

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
имени академика В.И. Кулакова
Министерства здравоохранения Российской
Федерации

Различные методы жидкостной цитологии в оценке патологии органов женской репродуктивной системы



С.н.с. патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ им.
В.И. Кулакова Минздрава России», К.м.н., врач клинической
лабораторной диагностики, врач-патологоанатом



Асатурова А.В.

Метод жидкостной цитологии – история создания

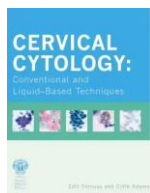
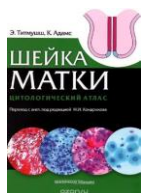
Впервые метод ЖЦ одобрен американской ассоциацией FDA более 20 лет
назад:

- в 1996 году представлен Thin Prep™ (Hologic Malborough, Mass.)
- В 1999 году - AutoCyte Prep™ (теперь SurePath™ BD, Burlington NCHologic Malborough, Mass.)

К настоящему времени на рынке появились более 10 конкурентов этих
первооткрывателей:

- MonoPrep™ (MonoGen, Inc, Lincolnshire),
- Cell Prep™ (Byodine, South Korea)
- BestPrep™ (**CellSolutions**) (Greensboro N.C. USA)
- Liqui-PREP™ (LGM International Inc., Ft. Lauderdale, FL)
- E-prep (Han Bi Medical Co. Lts. South Korea) и **ДРУГИЕ**

Метод жидкостной цитологии в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ им.В.И.Кулакова» Минздрава России



- Перевод с английского атласа по жидкостной цитологии (Н.И. Кондриков, А.В. Асатунова (Силакова)) 2008 год
- Установка оборудования BD (технология SurePath) – 2011 год
- Установка оборудования Vyodine (технология CellPrep) – 2016 год

Сравнение цитологических методов: традиционная цитология vs. жидкостная цитология

Первые публикации: сравнение традиционного метода и метода жидкостной цитологии: с 2000 по 2017 год более 70 публикаций.

- [Vassilakos P et al.](#) **Biopsy-based comparison of liquid-based, thin-layer preparations to conventional Pap smears.** [J Reprod Med.](#) 2000 Jan;45(1):11-6.
- [Hoiseon J. et al.](#) **Comparison of Unsatisfactory Samples from Conventional Smear versus Liquid-Based Cytology in Uterine Cervical Cancer Screening Test.** [J Pathol Transl Med.](#) 2017 May; 51(3): 314–319.

Отличия жидкостного метода (технические особенности)

Преимущества	Недостатки
Улучшенная сохранность пробы-препарат остается жизнеспособным до 4 недель и исключает высушивание воздухом	Увеличение стоимости расходных материалов
Исключено механическое искажение клеток	Увеличение площади для хранения расходных материалов и используемых пробирок
Возможность приготовления дополнительных предметных стекол (до 15 на группу) для повторных анализов, выявления ВПЧ, ИЦХ	Требуется ликвидация пробирок
Однородность распределяемого слоя с меньшим перекрытием клеток	Увеличение во времени подготовки препарата
Улучшение детализации ядра	Обследование более трудоемко
Возможность применения автоматического обследования благодаря тонкому слою клеток	Диагностика патологии основывается на небольшом числе патологических клеток

Отличия жидкостного метода (диагностические особенности)

- Жидкостной метод позволяет получить удовлетворительное качество мазков в большем количестве случаев
- Жидкостной метод снижает количество ложноотрицательных и ложноположительных мазков
 - NB! (в некоторых статьях подчеркивается тот факт, что данное утверждение справедливо лишь для определенных категорий пациенток)***
- Жидкостной метод позволяет значительно снизить время скрининга
- Жидкостной метод позволяет получить лучшую общую репрезентативность мазков
- Жидкостной метод обладает меньшей чувствительностью для выявления особенностей микрофлоры
- Жидкостной метод обладает **меньшей чувствительностью для выявления железистой патологии**



[J Pathol Transl Med](#). 2017 May; 51(3): 314–319.

[J Cytol](#). 2016 Apr-Jun;33(2):80-4 [BMJ](#). 2017; 356: j504.

[Cancer Causes Control](#). 2016 Jan;27(1):15-25. [Diagn Cytopathol](#). 2008 Apr;36(4):232-7

Отличается ли жидкостной метод от традиционной цитологии в аспекте оценки железистой патологии?

Жидкостной метод лучше

- Общая специфичность ПАП-мазков в отношении атипических железистых клеток составила 60.9%. **Специфичность была более высокой** для жидкостной цитологии (ЖЦ, технология SurePath) (63.9%), чем для традиционного метода (ТЦ) (50%). Однако различия были статистически не значимыми ($P = 0.4$). [Cytojournal](#). 2016; 13: 3.
- Более детальная визуализация ядра, включая ядрышки и неровность ядерной мембраны позволяет **более точно верифицировать** железистую патологию. [Korean J Pathol](#). 2012 Apr; 46(2): 215–220.
- Жидкостной метод дает **меньшее количество ложноположительных результатов**, которые **лучше коррелируют с гистологическими диагнозами** (атипические железистый клетки методом ЖЦ выявлены в 0,07% случаев, методом ТЦ – в 0,14%. В то время как гистологически подтверждена патология была в 14.3% и 2.8% соответственно). [Diagn Cytopathol](#). 2000 Jul;23(1):19-22.

Жидкостной метод хуже

- Гистологически подтвержденная патология железистого эпителия эндоцервикса после позитивных ПАП-мазков (технология SurePath и традиционная цитология) была выявлена в 47.8% и 49.2% соответственно [Acta Cytol.](#) 2007 Sep-Oct;51(5):742-8
- Одинаковая чувствительность жидкостной и традиционной цитологии при выделении 3 категорий и значительно более низкая – при выделении двух [Cancer.](#) 2007 Dec 25;111(6):482-6.

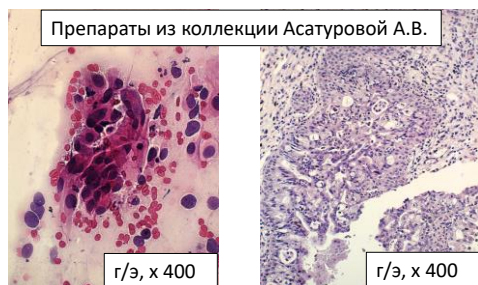
категория	Количество случаев (чувствительность, %)			Количество случаев (чувствительность, %)	
	ТЦ	ЖЦ (ThinPrep)		ТЦ	ЖЦ (ThinPrep)
Аденокарцинома in situ	90/160(56)	40/60(67)	Аденокарцинома in situ	66/160(41)	25/60(42)
Аденокарцинома in situ +HSIL	95/151(63)	32/50(64)	Аденокарцинома in situ +HSIL	35/151(23)	8/50(16)
HSIL	586/768(74)	306/383(80)			

Жидкостной метод не отличается от традиционного

- Не отмечено статистически значимой разницы в проценте выявляемости атипических железистых клеток (0.77% для традиционной и 0.59% для жидкостной цитологии. Также не было различий в подтверждении диагноза гистологическим методом ([Acta Cytol.](#) 2002 May-Jun;46(3):453-7.)
- Одинаковая чувствительность жидкостной и традиционной цитологии при выделении 3 категорий (AIS, AIS+HSIL и HSIL) [Cancer.](#) 2007 Dec 25;111(6):482-6
- Одинаковый процент выявления атипических железистых клеток при скрининге женщин постменопаузального возраста [Journal of South Asian Federation of Obstetrics and Gynaecology](#), 2017;9(2):159-163

SMILE

- SMILE - stratified mucin-producing intraepithelial lesion – многоярдное муцинпродуцирующее интраэпителиальное поражение
- Редкое предраковое поражение шейки матки, характеризующееся сочетанием морфологических признаков плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазии и аденокарциномы in situ/железистой дисплазии шейки матки



Цитологическая картина

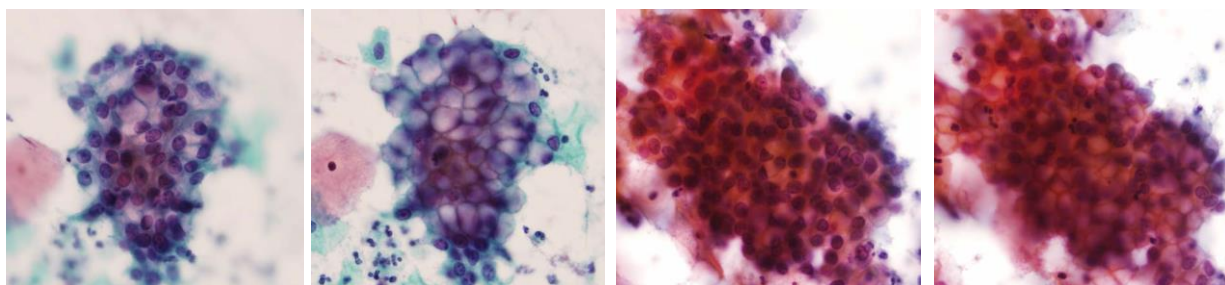
Гистологическая картина

Цитологические признаки

- наличие трехмерных кластеров с стратификацией и скученностью ядер
- легкий ядерный плейоморфизм,
- легкая или умеренная ядерная гиперхромазия
- цитоплазматические вакуоли
- фигуры митозов
- апоптотические тельца

Surg Pathol. 2000;24:1414–9

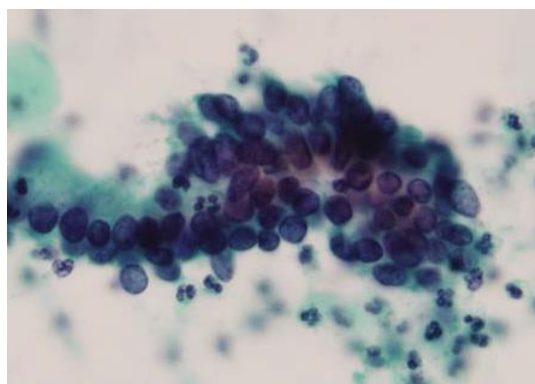
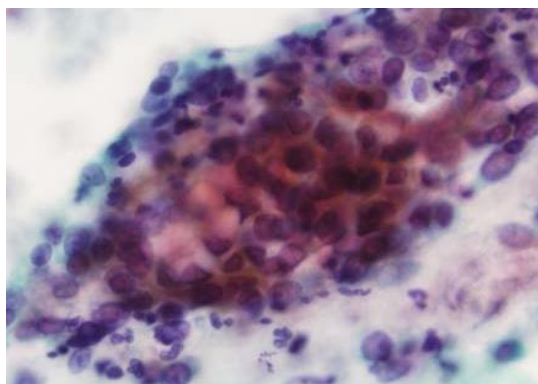
Цитологический метод в диагностике SMILE



Атипичические железистые клетки с наслаивающимися друг друга ядрами и ядерным полиморфизмом. Рефокус для акцентирования на муцин-содержащих вакуолях. Традиционная цитология (окраска, Папаниколау x 600).

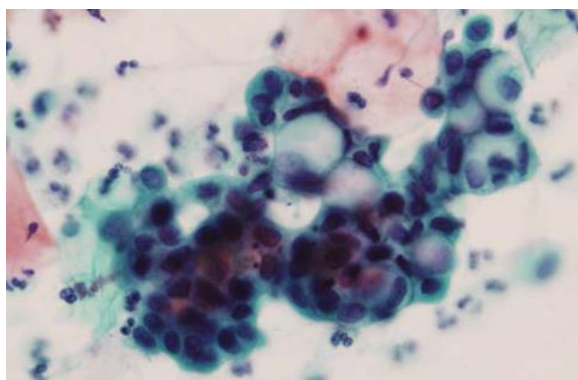
[Diagn Cytopathol. 2014 Sep;42\(9\):792-7.](#)

Сравнение цитологической картины SMILE и эндоцервикальной аденокарциномы in situ (usual-type)

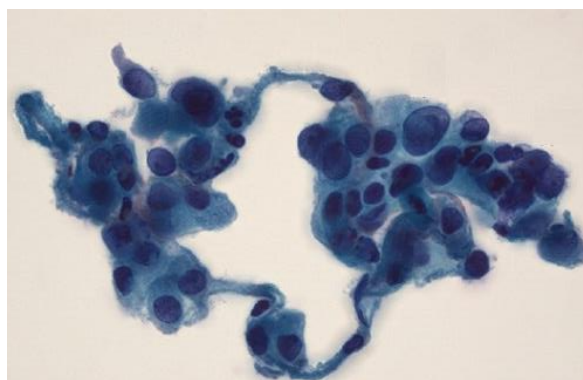


Атипичические железистые клетки. Традиционная цитология (окраска, Папаниколау x 600).

Сравнение традиционного и жидкостного методов (SurePath) в диагностике SMILE



Традиционная цитология (окраска, Папаниколау x 600).



Жидкостная цитология (окраска, Папаниколау x 630).

[Cytojournal](#). 2014; 11: 22.

[Diagn Cytopathol](#). 2016 Jan;44(1):20-5.

Какой же должен быть идеальный метод для приготовления жидкостного мазка?

- Дешевый
- Быстрый
- Высокопроизводительный
- Препарат высокого качества (очищенный от примесей, клеток крови и пр.)
- Большая площадь для оценки мазка
- Незначительное искажение клеток
- Возможность оценки мазков разных локализаций
- Одобрено FDA (гарантия качества!)

Мнение практикующего цитолога!
Внимание! Субъективно!

Сравнение под микроскопом: главное - результат



При первом приближении микрофотографии трудноотличимы друг от друга

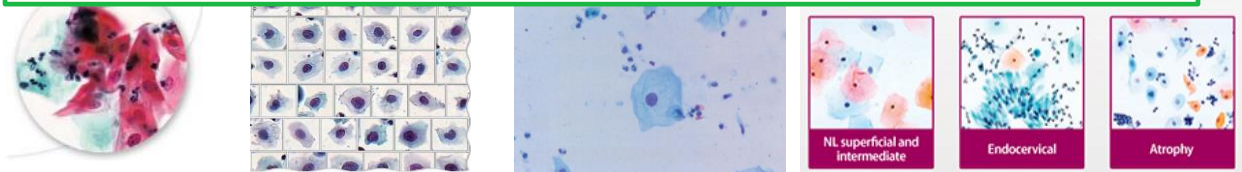
Традиционный мазок

ThinPrep

SurePath

CellPrep

Как же сравнить эффективность данных методов?



MonoPrep

Галерея BestPrep

LiquiPrep

E-prep

В нашем отделении две системы для приготовления жидкостных мазков – SurePath и CellPrep

- Публикаций на большой выборке пациенток по сравнению этих двух методов нет
- Собственные данные находятся в состоянии накопления
- Пилотное исследование (369 пациенток) показало высокую конкордантность результатов, полученных с помощью CellPrep и SurePath (0,025)
 - Отмечено более высокое качество визуализации ядра при применении SurePath, однако значительно лучшая визуализация ядрышек при применении CellPrep
 - Фактически единственным минусом в технологии CellPrep авторы видят невозможность лабораторного техника отойти от аппарата

[2017 Cytopathology](#) Volume 22, Issue Supplement s1,

Другие сравнительные данные по CellPrep

- Доступны данные по сравнению CellPrep и Thin Prep, а также CellPrep и традиционных мазков: CellPrep обладает значительно большей специфичностью по сравнению с традиционным мазком и несколько большей – по сравнению с ThinPrep



Table 4. The relationship between results of ThinPrep® and CellPrep® test

ThinPrep®	Cervicovaginal smear CellPrep®			ThinPrep®	Body fluid CellPrep®			ThinPrep®	Urine CellPrep®		
	Negative*	Positive†	Total		Negative*	Positive‡	Total		Negative*	Positive‡	Total
Negative*	413	5	418	Negative*	18	4	22	Negative*	33	0	33
Positive†	4	32	38	Positive‡	2	18	18	Positive‡	0	1	1
Total	417	37	454	Total	20	20	40	Total	33	1	34

Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) were 89%, 98%, 86%, and 99% in cervicovaginal smear, 89%, 82%, 80%, and 90% in body fluid, respectively. In urine sample, all of these values were 100%.

Negative*: Negative or reactive cellular change

Positive†: Atypical squamous cells of undetermined significance/atypical glandular cells or higher lesion

Negative‡: Negative or atypical cells

Positive‡: Suspicious malignancy or higher lesion

The Korean Journal of Cytopathology 2007;18(1): 29-35,

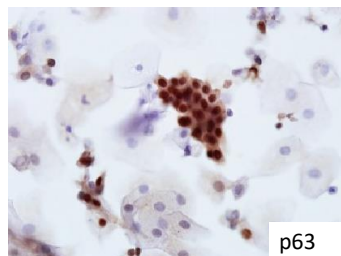
Korean J Pathol. 2012 Feb; 46(1): 68–74.

*KoreanJPathol.*2009.43.5.448

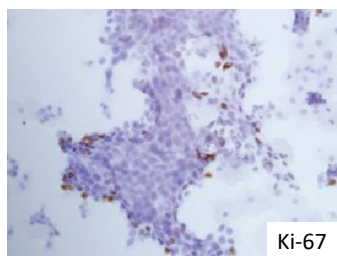
Korean J Intern Med. 2017;.kiim.2016.173

Иммуноцитохимический метод

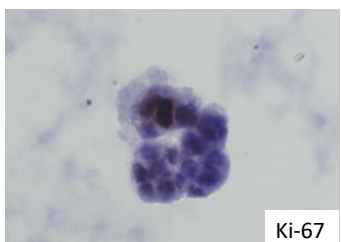
CellPrep



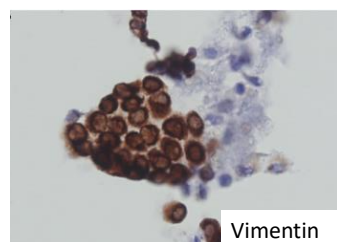
p63



Ki-67

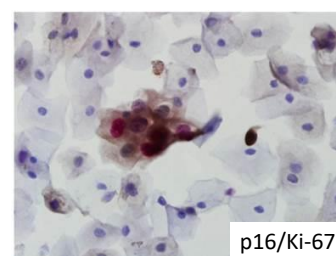


Ki-67



Vimentin

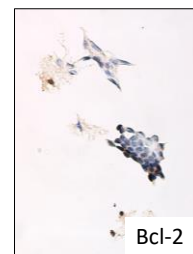
SurePath



p16/Ki-67



p53



Bcl-2

Korean Journal of Pathology 2013; 47(3): 265-274
The Korean Journal of Cytopathology Vol 18 No 1 / 2007

Препараты Асатуровой А.В.

Молекулярно-генетические исследования

Таблица 2. Уровень экспрессии исследованных генов в группах CIN1 или менее и CIN2+

Исследуемые гены	CIN1 или неизмененный эпителий/ доброкачественные изменения (M±SD), усл. единиц, n=25 случаев	CIN2+ (M±SD), усл. единиц, n=34 случая
MGB1	12791,46±16009,29	16527,37±35600,78
CTSL2	60,91±81,20	40,62±93,77
MFC	16,75±15,60	24,57±22,31
BCL2	7,76±8,04	4,61±2,03
BIRC5	4,85±4,78	9,26±6,00
CCND1	58,90±31,47	32,58±26,94
NDRG1	29,26±21,11	65,87±86,31
CD68	10,18±10,11	7,29±6,16
KI67	8,89±10,11	34,69±33,15
TERT	4,45±9,77	22,69±42,78
HER2	17,69±9,87	15,75±8,18
PTEN	3,19±1,35	3,13±2,38
BAG1	6,09±3,33	3,79±1,42
PGR	800,47±1509,31	210,49±299,56
CCNB1	35,72±35,75	80,79±56,51
ESR1	153,99±69,11	63,59±47,38
GRB7	21,16±28,63979	19,53±9,62
MMP11	1387,82±3917,79	657,99±1568,43
STK15	3,55±2,58	6,10±3,00
MYBL2	18,07±20,82	87,08±72,57
P16INK4A	15,73±38,40	43,10±37,65

* – M-среднее, SD – среднеквадратичное отклонение.

В резидуальном материале Cellprep возможен анализ широкого спектра мРНК генов методом ПЦР – повышение уровня специфичности дифференциальной диагностики CIN2+ и CIN 1 и< (чувствительность 86,44%)

Таблица 3. Итоги анализа дискриминантных функций гистологически подтвержденной CIN 1 и менее и CIN 2+

Ген	Уилкса – Лямбда	Частная – Лямбда	F-исключ – (1,56)	p-уровень	Толер.	1-толер. – (R-кв.)
ESR1	0,728597	0,703859	23,56140	0,000010	0,997449	0,002551
MYBL2	0,615865	0,832698	11,25127	0,001433	0,997449	0,002551

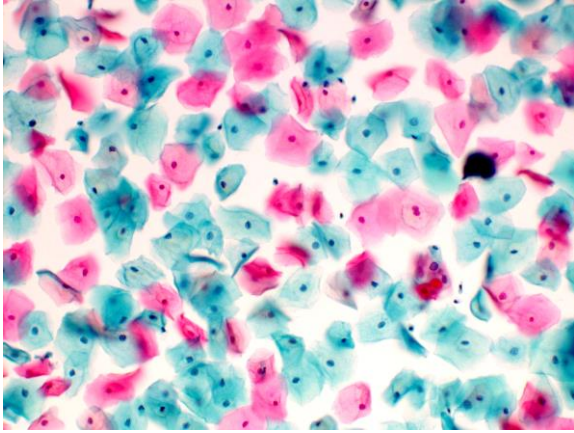
Акушерство и гинекология. 2017. №4. C95-100) (совместные данные с Российским научным центром рентгенорадиологии)

Возможность cito - диагностики

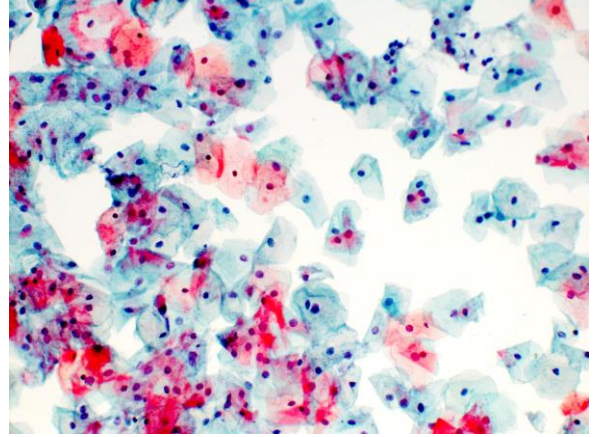
- Несомненным преимуществом технологии CellPrep является возможность выполнения срочных цитологических исследований
- Возможность планирование дальнейшего обследования, оперативного вмешательства, проведения протоколов вспомогательных репродуктивных технологий в тот же день:
 - + многие процедуры, манипуляции, методы исследования «привязаны» к дню менструального цикла
 - + многие пациентки Национального центра приезжают на обследование из других городов и должны уехать в тот же день

Просмотр препаратов: традиционный мазок,
мазок SurePath и CellPrep
(окраска традиционных мазков
гематоксилином и эозином, окраска
жидкостных мазков по Папаниколау)

Нормальный цитологический мазок, x200



SurePath

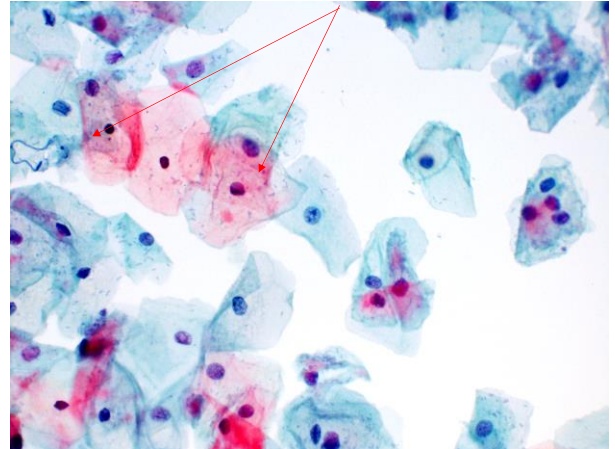


CellPrep

Нормальный цитологический мазок, x400

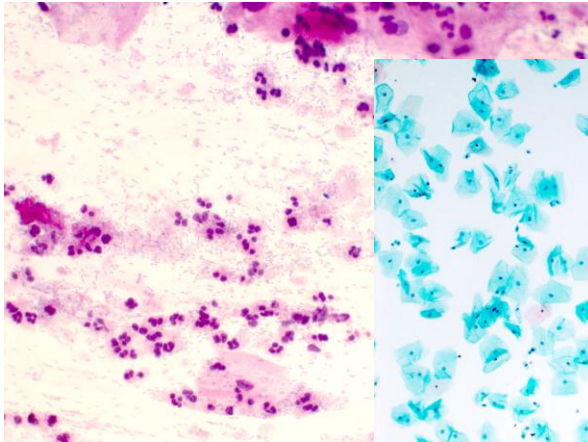
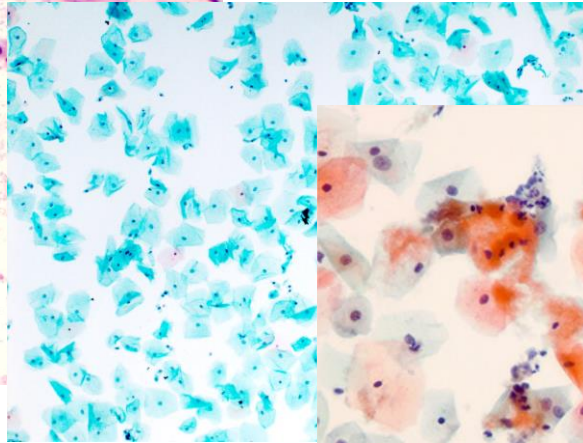


SurePath

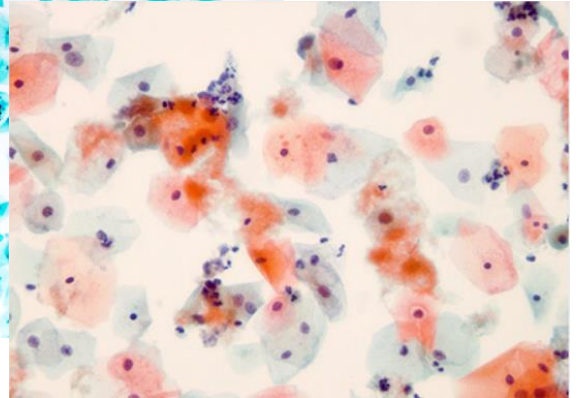


CellPrep

Хронический цервицит, x100, x200

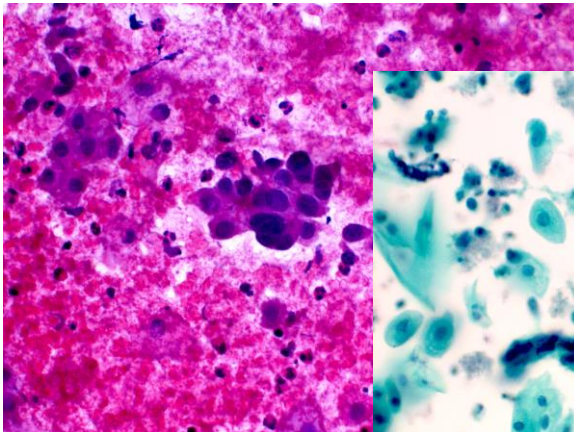
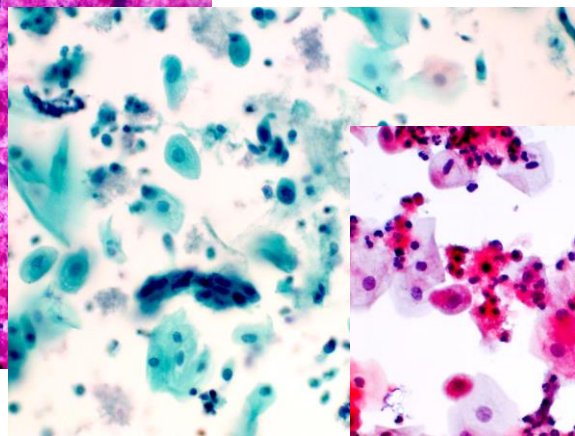
Традиционный
мазок

SurePath

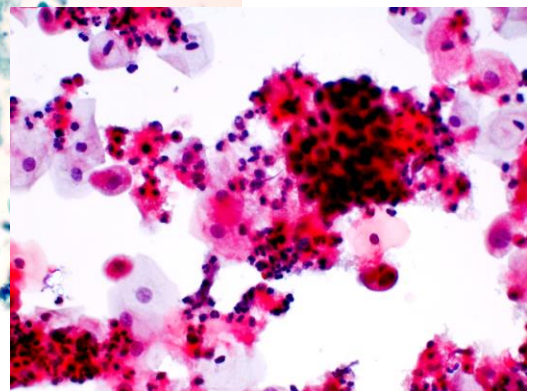


CellPrep

Тяжелая дисплазия, H-SIL, x200, x400

Традиционный
мазок

SurePath



CellPrep

Заключение – результаты начальных наблюдений

- Удачное дополнение систем жидкостной цитологии в нашем отделении
- Возможность срочного цитологического исследования благодаря системе CellPrep
- Более «нативное» изображение, в большем количестве случаев можно адекватно оценить палочковую микрофлору.
- Накопление параллельно взятого материала, а также сравнение разных выборок позволит сделать дополнительные выводы об особенностях обоих методов.



Спасибо за внимание!