

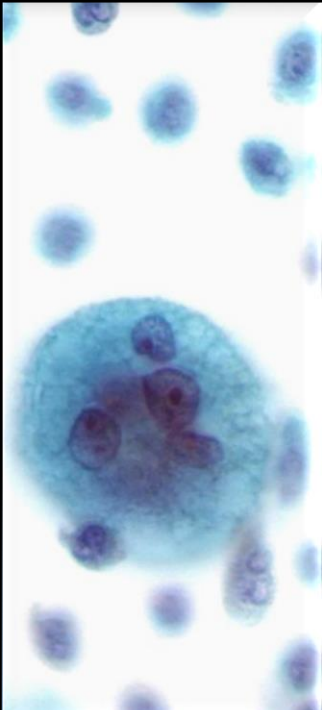


III Ежегодный Конгресс Российского Общества Онкопатологов,  
20-21 апреля 2018 г. Казань

**Цитологическая и  
иммуноцитохимическая диагностика  
мезотелиом с применением жидкостной  
технологии BD**

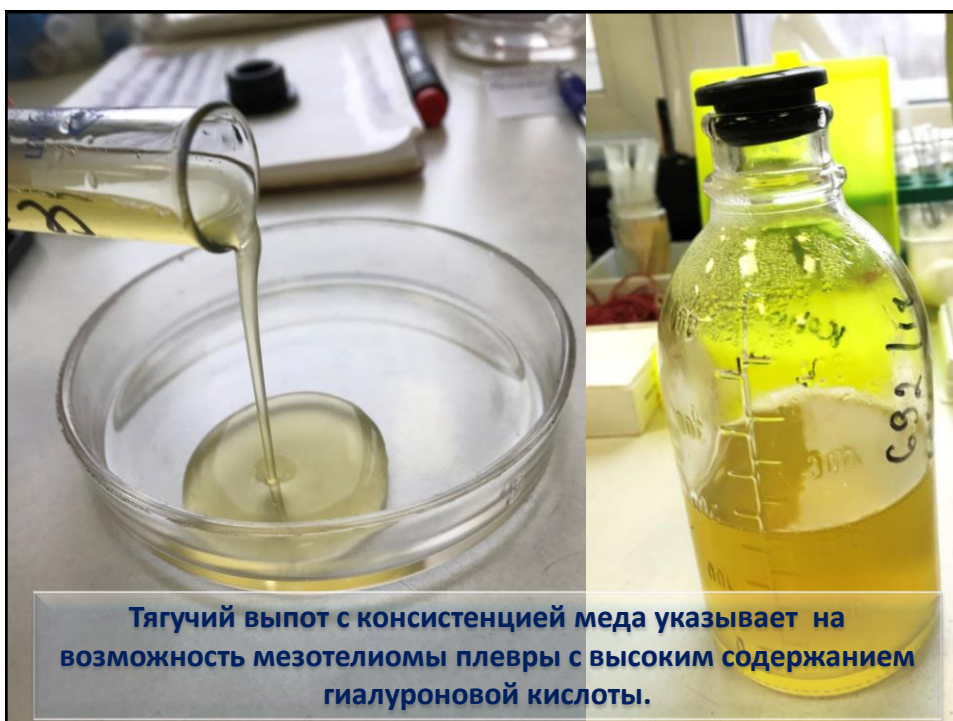
*Е.Ю.Фурминская, Е.С.Федосеева, М.В.Савостикова*

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,  
г. Москва



**Мезотелиома**

- Первичная опухоль серозных оболочек, субстратом которой является мезотелий.
- Встречается редко.
- Локализация: плевра, брюшина, перикард, придаток яичка, область маточных труб (аденоматоидная опухоль).
- Выделяют доброкачественный и злокачественный варианты.
- К доброкачественным относят аденоматоидную опухоль половых органов, а также фиброзную мезотелиому.
- **Все остальные виды мезотелиом злокачественные.**



## Эпидемиология и факторы риска

**Злокачественная мезотелиома** – одна из немногих опухолей, развитие которой непосредственно обусловлено вредными воздействиями окружающей среды. У пациентов со ЗМ в **15-80%** выявлено воздействие асбеста, а также радиации, бериллия, никеля, кремниевой пыли, стекловолокна.

*Ismail-Khan R, Robinson LA, Williams CC Jr. et al. Malignant pleural mesothelioma: a comprehensive review. Cancer Control. 2006;13:255-263*

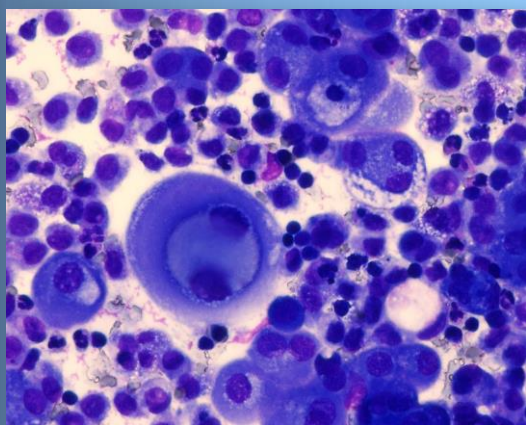


### • Эпителиоидный вариант (50%)

## Морфология

(гистологические особенности)

Хорошо дифференцированные эпителиоидные ЗМ чаще представлены папиллярными и тубулярными структурами, которые могут содержать фиброзный стержень. *Henderson et al.* отметили, что мезотелиома часто бывает покрыта формирующейся грануляционной тканью или замурована в фиброзную ткань.



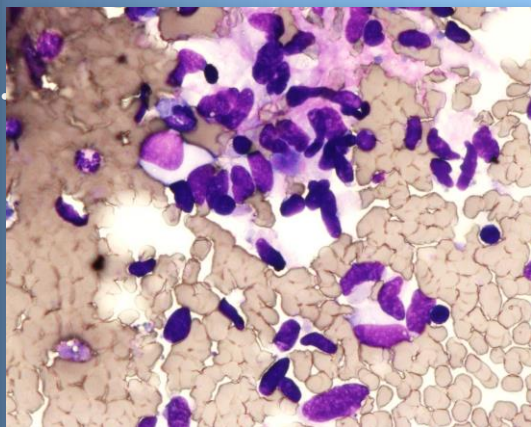
*Corson JM. Pathology of diffuse malignant pleural mesothelioma. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 1997;9:347-355*

- **Саркоматоидный вариант (16%)**

## Морфология

(гистологические особенности)

Саркоматоидный вариант ЗМ в основном представлен пролиферирующим фибросаркомаподобным компонентом или содержит гетерогенную строму (остеоидный, хондроидный, рабдомибластический и др. компоненты).



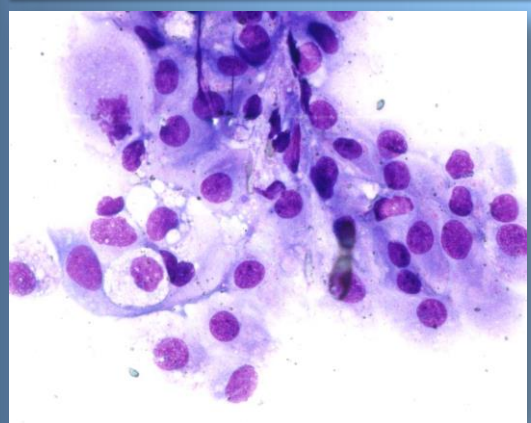
*Corson JM. Pathology of diffuse malignant pleural mesothelioma. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 1997;9:347-355*

- **Смешанный вариант (34%) ЗМ**

## Морфология

(гистологические особенности)

Смешанный тип состоит из эпителиоидного и саркоматоидного компонентов. Редкие варианты ЗМ могут быть представлены недифференцированным, десмопластическим, лимфогистиоцитоидным и децидуоидным типами.



*Corson JM. Pathology of diffuse malignant pleural mesothelioma. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 1997;9:347-355*

**BD SurePath™, окраска по Папаниколау**



**Цитологические признаки мезотелиомы**  
описывались еще в XIX веке, однако первый хорошо иллюстрированный пример был показан Папаниколау в 1954 г.

*Papanicolaou GH, ed. Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge, MA: Harvard University Press; 1956*

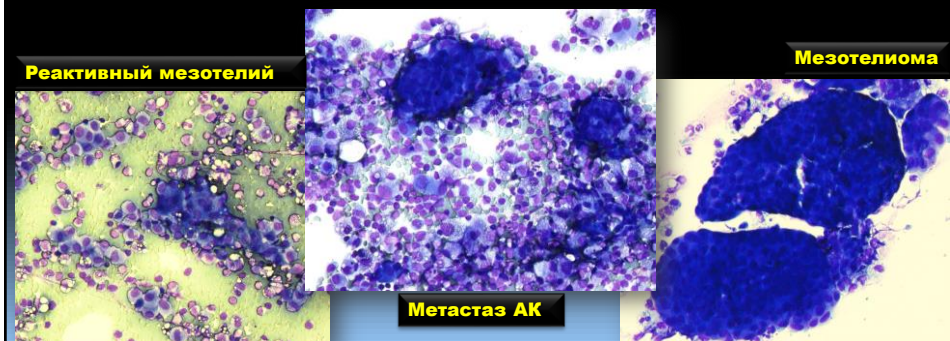
## Алгоритм исследования выпотов

- Являются ли обнаруженные клетки эпителиальными или мезотелиальными?
- Если это клетки мезотелия, то опухолевые или реактивные?
- Если это клетки эпителиальной опухоли, то из какого первичного очага?

**Реактивный мезотелий**

**Мезотелиома**

**Метастаз АК**



По данным мировой литературы чувствительность цитологического метода в выявлении ЗМ составляет от 4% до 63%, что вызывает сомнения в целесообразности его использования. Однако, в опытных руках цитологический и дополняющий его ИЦХ метод позволяют добиться гораздо более значительных результатов (при использовании дополнительных методик чувствительность до 80%).

Renshaw AA, Dean BR, Antman KH. et al. The role cytologic evaluation of pleural fluid in the diagnosis of malignant mesothelioma. Chest.1997;111:106-109

Nguyen GK. Cytopathology of pleural mesotheliomas. Am J Clin Pathol. 2000;114 (Suppl):S68-S81

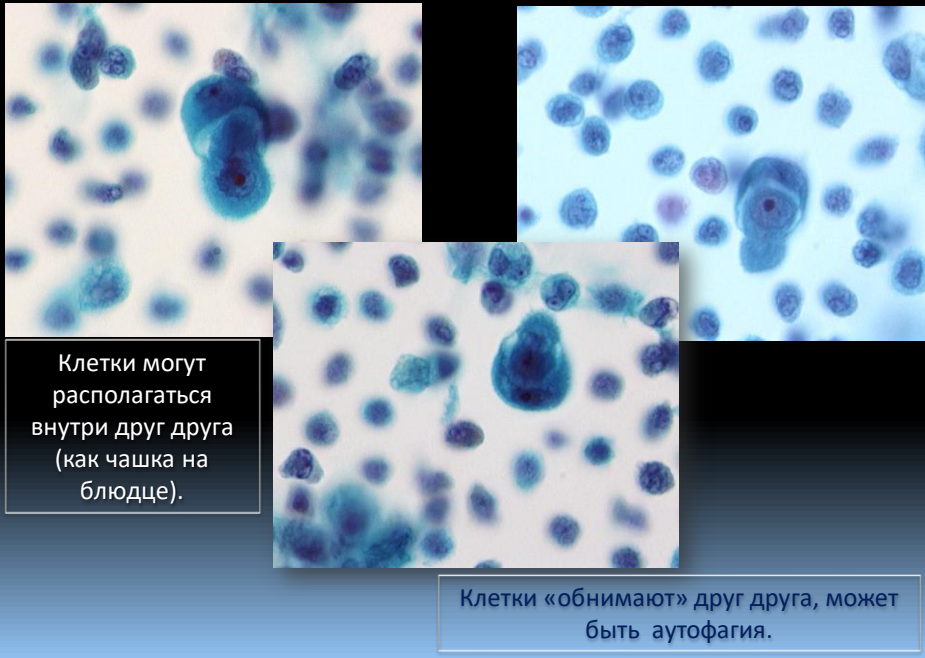
## Две основные трудности

**Первая** – неинформативный/недиагностический материал (примерно в 10% случаев жидкости малоклеточные или содержат значительную примесь крови).

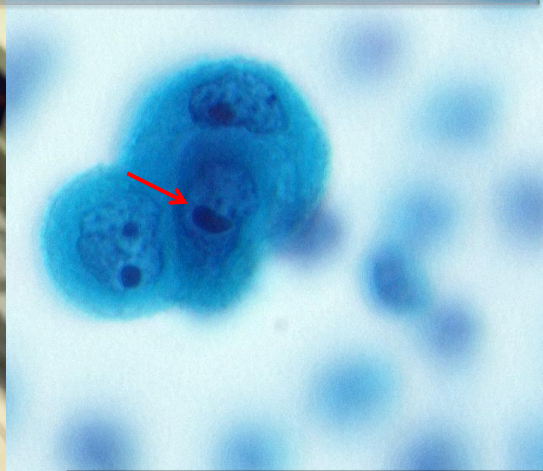
**Вторая** претерпела некоторые изменения – раньше это было дифференцирование аденокарциномы от мезотелиомы, теперь, благодаря появлению специфических маркеров, эта проблема вполне разрешима, а вот отличить ЗМ от реактивного мезотелия по-прежнему непростая задача. Так, **Rakha et al.** на примере 154 гистологически подтвержденных плевральных мезотелиом определили их при цитологической диагностике в **51,3%** (диагноз был установлен в утвердительной или предположительной форме в 79 случаях, в 65 случаях выпот был описан как реактивный, в 5 случаях материал был неадекватным).

Rakha EA, Patil S, Abdulla K. et al. The sensitivity of cytologic evaluation of pleural fluid in the diagnosis of malignant mesothelioma. Diagn Cytopathol. 2010 Dec;38(12):874-9

Признак	Описание/комментарий
Общие характеристики	Большой объем густой вязкой жидкости, с консистенцией мёда
Фон препарата	Примесь крови, лимфоцитарная инфильтрация; нейтрофилы появляются после дренажа
Клеточная популяция	Монотонная, сочетание комплексов и отдельно лежащих клеток
Структуры	Плотные сферические комплексы с гладкими краями или более рыхлые с бугристыми краями (наподобие ягод)
Атипия	Выражена в редких случаях, отмечаются непатологические митозы
Размер и форма клеток	Выраженный полиморфизм клеток, ядер и ядрышек (до гигантских форм)
Цитоплазма	Плотная, с фесточатым или размытым краем (щеточная каемка); жировые вакуоли в перинуклеарной зоне и на периферии клетки (гликоген); разделение на экто- и эндоплазму
Ядра	Увеличенные, центрально расположенные, чаще 2-3-ядерные или многоядерные (до 50)
Ядерная мембрана	Редко неровная
ЯЦО	Преимущественно низкое
Ядрышки	Выраженные, иногда очень крупные, одно или больше
Хроматин	Слабая гиперхромия и конденсация

**BD SurePath™, окраска по Папаниколау**


Клетки ЗМ сохраняют довольно низкое ЯЦО – **цитоплазма обильная**. Ядра чаще расположены центрально, признаки злокачественности не выражены (в отличие от клеток АК и других метастатических опухолей). При тщательном изучении ядер можно обнаружить слегка грубый хроматин, **неровный контур ядерной мембраны, выраженные ядрышки** (иногда очень крупные).


**BD SurePath™, окраска по Папаниколау**



Присутствие мелких перинуклеарных вакуолей

Наличие демаркационной линии в цитоплазме – разделение на эндо-/эктоцитоплазму.

**BD SurePath™**, окраска по Папаниколау

Цитоплазма четко делится на две зоны – **экто-** и **эндо-**, контуры клеток часто размыты из-за микроворсинок. Обнаруживаются вакуоли по периферии клетки, которые сливаясь, образуют колбасовидные просветы в клетке. В препаратах, покрашенных по Папаниколау, видны гранулы гликогена.



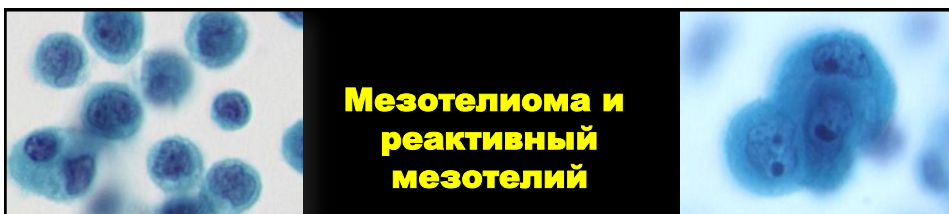
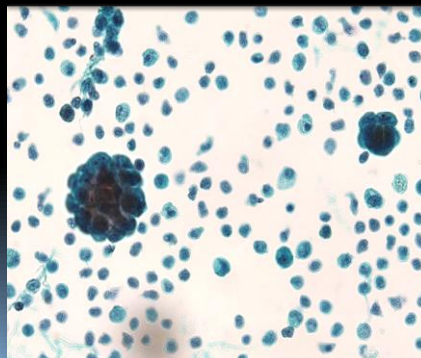
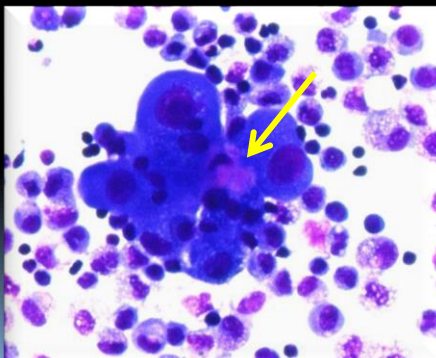
**BD SurePath™**, окраска по Папаниколау

Могут встречаться митозы, как правило, типичные. Выражен клеточный полиморфизм, однако морфология опухолевых клеток довольно монотонна. Клетки ЗМ могут достигать гигантских размеров, часто встречаются **двух-, трехъядерные и многоядерные клетки** (до 50 ядер или более). Тем не менее, клетки ЗМ сохраняют довольно низкое ЯЦО – цитоплазма обильная.



В более рыхлых скоплениях опухолевых клеток хорошо видна цитоплазма, межклеточные просветы; в плотных сферических скоплениях клетки практически не просматриваются. Встречаются также ветвистые и сосочкоподобные структуры. В центре скоплений можно обнаружить оксифильное бесструктурное вещество – коллаген.

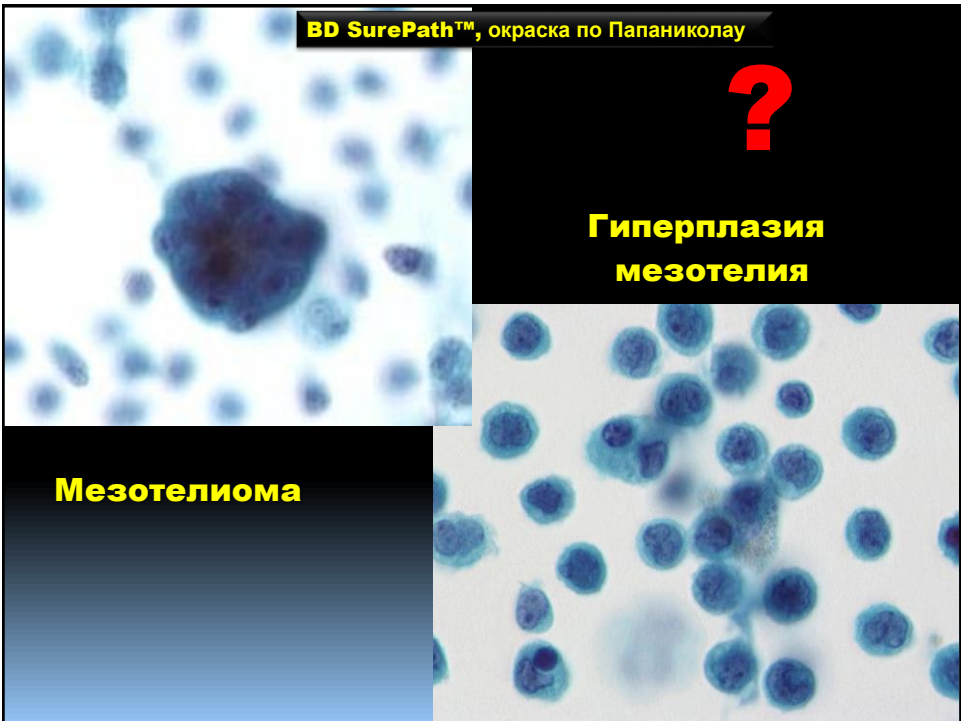
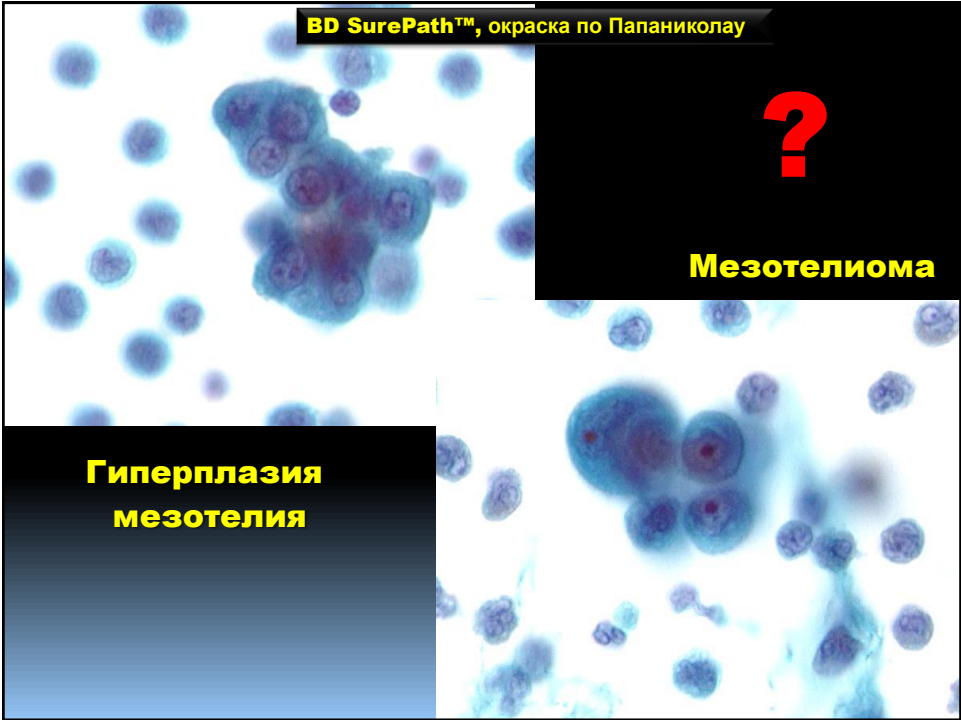
**BD SurePath™,**  
окраска по Папаниколау



### Мезотелиома и реактивный мезотелий

*Davidson B, Firat P, Michael C.W. Serous Effusion. Etiology, diagnosis, prognosis and therapy. 2012; P.94-95*

Признак	Гиперплазия мезотелия	Мезотелиома
Клеточность	Умеренная	Очень высокая
Клеточный полиморфизм	Не выражен	Выражен, до гигантских форм
Многоядерные клетки	Немного, редко >5 ядер	Многочисленные, м/б >50 ядер
ЯЦО	Сохранено	Сохранено
Кластеры	Уплощенные, чаще необъемные	Сферические, трехмерные
Взаимное расположение клеток	Равномерное, без напластывания	Клетки теснятся, напластываются
Ядерный полиморфизм	Не выражен	Выражен
Структура хроматина	Равномерная, сетчатая	От нежной до грубо-конденсированной
Ядрышки	М/б немного увеличены	Резко увеличены в размерах
Размер цитоплазмы	Умеренный	Обильная, очень плотная
Митотическая активность	Часто выраженная	Может не отмечаться



## Мезотелиома и аденокарцинома

Davidson B, Firat P, Michael C.W. Serous Effusion. Etiology, diagnosis, prognosis and therapy.2012; P.94-95

Признак	Мезотелиома	Аденокарцинома
Клеточность	Очень высокая	Разнообразная, часто высокая
Клеточная популяция	Однородная	Неоднородная
Клеточная атипия	Минимальная	Выраженная
Клеточный полиморфизм	Выражен	Клетки увеличены, полиморфизм нерезкий
ЯЦО	Низкое	Высокое
Взаимное расположение клеток	Межклеточные просветы «окошки», клетки «обнимают» друг друга, м/б аутофагия	Без просветов, м/б аутофагия
Кластеры	Сферические, в виде «морул», узловатые, типа ягод малины	Сферические, в виде гроздьев
Края клеток	Фестончатые, определяются границами цитоплазмы	Обычно гладкие, определяются границами ядра
Размер цитоплазмы	Обильная, с разделением на зоны, вакуолизирована по периферии	Редко обильная, однотонная, с вакуолями разного размера и формы
Митотическая активность	Не выражена	М/б высокой

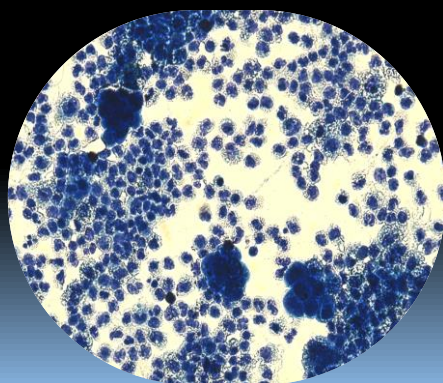
**Клиническое наблюдение:** пациентка А. , 56лет.

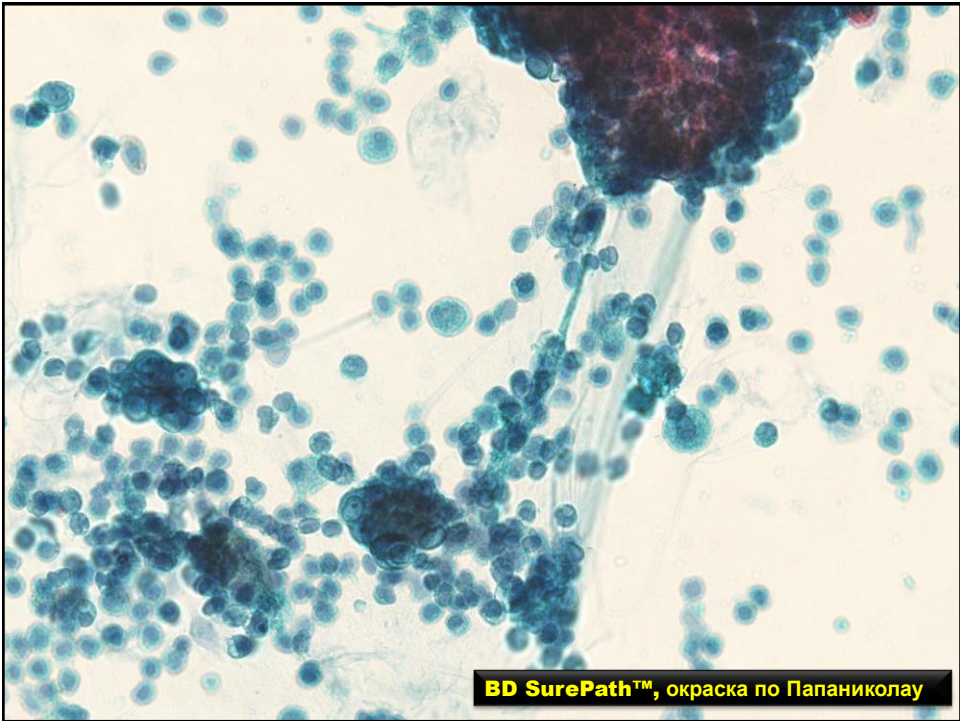
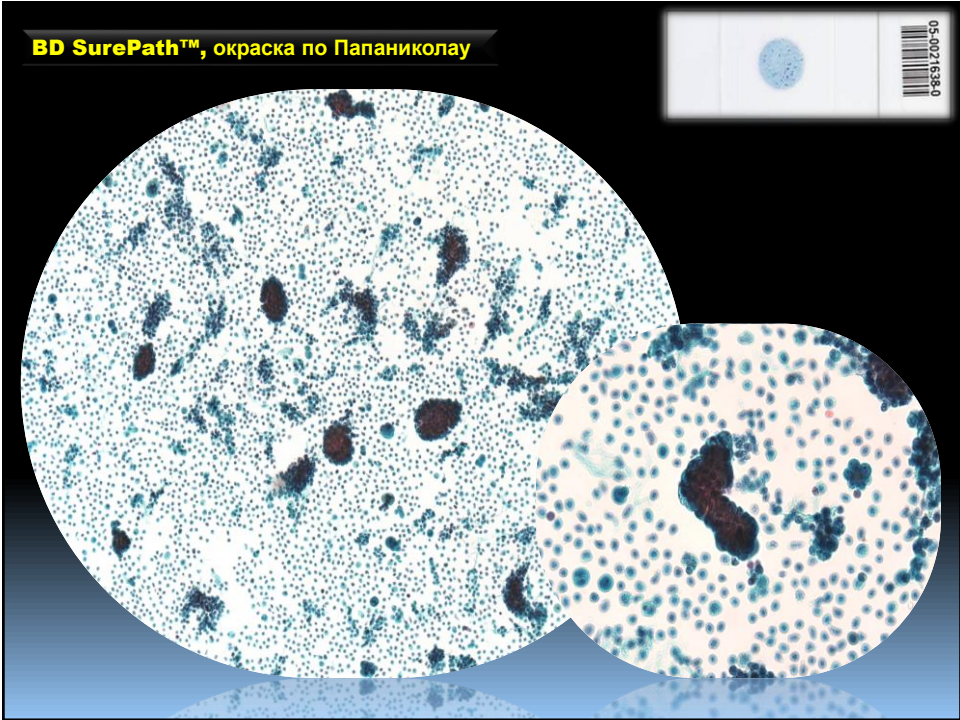
**Клинический диагноз:** мезотелиома плевры.

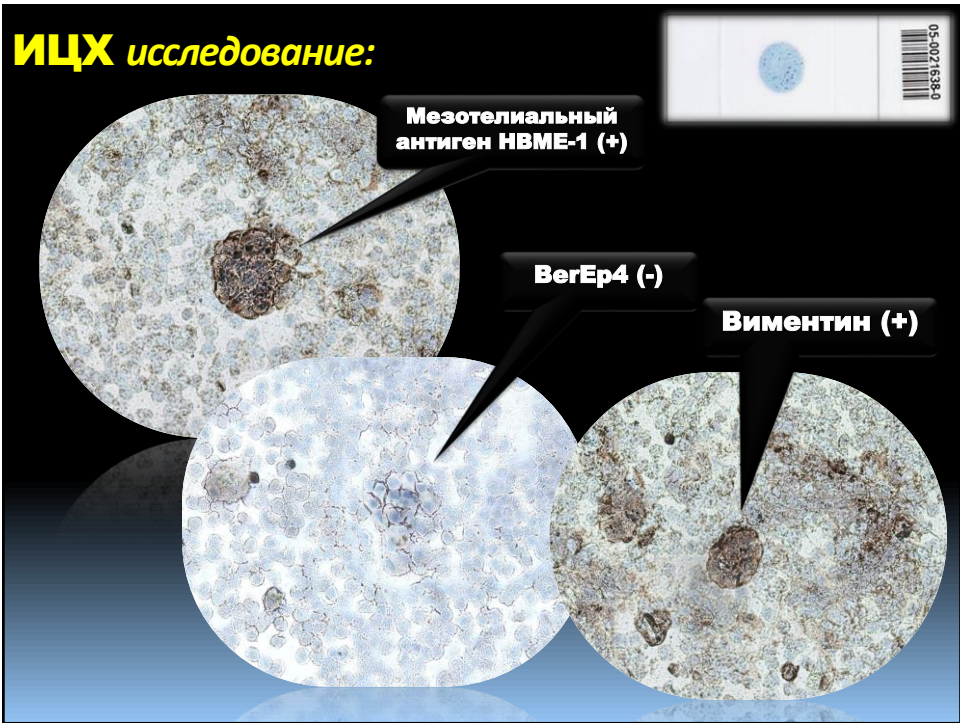
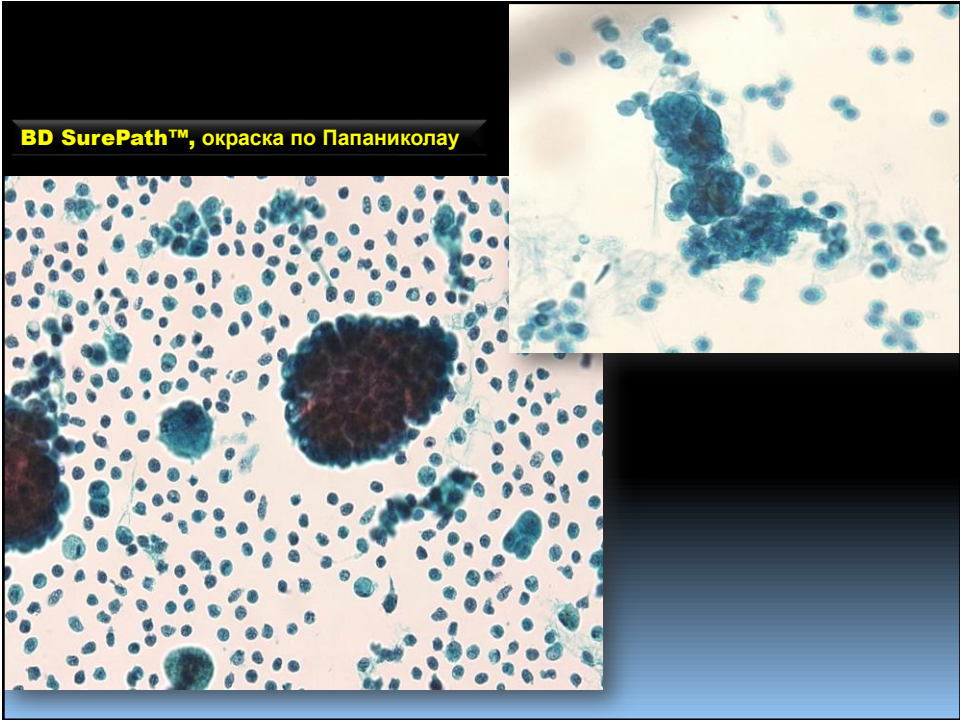
Жидкость из плевральной полости в V=300мл, осадок h=6мм.

**Цитологическое заключение:** мезотелиома злокачественная папиллярного строения.

**Традиционные мазки (окраска по Лейшману, X 400).**







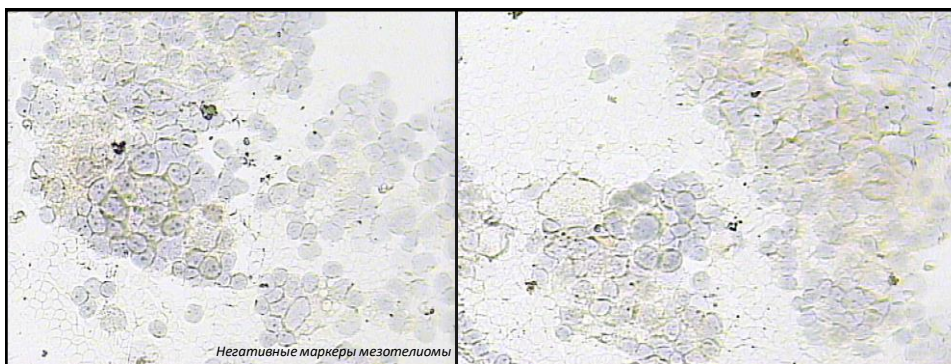
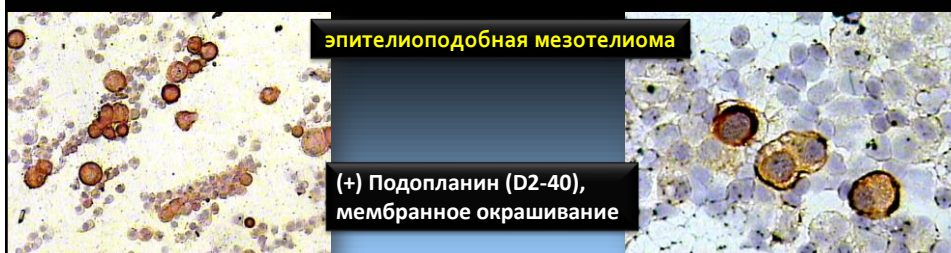
## ИЦХ/ИГХ

Маркер **Кі67 (MIB-1)** можно применять для верификации ЗМ с высокой митотической активностью, однако их использование ограничено для активно пролиферирующего мезотелия (чувствительность 17%, специфичность 91%).

*Hasteh F, Lin GY, Weidner N, Michael CW. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. Cancer Cytopathol. 2010 Apr 25;118(2):90-6*

**Десмин** – окрашивает доброкачественные клетки мезотелия, негативен в клетках мезотелиомы (чувствительность 91%, специфичность 94%),

**ЭМА** – выраженная позитивная окраска в мезотелиомах (чувствительность 100%, специфичность 94%).



Маркер	Мезотелиомы	Другие опухоли
РЭА (CEA)	Негативен (новые данные)	АК, особенно легкого и ЖКТ; ПКР
V72.3	Негативен	80% АК и ПКР
CD15 (Leu-M1)	Негативен	АК
МОС-31	До 10%	Большинство АК, до 10% ПКР
Вег-EP4	До 20%	
BG-8	До 7%	>95% АК
РАХ8	Негативен	96% чувств., 100% специф. для мезодермальных опухолей

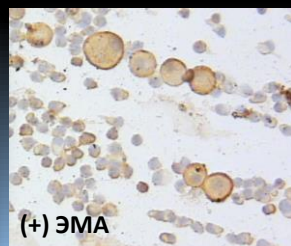
### Другие маркеры:

**PanCK** – выраженная экспрессия в клетках мезотелиомы, ПКР, АК.

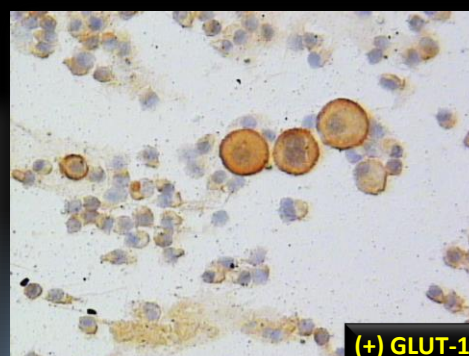
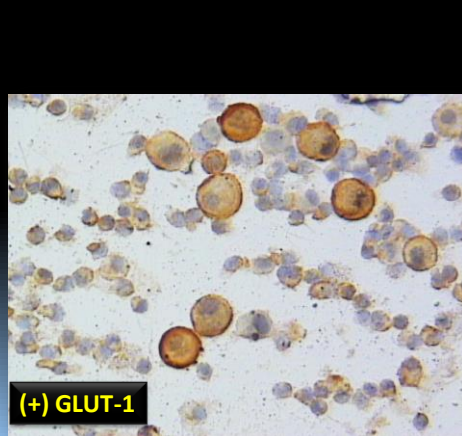
**CK 7** – выраженная экспрессия в клетках мезотелиомы и некоторых АК и только в 30% ПКР.

**CK20** – вариабельная экспрессия в клетках мезотелиомы, что следует учитывать при дифференциальной диагностике с CK20-позитивными АК (ЖКТ, уротелиальный рак).

**Кадгерины E и N** – в настоящий момент не применяются для дифференцировки ЗМ от АК, однако E-кадгерин позволяет отличить позитивно окрашенные клетки ЗМ от негативного реактивного мезотелия.

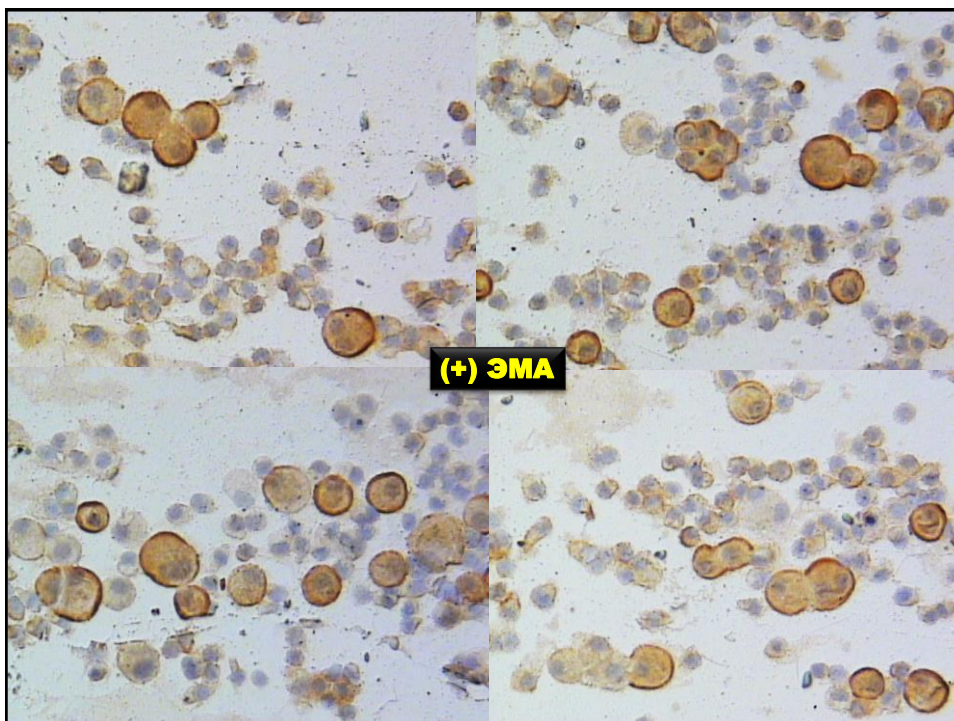


Антитело	Реактивный мезотелий, n (% полож.)	Мезотелиома, n (% полож.)
<b>Десмин</b>	34/40 (85)	6/60 (10)
<b>ЭМА</b>	8/40 (20)	48/60 (80)
<b>P53</b>	0/40 (0)	27/60 (45)
<b>GLUT-1</b>	0/80 (0)	76/85 (89)



Soad R.S. et al. Diagn. Cytopathol. 2005;32:156-159

<b>Сравнительная ИГХ оценка плевральной мезотелиомы и АК легкого</b>	
<b>Маркер</b>	<b>Значение</b>
<b>Позитивные маркеры ММ</b>	
<b>Кальретицин</b>	Очень полезный. Окраска обычно ядерно-цитоплазматическая, диффузная, выраженная. 5-10% АК легкого могут окрашиваться фокально.
<b>СК 5/6</b>	Очень полезный. 75-100% ММ. 2-19% АК легкого могут окрашиваться фокально.
<b>WT-1</b>	Очень полезный. 43-93% ядерное окрашивание в ММ. Клетки АК легкого WT-1-негативны.
<b>Подопланин (D2-40)</b>	Очень полезный. 86-100% мембранное окрашивание в ММ. До 7% АК легкого могут окрашиваться фокально.
<b>Позитивные маркеры АК легкого</b>	
<b>МОС-31</b>	Очень полезный. 95-100% АК легкого позитивны. 2-10% ММ могут окрашиваться фокально.
<b>ВG8</b>	Очень полезный. 89-100% АК легкого позитивны. 3-7% ММ могут окрашиваться фокально.
<b>РЭА</b>	Очень полезный. 50-90% АК легкого позитивны. Менее 5% ММ могут окрашиваться фокально.
<b>ВТ2.3</b>	Очень полезный. 75-85% АК легкого позитивны. Очень редко ММ могут окрашиваться фокально.
<b>Вег-EP4</b>	Очень полезный. 95-100% АК легкого выражено позитивны. До 20% ММ могут окрашиваться фокально.
<b>TTF-1</b>	Очень полезный. 70-85% АК легкого позитивны (в ядрах). В мезотелиомах не экспрессируется.
<b>CD15 (Lck-M1)</b>	Условно полезный. 50-70% АК легкого позитивны. Редкие ММ могут окрашиваться фокально.





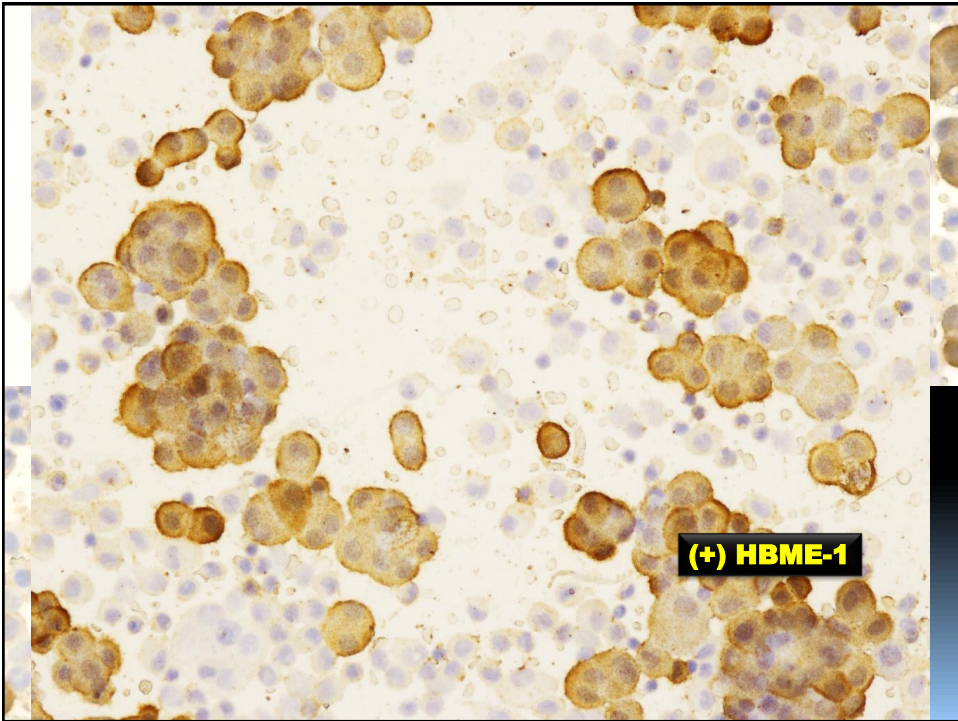
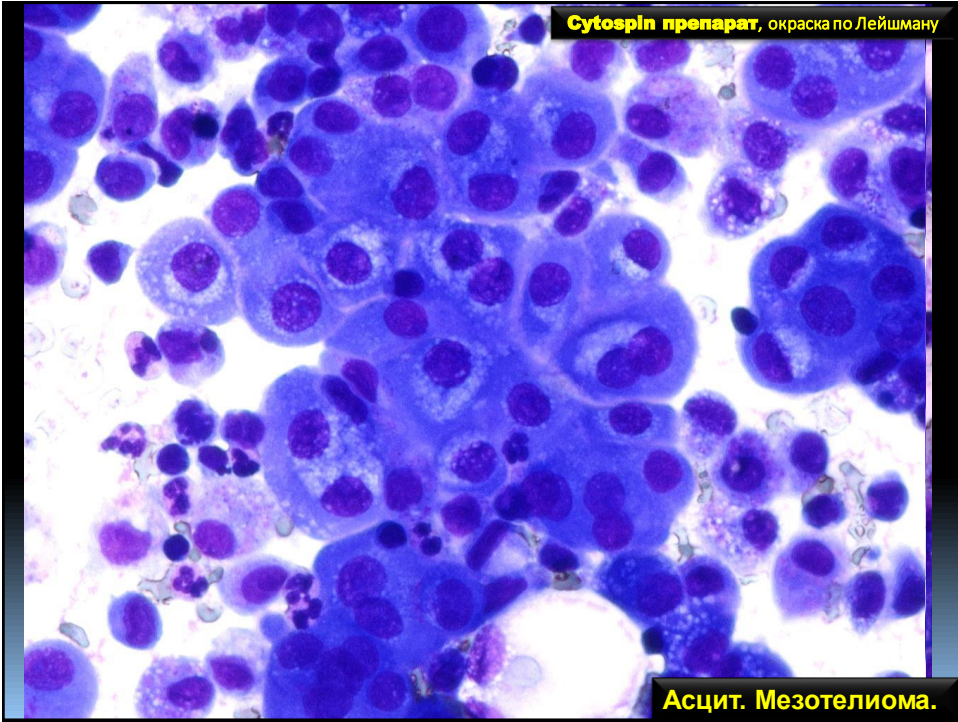
**Сравнительная ИИХ оценка перитонеальной мезотелиомы (ПММ), серозного папиллярного рака (СПР) и АК «негинекологических» локализаций**

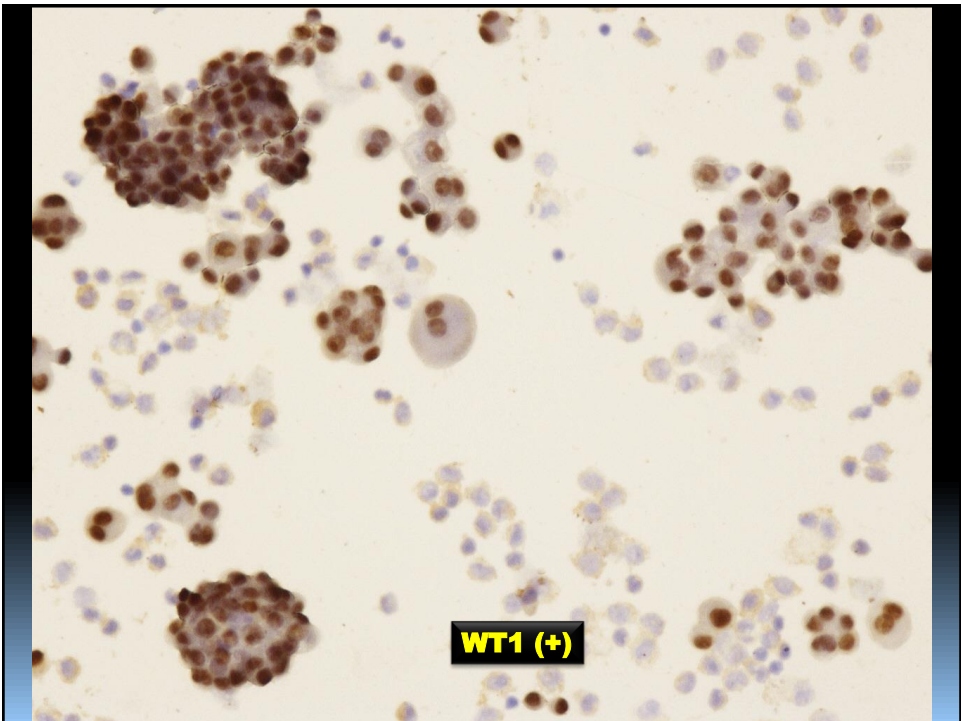
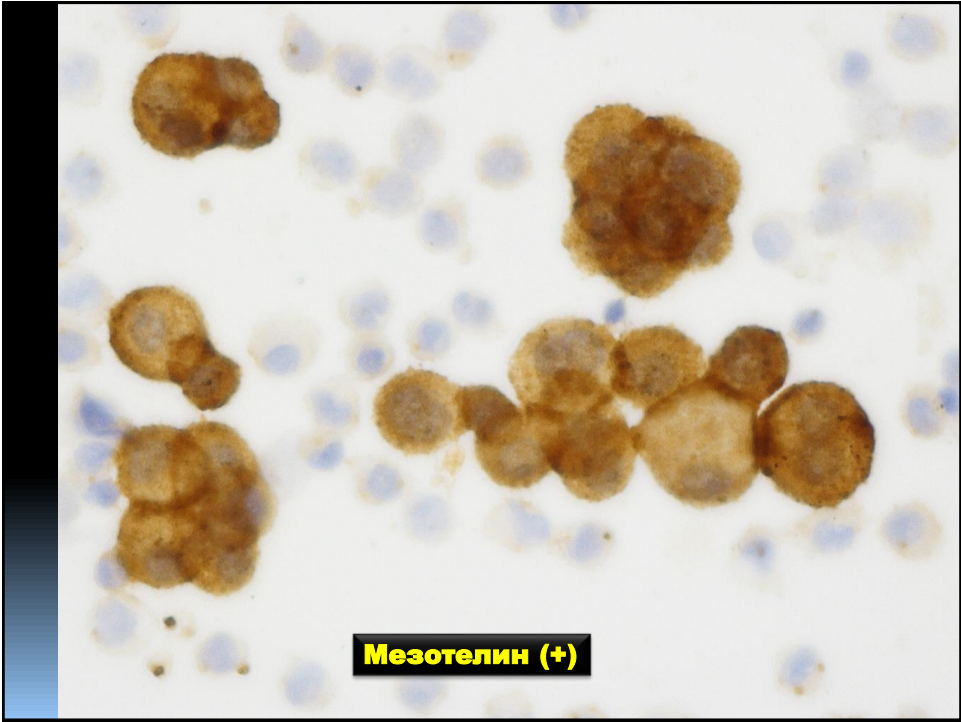
Маркер	Значение/применение
<b>Позитивные маркеры ПММ</b>	
<b>Кальретинин</b>	Полезный. 85-100% ПММ окрашиваются позитивно, однако до 38% СПР также окрашиваются позитивно.
<b>Подопланин (D2-40)</b>	Потенциально полезный. 93-96% ПММ окрашиваются позитивно, однако 13-65% СПР также окрашиваются позитивно.
<b>СК 5/6</b>	Бесполезный. 53-100% + в ПММ, однако 22-35% СПР также окрашиваются позитивно.
<b>WT-1</b>	Бесполезный. 43-93% + в ПММ, однако 89-93% СПР также окрашиваются позитивно.
<b>Маркеры СПР</b>	
<b>МОС-31</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 5% ПММ и в 98% СПР.
<b>BG8</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 3-9% ПММ и в 73% СПР.
<b>Вег-EP4</b>	Полезный. Экспрессируется в 9-13% ПММ и в 83-100% СПР.
<b>B72.3</b>	Ограниченно используемый. Экспрессируется в 0-3% ПММ и в 65-100% СПР, но во многих случаях фокально.
<b>РЭА</b>	Бесполезный. 0% ПММ и 0-45% СПР (в среднем 20%) – слишком низкая чувствительность.
<b>РЭ/ER</b>	Полезный. 60-93% СПР позитивны, ПММ негативны или редко позитивны (до 8%).
<b>РП/PR</b>	Ограниченно используемый. Чувствительность ниже, чем для РЭ, но стабильно негативен в ПММ.

**Сравнительная ИГХ оценка перитонеальной мезотелиомы (ПММ), серозного папиллярного рака (СПР) и АК «негинекологических» локализаций**

*Davidson B., Firt P., Michael CW. Serous effusions, 2012*

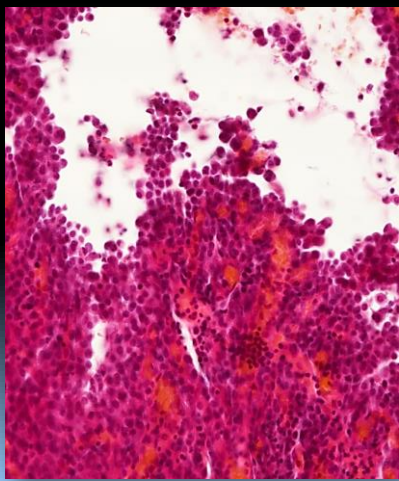
Маркер	Значение/применение
<b>Перитонеальная мезотелиома и АК других локализаций (желчные пути/печень, ПЖЖ, желудок)</b>	
<b>Кальретинин</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 85-100% ПММ, а также в 10% АК поджелудочной железы.
<b>WT-1</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 43-93% ПММ, 3% АК желудка, негативен в АК ПЖЖ.
<b>Подопланин (D2-40)</b>	Потенциально полезный. Экспрессируется в 93-96% ПММ, негативен в АК ПЖЖ и желудка (ограниченные данные).
<b>СК 5/6</b>	Бесполезный. Экспрессируется в 53-100% ПММ, а также в 38% АК ПЖЖ.
<b>МОС-31</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 5% ПММ и в 87% АК.
<b>BG8</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 3-9% ПММ и в 89% АК.
<b>РЭА</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 81% АК, негативен в ПММ.
<b>B72.3</b>	Очень полезный. Экспрессируется в 84% АК желчных протоков и в 87% АК.
<b>Вег-EP4</b>	Полезный. Экспрессируется в более чем 98% АК ПЖЖ и желудка, а также в 9-13% ПММ.

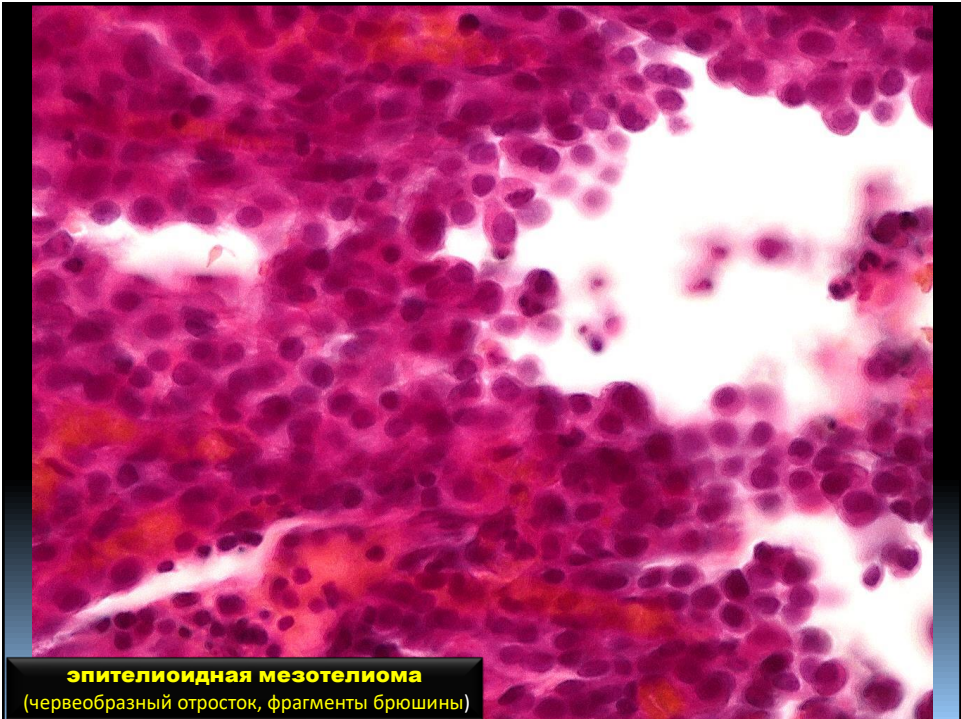
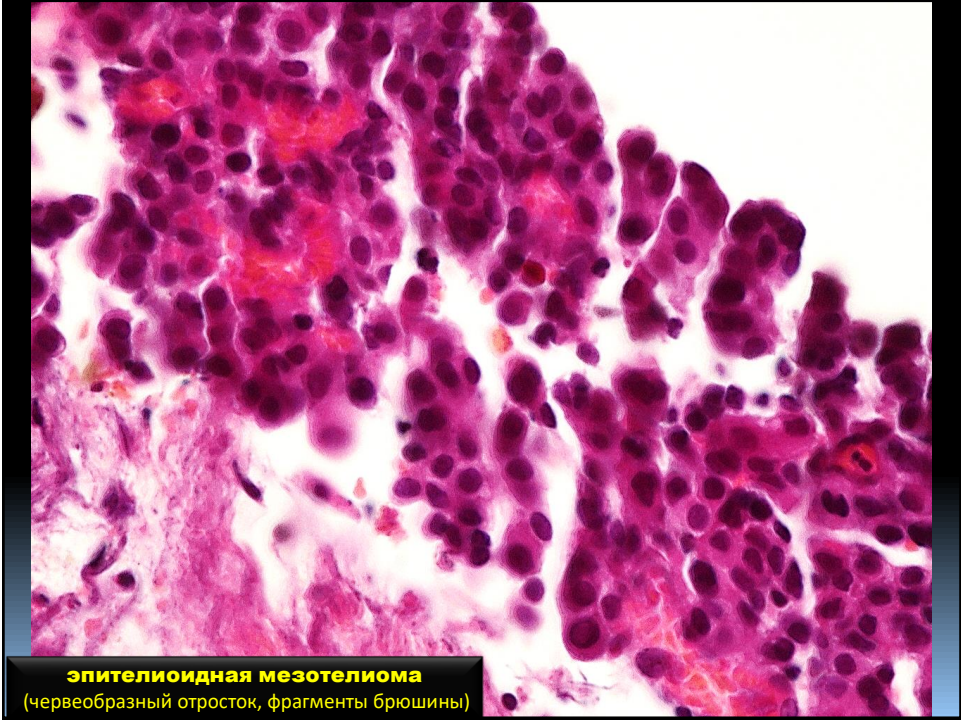




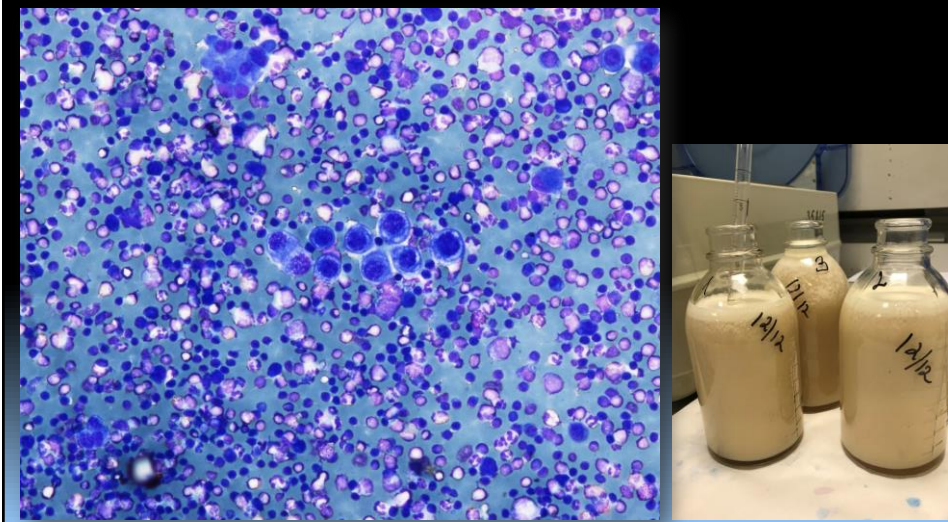


Пациентка М., 32 года  
Гистологическое заключение по  
операционному материалу  
(червеобразный отросток, фрагменты  
брюшины): **эпителиоидная  
мезотелиома.**

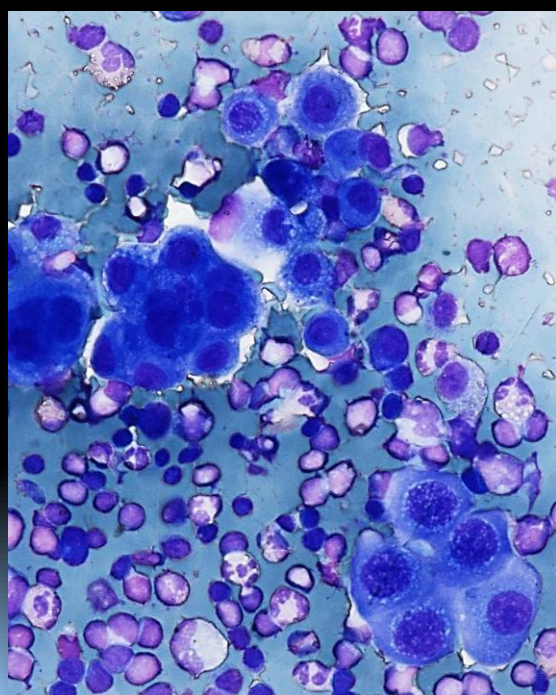




**Плеврит. Цитологическая картина** представлена многочисленными лимфоидными элементами (с преобладанием малых лимфоцитов и пролимфоцитов), отмечается наличие нейтрофилов и эозинофилов; а также клеток мезотелия, лежащих как разрозненно, так и образующих шаровидные скопления (типа "ягод малины"), в клетках отмечается зона перинуклеарного просветления, полиморфизм ядер, митозы.

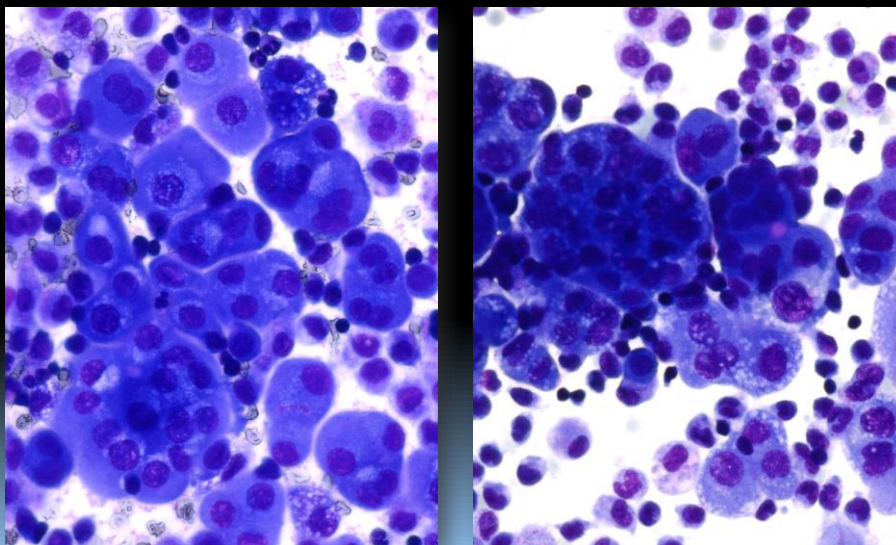


**Заключение:** найденные изменения более всего соответствуют реактивно измененному мезотелию, однако необходимо исключить и мезотелиому. Учитывая клинические данные, морфологию клеток и физические свойства выпота (хилезный выпот молочно-белого цвета) необходимо исключить травму грудного лимфатического протока.



### Асцит. Пересмотр препаратов. Цитологическая картина

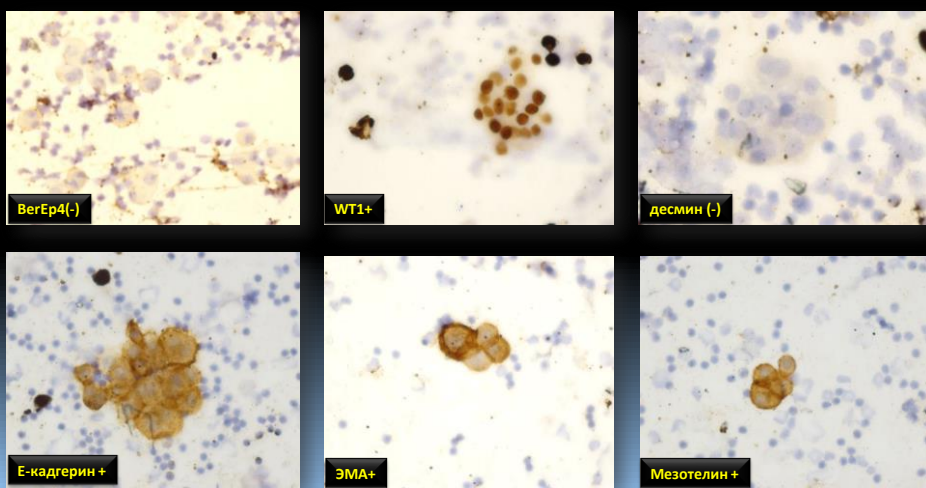
представлена многочисленными клетками мезотелия, лежащими как разрозненно, так и образующих шаровидные скопления (типа "ягод малины"), в клетках отмечается зона перинуклеарного просветления, полиморфизм ядер, митозы.



### Проведено ИЦХ исследование:

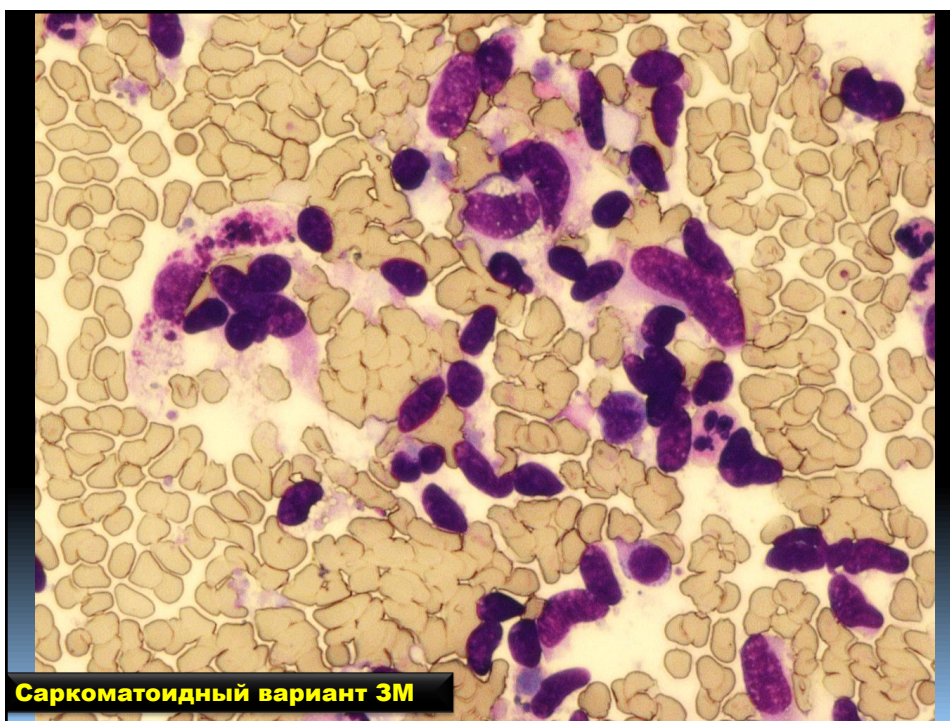
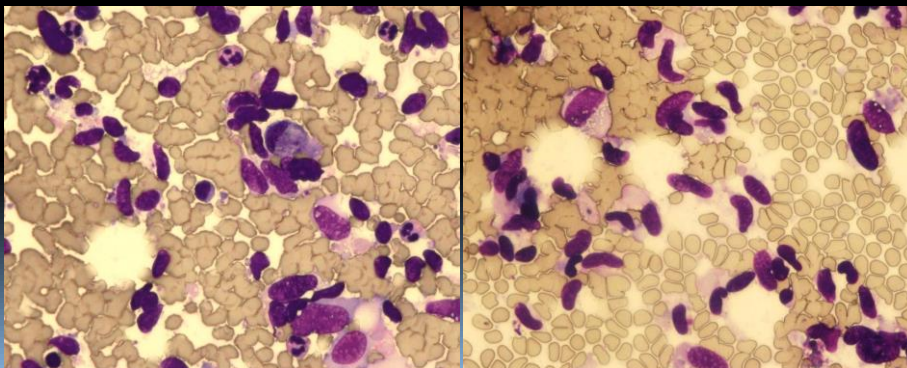
экспрессия BerEp4, десмин, кальретенин - отрицательная,  
экспрессия WT1, мезотелина, EMA, E-кадгерина - положительная.

**Заключение:** учитывая цитоморфологию и иммунофенотип клеток, цитограмма соответствует эпителиоидной мезотелиоме, злокачественной (код: 9052/3).

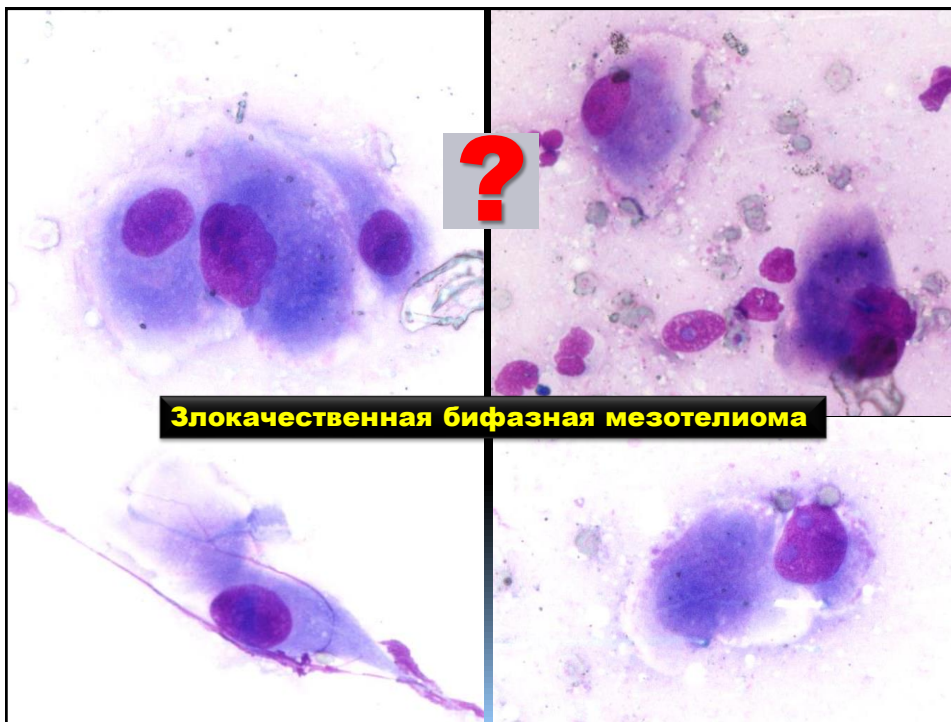


**При саркоматоидном варианте ЗМ чувствительность  
цитологического метода составляет около 20%.**

Скудное количество опухолевых клеток в выпоте может объясняться несколькими факторами: опухоль может быть покрыта плотным слоем фиброза/фибринозным компонентом; опухоль может преимущественно состоять из фиброзной стромы.



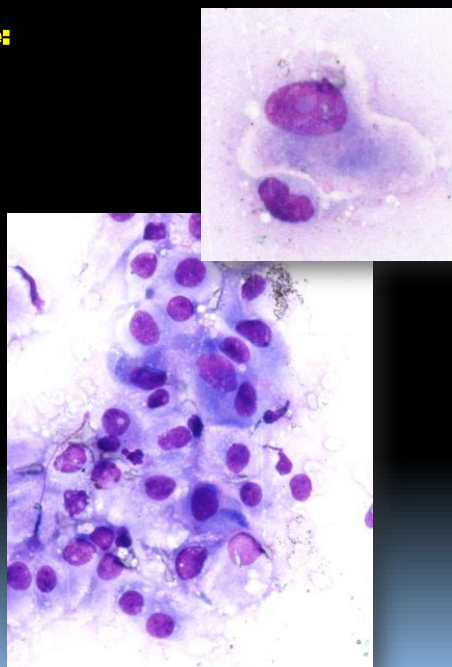


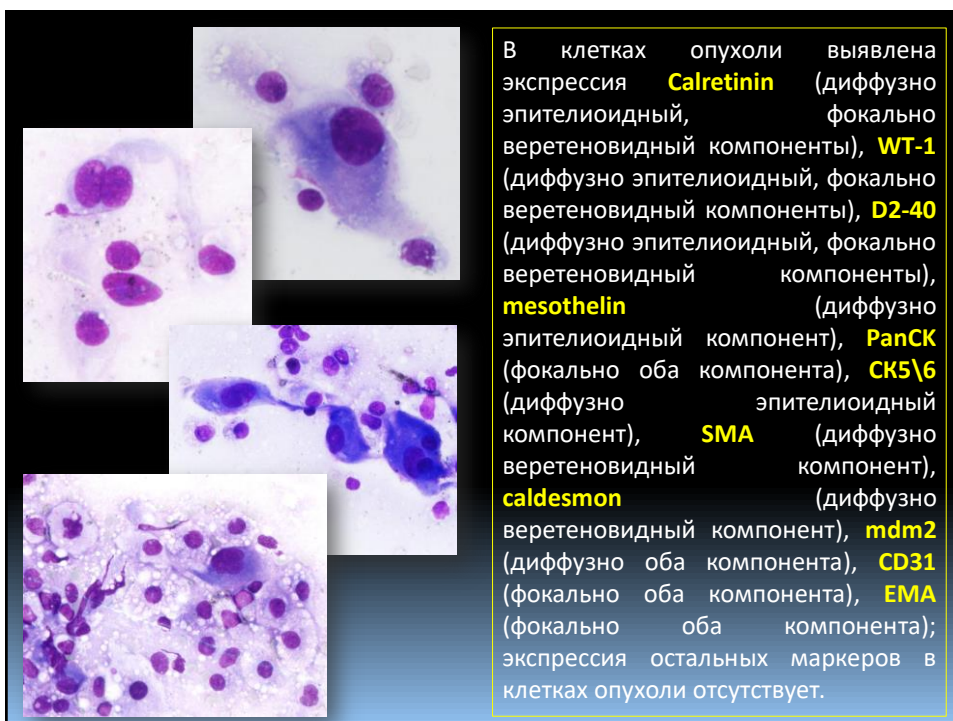
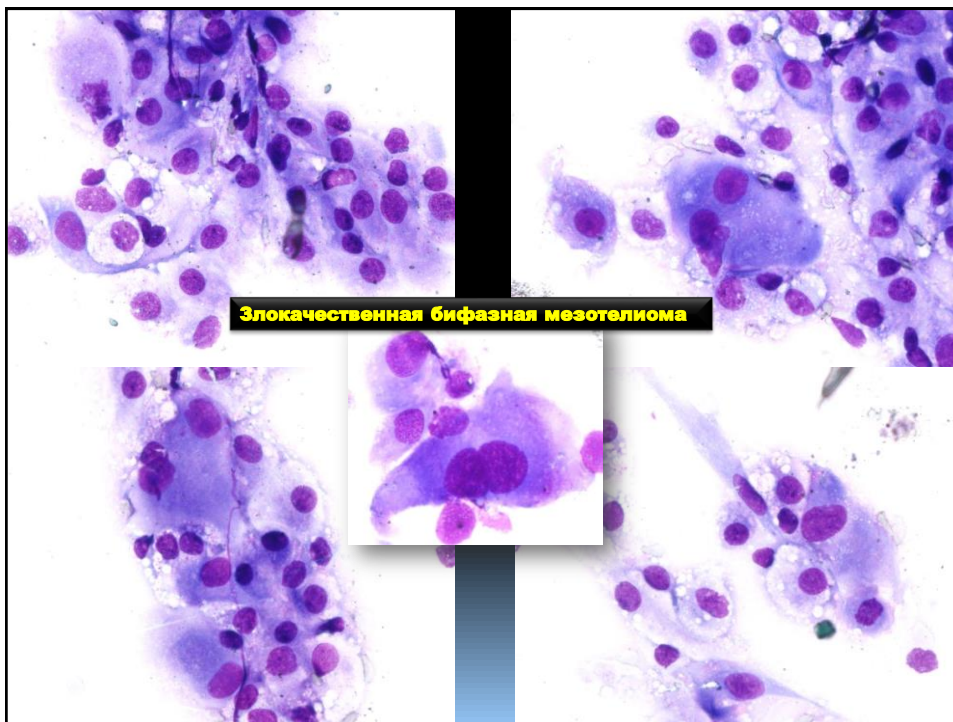


**Злокачественная бифазная мезотелиома**

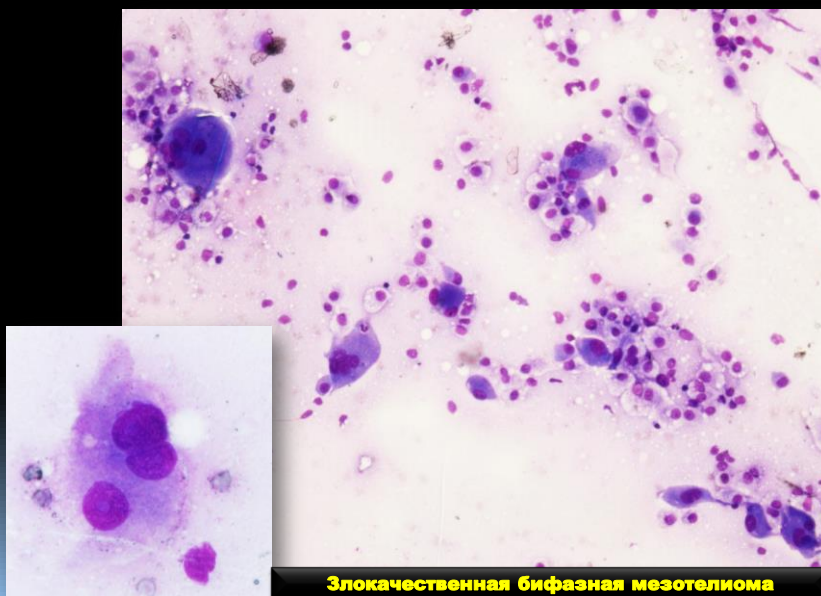
### Гистологическое заключение:

Фрагменты злокачественной веретеноклеточной опухоли мономорфного строения, растущей в виде разнонаправленных коротких пучков; митотический индекс - 14/10 РПЗ. Для уточнения гистогенеза (саркоматоидная мезотелиома? саркома?) рекомендуется ИГХ исследование. 23.12.15 С целью уточнения гистогенеза эпителиоидно-веретеноклеточной опухоли брюшины проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к Calretinin, wt-1, D2-40, mesothelin, PanCK, S-100, CD5\6, miTF, desmin, calponin, SMA, myo-D1, caldesmon, myogenin, CD 34, mdm2, CD 31, EMA.

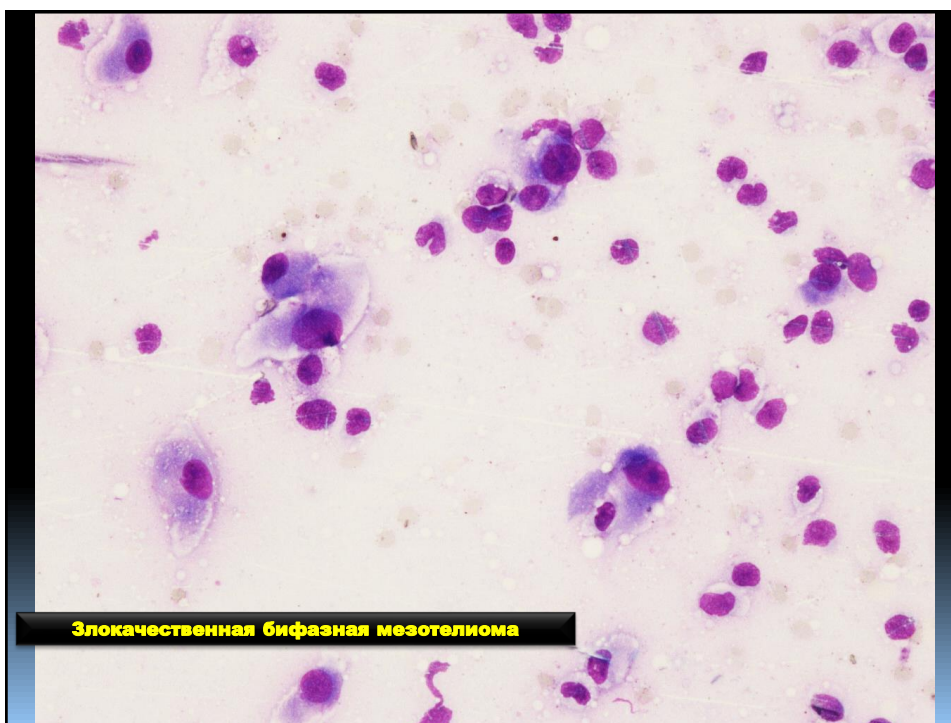




**Заключение:** иммуноморфологические признаки опухоли соответствуют **злокачественной бифазной мезотелиоме.**



**Злокачественная бифазная мезотелиома**



**Злокачественная бифазная мезотелиома**

