



Санкт-Петербург, Россия
10-11 сентября 2017 г.

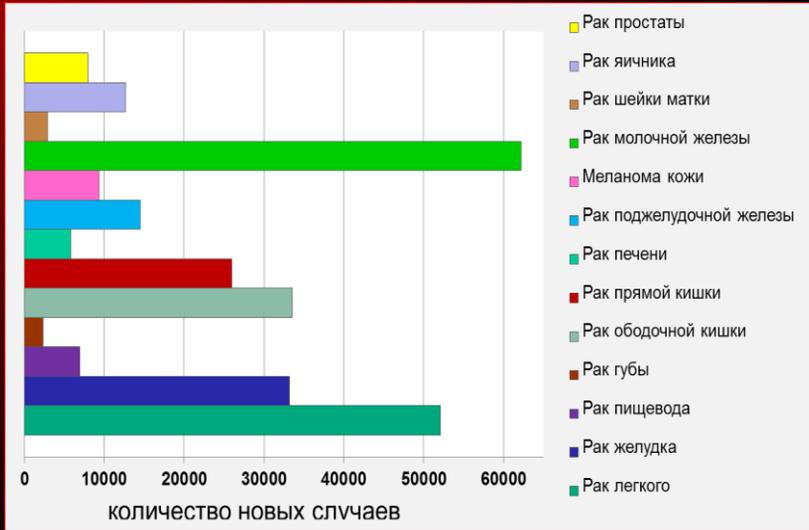
Цитологическая диагностика немелкоклеточного рака легкого: возможности и перспективы

Е.Ю.Фурминская, М.В.Савостикова
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
г. Москва

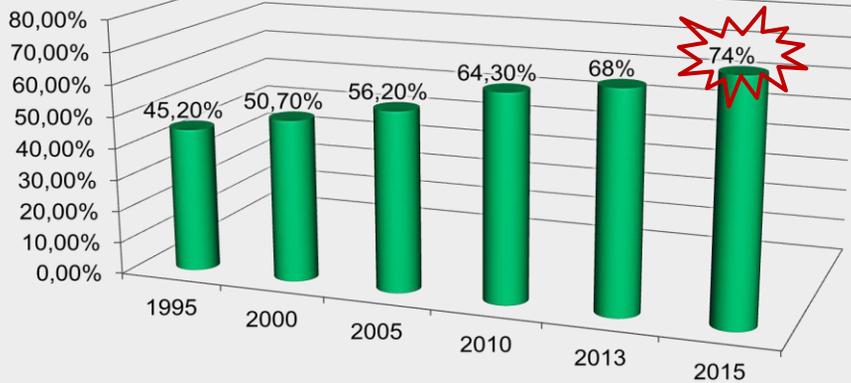


- **Рак легкого** (РЛ) занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности в мире.
- **В США за 2010 год** зарегистрировано 222 000 новых случаев РЛ со смертельным исходом у 157 300 заболевших. Исследование 17 географических областей показало частоту встречаемости РЛ у мужчин – 76,2 на 100 000, у женщин – 52,4 (среди всех рас по заболеваемости РЛ преобладает негроидная).
- **В России в 2012 г.** выявлено 55 475 новых случаев РЛ [М.И.Давыдов, Е.М.Аксель, 2014].
- **За исключением Северной Америки, Китая и Японии (АК)** у мужчин доминирует плоскоклеточный РЛ. У женщин преобладает АК, исключения составляют Англия и Польша (ПКРЛ), и Шотландия (МКРЛ).
- **Курение**, а также воздействие асбеста и силикатов увеличивает риск развития карцином легкого.

Рак легкого – ведущая патология в структуре общей заболеваемости злокачественными новообразованиями в РФ



МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ В РОССИИ



ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ В РОССИИ В 2015 ГОДУ (ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ) Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старцкога, Г. В. Петровой Москва 2017

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ДИАГНОЗА (РОИЦ 2013-2017г.г.)



Диагностика РЛ



Стандартная рентген-диагностика легких может выявить ЗНО лишь в 10-50%.



Спиральная рентгеновская компьютерная томография (СРКТ) с внутривенным контрастным усилением способна различить доброкачественную и злокачественную патологию легких с показателями чувствительности и специфичности более 90%.

Лукияненко П.И., Усов В.Ю., Коломиец С.А., Мочула О.В., Миллер С.В. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 11-3. – С. 455-459

- ✓ Магнитно-резонансная томография (МРТ) используется в оценке распространенности, стадировании ЗНО легких.
- ✓ Чувствительность– 97,2%,
- ✓ Специфичность- 94%



Нуднов Н.В., Гамова Е.В. Магнитно-резонансная томография в диагностике центрального рака легкого. *Медицинская визуализация*. 2005.- N 5.-С.74-82
 Лукьяненко П.И. Усов В.Ю. Коломиец С.А. Мочула О.В. Миллер С.В. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. – № 11-3. – С. 456-459

- ✓ Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) определяет наличие ЗНО с чувствительностью 95% и специфичностью 80%.



Методы получения цитологического материала при комплексной диагностике заболеваний легких

Эксфолиативные:

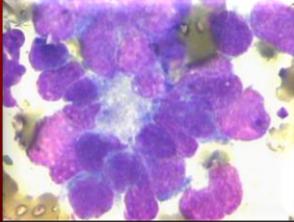
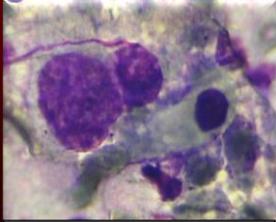
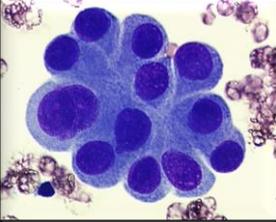
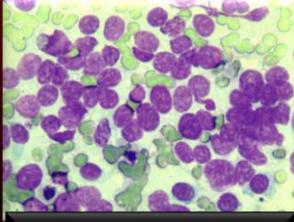
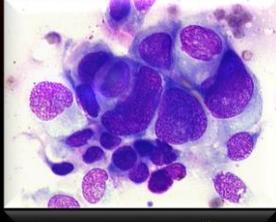
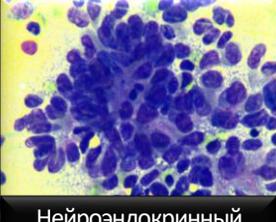
- Мокрота
- Материал, полученный при бронхоскопии и катетеризации бронха,
- Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)

Пункционные:

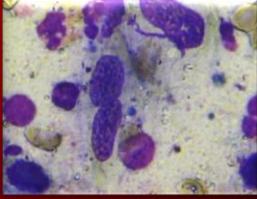
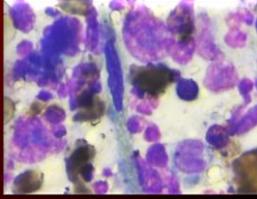
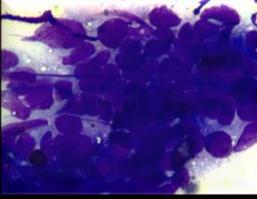
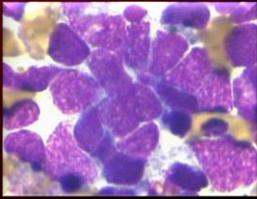
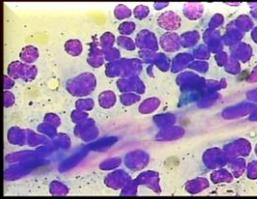
- Трансбронхиальная ТИАБ
- Эндобронхиальная ТИАБ под контролем УЗ (EBUS-TBNA)
- Трансторакальная ТИАБ



Цитологическое исследование пунктата позволяет определить гистологическую форму опухоли примерно в 88% наблюдений и в 76% - степень дифференцировки

		
Мелкоклеточный рак	Плоскоклеточный рак	Аденокарцинома
		
НЭО G1	Крупноклеточный рак	Нейроэндокринный крупноклеточный РЛ

При правильно проведенной ТИАБ почти в 90% случаев получают информативный материал, повторные ТИАБ - в 100% наблюдений

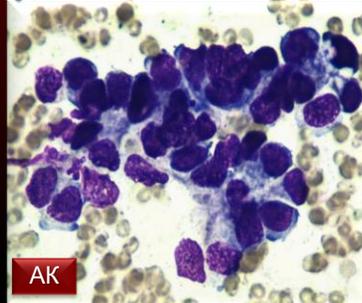
		
Плоскоклеточный рак		Крупноклеточный рак
		
Мелкоклеточный рак	Карциноид	Аденокарцинома

Evaluation of cytology in lung cancer diagnosis based on EBUS-TBNA

Materials and Methods: We reviewed the 379 cases that underwent the EBUS-TBNA in Shanghai Pulmonary Hospital from April 2010 to May 2011. Discarding the 139 cases with insufficient cells, we analyzed the remaining 240 cases that had enough cells on the smears.

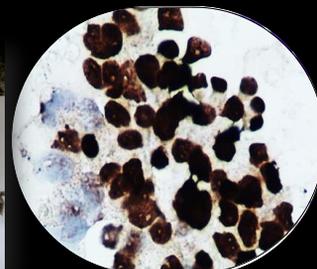
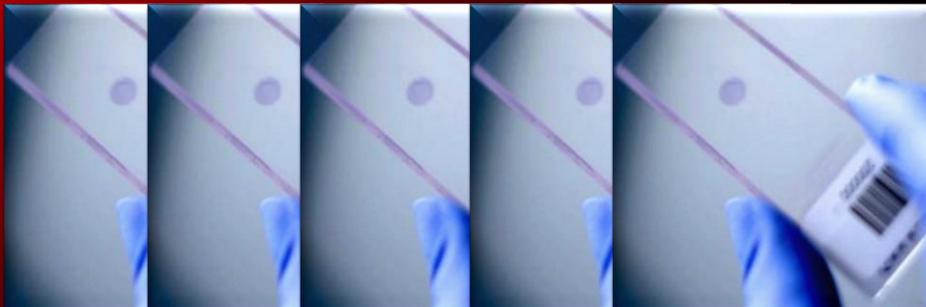
Statistical Analysis Used: The Statistical Package for the Social Sciences version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) was used for data analysis. A *P* value of <0.05 was considered significant.

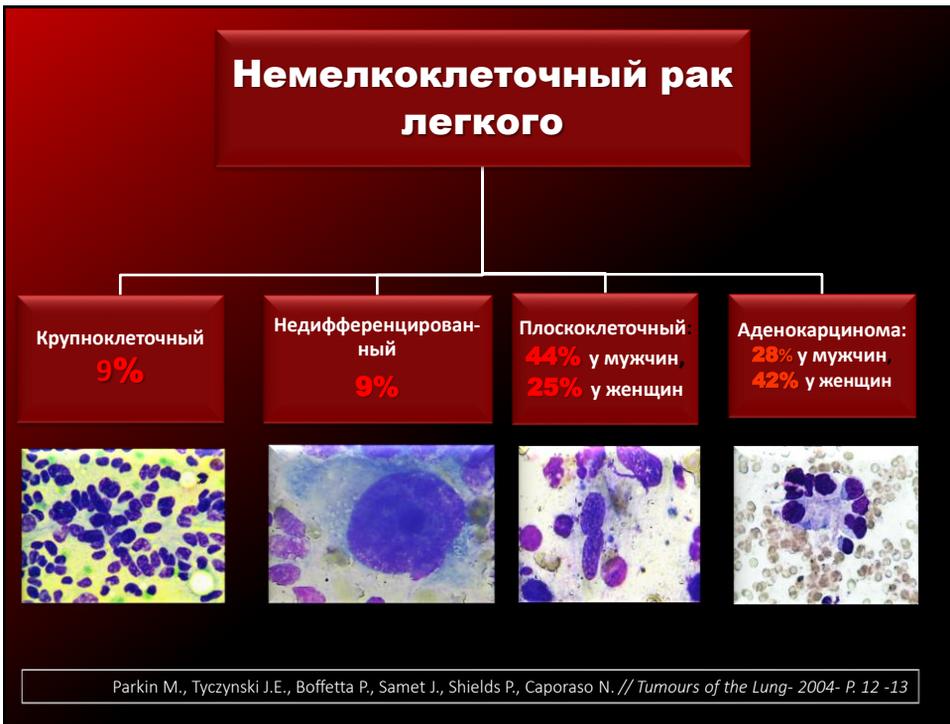
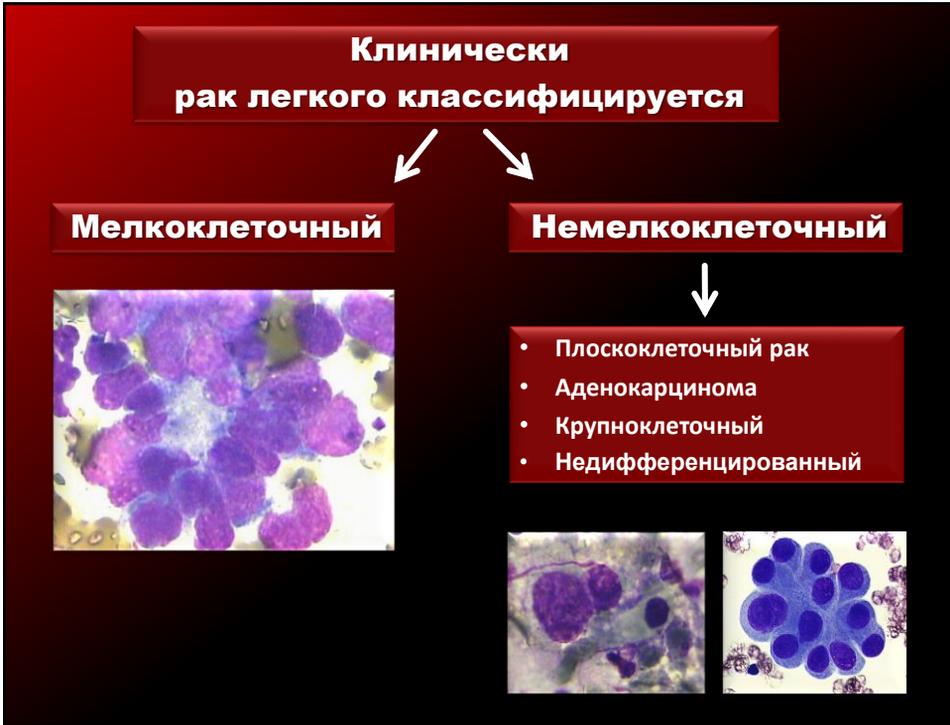
Results: We found that the cytologic diagnosis of sensitivity and specificity reached 94.52% and 95.12%, respectively. The sensitivity of squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and small cell carcinoma was up to 88.24%, 100.00%, and 96.00%, respectively. The specificity of squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and small cell carcinoma reached to 100.00%, 100.00%, and 99.25%, respectively.



Dong Z, Li H, Jiang H, Wu C. Evaluation of cytology in lung cancer diagnosis based on EBUS-TBNA. *J Cytol.* 2017;34:73-7.

Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK):





У 70% пациентов рак легкого диагностируется на III-IV стадии, поэтому основным методом морфологической диагностики является диагностика на маленьких образцах.



W.D. Travis, E. Brambilla, Arch. Pathol. Lab. Med. 2013

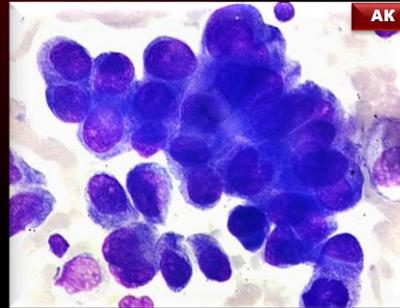
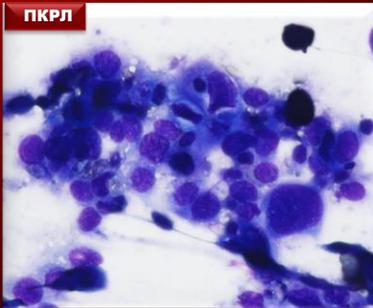


TABLE 2 Terminology and Criteria for Adenocarcinoma, Squamous Cell Carcinoma, and NSCC NOS in Small Biopsies and Cytology Compared with Terms in Resection Specimens^a

New Small Biopsy/Cytology Terminology	Morphology/Stains	2015 WHO Classification in Resection Specimens
Adenocarcinoma (describe identifiable patterns present)	Morphologic adenocarcinoma patterns clearly present	Adenocarcinoma predominant pattern: lepidic, acinar, papillary, solid, and micropapillary
<ul style="list-style-type: none"> Adenocarcinoma with lepidic pattern (if pure, add note: an invasive component cannot be excluded) Invasive mucinous adenocarcinoma (describe patterns present; use term mucinous adenocarcinoma with lepidic pattern if pure lepidic pattern) Adenocarcinoma with colloid features Adenocarcinoma with fetal features Adenocarcinoma with enteric features^b 		<ul style="list-style-type: none"> Minimally invasive adenocarcinoma, adenocarcinoma in situ, or an invasive adenocarcinoma with a lepidic component Invasive mucinous adenocarcinoma Colloid adenocarcinoma Fetal adenocarcinoma Enteric adenocarcinoma
NSCC, favor adenocarcinoma ^a	Morphologic adenocarcinoma patterns not present but supported by special stains (i.e., TTF-1 positive)	Adenocarcinoma (solid pattern may be just one component of the tumor)
Squamous cell carcinoma	Morphologic squamous cell patterns clearly present	Squamous cell carcinoma
NSCC, favor squamous cell carcinoma ^a	Morphologic squamous cell patterns not present but supported by stains (i.e., p40-positive)	Squamous cell carcinoma (nonkeratinizing pattern may be a component of the tumor)
NSCC NOS ^c	No clear adenocarcinoma, squamous or neuroendocrine morphology or staining pattern	Large cell carcinoma

Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. Journal of Thoracic Oncology Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

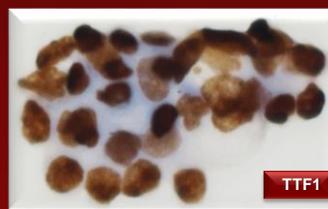
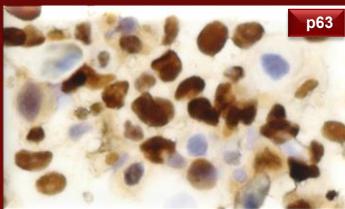
- Немелкоклеточный рак должен быть разделен на более конкретные типы, такие как аденокарцинома и плоскоклеточный рак.



- Рак легкого без признаков специфичности (NSCLC-NOS) должен быть использован по возможности как можно реже в случаях, когда более конкретный диагноз невозможен.

Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology* Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

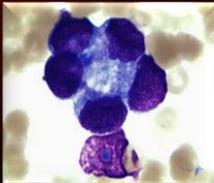
- В заключении следует уточнять, диагноз поставлен на основании световой микроскопии, или применялись дополнительные методы.
- Термин «неплоскоклеточный рак» в заключениях не использовать.



- Не следует диагностировать аденоплоскоклеточный рак на основании малой биопсии и цитологическом материале, поскольку оба компонента должны составлять более 10% объема всего опухолевого узла.

Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology* Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

- Для достижения наибольшей специфичности и конкордантности цитологические препараты и материал биопсии должны рассматриваться вместе.
- **AIS** и минимально инвазивную карциному не следует диагностировать на материале малых биопсий и цитологии.
- Если неинвазивный компонент представлен в малой биопсии, следует от комментировать как «стелющийся рост».
- Если цитологический компонент имеет признаки AIS, то опухоль должна быть диагностирована как аденокарцинома легкого, возможно, AIS, минимально инвазивная аденокарцинома или инвазивная аденокарцинома со стелющимся компонентом.

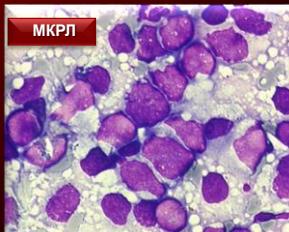


Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology* Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

- **Крупноклеточный рак** не диагностируется по малой биопсии и в цитологических образцах. Диагностика проводится на плановом операционном материале, при котором исключается наличие дифференцированного компонента.

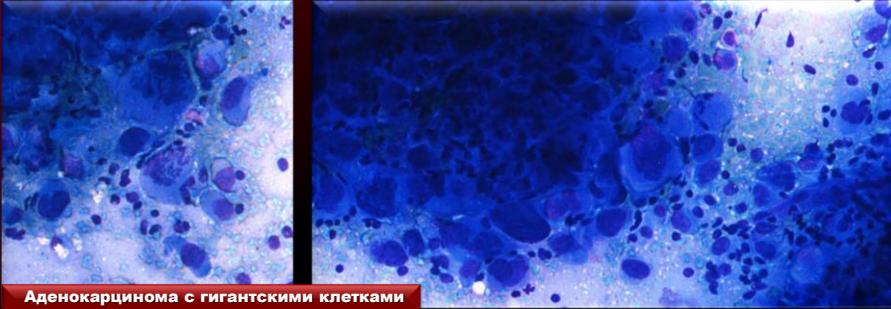


- При подозрении на **нейроэндокринную опухоль** должны использоваться нейроэндокринные маркеры.



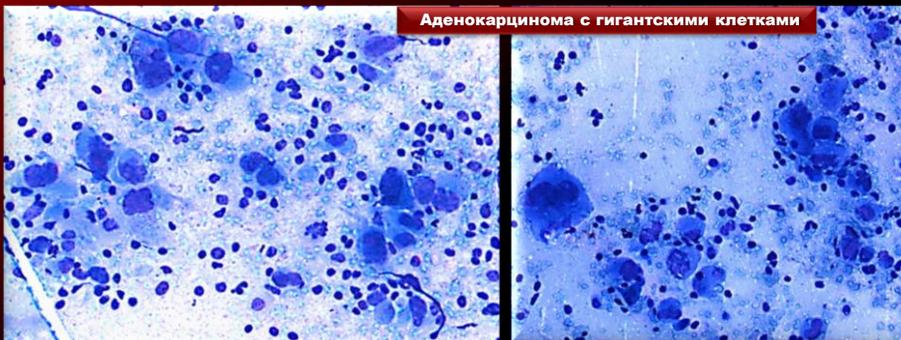
Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology* Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

- Рак легкого с саркоматоидными признаками (веретеновидными, гигантскими клетками, полиморфизмом ядер) и наличием признаков железистой или плоскоклеточной дифференцировки классифицируют как: *«немелкоклеточный рак, возможно, аденокарцинома/ плоскоклеточный рак с веретеновидными или гигантскими клетками»*.



Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology*
Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

- При отсутствии в раке с саркоматоидными признаками железистой или плоскоклеточной дифференцировки найденные изменения классифицируют как: *«немелкоклеточный рак легкого без признаков специфичности с наличием саркоматоидного компонента»*.

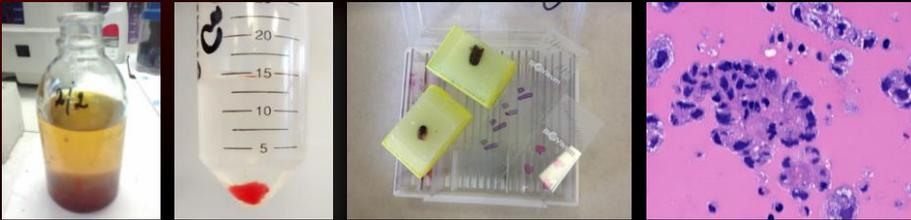


Introduction to The 2015 WHO Classification of Tumors. *Journal of Thoracic Oncology*
Volume 10, Number 9, September 2015 Pages 1243–1260

- В категории немелкоклеточный рак без дальнейшего уточнения иммуноморфологические исследования должны быть сведены к минимуму, чтобы сохранить материал для дальнейших молекулярно-генетических исследований.

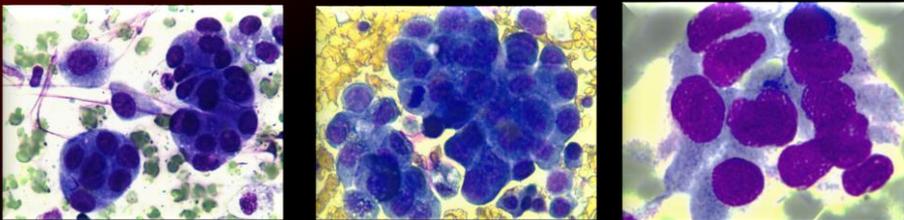


- Из материала осадков плевральных выпотов должны быть приготовлены клеточные блоки.



Бронхогенная аденокарцинома (АК) легкого

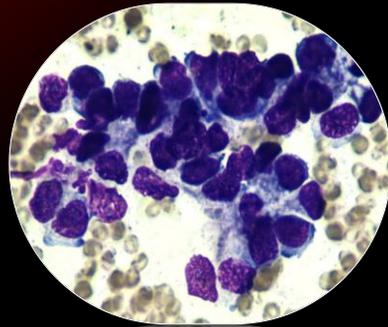
- составляет около 30% всех первичных наблюдений рака и является самой распространенной формой периферической опухоли. Рентгенологически 75% опухолей располагаются в легких периферически. В остальных 25% наблюдений он определяется в долевого или сегментарном бронхах.
- При гистологическом исследовании опухоль может быть определена, как высоко-, умеренно- и низкодифференцированная.



Аденокарциномы легкого (ВОЗ, 2015)

(гистологические субтипы):

- Ацинарный
- Папиллярный
- Микропапиллярный
- Солидный с образованием слизи
- Со стелющимся характером роста (lepidic growth)



Новая концепция деления всех гистологических форм аденокарцином легкого на три категории:

- **аденокарцинома in situ**

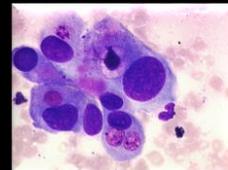
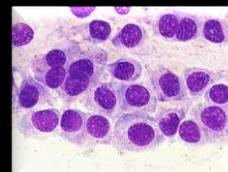
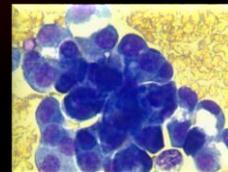
Прежний БАР. Второе после атипичной аденоматозной (альвеолярной) гиперплазии преинвазивное состояние. Солитарная периферическая опухоль размерами ≤ 3 см. Обычно – немучинозная, редко муцинозная или смешанная. Прогностически благоприятный вариант.

- **минимально инвазивная**

Сходная с аденокарциномой in situ, включая размеры. Обычно – немучинозная, редко муцинозная или смешанная. Прогностически благоприятный вариант.

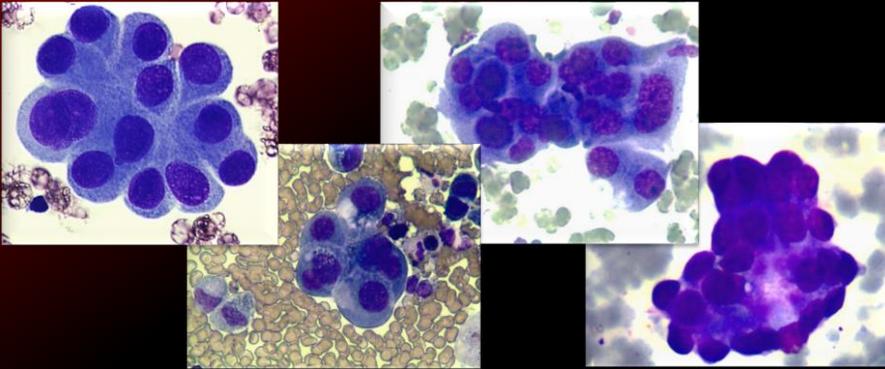
- **инвазивная аденокарцинома**

Прежняя аденокарцинома «смешанного» типа.

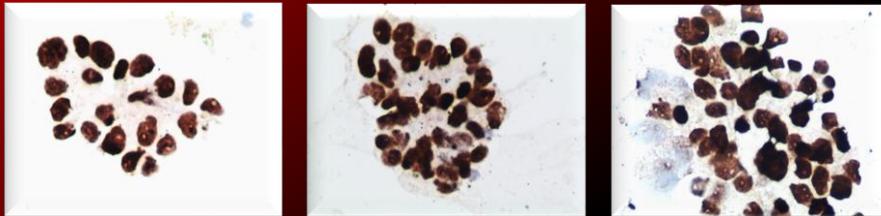


Инвазивная аденокарцинома (прежняя АК «смешанного» типа).

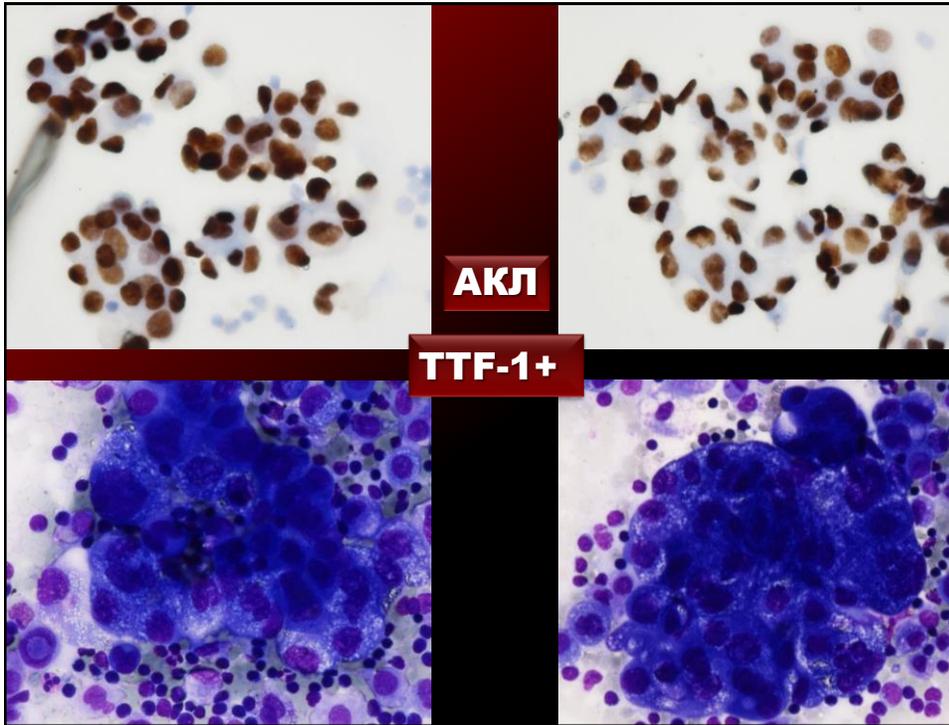
Самый частый вариант аденокарциномы легкого. Характерно присутствие разных гистологических субтипов: ацинарного, папиллярного, микропапиллярного, солидного с образованием слизи, со стелющимся характером роста.



• 72-96% АК легкого TTF-1+

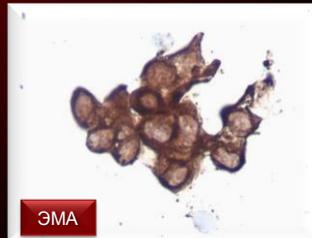


Экспрессия его не зависит от типа АК, однако всё больше работ указывает на то, что муцинозный компонент чаще бывает негативен (например, муцинозный тип бронхиолоальвеолярной карциномы). 60% АК экспрессируют белок сурфактанта А или В со специфичностью 100%. Однако окраска чаще очаговая лишь в высокодифференцированных участках. Сочетание TTF-1 и белков сурфактанта повышает специфичность диагностики низкодифференцированных АК или их метастазов до 80%.

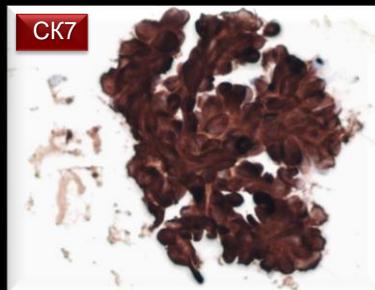
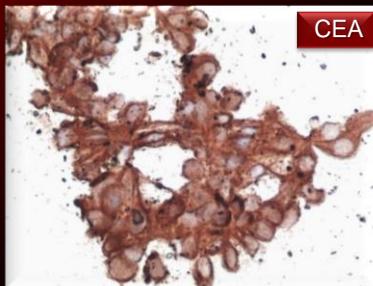


Аденокарциномы легкого:

- ЭМА, ЦКР 7, 8, 18, 19+, ЦКР20+/-,
- 90% опухолей СЕА+,
- 70% опухолей VегЕР4+,
- 30% опухолей Виментин+,
- ЦКР 5/6-, ЦКР-НМW-, р63- (как правило)

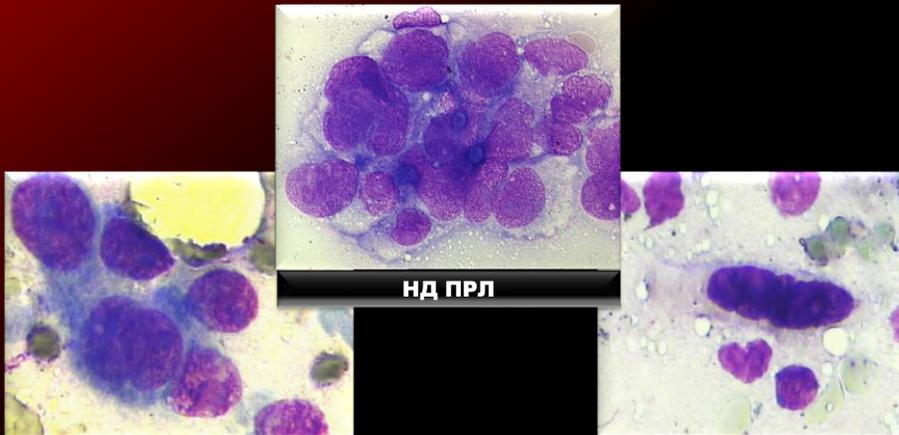


Сdx2+ в муцинозных вариантах АК легкого



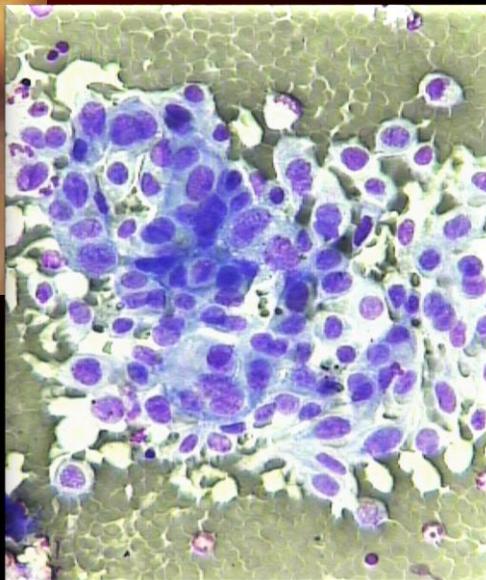
Плоскоклеточный рак легкого (ПРК)

- составляет около 30% всех первичных опухолей легкого.
- ПР чаще поражает главный или сегментарный бронхи с прорастанием в окружающую паренхиму легкого.



Плоскоклеточный рак:

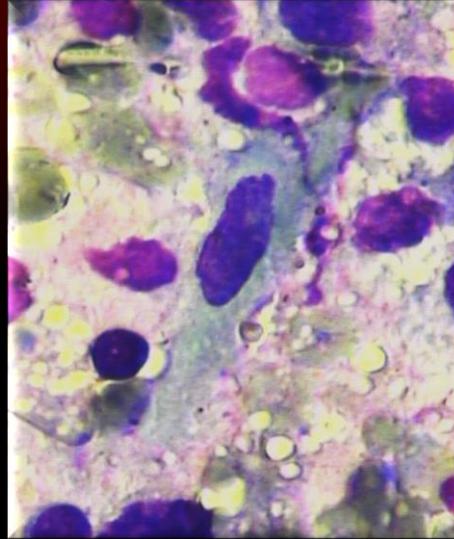
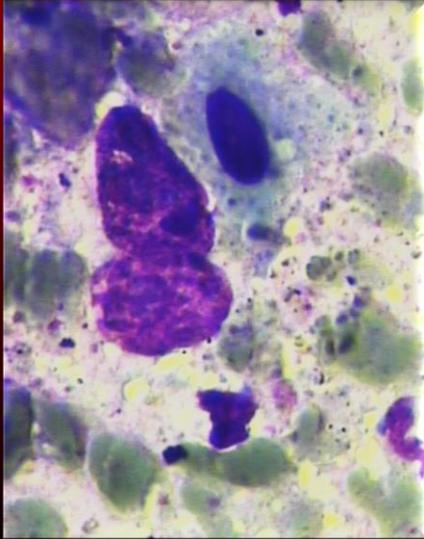
- папиллярный,
- светлоклеточный,
- мелкоклеточный,
- базалоидный





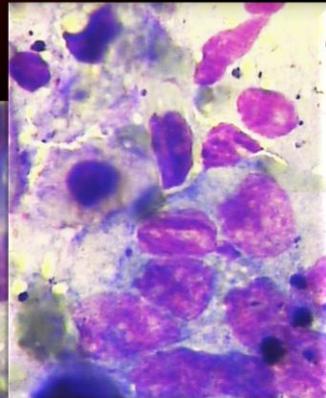
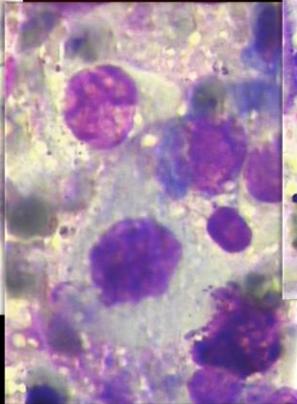
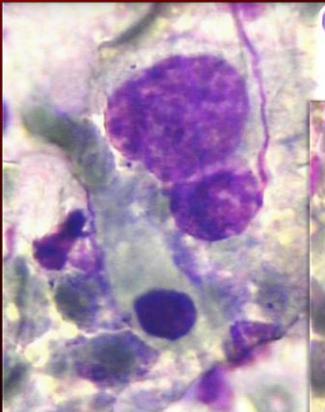
Высокодифференцированный SCC

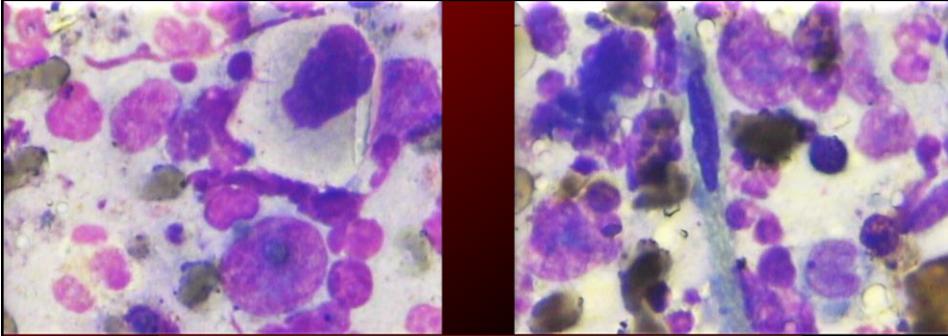
напоминает нормальный плоский эпителий



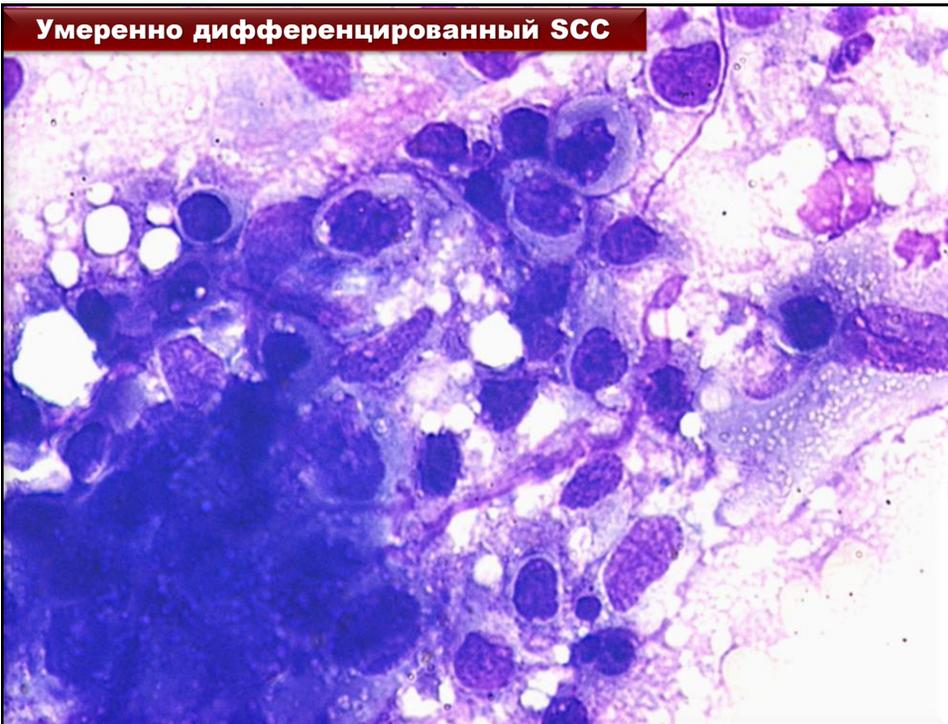
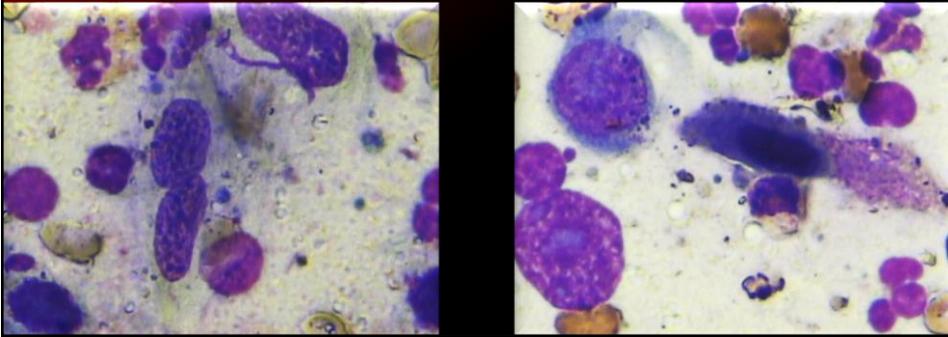
Умеренно дифференцированный SCC

характеризуется ядерным полиморфизмом и митотической активностью, включая патологические митозы, кератинизация выражены слабее

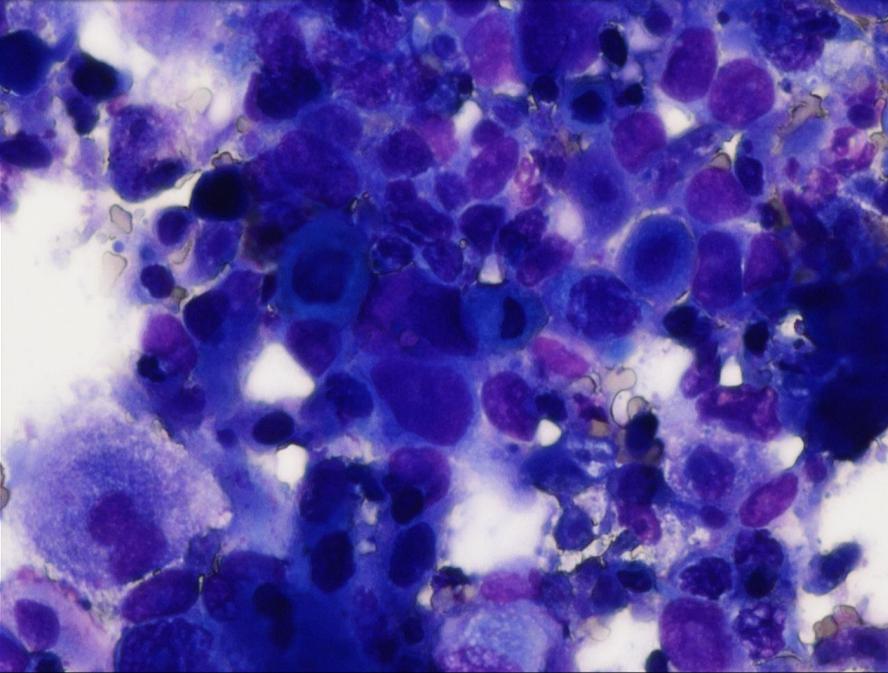




Умеренно дифференцированный SCC

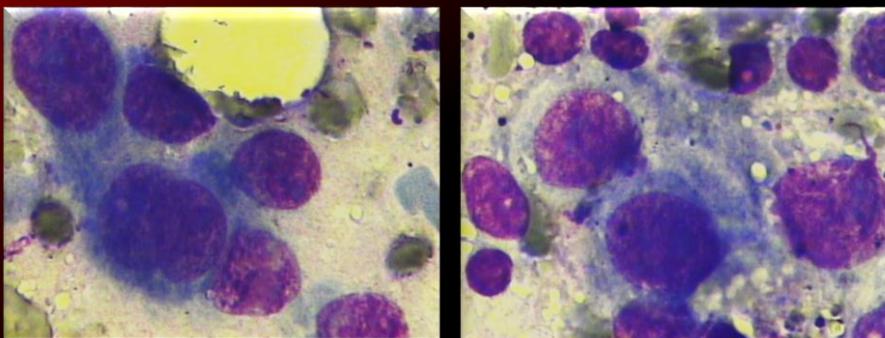


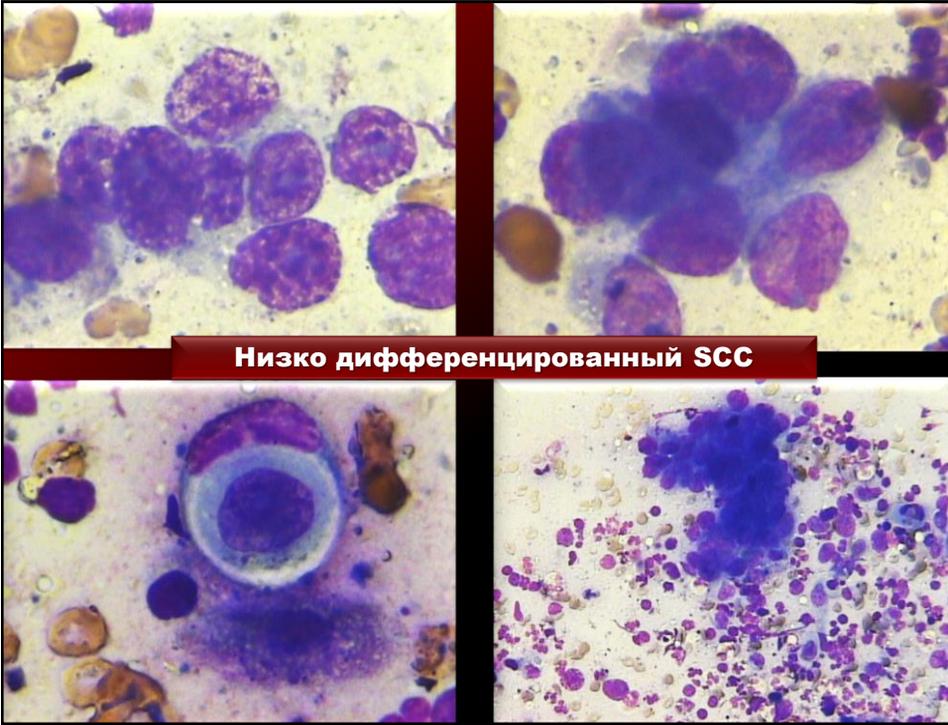
Умеренно дифференцированный SCC

Умеренно дифференцированный SCC**В мало (низко) дифференцированном SCC**

преобладают незрелые клетки с большим числом типичных и патологических митозов и минимальной кератинизацией.

Кератинизация не является решающим фактором в определении степени дифференцировки.

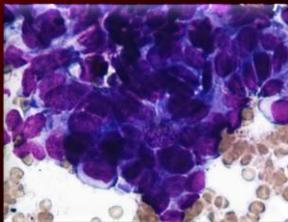




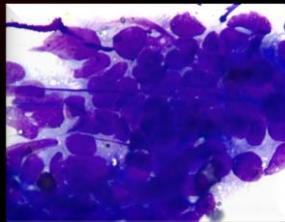
Низко дифференцированный SCC

**Неороговевающий ПРЛ
дифференцируют с:**

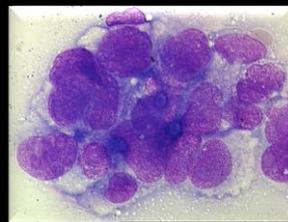
- Крупноклеточным раком
- Мелкоклеточным раком
- Низкодифференцированной АК
- Метастазами опухолей других органов



НД АК легкого



Крупноклеточный РЛ



НД ПРЛ

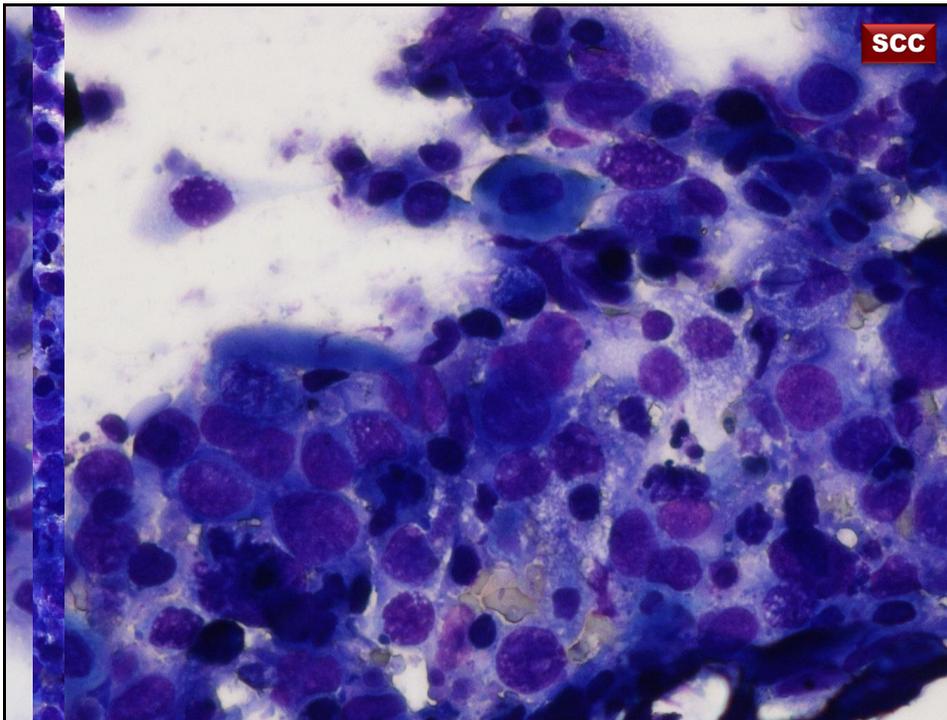
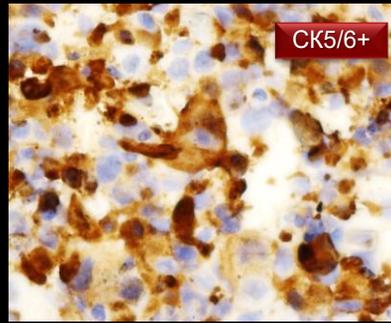
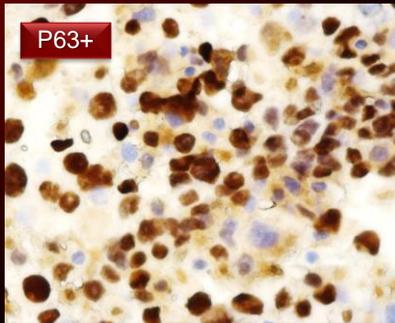
Иммуноцитохимия применяется только в случаях диагностики низкодифференцированных плоскоклеточных карцином

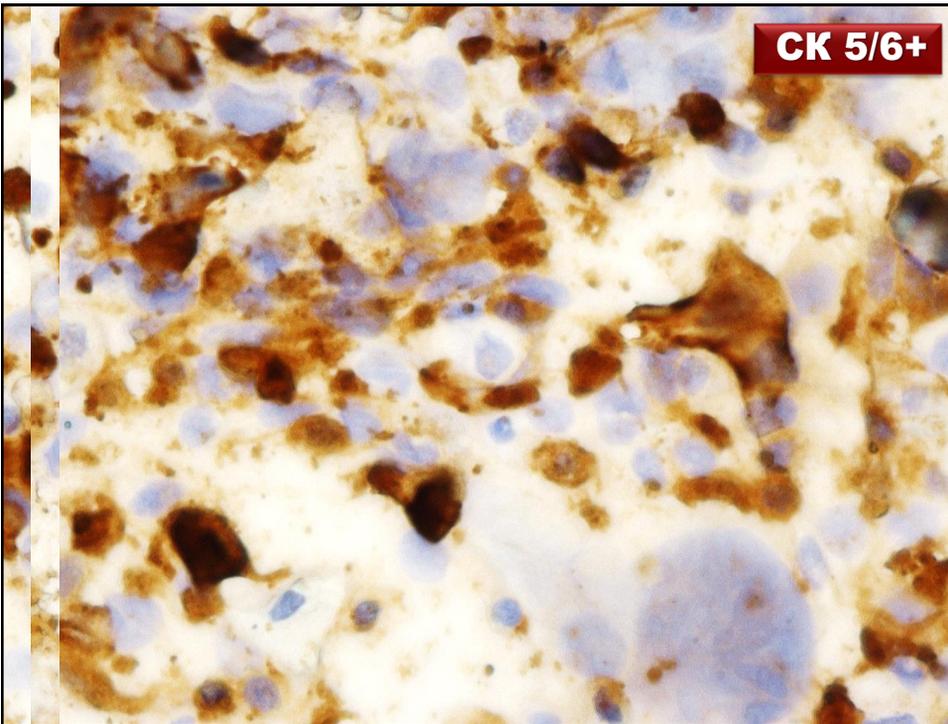
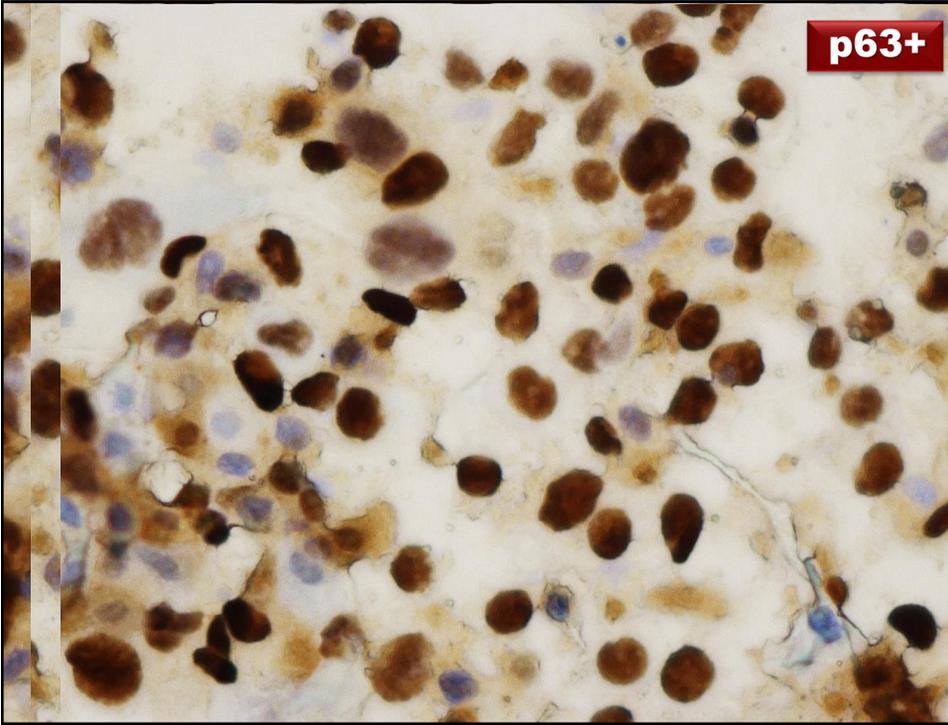
Позитив:

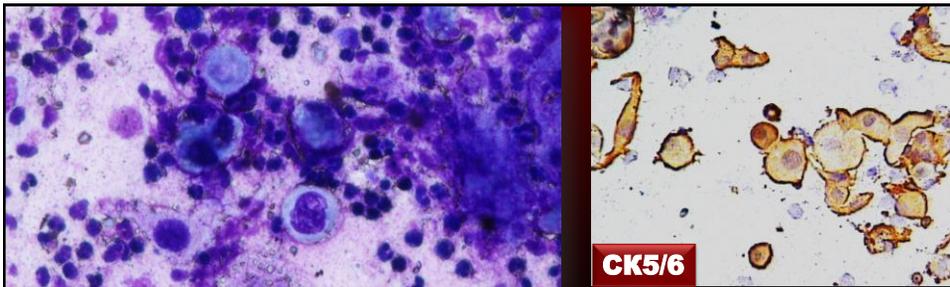
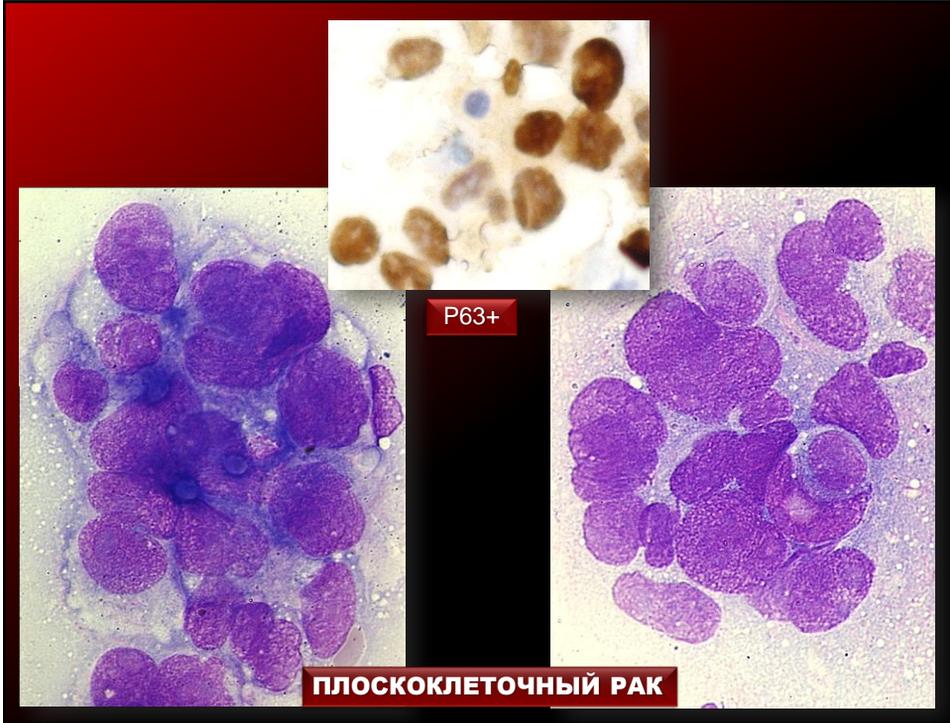
- ✓ P63+,
- ✓ 90% - CK5/6+,

Негатив :

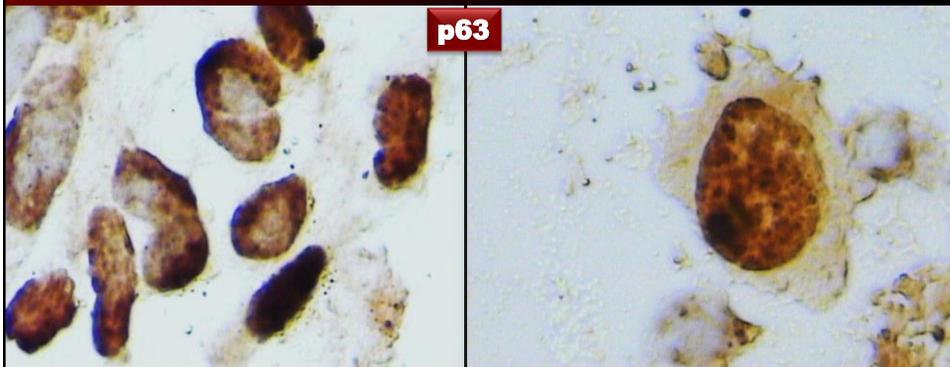
- ✓ 80%CK7-,
- ✓ CK20-,
- ✓ TTF-1-/± (7-10%),







ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК

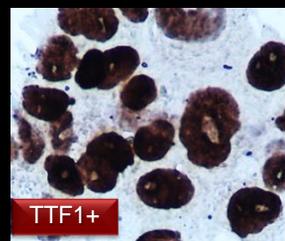
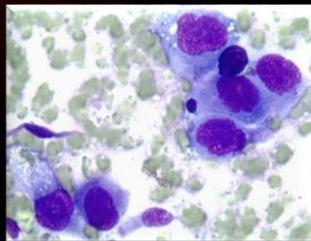
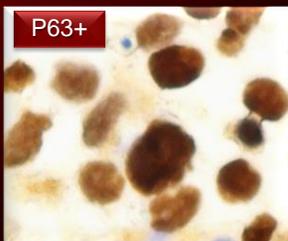


Крупноклеточный рак (9% всех раков легкого)

Не имеет гистологических признаков мелкоклеточного, железистого, ПКР.

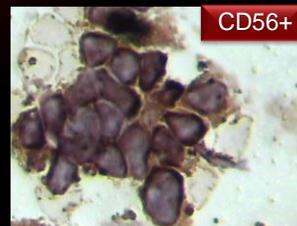
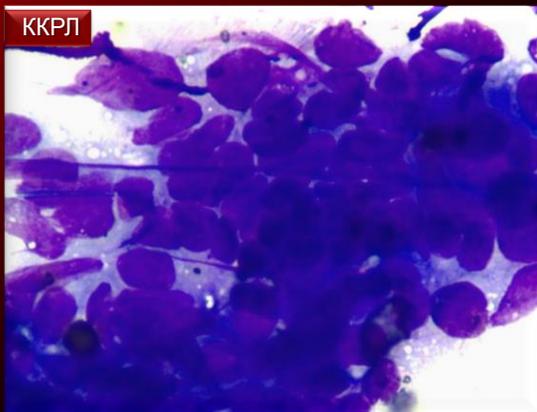
Но ИГХ-ки:

- это либо низкодифференцированная **аденокарцинома** (ЦКР 7+, TTF-1+),
- либо низкодифференцированный **плоскоклеточный рак** (ЦКР-НМВ, 34βE12+, p63+)



Крупноклеточный рак

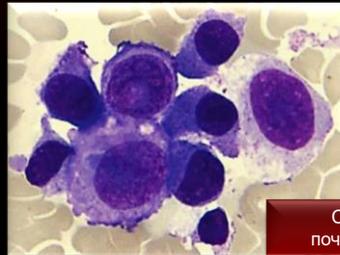
- небольшая часть - это крупноклеточный **нейроэндокринный рак** (хромогранин А +, синаптофизин+, CD56+, TTF-1+ в 50%, ЦКР5/6-, p63-).



Крупноклеточный рак

Необходимо дифференцировать с:

- атипичным карциноидом,
- с воспалительной псевдоопухолью,
- лимфомой,
- первичной лимфоидной гиперплазией легкого
- **с метастазами** светлоклеточных опухолей (почек, слюнной железы, тимуса).



Светлоклеточный
почечноклеточный рак

ТИАБ в опытных руках довольно точный метод для типирования НМРЛ и может рассматриваться как приемлемая процедура в целях планирования диагностики и лечения в большинстве случаев НМРЛ, особенно когда большая часть инвазивных процедур невыполнима. В случае низкодифференцированной опухоли или сомнительных случаях может потребоваться использование вспомогательного иммуноцитохимического метода.

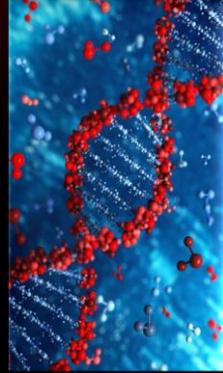
474 пациента с немелкоклеточным раком на основании заключения по данным цитологического метода. 186 (39%) из них (108 трансбронхиальных тонкоигольных аспиратов и 78 трансторакальных аспиратов) с параллельной или последующей оценкой гистологического материала (на кусочке эндоскопической биопсии (112) или операционном материале (74)).

Цитологически 158 случаев (85%-х) НМРЛ (89 аденокарцином и 69 плоскоклеточных раков), в то время как 28 (15%) были отнесены как НМРЛ, неспецифический. В гистологии, 183 случаев (98%) (109 аденокарцином, 69 плоскоклеточных раков, 3 аденоплоскоклеточных рака и 2 крупноклеточных рака), и только 3 (2%) были отнесены как НМРЛ, неспецифические. Цитологическое и гистологическое типирование было конкордантно в 137 из 156 (88%) случаев ($K = 0.755$; $p=0.001$). Положительная прогнозирующая ценность ТИАБ в типировании НМРЛ составляла 92% для аденокарциномы и 82% для плоскоклеточного рака.

Nizzoli R., Tiseo M., Gelsomino F. et al. Accuracy of fine needle aspiration cytology in the pathological typing of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011 Mar;6(3):489-93.

Цель получения материала из опухоли:

- Подтверждение злокачественности процесса
- Морфологическое типирование опухоли
- Молекулярно-генетический анализ



- Thunnissen E., Kerr K.M., Herth F.J., et al. The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples: practical approach of a working group // Lung Cancer. 2012. V. 76. № 1. P. 1-18.
- Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M., et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification // Arch. Pathol. Lab. Med. 2013. V. 137. № 5. P. 668-684

Исследование для изучения возможности и обоснования методики выполнения трансторакальной пункции под контролем рентгенологических и ультразвуковых методов навигации, позволяющей получать образцы опухолевой ткани, достаточные для морфологической верификации опухоли и проведения ее генетического анализа, обеспечивать условия, необходимые для рационального планирования тактики лекарственного противоопухолевого лечения (2014г., РОНЦ им. Н.Н. Блохина).

ТПП под контролем	Патологический процесс	Число пациентов	%
ТПП под контролем КТ	Плоскоклеточный рак	2	2,7
	Аденокарцинома	60	82,2
	Диморфный рак	2	2,7
	Немелкоклеточный рак	2	2,7
	Мелкоклеточный рак	4	6,5
	Меланома	1	1,4
	Туберкулез	2	2,7
	Итого:	73	100
ТПП под контролем УЗИ	Аденокарцинома	28	100

Дополнительные исследования:

ИЦХ + молекулярно-генетическое тестирование
92 пациентам

Для дополнительных исследований материала недостаточно
6 пациентов (6,5%)

Достаточное количество материала для всего спектра исследований
74 пациента (80,5%)

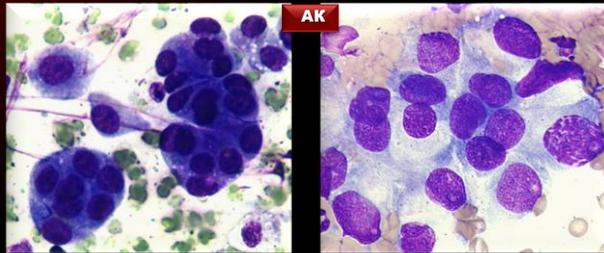
**EGFR -8
ALK -2
ROS 1 -1**

Достаточно для ИЦХ с целью уточнения органоспецифичности, но не хватило для ПЦР и FISH
12 пациентов (13%)

Маринов Д.Т., Маргарян А.Г., Назлиев П.Б. Роль тонкоигольных пункций в морфологической верификации и молекулярно-генетическом тестировании рака легкого. *Инновации и инвестиции*. 2006-11. с. 168-171



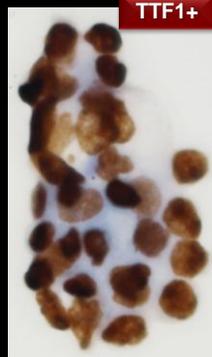
В лаборатории клинической цитологии ФГБНУ РОНЦ им.Н.Н.Блохина в 2014-2015г. выполнено 955 иммуноцитохимических исследований на материале от 291 пациента с различной онкопатологией. Из них для уточнения гистологической формы новообразования легкого (первичного или метастатического) проведено 440 ИЦХ исследований **118** пациентам (77 мужчин и 41 женщина).



Савостикова М.В., Фурминская Е.Ю. Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика опухолей легких. *Вестник ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»* т.26, №3-2015

Применение жидкостной цитологии и иммуноцитохимического исследования показало:

- Чувствительность стандартного цитологического исследования в диагностике немелкоклеточных карцином легкого составляет **81,4%**, ИЦХ исследования - **96%**.
- При ИЦХ исследовании АК легкого экспрессия ТТФ-1 наблюдалась в **90,6%**.
- Определение данного маркера в категории предположительных заключений в **24%** наблюдений позволило уверенно диагностировать первичную АК легкого.
- Применение ИЦХ метода при низкодифференцированных карциномах и недифференцированных новообразованиях в **75%** случаев позволило верифицировать первичную АК легкого и в **14,4%** - определить наличие метастаза и его органную принадлежность.
- При ИЦХ исследовании карцином с низкой дифференцировкой в **20%** наблюдений верифицирован МКР легкого, в **80%** - НМКР.
- Проведение ИЦХ исследований необходимо при первично-множественных опухолевых поражениях.



Таким образом, использование жидкостных технологий и иммуноцитохимических исследований в цитоморфологической диагностике опухолей легких позволяет на дооперационном этапе уточнить мелкоклеточный или немелкоклеточный тип карциномы, выявить метастаз и его источник, определить степень распространения патологического процесса.

