

ЗНАЧЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ДАЛЬНЕЙШЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ ПРИ ПАТОЛОГИИ ЦНС.



Ж.И.Вострикова

Конференция РООП «Онкоцитология»
Москва, 9-10.11.2018г

Головной мозг

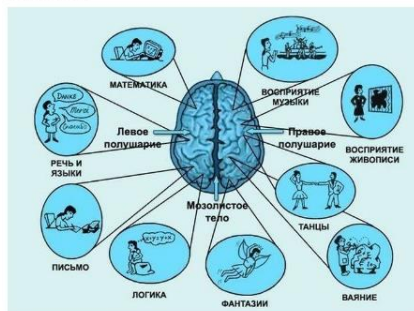


Этот орган очень важен
Мыслит, думает, подскажет



Головной мозг - основной орган нервной системы, выполняющий множество функций
Находится в полости черепа и обладает формой, которая в общих чертах соответствует внутренним очертаниям черепной полости

Мозг человека состоит из двух полушарий. Функции правого и левого полушария различаются



Опухоли центральной нервной системы (ЦНС) занимают особое место среди новообразований человека. Это обусловлено рядом обстоятельств, основным из которых является локализация патологического процесса. Беспрепятственный и часто инфильтративный рост опухолей в пределах полости черепа и позвоночного канала приводит к разрушению жизненно важных структур, что свидетельствует о клинической злокачественности всех, без исключения, новообразований ЦНС.

Опухоли этой локализации отличаются чрезвычайным разнообразием гистологических форм, что объясняется их происхождением из элементов различных тканей. Частота их по составу в целом примерно 4,5% до 8%, из общего числа первичных новообразований на их долю приходится около 9%. В детском возрасте они занимают по частоте второе место после лейкозов. Идет отчетливое увеличение данных новообразований в 1,5 раза каждое десятилетие. Более 90% новообразований диагностировано прижизненно.

В 2016г. была опубликована новая (третья) редакция **международной морфологической классификации ВОЗ опухолей ЦНС**. Несмотря на название, в классификации приведены также и опухоли периферических нервов.

Наряду с гистологической характеристикой новообразований, новая классификация, так же как и старая, подразделяет все опухоли на 4 степени злокачественности. Однако в качестве критериев, определяющих степень малигнизации, принята не длительность жизни больных после "радикальных" операций, а суммарная оценка таких гистологических признаков, как атипия ядер, клеточный полиморфизм, митотическая активность, пролиферация эндотелия сосудов и наличие очагов некрозов.

Важнейшим событием **2016** года в нейроонкологии, равно как и нейрохирургии и нейроморфологии, явился выход новой

«Классификации опухолей центральной нервной системы» ВОЗ, с наличием значимой молекулярно-генетической характеристикой или хромосомной аберрацией. (Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (Eds) :WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (Revised 4 th edition).IARC: Lyon, 2016.)

В связи с появлением новых нозологических единиц в классификации несколько изменился список новообразований с разной степенью злокачественности.

Темп, который взяли зарубежные коллеги в изучении молекулярных особенностей опухолей центральной нервной системы в последнее десятилетие, впечатляет. Будущая классификация опухолей ЦНС, вероятно, будет значимо отличаться от уже опубликованной. Во многом эти достижения связаны с внедрением методики

метиляционного профилирования ДНК с использованием Illumina Human Methylation 450 BeadChip и метода полного экзомного секвенирования.

**Все опухоли и опухолеподобные процессы ЦНС
разделены на следующие группы:**

1. Нейроэпителиальные /нейроэктодермальные
опухоли:

– до 70% от основной массы

астроцитомы, олигодендроглиомы, олигоастроцитомы, эпендимомы, глиобластомы, опухоли хориоидного сплетения, глионейрональные и смешанные, опухоли пинеальной области, прочие; эмбриональные/медуллобластомы,нейробластомы, PNET, тератома.

2. Опухоли черепно-мозговых и параспинальных
нервов:

- а) невриномы,
- б) нейрофибромы,
- в) периневромы_.

3. Из оболочек мозга (менингососудистые опухоли) :

- менингиомы.

4. Мезенхимальные :

– липомы, ангиомы, хондромы, остеомы, саркомы.

5. Первичные меланоцитарные и опухоли неизвестного
гистогенеза.

6. Опухоли хиазмально-селлярной области.

7. Лимфомы и гемопоэтические опухоли:

- а) лимфома,
- б) плазмоцитома,
- в) гранулоцитарная саркома.

8. Герминоклеточные опухоли.

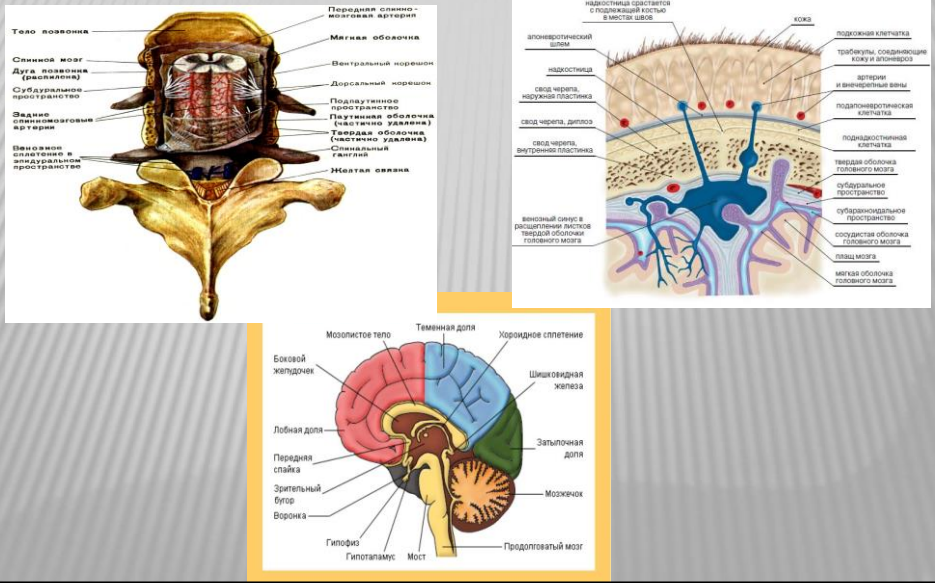
9. Метастатические опухоли.

ЗНАЧИМЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. **Диффузная (GII) и анапластическая астроцитома (GIII)** *мутация в гене IDH (ИГХ, ПЦР) позитивный прогноз;*
- ✗ 2. **Олигодендроглиома GII/GIII** – мутация в гене IDH, делеция 1p 19q (ИГХ, ПЦР) – позитивный прогноз;
- ✗ 3. **Глиобластома (GIV)** – мутация в гене IDH (ИГХ, ПЦР) – позитивный прогноз;
- ✗ 4. **Диффузная глиома средней линии (GIV)** – с мутацией K27M в гене H3 (H3F3A)(50–80% в зависимости от локализации) (ИГХ) – негативный прогноз;
- ✗ 5. **Эпендимома (GII/GIII)** – с химерой RELA (RELA-fusion-positive) (70% у детей) (L1CAM – ИГХ, ПЦР, FISH) – негативный прогноз;
- ✗ 6. **Медуллобластома (GIV)** с активацией сигнального каскада WNT (10%) (ИГХ) – позитивный прогноз; с активацией сигнального каскада SHH (30%) (ПЦР) – негативный прогноз;
- ✗ 7. **Эмбриональная опухоль с многослойными розетками (GIV)** – с повреждением гена C19MC(95%) (FISH) – негативный прогноз.

✗

АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ОБОЛОЧЕК.



Расположение новообразований по локализациям.



Получение достоверного морфологического диагноза перед нейрохирургическим вмешательством позволяет не только **определить план лечения, объем операции, но и выбрать доступ для хирургического вмешательства , а в некоторых случаях вообще отказаться от операции в пользу лучевого лечения или гормоно(химио)терапии.**

Например, в настоящее время разработаны методы нехирургического лечения первичных лимфом головного мозга (агрессивная химиотерапия препаратами, проникающими через гематоэнцефалический барьер) и лучевая терапия.

Поэтому всё актуальней становится долечевная морфологическая диагностика опухоли, где особенно велика роль цитологического метода при исследовании материала стереотаксической биопсии или аспирационной пункции тонкой иглой под контролем КТ.

Однако первые серьезные работы, посвященные диагностическим биопсиям мозга (Adams J.H., Graham D., Doyle D., 1981; Sugita K. et al., 1975), опубликованы только в 1980-х годах после появления компьютерного томографа, когда нейрохирурги получили возможность направлять биопсийную иглу непосредственно в очаг поражения под контролем прибора.

Одновременно появились работы по лечению неоперабельных глиом, для чего в ткань опухоли вводили источники короткофокусного излучения (брахитерапия) (Gleason C.A., Wise B.L., Feinstein B., 1978; Mundinger F. et al., 1980; Colombo F. et al., 1984; Lunsford L.D. et al., 1995).

Это требовало установления гистологического типа опухоли и определения ее границ. К патоморфологу были предъявлены жесткие требования верификации диагноза в предельно короткие сроки .

Именно в таких диагностических ситуациях стали очевидны все **преимущества цитоморфологического метода**, которые заключаются в его простоте и доступности. Метод мало травматичен, с его помощью возможно получение диагностически значимого материала из труднодоступных или нежелательных для открытой биопсии локализаций; также, имеется возможность срочного интраоперационного (в т.ч. неоднократного) исследования небольшого объема такого сложного рыхлого материала, как мозговая ткань - отсутствуют артефакты замораживания и травматизации, как биоматериала, так и самого пациента.

Это особенно важно, когда диагностика минимальных клинических проявлений заболевания не оправдывает травматическую диагностическую краниотомию (Munar S. et al., 1985), а объем взятого при стереотаксической пункции биоптата настолько мал, что полученные срезы бывают малоинформативны.

Самого серьезного внимания заслуживают вопросы цитоморфологической верификации всех этих опухолей, их дифференциальной диагностики и правильной интерпретации цитологических данных, особенно, в связи с широким применением в комбинированном лечении высокоэффективных химиопрепаратов и средств таргетной терапии, а также с новейшими разработками в области лучевой терапии опухолей центральной нервной системы (гамма-нож и т. п.).

Указанные выше аспекты определяют возросший интерес к изучению вопросов цитологической диагностики опухолей центральной и периферической нервной системы.

В настоящее время уже установлены основные цитогистологические параллели строения опухолей нервной системы.

Также, систематизированы типы опухолей нервной системы в зависимости от их гистогенеза, локализации и цитологических особенностей. Разработаны цитологические критерии диагностики редких опухолей нервной системы.

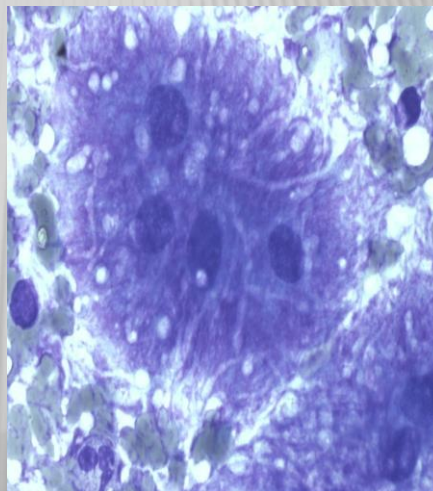
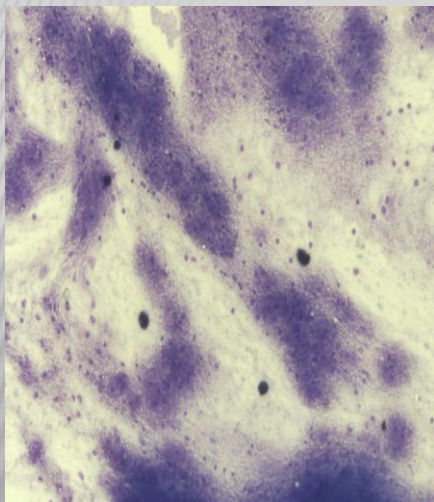
Предложена цитологическая классификация опухолей нервной системы, основанная на выявлении клеточных, структурных и функциональных особенностей различных новообразований, что позволяет унифицировать совместную работу нейрохирурга и цитопатолога.

Хочется отметить вклад коллег Балязина В.А., Шапиро Н.А., Шакунова А.Н., Батороева Ю.К. и других.

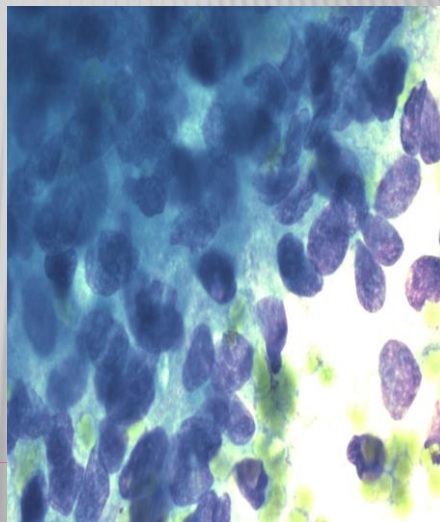
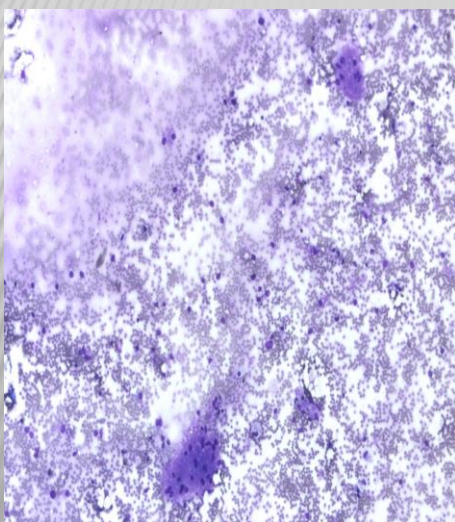
1. Установлено, что цитологические признаки опухолей адекватно и объективно отражают гистологическое строение и степень дифференцировки различных опухолей нервной системы и позволяют с большой точностью верифицировать гистологическую форму опухоли (личные исследования – до 96-98%).

2. На основании сравнительного анализа результатов цитологического и гистологического исследования установлена высокая точность, чувствительность и специфичность цитологического метода при диагностике опухолей нервной системы.

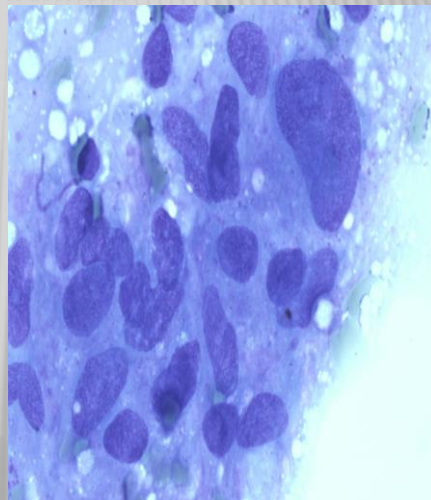
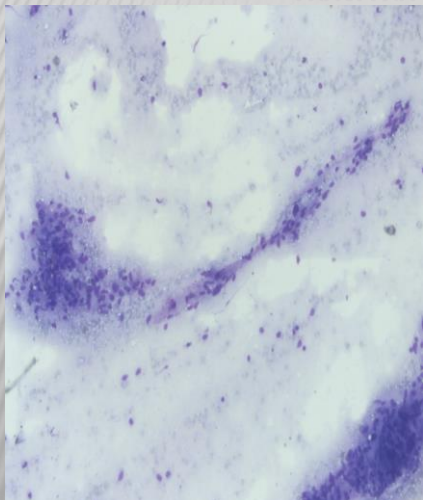
**ПАЦИЕНТ М., ЖЕН, 33Г. ОПУХОЛЬ ПРАВОГО ПОЛУШАРИЯ.
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
АСТРОЦИТОМА, ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ФИБРИЛЛЯРНАЯ.**



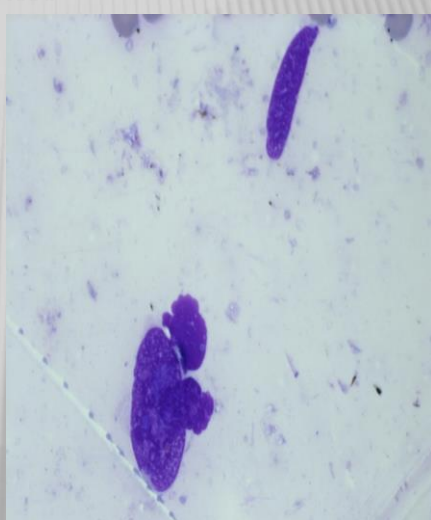
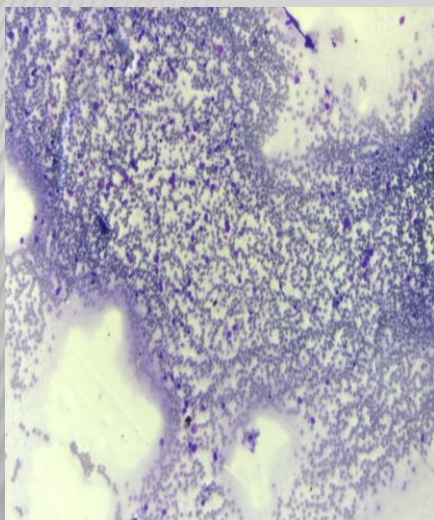
**ПАЦИЕНТ Д., ЖЕН, 65Л. ОПУХОЛЬ ПРАВОЙ ТЕМЕННОЙ
ДОЛИ.
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
АСТРОЦИТОМА ПРОТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ.**



**ПАЦИЕНТ О., МУЖ., 53Г. ОПУХОЛЬ ПРАВОЙ ЛОБНОЙ ДОЛИ
ГОЛ/МОЗГА.
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
ОЛИГОДЕНДРОГЛИОМА.**



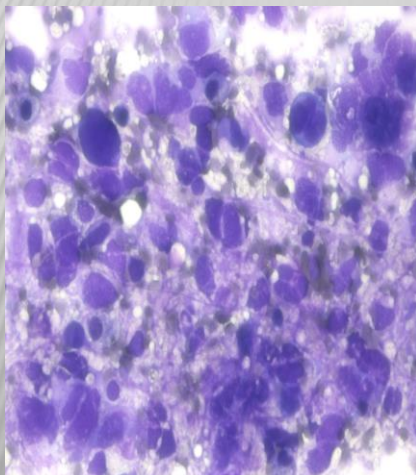
**ПАЦИЕНТ А., ЖЕН., 77Л. НОВООБРАЗОВАНИЕ ПРАВОГО
МОСТОМОЗЖЕЧКОВОГО УГЛА.
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
НЕВРИНОМА.**



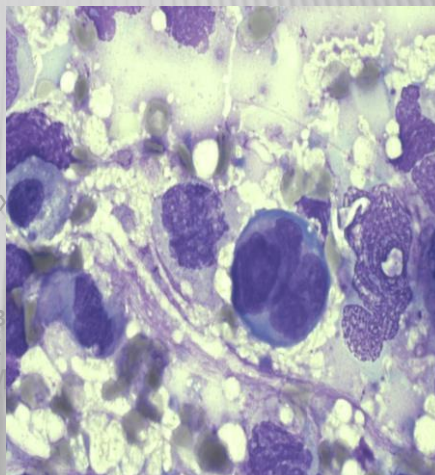
3. На основе цитологических критериев систематизированы типы опухолей центральной и периферической нервной системы в зависимости от их гистогенеза и локализации.

4. Разработан рациональный алгоритм дифференциальной цитологической диагностики опухолей центральной и периферической нервной системы, основанный на результатах цитологического, иммуноцитохимического и кариоморфометрического исследования с учетом гистогенеза опухолей.

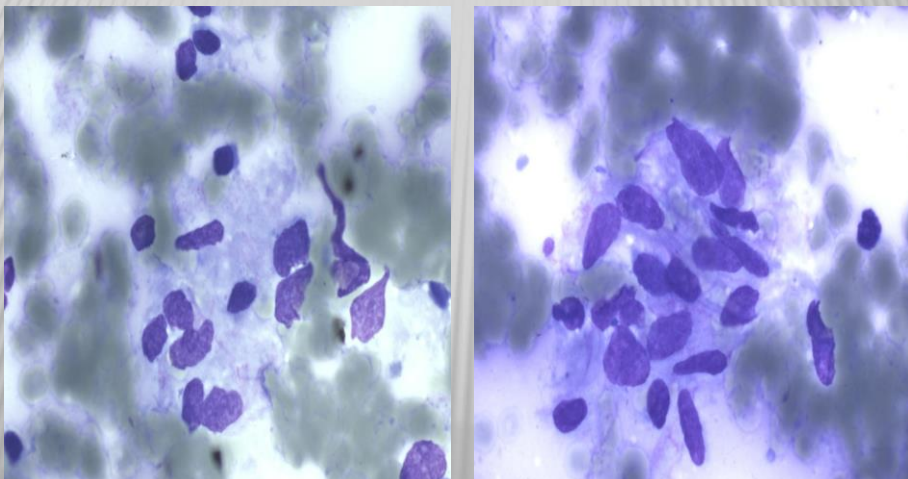
**ПАЦИЕНТ М.,Ж,49Л. ОПУХОЛЬ ТЕМЕННО-ВИСОЧНОЙ
ОБЛАСТИ СЛЕВА. ГЛИОМА?
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
ГЛИОБЛАСТОМА ПОЛИМОРФНОКЛЕТОЧНАЯ.**



М., Ж
НО-В
КОЕ
ВИМ



**ПАЦИЕНТ П., ЖЕН., 57Л. ОПУХОЛЬ ЛЕВОЙ ЛОБНОЙ ДОЛИ
Г/МОЗГА.
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ:
ГЛИОБЛАСТОМА.**



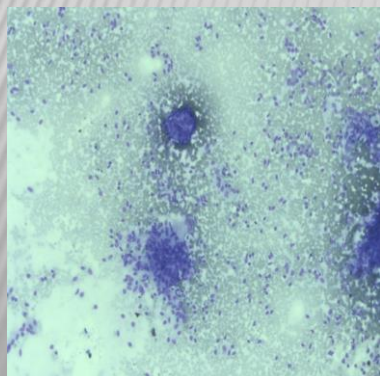
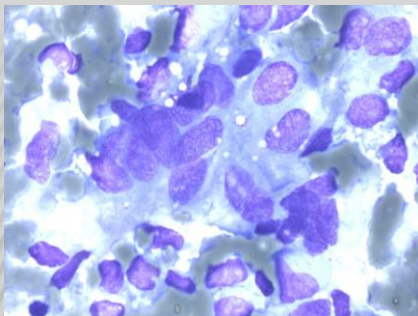
Знание точной локализации, характера роста опухоли, анамнестических данных (пол, возраст, длительность заболевания), а также учет начальных симптомов заболевания, данных инструментальных обследований – КТ, МРТ, особенно при интраоперационной диагностике, помогает ориентировать цитолога на гистогенез и вариант опухоли.

При сравнении микроскопической картины цитологических и гистологических препаратов установлено, что в мазках сохраняются признаки, отражающие как клеточный состав, так и гистоархитектонику опухолей. В них яснее и отчетливее, чем в гистологических срезах, выявляются особенности морфологии клеток опухоли (длина и количество отростков, расположение и плотность волокон, структура хроматина, присутствие ядрышек и ВЦВ) и признаки полиморфизма (атипии/анаплазии).

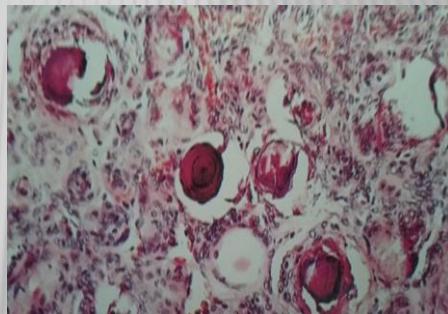
Это позволяет определять не только гистогенез и гистотип опухоли, но также и степень ее злокачественности.

Основными критериями цитологической диагностики опухолей НС являются:

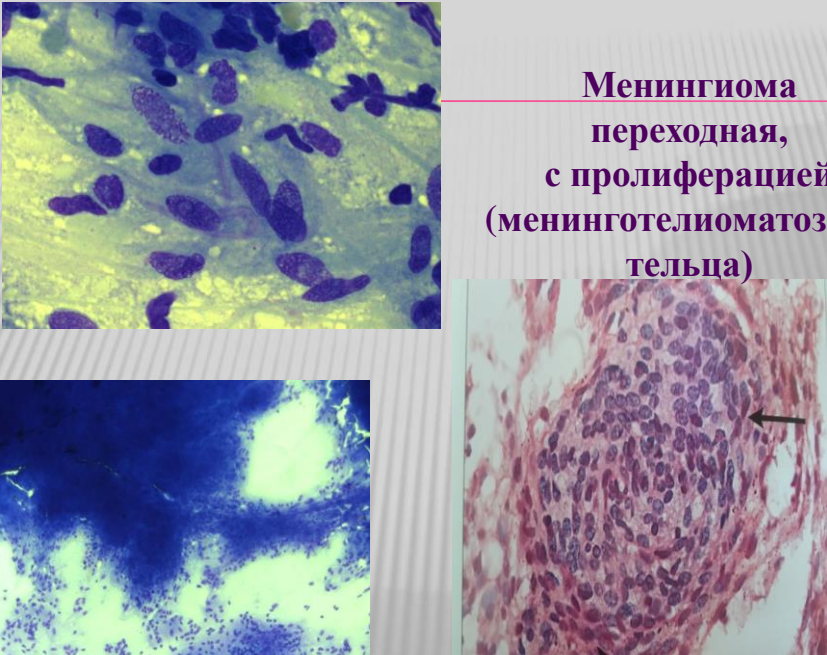
- количество клеток и характер их расположения;
- преобладающий фенотип клеток;
- характер цитоплазмы, ее отростков и ядер;
- пролиферативная активность (фигуры митозов, индекс пролиферации);
- формирование характерных тканевых структур (розетки, сосочки, псаммомы), признаки гиперплазии эндотелия и пролиферации сосудов (бифуркации, сосудистые почки, «гломерулоидные» структуры);
- признаки некроза (макрофаги, детрит);
- фон цитологического препарата (нейропиль, миелиновые волокна).



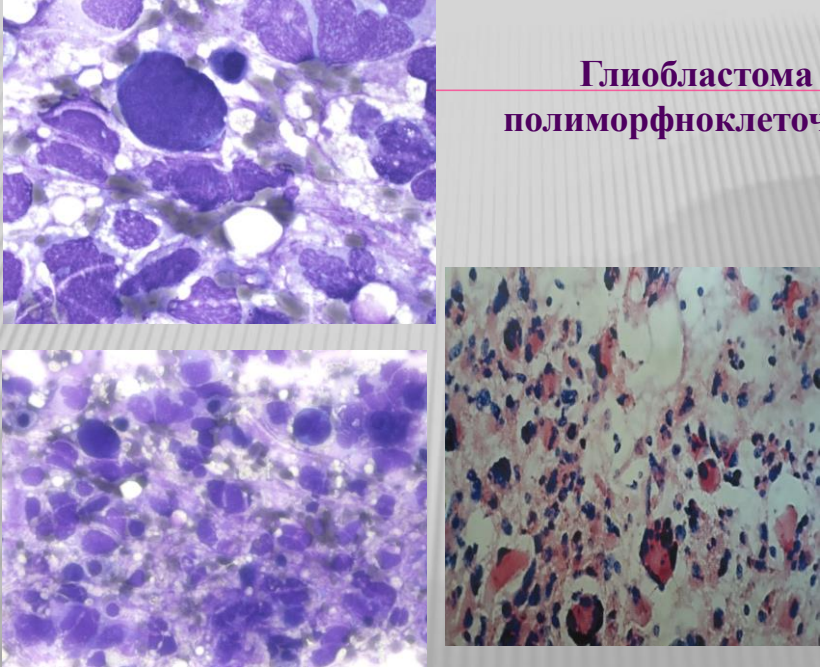
**Псаммная
менингиома
(псаммомные тельца)**



**Менингиома
переходная,
с пролиферацией
(менинготелиоматозные
тельца)**



**Глиобластома
полиморфноклеточная**



Алгоритм цитологического исследования и верификации/заключения врача-специалиста (цитолога/цитопатолога) включает в себя последовательное поэтапное решение следующих вопросов:

- **опухоль или не опухоль;**
- **определение клеточного субстрата опухоли и фенотип клеток опухоли:** астроцитарный, олигодендроглиальный, эпендимальный, нейрональный, менингеальный, нейроэндокринный, мезенхимальный и пр.;
- **определение наличия или отсутствия полиморфизма клеток и ядер;**
- **определение пролиферативной активности – количество митозов, индекс пролиферации;**

- **поиск признаков гиперплазии сосудов и пролиферации эндотелия, характеризующихся появлением «гломерулоидных» клубков сосудов;**
- **поиск признаков некроза, которые могут проявляться наличием некротических масс (абсолютный признак) и макрофагов;**
- **кариоморфометрия;**
- **иммунофенотипирование.**

Диагностически значимые для морфологической диагностики опухолей ЦНС структурные признаки, определяющиеся при цитологическом исследовании:

- 1) **розетки** (нейробластома, медуллобластома, эпендимома);
- 2) **сосочки** (эпендимома, опухоли хориоидного сплетения);
- 3) **концентрические менинготелиоматозные тельца** (менингиома);
- 4) **псаммомы** (опухоли хориоидного сплетения, менингиома);
- 5) нормальные и пролиферирующие **сосуды** (астроцитомы, глиобластома, менингиома, сосудистая мальформация).

Однако, и у цитологического метода есть ограничения, и поэтому гистологический метод имеет определенные преимущества перед ним, которые проявляются в возможностях:

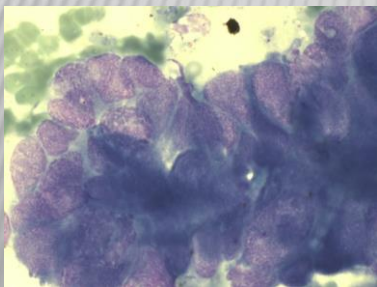
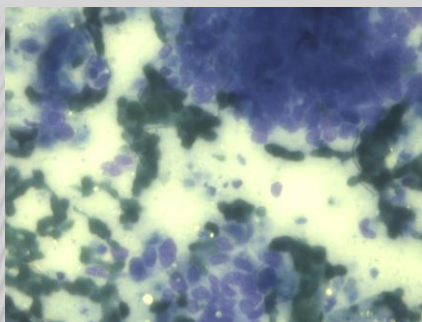
- оценки типа некрозов («географический», характерный только для опухоли, или ишемический);
- выявления особенностей гистоархитектоники – наличия или отсутствия сосочковых и «ангиоцентрических» структур, периваскулярного типа строения, инвазии капсулы, клеточного типа и глубины инфильтратов;
- стандартизованной оценки пролиферативной активности (подсчет митотического индекса и индекса мечения (labeling index)).

Преимущество цитологического метода при диагностике опухолей ЦНС:

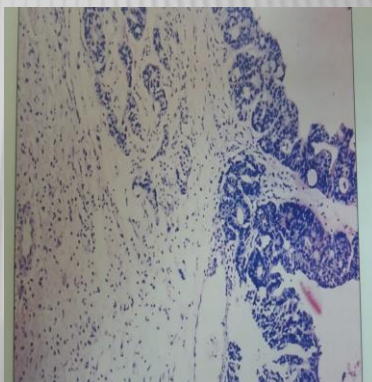
- а) возможность исследования **минимального объема** биопсированного материала, даже очень рыхлой консистенции, особенно при получении из функционально значимых структур ЦНС;
- б) **дооперационное** исследования материала, полученного при еще более щадящей, чем биопсия процедуре – тонкоигольной аспирационной пункции патологического очага (иногда и неоднократной);
- в) предельно **короткие сроки** окраски материала, в зависимости от методики – от 15–20 секунд до 2–3 мин.;

- г) **качество** окрашенных цитологических препаратов, полученных во время интраоперационного исследования не уступает препаратам для планового исследования;
- д) в сравнении с экспресс-морфологическим исследованием замороженных срезов опухолей ЦНС позволяет лучше рассмотреть детали ядра и клетки, что делает возможным **более точно** установить диагноз во время интраоперационного исследования некоторых нозологических форм (лимфомы ЦНС, глиомы, метастатические опухоли).

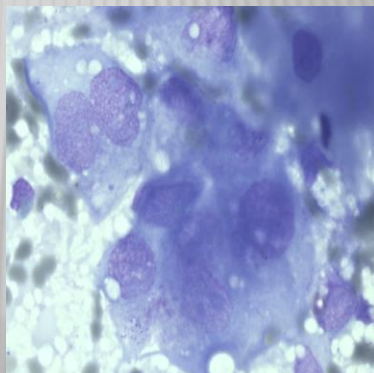
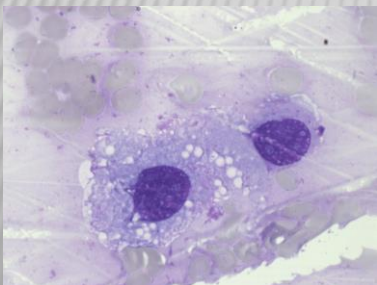
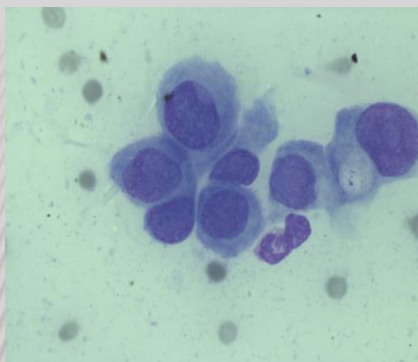
е) на полученных цитологических мазках возможно проведение всех типов **дополнительных** морфологических исследований (ИЦХ, РИФЦ), включая и молекулярно-биологические.



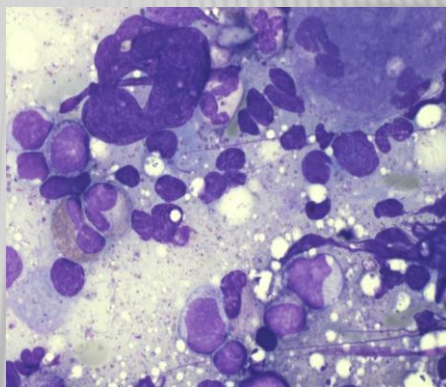
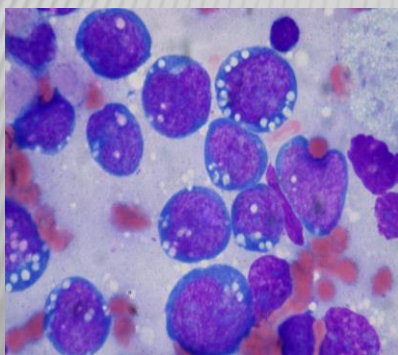
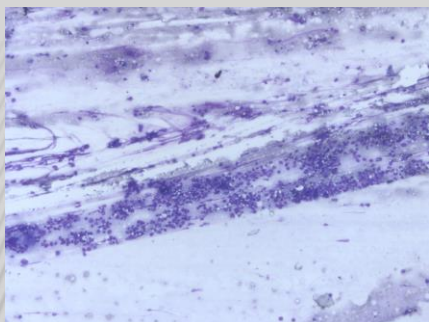
**Метастаз
аденокарциномы
кишечного типа.
Анамнез:
колоректальный рак.**

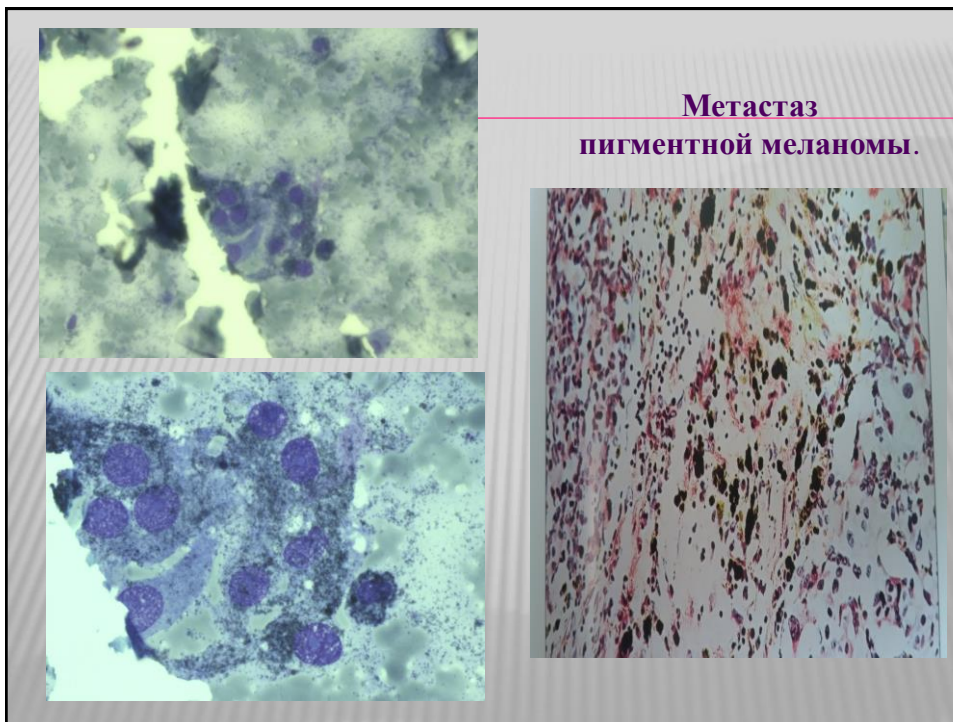


**Метастаз
G2 аденокарциномы.**



Лимфома. МТС в L4





В цитологической лаборатории ФГБУ «РНИОИ» за период наблюдения и диагностики 1,5г, было проведено более 600 исследований с разной патологией и нозологией новообразований ЦНС. Показатель специфичности метода в нашей работе, совместно с отделением НЕЙРООНКОЛОГИИ, составил в среднем 92,5 %, чувствительности/верификация – 96-98%.

**ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ОПУХОЛИ,
УСТАНОВЛЕННАЯ ОПЫТНЫМ ЦИТОПАТОЛОГОМ,
НЕРЕДКО ПРИРАВНИВАЕТСЯ К
ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКОМУ ДИАГНОЗУ. ВЫСОКАЯ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ЦИТОЛОГА
(ВРАЧА КЛД) ЗАКЛЮЧАЕТСЯ НЕ ТОЛЬКО ВО
ВСЕСТОРОННЕМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИССЛЕДОВАНИЯ, НО, ЧТО НЕ
МЕНЕЕ ВАЖНО, С УЧЕТОМ ОГРАНИЧЕНИЙ
ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА. МЕТОДИКИ
ДОПОЛНЯЮТ ДРУГ ДРУГА, И ЛУЧШЕ ОБА МЕТОДА
ИСПОЛЬЗОВАТЬ ПАРАЛЛЕЛЬНО. НО, ЕСЛИ ДИАГНОЗ
ОСНОВАН НА СТРУКТУРЕ ОЧАГА ПОРАЖЕНИЯ, ТО
БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВНЫ ЗАМОРОЖЕННЫЕ СРЕЗЫ.
ВО ВСЕХ ОСТАЛЬНЫХ СЛУЧАЯХ – ПРЕИМУЩЕСТВО
У ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА. ЧЕМ ВЫШЕ
УРОВЕНЬ ПОДГОТОВКИ СПЕЦИАЛИСТА, ТЕМ НИЖЕ
СУБЪЕКТИВИЗМ ДИАГНОСТИКИ.**

