




Григорук Ольга Григорьевна

**ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ
ДИАГНОСТИКА ПЛЕВРАЛЬНЫХ
ВЫПОТОВ**

Алтайский филиал ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Барнаул
E-mail: cytolakod@rambler.ru

XXVIII Национальный Конгресс по болезням органов дыхания
16-19 октября 2018 г., Москва

Актуальность

- ❖ Известно более 50 этиологических факторов, ведущих к появлению жидкости в одной или обеих плевральных полостях.
- ❖ Плевральный выпот отмечается у 5-10 % больных терапевтического профиля:
 - параневмонический плеврит отмечается у 40 %,
 - туберкулезной этиологии – более 30 %
 - в 20% случаев причина развития выпота остается неясной.
- ❖ У хирургических больных развитие плеврального выпота отмечается в 10-20 % наблюдений.

Диагностика плеврального выпота:

- 1. данные анамнеза;**
- 2. особенности клинического течения;**
- 3. основной метод - рентгенологический, который обогатился компьютерными и ультразвуковыми исследованиями;**
- 4. лабораторные исследования;**
- 5. плевральная пункция с микроскопическим исследованием ее содержимого имеет чрезвычайно важное значение в определении природы экссудата, является решающим диагностическим методом.**

Заболевание плевры выявляют в среднем через 2 недели после обращения больного за медицинской помощью. Верифицируют причину плеврита и назначают адекватное лечение в среднем через 1,5 - 3 месяца от начала заболевания.

Жалобы больного:

- ❖ **на боли в грудной клетке (боль всегда говорит о поражении париетальной плевры, и чаще всего при экссудативных плевритах)**
- ❖ **сухой непродуктивный кашель. Считается, что накопление жидкости приводит к сближению бронхов, сдавлению их и естественно к раздражению, то есть к кашлю. Сухой кашель может быть проявлением основного заболевания.**
- ❖ **одышка - основной симптом выпота в плевральную полость. Накопление жидкости в плевральной полости ведет к развитию дыхательной недостаточности, основным проявлением которой является одышка.**



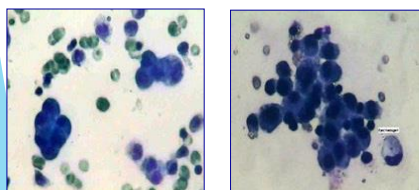
Диагностический поиск при дифференциальной диагностике включает следующие 3 этапа:

- 1. Первый этап - установление факта наличия жидкости в плевральной полости.**
- 2. При установлении характера плеврального выпота - транссудат или экссудат. Если это транссудат - то необходимо лечить основное заболевание и тогда транссудат рассасывается. Если вы установили что это экссудат (поражение плевры), то необходимо установить причину появления экссудата.**
- 3. Установление причины экссудата.**

Однако, несмотря на большие достижения в диагностике, до настоящего времени этот раздел остается одним из наиболее сложных разделов клинической цитопатологии.

Трудности цитологической диагностики

Трудности объективного характера при световой микроскопии не позволяют в ряде наблюдений судить об истинной природе клеток экссудата – идентификации клеток опухоли и их отличия от пролиферирующих мезотелиоцитов реактивной природы.



К субъективным трудностям следует отнести знания и опыт врача клинической лабораторной диагностики, а также заинтересованность в результате исследования всего медицинского персонала лаборатории.



При проведении цитологической диагностики врачу-цитологу необходима:

- ❖ полная клиническая информация о больном;
- ❖ предварительный клинический диагноз;
- ❖ из какой полости и в каком объеме получен выпот;
- ❖ интервалы между пункциями, если эвакуация жидкости проводилась неоднократно.
- ❖ О характере патологического процесса можно судить после изучения всех имеющихся препаратов, учитывая все цитологические признаки клеточных элементов, нередко с учетом динамики изменений в количественном и качественном соотношении.

Макроскопия плевральной жидкости:

- ❖ **Серозная** жидкость чаще всего прозрачная желтоватого цвета. Иногда она мутная, при этом на дне просматриваются сгустки фибрина (серозно-фибринозная) или рыхлый сероватый осадок (серозно-гнойная).
- ❖ **Геморрагический экссудат** - мутная, красноватого или буровато-коричневого цвета жидкость в зависимости от количества эритроцитов.
- ❖ **Хилезный экссудат** – молочного цвета мутная жидкость, содержащая во взвешенном состоянии мельчайшие жировые капли.
- ❖ **Хилусоподобная жидкость** напоминает хилезную, отличается от нее содержанием жира - перерожденных клеток.
- ❖ **Холестериновые** экссудаты также мутные бело-желтоватого или шоколадного оттенка, отличающиеся резко опалесцирующим видом, который обеспечивают блестящие хлопья кристаллов холестерина.

Цитологическое заключение строится на оценке клеточного состава плевральной жидкости с учетом всех имеющихся клинических и лабораторных данных о пациенте.

Мезотелий:

- ❖ Серозные оболочки представлены сложно построенными соединительнотканными мембранами, выстланными одним слоем **мезотелиальных** клеток, расположенных на базальной мембране.
- ❖ Мезотелий – высокоспециализированная ткань, развившаяся из **мезодермальных** листков первичной полости – целома.

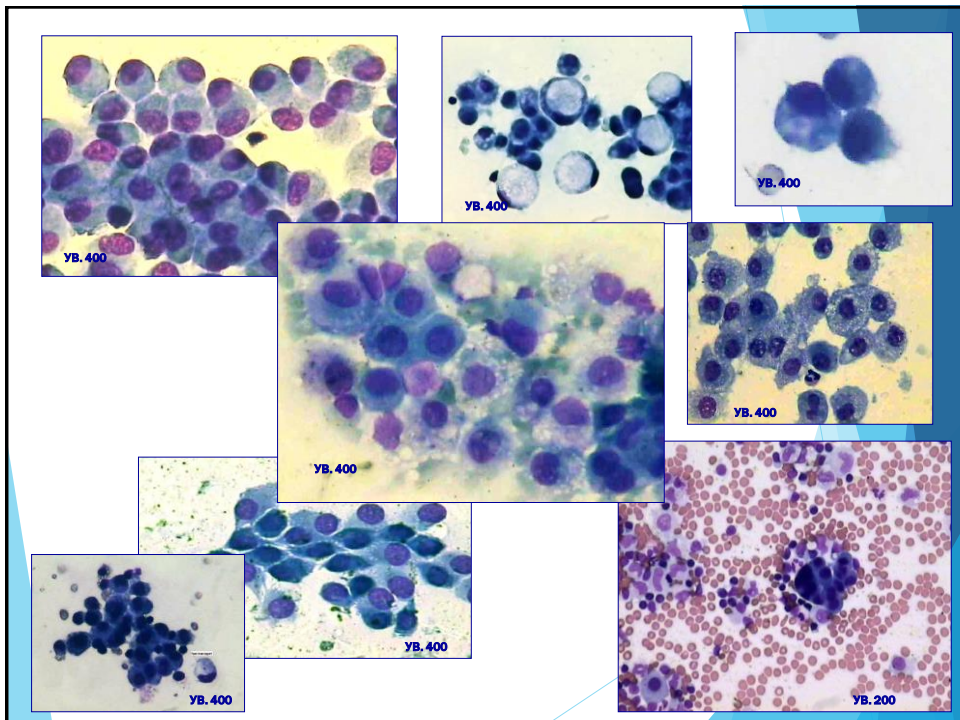
В морфологическом отношении мезотелий отождествляется с однослойным плоским эпителием.

По своей площади серозная оболочка во много раз превосходит площадь кожи, хотя общепринято, что последняя является самым большим органом человеческого организма.

Мезотелиальные клетки выстилают внутреннюю поверхность серозного покрова полости, которые при патологических процессах в разных количествах обнаруживаются в экссудате.

Мезотелиоциты

- ❖ Для мезотелиального покрова характерна **чрезвычайно высокая реактивность**, мезотелий обладает повышенной чувствительностью к различным повреждающим агентам.
- ❖ **Мезотелиоциты** в пласте округляются, теряют связь друг с другом и слущиваются в полость, а на их месте наблюдаются активно делящиеся элементы.
- ❖ Этим можно объяснить **значительное разнообразие** по виду клеток мезотелия в зависимости от времени пребывания в выпоте.



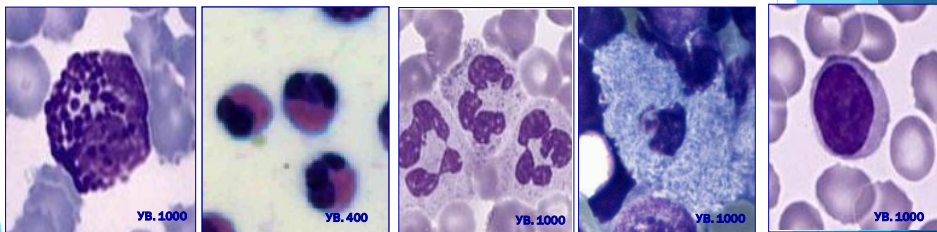
В тех наблюдениях, в которых мезотелиальные клетки имеют выраженные признаки пролиферации и явления некоторой атипии, провести дифференциальную диагностику с первичной или метастатической злокачественной опухолью весьма сложно.

Возникает вопрос:



- ❖ **Пролиферирующий мезотелий или опухолевые клетки**
- ❖ **Опухолевые клетки первичного или метастатического образования**
- ❖ **Если метастаз – то откуда?**

В плевральной жидкости всегда присутствуют иммунокомпетентные клетки в разных количествах в зависимости от патологического процесса.



Базофил

Эозинофил

Нейтрофил

Макрофаг

Лимфоцит

Неопухолевые плевральные выпоты

Все НЕОПУХОЛЕВЫЕ плевральные выпоты можно разделить на:

- ❖ **инфекционные, т.е. связанные с инвазией плевры возбудителями инфекции или аллергической реакцией плевры на субплеврально локализирующуюся инфекцию**
- ❖ **и неинфекционные, или асептические, при которых воспалительный процесс на плевре возникает без непосредственного участия патогенных микроорганизмов.**

В результате клинической верификации диагноза больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости все пациенты с неопухолевым плевритом можно распределить на 5 групп



I. Плевриты реактивного характера наблюдаются у пациентов, у которых комплексное обследование больных позволило исключить неопластический процесс легких и других органов.

Плевриты реактивного и воспалительного характера отмечаются в 75 – 80 % всех исследований плевральных жидкостей.

Причины развития плевритов разнообразны:

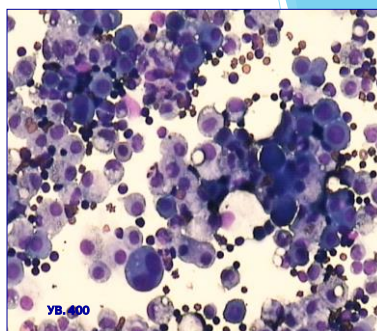
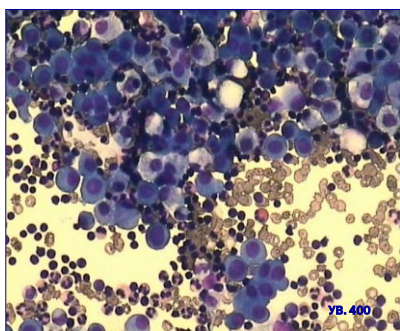
- ❖ наиболее часто они наблюдаются при хронических воспалительных процессах в лёгком, по нашим данным – 56,3 % случаев.
- Другие причины:
- ❖ плеврит в связи с циррозом печени – 17,5 % случаев;
- ❖ плеврит при обострении хронического панкреатита – 14,0 %;
- ❖ травма грудной клетки и послеоперационные вмешательства – 12,0 %;
- ❖ синдром Мэйгса – 0,2 %

II. Паранеопластические плевриты являются следствием непрямого, опосредованного воздействия опухоли на плевру

Изучение течения основного заболевания у пациентов с паранеопластическим плевритом позволило заметить следующие закономерности:

- ❖ Развитие паранеопластического плеврита у 63,0 % человек отмечено в процессе лечения первичной опухоли на фоне лучевой и химиотерапии (метотрексат, циклофосфан, прокарбазин и блеомицин).
- ❖ Сопутствующие заболевания (хроническая сердечная недостаточность) наблюдаются у 14,1% пациентов с синдромом плеврального выпота.
- ❖ Паранеопластический плеврит у 22,9 % человек отмечен при возникновении ателектазов в лёгких.

Цитологическая картина паранеопластического плеврального выпота (световая микроскопия)



В клеточном составе:

- лимфоциты составляют 77-84 %,
- макрофаги – 13-20 %,
- гранулоциты – 0,8-2 %,
- клетки мезотелия – 7-10 %,
- другие клетки – 1-2 %.

РАЗВИТИЕ ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ПЛЕВРИТА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

№ п/п	Частота встречаемости паранеопластического плеврита при злокачественных опухолях	Доля, %
1.	Аденокарциноме лёгкого	63,5
2.	Плоскоклеточном раке гортани	0,7
3.	Инвазивном раке молочной железы неспецифического типа и дольковом раке	12,2
4.	Серозной аденокарциноме яичника	2,6
5.	Плоскоклеточном раке шейки матки	0,7
6.	Аденокарциноме эндометрия	0,7
7.	Аденокарциноме желудка	1,2
8.	Плоскоклеточном раке пищевода	1,2
9.	Аденокарциноме толстого кишечника	2,6
10.	Аденокарциноме прямой кишки	0,7
11.	Папиллярном раке щитовидной железы	1,2
12.	Светлоклеточном раке почки	1,5
13.	Переходно-клеточном раке мочевого пузыря	1,0
14.	Тимоме	1,7
15.	Мезенхимальных саркомах мягких тканей	0,7
16.	Мезотелиоме плевры	4,0
17.	Лимфоме Ходжкина и неходжкинской лимфоме	3,2
18.	Плазмоцитоме	0,2
19.	Аденогенном раке слюнной железы	0,2
20.	Плоскоклеточном раке нижней губы	0,2
	Всего больных	100

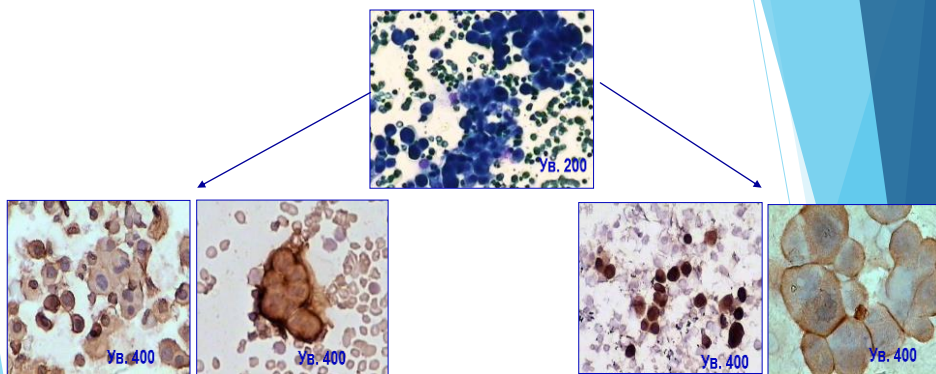
Дифференциальная диагностика: какие клетки мы видим в плевральной жидкости (опухолевые или реактивные мезотелиоциты)?

- ❖ Клетки слущенного мезотелия приобретают признаки атипии, варьируют по объему, в разной интенсивности окрашиваются, создают впечатление «полиморфизма» клеток, что может вызвать ошибочное предположение о принадлежности клеток к опухоли.
- ❖ Во избежание ошибочной интерпретации клеточного состава в плевральной жидкости и уточнения принадлежности клеток к мезотелию в сомнительных случаях **необходимо проводить иммуноцитохимические исследования.**

Использование иммуноцитохимического метода

- ❖ **Использование иммуноцитохимических реакций с применением мезотелина и эпителиального антигена позволяет с учётом клиники и различных лабораторных исследований при сомнительной интерпретации клеток исключить опухолевый процесс эпителиального происхождения,**
- ❖ **а также дифференцировать клетки мезотелиального происхождения.**

Иммуноцитохимический метод при реактивных и паранеопластических плевритах



Целесообразно использование двух антител – мезотелина и эпителиального антигена (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4) для исключения карциноматоза в плевральной жидкости.

Использование двух антител – десмина (Desmin Clone D33) и EMA (Epithelial Membrane Antigen Clone E29) для исключения эпителиоидной мезотелиомы.

❖ При проведении дискриминантного анализа диагностическая точность установления диагноза паранеопластического плеврита у онкологических больных составила:

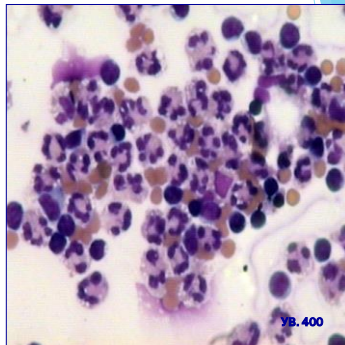
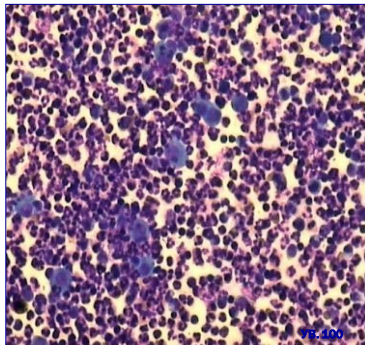
❖ При использовании только световой микроскопии **55%**

❖ При использовании иммуноцитохимического метода диагностики **99%**

Иммуноцитохимические исследования позволяют исключить опухолевый процесс при синдроме плеврального выпота у онкологических больных и считать его паранеопластическим, а также дифференцировать клетки мезотелиального происхождения



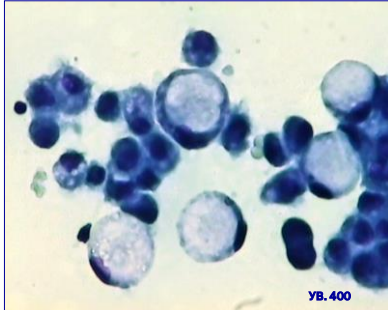
III. ПАРАПНЕВМОНИЧЕСКИЙ ПЛЕВРИТ



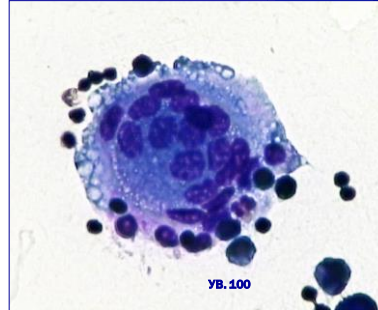
В клеточном составе:

- лимфоциты составляют 6-10 %,
- макрофаги – 8-10 %,
- гранулоциты – 67-75 %,
- клетки мезотелия – 17-21 %,
- другие клетки – 1-3 %.

IV. ПЛЕВРАЛЬНЫЙ ВЫПОТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ



УВ. 400

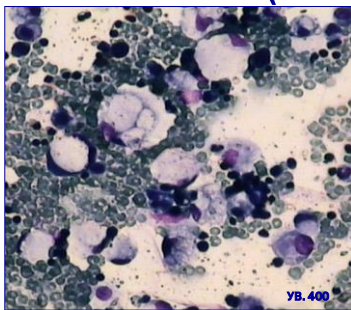


УВ. 100

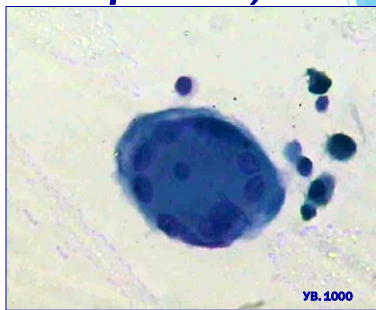
При этом в мезотелии выявлялись следующие клеточные изменения:

- ❖ ядра клеток мезотелия изменяются по форме, в ряде случаев располагаются эксцентрично, имея некоторое сходство с плазматическими клетками с резко базофильной цитоплазмой;
- ❖ перстневидная форма клеток, что позволило такую форму мезотелиоцитов определить как дегенеративно измененную;
- ❖ многоядерные клетки округлой и полигональной формы с большим числом монотипных ядер, расположенных скученно в центре клетки или по периферии.

Цитологическая картина плеврального выпота при сердечной недостаточности (световая микроскопия)



УВ. 400



УВ. 1000

В клеточном составе:

- лимфоциты составляют 10-13 %,
- макрофаги – 30-35 %,
- гранулоциты – 6-8 %,
- клетки мезотелия – 52-67 %,
- другие клетки – 2-4 %.

V. Плеврит при туберкулезе легких

До середины XX века самой частой причиной экссудативного плеврита был туберкулез

- ❖ Частота туберкулезного плеврита при наличии плеврального синдрома составляет 49,6 %, как единственное клиническое проявление туберкулеза регистрируют у 6 – 12 % заболевших.
- ❖ Туберкулезный плеврит часто развивается при первичном туберкулезе легких как одно из его проявлений. Этим объясняется более частое возникновение туберкулезного плеврита у лиц молодого возраста и подростков.
- ❖ Экссудат при туберкулезе, как правило, имеет серозный лимфоцитарный характер.
- ❖ Сочетание туберкулезного экссудативного плеврита с туберкулезом органов дыхания не превышает 25 % наблюдений. Плевральный выпот, в котором более 50 % клеток составляют зрелые лимфоциты, в 73 % случаев свидетельствует о туберкулезе или неходжкинской лимфоме.
- ❖ Обнаружение кислотоустойчивых палочек в мазках происходит только в 10–20 % случаев туберкулезного плеврита, посев плевральной жидкости выявляет микобактерии туберкулеза только в 25–50 %.

Цитологические исследования плевральных выпотов при туберкулезе

Выпотная жидкость при туберкулезе – всегда результат воспаления – экссудат

Причинами образования экссудата могут являться :

- ❖ Аллергическое воспаление плевры
- ❖ Перифокальная реакция при расположении очага субплеврально
- ❖ Бугорковое высыпание на плевре
- ❖ Как осложнение при лечебном пневмотораксе

Цитологические исследования плевральных выпотов при туберкулезе

Внешний вид экссудата, количество, содержание в нем фибрина, клеточный состав в значительной степени зависят от морфологических изменений в плевре

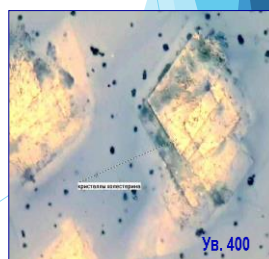
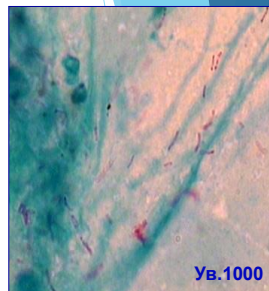
- ❖ В начальной стадии заболевания может возникнуть серозный экссудат, по клеточному составу – эозинофильный, как быстро переходящая фаза гиперсенсibilизации (1-2 недели).
- ❖ Чаще всего встречающийся тип экссудата при туберкулезе – серозный с высоким содержанием лимфоцитов (до 90-100 %), может переходить в серозно-гнойный и гнойный.

Типы туберкулезных экссудатов по клеточному составу и внешнему виду

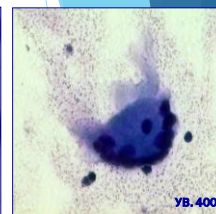
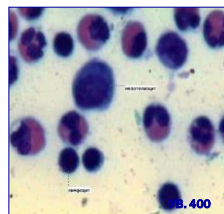
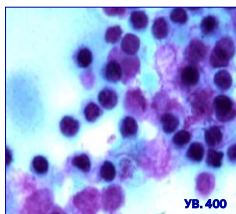
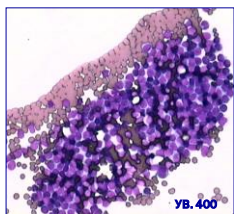
- ❖ **эозинофильный** – (эозинофилов > 15-20 %) – быстро переходящая, фаза гиперсенсibilизации, после лечебного пневмоторакса и пережигания спаек (эозинофилов до 90 %), по внешнему виду – *серозный*
- ❖ **лимфоцитарный** – (лимфоцитов до 100 %) – наиболее частый тип при туберкулезе, способен длительно поддерживаться, по внешнему виду – *серозный*
- ❖ **лимфоцитарно-нейтрофильный** – (нейтрофилов < 20%) – часто переходящий в гнойный, по внешнему виду – *серозный*
- ❖ **моноклеарный** – (моноклеаров > 20%)
 - а) **моноцитонидный** – быстро переходящая фаза экссудативного процесса при высыпании бугорков на плевре, чаще переходящий в гнойный, по внешнему виду – *серозный*
 - б) **макрофагальный** – при кровоизлияниях в плевральную полость, по внешнему виду – *геморрагический*

Типы туберкулезных экссудатов по клеточному составу и внешнему виду

- ❖ **Нейтрофильный** – (нейтрофилов > 20 %) – можно обнаружить эпителиоидные клетки, клетки Пирогова-Лангханса, казеозный некроз, КУМ, по внешнему виду – *гнойный, эмпиема*
- ❖ **Холестериновый** – обилие кристаллов холестерина, образуется в осумкованных полостях
- ❖ **Хилусоподобный** – при длительно текущих туберкулезных процессах: капли жира, жироперерожденные клетки, по внешнему виду – *молочного цвета, напоминает хилезный*



Цитологическая картина плеврального выпота при туберкулезе легких (световая микроскопия)

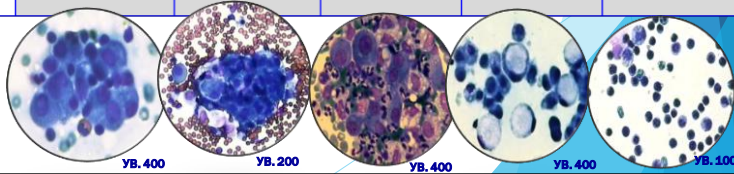


В клеточном составе:

- лимфоциты составляют 86-95 %,
- макрофаги – 3-5 %,
- гранулоциты – 8-19 %,
- клетки мезотелия – 1-2 %,
- другие клетки – 1-3 %.

Количественные характеристики клеточного состава неопухолевых плевритов

Тип клеток плеврита:	Абсолютное значение клеточных элементов (M±m)				
	Процентное содержание клеточных элементов (M±m)				
	Реактивном	Паранеопластическом	Пневмонийном	Сердечной недостаточности	Туберкулёзе лёгких
Мезотелий	16,0±6,89	17,2±7,42	44,3±11,87	56,8±23,59	2,4±1,79
	6,9 ± 3,14	7,7±3,34	17,1±4,86	51,7±14,95	1,2±1,15
Макрофаги	34,7±16,62	30,1±15,28	22,1±4,52	28,5±7,42	4,8±2,89
	14,9 ± 7,41	13,2±6,67	8,5±2,11	29,9±6,71	3,0±1,91
Лимфоциты	182,3±38,16	178,6±34,60	15,7±11,84	9,4±2,60	242,4±45,30
	76,3 ± 8,77	77,1±7,47	6,1±4,83	9,7±3,30	86,1± 8,11
Гранулоциты	1,6±2,95	2,1±2,78	179,1±54,38	5,9±1,50	15,5±22,90
	0,7 ± 1,24	0,8±1,20	66,9±8,79	6,3±2,00	8,5 ±11,11
Другие клетки	3,1±3,72	2,8±3,56	3,6±4,12	2,4±1,18	2,6±3,12
	1,2 ± 1,57	1,2±1,53	1,4±1,77	2,4±0,93	1,2±2,10

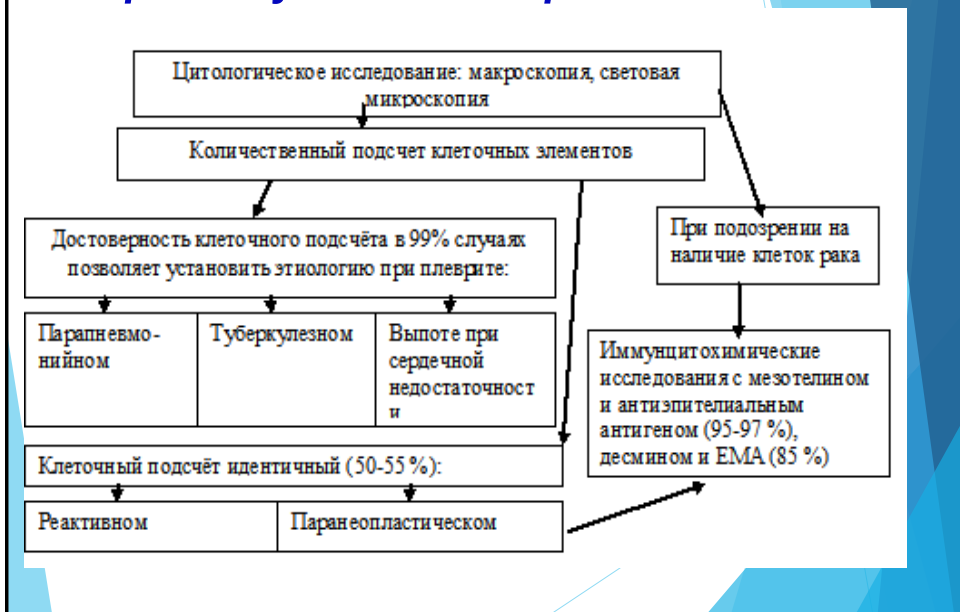


Результаты дискриминантного анализа данных световой микроскопии

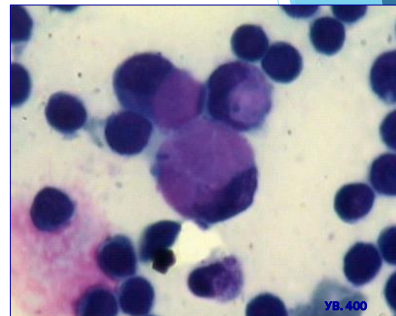
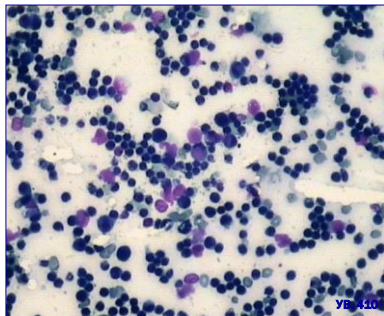
Группа	Вид плеврита	Доля правильной классификации, %
1	Реактивный	50,0
2	Паранеопластический	55,0
3	При пневмонии	99,9
4	Выпот при сердечной недостаточности	99,9
5	При туберкулезе легких	99,9
	Всего	78,16

- ❖ Доли правильной классификации больных с плевральным выпотом с признаками плеврита реактивного характера и паранеопластического плеврита примерно одинаковые и составляют лишь 50,0 и 55,0 %.
- ❖ При этом с помощью дискриминантного анализа можно с точностью до 99,9 % правильно классифицировать цитологические признаки при парапневмоническом, туберкулёзном плевритах и выпоте при сердечной недостаточности.

Дифференциально-диагностический алгоритм при неопухолевых плевральных выпотах



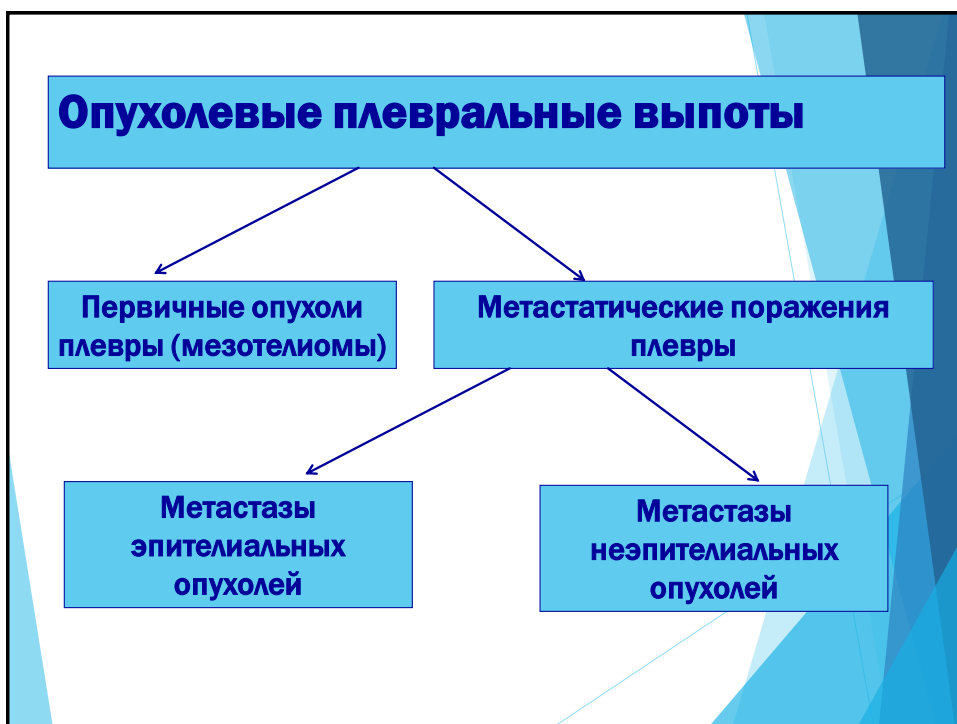
Плевральный выпот при красной волчанке, ревматоидном артрите и других заболеваниях соединительной ткани



LE-клетки – тип лейкоцитов, которые разрушены особым иммуноглобулином (LE-фактором). Являются маркерами аутоиммунных заболеваний. Выявление LE-клеток необходимо для диагностики системной красной волчанки и контроля эффективности лечения этого заболевания. Второстепенное значение анализ имеет при ревматоидном артрите, дерматомиозите, системной склеродермии.

Опухолевые плевральные выпоты

- ❖ Частой причиной развития плевральных выпотов являются онкологические заболевания.
- ❖ Частота опухолевых плевритов составляет 70 на 100 тыс. населения (English J.C., Leslie K.O., 2012).
- ❖ В России заболеваемость пациентов с наличием опухолевого плеврального выпота достигает 100 тыс. человек в год, а их доля среди всех плевральных выпотов составляет 15-20% (Жестков К.Г., 2016).
- ❖ Общеизвестны диагностические трудности цитологического исследования выпотных жидкостей. Сложности эти обусловлены, прежде всего, особенностью анализируемого материала.
- ❖ В настоящее время многие проблемы решены с использованием **иммуоцитохимического метода** при цитологической диагностике плевральных выпотов.



Первичные опухоли плевры - мезотелиомы – опухоли, морфологическим субстратом которых являются клетки мезотелия

- ❖ Локализуется мезотелиома в большинстве случаев на висцеральной и париетальной плевре, которую поражает в **88,8%** от числа всех мезотелиом;
- ❖ На брюшной стенке мезотелиома образуется в 9,6% наблюдений;
- ❖ В перикарде – в 0,7%.
- ❖ В редких наблюдениях мезотелиома может возникнуть на серозной оболочке яичка, в области маточных труб, в сальнике (P.M. Baker, 2005; V. Delgermaa, 2011).

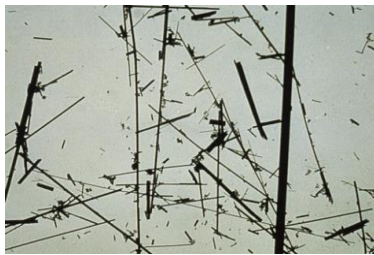
Развитие мезотелиомы плевры

- ❖ **Профессиональный фактор.**
Длительное воздействие **асбеста** (постоянное, стойкое):
рабочие, связанные с производством изоляционных изделий (эл. плиты, трубы);
производители транспортных средств (тормоза, тиски);
рабочие заводов, производящих цемент, пластмассу, металл и различные строительные краски;
плотники, электрики, водопроводчики и т.д.
- ❖ Между моментом иногда однократного, но массивного запыления, и временем **развития мезотелиомы** может пройти 20–40 лет.
- ❖ **Экологический фактор**, не связанный с асбест-содержащим производством: промышленные предприятия, заводы, автомобильные трассы, загрязнения почвы и т. д.
- ❖ **Возрастной контингент** составляют преимущественно люди старше 50 лет, мужчин больше, чем женщин.

Основная причина развития мезотелиомы - волокна асбеста. Асбест обладает как иницирующим действием, так и промотирующей активностью, наиболее опасны амфиболовые волокна



хризотил (белый асбест),

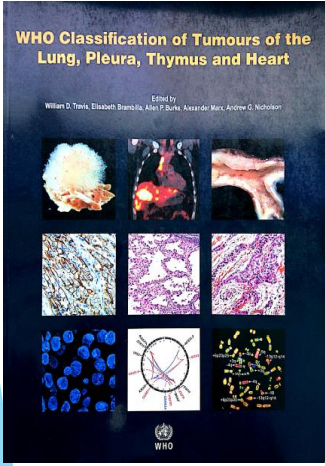


кроцидолит (голубой асбест),

Амфибол:

прямые волокна (≤ 30 мкм; диаметр $\leq 0,5$ мкм), проникают в дыхательные пути и достигают плевры. Более высокий риск мезотелиомы.

WHO histological classification of pleural tumours 2015r.



Mesothelial tumours

Diffuse malignant mesothelioma

- *Epithelioid mesothelioma*
- *Sarcomatoid mesothelioma*
- *(Desmoplastic mesothelioma)*
- *Biphasic mesothelioma*

Localized malignant mesothelioma

Other tumours of mesothelial origin

- *Well differentiated papillary mesoth.*
- *Adenomatoid tumor*

Lymphoproliferative disorders

- *Primary effusion lymphoma*
- *Pyothorax-associated lymphoma*

Mesenchymal tumours

Epithelioid hemangioendothelioma

Epithelioid angiosarcoma

Synovial sarcoma

- *Monophasic*
- *Biphasic*

Solitary fibrous tumor

Calcifying tumour of the pleura

Desmoplastic round cell tumour

Эпителиоидная мезотелиома составляет 70% всех мезотелиом плевры

Гистопатологические варианты эпителиоидной мезотелиомы имеют множественные характеристики:

- ❖ Тубулопапиллярная
- ❖ Эпителиоидная
- ❖ Децидуоидная
- ❖ Светлоклеточная
- ❖ Гландулярная
- ❖ Миксоидная
- ❖ Аденоматоидная

- ❖ Пациенты с мезотелиомой плевры с такими **симптомами**, как боль в груди, одышка и/или кашель, потеря веса, усталость, у которых плевральный выпот, отмечают эти признаки в **95 %** наблюдений.
- ❖ Париетальная серозная оболочка поражается чаще, чем висцеральная (**70/30 %**).
- ❖ Одностороннее развитие мезотелиомы отмечается чаще (**60-95 %**, двусторонние **5 %**).
- ❖ Эпителиоидная мезотелиома имеет лучший прогноз, хотя различие в выживании с другими типами - только несколько месяцев.

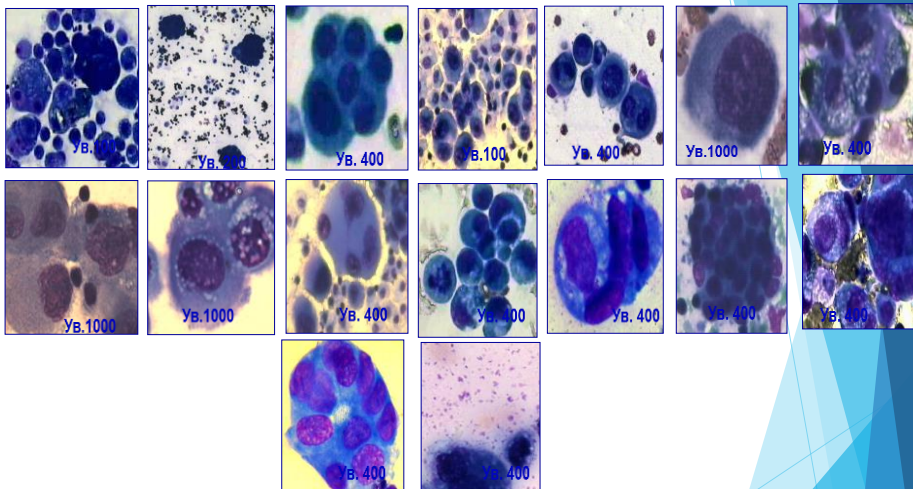
Злокачественная мезотелиома характеризуется очень плохим прогнозом

- ❖ По данным Melloni G., Puglisi A., Ferrarori G.M. (2007, 2012):
- ❖ после хирургического лечения средняя продолжительность жизни больных составляет **12,4 мес.;**
- ❖ после химиотерапии – **7,5 мес.;**
- ❖ после операции и химиотерапии – **12мес**

Цитологические признаки эпителиоидной мезотелиомы также отличаются большим разнообразием

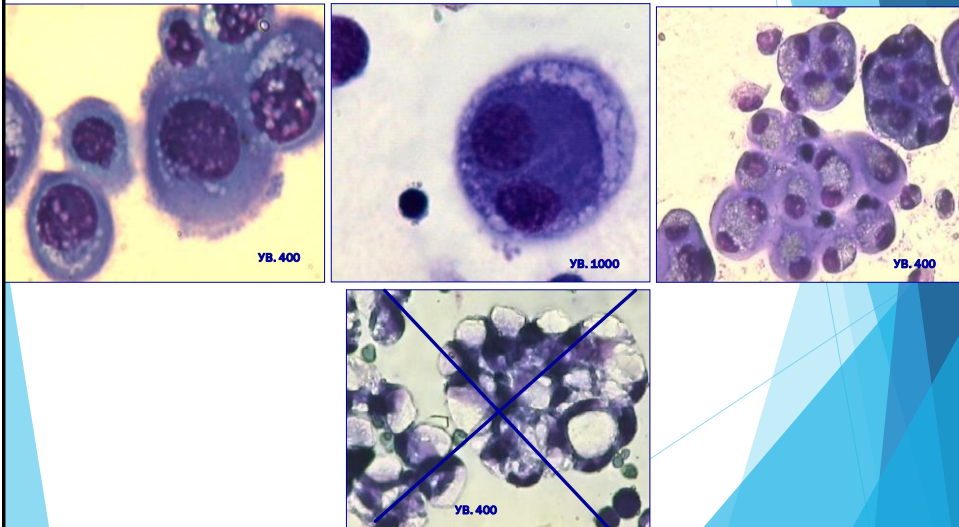
- ❖ Клетки эпителиоидной мезотелиомы в плевральной жидкости имеют сходство с железистым раком различных локализаций.
- ❖ Некоторые эпителиоидные мезотелиомы имеют выраженный клеточный полиморфизм, другие – клеточный состав, напоминающий пролиферирующий мезотелий.

Определены 16 клеточных признаков световой микроскопии

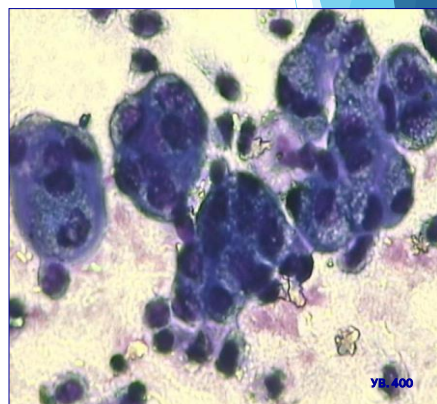
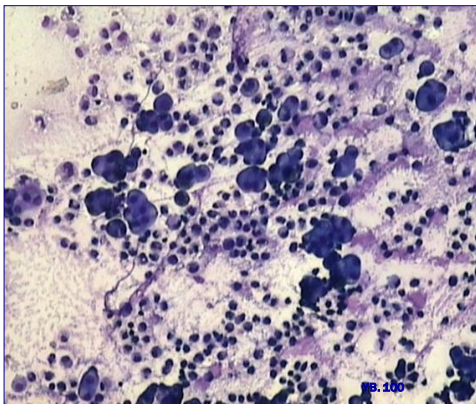


Доли правильной классификации больных при эпителиоидной мезотелиоме при световой микроскопии составляют лишь **54,0 %.**

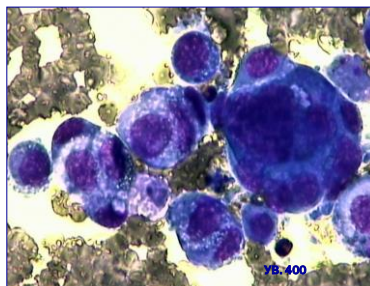
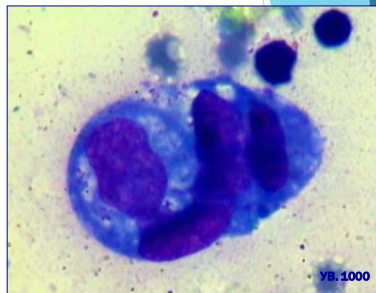
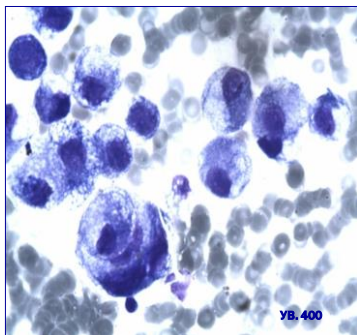
С помощью дискриминантного анализа статистически наиболее значимыми признаками определены:
❖ образование мелких светлых вакуолей по периферии цитоплазмы (фенестрация). Значение F-критерия 63,89



❖ Наличие оксифильных мелкозернистых масс гиалурона. Значение F-критерия 48,10



❖ Наличие феномена «клетка в клетке».
Значение F-критерия 38,36



Значение дискриминантных функций для построения классификации

Клеточные признаки (переменные)	Значение F-критерия	P
Образование морулоподобных и сосочкоподобных структур (2)	24,43	0,000002
Полиморфизм ядер, от незначительных изменений до резко полиморфных (5)	26,87	0,000000
Образование мелких светлых вакуолей по периферии цитоплазмы (фенестрация)(9)	63,89	0,000000
Феномен «клетка в клетке» (12)	38,36	0,000001
Сочетание гиперхромии ядер и базофилии цитоплазмы в клетках (14)	13,38	0,000319
Образование межклеточного пространства в скоплениях по типу «окна» (15)	26,01	0,000001
Наличие оксифильных мелкозернистых масс гиалурона (16)	48,10	0,000000

- ❖ В связи с тем, что доли правильной классификации больных при эпителиоидной мезотелиоме при световой микроскопии составляют лишь **54,0 %**, необходимо использовать дополнительные методики.
- ❖ Данный факт является основополагающим для проведения иммуоцитохимических исследований.

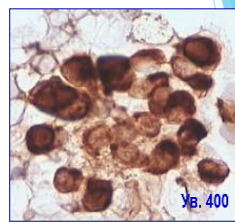
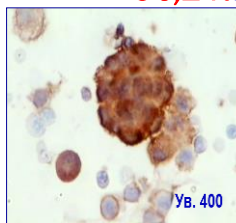
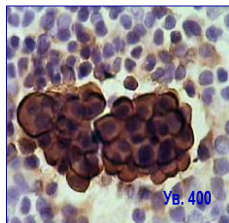
- ❖ Самым важным для иммуоцитохимического исследования является обязательное использование мезотелиальных антител.
- ❖ **Специфичными для мезотелиальных клеток** являются антитела калретинин (Calretinin Clone DAK-Calret 1), мезотелин (Mesothelial Cell Clone HBME-1) и тромбомодулин (Thrombomodulin Clone 1009).

Значение чувствительности и специфичности мезотелиальных антител (Dabbs D.J., 2010)

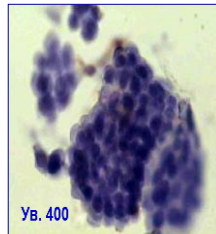
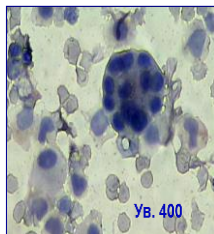
Антитела, используемые для диагностики мезотелиомы	Чувствительность	Специфичность
Калретинин	92 %	88 %
Тромбомодулин	68 %	92 %
Цитокератин 5/6	95 %	87 %
Виментин	69 %	85 %
WT1	78 %	62 %
HBME-1	84 %	48 %

Использование иммуноцитохимических исследований имеет решающее значение с диагностической эффективностью

96,2 %.



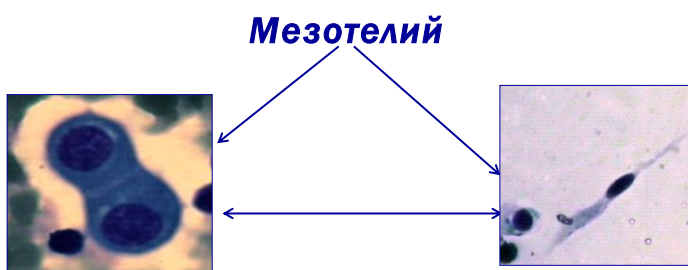
Позитивная мембранно-цитоплазматическая реакция (+++) на Mesothelial Cell Clone HBME-1., (+++) на Cytokeratin 5/6 Clone D 5/16 B4, (+++) на Wilms' Tumor 1 Protein (WT1) Clone 6F-H2.



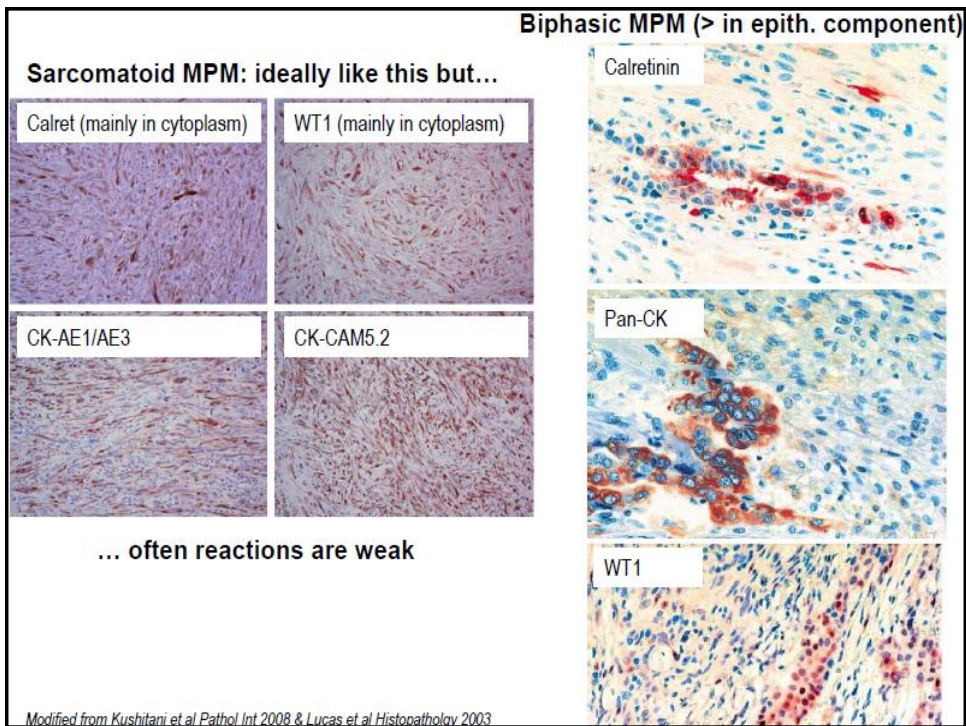
Негативная реакция (-) на Epithelial Antigen Clone Ber-EP4, (-) на Carcinoembryonic Antigen Clone II-7.

- ❖ При цитологической диагностике эпителиоидной мезотелиомы в серозных жидкостях использование только световой микроскопии недостаточно, доли правильной классификации составляют лишь **54,0 %**;
- ❖ использование иммуноцитохимических исследований **имеет решающее значение** с диагностической эффективностью **96,2 %**.

Происхождение мезотелия позволяет ему в одном случае быть типичными **эпителиальными клетками**, в другом – типичными веретенообразными **фиброцитами**.

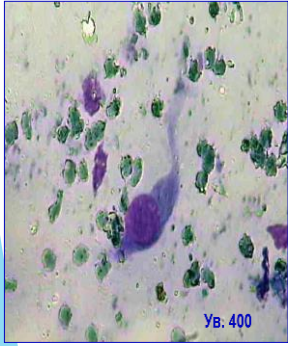
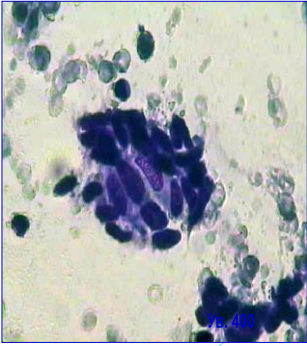
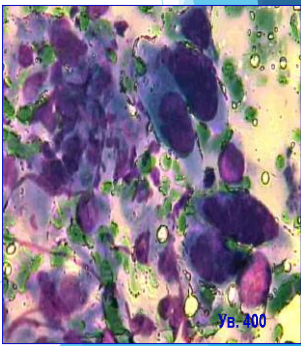


В диагностическом процессе понимание особенностей происхождения мезотелия имеет очень важное значение.

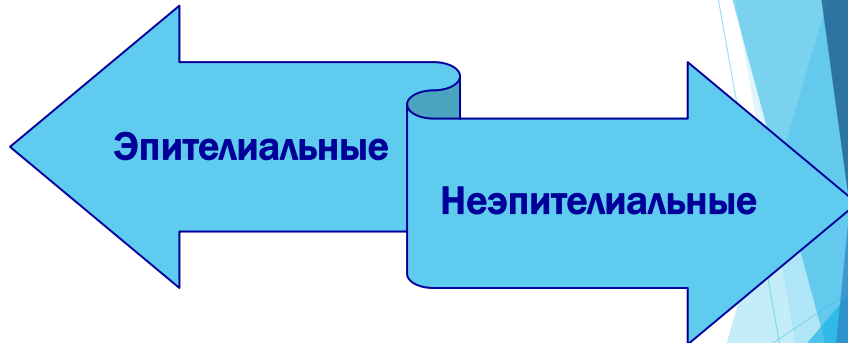


Возможности цитологической диагностики саркоматоидной и бифазной мезотелиом в связи со скудной эксфолиацией опухолевых клеток в плевральную полость, по нашим данным, ограничены. Данный факт не позволил проводить иммуноцитохимические исследования.

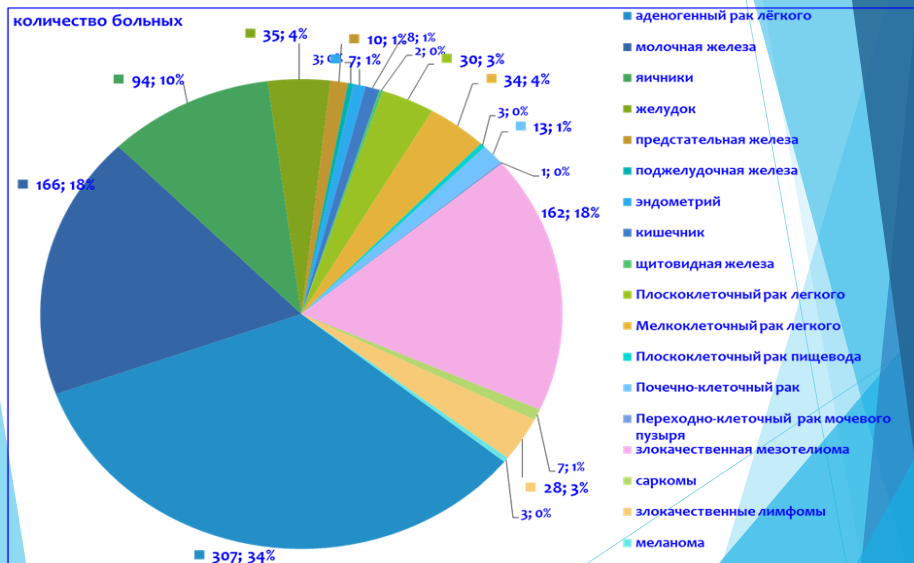
Верификация диагноза **саркоматоидной и бифазной мезотелиом** требует проведения исследования плевральной жидкости и биопсии плевры с последующим **гистологическим изучением от 3 до 5 биоптатов.**

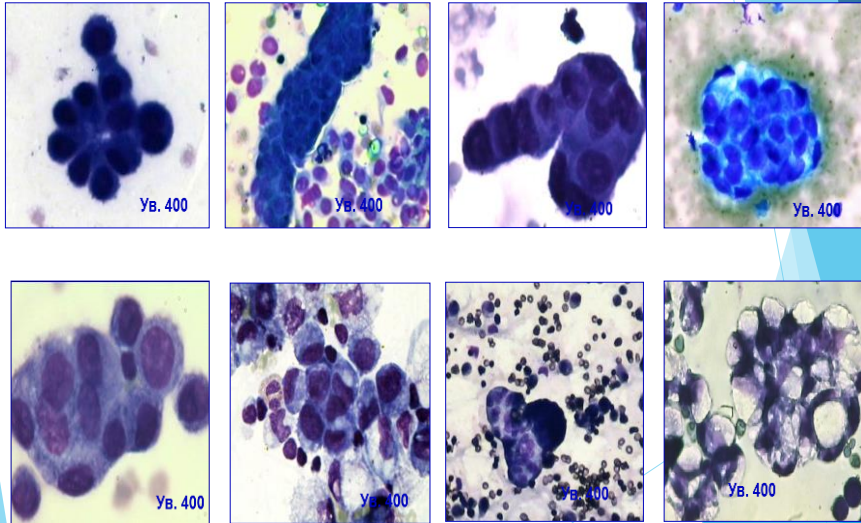
Метастатические поражения плевры



КАРЦИНОМАТОЗ ПЛЕВРЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

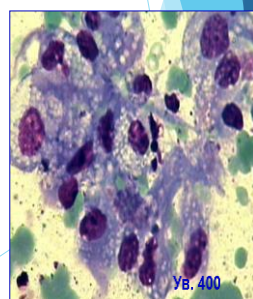
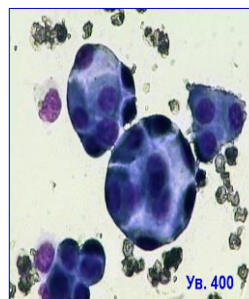
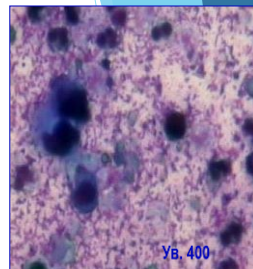
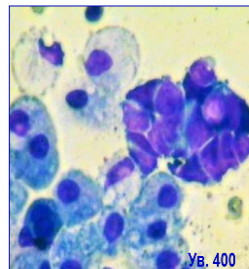


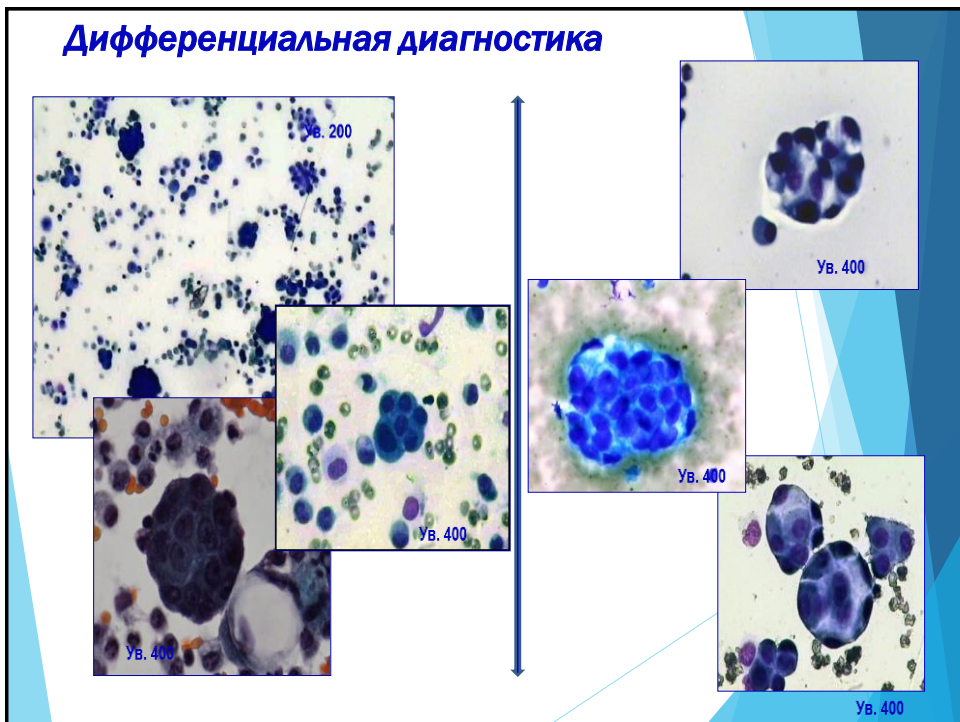
Карциноматозные плевральные выпоты большей частью представлены аденокарциномами, при которых обнаруживается больше общих черт, чем различий.



Метастазы в плевру эпителиальных опухолей

Использование только световой микроскопии с большой вероятностью позволяет установить цитологический диагноз по клеточному составу плевральной жидкости с указанием морфологического типа при следующих опухолях:
плоскоклеточный и мелкоклеточный рак лёгкого, инвазивный рак молочной железы неспецифического типа, светлоклеточный почечно-клеточный рак ($p < 0,5$)



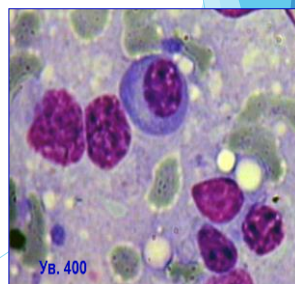
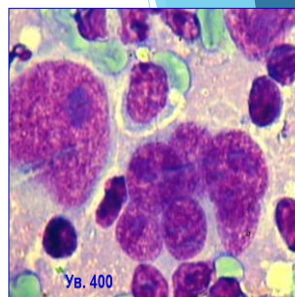


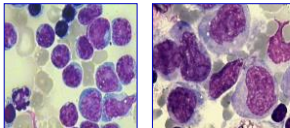
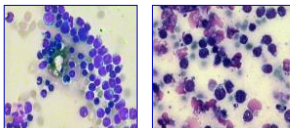
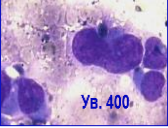
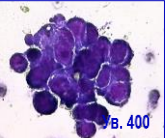
Результаты иммуноцитохимического исследования плевральной жидкости при карциноматозных плевритах (N=117)

Нозология	Кол-во больных	Наиболее значимые реакции для диагностики при негативных реакциях на мезотелиальные антитела:
 Аденогенный рак лёгкого	33	TTF-1 (3+, 2+ или 1+), эпителиальный антиген (2+) и CEAmono (2+) и CEApoly (2+).
 Плоскоклеточный рак лёгкого	12	СК5/6 (3+ или 2+), эпителиальный антиген (3+), CEApoly (3+, 2+), TTF-1 (-).
 Мелкоклеточный рак лёгкого	10	Эпителиальный антиген (2+) и TTF-1 (3+, 2+), CD45 (-), NSE (+/-), хромогранин (+/-).
 Рак молочной железы	14	Маммаглобин (2+, 3+), CEA mono/poly (3+, 2+, 1+), эпителиальный антиген (3+), TTF-1 (-), WT1 (-).
 Серозная аденокарцинома яичника	29	Эпителиальный антиген (3+), CEAmono (-), CEApoly (2+), WT1 (+).
 Аденокарцинома и перстневидно-клеточный рак желудка	13	Эпителиальный антиген (3+), CEAmono (3+ 2+), CEApoly (3+, 2+), СК20 (+), СК 18 (+).
 Светлоклеточный почечно-клеточный рак	2	TTF-1 (-), СК5/6 (-), эпителиальный антиген (-), vimentin (2+), СК7(-), CEA mono (-).
 Ацинарный рак предстательной железы	2	TTF-1 (-), СК5/6 (-), эпителиальный антиген (2+), vimentin (2+), СК7(-), CEA mono (-).
 Аденокарцинома кишечника	2	СК7 (-), TTF-1 (-), СК20(3+, 2+), СК18(3+), CEAmono (3+), CDX2(3+, 2+), CEApoly (+).

МЕТАСТАЗЫ В ПЛЕВРУ НЕЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Использование только световой микроскопии с большой вероятностью позволяет установить цитологический диагноз по клеточному составу плевральной жидкости с указанием морфологического типа только **при лимфоме Ходжкина и плазмоцитоме** при нахождении в плевральной жидкости клеток Березовского – Штернберга и опухолевых плазмоцитов.



Морфологический тип	Клеточные признаки	Результаты математического анализа	
		Многофакторный	Дискриминантный
Крупноклеточные В-клеточные и Т-клеточные		Совокупность по 7 клеточным признакам объединила цитологические типы в 37,8 %	Процент правильной классификации составил 7,9 %
Лимфолейкоз/лимфомы В-клеточные и Т-клеточные			
Мезенхимальные саркомы		Факторный вес клеточных признаков составил 53,4 % выборки	
Эпителиоидно-клеточная меланома		Факторный вес вариантов клеточных признаков составил 78,8 % выборки	

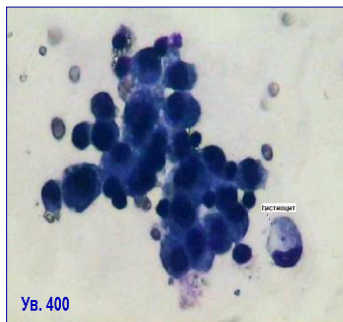
Использование иммуноцитохимических маркеров в оценке состава плевральной жидкости при неходжкинских лимфомах

№ п/п	Маркёр	Всего, п	Неходжкинские лимфомы точность 96 %		Достоверность различий p
			В-клеточные, п	Т-клеточные, п	
1.	Mesothelial Cell Clone HBME-1	13	11 (-)	2 (-)	-
2.	Cytokeratin Clone C MNF 116	12	6 (-)	6 (-)	-
3.	Cytokeratin Clone C AE1/AE3	12	8 (-)	4 (-)	1,0
4.	Vimentin Clone V9	12	8 (+)	4 (+)	1,0
5.	Epithelial Membrane Antigen Clone E29	12	12 (-)	0	-
6.	Epithelial Antigen Clone Ber-EP4	12	12 (-)	0	-
7.	Carcinoembryonic Antigen Clone II-7	12	10 (-)	2 (-)	-
8.	Carcinoembryonic Antigen polyclonal	12	10 (-)	2 (-)	-
9.	CD3 Polyclonal	23	13 (-)	10 (+)	0,002
10.	CD8 Clone C8/144B	18	8 (-)	10 (+)	0,005
11.	CD 15 Clone C3D-1	7	2 (+)	5 (-)	0,048
12.	CD 20cy Clone L26	18	12 (+)	6 (-)	0,022
13.	CD79α Clone JCB 117	12	9 (+)	3 (-)	0,005
14.	CD 45 (Leucocyte Common Antigen) Clones 2B11+PD7/26	23	13 (+)	10 (+)	-

Сравнение точности цитологической диагностики состава плевральной жидкости при опухолевых и неопухолевых плевритах

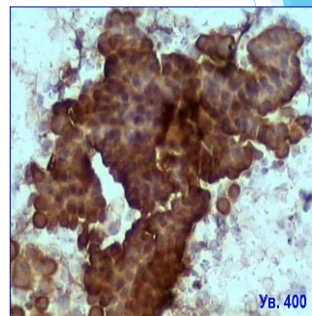
Световая микроскопия

$57,6 \pm 23,94\%$



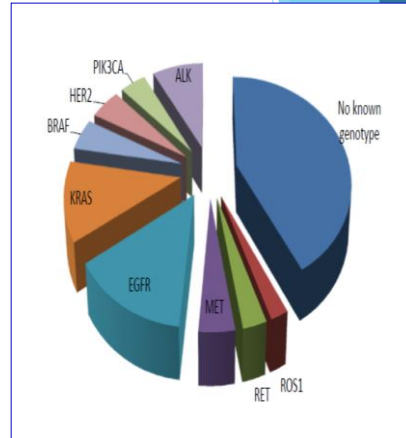
Иммуноцитохимический

метод $92,3 \pm 6,69\%$



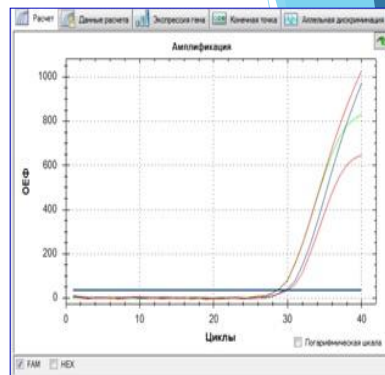
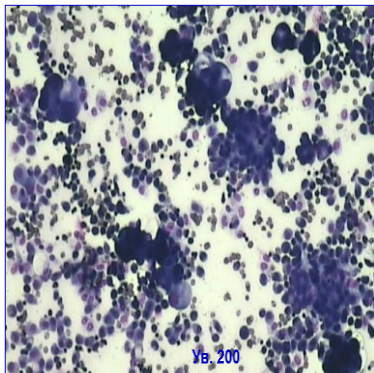
Использование ДНК-клеток опухоли, полученных из плевральных жидкостей

Научные разработки, связанные с открытием соматических мутаций гена *EGFR*, явились основополагающим фактором для поиска других механизмов воздействия, приводящих к эффективной терапии рака легкого.



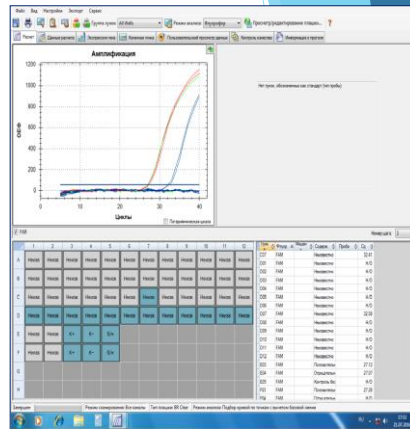
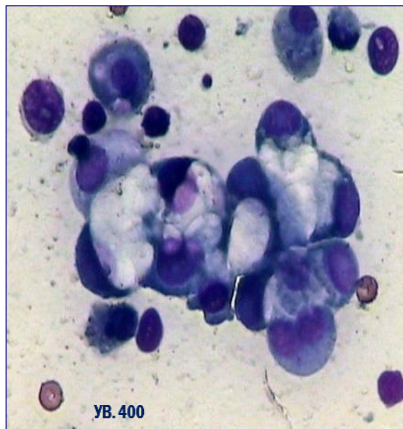
Назначение таргетных препаратов эрлотиниб, афатиниб и gefитиниб показано только тем больным, у которых в опухолевых клетках выявляется **мишень** действия этих препаратов.

Молекулярно-генетические исследования при аденогенном раке легкого



Мутация гена *EGFR* del. 19ex., выявленная посредством аллель специфической ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата плевральной жидкости, представленного на микрофото.

Молекулярно-генетические исследования при аденокарциноме яичников



Мутация 5382InsC в гене *BRCA1*, выявленная посредством аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата пациентки 44 лет с серозным раком яичника High grade.

Выделение ДНК-клеток опухоли из плевральной жидкости для молекулярно-генетических исследований

- ❖ Цитологический материал с наличием достаточного количества клеток опухоли (не менее 200) являлся полноценным материалом для молекулярно-генетических исследований.
- ❖ Использование цитологического материала для поиска соматических мутаций оправдано для пациентов с местно-распространенным или диссеминированным процессом, у которых цитологический материал является единственно доступным морфологическим материалом для исследования.
- ❖ В некоторых случаях определение мутаций является единственной возможностью для назначения адекватной терапии пациенту с использованием таргетных препаратов.

Спасибо за внимание!

