

Научно-практическая конференция  
«Опухоли центральной нервной системы»  
Москва 26 октября 2018 г.

## Цитологическое исследование ликвора при опухолях центральной нервной системы

Центр патоморфологии и молекулярно-генетической диагностики  
ФБГУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УДП РФ

ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗРФ

*М.В. Савостикова, Е.С. Федосеева, Л.Я. Фомина, Е.Ю. Фурминская*

## «Золотой стандарт» диагностики первичных и метастатических поражений головного мозга

Цитологическое исследование ликвора является **первичным** методом диагностики опухолевых поражений головного мозга и, наряду с другими современными методами, позволяет повысить их выявляемость.



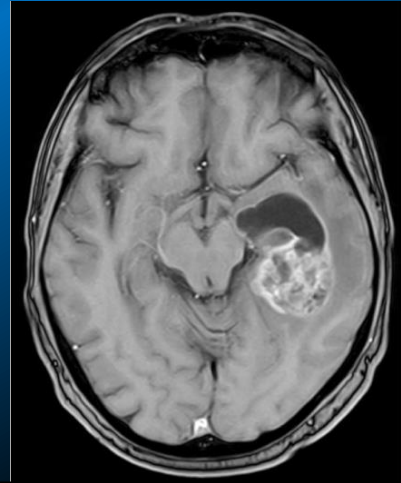


## Статистика метастатических поражений головного мозга

- Метастатические поражения головного мозга встречаются у **3-8,5%** пациентов с онкологическими заболеваниями

- Наиболее часто в головной мозг метастазирует **рак легкого**, выявляемость которого в зависимости от гистологического типа опухоли достигает **67%**

- Schouten LJ, Rutten J, Huvencers HA, Twijnstra A. Incidence of brain metastases in a cohort of patients with carcinoma of the breast, colon, kidney, and lung and melanoma. *Cancer*. 2002 May 15; 94(10): 2698-705.
- Gleissner B., Chamberlain M.C. Neoplastic meningitis. *Lancet Neurol*. 2006; 5: 443-452.
- Beauchesne P. Intrathecal chemotherapy for treatment of leptomeningeal dissemination of metastatic tumours. *Lancet Oncol*. 2010; 11(9): 871-9.
- Rotin D.L., Paklina O.V., Kobyakov G.L. et al. Clinical and morphological prognosis factors in brain metastases of the lung cancer. *Voprosy khirurgii im. N.N. Burdenko = N.N. Burdenko Center, Neurosurgery Issues* 2013;77(1):24-9. (In Russian).



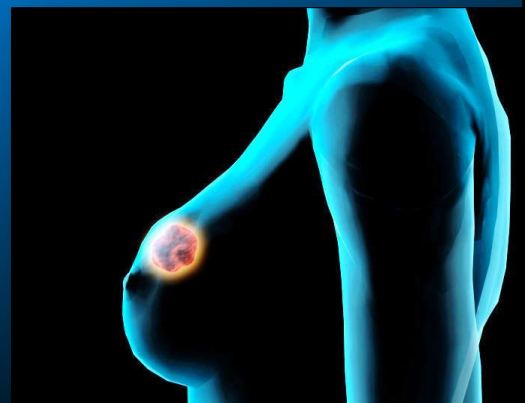
## Статистика метастатических поражений головного мозга

- Вторым по частоте метастазирования является **РМЖ** (у женщин) – **5-30%**.

- Реже – **меланома (6-18%)**, рак почки, опухоли желудочно-кишечного и урогенитального тракта.

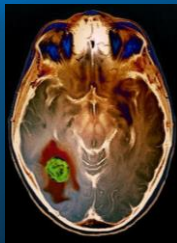
- Taillibert S., Laigle-Donadey F., Chodkiewicz C., et al. Leptomeningeal metastases from solid malignancy: a review. *J Neurooncol*. 2005; 75: 85-99.
- Barnholtz-Sloan J.S., Sloan A.E., Davis F.G., et al. Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2865-2872.
- Cone L.A., Koochek K., Henager H.A., et al. Leptomeningeal carcinomatosis in a patient with metastatic prostate cancer: case report and literature review. *Surg Neurol*. 2006; 65: 372-376.
- Giglio P., Wienberg J.S., Forman R., et al. Neoplastic meningitis in patients with adenocarcinoma of the gastrointestinal tract. *Cancer*. 2005; 103: 2355-2362.
- Le Rhun E., et al. A retrospective case series of 103 consecutive patients with leptomeningeal metastasis and breast cancer. *J Neurooncol*. 2013; 113(1): p. 83-92.

**В некоторых случаях первичный опухолевый очаг остается не выявленным.**



## Чувствительность цитологического метода

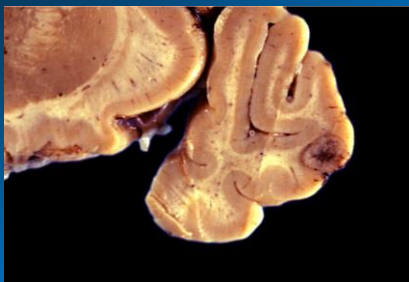
- **Средняя чувствительность** цитологического метода невысока — **от 41,3% до 60%**, при **леptomенингеальном распространении** опухолевые клетки могут быть обнаружены в **70-90%** случаев.
- **Повторная пункция** повышает чувствительность морфологической диагностики .
- Относительно **невысокая чувствительность** может объясняться малым объемом и малой клеточностью материала, дегенерацией клеток в жидкости, а также удаленностью опухолевого очага от места пункции и зависимостью от степени распространения опухоли по мозговым оболочкам.
- **Сочетание** морфологического исследования **с современными методами визуализации** (КТ, МРТ, МР-ангиография и др.) позволяет повысить выявляемость первичных и метастатических поражений головного мозга.



- Bae YS, Cheong JW, Chang WS, et al. Diagnostic Accuracy of Cerebrospinal Fluid (CSF) Cytology in Metastatic Tumors: An Analysis of Consecutive CSF Samples. *Korean J Pathol*. 2013 Dec; 47(6): 563-8.
- Mack F, Baumert B.G., Schäfer N., et al. Therapy of leptomeningeal metastasis in solid tumors. *Cancer Treat Rev* 2016 Feb; 43: 83-91.
- Prommel P, et al. Neoplastic meningitis: How MRI and CSF cytology are influenced by CSF cell count and tumor type. *ScientificWorldJournal*, 2013; p. 248072.

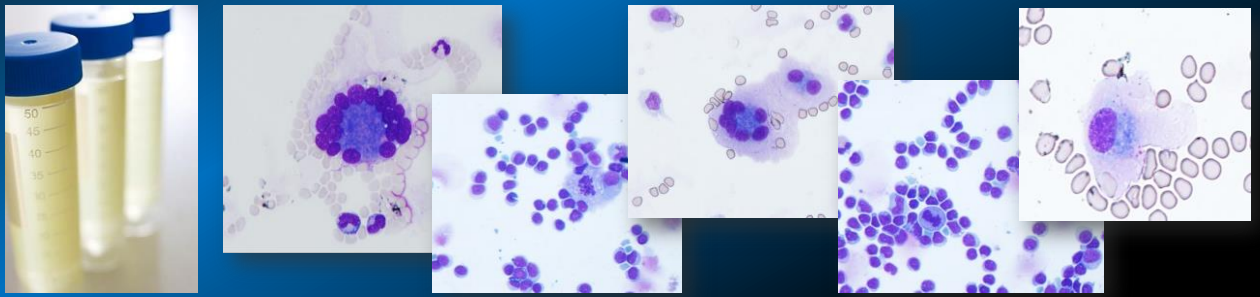
## Факторы, влияющие на чувствительность цитологического метода в исследовании СМЖ:

- Локализация опухоли (степень вовлечения мозговых оболочек)
- Природа опухоли (злокачественная первичная или метастатическая)
- Место взятия материала
- Объем материала (минимум – 3 мл)
- Способ и скорость приготовления материала
- Число исследований у одного пациента

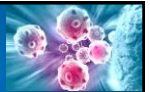


## Клеточный состав ликвора в норме

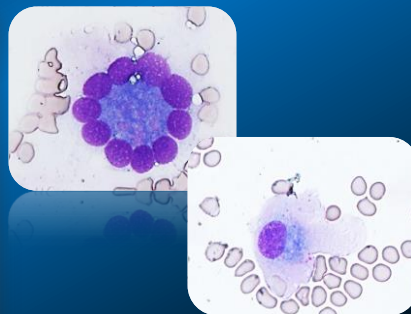
- В норме в ликворе преобладают **малые лимфоциты** [Торцевски М., Лакнер К.Й., Боль Й., Зоммер К. Комплексное цитологическое исследование спинномозговой жидкости; пер. с англ. Под ред. Н.А. Шапиро. «Практическая медицина», Москва, 2017. Глава 3, стр. 18-30].
- Вторая основная популяция клеток в нормальном ликворе – это **моноциты**, которые подвергаются дистрофии быстрее, чем лимфоциты. По мере прогрессирования опухолевого процесса также происходит активация и нерезкое увеличение количества моноцитов.
- Могут наблюдаться **единичные нейтрофилы**, которые в нормальном ликворе практически не встречаются, так как быстро подвергаются дистрофическим изменениям.
- **Клетки сосудистого сплетения и клетки эпендимы.**
- **Менинготелиальные клетки** паутинной оболочки.



## Цитоз ликвора при опухолях ЦНС



- При опухолевых поражениях ЦНС цитоз люмбальной СМЖ в большинстве случаев **нормальный**, иногда немного повышен (до 25 клеток в 1 мкл).
- Когда цитоз повышается значительно, большую часть клеток обычно составляют **нейтрофилы**, и в отсутствие клеток опухоли цитологическую картину необходимо дифференцировать с абсцессом головного мозга.
- В ликворе, полученном из желудочков мозга, **выраженный плеоцитоз** отмечается в **50%** случаев.



- *Practical guidelines for clinical laboratory diagnostics. Ed. Bazarnova M.A., Morozova V.T. "Vysha shkola", Kiev, 1988. Part III, Chapter 7, p. 203. (In Russian)*
- *DeMay R. The art & science of cytopathology. 2nd Edition. American Society for Clinical Pathology Press, 2012, Vol.1, p.507.*

- ✓ **Цель исследования** - оценить возможности цитоморфологической и иммуноцитохимической диагностики в исследовании ликвора при первичных и метастатических поражениях головного мозга.



## Материалы и методы

- Проведено **73 цитологических исследования** ликвора, полученного посредством люмбальной или вентрикулярной пункции, а также пункции объемных образований головного мозга, **от 31 пациента** (11 мужчин, 20 женщин).
- **Возраст** пациентов варьировал от **21 года до 68 лет**.
- Все наблюдения были разделены на **три группы**, в зависимости от характера патологического процесса в ЦНС.

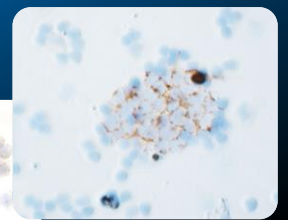
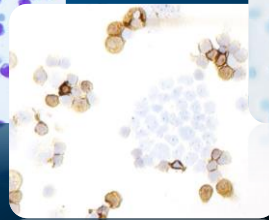
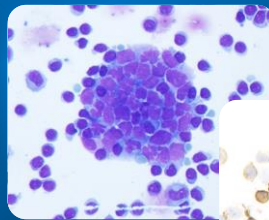
Характер патологического процесса ЦНС	Клиническо-гистологический диагноз	Количество цитологических исследований
Неопухольевые поражения и доброкачественные опухоли ЦНС	очаг ишемии – 1,	1
	очаг атрофии – 1	1
	аденома гипофиза – 1	1
	гематома – 1	1
	EBV-ассоциированный энцефалит - 1	1
Первичные злокачественные опухоли ЦНС	медуллобластомы – 2	2
	глиобластомы – 3	6
	лимфома – 1	2
	тератоидно-рабдоидная опухоль - 1	4
Метастатические поражения ЦНС	РМЖ – 13	47
	Рак легкого – 3	4
	Меланома - 1	1
	Аденокарцинома поджелудочной железы - 1	1
	Плеоморфная липосаркома мягких тканей - 1	1
<b>Всего</b>	<b>31</b>	<b>73</b>

## Материалы и методы

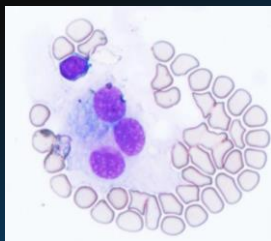
Весь объем СМЖ был использован для приготовления серии монослойных препаратов с помощью **цитоцентрифуги Cytospin-3**.

Для морфологической оценки ликвора два цитопрепарата **окрашивали по Лейшману**.

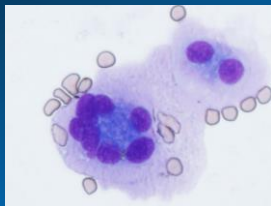
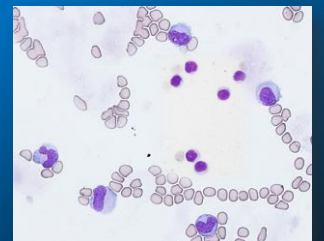
С целью уточнения цитологического диагноза 13 пациентам были проведены **17 ИЦХ исследований и 36 иммуноцитохимических реакций** с использованием моноклональных антител на иммуногистостейнере Ventana.



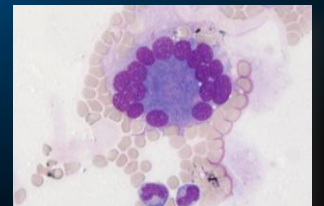
## Неопухолевые поражения и доброкачественные опухоли ЦНС (n=5)



очаг ишемии – 1,  
очаг атрофии – 1  
аденома гипофиза – 1  
гематома – 1  
EBV-ассоциированный энцефалит - 1



В пяти наблюдениях первой группы **клетки с признаками атипии обнаружены не были**.  
В препаратах отмечались отдельные клетки арахноэндотелия, немногочисленные лимфоциты, единичные лейкоциты и моноциты.



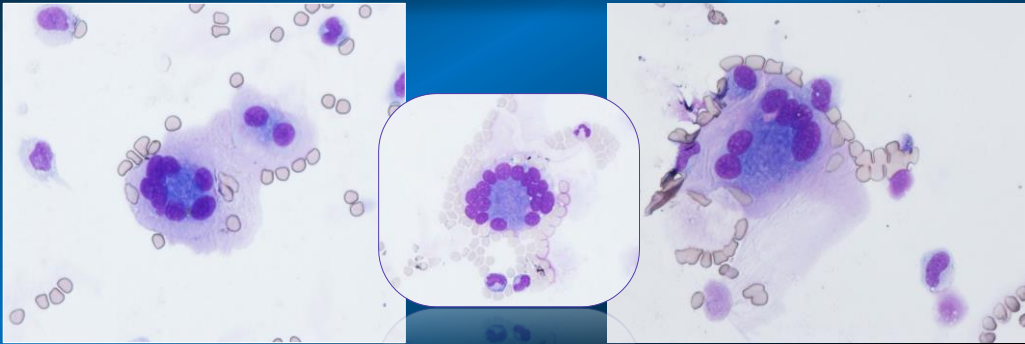
**Клиническое наблюдение:** Пациент К., 68 лет.

**Клинический диагноз:** Опухоль яичка (диффузная В-крупноклеточная лимфома), по данным МРТ опухолевой патологии в головном мозге не выявлено.

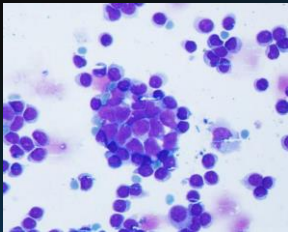
**Цитологическое заключение:** (люмбальная пункция) В полученном материале эритроциты, лимфоидные элементы, немного нейтрофилов, клетки арахноэндотелия, частью двухъядерные и многоядерные, в виде синцитиоподобных структур - вероятно, изменения реактивного характера.



Получено 2 мл ликвора



## Первичные злокачественные опухоли ЦНС (n=7)

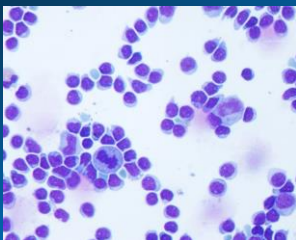
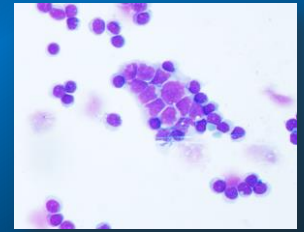


медуллобластомы – 2

глиобластомы – 3

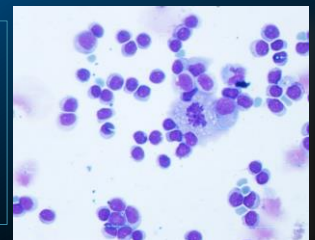
лимфома – 1

тератоидно-рабдоидная опухоль - 1



Во второй группе было проведено 14 цитологических исследований.

Заключение о наличии опухолевых клеток или подозрении на опухоль было дано **у 3 пациентов из 7**. В целом цитограммы характеризовались умеренным и выраженным плеоцитозом.



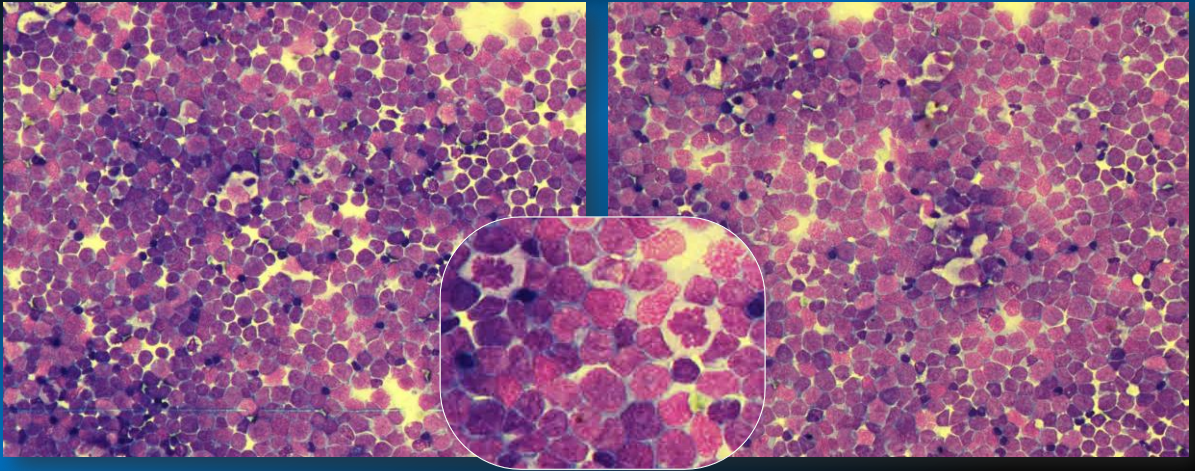
**Клиническое наблюдение:** пациент Б., 48 лет.

**Клинический диагноз:** опухоль гипофиза. Лимфома?

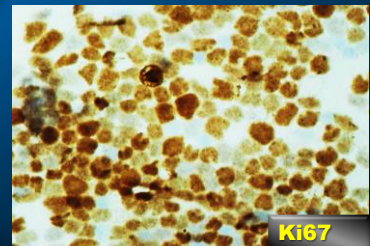
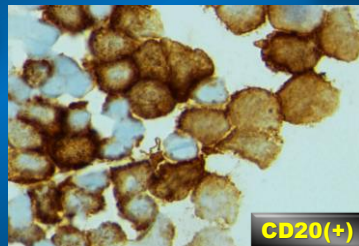
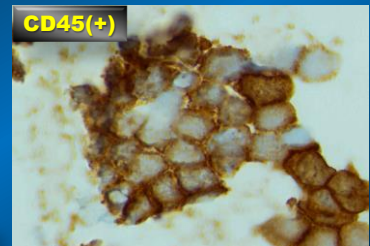
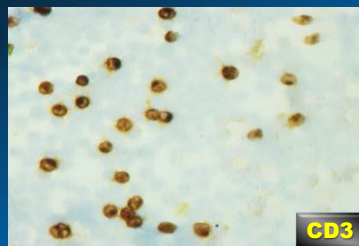
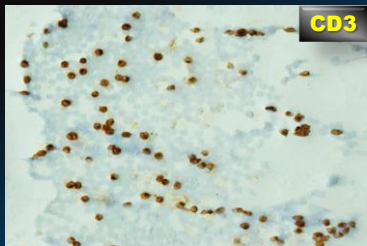
**Цитологическое заключение:** (люмбальная пункция) цитограмма соответствует лимфоме.



**Получено 6 мл ликвора**



**Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:**  
В-клеточная лимфома.



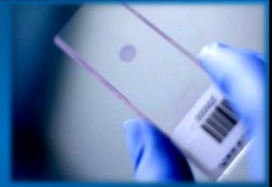
**Проточная цитофлуориметрия:** В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности



**Клиническое наблюдение :** пациент К., 34 года.

**Клинический диагноз:** медуллобластома.

**Цитологическое заключение:** (люмбальная пункция) цитологическая картина представлена небольшими клетками, напоминающими лимфобласты, которые формируют истинные скопления с характерным подстраиванием ядер («ядерный молдинг»), со структурой хроматина наподобие «соль-перец», со скудной, плохо различимой цитоплазмой. Отмечается обилие моноцитов, лимфоидных элементов. Цитограмма подозрительна в отношении медуллобластомы.



**Получено 3 мл ликвора**

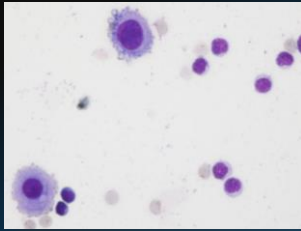


**Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:** медуллобластома.

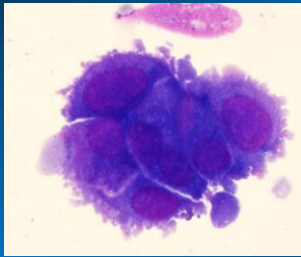
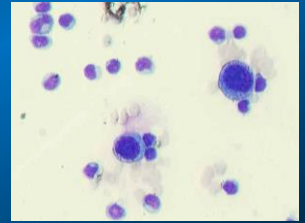


**Гистологическое исследование:** медуллобластома головного мозга.

## Метастатические поражения ЦНС (n=19)

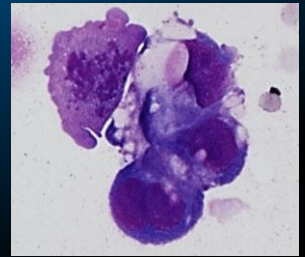


РМЖ – 13
Рак легкого – 3
Меланома - 1
Аденокарцинома поджелудочной железы - 1
Плеоморфная липосаркома мягких тканей - 1



В третьей группе было проведено 54 цитологических исследования. Заключение о наличии опухолевых клеток или подозрении на опухоль было дано **у 16 из 19 пациентов.**

Цитограммы характеризовались умеренным и выраженным плеоцитозом, в большинстве случаев клетки метастатической опухоли сохраняли характерные морфологические признаки.



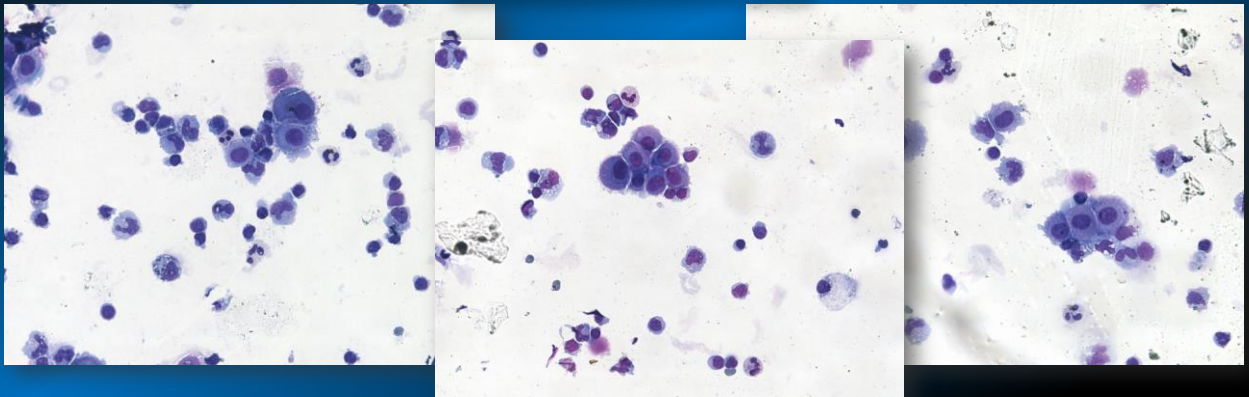
**Клиническое наблюдение :** пациентка Б., 36 лет.

**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.

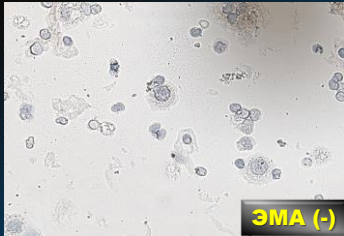
**Цитологическое заключение:** (люмбальная пункция) цитограмма подозрительна по наличию метастаза меланомы.



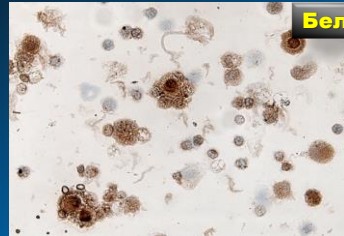
**Получено 4 мл ликвора**



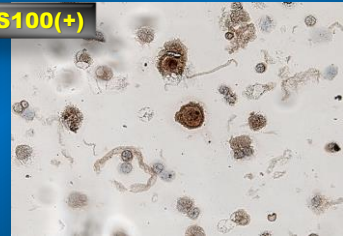
**Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:**  
**метастаз меланомы.**



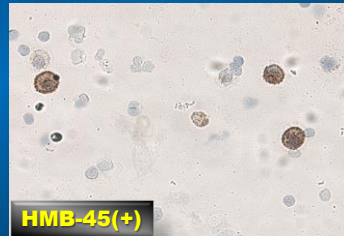
**ЭМА (-)**



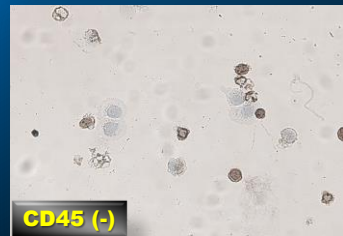
**Белок S100(+)**



**melan A (+)**



**HMB-45(+)**



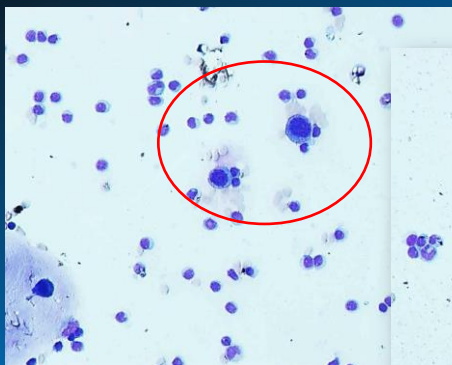
**CD45 (-)**

**Гистологическое заключение:** эпителиоцелочная пигментная меланома кожи

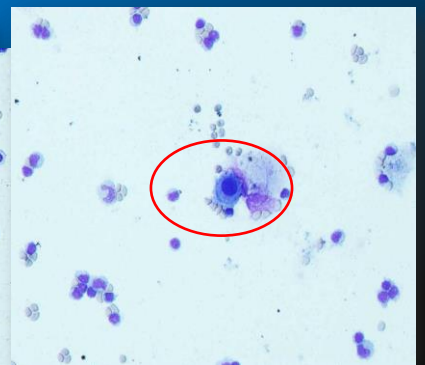
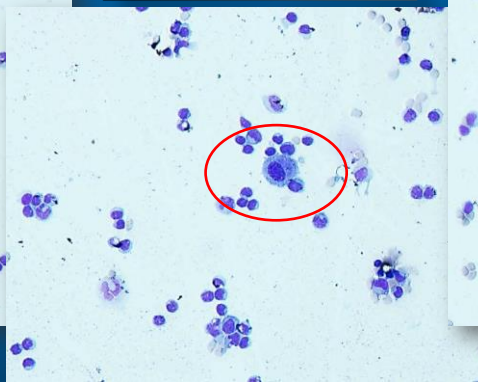
**Клиническое наблюдение :** пациентка С., 36 лет.

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

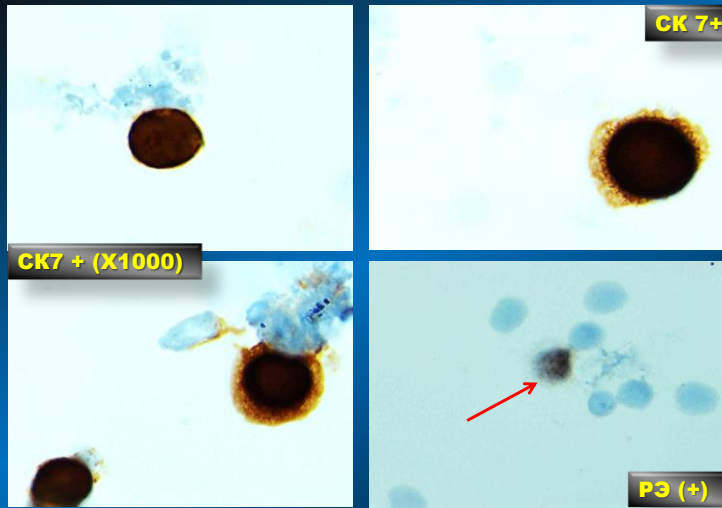
**Цитологическое заключение:** (люмбальная пункция) среди немногочисленных лимфоидных элементов определяются единичные атипичные клетки, вероятнее всего, принадлежащие карциноме.



**Получено 3 мл ликвора**



**Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:**  
 метастаз рака молочной железы.

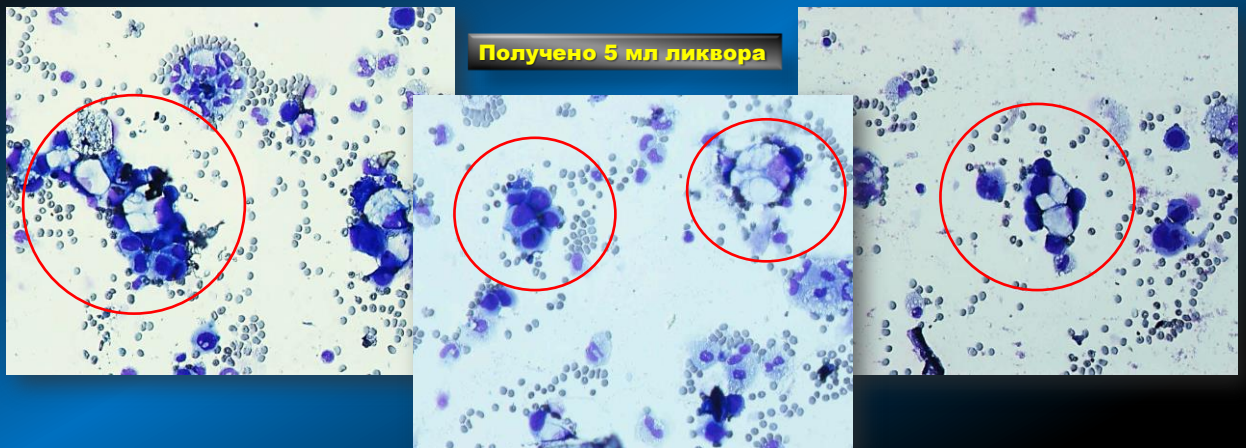


**Гистологическое заключение:** образование в ткани мозга представлено метастазом солидно-альвеолярного рака, не противоречащего по строению метастазу рака молочной железы

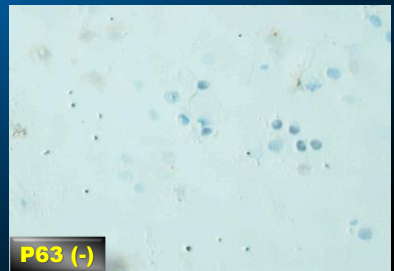
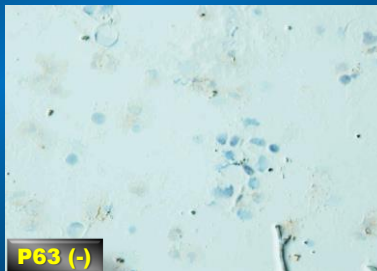
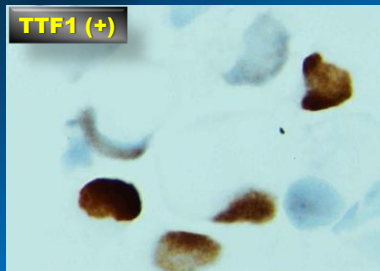
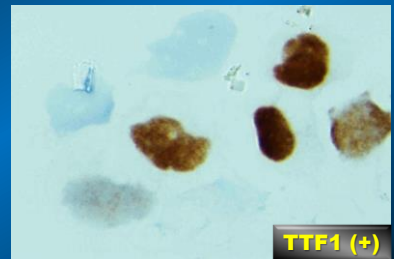
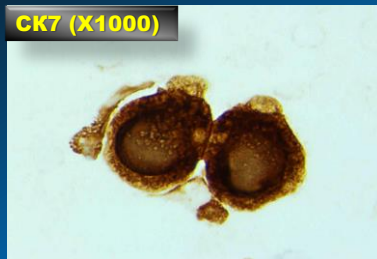
**Клиническое наблюдение :** пациент Ю., 65 лет.

**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.



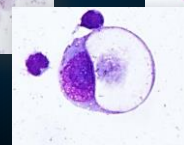
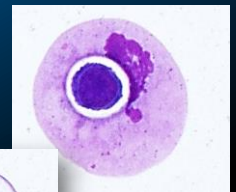
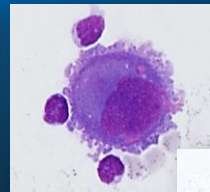
Цитологическое и иммуноцитохимическое заключение:  
метастаз аденокарциномы легкого.



Гистологическое заключение: (пересмотр препаратов) аденокарцинома легкого.

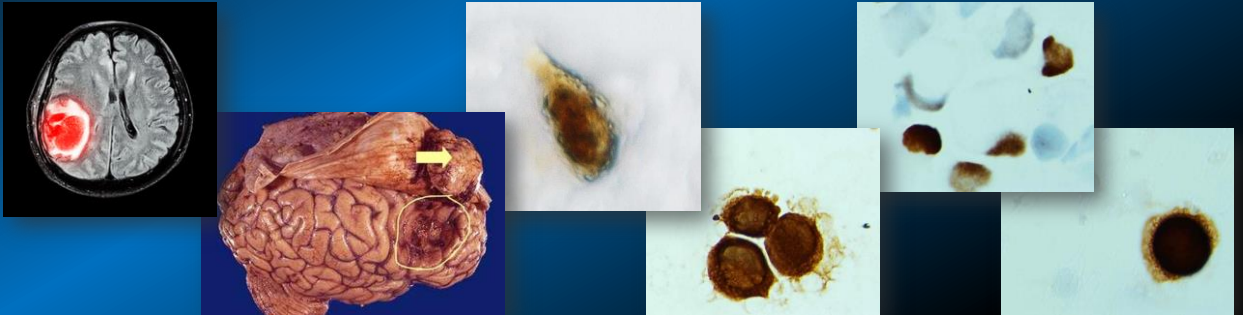
## Результаты исследования

- Чувствительность цитологического метода составила **47,2%**
- В ряде наблюдений (**n=10**) требовалось проведение дифференциальной диагностики между клетками опухоли и другими клетками ликвора.
- Необходимо отметить, что в нескольких случаях (**n=6**) клеточные элементы в СМЖ отсутствовали – такой материал был расценен как неинформативный.
- **5 исследований** составили группу истинноотрицательных заключений (в этой категории у пациентов отсутствовала злокачественная патология ЦНС).



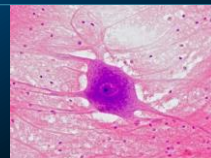
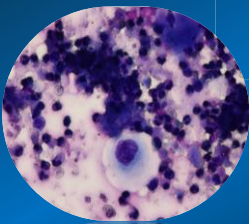
## Результаты исследования

Применение ИЦХ исследования позволило перевести большинство сомнительных заключений ( $n=7$ ) в категорию утвердительных, что повысило **чувствительность цитологической диагностики до 53,3%**. Еще в 7 наблюдениях с помощью ИЦХ был определен гистогенез опухоли: **первичной лимфомы гипофиза – 1, метастатической меланомы – 1, метастаза РМЖ – 2, метастаза ПКР легкого – 1, медуллобластомы – 1, метастатической аденокарциномы легкого – 1**. В 1 случае удалось подтвердить отсутствие опухоли (у пациента по данным МРТ был выявлен очаг ишемии головного мозга). В 3 ИЦХ исследованиях был подтвержден уверенный цитологический диагноз.



## Выводы

- Цитологическое исследование СМЖ является передовым методом морфологической диагностики опухолей ЦНС
- Сравнительно невысокая чувствительность метода во многом обусловлена анатомическими особенностями расположения новообразования и степенью его лептоменингеального распространения
- Число ложнонегативных результатов можно снизить путем увеличения количества пункций и объема получаемого материала, по возможности – пункцией мозговых цистерн, а также обработкой образцов в кратчайшие сроки
- Иммуноцитохимические исследования расширяют возможности цитоморфологии в выявлении опухолевых клеток и определении их гистогенеза, однако традиционно малый объем ликвора и его низкая клеточность иногда ограничивает применение данного метода.



**Благодарим  
за внимание!**

