

ЖИДКОСТНАЯ ЦИТОЛОГИЯ И ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ И СМЫВОВ С БРЮШИНЫ ПРИ ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

М.В. Савостикова

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель: определить преимущества и недостатки использования жидкостной системы Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK) и системы BD Prep Stain Slide Processor в цитологической диагностике биологических жидкостей при онкогинекологических заболеваниях, оценить морфологические особенности в сравнении с классическим методом и при иммуноцитохимических исследованиях.

Материалы и методы. Для жидкостной цитологии применяли две системы: Cytospin-3 и аппарат BD Prep Stain Slide Processor. Для визуализации иммуноцитохимических реакций использовали систему LSAB+ Detection System («DAKO»), выявление пероксидазной активности проводили с помощью 3,3-диаминобензидина (ДАБ), цитопрепараты докрашивали гематоксилином Майера. В работе использованы моноклональные кроличьи и мышиные антитела (фирма «DAKO», Дания). На 30 клинических примерах изучены цитологические препараты выпотных жидкостей из брюшной и плевральной полостей и смывы из брюшной полости, приготовленные классическим способом и на аппаратах Prep Stain BD и Cytospin. Использовались два вида окраски: по Пapanиколасу и Лейшману.

Результаты. При цитологическом анализе классических и жидкостных препаратов смывов с брюшины получены следующие результаты: в семи из 10 наблюдений (70%) традиционных и Cytospin препаратах отмечалась значительная примесь крови и полностью отсутствовала в BD-мазках; поскольку для смыва используют физиологический раствор, большая часть клеток лизируется, этот недостаток наблюдается практически во всех типах мазков в 60–80%; независимо от способа приготовления препаратов скудность клеточного материала отмечена в половине исследований, тогда как густые мазки наблюдались в 20% традиционных и Cytospin препаратов; монослой, равномерное распределение клеток в мазке выявлены во всех BD-препаратах, в семи из 10 системы Cytospin и в пяти из 10 в традиционных мазках.

Выводы. Жидкостные технологии Cytospin и PrepStain BD позволяют стандартизировать препараты и проводить иммуноцитохимические, цитогенетические, морфометрические исследования клеток биологических жидкостей. Однако необходимо отметить, что ИЦХ реакции на Cytospin препаратах более яркие, чем на мазках PrepStain BD, но за счет наличия эритроцитов имеют более выраженный фон, что мешает оценке результатов ИЦХ.

Ключевые слова: биологические жидкости, цитология, иммуноцитохимия, жидкостная цитология, рак яичников, рак молочной железы.

LIQUID-BASED CYTOLOGY AND IMMUNOCYTOCHEMICAL EXAMINATION IN CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF BIOLOGICAL FLUIDS AND PERITONEAL WASHES IN GYNECOLOGIC CANCERS

M.V. Savostikova

Federal Budgetary State Institution «N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center»
of the Russian Academy of Medical Sciences

Objective. To determine the advantages and disadvantages of the use of liquid-based cytology system Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK) and BD Prep Stain Slide Processor system in cytological diagnosis of biological fluids in gynecologic malignancies, to evaluate the morphological features compared to the classical method and in immunocytochemical examination procedures.

Materials and Methods. Two systems were used for performing of liquid-based cytology examination: Cytospin-3 and BD Prep Stain Slide Processor device. LSAB+ Detection System («DAKO») was used for visualization of immunocytochemical reactions, peroxidase activity was revealed using 3,3-diaminobenzidine, cytological preparations were counterstained with Mayer's hematoxylin. Monoclonal rabbit and mouse antibodies were used in the study («DAKO» Company, Denmark). Cytological preparations of pleural and peritoneal cavity effusions and peritoneal washes, processed by the classical method and on the devices Prep Stain BD and Cytospin, were examined in 30 clinical specimens. Two staining techniques were used — Papanicolaou stain and Leishman stain.

Results. The following results were obtained in cytological analysis of classical and liquid-based preparations of peritoneal washing fluids: significant amount of admixture of blood was found in 7 of 10 (70%) traditional and Cytospin preparations (70%) and it was completely absent in BD-smears; since physiological solutions are used for washing, most cells are lysed, and this disadvantage is observed almost in all types of smears in 60–80%; regardless of the method of preparation processing scarcity of cells was detected in the half of examinations, whereas thick smears were observed in 20% of traditional and Cytospin preparations; monolayer, homogeneous cell distribution in a smear were revealed in all BD-preparations, in 7 of 10 of Cytospin system and in 5 of 10 traditional smears.

Conclusions. Liquid-based Cytospin and PrepStain BD technologies allow to standardize preparations and to perform immunocytochemical, cytogenetic, morphometric examinations of cells of biological fluids. However, it is necessary to state out that immunocytochemical reactions in Cytospin preparations are brighter than in PrepStain BD smears, but due to the presence of erythrocytes they have higher background staining.

Key words: biological fluids, cytology, immunocytochemistry, liquid-based cytology, ovarian cancer, breast cancer.

Диссеминация опухолевых клеток с развитием канцероматоза плевры и брюшины — наиболее неблагоприятный фактор течения опухолевого процесса [1]. В норме в брюшной полости находится около 30 мл жидкости. По данным D.K.Chang, J.W.Kim, при минимальном количестве асцитической жидкости (около 50 мл) вероятность карциноматоза брюшины составляет 12,5–25%, а при количестве экссудата более 50 мл — до 75–100% [2]. При этом цитологическое исследование является единственным методом диагностики злокачественной природы экссудата. Достоверность цитологического исследования экссудатов, по данным литературы, составляет от 64 до 96% [3, 4]. У женщин плевральные и перитонеальные экссудаты встречаются в два раза чаще, особенно при прогрессировании рака молочной железы (37–50%) и рака яичников

(21%). По данным литературы, у 14% больных с плевральным экссудатом и у 7% пациентов с асцитом диагноз злокачественной опухоли впервые установлен на основании изучения экссудата. В 15% наблюдений к моменту проведения цитологического исследования локализация первичной опухоли бывает неизвестна. В 3–7% наблюдений необходима дифференциальная диагностика между прогрессированием основного заболевания и первично-множественным поражением [4, 5, 6].

Трудности интерпретации клеточного состава жидкости при цитологическом исследовании смыва или выпота из серозной полости зависят от многих моментов: от присутствия в них разнообразных клеточных элементов (мезотелия, макрофагально-гистиоцитарных элементов, лимфоцитов, лейкоцитов и опухолевых клеток); от изменений морфологии клеток, связанных

с нахождением в жидкой среде, обусловленных состояниями пролиферации, репаративными и дистрофическими процессами, образованием пластов, симпластов, железисто- и сосочкоподобных структур, весьма сходных со структурами, образующимися при раке; от качества цитологических препаратов. При традиционном методе приготовления мазков жидкость в объеме от 10 до 50 мл распределяют по центрифужным пробиркам, центрифугируют и затем из осадка центрифугата готовят 7–10 препаратов; материал относительно равномерно распределяется по всему периметру стекла, больше концентрируясь в «щеточке» мазка. Наличие в мазке элементов крови, воспаления, некроза может затруднять цитологическую диагностику, особенно при наличии единичных опухолевых клеток. При этом увеличивается и время просмотра препаратов. В связи с этим возникает необходимость использовать современные, дополнительные методы исследования, такие как жидкостная цитология и иммуноцитохимическое исследование (ИЦХ).

Жидкостная цитология (ЖЦ) впервые была разработана и утверждена в США (Food and Drug Administration — FDA) в 1996 г. для системы ThinPrep 2000; Hologic Co., USA, а в 1999 г. для системы SurePath; TriPath (Becton Dickinson, USA) с целью проведения гинекологического скрининга. Технология приготовления цитологических препаратов хорошо зарекомендовала себя и позволила повысить эффективность исследований, однако результаты использования ЖЦ для негинекологических локализаций противоречивы. С одной стороны, значительно улучшается качество мазков за счет монослойности и концентрации клеток на стекле, сокращается время просмотра препаратов, экономятся дорогостоящие реактивы при ИЦХ и цитогенетических исследованиях, с другой стороны, наличие патологических клеток в транспортных либо консервирующих средах вызывает их незначительную деформацию и изменение морфологии, что затрудняет правильную оценку и трактовку диагноза [7, 8, 9].

По данным Longato F.(2002), Глузмана Д.Ф. (2003), Борисовой О.В. (2010), ИЦХ методика в 79% подтверждает диссеминацию опухоли, заподозренную рутинным цитологическим исследованием, а в 3–7% наблюдений позволя-

ет избежать гипердиагностики опухолевого процесса. ИЦХ исследование плевральных и перитонеальных экссудатов в сложных диагностических ситуациях повышает результативность цитологического метода: чувствительность с 62% до 93% и специфичность с 95% до 99%. При невыявленном первичном опухолевом очаге сочетание цитологического и ИЦХ исследований с использованием широкой панели моноклональных антител устанавливает точную локализацию опухоли в 93% наблюдений [3, 4, 8, 10, 11, 12].

Цель исследования — определить преимущества и недостатки использования жидкостной системы Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK) и системы BD Prep Stain Slide Processor в цитологической диагностике биологических жидкостей при онкогинекологических заболеваниях, оценить морфологические особенности в сравнении с классическим методом и при проведении иммуноцитохимических исследований.

Материалы и методы. Для ЖЦ применяли две системы: наиболее изученный, давно используемый в цитологической практике — Cytospin-3 и аппарат BD Prep Stain Slide Processor, который относительно недавно появился на российском рынке и активно внедряется для скрининговых исследований в гинекологической практике.

Cytospin-3 в отечественной цитологии применяется более 10 лет и обладает рядом положительных качеств: открытая система, которая позволяет использовать любые предметные



Рис. 1. Цитоцентрифуга Cytospin-3 (Thermo Scientific Shandon, UK)



Рис. 2. Монослойный цитологический препарат системы Cytospin, $d=5\text{мм}$

стекла, любую среду (питательную, фиксирующую, транспортную и т.д.), небольшой объем исследуемой жидкости, содержащей относительно малое число клеток. При этом для окраски полученных мазков можно применять любой вариант окрашивания, а время приготовления препаратов — за пять минут 12 мазков. Эти препараты можно использовать и для других методов исследования, возможен быстрый просмотр, так как препарат однослойный, занимает небольшую площадь (d = от 5 до мм, либо «окошко» 10 X 20 мм) (рис. 1, 2). Однако необходимо отметить некоторую незначительную потерю клеток за счет их абсорбции на фильтре. Кроме того, этот метод «требует» определения клеточной плотности, т.е. количества клеток в единице объема жидкости, для чего необходимо иметь нефелометр, и непригоден для материала с большим количеством слизи (Рис. 3).



Рис. 4. Apparat BD Prep Stain Slide Processor



Рис. 3. Нефелометр

Аппарат **BD Prep Stain Slide Processor** — закрытая система. Этот метод приготовления цитологических монослойных мазков на фирменных предметных стеклах BD с использованием аппарата BD PrepStain™ и фиксирующего раствора BD CytoRich Red позволяет не только фиксировать клеточный материал, но и лизировать эритроциты. За 45 минут готовится 48 монослойных препаратов высокого качества, за восьмичасовой рабочий день — 288, d мазка = 13 мм, окраска только по Паппаниколау, производится автоматически. Можно программировать количество окрашенных и неокрашенных мазков. Препараты очищены от слизи и крови. Но этот метод исследования требует длительной подготовки (рис. 4, 5).

Для визуализации ИЦХ реакции использовали систему LSAB+ Detection System («DAKO»), выявление пероксидазной активности проводили с помощью 3,3-диаминобензидина (ДАБ), цитопрепараты докрашивали гематоксилином Майера. В работе использованы моноклональные кроличьи и мышьиные антитела (фирма «DAKO», Дания).



Рис. 5. Монослойные цитологические препараты BD Prep Stain

На 30 клинических примерах изучены цитологические препараты выпотных жидкостей из брюшной и плевральной полостей и смывы из брюшной полости, приготовленные классическим способом и на аппаратах Prep Stain BD и Cytospin. Использовались два вида окраски: по Паппаниколау и Лейшману. Исследовались выпотные жидкости серозных полостей — 20 наблюдений, смывы из брюшной полости — 10 (табл. 1). В 21 наблюдении проведено 44 ИЦХ исследования. В 16 образцах для определения специфичности процесса использовали эпителиальные маркеры ЭМА, BerEp4, а в пяти — для определения органной принадлежности клеток опухоли использовали МКАТ: ЦК7, ЦК20, TTF1, Cdx2, Тиреоглобулин, CA125, РЭ, РП.

В работе исследовали экссудаты плевральной и перитонеальной полостей следующих патологий: восемь наблюдений — новообразования яичников, девять — РМЖ, один — рак шейки матки, один — рак маточной трубы и один случай невыявленного первичного источника новообразования. Смыв с брюшной полости производили интраоперационно при заболеваниях яичников — в четырех наблюдениях, при опухоли тела матки — в четырех наблюдениях, при раке шейки матки — в одном наблюдении, при РМЖ — в одном наблюдении (табл. 1).

При цитологическом анализе классических и жидкостных препаратов смывов с брюшины получены следующие результаты (табл. 2):

- в семи из 10 наблюдений (70%) традиционных и Cytospin препаратах отмечалась значительная

Таблица 1

Характеристика материала

Объект исследования	Количество наблюдений (n=30)	Локализация патологии	Количество исследований (n=30)
Плевральный выпот	10	Опухоли яичников	2
		РМЖ	6
		БПО	1
		Рак шейки матки	1
Перитонеальный выпот	10	Рак яичников	6
		РМЖ	3
		Рак маточной трубы	1
Смыв с брюшной полости	10	Опухоли яичников	4
		РМЖ	1
		Опухоли тела матки	4
		Рак шейки матки	1

Таблица 2

Сравнительная характеристика качества цитологических препаратов смывов из брюшной полости при классическом и жидкостном методах приготовления мазков

Характеристика препаратов	Классический метод	Cytospin 3, Thermo Scientific Shandon	BD Prep Stain Slide Processor
Материал скудный	5/10	4/10	5/10
Материал густой	2/10	2/10	—
Значительная примесь крови	7/10	7/10	—
Лизис части клеток мезотелия	8/10	7/10	6/10
Неравномерное распределение клеток на стекле, скученность	5/10	3/10	—

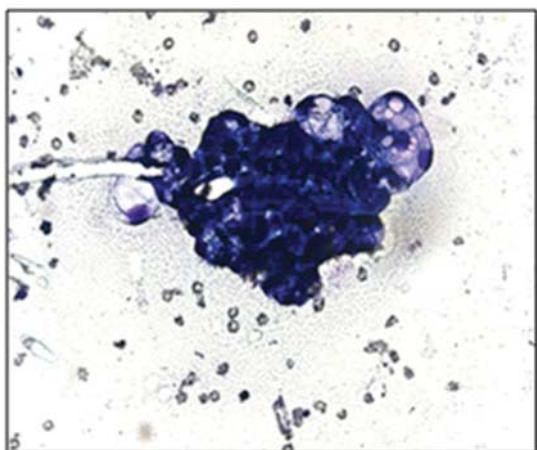


Рис. 6. Традиционный мазок
(окраска по Лейшману, X200)

примесь крови и полностью отсутствовала в BD-мазках;

- поскольку для смыва используют физиологический раствор, большая часть клеток лизи-

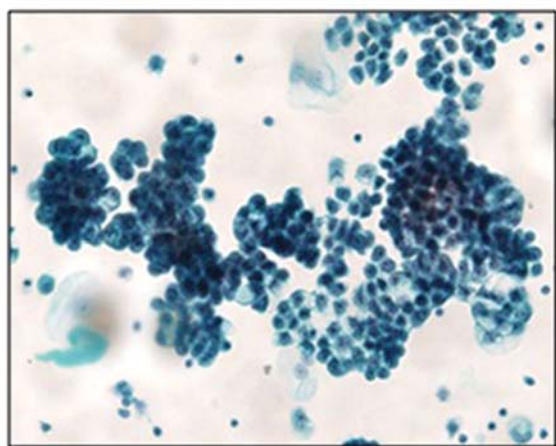


Рис. 8. Препараты PrepStain BD
(окраска по Папаниколу, X200)

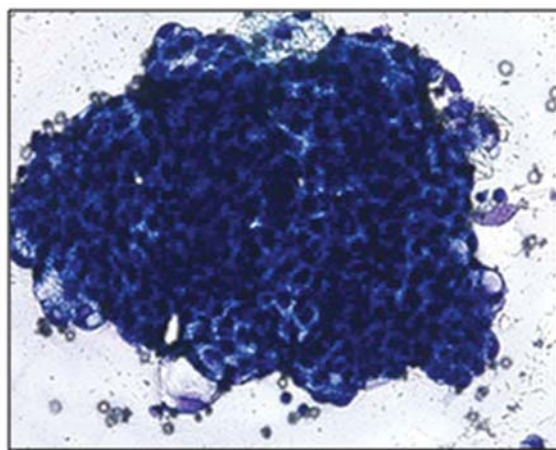


Рис. 7. Препарат Cytospin
(окраска по Лейшману, X200)

руется, этот недостаток наблюдается практически во всех типах мазков в 60–80%;

- независимо от способа приготовления препаратов скудность клеточного материала отмечена в половине исследований, тогда как густые мазки наблюдались в 20% традиционных и Cytospin препаратов;
- монослой, равномерное распределение клеток в мазке выявлены во всех BD-препаратах, в семи из 10 системы Cytospin и в пяти из 10 в традиционных мазках (табл. 2).

Интраоперационный смыв с брюшины производят при отсутствии патологической жидкости в брюшной полости, что чаще всего наблюдается при доброкачественных процессах, или когда пациентке уже провели соответствующее лечение, или при начальных стадиях злокачественного процесса (I–II), что подтверждается

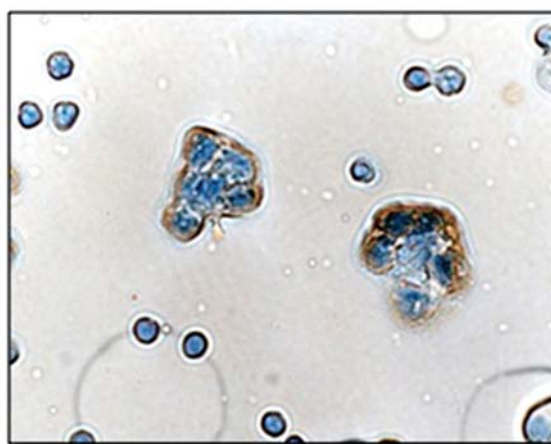
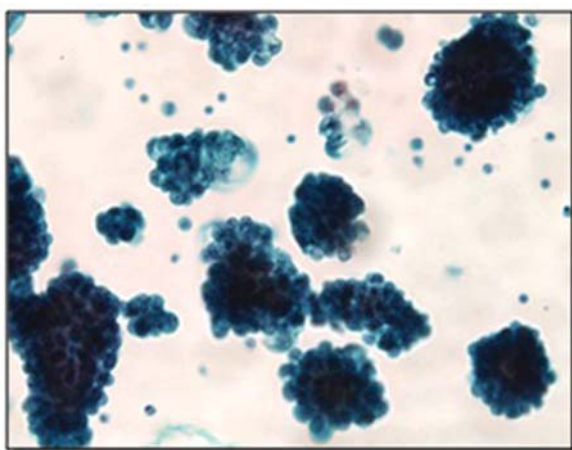


Рис. 9. Препараты PrepStain BD. ИЦХ:
положительная ИЦХ реакция с BerEp4 (X400)

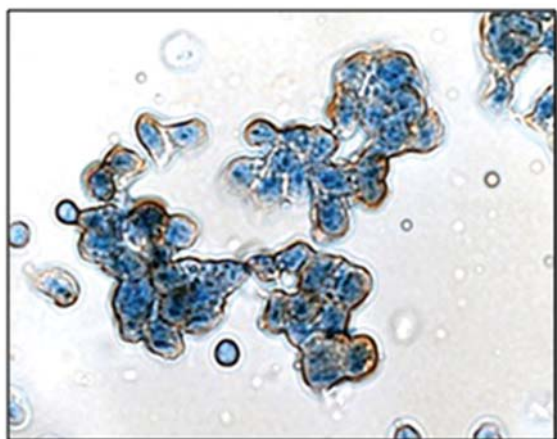


Рис. 10. Препараты PrepStain BD. ИЦХ: положительная ИЦХ реакция с CA125. (X400)

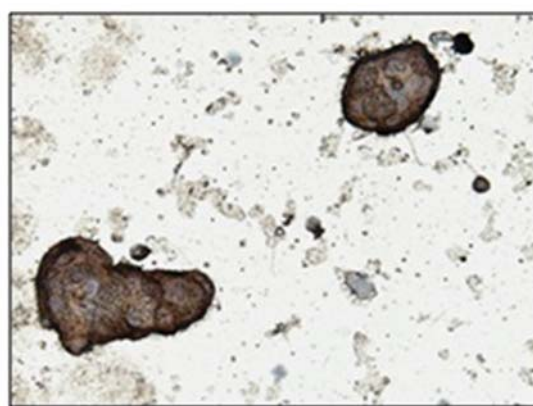


Рис. 11. Препараты Cytospin. ИЦХ: положительная экспрессия VEGF4. (X 400)



Рис. 12. Препараты Cytospin. ИЦХ: положительная экспрессия CA125. (X 400)

в наших цитологических и ИЦХ исследованиях (V = 5–15 мл) (табл. 3):

- в одном из 10 наблюдений во всех типах мазков выявлены комплексы клеток серозной папиллярной аденокарциномы (АК) яичников (клиническое наблюдение № 1. Рис. 6–12);
- в 90% классических и Cytospin препаратах, в 80% мазков BD отмечались отдельные или в скоплениях, либо в пластах клетки мезотелия (рис. 13–15);
- в одном случае в препаратах BD было выявлено и заподозрено в принадлежности к опухолевым клеткам единичное небольшое скопление, однако при ИЦХ исследовании с антителами к ЭМА реакция была отрицательной.

Клиническое наблюдение № 1: пациентка С., 72 года. *Клинический диагноз:* рак яичников III стадии. Состояние после комбинированного лечения (операция + семь курсов ПХТ) в 2007 г. Рецидив? Смыв с брюшной полости V=15 мл. *Гистологическое заключение:* умеренно диф-

ференцированная серозная папиллярная АК. Цитологическое заключение: в цитограмме определяются комплексы клеток АК сосочкового и папиллярного строения (рис. 6–12).

При цитологическом анализе различных типов препаратов необходимо отметить следующее:

Таблица 3

Цитологические заключения при анализе препаратов смывов из брюшной полости при традиционном и жидкостном методах приготовления мазков (n=10)

Варианты цитологического заключения	Традиционный метод, n=	Cytospin 3, Thermo Scientific Shandon, n=	BD Prep Stain Slide Processor, n=	Совпадения с гистол. заключением %	Подтверждено ИЦХ
Реактивные изменения мезотелия	9	9	8	80%	8/7
Специфический характер процесса — наличие клеток рака	1	1	1	10%	1/1
Подозрение на наличие клеток рака	—	—	1	10%	0/1

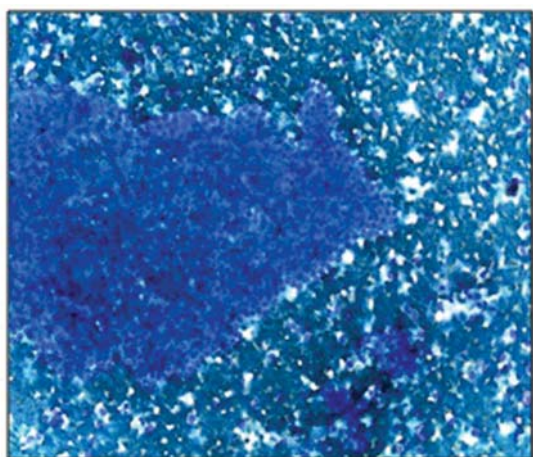


Рис. 13. Традиционный мазок (окраска по Лейшману, X100)

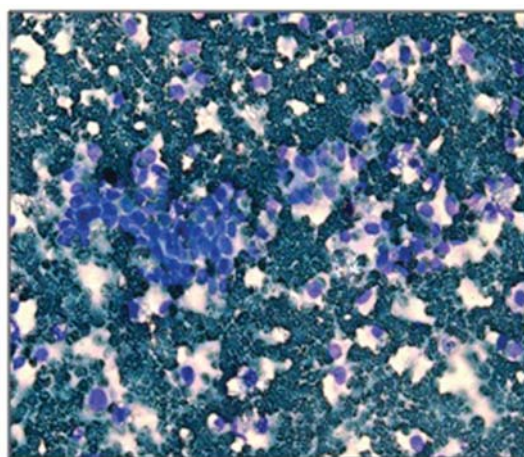


Рис. 14. Препарат Cytospin (окраска по Лейшману, X200)

папиллярные структуры опухоли наиболее отчетливо выражены в BD мазках, хотя сами клетки несколько уменьшены в размерах. Положительные ИЦХ реакции с BerEp4 и CA125 более выражены в мазках Cytospin, в BD-препаратах они более нежные, «бледные».

При оценке качества и адекватности мазков цитологического материала классических и жидкостных препаратов выпотных жидкостей плевральной и брюшной полостей получены следующие результаты (табл. 4):

- в четырех из 20 наблюдений (20%) традиционных и в шести из 20 (30%) Cytospin препаратах отмечалась значительная примесь крови, которая не наблюдалась в BD-мазках;
- лизис части клеток, признаки дистрофии и репарации отмечались в 15% всех типов мазков — и классических, и жидкостных, что характерно для реактивно-воспалительных

и специфических экссудатов и не зависит от способа приготовления препаратов;

- накопление жидкости в полости, как правило, связано с раздражением брюшины независимо от этиологического фактора. При этом наблюдались элементы воспаления, клетки опухоли и т.д. В связи с этим скудность клеточного материала связана либо с неправильным забором материала, либо неправильным его приготовлением. При цитологическом анализе материала в одном наблюдении было доставлено немного жидкости ($V=7$ мл), и во всех типах мазков отмечалось скудное количество клеток, в другом — традиционном — при адекватности жидкостных препаратов клетки были единичными. Возможно, это связано с концентрацией клеток на стекле в одном «окошке», тогда как в классических мазках материал «размазывают» на 7–10 стеклах;

Таблица 4

Сравнительная характеристика качества цитологических препаратов выпотных жидкостей брюшной и плевральной полостей (n=20) при классическом и жидкостном методах приготовления мазков

Показатели	Традиционный метод	Cytospin 3, Thermo Scientific Shandon	BD Prep Stain Slide Processor
Материал скудный	2/20	1/20	1/20
Материал густой	3/20	5/20	—
Значительная примесь крови	4/20	6/20	—
Лизис части клеток, признаки дистрофии и репарации	3/20	3/20	3/20
Неравномерное распределение клеток на стекле, скудность элементов	6/20	4/20	2/20

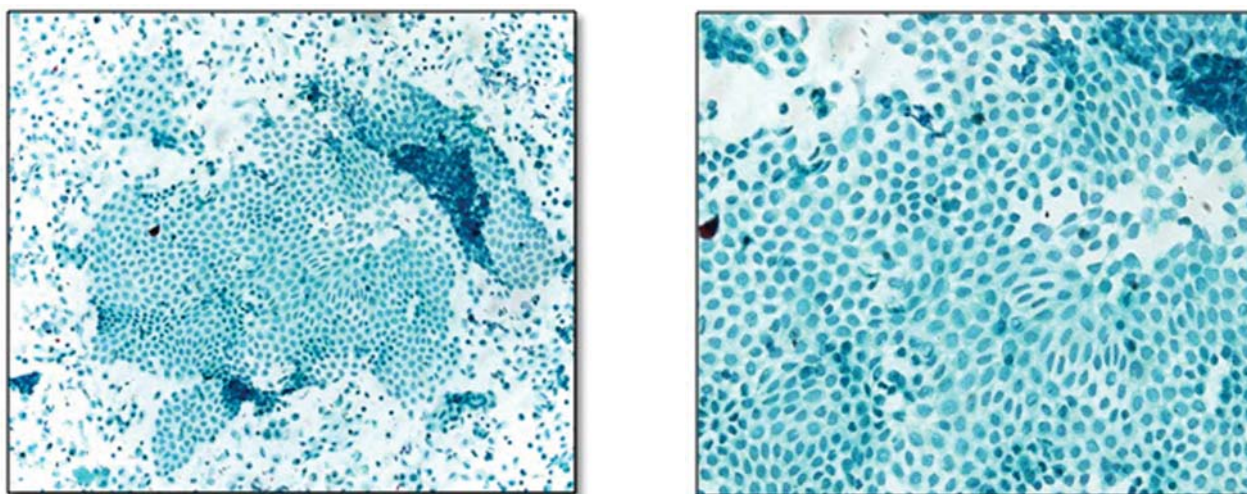


Рис. 15. Препараты PrepStain BD (окраска по Папаниколау, X100; 400)

- при приготовлении BD-препаратов на последней стадии проводят обработку мазка спиртовым раствором для удаления излишков материала, что не происходит в классической и Cytospin технологии;
- монослой, равномерное распределение клеток в мазке имеет место в 90% BD –препаратов, в 80% — Cytospin и в 70% в традиционных мазках.

Как было сказано выше, при количестве асцитической жидкости более 50 мл вероятность карциноматоза брюшины составляет до 75–100%. Чаще всего в лабораторию доставляют от 20 до 3000 мл выпота. Мы получили следующие результаты (табл. 5):

- в 55% исследований выявлен специфический характер экссудата независимо от типа препаратов традиционного цитологического или ИЦХ. Объем доставленной жидкости варьировал от 20 до 1300 мл (клиническое наблюдение № 2);

- реактивно-воспалительный экссудат отмечен в 20% наблюдений во всех типах мазков, однако если в классических и Cytospin препаратах элементы воспаления и мезотелий распределены на стекле относительно равномерно, то в препаратах BD элементы воспаления в виде плотных скоплений были «замурованы» в нити фибрина, которые образовались при обработке спиртсодержащими реактивами (рис. 16–17);
- реактивные изменения мезотелия выявлены в 20% исследований независимо от технологии приготовления материала, в двух наблюдениях их подтвердили отрицательными ИЦХ реакциями с эпителиальными маркерами;
- в одном наблюдении во всех типах мазков цитологически заподозрены клетки, с большой вероятностью принадлежащие АК. После ИЦХ исследования был подтвержден специфический характер процесса, однако источник метастаза удалось выявить дополнительным

Таблица 5

Цитологические заключения при анализе препаратов выпотных жидкостей брюшной и плевральной полостей (n=20) при традиционном и жидкостном методах приготовления мазков

Варианты цитологического заключения	Традиционный метод	Cytospin 3, Thermo Scientific Shandon	BD Prep Stain Slide Processor	Подтверждено ИЦХ (n=17)
Реактивные изменения мезотелия	4/20	4/20	4/20	4/4
Реактивно-воспалительный экссудат	4/20	4/20	4/20	2/2
Подозрение на наличие клеток рака	1/20	1/20	1/20	1/1
Специфический характер процесса — наличие клеток рака	11/20	11/20	11/20	10/10

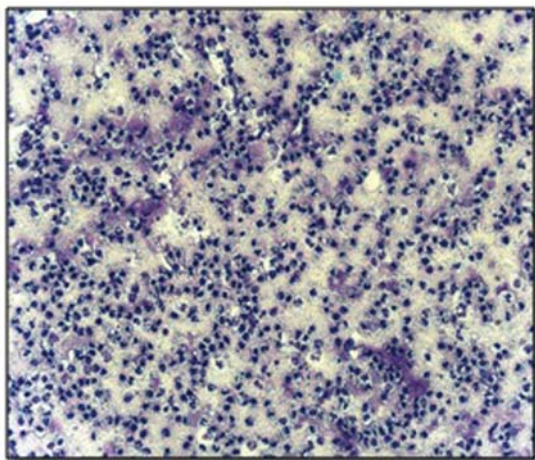


Рис. 16. Препараты Cytospin. Реактивно-воспалительный экссудат (окраска по Лейшману, X100)

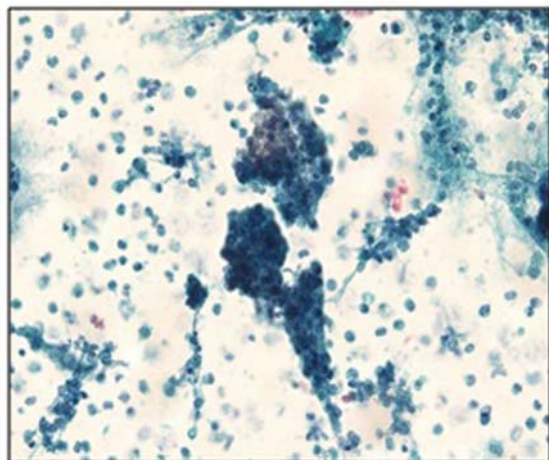


Рис. 17. Препараты PrepStain BD. Реактивно-воспалительный экссудат (окраска по Паппаниколу, X100)

ИЦХ исследованием с применением органоспецифических маркеров (клиническое наблюдение № 5);

- если в препаратах системы Cytospin структурность клеточных скоплений более рыхлая, то в мазках BD комплексы приобретают большую плотность и структурность, при этом сами клетки несколько сморщиваются, слегка уменьшаются в размерах, отмечается их трехмерность, полупрозрачность, четко и ярко определяются ядрышки (клиническое наблюдение № 3 и № 4).

Клиническое наблюдение № 2: пациентка Н., 66 год. *Клинический диагноз:* рак маточной трубы III В стадии Состояние после ПХТ.

Асцитическая жидкость в V=300мл, мутная, густой консистенции. *Гистологическое заключение:* умереннодифференцированная аденокарцинома. *Цитологическое заключение:* клеточный состав представлен множеством нейтрофильных лейкоцитов, отдельных макрофагов, кристаллами холестерина и единичными скоплениями клеток с признаками дистрофии, которые трудно дифференцировать между реактивным мезотелием и клетками рака.

Таким образом, применение ИЦХ исследований с эпителиальными маркерами ЭМА, VerEp4 позволяет выявлять даже единичные клетки и мелкие комплексы клеток рака в биологических жидкостях.

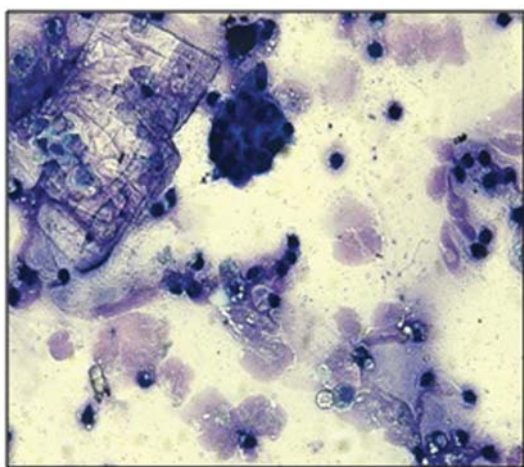


Рис. 18. Традиционный мазок (окраска по Лейшману, X100)

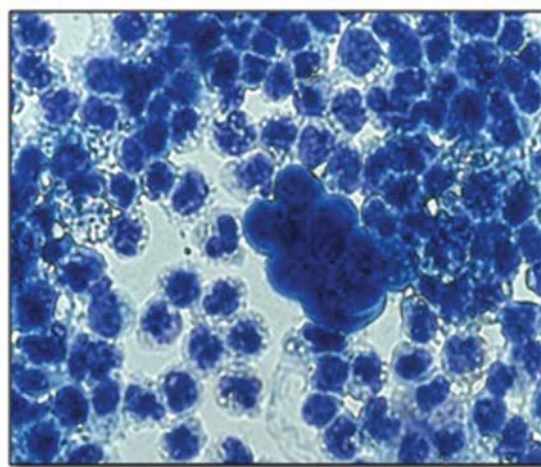


Рис. 19. Препарат Cytospin (окраска по Лейшману, X400)

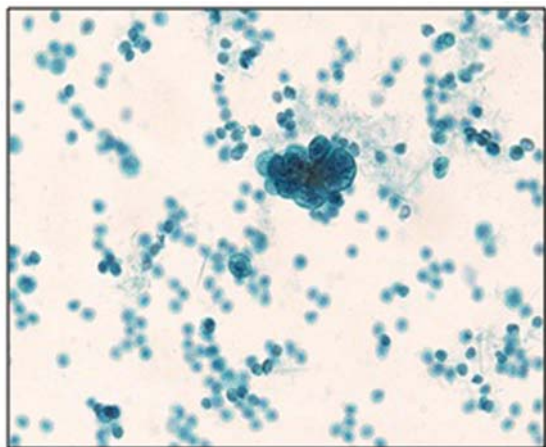


Рис. 20. Препарат PrepStain BD
(окраска по Папаниколау, X200)

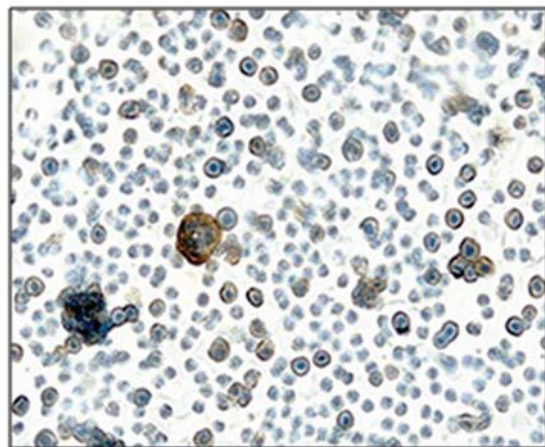


Рис. 21. Препарат PrepStain BD. ИЦХ:
положительная экспрессия ЭМА (X 100)

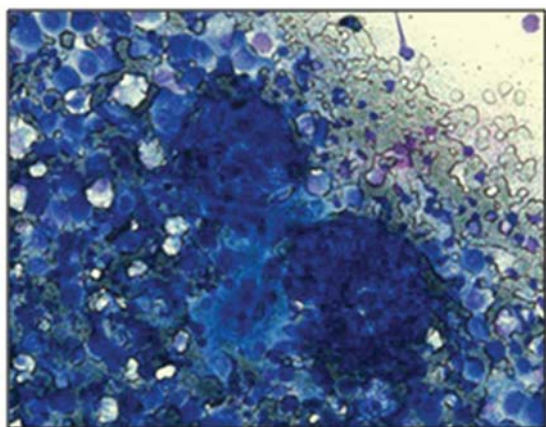


Рис. 22. Традиционные мазки
(окраска по Лейшману, X400)

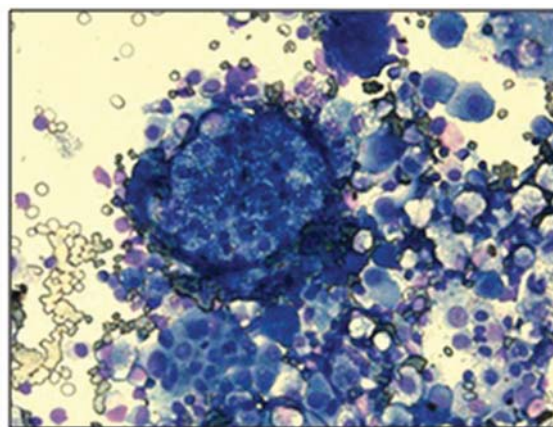


Рис. 23. Препараты Cytospin
(окраска по Лейшману, X400)

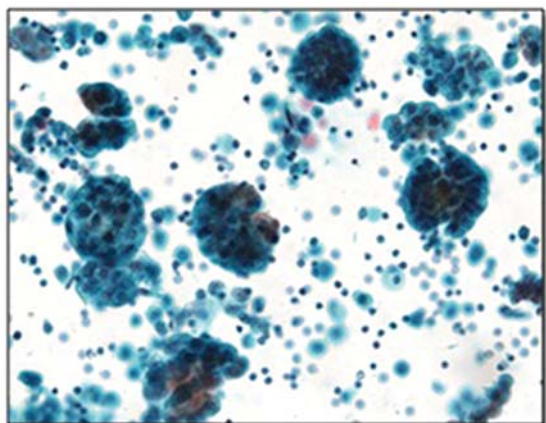


Рис. 24. Препараты PrepStain BD
(окраска по Папаниколау, X200)

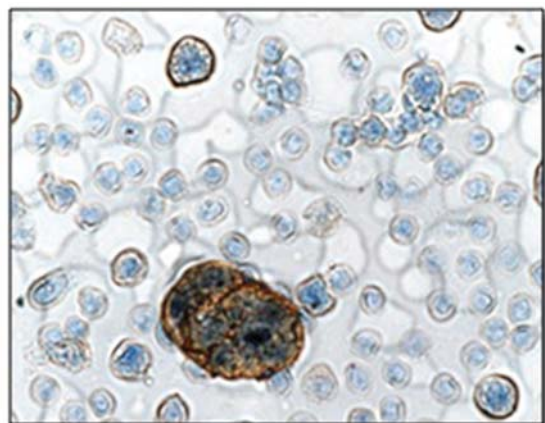


Рис. 25. Препараты PrepStain BD. ИЦХ:
положительная экспрессия ЭМА (X 400)

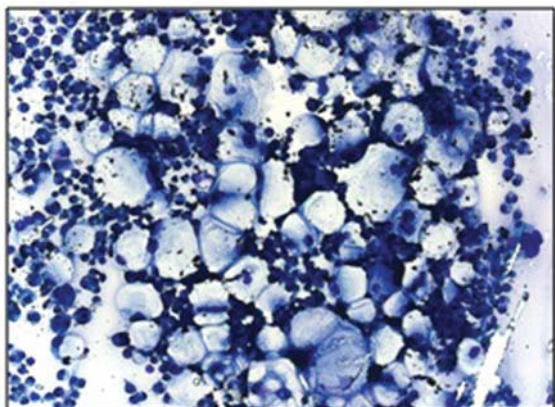


Рис. 26. Традиционный мазок (окраска по Лейшману, X200)

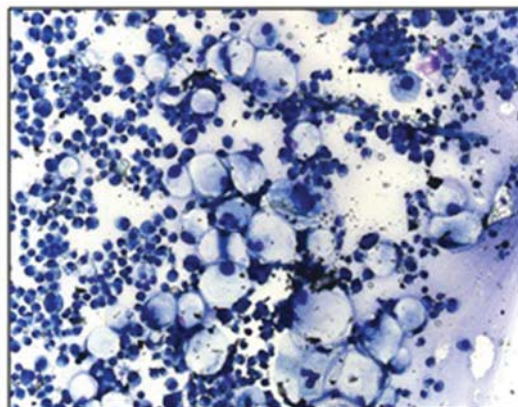


Рис. 27. Препарат Cytospin (окраска по Лейшману, X100)

Клиническое наблюдение № 3: пациентка К., 61 год. *Клинический диагноз:* рак молочной железы IV ст, метастаз в плевре. Жидкость из плевральной полости в V=300 мл. *Цитологическое заключение:* специфический экссудат с наличием комплексов клеток рака молочной железы.

В мазках всех типов отмечаются характерные шарообразные скопления клеток рака молочной железы. Это было подтверждено положительной ИЦХ реакцией с ЭМА.

Клиническое наблюдение № 4: пациентка Ш., 57 лет. *Клинический диагноз:* серозный рак яичников III стадии. Асцит в V=500 мл.

Гистологическое исследование: низкодифференцированная серозная аденокарцинома. *Цитологическое заключение:* экссудат с наличием комплексов клеток серозной АК яичников.

В BD-мазках отмечается более равномерное распределение клеточного материала, однако клетки слегка сморщенные, с яркими четкими нуклеолами в ядрах опухолевых клеток. В препаратах Cytospin и традиционных мазках цитологическая картина абсолютно идентична и хорошо узнаваема специалистом, однако материал на стекле несколько густоват.

Клиническое наблюдение № 5: пациентка Ш., 64 года. *Клинический диагноз:* плеврит неясного генеза в V=300 мл. Заболевание легкого? *Цитологическое заключение:* специфический экссудат с наличием мелких комплексов и отдельных клеток АК.

Использование специфических ИЦХ маркеров (СА 125) позволило выявить источник метастазирования — аденокарциному яичника, что подтвердилось инструментальными

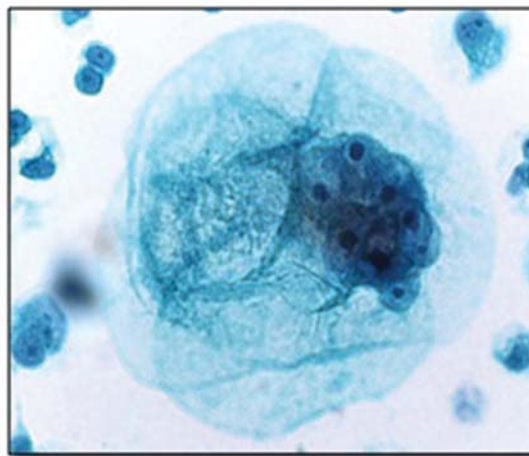
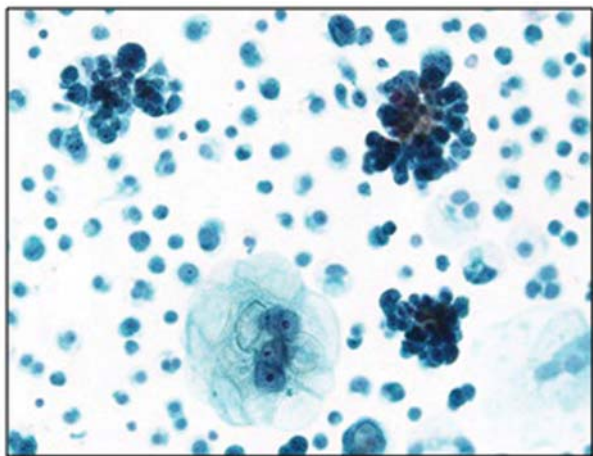


Рис. 28. Препараты PrepStain BD (окраска по Папаниколау, X400; 1000)

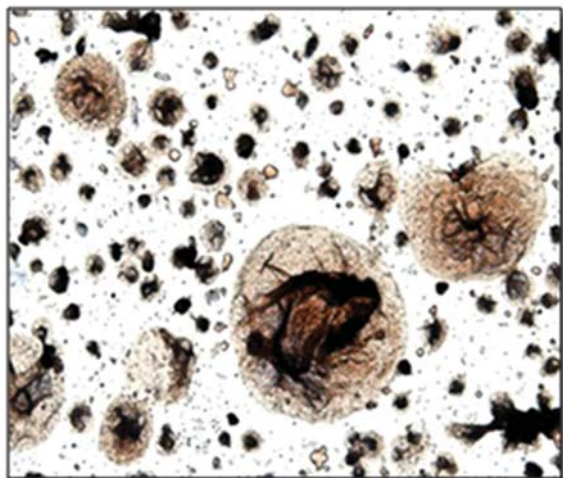


Рис. 29. Препараты PrepStain BD. ИЦХ: положительная ИЦХ реакция с BerEp4 (X400)

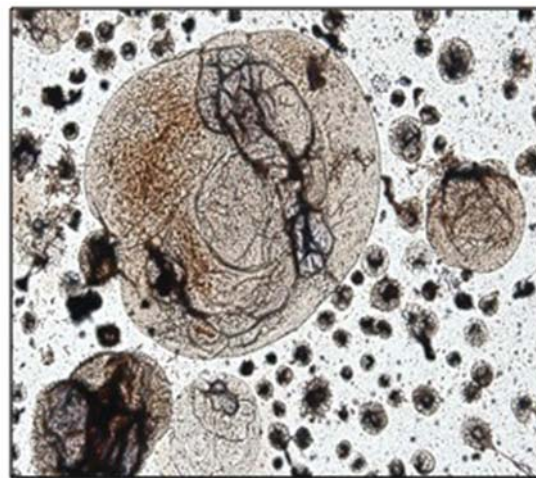


Рис. 30. Препараты PrepStain BD. ИЦХ: положительная ИЦХ реакция с CA125 (X1000)

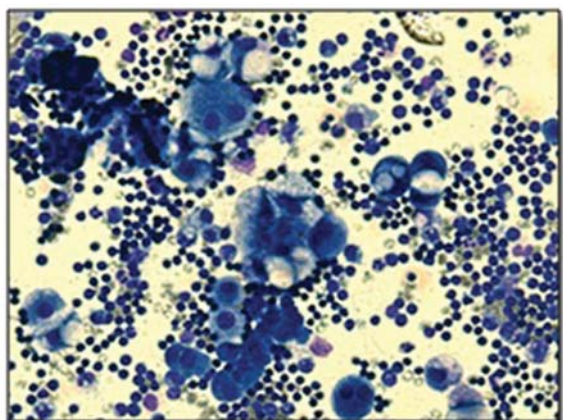


Рис. 31. Традиционный мазок (окраска по Лейшману, X400)

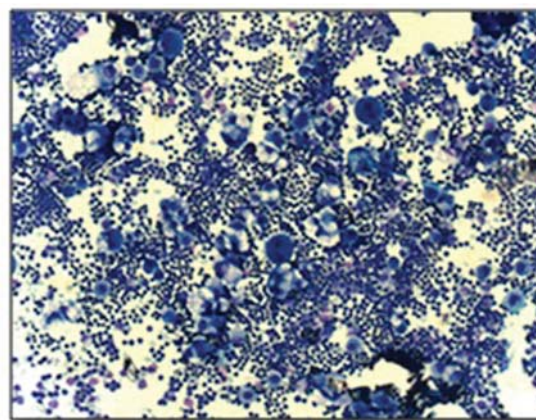


Рис. 32. Препарат Cytospin (окраска по Лейшману, X100)

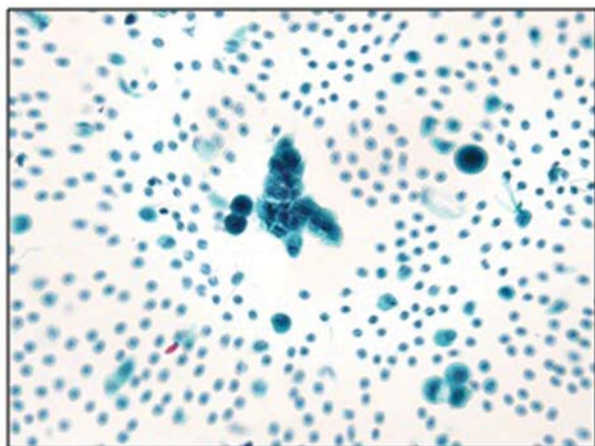
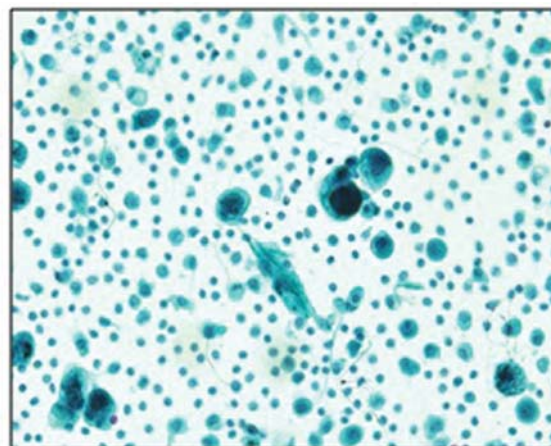


Рис. 33. Препараты PrepStain BD (окраска по Папаниколау, X200)



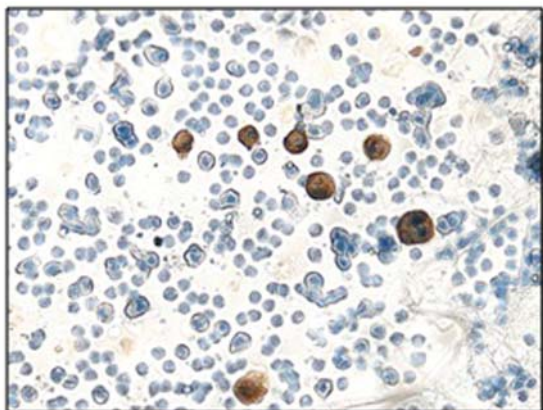


Рис. 34. Препараты PrepStain BD. ИЦХ: положительная ИЦХ реакция с BerEp4 (X200)

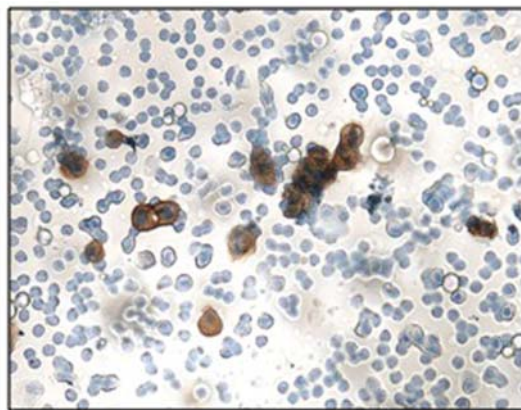


Рис. 35. Препараты PrepStain BD. ИЦХ: положительная ИЦХ реакция с CA125 (X200)

методами исследования. В ИЦХ мазках системы Cytospin и BD отмечаются четкие яркие реакции с эпителиальным маркером BerEp4 и органоспецифическим CA125.

Выводы:

- Одновременное применение жидкостной и классической цитологии позволяет повысить эффективность цитологической диагностики биологических жидкостей и смывов с брюшной полости за счет снижения процента неудачно взятого материала.
- Морфология клеток в препаратах Cytospin максимально приближена к морфологии клеток традиционных мазков, но структуры

скоплений частично «разбиты», сохраняется фон из эритроцитов, приготовление препаратов требует определения клеточной плотности в жидкости. В препаратах PrepStain BD клетки слегка уменьшены в размерах, хорошо видны нуклеолы ядер, структуры скоплений сохранены, но отмечается их трехмерный объем.

- Во всех жидкостных препаратах (Cytospin и PrepStain BD) клетки сконцентрированы локально на стекле, образуя монослой, что облегчает просмотр мазка, экономит время исследования и реактивы. Однако равномерность распределения клеток на стекле в BD препаратах значительно лучше.

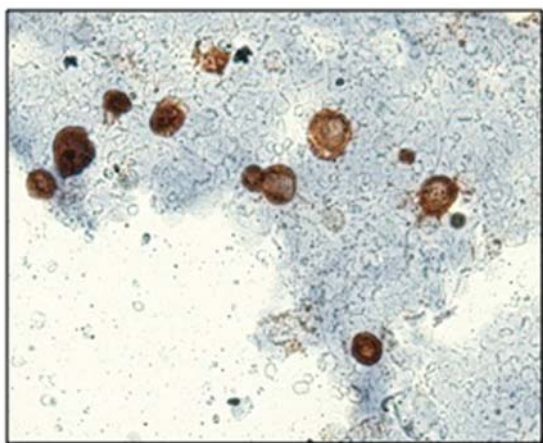


Рис. 36. Препараты Cytospin. ИЦХ: положительная экспрессия BerEp4 (X 200)

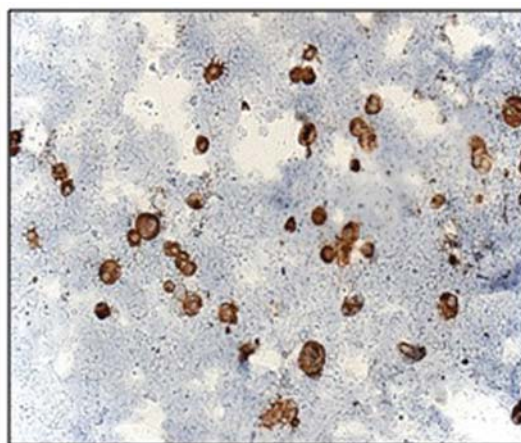


Рис. 37. Препараты Cytospin. ИЦХ: положительная экспрессия CA125 (X 100)

• Жидкостные технологии Cytospin и PrepStain BD позволяют стандартизировать препараты и проводить иммуноцитохимические, цитогенетические, морфометрические исследования клеток биологических жидкостей. Отметим, что ИЦХ реакции на Cytospin препаратах более яркие, чем на мазках PrepStain BD, но за счет наличия эритроцитов имеют более выраженный фон, что мешает оценке результатов ИЦХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы // Онкогинекология. 2012. № 1. С. 18–23.
2. Chang D.K., Kim J.W., Kim B.K., Lee K.L., Song C.S., Han J.K., Song I.S. World J.Gastroenterol. 2005. V. 11. (Suppl. 42). P. 6587–6592.
3. Борисова О.В. Современные возможности цитологического метода в исследовании плевральных и перитонеальных экссудатов // Дисс... канд. мед. наук. 2010. С. 13–15.
4. Глузман Д.Ф., Склярченко Л.М., Надгорная В.А., Крячок И.А. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей // Киев: Морион, 2003. С. 28–41.
5. Gabriel C., Achten R., Drijoningen M. Use of liquid-based cytology in serous fluids: a comparison with conventional cytopreparatory techniques. Acta Cytol. 2004; 48(6):825–835.
6. Kujan O., Desai M., Sargent A., Bailey A., Turner A., Sloan P. Potential applications of oral brush cytology with liquid-based technology. Results from a cohort of normal oral mucosa. Oral Oncol. 2006; 42: 810–818.
7. Hayama F.H., Motta A.C., Silva A.P., Migliari D.A. Liquid-based preparations versus conventional cytology: specimen adequacy and diagnostic agreement in oral lesions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10(2):115-122.
8. Савостикова М.В. Иммуноцитохимическое исследование в диагностике и оценке важнейших факторов прогноза злокачественных и доброкачественных образований // Дисс... канд. Мед. наук. 2007. С. 24–27.
9. Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей. Москва. 2010.
10. Davis-Devine S., Day S.J., Freund G.G. New red blood cell lysing fixative for use in fine needle aspiration and fluid cytology. Acta Cytol. 2003; 47(4):630–636.
11. Longato F., Alves V., Kanamura C., Nonogaki S., Bortolan J. et al. Identification of the primary site of metastatic adenocarcinoma in serous effusions. Value of an immunocytochemical panel added to the clinical arsenal. //Acta Cytologica . 2002. V. 46 (4). P. 651–658.
12. Michael C.W., McConnel J., Pecott J., et al. Comparison of ThinPrep and TriPath PREP liquid-based preparations in nongynecologic specimens: a pilot study. Diagn Cytopathol. 2002; 25(3): 177–184.