

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
ІМЕНІ П. Л. ШУПИКА**

МАРИНЕНКО СВІТЛАНА ВЯЧЕСЛАВІВНА

УДК 616 – 006.66 – 006.32 – 008.841.7] – 076.5

**ДИФЕРЕНЦІЙНА ЦИТОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА
АДЕНОКАРЦИНОМИ, МЕЗОТЕЛІОМИ
ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ**

14.01.39 – клінічна лабораторна діагностика

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук



Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному інституті раку

Науковий керівник доктор медичних наук, професор
Болгова Лідія Севастянівна,
Національний інститут раку МОЗ України,
завідувач науково-дослідного відділення
цитопатології та патологічної анатомії

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Клименко Сергій Вікторович,
ДУ «Національний науковий центр радіаційної
медицини НАМН України»,
завідувач відділу медичної генетики

доктор медичних наук, професор
Глузман Данило Фішелевич,
Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України,
завідувач відділу онкогематології

Захист відбудеться «7» травня 2019 р. о 12⁰⁰ годині
на засіданні спеціалізованої вченої ради НМАПО імені П. Л. Шупика
(04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці
НМАПО імені П. Л. Шупика (04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9)

Автореферат розісланий «5» квітня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук



Бардова К. О.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За даними Національного канцер-реєстру, неопластичні процеси в Україні займають 2 місце в структурі захворюваності та в структурі смертності населення (О.О. Колеснік, З.П. Федоренко, 2018).

На пізніх стадіях злоякісні новоутворення викликають накопичення рідини в плевральних та перитонеальних порожнинах. Найчастіше пухлинний плеврит обумовлений раком легень (35 %), раком яєчників (32 %), раком молочної залози (23 %), лімфомами (10 %). Асцит переважно виникає у жінок при раку яєчників, у чоловіків – раку шлунка, у дітей – лімфомі, нейробластомі (В.С. Свінцицький, 2015, А.А. Ковалев, 2015; А.І. Рибін, 2018).

Встановлення морфологічного типу та розповсюдженості пухлинного процесу з цитологічним дослідженням на доопераційному та операційному етапах (Е.Г. Новикова, 2013) визначає обсяг оперативного втручання, подальшу терапію та прогноз захворювання, а при неоперабельних процесах – тактику консервативної терапії.

Диференційну діагностику доброякісних та злоякісних процесів в плевральній та перитонеальній порожнині ускладнює той факт, що клітини мезотелію при запальних процесах набувають ознак атипії. В таких випадках діагностика лише цитоморфологічними методами неможлива (Н.Н. Волченко, 2014).

Для встановлення доброякісної чи злоякісної природи плевральних або перитонеальних ексудатів актуальною є розробка комплексу цитоморфологічних, імуноцитохімічних та цитогенетичних методів.

Імуноцитохімічні дослідження дозволяють на підставі виявлення експресії тканино- та органоспецифічних маркерів визначати походження клітин, що містяться в рідині ексудатів. До того ж існує ряд імуноцитохімічних маркерів малігнізації епітелію ряду органів (В.Ф. Чехун, 2017). Імуноцитохімічний (ІЦХ) метод в диференційній діагностиці проліферуючого мезотелію і метастазів злоякісних пухлин в Україні започаткував Д.Ф. Глузман та співавт., (1993). ІЦХ дослідження ексудатів зарубіжні автори (С. Comin et al., 2007; Е. Sakir, 2009, J. Cho, 2013; F. Wang, 2014; M. Chen, 2017) проводять на клітинних блоках. Більш економічний метод поєднання цитологічного та ІЦХ досліджень на тих самих препаратах використовує Ю.М. Божок та співавт. (2013) для визначення гістогенезу пухлинних елементів.

Для уточнення патологічних процесів в сучасній онкологічній практиці використовують генетичні методи дослідження (С.В. Клименко, 2017). Метод визначення основних морфологічних типів ядерцевоутворюючих організаторів також допомагає проводити диференційну діагностику злоякісних і доброякісних патологічних процесів (Л.С. Болгова та співавт., 2012). Втім існує лише декілька публікацій з цього приводу стосовно плевральних та перитонеальних ексудатів (К. Sujathan, 1996; M. Gill, 2011; S. Gupta, 2013).

Аналіз стану цитологічної діагностики первинних та метастатичних уражень серозних оболонок свідчить, що застосування лише одного методу не забезпечує вірогідної інформації про наявність метастазів аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. Отже, вищенаведене переконливо обґрунтовує необхідність розробки комплексу методів дослідження ексудатів для визначення характеру патологічного процесу і диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивних змін мезотелію як актуального завдання клінічної лабораторної діагностики, що має суттєве значення для визначення підходів до лікування онкологічних хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана за планом науково-дослідних робіт Національного інституту раку: «Удосконалити морфологічну діагностику новоутворень яєчника з використанням комплексу сучасних цитологічних і гістологічних досліджень» (ВН.14.01.07.135-12; номер державної реєстрації 0112U000022; 2012–2014 рр.); «Розробити комплексну цитологічну діагностику пухлин підшлункової залози, печінки за допомогою сучасних цитологічних досліджень» (ВН.14.01.07.155-15; номер державної реєстрації 0115U000809; 2015–2017 рр.).

Мета дослідження: удосконалення диференційної цитологічної діагностики метастазів аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту за допомогою комплексу імуноцитохімічних та цитогенетичного методів дослідження.

Завдання дослідження:

1. Оцінити діагностичні значення цитоморфологічних особливостей клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту.
2. Вивчити імуноцитохімічні ознаки клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту.
3. Визначити морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у ядрах клітин мезотеліоми і реактивного серозиту.
4. Визначити ефективність комплексного підходу в диференційній діагностиці метастазів аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту.

Об'єкт дослідження: клітини при доброякісних та злоякісних процесах в плевральній та черевній порожнинах.

Предмет дослідження: цитоморфологічні ознаки та спектр антигенів в клітинах аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту; морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у ядрах клітин мезотеліоми і реактивного серозиту.

Методи дослідження: цитологічний – виявлення кількісних цитоморфологічних змін в клітинах аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту; цитогенетичний – визначення морфологічних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у ядрах клітин мезотеліоми і реактивного серозиту; імуноцитохімічний – вивчення антигенних маркерів для визначення походження клітин в ексудатах; статистичний – для оцінки

кількісних цитологічних показників за t-критерієм Стьюдента та критерієм Вілкоксона.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше показана висока ефективність поєднання використання комплексу цитоморфологічних, імуноцитохімічних та цитогенетичних методів для уточнення природи неопластичних клітин і проведення диференційної діагностики метастазів аденокарцином в плевральну та черевну порожнину, мезотеліоми і реактивного мезотелію.

Вперше проведена оцінка кількісних цитоморфологічних змін клітин аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію.

Практичне значення отриманих результатів. У випадку диференційної діагностики мезотеліом і реактивного серозиту найкращі результати дає кількісне визначення морфологічних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом, яке дозволяє підвищити ефективність на 21 %.

Застосування комплексу цитологічного та імуноцитохімічного методів на забарвлених за Паппенгеймом цитологічних препаратах ексудатів запропонована для використання в онкологічних та неонкологічних лікувальних закладах, що підвищує ефективність диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту на 18 %.

Впровадження результатів роботи в практику. Результати дослідження впроваджено в лабораторії цитологічної діагностики Національного інституту раку, КУ «Мелітопольський онкологічний диспансер», КНП «Чернігівська міська лікарня № 2», ПП «ЛДЦ «Діліція», цитологічній лабораторії Київського міського клінічного онкологічного центру, централізованій цитологічній лабораторії КУ «Запорізька міська клінічна лікарня № 10».

Особистий внесок здобувача. Здобувач вивчила й проаналізувала наукову літературу з обраної теми, провела інформаційно-патентний пошук, сформулювала мету і завдання, розробила дизайн дослідження, узагальнила сукупність одержаних даних. Виконала цитоморфологічні та імуноцитохімічні дослідження клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту та у співавторстві підготувала наукові публікації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації представлені на: конференціях молодих вчених «Современные методы диагностики и лечения больных со злокачественными новообразованиями» (Київ, 2012), «Сучасні методи діагностики і лікування злоякісних пухлин» (Київ, 2013); X з'їзді клінічних цитологів Росії (Смоленськ, 2013); науково-практичних семінарах та конференціях «Нові аспекти в організації і проведенні цитологічної діагностики злоякісних пухлин» (Київ, 2013), «Актуальні питання цитологічної діагностики пухлин» (Київ, 2014); II (Київ, 2013), III (Київ, 2014), IV (Київ, 2015) Міжнародних медичних конгресах «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України»; пленумі

Асоціації клінічних цитологів Росії (Анапа, 2014); XIII з'їзді онкологів та радіологів України (Київ, 2016).

Публікації. Основний зміст дисертації викладено: у 7 статтях в наукових фахових виданнях України та 1 – в зарубіжному; 10 – тези конгресів, з'їздів, конференцій та семінарів; опубліковано методичні рекомендації; отримано патент України на корисну модель.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 132 сторінках машинопису, складається зі вступу, матеріалів та методів, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (155 найменувань, з яких 62 кирилицею та 93 латиницею), 3 додатків; ілюстрована 8 таблицями та 22 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

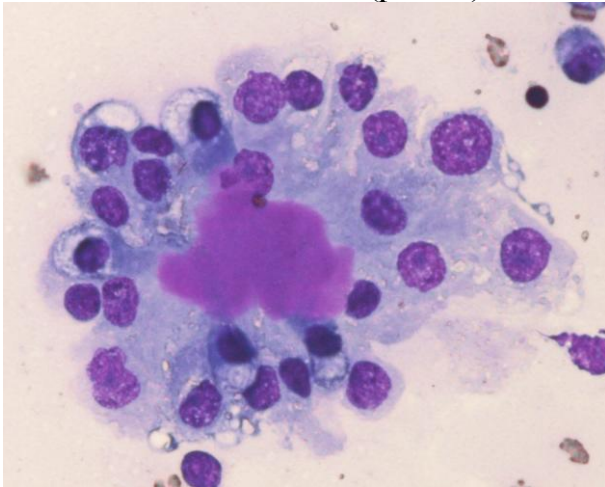
Матеріали та методи. Дисертаційна робота ґрунтується на результатах обстеження 104 хворих, серед яких з аденокарциною 34, з мезотеліомою – 28, з наявністю ексудатів, які мають реактивний характер, – 42 пацієнти. Дизайн дослідження представлено на рисунку 1.



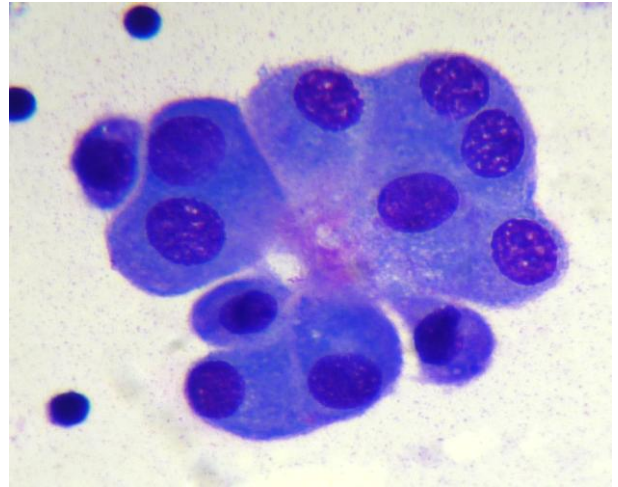
Рис. 1. Схема дизайну дослідження

За цитоморфологічними ознаками препаратів виділено три групи хворих:

– 1 група (аденокарцинома – реактивний серозит) 35 (34 %) пацієнтів, у яких під час лабораторного дослідження випоту виявляли значну кількість клітин мезотелію з вираженими ознаками проліферації, у частині з них – з атипією, але такі ознаки не дозволили підтвердити наявність тільки мезотеліальних клітин (рис. 2).



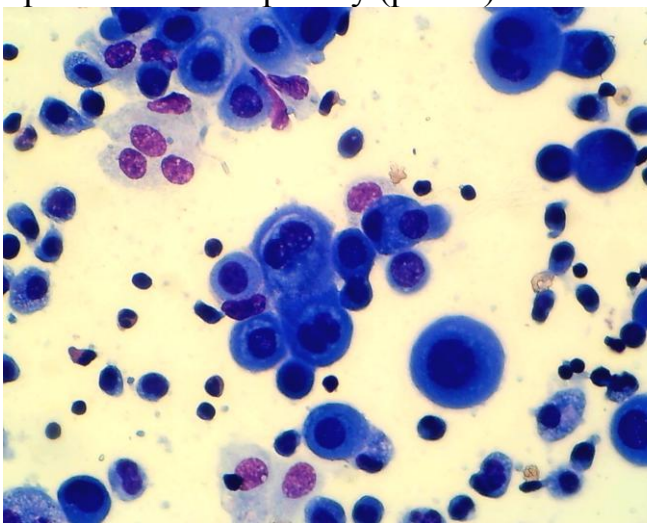
А



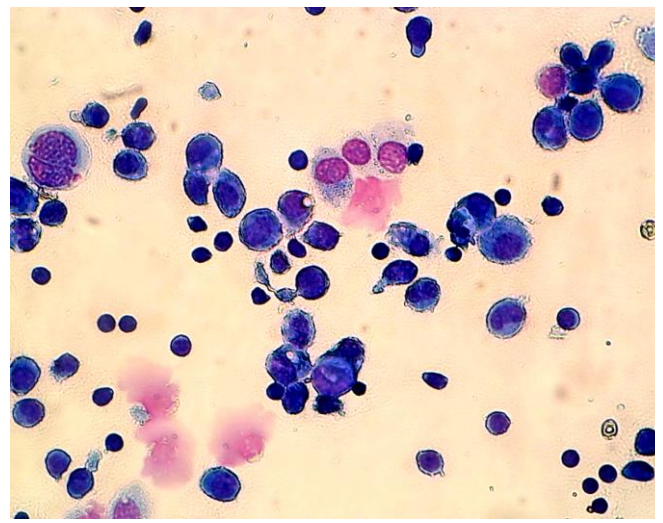
Б

Рис. 2. Препарат асцитичної рідини. Зabarвлення за Паппенгеймом. Х400: А – метастаз аденокарциноми яєчників; Б – реактивний серозит

– 2 група (мезотеліома – реактивний серозит) – у 39 (38 %) пацієнтів, при дослідженні цитологічних препаратів яких було виявлено значну кількість мезотеліальних клітин з вираженими ознаками проліферації, у частині з них – з атипією, що потребувало проведення диференційної діагностики мезотеліоми і реактивного серозиту (рис. 3).



А



Б

Рис. 3. Препарат асцитичної рідини. Зabarвлення за Паппенгеймом. Х400: А – злоякісна епітеліоїдна мезотеліома; Б – реактивний серозит

– 3 група (аденокарцинома – мезотеліома) – 30 (28 %) хворих, при традиційній цитологічній діагностиці визначення злякисного процесу не підлягало сумніву, оскільки всі клітини в цитологічних препаратах мали чіткі ознаки атипії, але походження клітин пухлини з мезотеліоми чи аденокарциноми складно було визначити (рис. 4).

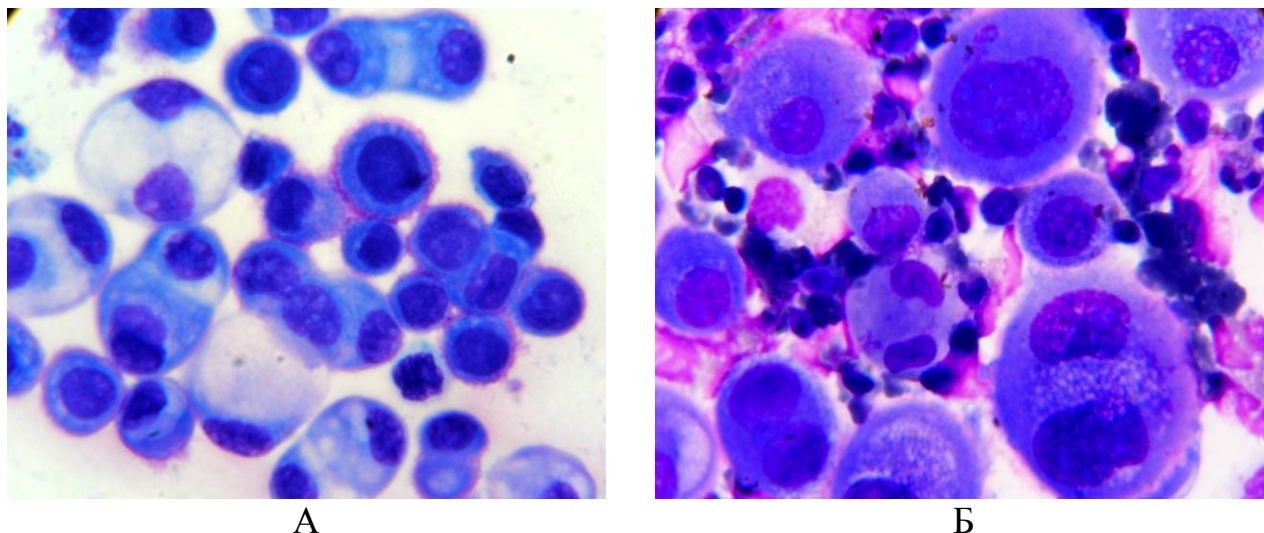


Рис. 4. Препарат асцитичної рідини. Забарвлення за Паппенгеймом. X1000:

А – метастаз аденокарциноми яєчників; Б – злякисна епітеліоїдна мезотеліома

Цитоморфологічні ознаки вивчали за пофарбованими препаратами за методом Паппенгейма та оцінювали за «Схемою цитологічних ознак для формалізованої оцінки якісного та кількісного складу клітин», де враховано 56 основних показників та їх градацій для всіх морфологічних ознак клітин. Вивчали розмір, форму, тинкторіальні особливості цитоплазми, ядра та ядерця у пухлинних та мезотеліальних клітинах. Дослідження лінійних параметрів пухлинних та мезотеліальних клітин проводились в полі зору з максимальною кількістю клітин – 100. Розмір клітини вважали дрібним, якщо її діаметр складав 8–23 мкм, середнім – 24–39 мкм, а великим – 40 мкм і більше; розмір ядра, відповідно, дрібним – 8–15 мкм, середнім – 16–23 мкм, великим – 24 мкм і більше. Напівкількісним методом визначали тинкторіальні властивості ядра та цитоплазми, а також кількість цитоплазми. Забарвлення ядра було гіпохромно +, нормохромно ++, гіперхромно +++; якщо цитоплазма мала слабобазофільне забарвлення +, помірнобазофільне ++, інтенсивнобазофільне +++; коли цитоплазма мала кількість у вигляді вузької облямівки +, помірно розвинена ++, інтенсивно розвинена +++.

Цитометричні вимірювання проводили за допомогою програмного забезпечення Digimizer, 4.3.0.

Для визначення морфологічних типів ядерцевоутворюючих регіонів (ЯУР) хромосом цитологічні препарати фарбували розчином азотнокислого срібла за методикою Howell W., Black D. (1980) в модифікації Болгової Л.С., Туганової Т.М., Кузіної І.С. (2001), за якою фарбувався архівний цитологічний матеріал, попередньо пофарбований за методом Паппенгейма. Вивчали цитограми в імерсійній системі за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Olympus CX 41 при збільшеннях x200, x400, x1000.

В кожному випадку була проаналізована кількість ядерць (n=100 ядер в полі зору) у реактивних та злоякісних клітинах. Основні морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом оцінювали за класифікацією Челідзе П.В. і Зацепіної О.В. (1988). Підраховували загальну кількість морфологічних типів ЯУР і відсотковий їх вміст: компактних, нуклеолонемних, кільцеподібних і мікроядерць.

Визначали також співвідношення активних (компактних і нуклеолонемних) та неактивних (кільцеподібних і мікроядерць) ядерць у загальній структурі, а також вміст форм нуклеолонемних ядерць.

В цитологічних препаратах проводили ІЦХ дослідження при непухлинному та неопластичному первинному і метастатичному ураженні серозних оболонок з використанням моноклональних антитіл (мкАТ) до наступних антигенів: епітеліального (Ber-EP4), ракового ембріонального (PEA), епітеліально-мембранного (EMA), панцитокератину AE1/AE3, цитокератину 5/6 (CK 5/6), калретиніну, віментину (Dako, Данія). Препарати були зафіксовані метиловим спиртом та пофарбовані за Паппенгеймом. Ділянки з цими клітинами позначали гідрофобним олівцем. Усі наступні маніпуляції проводили в окресленій зоні. При проведенні ІЦХ реакцій паралельно ставили позитивний і негативний контроль.

Позитивним контролем були цитологічні препарати з клітинами, які вже містили досліджуваній антиген. На цих препаратах проводили ІЦХ реакцію аналогічну досліджуванім. Для негативного контролю виключали з ІЦХ нанесення перших АТ.

Оцінку наявності мічених клітин у препаратах проводили якісним способом, незалежно від їх кількості: є мічені клітини – позитивна реакція, немає – негативна реакція. Спочатку розглядали позитивний контроль. При виявленні антигенів цитоплазма клітин має бути забарвлена у брунатний колір. Далі вивчали дослідні зразки. У позитивних до досліджуваного антигену клітинах цитоплазма фарбується у брунатний колір. Відсутність реакції при чіткому позитивному контролі свідчить про відсутність досліджуваного антигену у клітинах.

Діагностичну ефективність цитологічного та ІЦХ методів виражали у відсотках (формула 1):

$$\text{Діагностична ефективність} = \frac{\text{ІІ} + \text{ІІІ}}{\text{ІІ} + \text{ІІІ} + \text{ІІІІ} + \text{ІІІІІ}} \times 100 \%, \quad (1)$$

де ІІ – істиннопозитивний результат;
ІІІ – істиннонегативний результат;
ІІІІ – псевдопозитивний результат;
ІІІІІ – псевдонегативний результат.

У випадках аденокарциноми і мезотеліоми «золотим» стандартом вважали гістологічне заключення, а при реактивному серозиті – клініко-рентгенологічні та лабораторні дані, що підтвердили непухлинний процес.

Аналіз результатів ІЦХ та вивчення ЯУР хромосом проводили за статистичним пакетом MedCalc v. 18.5 (MedCalc Software, Belgium, 1993–2018).

Для аналізу та узагальнення статистичних даних розраховували середнє значення показника (M) та його стандартну похибку (m). Для порівняння значень цитологічних показників у всіх хворих використовували t-критерій Стюдента. Крім того, розраховували медіану показника (Me) та його міжквартильний інтервал (Q_I–Q_{III}). Для порівняння значень показників у другій групі хворих на мезотеліому та реактивний серозит використовували критерій Вілкоксона (W) для незалежних сукупностей.

Вибір параметричних та непараметричних критеріїв аналізу базувався на визначенні характеру розподілу даних за критерієм Шапіро-Уїлка. Порівняння точності диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту за різними методами проводили шляхом ROC-аналізу і побудови кривих операційних характеристик (ROC-кривих) тестів. При порівнянні отриманих даних розраховували площу під ROC-кривими та її 95 % вірогідний інтервал (% VI).

Діагностичні характеристики тестів визначали за їх чутливістю та специфічністю, проводили оцінку 95 % VI цих параметрів. За критичний рівень прийнято $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Цитоморфологічні особливості клітин аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. При кількісній оцінці клітин аденокарциноми та реактивного серозиту доведено, що пухлинні епітеліальні клітини частіше розташовувалися групами ($46,5 \pm 1,8$) %, а реактивні мезотеліальні клітини – порізно ($56,8 \pm 1,5$) %. Цитоплазма клітин аденокарциноми була переважно інтенсивно базофільна ($46,6 \pm 1,5$) %, а реактивного мезотеліоми – помірно базофільна ($58,5 \pm 1,5$) %; $p < 0,05$ (рис. 5).

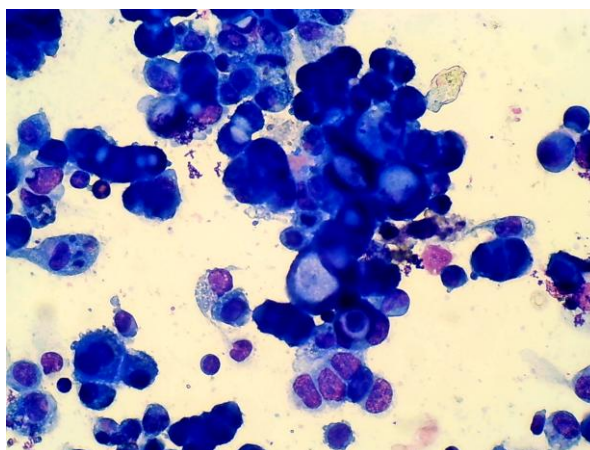


Рис. 5. Препарат плевральної рідини. Метастаз аденокарциноми легень. Залозистоподібна група пухлинних клітин. Забарвлення за Паппенгеймом. Х200

При реактивних серозитах клітини мезотелію одночасно мали гіперхромне ядро та інтенсивно базofilьну цитоплазму. За метастатичного серозиту, навпаки, містили гіперхромне ядро та мали світлу, вакуолізовану цитоплазму.

Для ядер клітин аденокарциноми найхарактерніші: великий розмір ($56,4 \pm 1,7$) %, нерівний контур ($74,0 \pm 1,2$) %, гіперхромія ($53,8 \pm 1,6$) %, нерівномірний розподіл хроматину ($81,9 \pm 1,8$) %, вміст великих ядерців ($30,5 \pm 1,8$) %. А ядра проліферуючого мезотелію в частині спостережень були гіперхромні ($12,8 \pm 1,9$) %, але з рівномірною структурою хроматину ($85,5 \pm 0,6$) %, в більшості випадків – з ледь помітними дрібними ядерцями ($62,7 \pm 1,6$) %; $p < 0,05$ (рис. 6).

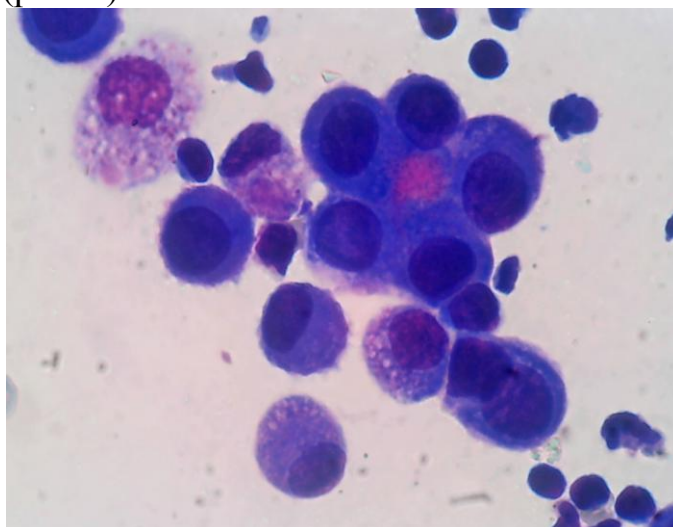


Рис. 6. Препарат плевральної рідини. Реактивний серозит. Клітини мезотелію розташовуються у вигляді «розетки», в центрі якої міститься оксифільна, гомогенна субстанція. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

В результаті кількісної оцінки клітин аденокарциноми та мезотеліоми виявлені найхарактерніші клітинні ознаки. Клітини аденокарциноми переважно розташовувались у групах ($46,5 \pm 1,8$) %, а клітини мезотеліоми – в скупченнях ($40,9 \pm 1,4$) %. Клітини аденокарциноми були великих розмірів ($37,0 \pm 1,6$) % частіше, ніж мезотеліоми ($17,6 \pm 0,6$) %. Цитоплазма клітин аденокарциноми виявлялась різного забарвлення – від слабобазофільної ($38,2 \pm 1,5$) % до інтенсивно базофільної ($46,6 \pm 1,5$) %, а цитоплазма клітин мезотеліоми переважно помірно базофільна ($61,6 \pm 1,4$) %, іноді з мікрворсинками.

Наявність у серозних рідинах однорідних залозистоподібних груп і розвинених папілярних структур, що містили переважно мономорфні атипові вакуолізовані клітини середнього розміру, зі збільшеним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням до 1:2, спостерігалась при мезотеліомі і аденокарциномі. Проте, двокомпонентні або не мезотеліальні клітинні популяції у вигляді чітко відмежованих залозистих груп з чітким округлим загальним зовнішнім краєм, виявлялися при аденокарциномі.

Водночас клітини мезотеліоми мали зубчастий, нерівний, «мереживний» край. Це пов'язано з тим, що клітини мезотелію мають мікрворсинки і здатні до секреції. В результаті цього, клітини мезотеліоми, поряд з «мереживним» краєм, містили оксифільну облямівку, розташовану зовні від ущільненої базофільної частини цитоплазми, а також внутрішньоцитоплазматичні грудочки гомогенної безструктурної оксифільної речовини (рис. 7).

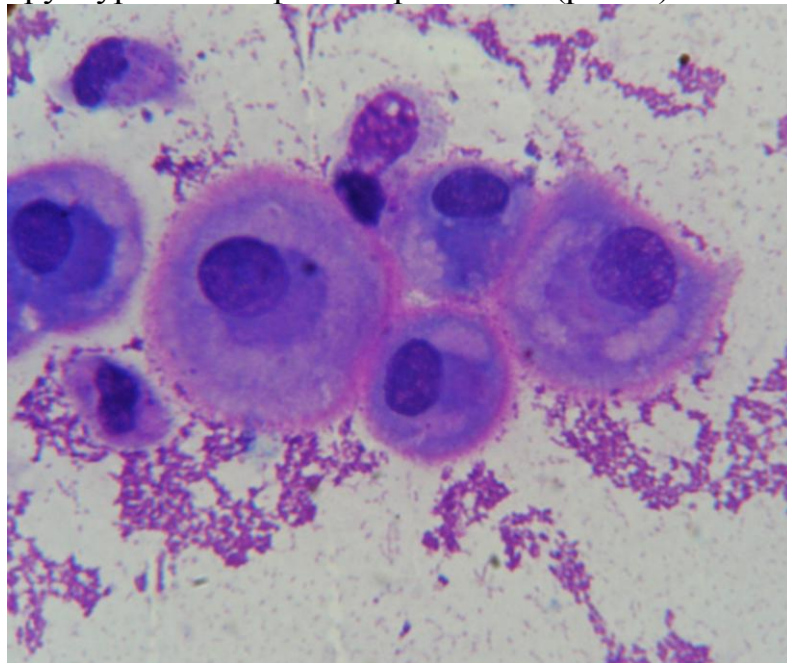


Рис. 7. Препарат асцитичної рідини. Біфазна мезотеліома. Пухлинні клітини з базофільною «двовідтінковою» цитоплазмою, з мікрворсинками, що надає їй «мереживного» вигляду. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Характерною цитологічною особливістю аденокарциноми при посиленій секреції було виявлення двоклітинних комплексів, у яких ядра розташовані ексцентрично й були орієнтовані до протилежних полюсів. В центрі такого комплексу спостерігались вакуолі, що зливаються. Водночас, при мезотеліомі відзначалась менш виражена вакуолізація клітин, виявлялись двоядерні клітини, які переважно містили ядра, відтиснуті вакуолями до одного з полюсів.

Клітини аденокарциноми часто містили крупні вакуолі, які відтискували ядро до периферії, і клітина мала вигляд каблучки, а для клітин мезотеліоми було характерним розташування в центральній частині меншої кількості вакуолюю ніж на периферії.

Злоякісні залозисті клітини містили поліморфні, гіперхромні ядра, часто з нерівним горбистим контуром. При цьому структура ядерного хроматину грубозерниста або дрібнозерниста, розріджена, з нерівномірними просвітленнями, в ядрах спостерігаються гіпертрофовані ядерця. Ядра клітин мезотеліоми відносно аденокарциноми мономорфні, але також з нерівномірним розподілом хроматину, нерівним контуром ядерної мембрани та чіткими ядерцями.

Слід зазначити, що зовнішній вигляд випоту при мезотеліомі часто мав характерний бурштиновий колір і тягучу консистенцію. При цьому в цитологічних препаратах ексудатів в якості фонового компонента визначалась оксифільна субстанція.

Зовнішній вигляд ексудату при реактивних змінах клітин мезотелію мав колір від світло-жовтого до насиченого жовтого або червоного забарвлення, був прозорий або мутний. Це залежало від вмісту еритроцитів. Крім того, такі ексудати містили лімфоцити, нейтрофіли – від невеликої до значної кількості, які склали тло цитологічного препарату.

При мезотеліомі пухлинні клітини розташовувались у вигляді щільно притиснутих одна до одної у вигляді напівмісяцевих структур. Крім того, вони формували своєрідний просвіт – вузький щілиноподібний простір між двома сусідніми клітинами, так зване «міжклітинне вікно». У реактивних ексудатах клітини мезотелію переважно розміщувались порізно чи у вигляді одношарових груп, пластів, що показує кількісна оцінка клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію.

Для мезотеліоми більш характерне розташування клітин у скупченнях ($40,9 \pm 1,4$) %, а для клітин реактивного мезотелію – порізно ($56,8 \pm 1,5$) %. Дрібних клітин мезотеліоми було майже удвічі менше ($23,7 \pm 1,1$) %, ніж таких за розмірами мезотеліальних клітин у реактивному серозиті ($41,8 \pm 1,6$) %, а великих – більше: ($17,6 \pm 0,8$) % при мезотеліомі і ($8,5 \pm 0,5$) % – при реактивному серозиті; $p < 0,05$.

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення малігнізованих мезотеліальних елементів збільшується до 1:2 порівняно з клітинами проліферуючого мезотелію, де воно становило 1:3 – 1:4.

Ознакою мезотеліоми є переважання клітин з помірно базофільною ($61,6 \pm 1,4$) % «двовідтінковою» цитоплазмою. Навколо ядра виявлялась слабобазофільна цитоплазма (т. зв. «гало»), а периферична її частина ущільнена, інтенсивніше забарвлена порівняно з центральною. Цитоплазма клітин реактивного мезотелію рівномірно базофільна – від світлих ($25,3 \pm 1,7$) % відтінків до інтенсивних ($17,2 \pm 0,8$) %, містила рівномірно розташовані вакуолі, $p < 0,05$.

Ядра клітин як мезотеліоми, так і реактивного мезотелію, переважно мономорфні, однакового розміру та форми. Ядра клітин мезотеліоми переважно з нерівними контурами ($72,5 \pm 1,2$) %, гіперхромні ($40,1 \pm 1,7$) %, з нерівномірним розподілом хроматину ($73,7 \pm 1,4$) %. Для реактивного серозиту більш характерні ядра мезотеліальних клітин з рівними контурами ($85,3 \pm 0,5$) %, нормохромні ($63,1 \pm 1,6$) % та з рівномірним розподілом хроматину ($85,5 \pm 0,6$) %, $p < 0,05$.

Клітини мезотеліоми містили ядерця в багатьох ядрах, які відрізнялися за розміром та контуром. Ядерця в клітинах реактивного мезотелію частіше відсутні або поодинокі, дрібні ($62,7 \pm 1,6$) %; з нечітким контуром ($58,9 \pm 1,8$) %, а при мезотеліомі – переважно середнього розміру ($52,8 \pm 1,1$) %, з чіткими контурами ($64,1 \pm 1,2$) %; $p < 0,05$. При мезотеліомі та реактивних серозитах відзначалися дво- і багатоядерні клітини. При цьому ядра в клітинах мезотеліоми були різної форми та розмірів, а у клітинах реактивного мезотелію – однакової форми та розмірів і розташовувались центрально або у вигляді кільця. При мезотеліомі також спостерігається феномен «клітина в клітині», коли дрібніші клітинні елементи захоплюються більшими (рис. 8).

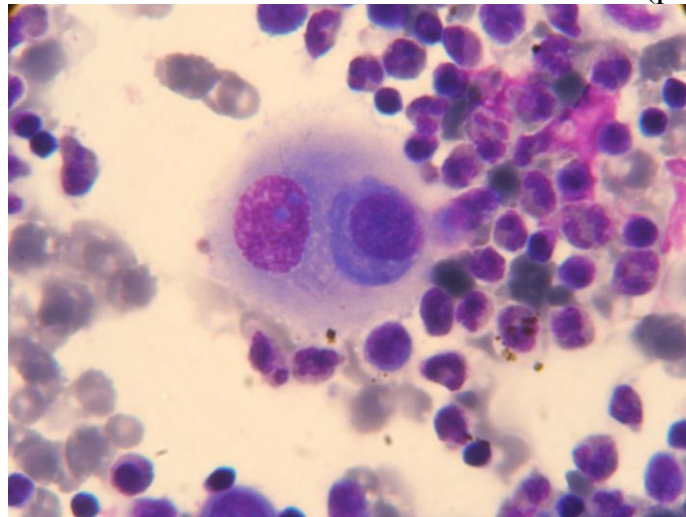


Рис. 8. Препарат плевральної рідини. Реактивний серозит. Феномен клітина в клітині. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Цитологічна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту на основі імуноцитохімії. У 15 (43 %) пацієнтів 1 групи за клініко-рентгенологічними даними встановлено реактивний серозит. При

цьому в клітинах реактивного мезотелію виявляли віментин у 7/15 (46 %) і калретинін – 6/15 (40 %). У цій групі при проведенні ІЦХ реакції досліджувані клітини не містили епітеліальних антигенів. У 20 (57 %) пацієнтів 1 групи гістологічно була верифікована аденокарцинома різної локалізації, водночас в підозрілих клітинах були виявлені: Ver-EP4 – 17/20 (85 %), ЕМА – 13/20 (65 %) і РЕА – 11/20 (5 %), що свідчило про епітеліальне їх походження (рис. 9).

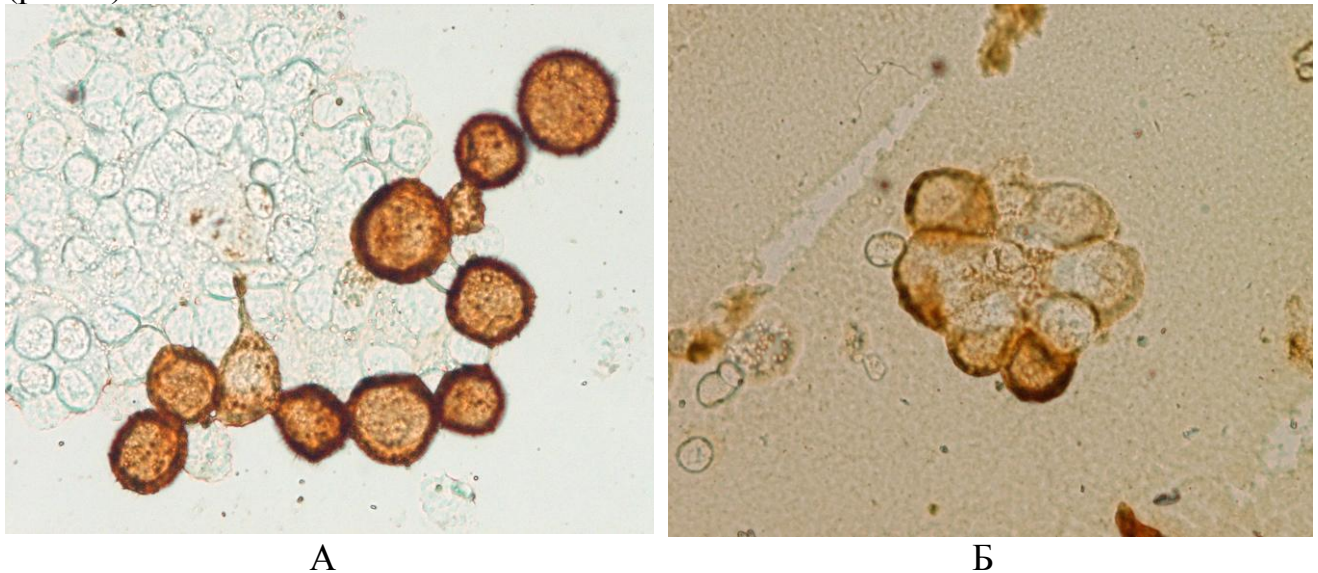


Рис. 9. Експресія в клітинах аденокарциноми яєчника. ІЦХ. Х400:
А – РЕА; Б – Ver-EP4

В результаті патогістологічного дослідження у 17 (52 %) пацієнтів 2 групи була встановлена мезотеліома, а у 27 (48 %) хворих за клініко-рентгенологічними даними – реактивний серозит.

Клітини мезотеліоми містили калретинін – 15/17 (88 %), панцитокератин – 14/17 (82 %), віментин – 10/17 (59 %), СК 5/6 – 8/17 (47 %), тоді як епітеліальні антигени майже не виявлялись. Так, ЕМА був у 3/17 (18 %) пацієнтів, РЕА – у 2 (12 %) з них. У хворих з реактивним серозитом у клітинах реактивного мезотелію визначались: віментин в 50 % та калретинін в 44 %, тоді як панцитокератин лише в 19 %, Ver-EP4 в 6 %, ЕМА – в 6 %, СК 5/6 – 6 %, а РЕА був відсутній.

У хворих 3 групи патогістологічно підтверджено аденокарциному в 14 (56 %) випадках, а в 11 (44 %) – мезотеліому. У клітинах аденокарциноми при ІЦХ дослідженні виявлено антигени: панцитокератин – 13/14 (93 %), Ver-EP4 – у 13/14 (93 %), ЕМА – у 9/14 (64 %), РЕА – у 7/14 (50 %). Тоді як у клітинах мезотеліоми було виявлено панцитокератин в 87 %, калретинін – 86 %, Віментин – 63 %, СК 5/6 – 50 %.

За 56 цитологічними та 7 імуноцитохімічними показниками в кожній з трьох груп порівнювали діагностичну ефективність цих методів. «Золотим» стандартом вважали метод патогістологічного дослідження.

Представлені ROC-криві моделей (рис. 10) традиційного цитологічного (m1) та поєднаного цитологічного і ІЦХ методів (m2) дозволяють дати оцінку якості моделей цитологічного та ІЦХ методів за розподілом двох класів чутливості та специфічності. Оскільки ROC-крива моделі ІЦХ методу розташована ближче до верхнього лівого кута, тобто модель саме цього методу ефективніша, ніж модель цитологічного методу ($p < 0,05$).

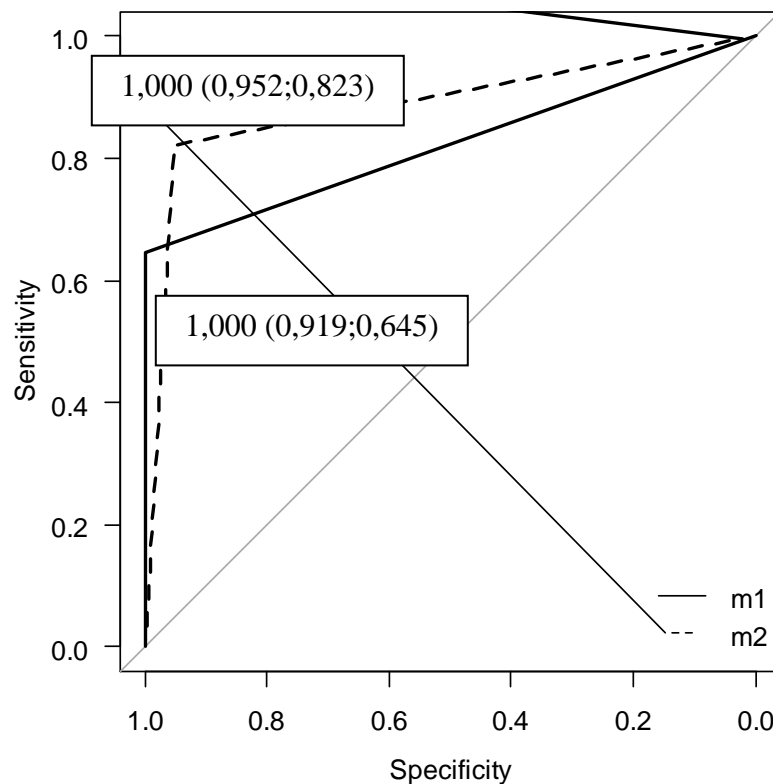


Рис. 10. ROC-криві моделей традиційного цитологічного (m1) та імуноцитохімічного методів (m2)

Водночас, площа під кривою для традиційного цитологічного методу складає 0,623 95 % ВІ 0,763–0,883, а для ІЦХ – 0,887 95 % ВІ 0,833–0,945. Тобто, вищу ефективність має ІЦХ метод.

Диференційна діагностика мезотеліоми та реактивного серозиту на основі морфофункціональних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом. Визначення морфологічних типів ЯУР хромосом нами було застосовано для диференційно-діагностичної групи мезотеліома – реактивний серозит, оскільки саме в такій ситуації необхідно з'ясувати, крім гістогенетичної належності клітин (за допомогою ІЦХ методу), також і їх

проліферативну активність. Узагальнені результати підрахунку ЯУР хромосом в ядрах клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у клітинах мезотеліоми і реактивного мезотелію

Морфо-функціональні типи ядерць	Одиниці вимірювання	Мезотеліома (n = 17)	Реактивні зміни клітин мезотелію (n = 27)	p	
Компактні ядерця	Me (Q _I – Q _{III})	0,25 (0,22–0,29)	0,03 (0,02–0,04)	<0,001	
	%	10,4 (7,6–15,2)	1,1 (0,7–1,5)		
Нуклеолонемні ядерця:	Me (Q _I – Q _{III})	1,3 (0,95–1,85)	0,81 (0,74–1,15)		
	%	53 (46,5–61,3)	28,3 (25,7–31,3)		
– власне нуклеолонемні	Me (Q _I – Q _{III})	0,31 (0,19–0,44)	0,27 (0,2–0,36)		
	%	11,5 (9,7–16)	8,3 (7–10,1)		
– перехідні нуклеолонемно-компактні	Me (Q _I – Q _{III})	0,95 (0,73–1,35)	0,57 (0,52–0,75)		
	%	41,2 (34,3–45,8)	19,3 (18–21,5)		
Кільцеподібні	Me (Q _I – Q _{III})	0,47 (0,29–0,65)	0,87 (0,74–1,18)		
	%	16,6 (13,2–21,7)	26,7 (25,1–31,5)		
Мікроядерця	Me (Q _I – Q _{III})	0,56 (0,3–0,61)	1,36 (1,16–1,65)		
	%	16,7 (14,3–21,5)	42,8 (39,1–46,6)		
Всього ядерць на 1 ядро		2,73 (2,2–3,17)	2,95 (2,76–3,81)		0,01

Отже, при дослідженні експресії ядерць у клітинах мезотеліоми, визначені такі основні ЯУР: компактні, власне нуклеолонемні, перехідні нуклеолонемні, кільцеподібні і мікроядерця, а їх кількість на одне ядро відповідно складала 0,25 (0,22–0,29), 0,31 (0,19–0,44), 0,95 (0,73–1,35), 0,47 (0,29–0,65) і 0,56 (0,3–0,61), а загальний вміст ядерць на одне ядро – 2,73 (2,2–3,17). В ядрах клітин реактивного мезотелію кількість компактних складала 0,03 (0,02–0,04), власне нуклеолонемних – 0,27 (0,2–0,36), перехідних нуклеолонемних – 0,57 (0,52–0,75), кільцеподібних – 0,87 (0,74–1,18) і мікроядерць – 1,36 (1,16–1,65) (p<0,05).

Отримані дані свідчать про переважання в ядрах клітин мезотеліоми компактних, власне і перехідних нуклеолонемних ЯУР хромосом серед усіх визначених типів ядерць, а в клітинах реактивного мезотелію – кільцеподібних та мікроядерць (рис. 11).

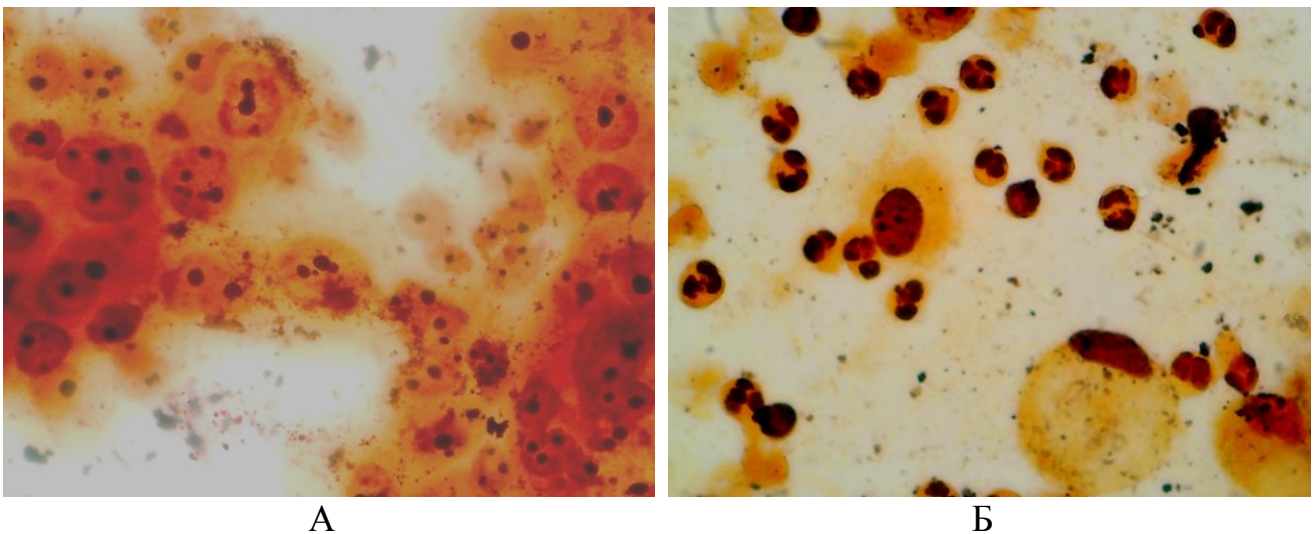


Рис. 11. Препарати мезотеліоми (А) та реактивного серозиту (Б). Модифікований метод фарбування за Howell W., Black D. X 1000

Порівняння діагностичної ефективності цитогенетичного та ПЦХ методу в 3 групі (мезотеліома – реактивний серозит) шляхом побудови кривих операційних характеристик представлено на рисунку 12.

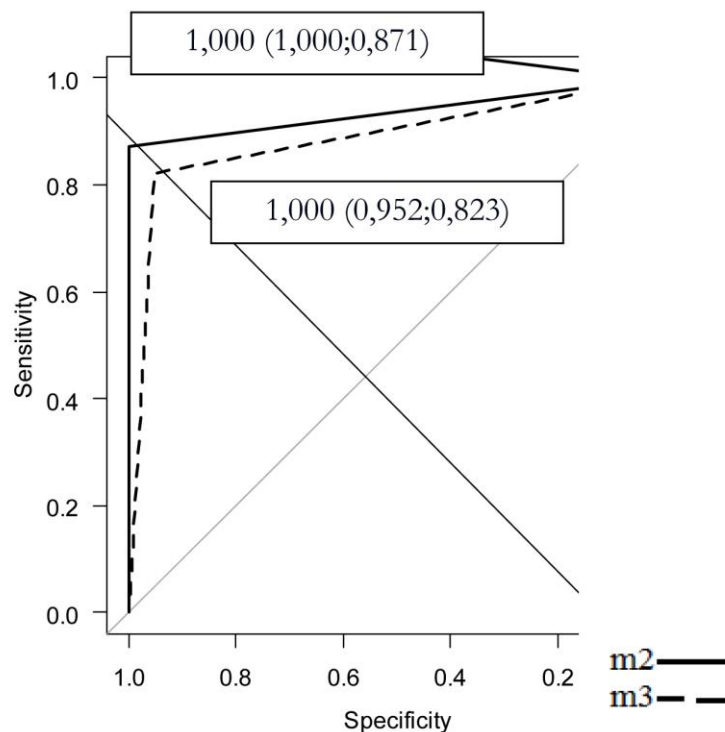


Рис. 12. ROC-криві операційних характеристик методів діагностики мезотеліоми та реактивного серозиту: m3 – цитогенетичний метод, m2 – ПЦХ метод

Отже, кращі характеристики мав цитогенетичний метод, для якого площа під кривою операційних характеристик склала 0,935 95 % ВІ 0,893–0,978. Чутливість цього тесту склала 0,871, специфічність – 1,000.

На основі отриманих даних була визначена діагностична ефективність кожного із застосованих методів в диференційній діагностиці: для цитологічного методу – 67 %, ПЦХ – 85 %, а цитогенетичного методу – 88 %.

ВИСНОВКИ

В дисертації на основі теоретичного обґрунтування та сучасних морфологічних методів дослідження вирішено актуальне наукове завдання диференційної цитологічної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту.

1 Визначені якісні і кількісні цитоморфологічні ознаки, що характеризують клітини метастазів аденокарциноми в серозній рідині: поліморфні за розмірами та формою, мають інтенсивнобазофільну (46,6 %), великовакуолізовану (59,3 %) цитоплазму з великими (56,4 %) гіперхромними (53,8 %), ексцентрично розташованими (84,4 %) ядрами, з маргінально розміщеним хроматином (81,9 %) і 1–2 великими ядерцями (61,8 %). Для них характерним є розташуванням в папілярних і залозистоподібних групах із чіткими зовнішніми контурами, що дозволяє діагностувати гістологічний тип новоутворення ($p < 0,05$).

2 Для мезотеліоми патогномонічним є розташування на тлі великодисперсної оксифільної субстанції (24,0 %) груп клітин середніх розмірів (60,7 %) переважно розвиненою (62,9 %), помірно базофільною (61,6 %) цитоплазмою, яка має вирости, надаючи всьому комплексу «мереживного» краю, з ядрами середнього розміру (62,5 %), з нерівномірною структурою хроматину (73,7 %) і багатьма поліморфними ядерцями ($p < 0,05$).

3 Визначені кількісно цитоморфологічні ознаки проліферуючого мезотелію і характеризуються розташуванням окремих клітин (56,8 %), із середніми (54,8 %), переважно центрально розташованими (54,1 %), нормохромними (63,1 %) ядрами з рівномірною структурою хроматину (85,5 %) та помірно базофільною (58,5 %) розвиненою (70,3 %) цитоплазмою ($p < 0,05$).

4 Обґрунтовано застосування для диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту поєднаного цитологічного та імуноцитохімічних методів, що дозволяє верифікувати кожну з форм: для аденокарциноми характерна експресія епітеліального антигену Вег-ЕР4 (88–93 %), епітеліально–мембранного антигену (57–64 %), раково–ембріонального антигену (43–50 %); для мезотеліоми – панцитокератину АЕ1/АЕ3 (76–87 %), калретиніну (70–87 %), віментину (59–63 %), цитокератину 5/6 (47–50 %); для реактивного мезотелію – віментину (42–50 %) і калретиніну (33–44 %) ($p < 0,05$).

5 Встановлено, що застосування імуноцитохімічного методу при диференційній діагностиці аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту підвищує ефективність цитологічного дослідження на 18 % ($p < 0,05$).

6 Визначення морфологічних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом дозволяє визначити характер патологічного процесу в серозній порожнині в найбільш складних для цитологічної діагностики випадках і, зокрема, мезотеліоми, для клітин якої характерним є вміст компактних ядерців 0,25 (10,4 %), перехідних нуклеолонемних типів 0,95 (41,2 %) порівняно з реактивним мезотелієм (відповідно 0,03 (0,02 %), 0,57 (19,3 %; $p < 0,05$), що підвищує ефективність диференційної цитологічної діагностики мезотеліоми та реактивного серозиту на 21 % ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Визначені диференційно-діагностичні цитоморфологічні критерії аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту, які можуть бути використані для цитологічної діагностики ексудатів.

2. Одночасне застосування цитологічного та імуноцитохімічного методів на традиційних цитологічних препаратах підвищує ефективність диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту та є економічно доцільним та обґрунтованим.

3. Розроблений метод вивчення морфофункціональних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у ядрах клітин мезотеліоми і реактивного мезотелію підвищує ефективність диференційної цитологічної діагностики мезотеліоми та реактивного серозиту.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Болгова Л. С. Современные возможности дифференциальной цитологической диагностики пролиферирующего мезотелия, мезотелиомы и метастазов рака (обзор литературы и результаты собственных исследований) / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко // Клиническая онкология. – 2015. – № 4 (20). – С. 85–90. *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, проведення цитологічних досліджень, підготовка статті.)*

2. Цитологическая дифференциальная диагностика мезотелиомы, аденокарциномы и пограничной опухоли яичника по материалу жидкостей серозных полостей / Л. С. Болгова, О. И. Алексеенко, С. В. Мариненко, Е. А. Логинова, Н. П. Цып, Ю. Г. Ткаля, А. И. Шевченко, М. С. Кротевич // Евразийский онкол. журн. – 2015. – № 4 (07). – С. 43–51. *(Особистий внесок: аналіз літератури, проведення цитологічних досліджень, підготовка статті до друку.)*

3. Опухоли яичника: цитологическая диагностика выпота в брюшной полости при цистаденофиброме / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // Лаб. диагностика. – 2013. – № 2 (64). – С. 44–47. *(Особистий внесок дисертанта: опрацювання даних літератури, проведення цитологічних досліджень, підготовка статті.)*

4. Мариненко С. В. Квантитативна цитоморфологія клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного мезотелію в ексудатах черевної та грудної порожнин / С. В. Мариненко // Онкологія. – 2017. – Т. 19, № 2 (72). – С. 97–102.

5. Цитологическая диагностика перитонеальных выпотов и смывов с органов брюшной полости / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова, М. Г. Махортова, С. В. Мариненко // Лаб. диагностика. – 2017. – № 2. – С. 37–41. *(Особистий внесок: аналіз літератури, цитологічні дослідження, підготовка статті.)*

6. Мариненко С. В. Современная дифференциальная цитологическая диагностика аденокарциномы, мезотелиомы и реактивного серозиту / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова // Клини. онкология. – 2018. – Т. 8, № 1 (29). – С. 74–78. *(Особистий внесок: проведення цитологічних, імуноцитохімічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

7. Цитологічна об'єктивізована диференційна діагностика мезотеліоми та реактивного серозиту / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Н. І. Мариненко, М. Г. Махортова, В. Г. Гур'янов // Клини. онкология. – 2018. – Т. 8, № 2 (30). – С. 133–137. *(Особистий внесок: проведення цитологічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

8. Мариненко С. В. Цитоморфологические признаки псевдомиксомы / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук // Онкология. – 2018. – Т. 20, № 1 (75). – С. 45–47. *(Особистий внесок: проведення цитологічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

9. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію : метод. рекомендації / Л. С. Болгова С. В. Мариненко, Т. М. Туганова, О. І. Алексеєнко, В. С. Свінціцький, Б. О. Борисюк, А. М. Вільгаш. – Київ, 2017. – 23 с.

10. Пат. на корисну модель 113441, Україна, МПК А61В 10/00. Спосіб диференційної цитогенетичної діагностики мезотеліоми і реактивних змін клітин мезотелію / Болгова Л. С., Мариненко С. В., Туганова Т. М., Алексеєнко О. І. ; Національний інститут раку. – u 2016 08145 ; заявл. 25.07.16; опубл. 25.01.2017. – Бюл. 2.

11. Мариненко С. В. Необходимость применения иммуноцитохимических исследований при цитологической диагностике серозных выпотов / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова // XIII з'їзд онкологів та радіологів України : (матеріали з'їзду) 26–28 травня 2016 р., м. Київ. – Укр. радіол. журн. – 2016. – Додаток 1. – С. 15.

12. Дифференциальная цитологическая диагностика пролиферирующего мезотелия, аденокарциномы и мезотелиомы / С. В. Мариненко, Е. А. Логинова, Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук, О. И. Алексеенко, М. Г. Махортова, Т. А. Магась // Актуальні питання цитологічної діагностики пухлин : матеріали семінару, присвяч. 115-річчю з дня народження акад. Р. Є. Кавецького, 1 грудня 2014 р., Київ. – Клин. онкология. – 2015. – № 1 (17). – С. 93.

13. Об'єктивізовані цитоморфологічні ознаки мезотелію з різним ступенем проліферації при пухлинах / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. М. Туганова, Т. М. Ярощук, М. Г. Махортова // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : IV Міжнар. мед. конгрес, 15–17 квітня 2015 р., м. Київ. – Київ, 2015. – С. С. 23–24.

14. Можливості цитологічної діагностики пограничних пухлин яєчника за асцитичною рідиною / Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук, С. В. Мариненко // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : III Міжнар. мед. конгрес, 14–16 жовтня 2014 р., м. Київ. – Київ, 2014. – С. 38.

15. Гистологические типы опухолей яичника и развитие экссудата / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // Материалы пленума Ассоциации клинических цитологов России (02–05 октября 2014 г., Анапа). – Новости клин. цитологии России. – 2014. – Т. 18, № 1–2. – С. 30.

16. Цитоморфологические и иммуноцитохимические особенности асцитической жидкости при цистаденофибrome яичника / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // X съезд клинических цитологов России : материалы (19–22 сентября 2013 г., Смоленск). – Новости клин. цитологии России. – 2013. – Т. 17, № 1–2. – С. 47–48.

17. Цитологическое исследование экссудатов как первый этап морфологической диагностики опухолей яичника / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук, Т. Н. Туганова, Е. Н. Рутковская // Нові аспекти в організації і проведенні цитологічної діагностики злоякісних пухлин : матеріали наук.-практ. семінару, 4 листопада 2013 р., Київ. – Клин. онкология. – 2013. – № 4 (12). – С. 117–118.

18. Роль иммуноцитохимического метода в дифференциальной диагностике первичных и вторичных поражений серозных оболочек / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // Сучасні методи діагностики і лікування злоякісних пухлин (для молодих вчених) : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28 березня 2013 р., Київ. – Клин. онкология. – 2013. – № 2 (10). – С. 182–183.

19. Цитоморфологічні та імуноцитохімічні ознаки злоякісних пухлин яєчника / Л. С. Болгова, Т. М. Туганова, Т. М. Ярощук, С. В. Мариненко,

О. М. Рутківська, О. В. Степанушко // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : II Міжнар. мед. конгрес, 16–19 квітня 2013 р., м. Київ. – Київ, 2013. – С. 34.

20. Мариненко С. В. Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика серозного рака яичника по асцитической жидкости / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова // Современные методы диагностики и лечения больных со злокачественными новообразованиями : конф. молодых ученых, 10–11 мая 2012 г., Киев. – Клин. онкология. – 2012. – № 6 (2). – С. 149–150.

АНОТАЦІЯ

Мариненко С.В. Диференційна цитологічна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.39 – клінічна лабораторна діагностика. – Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Київ, 2019.

Дисертація присвячена удосконаленню цитологічної диференційної діагностики метастазів аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту шляхом використання сучасних морфологічних методів дослідження.

Розроблений комплекс цитоморфологічних, імуноцитохімічних ознак клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту. Встановлений оптимальний набір моноклональних антитіл для імуноцитохімічної діагностики первинних і вторинних ушкоджень серозних оболонок. Визначена можливість проведення диференційної цитологічної діагностики злоякісних і реактивних змін мезотелію з допомогою кількісного визначення морфофункціональних типів ядерця, що відображає транскрипційну діяльність рДНК, рівень метаболічних процесів у клітині.

Ключові слова: аденокарцинома, мезотеліома, реактивний серозит, цитологічний, імуноцитохімічний методи, ядерцевоутворюючі організатори хромосом.

АННОТАЦИЯ

Мариненко С.В. Дифференциальная цитологическая диагностика аденокарциномы, мезотелиомы и реактивного серозита. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.39 – клиническая лабораторная диагностика. – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, 2019.

Диссертация посвящена усовершенствованию дифференциальной цитологической диагностики метастазов аденокарциномы, мезотелиомы и реактивного серозита с использованием современных морфологических методов.

Рост злокачественных новообразований часто сопровождается выпотом в плевральную и брюшную полости. Цитологическая диагностика плевральных и перитонеальных экссудатов остаётся проблемой клинической онкологии и требует дополнительных исследований.

Разработана оптимальная панель моноклональных антител для иммуноцитохимической диагностики первичных и вторичных повреждений серозных оболочек с помощью менее затратного одновременного использования цитологического и иммуноцитохимического методов на традиционных цитологических препаратах экссудатов, который воспроизводим в большинстве цитологических и клиничко-диагностических лабораторий.

С помощью иммуноцитохимических исследований выявлено характерную для аденокарциномы экспрессию Ber-EP4 (88–93 %), ЕМА (57–64 %), РЕА (43–50 %); мезотелиомы – панцитокератин (76–87 %), калретинин (70–87 %), Віментин (59–63 %), СК 5/6 (47–50 %); реактивного мезотелия – Віментин (42–50 %) і калретинин (33–44 %). Установлено, что использование иммуноцитохимического метода при дифференциальной диагностике аденокарциномы, мезотелиомы и реактивного серозита повышает эффективность цитологического исследования на 18 % ($p < 0,001$).

При цитологической диагностике мезотелиомы часто возникают трудности в связи с тем, что признаки атипии не всегда выражены в опухолевых клетках, а при реактивных серозитах признаки пролиферации наоборот резко выражены, и в таких случаях проводится дифференциальная цитологическая диагностика между мезотелиомой и реактивным мезотелием. Нами был успешно применён метод определения морфофункциональных типов ядрышкообразующих регионов хромосом, который отображает транскрипционную деятельность рДНК, уровень метаболических процессов в клетке.

В результате для мезотелиомы характерно наличие компактных ядрышек 0,25 (10,4 %), переходнонуклеолонемных типов 0,95 (41,2 %) в отличии от реактивного мезотелия – соответственно 0,03 (0,02 %); 0,57 (19,3 %) ($p < 0,001$). Доказано, что изучение морфофункциональных типов ядрышкообразующих регионов хромосом на 21 % повышает эффективность дифференциальной цитологической диагностики мезотелиомы и реактивного серозита ($p < 0,001$).

Ключевые слова: аденокарцинома, мезотелиома, реактивный серозит, цитологический, иммуноцитохимический методы, ядрышкообразующие организаторы хромосом.

ABSTRACT

Marinenko S.V. Differential cytological diagnostics of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis. – The manuscript.

Thesis for a candidate degree in medical sciences, specialty 14.01.39 – clinical laboratory diagnostics. – P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to the improvement of cytological differential diagnostics of adenocarcinoma metastases, mesothelioma and reactive serositis using modern morphological methods of research.

The complex of cytomorphological, immunocytochemical signs of adenocarcinoma cells, mesothelioma and reactive serositis has been developed. A minimum set of monoclonal antibodies is established, which will allow immunocytochemical diagnostics of primary and secondary damage to the serous membranes. The possibility of differential cytological diagnostics of malignant and reactive changes in mesothelium by means of quantitative determination of morphofunctional types of nuclei, which reflects the transcription activity of rDNA, the level of metabolic processes in the cell.

Key words: adenocarcinoma, mesothelioma, reactive serositis, cytology, immunohistochemistry method, nuclear compressed chromosome organisator.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

Ber-EP4	–	Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen (Clone Ber-EP4)
СК 5/6	–	Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 (Clone D5/16 B4)
ВІ	–	вірогідний інтервал
ІН	–	істиннонегативний
ІП	–	істиннопозитивний
ІЦХ	–	імуноцитохімічний
мнАТ	–	моноклональне антитіло
ПН	–	псевдонегативний
ПП	–	псевдопозитивний
РЕА	–	раковий ембріональний антиген (Monoclonal Mouse Anti- Human Carcinoembryonic Antigen (Clone II-7))
ЯУР	–	ядерцевоутворюючі регіони