours	
Rapidly proliferating hyperplasia	81515*	Lymphangioleiomyomatosis	81516
Adenocarcinoma in situ	81402	PECOMA, benign	81740
Hamangioma	81502	Clear cell tumour	81741
Melanoma	81623	PECOMA, malignant	81742
Squamous cell carcinoma	81505	Congenital sarcoma	81743
Keratinizing squamous cell carcinoma	81710	myofibroblastic tumour	81771
Non-keratinizing squamous cell carcinoma	81711	Dense pulmonary lymphangiomatosis	81772
Basoid squamous cell carcinoma	81712	Inflammatory myofibroblastic tumour	81773
Pneumocystis carinii	81833	Diffuse hemangioendothelioma	81774
Neuroendocrine tumours		Pneumocystis carinii	81775
Small cell carcinoma in situ	81790	Pulmonary blastoma	81776
Small cell carcinoma	81410	Pulmonary artery intimal sarcoma	81777
Combined small cell carcinoma	81411	Pulmonary muscle sarcoma with	
Large cell neuroendocrine carcinoma	81135	EMPH-CTD31 translocation	81412*
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	81136	Mesothelioma	81650
Carotid tumours		Mesophylloma	81651
Typical carcinoma	81430	Mesophylloma	81652
Atypical carcinoma	81431		
Pre-invasive lesion		Lymphohistiocytic tumours	
Diffuse alveolar pulmonary	81507*	Keratinocystic lymphoma (lymphoma of histiocytosis)	81653
Large cell carcinoma	81120	Granulocytic lymphoid tumour (MAL T lymphoma)	81654
Adenomatous carcinoma	81121	Lymphomatoid granulomatosis	81655
Pneumocystis carinii	81223	Granulocytic lymphoma	81656
Sarcoma	81224	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	81657
Germ cell carcinoma	81113	Epithelioid sarcoma	81658
Carcinoma	81114		
Pulmonary blastoma	81723	Tumours of specific origin	
Other and classified carcinoma	81724	Germ cell tumours	81659
Lymphoproliferative carcinoma	81663	Teratoma, mature	81660
HCT carcinoma	81664*	Teratoma, immature	81661
Salivary gland-type tumours		Melanoma	81725
Mucocystadenoma	81403	Melanoma, NCD	81726
Adenoid cystic carcinoma	81303		
Epithelioid myofibroblastic carcinoma	81603	Melanocytic tumours	
Pleuropulmonary carcinoma	81400		



Аденокарциномы легкого

(гистологические типы):

- ✓ Ацинарный
- ✓ Папиллярный
- ✓ Микропапиллярный
- ✓ Солидный с образованием слизи
- ✓ Чешуйчатый (lepiclic growth)



Новая концепция деления всех гистологических форм аденокарцином легкого на три категории:

✓ **Лепидический вариант, напоминающий карциному in situ**

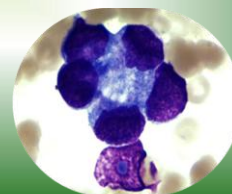
(прежний БАР. Второе после атипичной аденоматозной (альвеолярной) гиперплазии преинвазивное состояние. Солитарная периферическая опухоль размерами ≤ 3 см. Всегда – немучинозная. Прогностически благоприятный вариант).

✓ **МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНАЯ**

(Небольшая (<3 см) солитарная аденокарцинома с преобладанием лепидического характера роста и инвазивным компонентом ≤ 5 мм в наибольшем измерении. Обычно немучинозная, но может быть (очень редко!) муцинозной. Инвазивный компонент может быть любого строения. Прогностически благоприятный вариант).

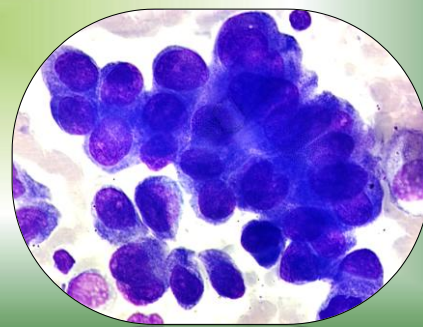
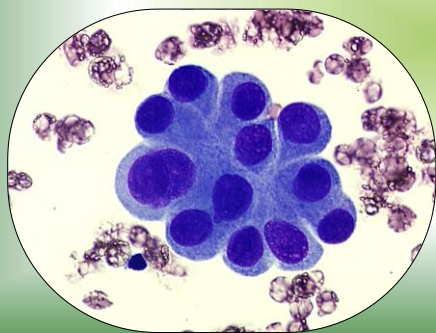
✓ **ИНВАЗИВНАЯ АДЕНОКАРЦИНОМА**

(Прежняя аденокарцинома «смешанного» типа).

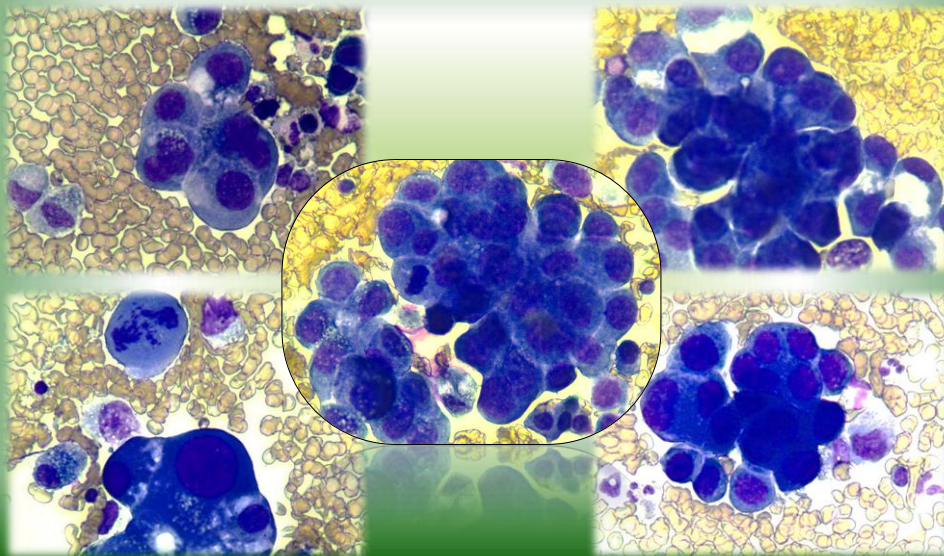


Инвазивная аденокарцинома

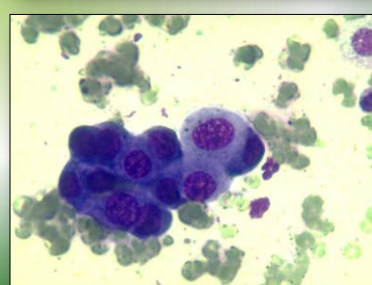
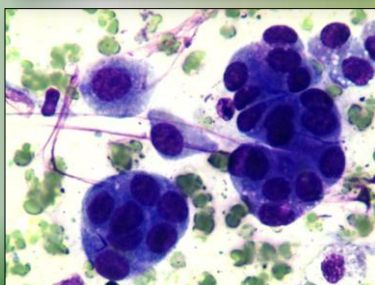
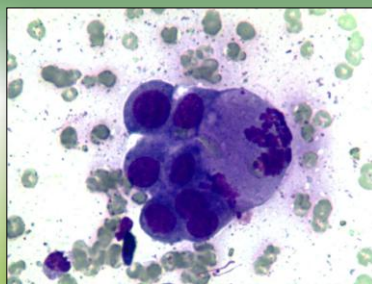
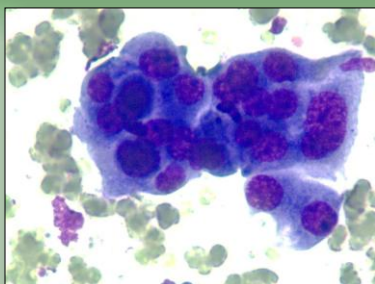
Самый частый вариант аденокарциномы легкого. Характерно присутствие разных гистологических типов: ацинарного, папиллярного, микропапиллярного, солидного с образованием слизи, лепидического.



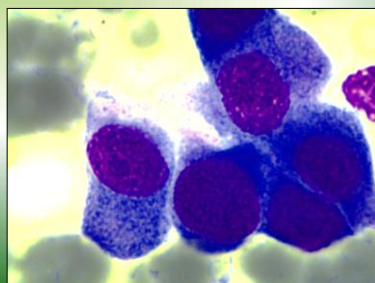
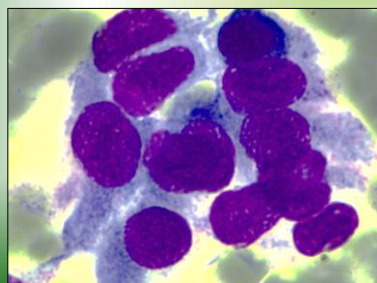
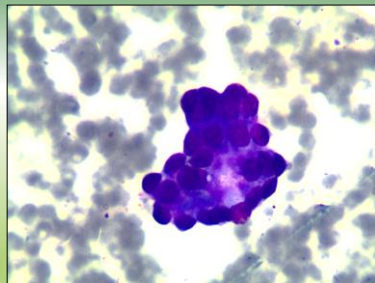
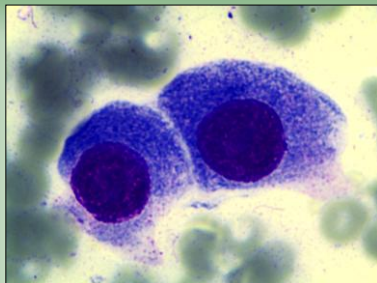
Инвазивная АК с преобладанием ацинарного и папиллярного субтипа.



Папиллярная аденокарцинома

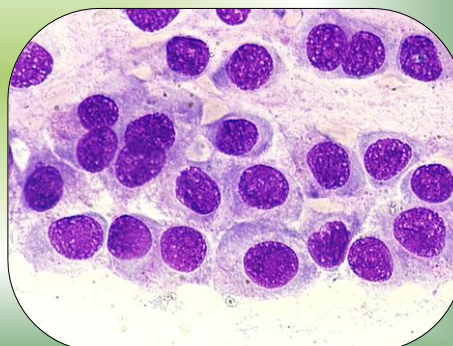
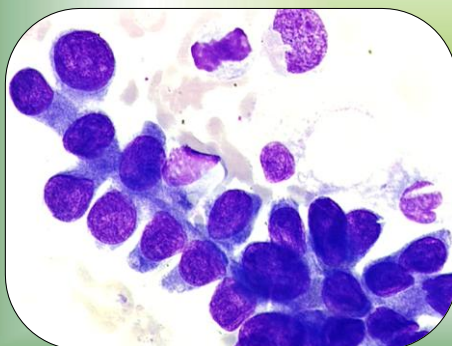


Ацинарная аденокарцинома



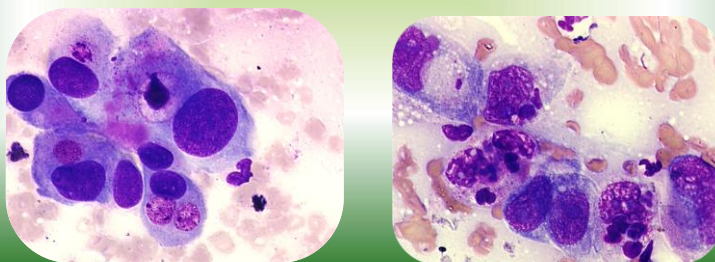
Инвазивная АК с преобладанием микропапиллярного субтипа.

Характерны кластеры из кубоидальных клеток небольшого размера с минимальной атипией, лишенные фиброваскулярного тяжа. Эта опухоль с неблагоприятным прогнозом.

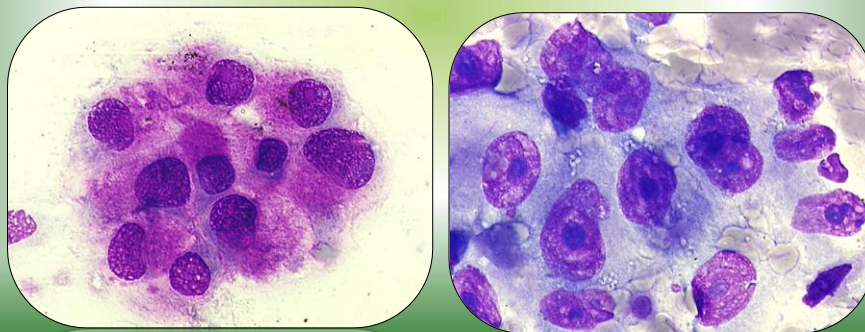


Инвазивная АК с преобладанием солидного субтипа с образованием слизи.

Состоит из пластов полигональных клеток, внутриклеточная слизь должна быть обнаружена, по крайней мере, в 5 клетках каждого из двух полей зрения при х400. Наличие слизи подтверждают гистохимической окраской на слизь. Опухоль дифференцируют с плоскоклеточным раком и крупноклеточным раком. В них могут присутствовать единичные слизесодержащие кисты. Опухоль – прогностически неблагоприятного типа.



Перстневидноклеточные и светлоклеточные признаки рассматриваются как клеточные изменения, которые могут наблюдаться в разных гистологических субтипах. Наличие и степень их выраженности необходимо отражать в морфологическом заключении: *в более, чем в половине случаев солидного субтипа с >10% перстневидноклеточных признаков найдена связь с определенными молекулярно-генетическими нарушениями.*



✓ Коллоидная аденокарцинома

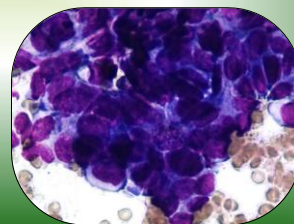
сохранена как вариант инвазивной аденокарциномы. Редко встречается в «чистом» виде, чаще – в сочетании с другими субтипами.

✓ Муцинозная цистаденокарцинома

реклассифицирована как коллоидная аденокарцинома с кистозными изменениями.

✓ Фетальная аденокарцинома

сохранена в классификации как вариант инвазивной аденокарциномы. Редкая опухоль. Выделены 2 субтипа: низкой и высокой степени злокачественности. Встречается у более молодых пациентов. Нуждается в дифференциальной диагностике с легочной бластомой: бифазной злокачественной опухолью.

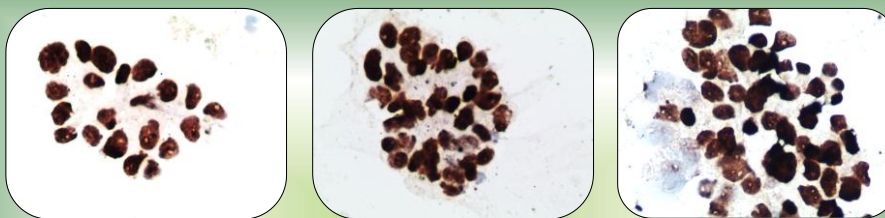


Кишечная аденокарцинома

Редкий вариант инвазивной аденокарциномы, сходный по морфологическим и иммуногистохимическим характеристикам с колоректальной аденокарциномой. Компонент с признаками кишечной дифференцировки составляет более 50% от объема опухоли. Кишечный компонент состоит из железистых, папиллярных, иногда – криброзных структур. Низкодифференцированные опухоли имеют солидное строение. Кишечная аденокарцинома отличается от колоректального рака гетерогенностью морфологического субстрата. Опухолевые клетки экспрессируют маркеры аденокарциномы легкого: СК 7, в половине случаев TTF-1, по крайней мере, один из ИГХ маркеров кишечной дифференцировки (CDX-2, СК20, MUC2).

Для верификации необходимы клинические данные!

✓ 72-96% АК легкого TTF-1+



Экспрессия его не зависит от типа АК, однако всё больше работ указывает на то, что муцинозный компонент чаще бывает негативен (например, муцинозный тип бронхиолоальвеолярной карциномы).

60% АК экспрессируют белок сурфактанта А или В со специфичностью 100%. Однако окраска чаще очаговая лишь в высокодифференцированных участках. Сочетание TTF-1 и белков сурфактанта повышает специфичность диагностики низкодифференцированных АК или метастазов до 80%.

Аденокарциномы легкого:

- ✓ ЭМА, ЦКР 7,8,18,19+, ЦКР20+/-,
- ✓ 90% опухолей p-CEA+,
- ✓ 70% опухолей VегER4+,
- ✓ 30% опухолей Виментин+,
- ✓ ЦКР 5/6-, ЦКР-НМW-, p63- (как правило)



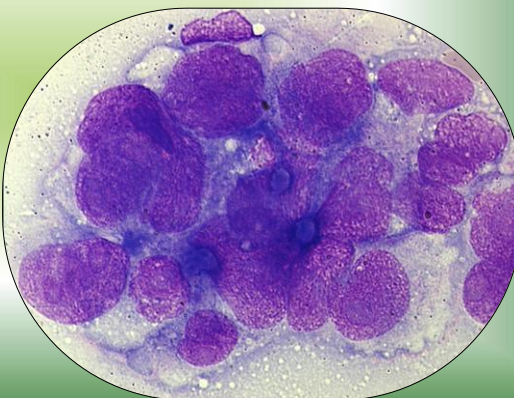
ВНИМАНИЕ! CDx2 позитивен в муцинозных вариантах АК легкого



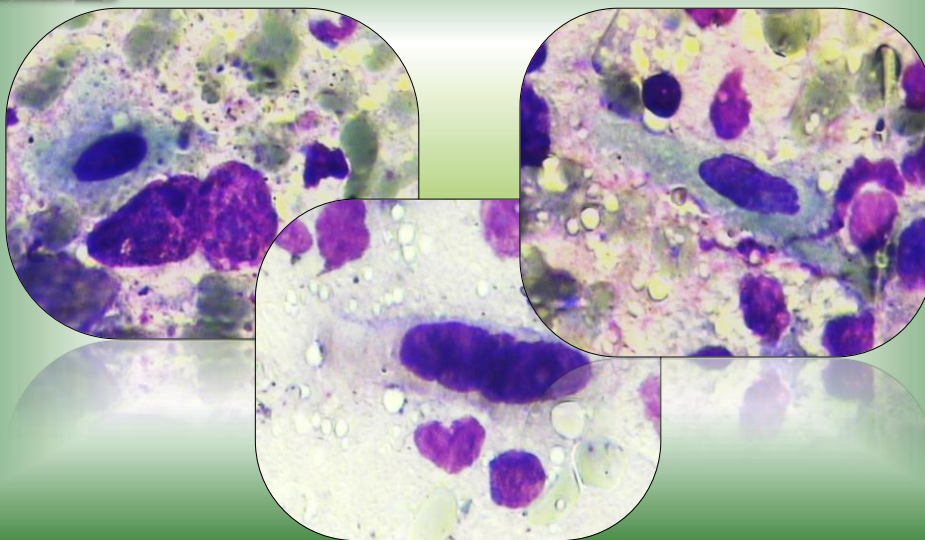
Плоскоклеточный рак легкого (ПРЛ)

✓ **составляет около 30% всех первичных опухолей легкого.**
 ПР чаще поражает главный или сегментарный бронхи с прорастанием в окружающую паренхиму легкого.

✓ Гистологические подтипы неороговевающего ПРЛ нередко «подражают» крупноклеточному и мелкоклеточному раку, низкокодифференцированной АК, метастатическим опухолям почек и яичников.

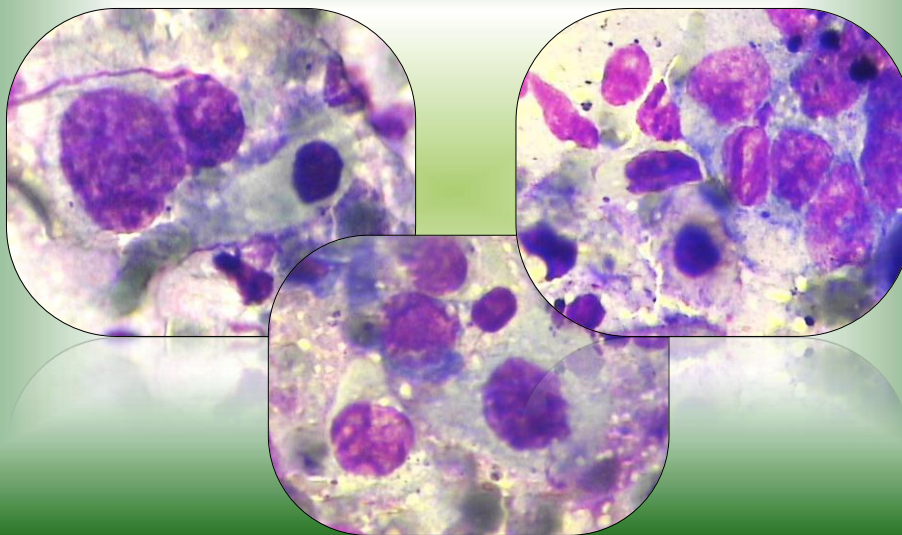


Высокодифференцированный ПРЛ напоминает нормальный плоский эпителий



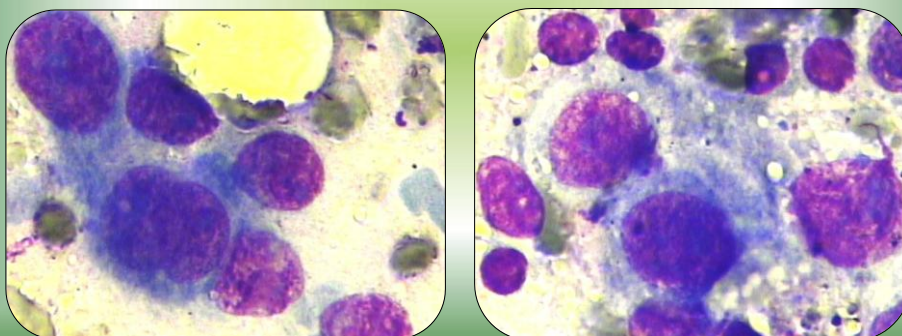
Умеренно дифференцированный ПРЛ

характеризуется ядерным полиморфизмом и митотической активностью, включая патологические митозы, кератинизация выражены слабее



В мало (низко) дифференцированном ПРЛ

преобладают незрелые клетки с большим числом типичных и патологических митозов и минимальной кератинизацией. Кератинизция не является решающим фактором в определении степени дифференцировки.



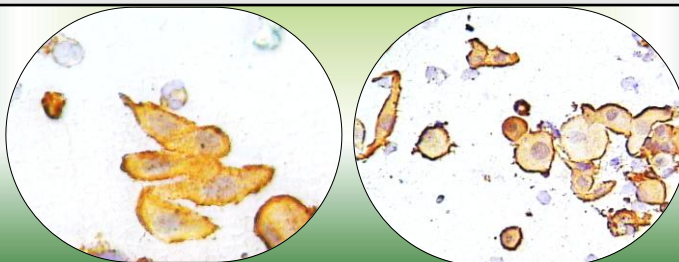
**Иммуноцитохимия применяется только в случаях
диагностики низкодифференцированных
плоскоклеточных раковых опухолей**

Позитив:

- ✓ p63,
- ✓ 90% - CK5/6+,
- CK-HMW, CK-LMW, CEA-m, EMA,
- CD138, CD141,
- ✓ 50% p-CEA+, BerEP4+,
- ✓ 20%Виментин+

Негатив :

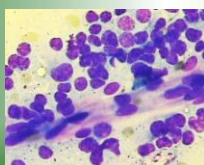
- ✓ 80%CK7-,
- ✓ CK20-,
- ✓ TTF-1-/± (7-10%),
- ✓ calretinin,
- ✓ CD15,
- ✓ WT-1.



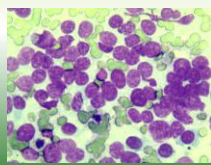
**В классификации ВОЗ опухолей
легких (2004) выделены 4 основные
гистологические категории
нейроэндокринных опухолей (НЭО)
данной локализации:**



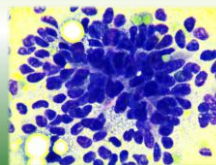
**типичный
карциноид**
(низкой степени
злокачественности)



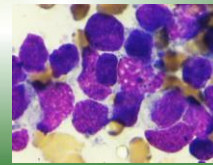
**атипичный
карциноид**
(промежуточной
степени
злокачественности)



**крупноклеточный
нейроэндокринный
рак**
(высокой степени
злокачественности)



**мелкоклеточный
рак**
(независимая,
нозологическая
единица высокой
степени
злокачественности)



Нейроэндокринные опухоли легкого

Типичный и атипичный карциноид

Хромогранин А и NSE+, но цитокератины позитивны только в 50% опухолей. TTF1 положителен в рамках 80-100%. Ki67 позитивных клеток больше в атипичном карциноиде, чем в типичном.

Мелкоклеточный рак

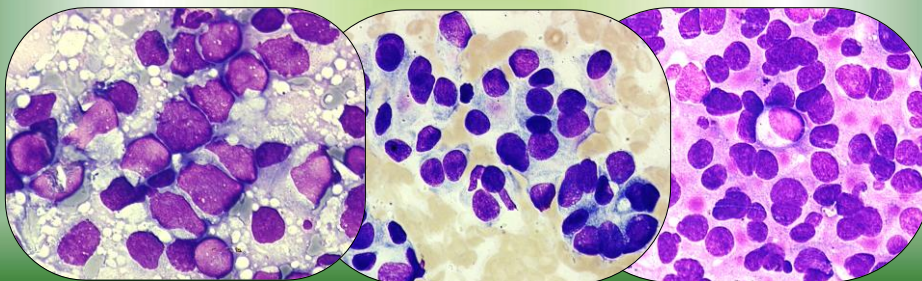
Синаптофизин/CD56(N-CAM) - позитив в 75% опухолей, но хромогранин А позитивен только в 50%. Цитокератины №№7 и CK20, р63- негативны. Более 90% опухолей дают ядерную реакцию на TTF-1. Менее 10% опухолей **негативны** на все нейроэндокринные маркеры).

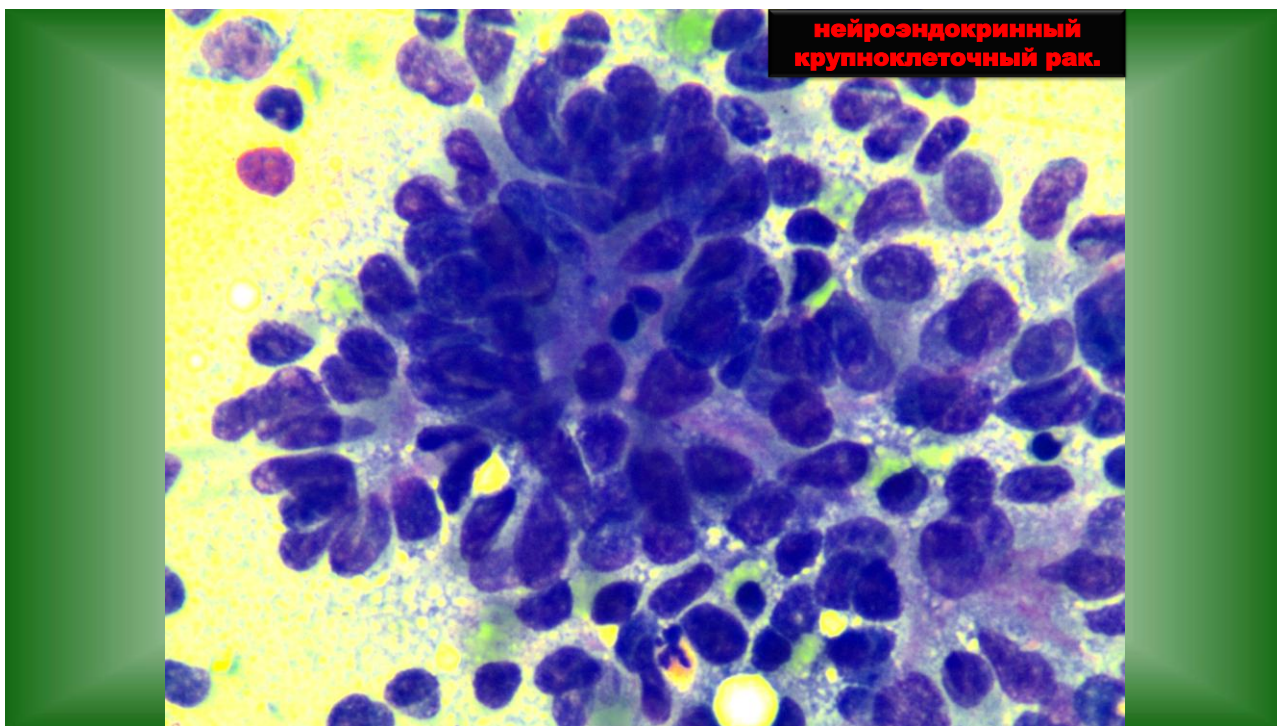
Крупноклеточный нейроэндокринный рак

Хромогранин А и NSE позитивны в 80% опухолей, а синаптофизин позитивен лишь в 40%. TTF-1 выявляется лишь в 50% опухолей.

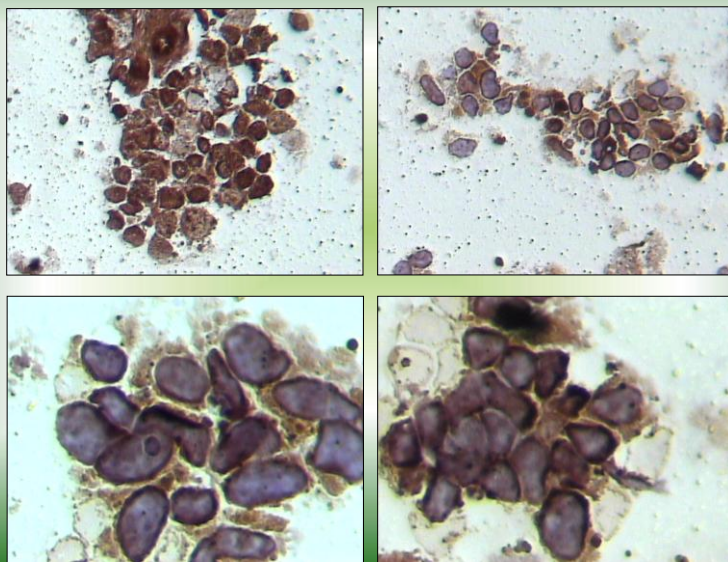
Дифференциальная диагностика нейроэндокринного рака легкого

- ✓ с мелкоклеточным вариантом ПКР,
- ✓ с лимфомами/лимфоидными инфильтратами,
- ✓ с метастазами других нейроэндокринных опухолей,
- ✓ с PNET,
- ✓ с первичными и метастатическими немелкоклеточными раками.





Отмечается положительная иммунореактивность (в более 25% клеток) к хромогранину А, синаптофизину и другим нейроэндокринным маркерам.



Крупноклеточный рак (9% всех раков легкого)

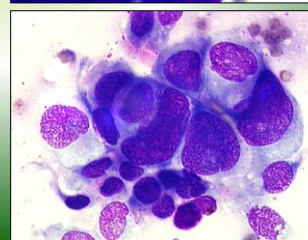
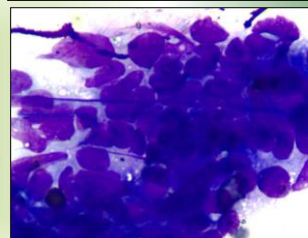
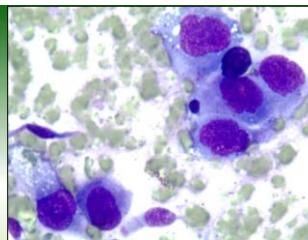
Нет гистопризнаков мелкоклеточного, железистого, ПКР. Но ИГХ-ки:

- это либо низкодифференцированная **аденокарцинома** (ЦКР 7+, TTF-1+),
- либо низкодифференцированный **ПКР** (ЦКР-НМВ 34βE12+, p63+),
- только небольшая часть-это крупноклеточный **нейроэндокринный рак** (хромогранин+, синаптофизин+, CD56+, TTF-1+ в 50%, ЦКР 5/6-, p63-).

Необходимо дифференцировать с:

-атипичным карциноидом\с воспалительной псевдоопухолью, лимфомой, первичной лимфоидной гиперплазией легкого

- с метастазами светлоклеточных опухолей (почек, слюнной железы, тимуса).



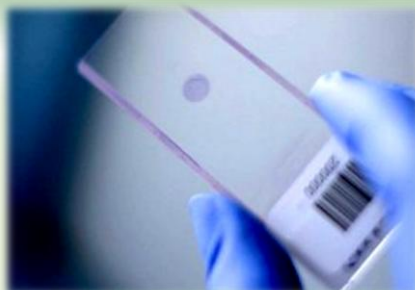
Иммуногистостейнер BenchMark ULTRA

Выполнено 440 ИЦХ исследований на материале от 118 пациентов с наличием новообразований в легких:

**77 мужчин
41 женщина.**

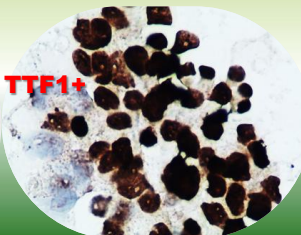
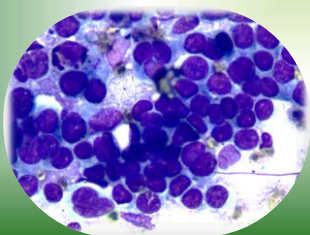


Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK):

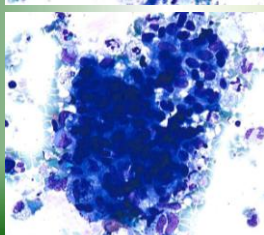
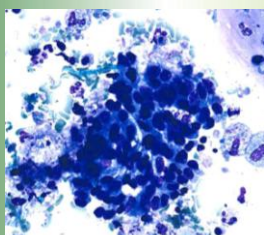
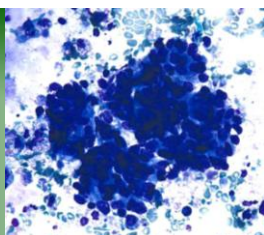


Типы цитологических заключений	Число наблюдений	Количество исследований, направленных на ИЦХ. ИЦХ заключения
Аденокарцинома (уверенно)	55 (48,6%)	52 - АК легкого (уверенно) 1 - АК легкого (предположительно) 1- Метастаз АК кишечного типа 1-ИЦХ неинформативно
Аденокарцинома (предположительно)	6 (5,08%)	4- АК легкого (предположительно) 2- АК легкого (уверенно)
Низкодифференцированный рак!	22 (18,6%)	15- АК легкого 4- Мелкоклеточный рак 1- Плоскоклеточный рак 2-ИЦХ неинформативно
Немелкоклеточный рак?		
Первичная аденокарцинома легкого или метастаз другой опухоли	31 (26,32%)	13-АК легкого 4- Метастаз АК кишки 4- Метастаз почечно-клеточного рака 4- Метастаз уротелиального рака 2- Метастаз рака молочной железы 4- ИЦХ неинформативно
Злокачественная опухоль не эпителиальной природы	4 (3,4%)	2- злокачественная опухоль не эпителиальной природы/ не требовалась детализация 2-Метастаз меланомы
Неинформативное исследование	-	7 (5,9%)
Итого:	118 (100%)	

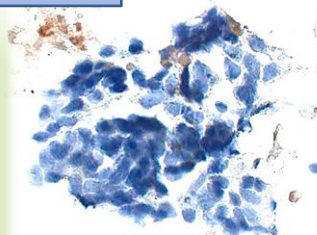
Типы цитологических заключений	Число наблюдений	Количество исследований, направленных на ИЦХ - ИЦХ заключения
Аденокарцинома (уверенно)	55 (46,6%)	52 (94,5%) - АК легкого (уверенно)
		1 - АК легкого (предположительно)
		1- Метастаз АК кишечного типа
		1-ИЦХ неинформативно/недостаточно материала
Аденокарцинома (предположительно)	6 (5,08%)	2- АК легкого (уверенно)
		4- АК легкого (предположительно)
ВСЕГО	61	Все исследования подтвердились и гистологически и клинически



Метастаз АК кишки в легкое



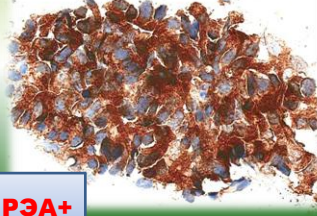
TTF1(-)



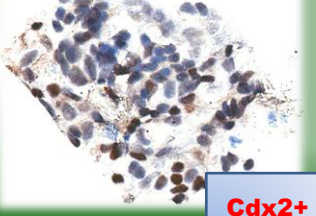
CK20+



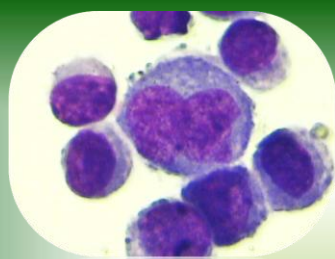
РЭА+



Cdx2+

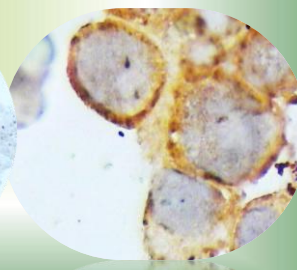
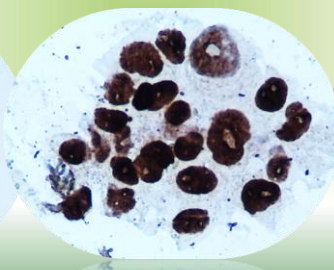
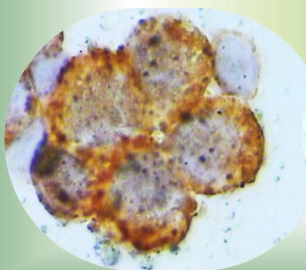


Типы цитологических заключений	Число наблюдений	Количество исследований, направленных на ИЦХ . ИЦХ заключения
Первичная АК легкого?	31 (26,32%)	13- АК легкого: (1- ПММР-ПКР) (1- ПММР-рак тела матки)
Метастазы в легкое?		4- Метастаз АК кишки
Первично-множественные опухоли?		4- Метастаз почечно-клеточного рака
		4- Метастаз уротелиального рака
Итого:		118 (100%)



**АК
легкого:**

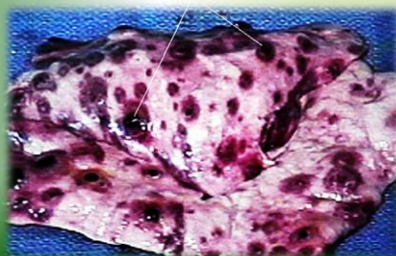
- ЦК7(+) в 100%
- ТТФ1(+) в 90,6%
- ЦК20 (+) в 50%





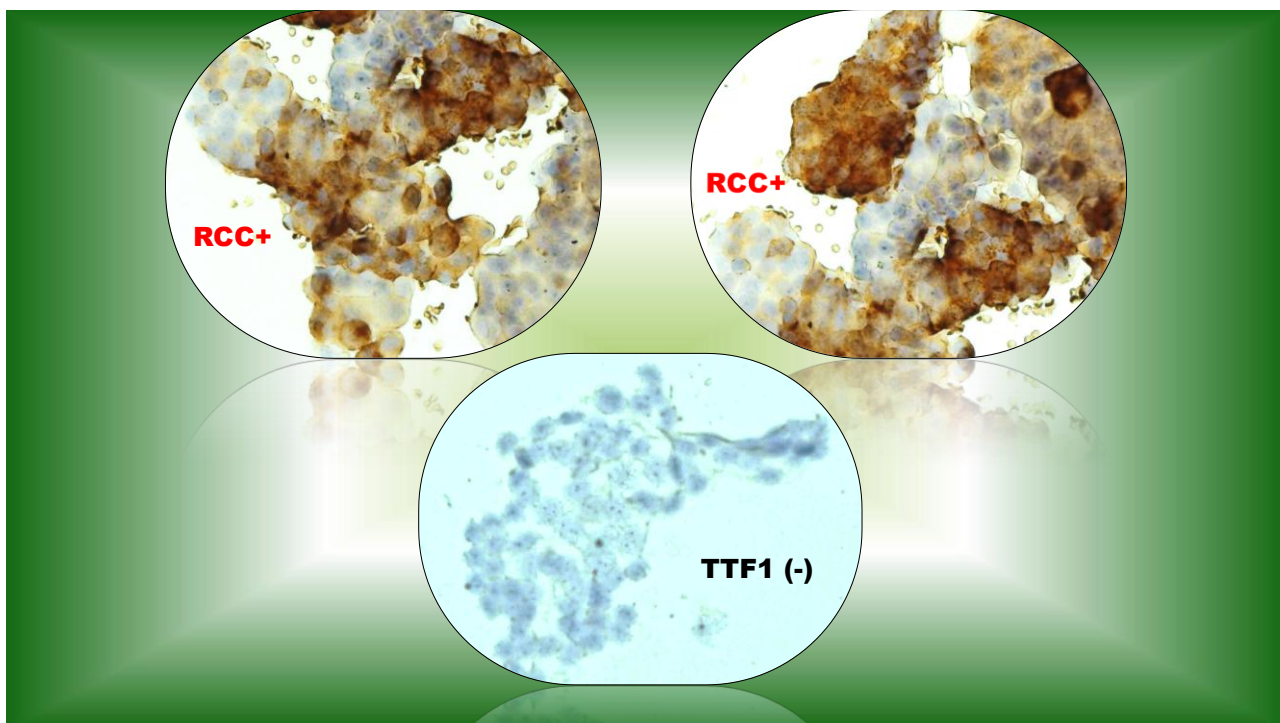
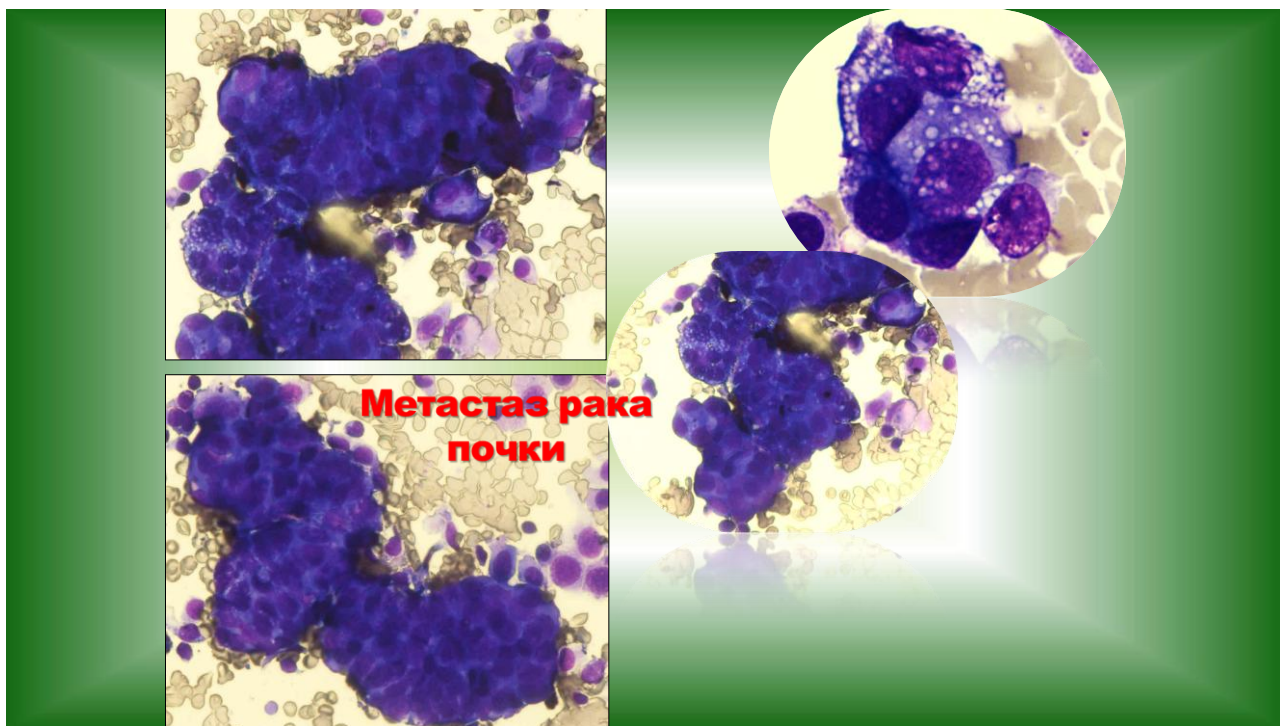
МЕТАСТАЗЫ В ЛЕГКИЕ

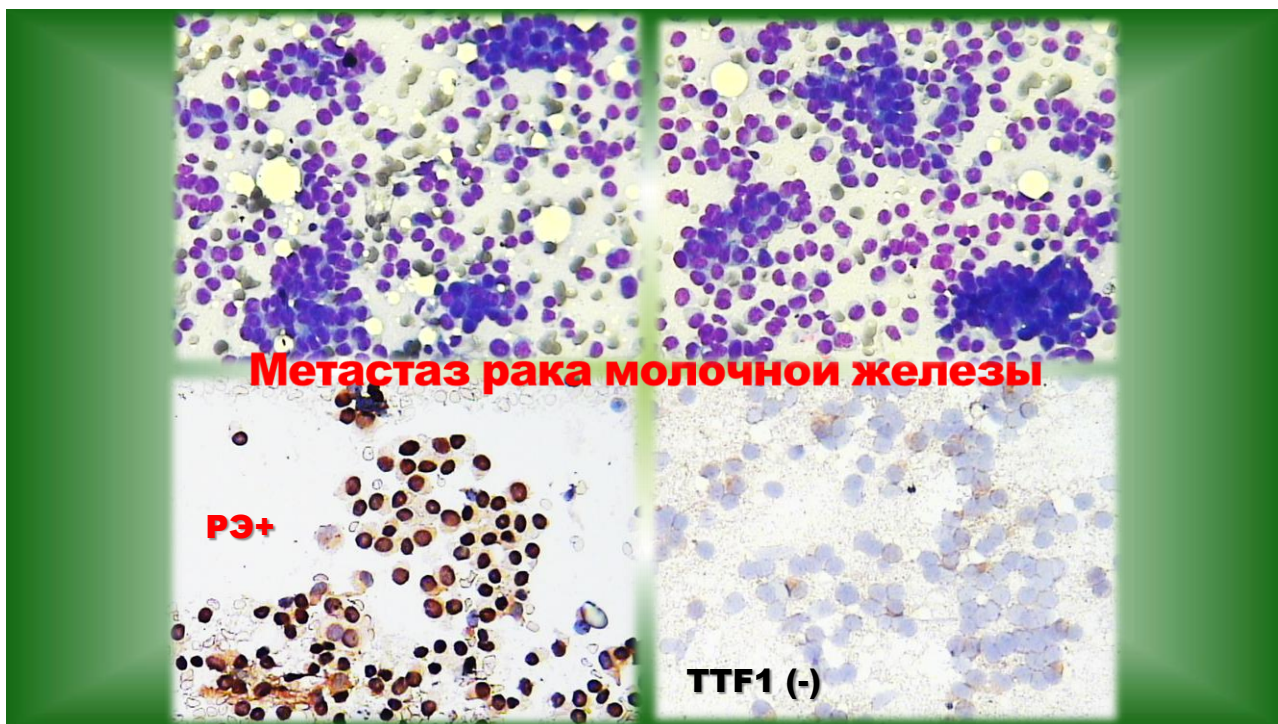
Легкие занимают 1-2 место по частоте поражения метастатическими (вторичными) опухолями. Это объясняется наличием в легких обширной и разветвленной сети капилляров (мелких сосудов) и тем, что легкое - первый орган, через который проходит венозная кровь после впадения в вены наиболее крупных лимфатических сосудов.



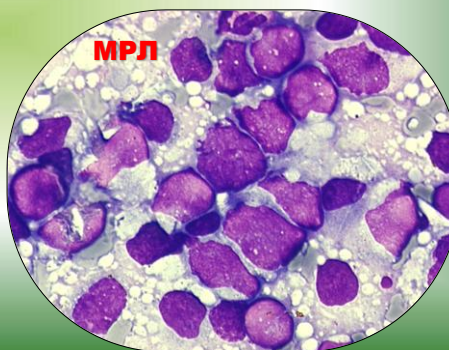
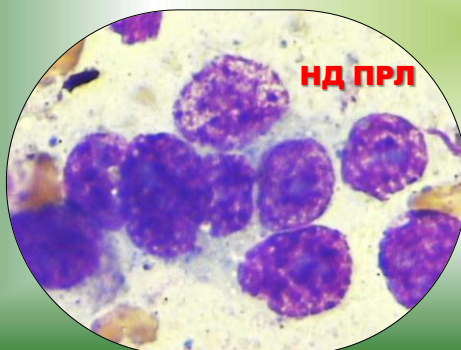
Метастазы в лёгкие

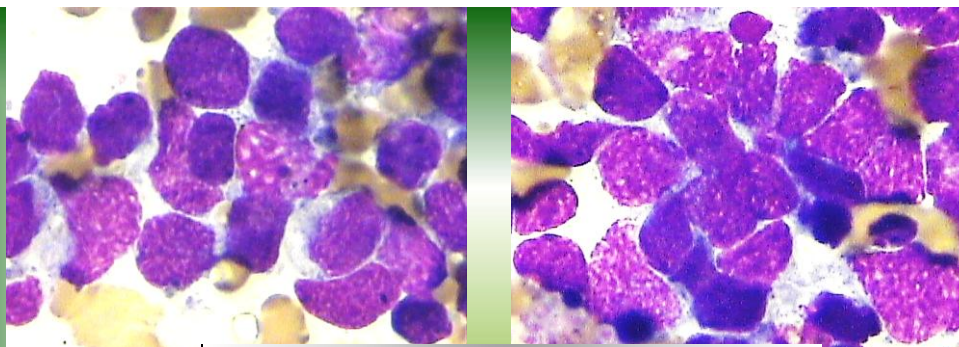
- ✓ Рак молочной железы,
- ✓ желудка,
- ✓ прямой кишки,
- ✓ поджелудочной железы;
- ✓ меланомы,
- ✓ опухоли области головы и шеи,
- ✓ рак почек,
- ✓ матки,
- ✓ яичников.



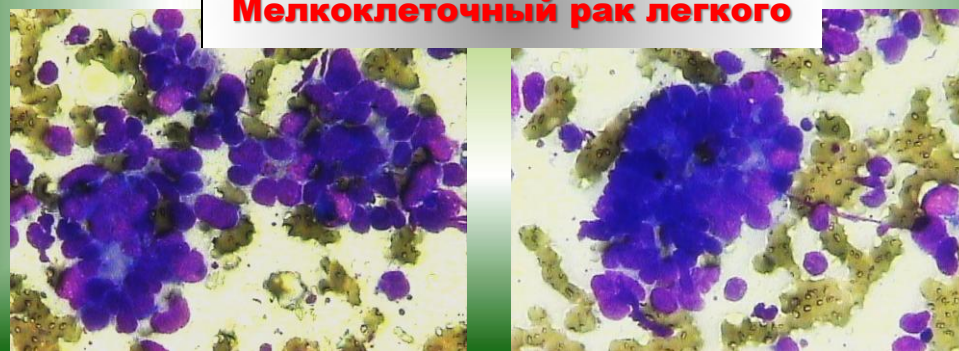


Типы цитологических заключений	Число наблюдений	Количество исследований, направленных на ИЦХ . ИЦХ заключения
Низкодифференцированный рак!	22 (18,6%)	15- АК легкого
Немелкоклеточный рак?		4- Мелкоклеточный рак
		1- Плоскоклеточный рак
Итого:	118 (100%)	2-ИЦХ неинформативно/выражен воспалительный компонент, мало опухолевых клеток

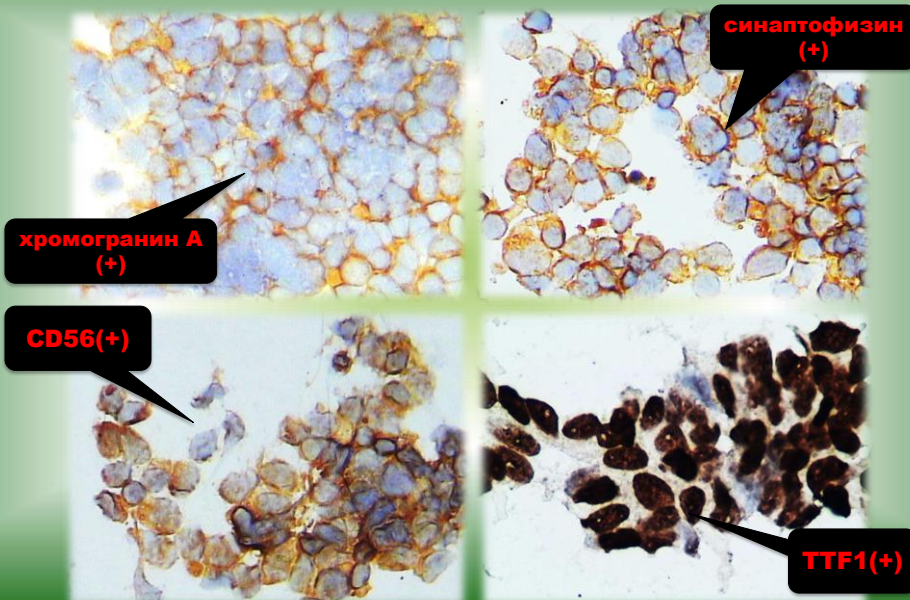




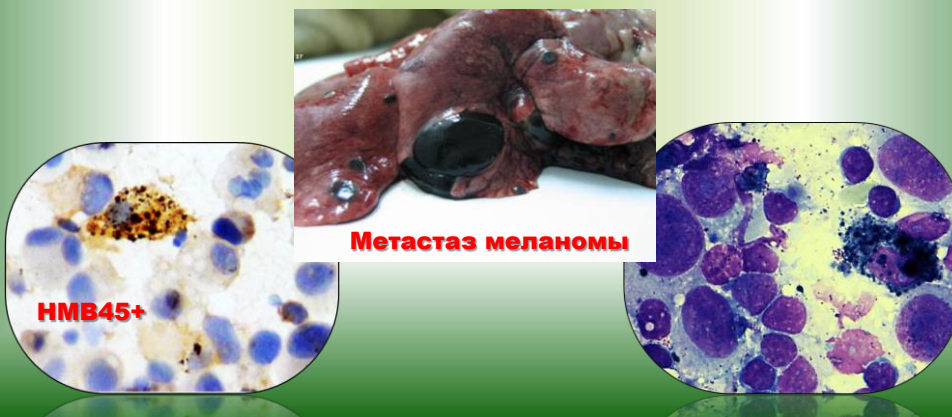
Мелкоклеточный рак легкого



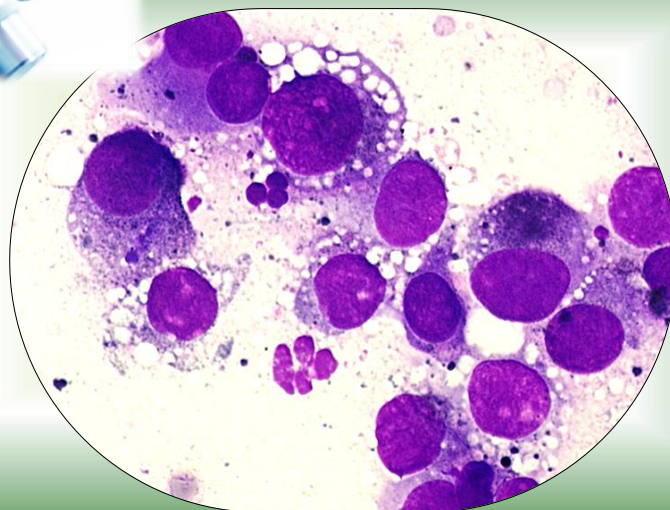
В 90% наблюдений бронхогенный МРЛ ИЦХ экспрессирует:
хромогранин А (+), синаптофизин (+), CD56(+) и TTF1(+).

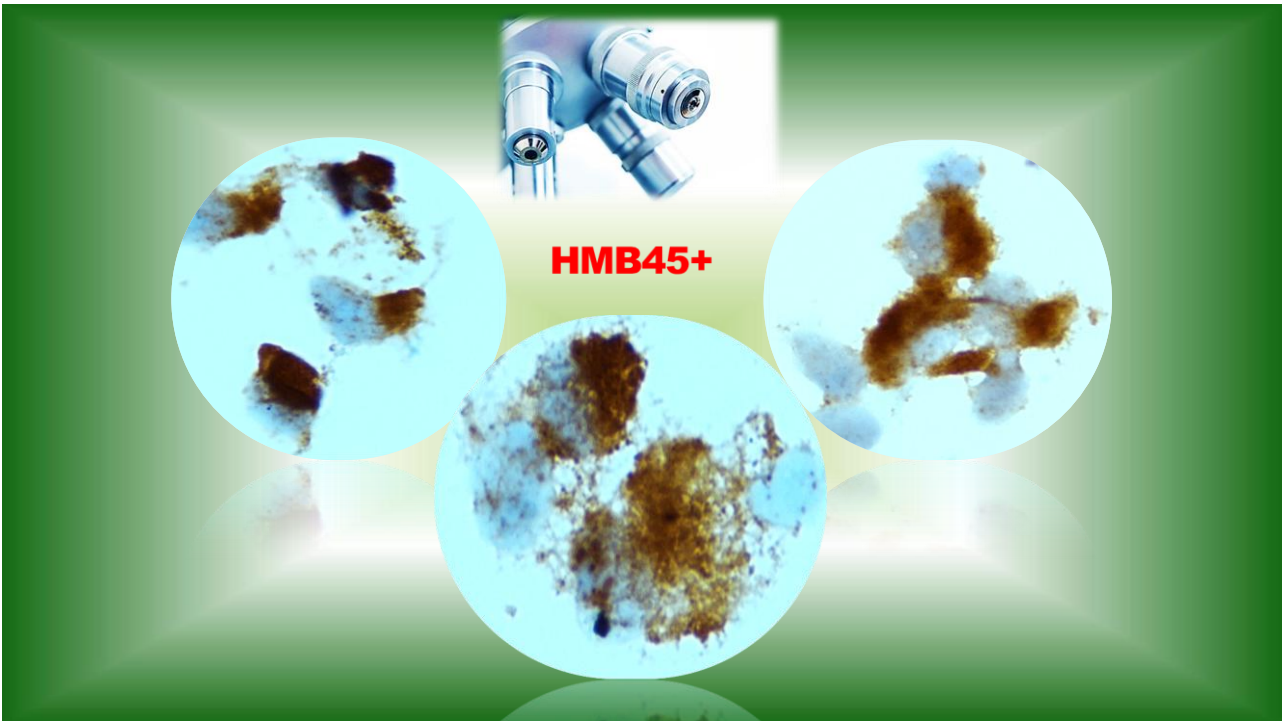
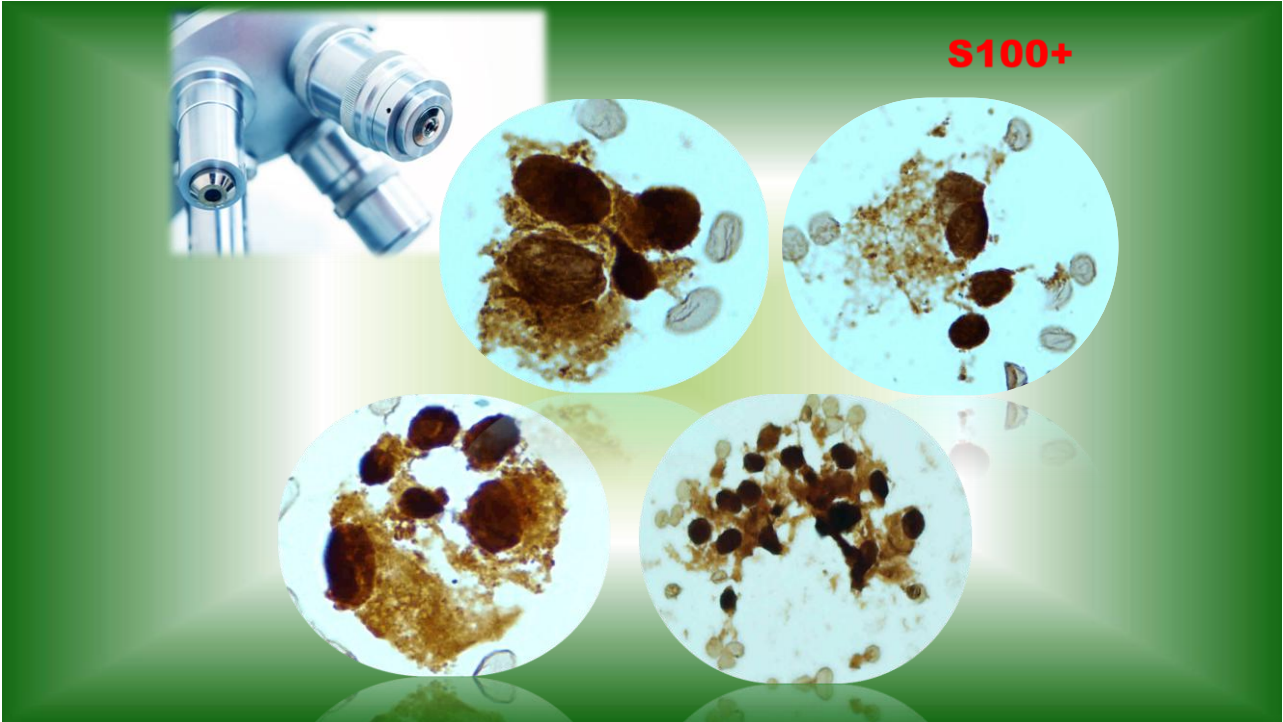


Типы цитологических заключений	Число наблюдений	Количество исследований, направленных на ИЦХ . ИЦХ заключения
Злокачественная опухоль не эпителиальной природы	4 (3,4%)	2- злокачественная опухоль не эпителиальной природы/ не требовалась детализация 2- метастаз меланомы
Итого:	118 (100%)	



Метастаз меланомы





Результаты цитологической и ИЦХ диагностики карцином

Типы цитологических заключений	Количество наблюдений ДО ИЦХ	Количество наблюдений ПОСЛЕ ИЦХ
Первичная аденокарцинома легкого (уверенно)	54 (50,4%)	82 (76,6%) (ТТФ1+)
Первичная аденокарцинома легкого (предположительно)	6 (5,6%)	5 (4,7%) (ТТФ1-)
Низкодифференцированный рак Немелкоклеточный рак?	20 (18,7%)	4- мелкоклеточный рак (3,8%)
		1-плоскоклеточный рак (0,9%)
Метастазы карцином в легких	27 (25,3%)	5 – колоректальный рак
		4 – почечно-клеточный рак
		4- уротелиальный рак
		2- рак молочной железы
Итого:	107(100%)	15 (14%)

✓ **Чувствительность ИЦХ** исследования составила **94,1%**.



Мякотканнные опухоли

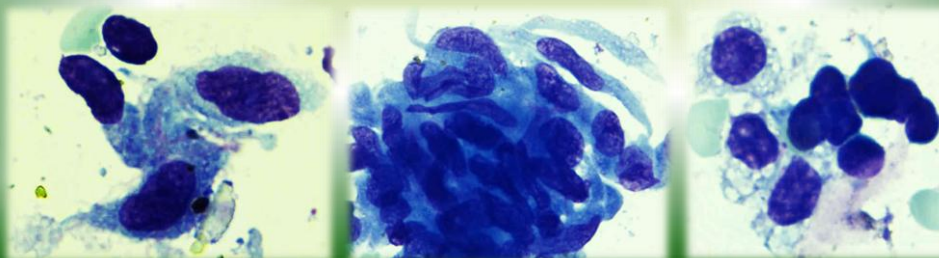
- ✓ Эпителиоидная гемангиоэндотелиома (**CD31+**, **CD34+**, **Fli-1+**)
- ✓ Легочная бластома (**vim+**, **актин**, **десмин**, **S100**, **ЦКР**)
- ✓ Воспалительная миофибробластическая опухоль (**vim+**, **α-актин+**, **десмин±**, **S100-**, **CD34-**, **ЦКР8-30%**, **ALK1-40%**)
- ✓ Синовиальная саркома (**CD99+**, **ЭМА+**, **ЦКР7,19+**, **bcl-2+**, **CD34-**)
- ✓ Шваннома (**S100+**, **PGP 9.5+**, **NSE+**)
- ✓ Солитарная фиброзная опухоль (**vim+**, **CD34+**, **CD99+**, **bcl-2**)

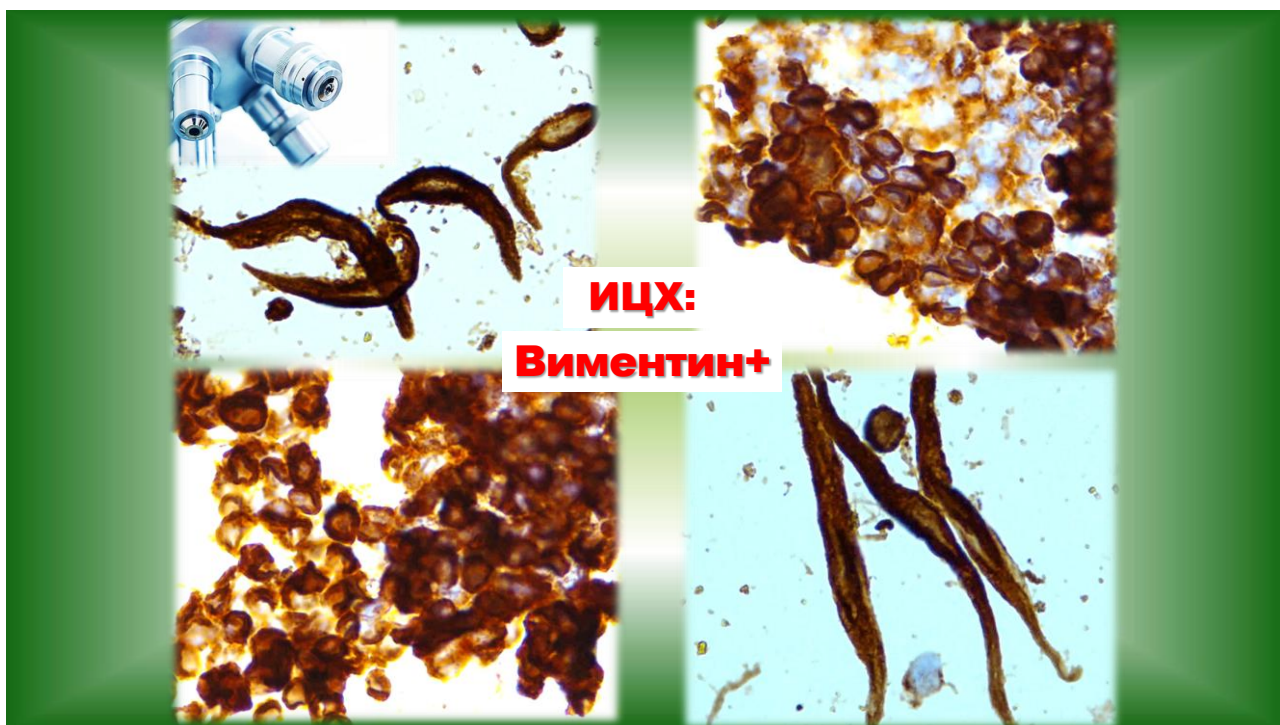
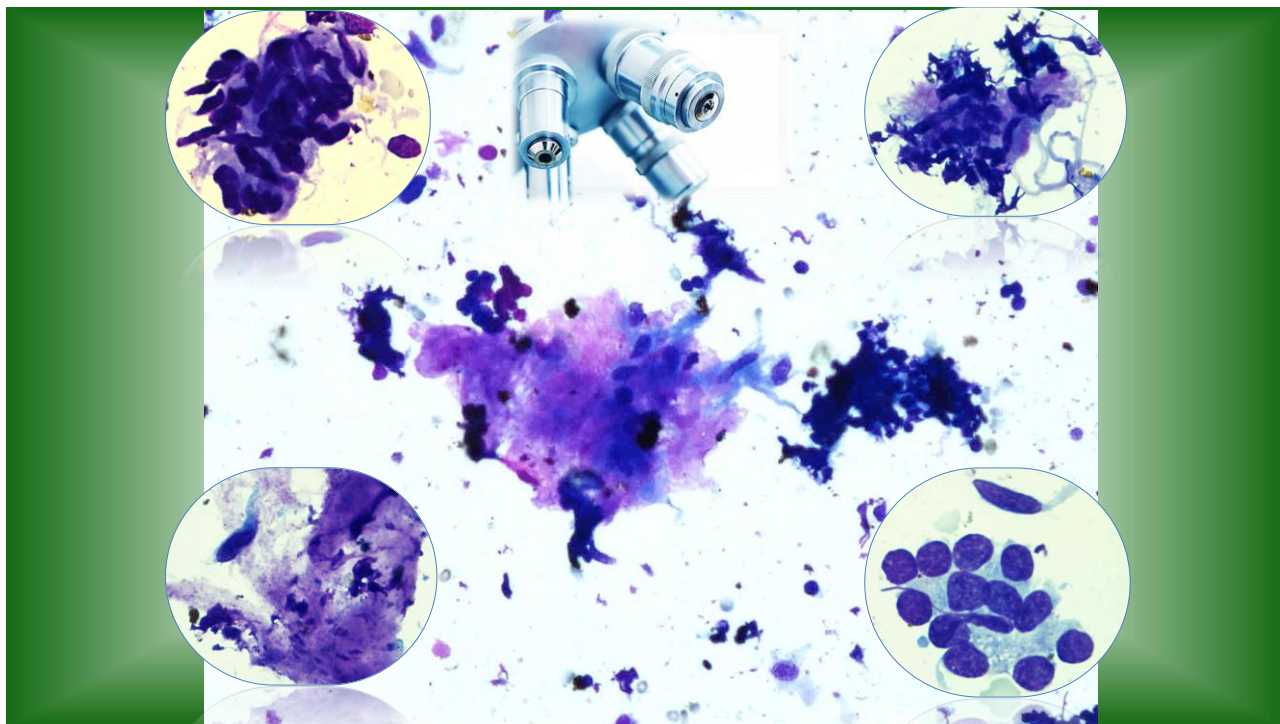
Клиническое наблюдение:

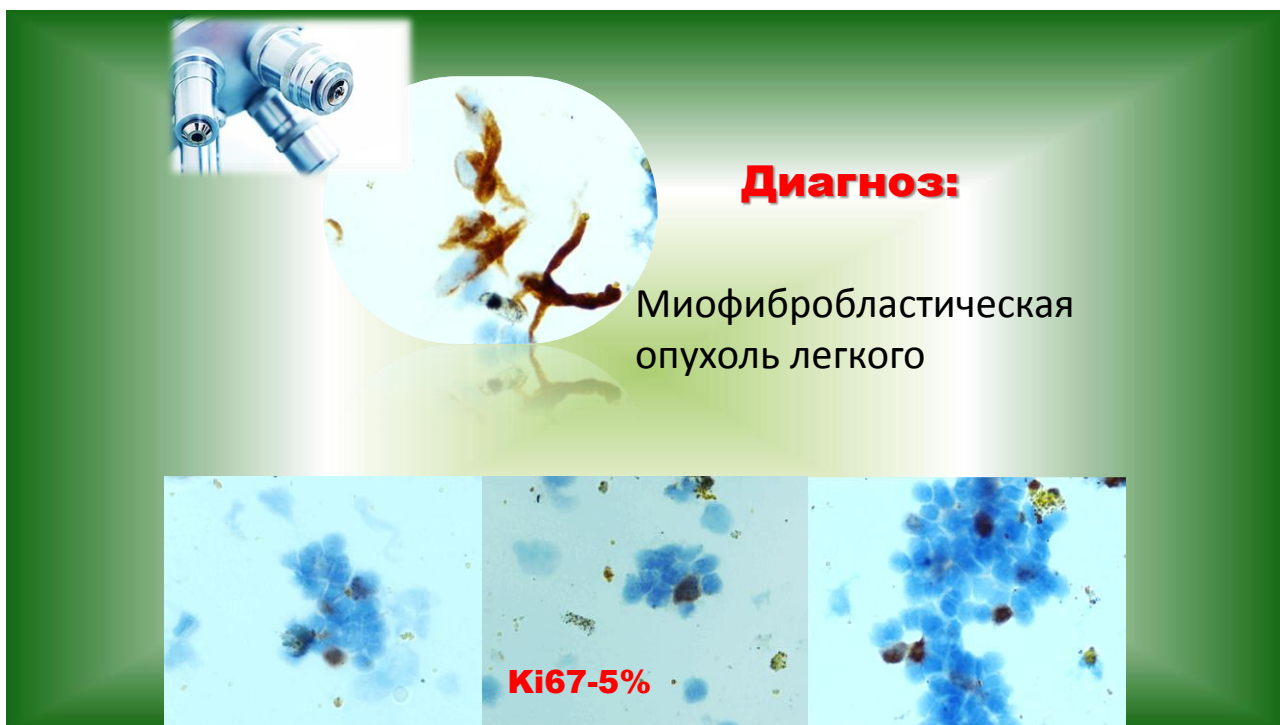
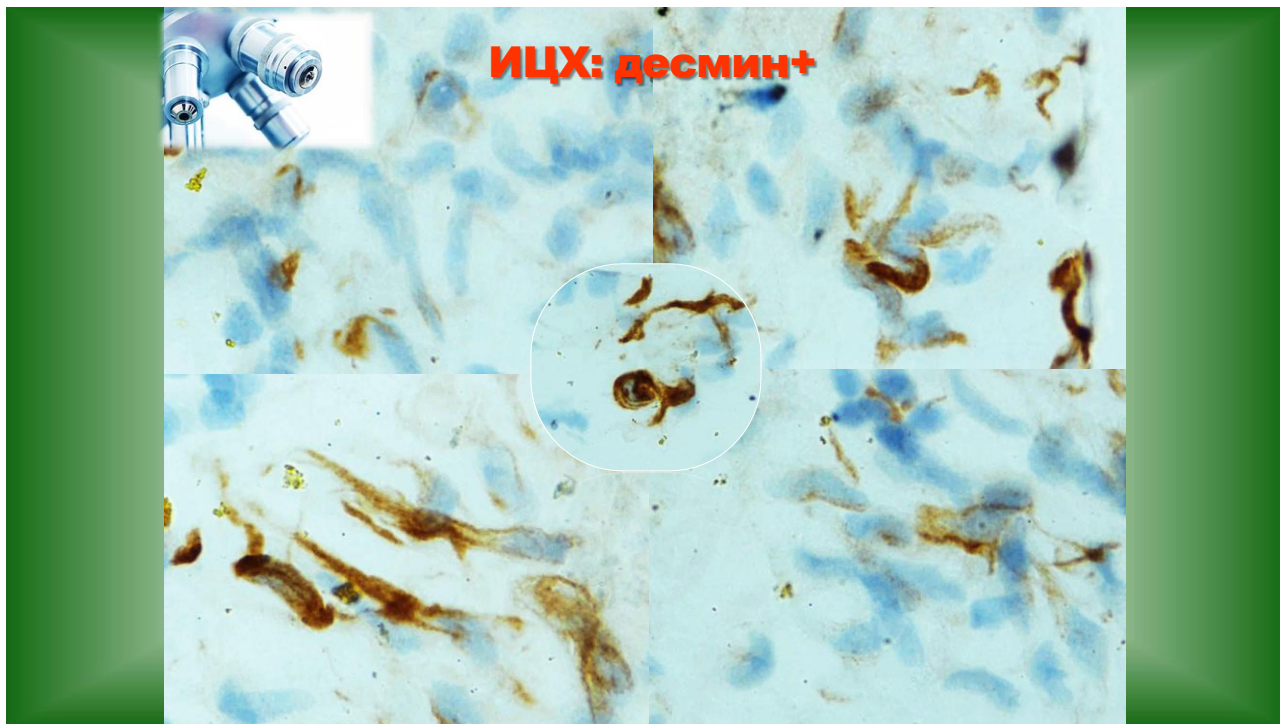
Пациентка Д., 11 лет.

Клинический диагноз: воспалительная миофибробластическая опухоль легкого.

Цитологическое исследование: цитограмма состоит из веретенообразных клеток (миофибробластов), зрелых плазматических клеток, гистиоцитов, бесструктурного оксифильного вещества.







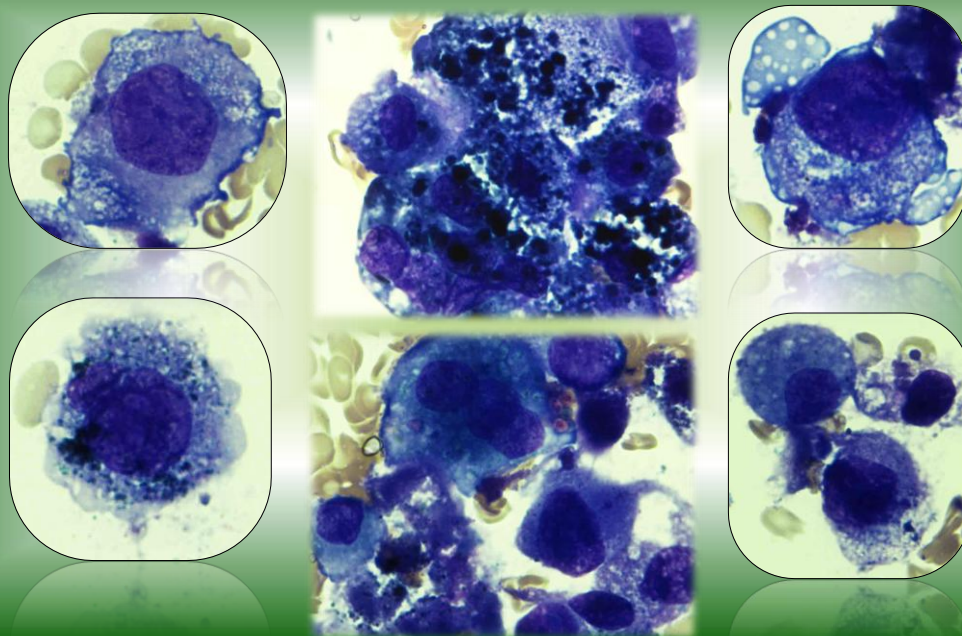
Клиническое наблюдение:

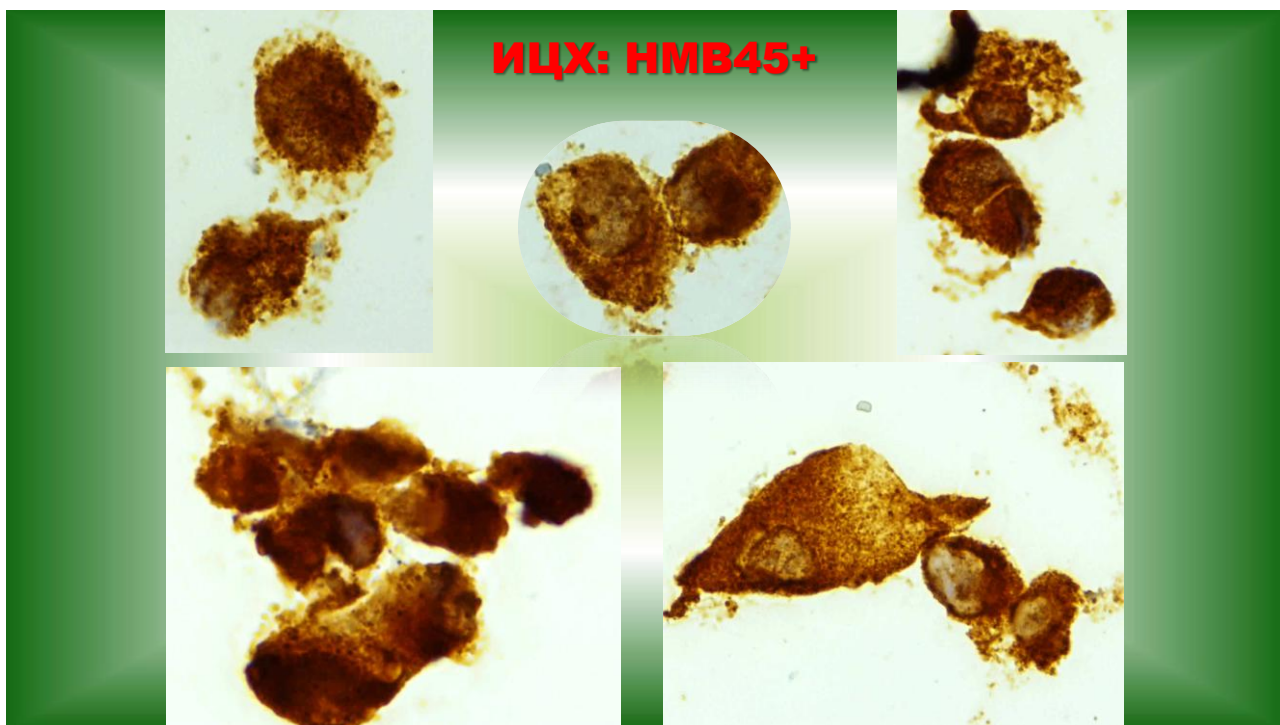
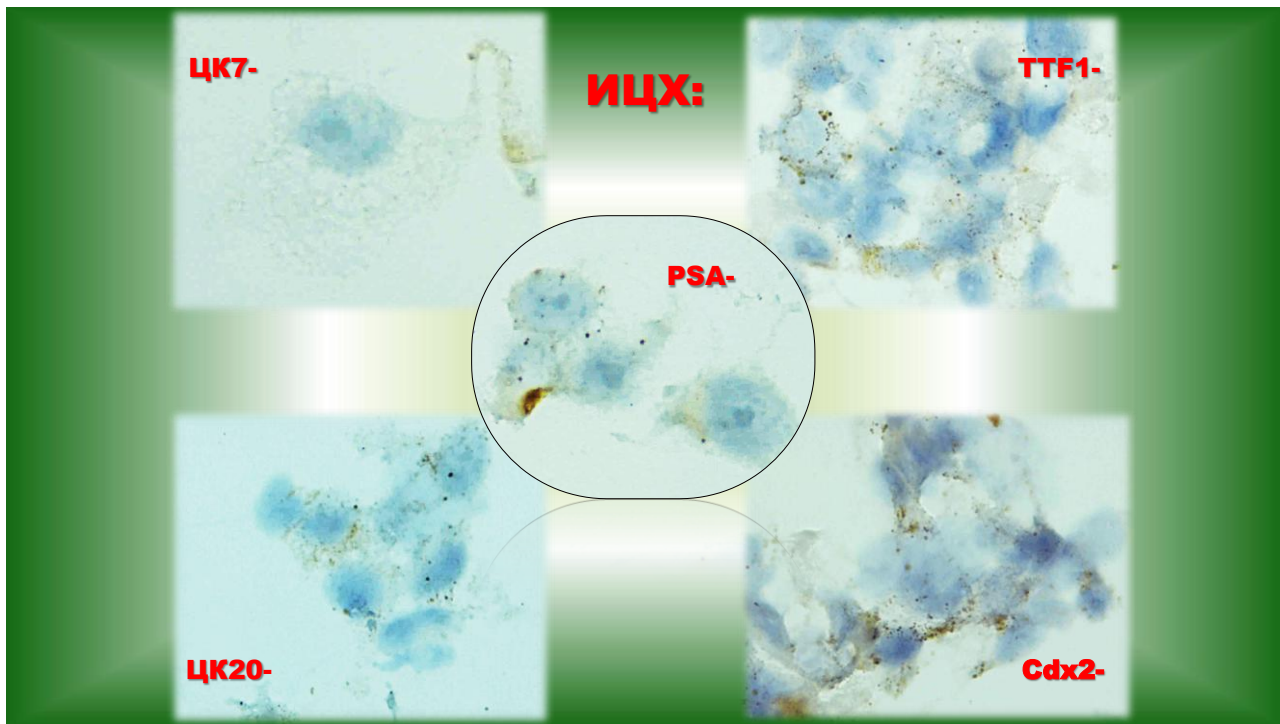
Пациент И., мужчина, 69 лет.

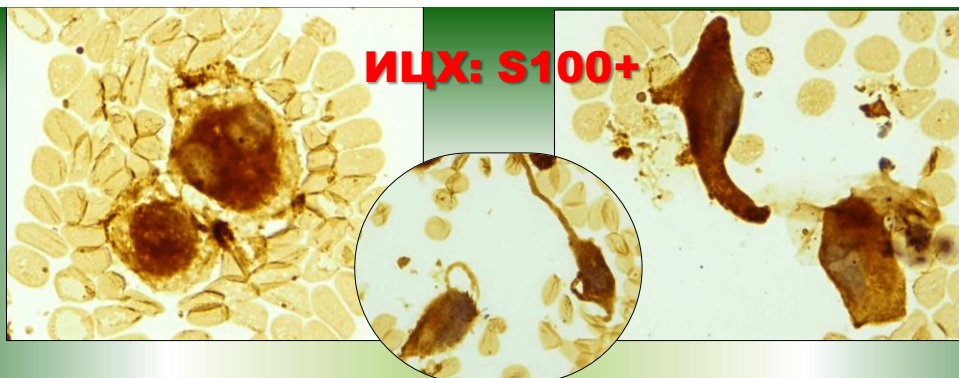
- ✓ Ацинарный рак предстательной железы.
- ✓ Низкодифференцированный рак желудка .
- ✓ Солитарное периферическое образование в правом легком ок.1,5см.
- ✓ Множественные метастазы в головной мозг.

Цитологическое исследование ТАБ опухоли легкого:
цитограмма представлена небольшим количеством полиморфных эпителиоподобных и веретеновидных клеток. Единичные - с пылевидным пигментом в цитоплазме, двуядерные. Аденокарцинома? Меланома?

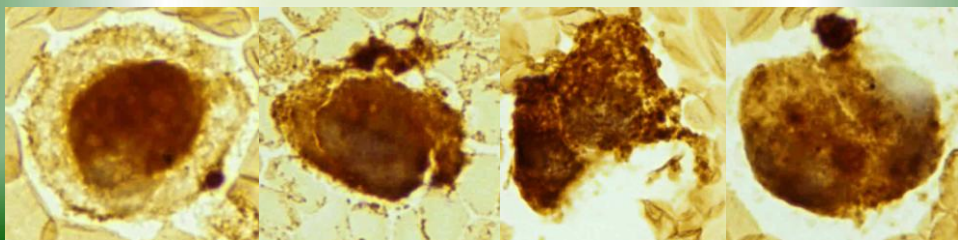
Цитограмма опухоли легкого



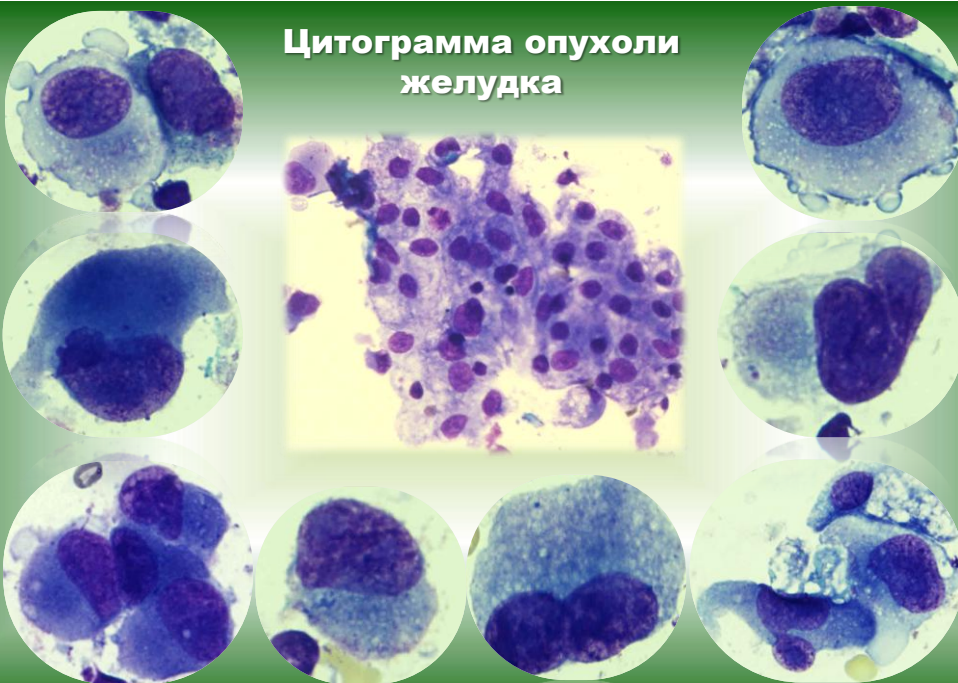


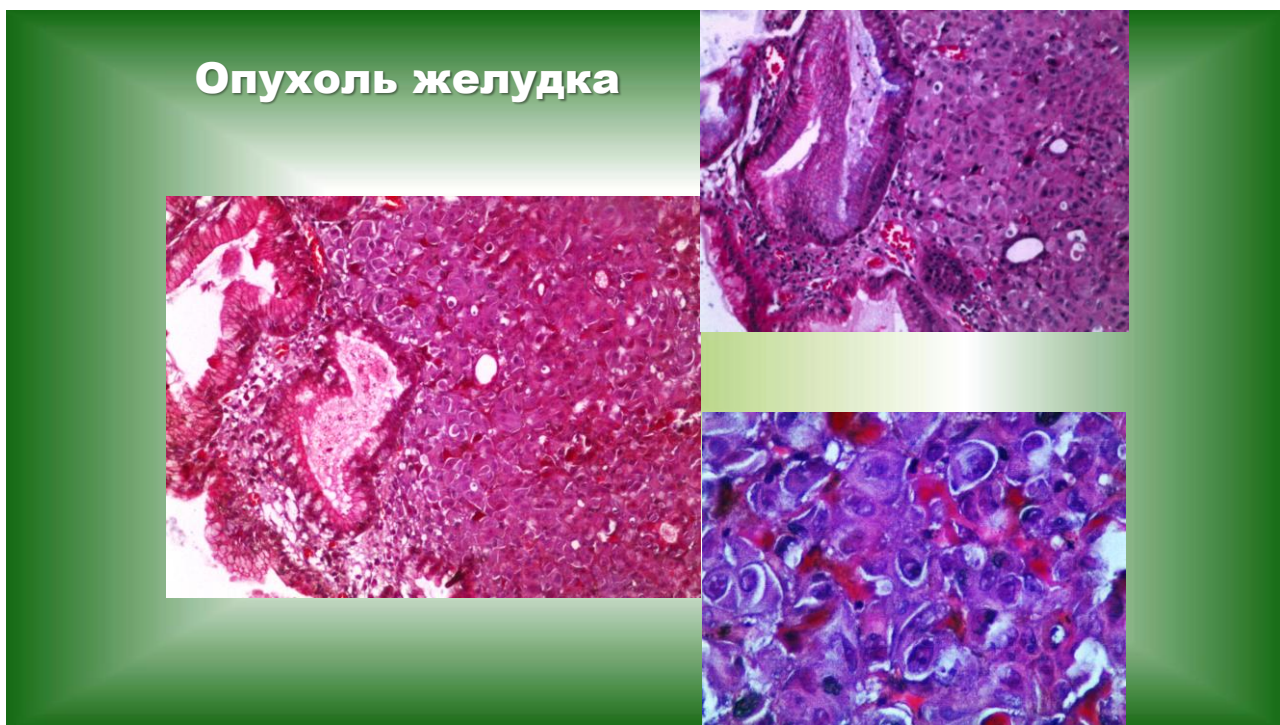
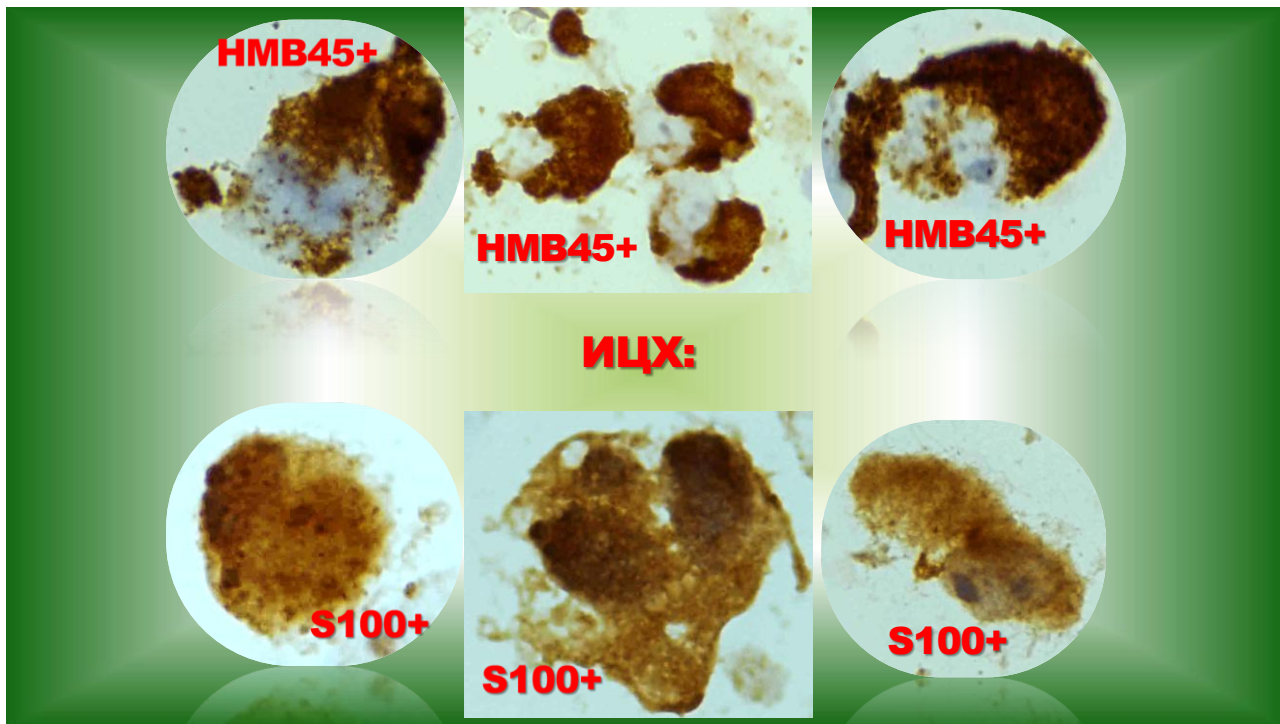


ИЦХ фенотип опухоли: ЦК7-, ЦК20-, ПСА-, TTF1-, Cdx2-
белок S100+, HMB45+

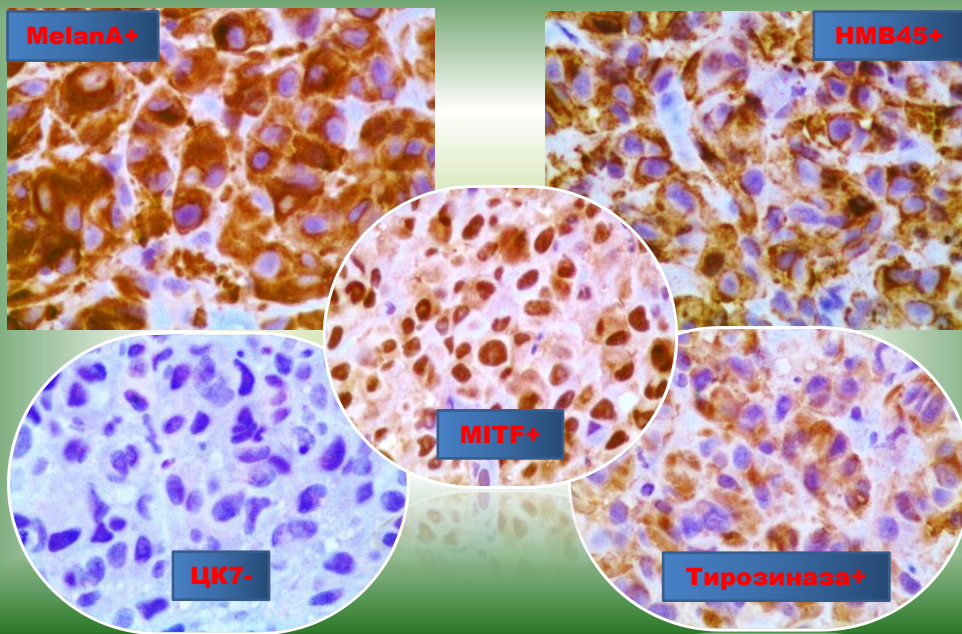


Цитограмма опухоли желудка



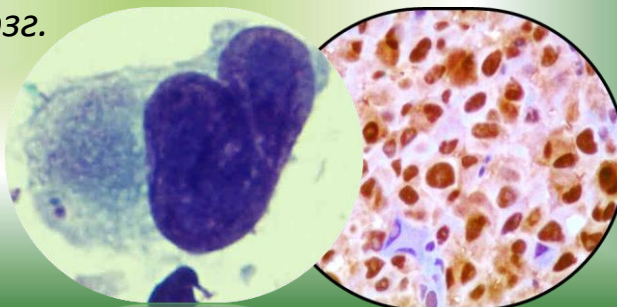


ИГХ опухоли желудка:



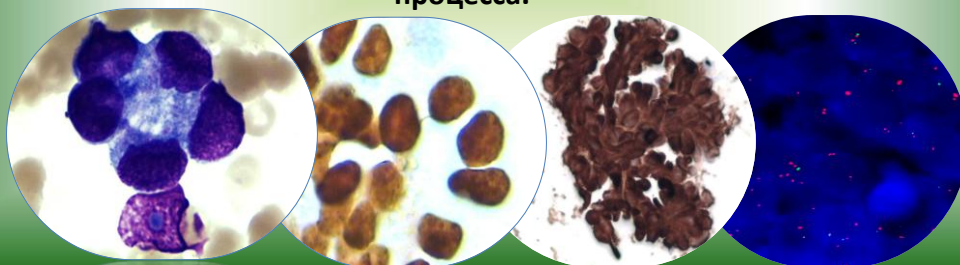
Диагноз:

- ✓ Ацинарный рак предстательной железы
- ✓ Меланома кожи подлопаточной области слева с метастазами в легкое, желудок, головной мозг.





Резюме: использование иммуно-цитохимических исследований в диагностике опухолей легких позволяет расширить возможности современных цитоморфологических методов и на дооперационном этапе уточнить гистогенез новообразования, диагностировать первично – множественные поражения, степень распространения патологического процесса.



Благодарим за внимание