

## **Цитологическая диагностика: вчера, сегодня, завтра**

Славнова Е.Н. – к.м.н.,  
Старший научный сотрудник  
отделения онкоцитологии МНИОИ  
им.П.А.Герцена

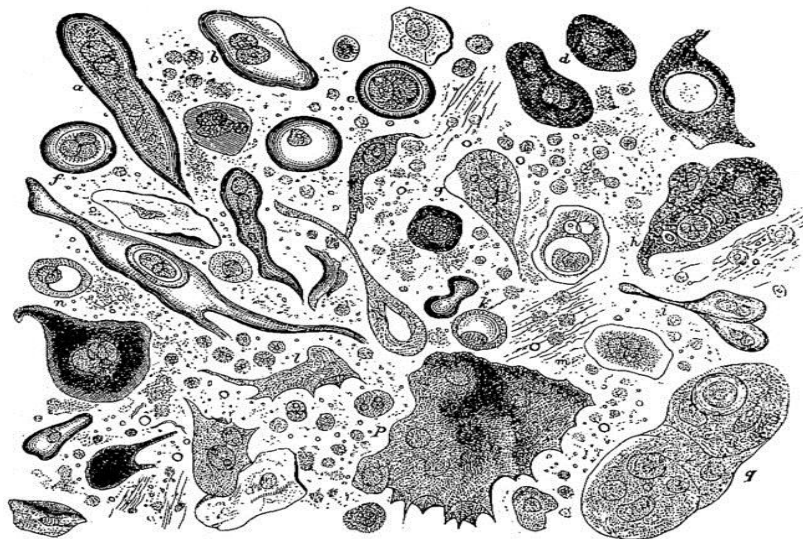
- **Клиническая или диагностическая цитология, изучающая клеточный состав патологических процессов, в качестве отдельной медицинской специальности сформировалась совсем недавно. Только в 1941 г., после работ Г.Папаниколау и Н.Траута цитология стала официально признанной дисциплиной.**
- **4 этапа развития цитологии**
- **1 - ранний исторический этап (1850-1940);**
- **2 - развитие и расширение эксфолиативной цитологии в США и других странах (1940-1960 годы);**
- **3 - консолидация цитопатологии как дисциплины и параллельных разработок скрининга рака шейки матки и тонкоигольных аспирационных биопсий (1955-1985);**
- **4 - становление цитопатологии как дисциплины и ее интеграция с новыми технологиями (с 1985 года по настоящее время).**

## Цитологическая диагностика: вчера

### РАННИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ЭТАП(1850-1940)

- Одно из ранних сообщений - в своей книге доктор Walshe (Англия) в 1851 году « при распаде опухоли легкого в мокроте иногда можно обнаружить микроскопические признаки рака».
- В 1954 году профессор Lionel Beale (Англия) издал книгу с иллюстрациями «Микроскоп и его применение в клинической практике»
- В 1961 году прекрасный пример, был опубликован в Англии за 22 года до рождения Папаниколау, где показан рисунок слущенных клеток рака из гортано-глотки, полученных посмертно от человека, который умер от рака этой локализации. Очевидно, что пациент умер от плоскоклеточного ороговевающего рака.
- В 1871 году атлас Lebert в Швейцарии где проиллюстрированы клетки рака шейки матки.
- Все эти публикации не рассматривались как имеющие практического применения.
- Изучение окрашенных клеток. В 1896 году Vahrenberg из Кливленда (Огайо) методика «клеточных блоков» из серозных жидкостей.
- **В конце 19 века, в основном в Англии, клетки рака были обнаружены и описаны в различном материале, который используется и сейчас. Однако, не смотря на эти достижения, все еще отсутствовало четкое представление о морфологии клеток рака, не было концепции использования метода для диагностики рака различных локализаций.**

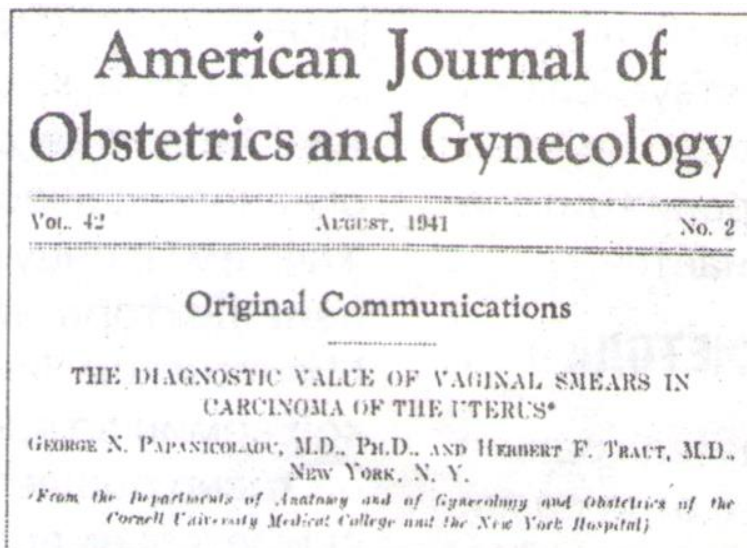
Плоскоклеточный ороговевающий рак гортано-глотки. Этот рисунок появился в медицинской литературе за 22 года до рождения Папаниколу (1961г.)



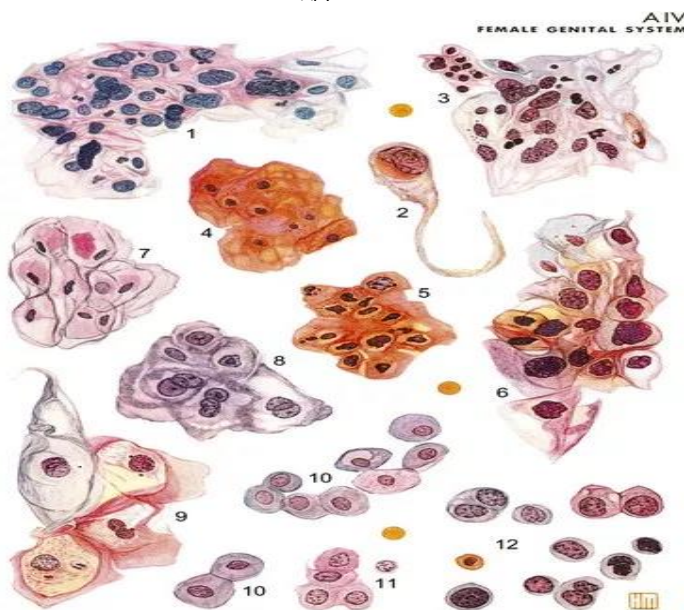
## ВТОРОЙ ЭТАП – РАЗВИТИЯ И РАСШИРЕНИЯ ЭКСФОЛИАТИВНОЙ ЦИТОЛОГИИ (1940-1960 г.)

- Этап развития и распространения метода начался с 1941г. После публикаций Г.Папаниколу и Herbert Traut (Корнелльский университет) статьи «Значение влагалищных мазков в диагностике рака матки» в Американском журнале **Obst&Gynecol.**, за которой в 1943 году последовала их знаменитая монография «Диагностика рака шейки матки с помощью влагалищных мазков» с великолепными рисунками. Значение монографии оценили гинекологи.
- Практически в то же время Аурел А. Бабес (1885-1961), выдающийся академический патологоанатом в Румынии, опубликовал крупную статью по тому же вопросу, которой предшествовали презентации в Бухарестском гинекологическом обществе, где он точно описал появление клеток плоскоклеточной карциномы при соскобах с шейки матки.
- Публикации Папаниколу и Траута в 1941 и 1943 годах ознаменовали вторую эру цитопатологии и появление скрининга рака шейки матки. Прорыв состоял в том, что «злокачественные клетки» можно было наблюдать в соскобах из шейки матки, которая была полностью нормальной невооруженным глазом, взятой у здоровой бессимптомной женщины. Задумана идея предраковых изменений клеток. Одновременно с развитием скрининга шейки матки цитологический метод диагностики рака стал более широко применяться к респираторным, пищевым и мочевым путям, а также к серозным полостям и центральной нервной системе. В 1954 году Папаниколу опубликовал свой всеобъемлющий атлас эксфолиативной цитологии.

Обложка журнала со статьей Др.Папаниколау и Др. Traut о значении исследования влагалищных мазков при диагностике рака матки



Атлас Эксфолиативной Цитологии Георгиоса. Папаниколау, Рисунок AIV, Кембридж, Массачусеттс: Издательство Гарвардского университета, авторское право © 1954, 1956, 1960 от Фонда Содружества.



**«Великий даритель жизни – один из избранных людей Земли»  
Георгиос Папаниколау (1883-1962)»**



## **Георгиос Папаниколау (1883-1962)**

- Георгиос Папаниколау родился в Греции в г.Кими (остров Эвбея) в 1883 в семье врача.
- Закончил медицинский факультет Афинского университета в возрасте 21 года, служил в армии, работал и продолжил последиplomное образование в Германии в университетах Йены, Фрайбурга и Мюнхена. В 1910 г. защитил докторскую диссертацию в Мюнхенском университете. С начала и до окончания Балканских войн служил добровольцем в греческой армии младшим лейтенантом медицинской службы (1912-1913гг.).
- После окончания Балканских войн переехал в США. В 1914 г. поступил на работу в отделение анатомии Корнелльского университета, США.
- В 1928г. Представил работу «Новый метод диагностики рака».
- В 1924 г. звание профессора
- С 1939 года начато применение «Пап-Теста»
- В 1941 и 1943 годах статья и монография после чего запускается широкомасштабная программа простого, дешевого и безболезненного метода Папаниколау.
- Развитие метода для диагностики рака легких, желудка, мочевого пузыря и других органов – 160 научных трудов, включая пять монографий.
- 1954 год издан атлас «Атлас эксфолиативной цитологии», о котором сам ученый писал: *«Он составляет один из последних моих вкладов в науку. Я благодарен Богу, что он подарил мне долгую жизнь и дал мне силы счастливо ее закончить».*
- Проработав в университете Корнелла 48 лет, в ноябре 1961г. Папаниколау оставляет его, чтобы возглавить институт рака в Майами.
- Умер Папаниколау в 1962 году в некрологе Института рака его назвали «дарителем жизни – одним из избранных людей Земли»
- За свои труды Папаниколау удостоен многих наград, а метод Папаниколау – «Пап-тест», Пап-мазок» - внедрен во многих странах
- Главная заслуга великого греческого ученого – миллионы спасенных жизней.
-

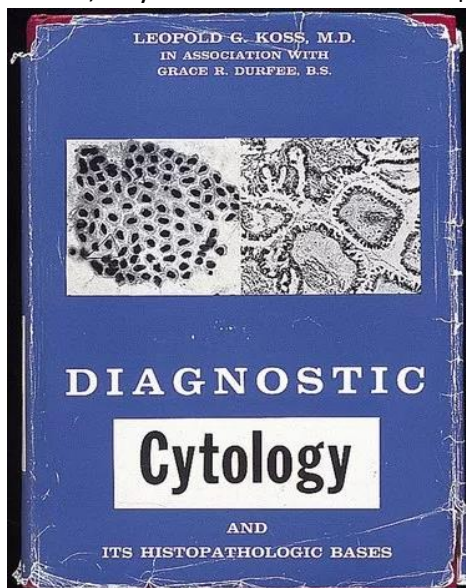
## Корнелльский Университет



### 3 этап - консолидация цитопатологии как дисциплины; параллельные разработки скрининга населения и цитологии тонкоигольных аспирационных биопсий (1955-1985)

- Эпоха консолидации была объявлена двумя публикациями:
- первый выпуск *Acta Cytologica* в 1957 году, старейший журнал, посвященный исключительно цитопатологии под редакцией др. **George Wied**;
- а в 1961 году - публикацией руководства «Цитологическая диагностика и ее патогистологические основы» Леопольда Г. Косса совместно с Грейс Р. Дурфи. Эта книга, теперь в пятом издании (2005 г.), собрала не только теоретический, но и практический опыт цитопатологии, и взаимосвязь между цитологией и гистопатологией, необходимой основой для всех цитологов.
- За последние 70 лет опубликовано тысячи статей и десятки книг, написанных на тему цитопатологии. Только на английском языке в настоящее время существует четыре журнала, посвященных исключительно цитопатологии: *Acta Cytologica*, диагностическая цитопатология, цитопатология и цитопатология рака, начатые в 1957, 1985, 1990 и 1997 годах, соответственно.
- Общества, пропагандирующие цитологию, были созданы на местном, национальном и международном уровнях. Предшественником этого был Социологический цитологический совет, основанный в 1951 году и позднее известный как Американское общество цитопатологии. В течение следующих нескольких десятилетий развилось много других обществ, например, Международная академия гинекологической цитологии (1957), позже известная как Международная академия цитологии, Британское общество клинической цитологии (1961), Австралийское общество цитопатологии (1969) и Европейская федерация цитологических обществ (1969). Эти общества в настоящее время играют важную роль в поддержании высоких стандартов в цитопатологии своей образовательной деятельностью, их вкладе в сертификацию патологов и технологов в цитопатологии, их влиянии на исследования и их вкладе в законодательство, которое влияет на практику цитопатологии.

Важная веха в цитопатологии: первое издание  
 Диагностической цитологии и ее гистопатологические  
 основы, опубликованное в 1961 году.



- **В настоящее время цервикальный скрининг практикуется в большей или меньшей степени почти во всех странах развитого мира. Инвазивный рак шейки матки является редким заболеванием в странах, где скрининг широко доступен, но остается наиболее распространенной причиной смерти от рака у женщин в странах без таких программ.**
- Первые успешные программы, были зарегистрированы в British Columbia и Tennessee.
- Первую программу в Великобритании, возглавили Макгрегор и Бейрд в начале 1960-х годов.
- В Ньюкасле, Эдинбурге, Бирмингеме и Лондоне были созданы экспериментальные центры с учебными заведениями.
- К 1986 году было получено достаточное количество данных из международного многоцентрового анализа, чтобы показать, что пятилетний и трехлетний скрининг уменьшают риск инвазивного рака на 84% и 93% соответственно, тогда как небольшая дополнительная выгода была достигнута путем ежегодного скрининга.

## Цитология FNA

- Развитие аспирационной цитологии в США прошло под огромным влиянием шведской школы цитопатологов. FNA была впервые представлена в Швеции Франценом, гематологом-онкологом, который применил метод окраски Романовского, который ранее использовали для аспиратов костного мозга.
- Этот метод был дополнительно разработан Soderstrom, Fox, а также Лопес Кардосо, Фон Хаам, Чрепинко и Hauptmann. Быстрое развитие этой методики основывалось на цитопатологах, исследующих собственные аспираты в клиниках, тесно связанных с отделами патологии, что облегчало корреляцию цитологии и гистологии. В Великобритании FNA была введена хирургами, в частности Джоном Уэббом, которого с энтузиазмом поддержали некоторые из известных цитопатологов того времени. Этот метод также стал популярным в США после длительного перерыва с момента его раннего использования в 1930-х годах.
- Эта популярность не только стала результатом распространения цитопатологической диагностики, но и способствовала развитию диагностической ангиографии, ультразвука и компьютерной томографии. Эти методы позволили реализовать FNA практически для любого органа. Это еще больше усилилось благодаря внедрению гибкой эндоскопии и гибридных методов, таких как эндоскопическая FNA с ультразвуковым контролем. Во многих центрах FNA выполняют цитопатологи, которые развили репутацию высокой точности и низкими неадекватными показателями, когда процедуры выполняются в их специализированных клиниках. Преимущества немедленной оценки адекватности цитологических препаратов.
- Развитие аспирационной цитологии оказалось одним из самых больших достижений в анатомической патологии и привело к концу эпохи консолидации. Это окончание было обобщено д-ром Джорджем Л. Уидом, редактором Acta Cytologica, в личном сообщении с д-ром Бернардом Нейлором, когда он сказал: **«Цитологические крестовые походы закончены»; к сожалению, как и во всех крестовых походах, они никогда не заканчиваются.**

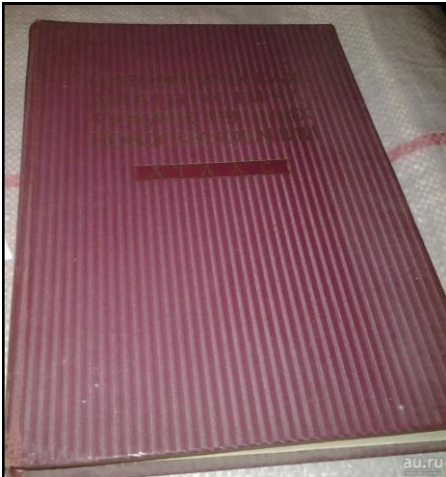
## МНИОИ им.П.А.Герцена

- С 1938 года в клинично-диагностической лаборатории под руководством Н.Н.Шиллер-Волковой занялись разработкой цитологической диагностики рака. Результаты работ по исследованию выделений влагалища, мокроты и пунктатов были доложены на сессии института в начале 1941 года. Работа явилась первым этапом в разработке метода цитологической диагностики новообразований в институте и включала более 300 наблюдений.
- Группой авторов Н.Н.Шиллер-Волкова, Н.И. Никитина, К.А.Агамова, М.Л. Брин в 1964 году издан атлас по цитологической диагностике злокачественных новообразований. В атласе обобщен 20-летний опыт и фактический материал МНИОИ им. П.А.Герцена по использованию метода цитологического исследования в онкологической практике. В атласе приведен ряд новых, разработанных авторами цитограмм, что значительно расширило возможности использования этого метода в диагностике злокачественных новообразований.





# Н.Н.Шиллер-Волкова



1964 г.

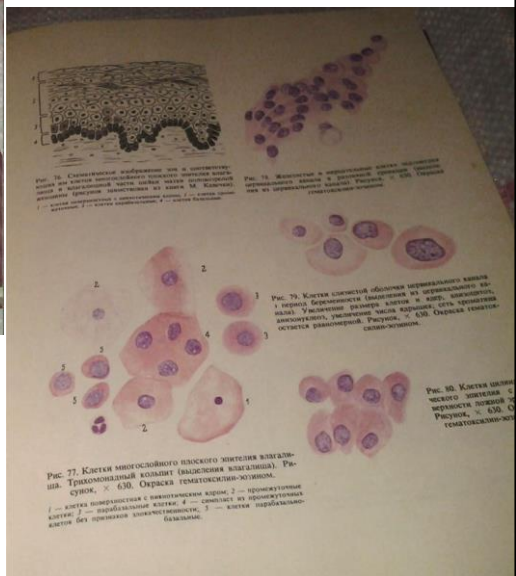


Рис. 16. Специализированные эндотелиальные клетки в эндотелиальном слое эндотелия при развитии эмбрионального эндотелия. Клетки имеют вид крупных полигональных клеток с обильной цитоплазмой и ядрами, содержащими крупные включения. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

Рис. 17. Многоядерные и полинуклеарные клетки эндотелия эмбрионального эндотелия в ранней стадии развития. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

Рис. 18. Клетки слизистой оболочки эмбрионального эндотелия в период беременности. Клетки имеют вид крупных полигональных клеток с обильной цитоплазмой и ядрами, содержащими крупные включения. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

Рис. 19. Клетки слизистой оболочки эмбрионального эндотелия в период беременности. Клетки имеют вид крупных полигональных клеток с обильной цитоплазмой и ядрами, содержащими крупные включения. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

Рис. 20. Клетки слизистой оболочки эмбрионального эндотелия в период беременности. Клетки имеют вид крупных полигональных клеток с обильной цитоплазмой и ядрами, содержащими крупные включения. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

Рис. 21. Клетки слизистой оболочки эмбрионального эндотелия в период беременности. Клетки имеют вид крупных полигональных клеток с обильной цитоплазмой и ядрами, содержащими крупные включения. 1 — клетки эндотелия; 2 — клетки эндотелия; 3 — клетки эндотелия; 4 — клетки эндотелия.

## Ассоциация клинических цитологов России (Воронеж, 1990г.)



**Трошин  
Владислав Павлович  
1992-1995**



**Петрова  
Александра Сергеевна  
1995-1999**



**Соколова  
Валентина Климентьевна  
2007-2011**



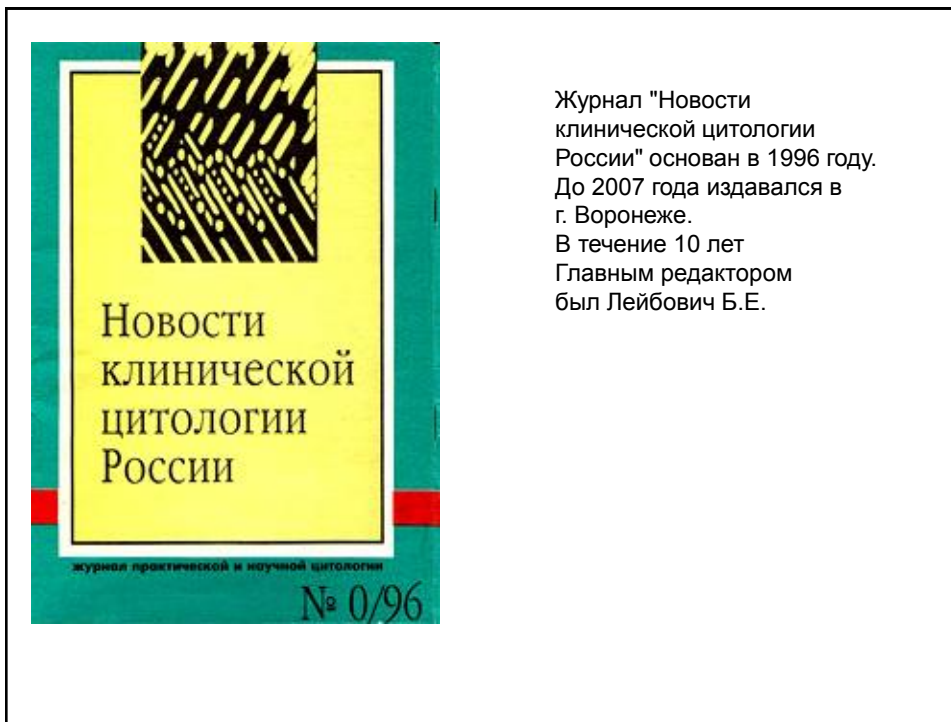
**Шапиро  
Наум Абрамович  
1999-2003**



**Богатырев  
Владимир Николаевич  
2003-2007**



**Шабалова  
Ирина Петровна  
2011**

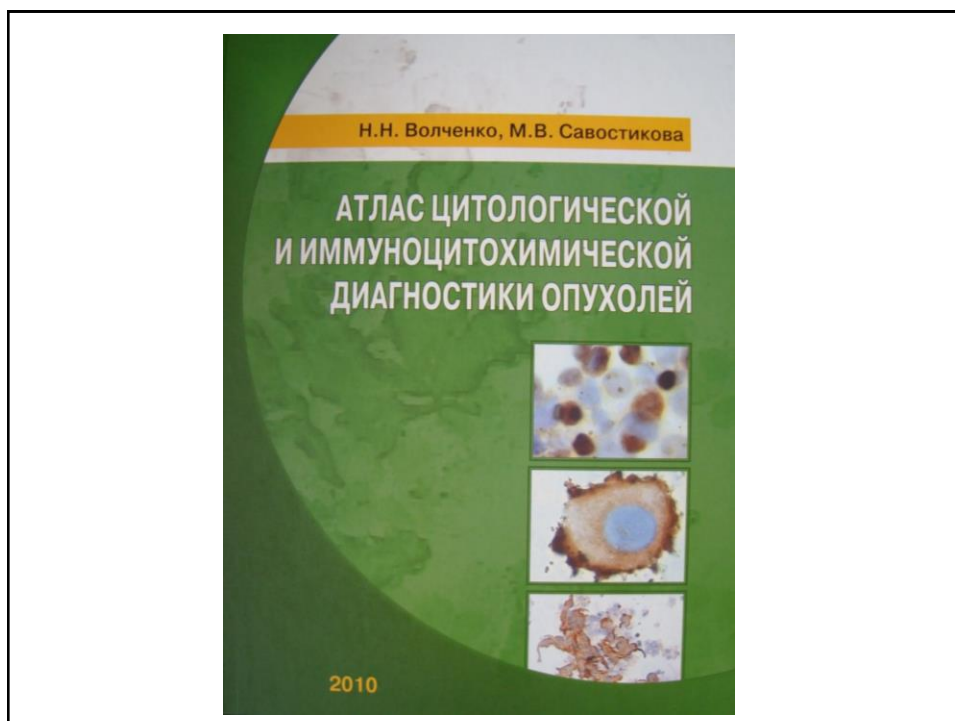


## Харьковская школа цитопатологии

- В конце XIX столетия (1899г.) в г.Харькове врач С.Л.Эрлих открыл кабинет лабораторных исследований, где в числе разных анализов выполняли исследование секретов и экскретов организма человека. Результаты исследований С.Л.Эрлих представил в докторской диссертации (1920г.)
- В дополнение к этому А.Я Альтгаузен из этой же Харьковской школы в 1948 году издал монографию «Диагностика злокачественных новообразований при микроскопическом исследовании секретов и экскретов».
- С 1950 года после состоявшейся в Киеве Всеукраинской проблемной конференции по цитологической диагностике рака и по решению Противоракового комитета МЗ Украины было рекомендовано признать перспективным метод цитологической диагностики для научного и практического применения.

**Цитологическая диагностика: сегодня**

**Четвертый этап – внедрение новых  
высокотехнологических методов в клиническую  
цитологию с 1985 года**

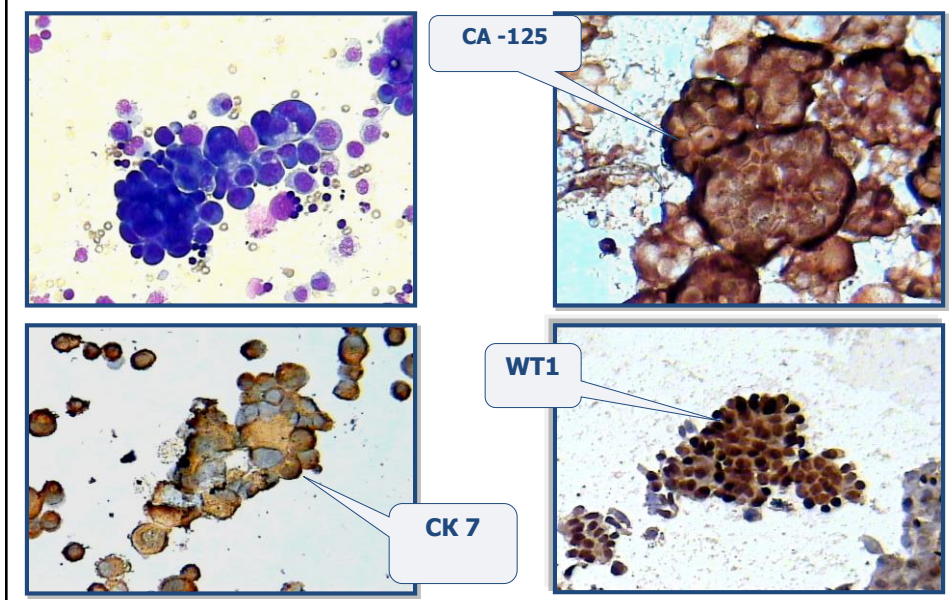


## ИЦХ применяется:

- установление гистогенеза и дифференциальная диагностика опухолей различных гистологических типов
- выявление источника метастазирования
- иммунофенотипирование злокачественных лимфом
- определение прогностических и предиктивных факторов: рецепторного статуса опухоли, C-erbB-2 и т.д.

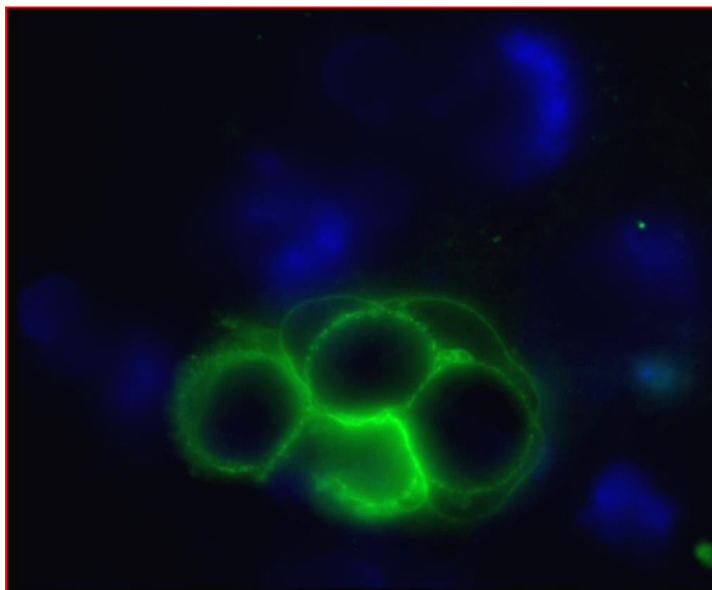
**При невыявленном первичном опухолевом очаге сочетание цитологического и иммуноцитохимического исследований с использованием широкой панели моноклональных антител в **93%** по экссудатам из серозных полостей удается установить локализацию опухоли.**

## Серозный рак яичников

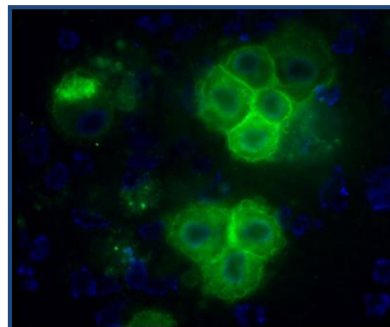
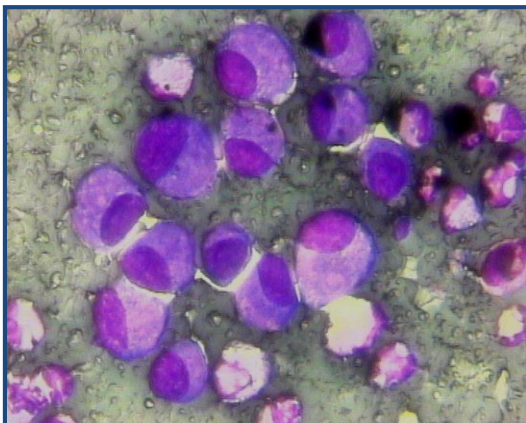


**Иммуноцитохимическое исследование позволяет у **15%** больных обнаружить малочисленные опухолевые комплексы, не выявленные при рутинном цитологическом исследовании.**

## Серозный рак яичников



## Рак желудка. Срочное интраоперационное исследование асцитической жидкости.



**Цитологическое заключение:** Специфический экссудат с наличием клеток перстневидноклеточного рака, что подтверждено иммунофлуоресцентным исследованием с эпителиальным маркером BerEP4 FITC.



- **Жидкостная тонкослойная цитология — способ получения монослойных цитологических препаратов при переносе клеток из фиксирующего или транспортного раствора на стекло с использованием методов различных физических методов: центрифугирования, осаждения и/или фильтрации.**

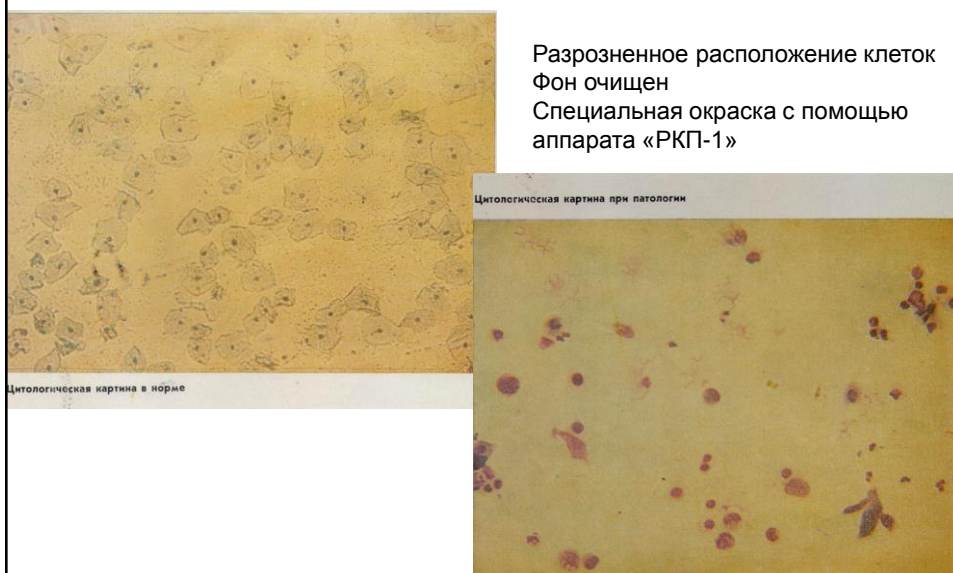
## **Автоматизация цитологической диагностики – 1970 - 1978 годы**

- Сотрудниками Латвийского научно-исследовательского института экспериментальной и вычислительной техники Академии Минздрава ЛССР и института электроники и вычислительной техники Академии наук Латвийской ССР разработаны автоматизированные устройства типа «ТАСИ», «КАДР», «Видеотерминал -4001», «РАСТР». Они предназначены для автоматизированного разделения цитологических препаратов по принципу альтернативной диагностики на группы «норма» и «патология». Для окончательной дифференциальной диагностики цитологических препаратов разработана также электронно-счетная аппаратура «Цитоклассификатор».
- Жидкостная технология для приготовления гинекологических мазков стала использоваться лишь в 1996 году в США (Thin Prep, Auto Cyto Prep). Жидкостная технология позволяет получать тонкослойные высококачественные стандартные препараты.

## Автоматизированные устройства



## Первые жидкостные препараты



## РАБОТА ПРИБОРОВ ОСНОВАНА НА РАЗНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ПРИНЦИПАХ



Cytospin



E-Prep



BD Prep Stain™ Slide Processor

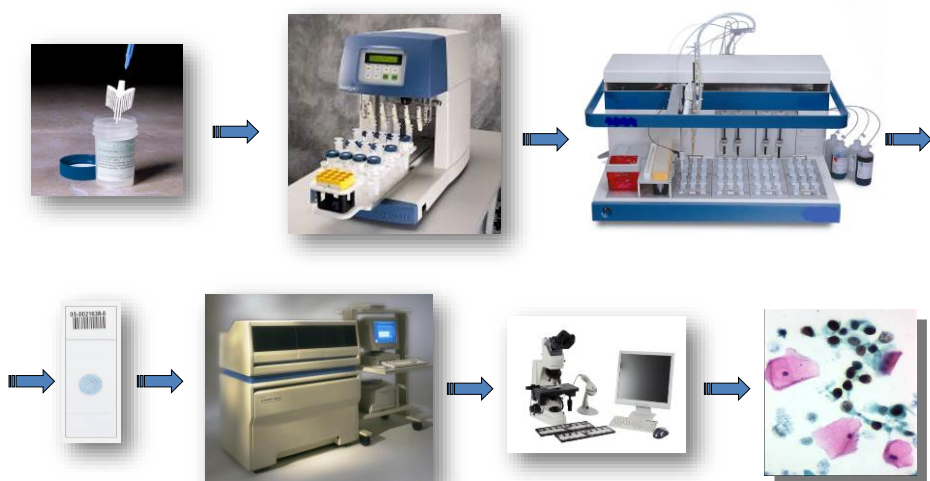


Thin Prep



Novaprep

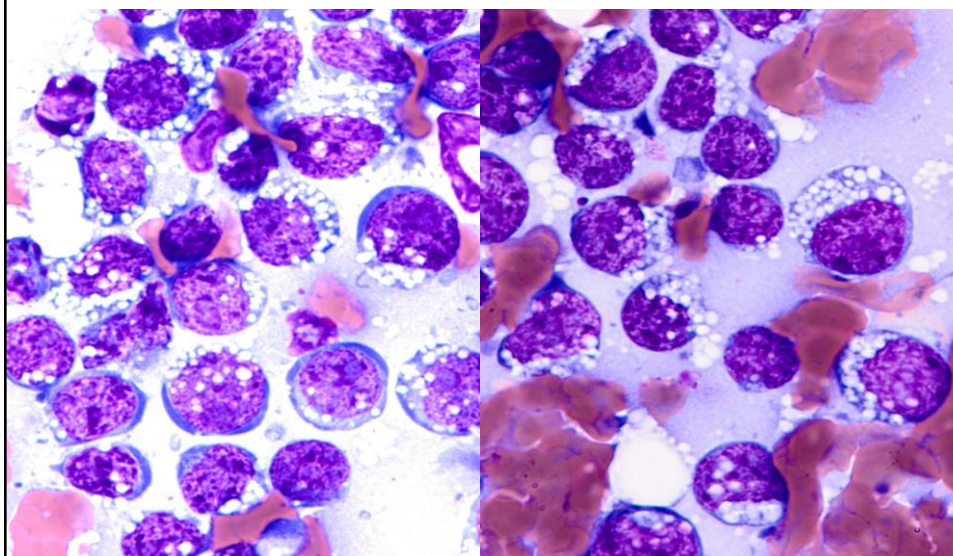
## BD TriPath™, комплексное решение, основанное на жидкостной цитологии



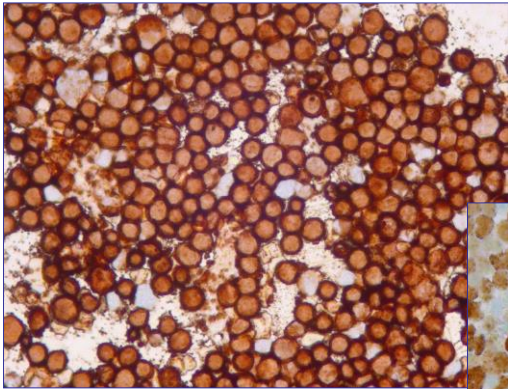
**ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА  
НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ  
МЕТОДА ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ**



**Лимфома Беркитта –  
асцитическая жидкость**

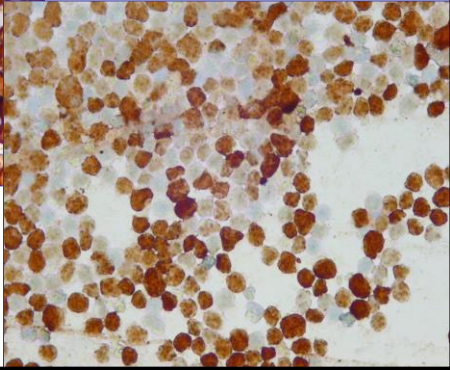


# Лимфома Беркитта

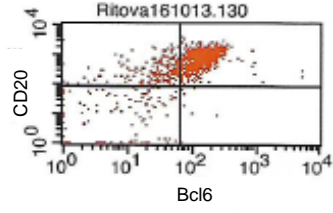
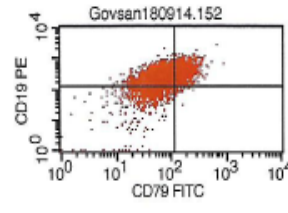
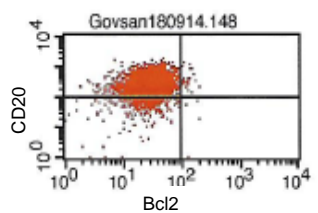
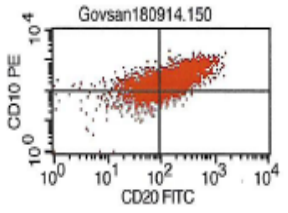


CD20

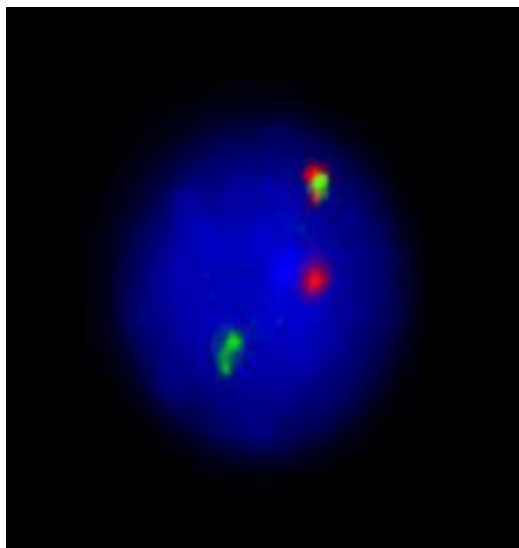
Ki- 67 100%



# Лимфома Беркитта

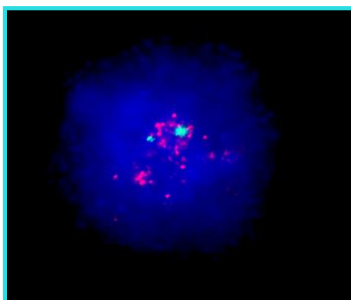


## Лимфома Беркитта перестройка гена *c-MYC* (8q24)

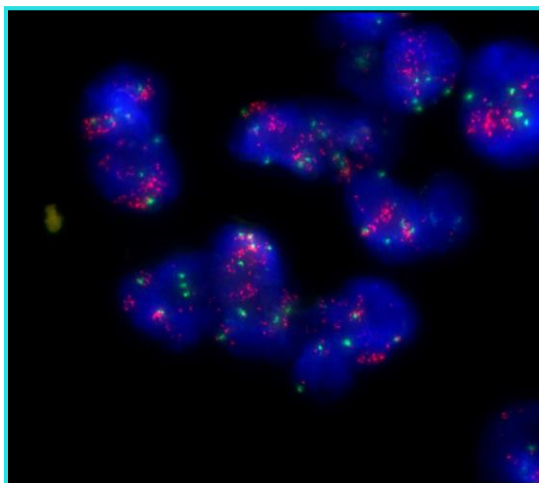


- 100% случаев ЛБ
- основной диагностический критерий
- перестройка локусов *c-MYC/8q24* и *IgH/14q32*, *IgK/2p12* или *IgL/22q11*

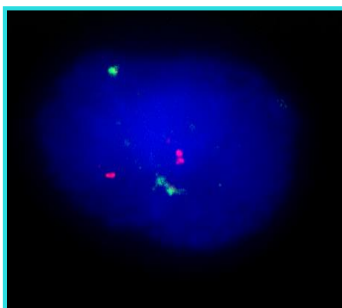
## Наличие амплификации гена HER2 (FISH-метод) при РМЖ



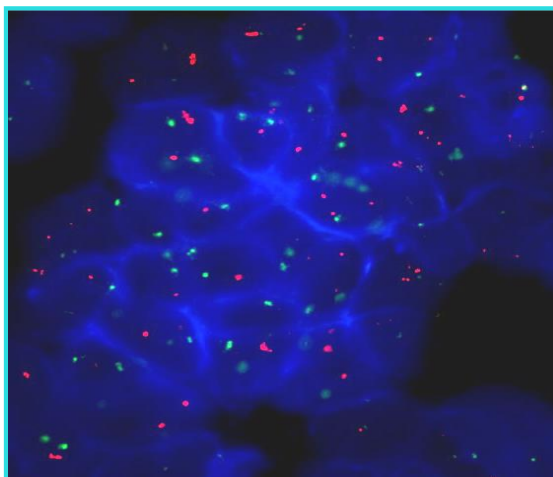
HER2  
Chr17



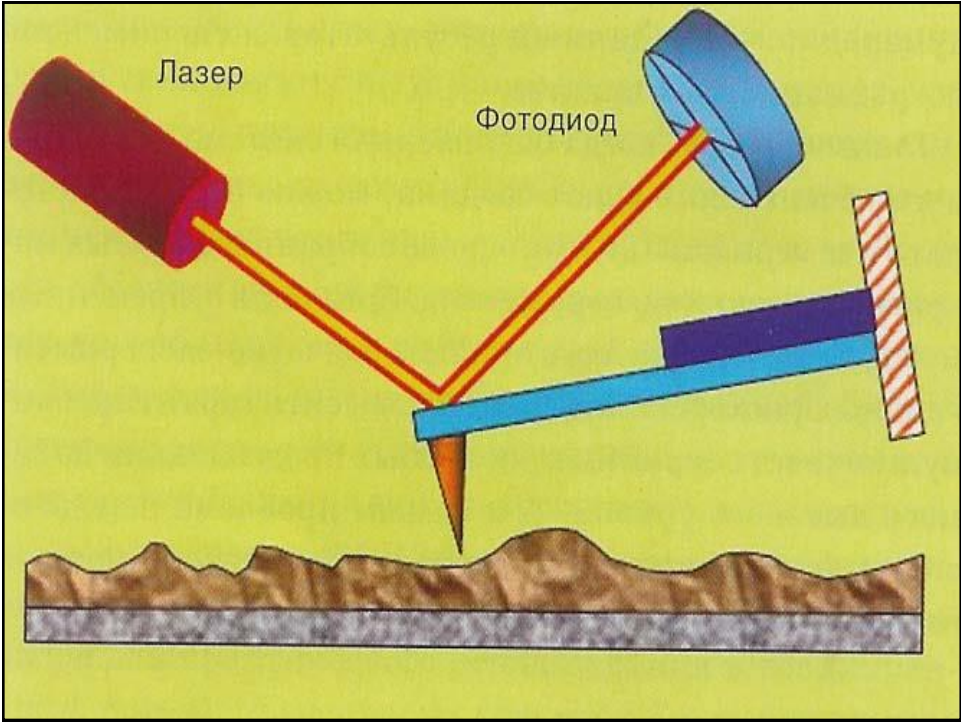
**Отсутствие амплификации гена HER2  
(FISH-метод) при РМЖ**



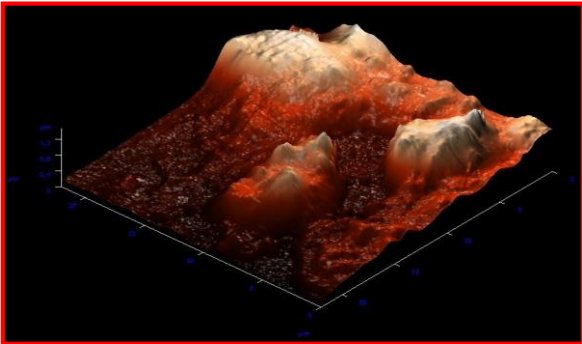
**HER2**  
**Chr17**



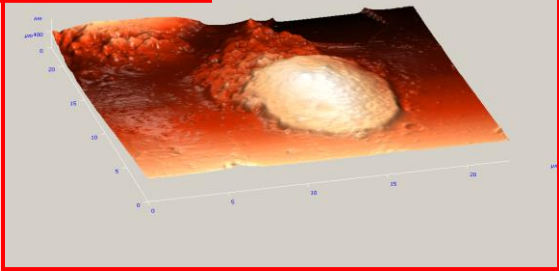
**Цитологическая диагностика:  
завтра**



**Инвазивная рак молочной железы неспецифического типа (протоковый)**

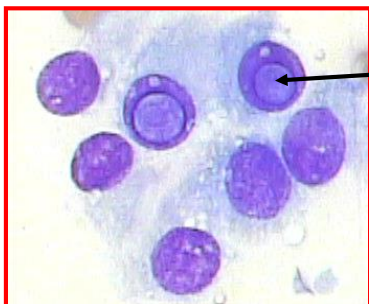


**Фиброаденома**



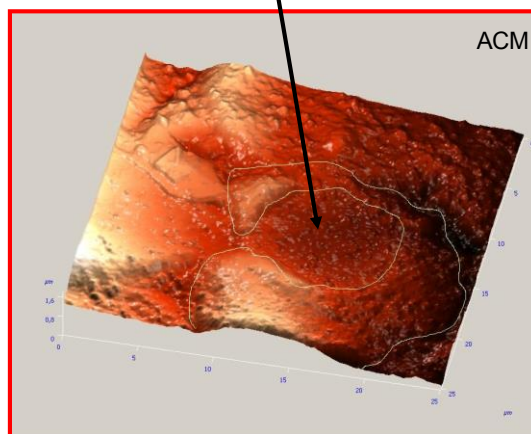


## Внутриядерные включения цитоплазмы папиллярный рак щитовидной железы



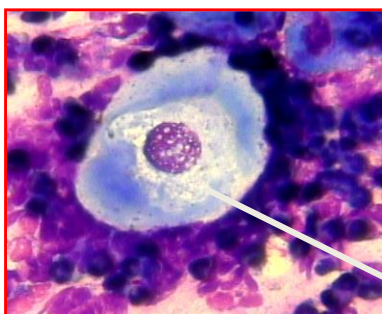
Рутинная цитограмма

Глубина 600нм



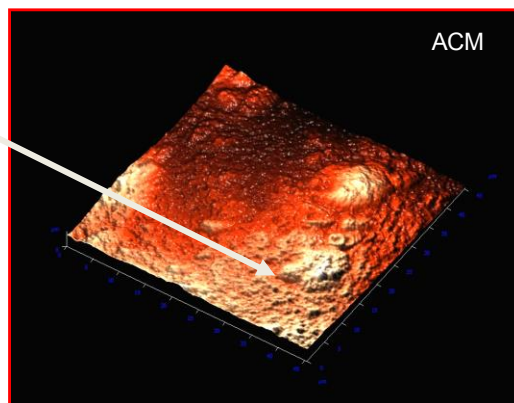
## Койлоциты

(ВПЧ-инфекция в клетках плоского эпителия  
шейки матки)

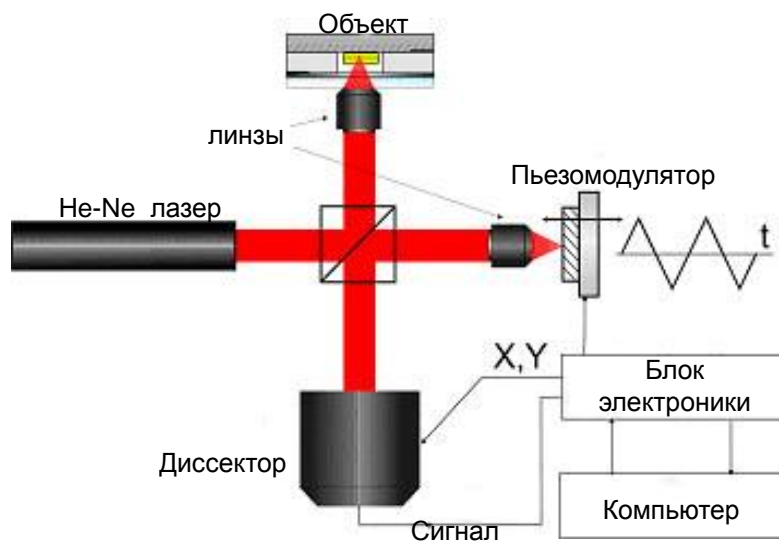


Рутинная цитограмма

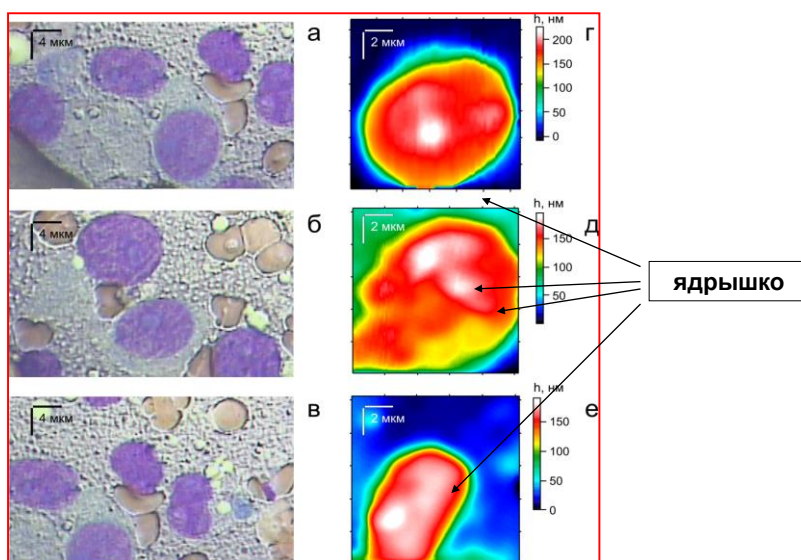
Глубина перинуклеарного  
некроза  
(просветления) -200нм



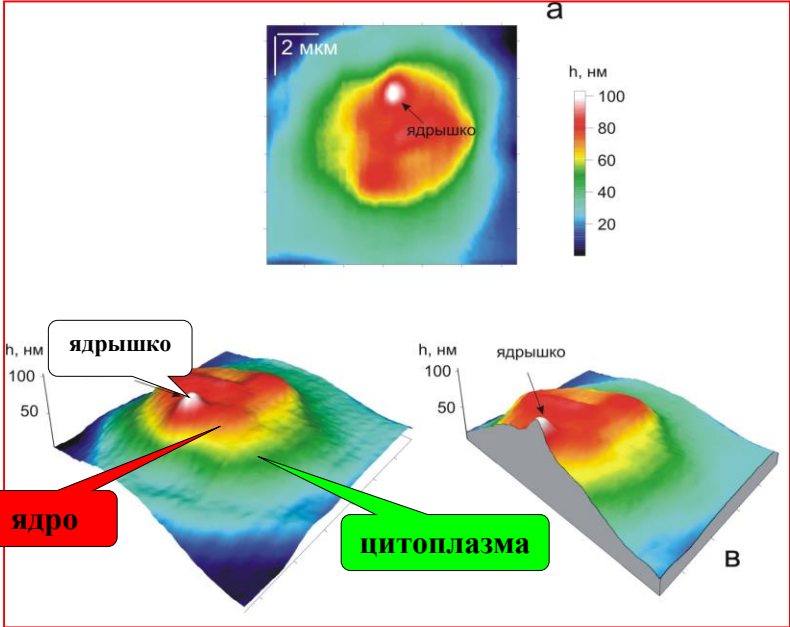
## Оптическая схема КФМ «Эрискан»



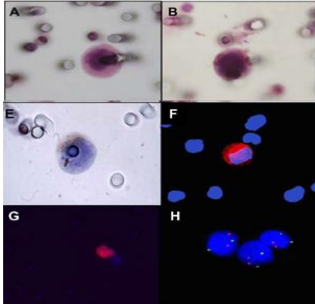
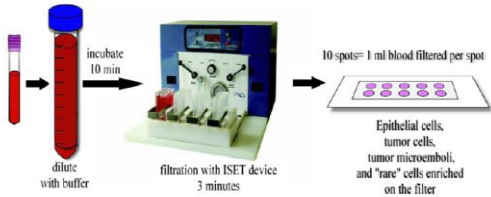
## Сравнительный морфологический анализ клеток эпителия молочной железы при раке



# Фазовое изображение клетки



# ISET system: isolation by size of epithelial cells



*Paterlini-Bréchet P et al.  
Cancer Letters  
2007;253 (2): 180-204*

### Resectable lung cancer

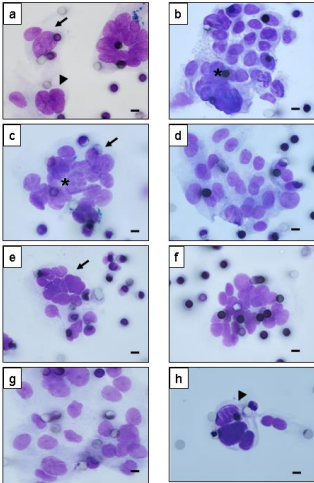


Figure 1

*Hofman V, et al. Preoperative CTC detection using ISET for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. Clin Cancer Res 2011, 17, 827-35*

### Resectable lung cancer

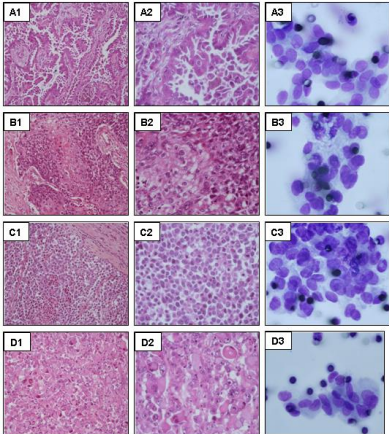
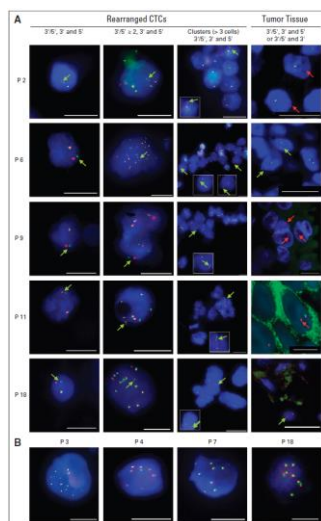


Figure 5

*Hofman V et al. Preoperative CTC detection using ISET for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. Clin Cancer Res 2011, 17, 827-35*

## Metastatic lung cancer: *ALK*



**Detection of anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) gene abnormalities in circulating tumor cells (CTCs) and tumor specimens of *ALK*-positive patients.**

(A) Examples of isolated or clusters of *ALK*-rearranged CTCs detected by filter-adapted fluorescent in situ hybridization (FISH) and of *ALK*-rearranged tumor cells in tumor specimens detected by FISH. Green arrows show an *ALK* rearrangement with a split 3' and 5' (red/green) signal. Red arrows show an *ALK* rearrangement with only the 3' signal.

(B) Examples of isolated CTCs with a gain of native *ALK* copies. Scale: white bars correspond to 10  $\mu$ m.

*Paillet E, et al. J Clin Oncol 2013, 31: 2273-81*

Благодарю за внимание