

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МАРИНЕНКО СВІТЛАНА ВЯЧЕСЛАВІВНА

УДК 616 □ 006.66 + 616 □ 006.32 + 616 □ 008.841.7] □ 076.5

ДИСЕРТАЦІЯ

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

14.01.39 – клінічна лабораторна діагностика

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 С.В. Мариненко

Науковий керівник
доктор медичних наук, професор
Болгова Лідія Севастьянівна

АНОТАЦІЯ

Мариненко С.В. Диференційна цитологічна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.39 – клінічна лабораторна діагностика (222 – Медицина). – Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Київ, 2019.

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

Згідно з даними сучасної статистики, в Україні найбільш поширені захворювання системи кровообігу (серцево-судинні і судинно-мозкові) та новоутворення. На запобігання і лікування цих захворювань переважно спрямовані цільові державні та регіональні програми. Відомо, що запорукою якісного лікування неопластичних процесів є правильний морфологічний діагноз.

На сьогодні клінічна лабораторна діагностика забезпечує якість діагностичного процесу, моніторинг ефективності лікування в умовах сучасної превентивної персоналізованої медицини. Усепереч досягненням у галузі діагностики злоякісних пухлин, відсоток виявлення захворювання у занедбаних станах залишається високим. На пізніх стадіях злоякісні новоутворення спричиняють 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.

Вивчення ексудатів із серозних порожнин проводиться у всіх клініко-діагностичних лабораторіях. Диференційна цитологічна діагностика метастатичних уражень серозних оболонок, мезотеліоми і реактивних змін мезотелію при непухлинних і пухлинних захворюваннях є надзвичайно складним завданням.

Мезотелій легко змінюється при названих процесах, а іноді ознаки проліферації при непухлинних ураженнях характеризуються атипією, що ускладнює її ідентифікацію. Тобто, унаслідок виражених ознак проліферації, інколи атипії клітин мезотелію, складно відрізнити доброякісний процес від злоякісного. Це може призвести до призначення необґрунтованого хіміотерапевтичного лікування чи навпаки.

Отже, розробка та впровадження в клінічну практику нових методів обробки рідкого матеріалу і застосування комплексу додаткових уточнюючих методів для диференційної діагностики є надто важливим для підвищення діагностичної точності характеру асцити та плевриту.

Метою дисертаційної роботи є удосконалення диференційної цитологічної діагностики метастазів аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту за допомогою комплексу імуноцитохімічних та цитогенетичного методів дослідження.

Для досягнення мети сформульовані наступні завдання: оцінити діагностичне значення цитоморфологічних особливостей клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту; вивчити імуноцитохімічні ознаки клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту; визначити морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у ядрах клітин мезотеліоми і реактивного серозиту; визначити ефективність комплексного підходу в диференційній діагностиці метастазів аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту.

Дисертаційна робота ґрунтується на результатах обстеження 104 хворих, серед яких з аденокарциномою 34, з мезотеліомою – 28, з наявністю ексудатів, які мають реактивний характер, – 42 пацієнти.

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;

– 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;

– 3 група (аденокарцинома – мезотеліома) – 30 (28 %) хворих, при традиційній цитологічній діагностиці визначення злоякісного 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.

Цитоморфологічні ознаки вивчали за забарвленими 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.

Для визначення морфологічних типів ядерцевоутворюючих регіонів (ЯУР) хромосом цитологічні препарати обробляли розчином азотнокислого срібла за методикою Howell W., Black D. (1980) в модифікації Л.С. Болгової, Т.М. Туганової, І.С. Кузіної (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 цитологічних препаратах проводили імуноцитохімічні (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 (REA), епітеліально-мембранного (EMA), панцитокератину AE1/AE3, цитокератину 5/6 (СК 5/6), калретиніну, віментину (Dako, Данія). Препарати були зафіксовані метиловим спиртом та забарвлені 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.

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

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

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.

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 ($p < 0,05$).

Для мезотеліоми патогномічним є розташування на тлі великодисперсної оксифільної субстанції (24,0 %) груп клітин середніх розмірів (60,7 %) з 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 ($p < 0,05$).

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 ($p < 0,05$).

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 Ber-EP4 (88–93 %), епітеліально-мембранного антигену (57–64 %), раково–ембріонального антигену (43–50 %); для мезотеліоми – панцитокератину AE1/AE3 (76–87 %), калретиніну (70–87 %), віментину (59–63 %), цитокератину 5/6 (47–50 %); для реактивного мезотелію – віментину (42–50 %) і калретиніну (33–44 %) ($p < 0,05$).

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

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 ядерць 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 % ($p < 0,05$).

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

ABSTRACT

Marinenko S.V. Differential cytological diagnostics of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis. – Qualification scientific work, as manuscript.

Thesis for a candidate degree in medical sciences, specialty 14.01.39 – clinical laboratory diagnostics (222 – Medicine). – 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.

It is necessary to do it with the latest statistics, in Ukraine, the search for the blood circulation system (heart-suede and shipwreck) and the new one. On zapobigannya i likuvannya tsikh zakhvoryuvan perevyno prirymovi tsilovi sodernni that region programs. Vidomo, scho zaprukuyu yakisnogo likuvannya neoplastic processes процес correct morphologic diagnosis.

Currently, clinical laboratory diagnostics provides the quality of the diagnostic process, monitoring the effectiveness of treatment in a modern preventive, personalized medicine. Contrary to the achievement in the field

of diagnosis of malignant tumors, the percentage of detection of the disease in neglected states remains high. At later stages, malignant tumors are caused by fluid accumulation in the pleural and peritoneal cavities. Most often, tumor pleurisy is due to lung cancer (35 %), ovarian cancer (32 %), breast cancer (23 %), lymphoma (10 %). Ascites predominantly occur in women with ovarian cancer, in men - stomach cancer, in children - lymphoma, neuroblastoma.

Study of exudates from serous cavities is performed in all clinical and diagnostic laboratories. The cytological differential diagnosis of metastatic lesions of serous membranes, mesothelioma and reactive mesothelium changes in non-tumor and tumor diseases is an extremely difficult task.

Mesothelium easily changes with these processes, and sometimes signs of proliferation with non-tumor lesions are characterized by an atypical nature, which is difficult to identify. That is, due to the pronounced signs of proliferation and sometimes atypical cells of the mesothelium, it is difficult to distinguish benign process from malignant. This leads to the appointment of chemotherapeutic treatment in cases where this is not required and vice versa, when not required.

In this regard, the development and introduction into clinical practice of new methods of processing liquid material and the use of additional clarifying methods for differential diagnosis is very important in order to increase the diagnostic accuracy of character ascites and pleurisy.

The aim of the thesis is to improve the differential cytological diagnosis of metastases adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis using complex immunocytochemical and cytogenetic methods.

To achieve the goal, the following tasks were formulated: to evaluate the diagnostic values of cytomorphological peculiarities of adenocarcinoma cells, mesothelioma and reactive serositis; to study immunocytochemical signs of cells of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis; to determine the morphological types of nucleolus-forming regions of chromosomes in the nuclei of mesothelioma cells and reactive serositis; to determine the effectiveness of the

complex approach in the differential diagnosis of metastatic adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis.

The dissertation work is based on the results of examination of 104 patients, including 34 with adenocarcinoma, 28 with mesothelioma, with the presence of reactive exudates – 42 patients.

According to cytomorphological features of drugs, three groups of patients have been identified:

- group 1 (adenocarcinoma – jet serositis) 35 (34 %) patients who during laboratory research effusion showed a significant number of cells mesothelium with severe signs of proliferation, some of them - with atypia, but these signs are not allowed to confirm the presence of only mesothelial cells;

- group 2 (mesothelioma – jet serositis) - 39 (38 %) patients in the study cytologic preparations which were found a significant amount of mesothelial cells with distinct signs of proliferation, some of them - with atypia, which required of the differential diagnosis of mesothelioma and reactive serosite;

- 3 groups (adenocarcinoma – mesothelioma) – 30 (28 %) of patients, with traditional cytological diagnosis, the definition of malignant process was not in doubt, since all cells in cytological preparations had clear signs of atypia, but the origin of tumor cells from mesothelioma or adenocarcinomas was difficult to determine.

Cytomorphological signs painted on drugs studied by the method Pappenheyma and evaluated by the "Scheme of cytological features for formal evaluation of qualitative and quantitative composition of cells", which accounted for 56 key indicators and their shades for all morphological features of cells.

To determine the morphological types yadertsevoutvoryuyuchyh regions chromosomes cytological preparations stained with silver nitrate solution methodology Howell W., Black D. (1980) as modified Bolgova LS, Tuhonovoi TN, Cousin IS (2001), on which the archival cytology material was painted, painted by the Pappenheim method. The cytograms in the immersion system were

studied using light microscopy on a microscope of Olympus CX 41 with an increase of x200, x400, x1000.

In cytological preparations, ICC studies were conducted for non-tumoral and neoplastic primary and metastatic lesions of serous membranes using monoclonal antibodies to the following antigens: epithelial (Ber-EP4), cancerous embryonic (CEA), epithelial-membrane (EMA), pancitotercatin (AE1 / AE3), cytokeratin 5/6 (CK 5/6), calretinin, vementinum (Dako, Denmark). The preparations were fixed with methyl alcohol and painted by Pappenheim. Plots with these cells were marked with a hydrophobic pencil. All subsequent manipulations were carried out in the outlined zone. During the conduct of the ICI of the reactions, positive and negative controls were put in parallel.

The analysis of ICC and cytogenetic results was performed using the statistical package MedCalc v. 18.5 (MedCalc Software, Belgium, 1993–2018).

Thus, in the dissertation on the basis of theoretical substantiation and modern morphological methods of research the actual scientific problem of differential cytological diagnostics of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis has been solved.

For the first time, high efficiency of the combination of the use of the complex of cytomorphological, immunocytochemical and cytogenetic methods for clarification of the nature of neoplastic cells and the differential diagnosis of adenocarcinoma metastases in the pleural and abdominal cavity, mesothelioma and reactive mesothelium have been shown.

For the first time an estimation of quantitative cytomorphological changes of cells of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive mesothelium was conducted.

Qualitative and quantitative cytomorphological features characterizing cells of adenocarcinoma metastases in serous fluid: polymorphic in size and form, have intensive basophilic (46,6 %), large-calcified (59,3 %) cytoplasm with large (56,4 %) hyperchromic (53,8 %), eccentrically located (84,4 %) nuclei, with marginal chromatin (81,9 %) and 1–2 large nucleoli (61,8 %). They are

characterized by the location in papillary and glandular groups with clear external contours, which allows to diagnose the histological type of tumor ($p < 0,05$).

For the mesothelioma, the pathognomonic location is located against the background of a fine oxyphilic substance (24,0 %) of medium-sized cell groups (60,7 %), predominantly developed (62,9 %), moderately basophilic (61,6 %) of the cytoplasm to grow, to the whole complex of "lace" edge, with medium sized nuclei (62,5 %), with uneven chromatin structure (73,7 %) and many polymorphic nucleoli ($p < 0,05$).

The quantitative cytomorphological features of the proliferating mesothelium are determined and are characterized by the location of individual cells (56,8 %), with average (54,8 %), mostly centrally located (54,1 %), normogromycin (63,1 %) nuclei with a uniform chromatin structure (85,5 %) and moderately basophilic (58,5 %) developed (70,3 %) cytoplasm ($p < 0,05$).

The application for differential diagnostics of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis of combined cytological and immunocytochemical methods is justified, which allows verifying each of the forms: for the adenocarcinoma, the expression of epithelial antigen Ber-EP4 (88–93 %), epithelial-membrane antigen (57–64 %) is characteristic, cancer-embryonic antigen (43–50 %); for mesothelioma - pancytokeratine AE1 / AE3 (76–87 %), calretinin (70–87 %), vimentin (59–63 %), cytokeratin 5/6 (47–50 %); for reactive mesothelium - vimentin (42–50 %) and calretinin (33–44 %) ($p < 0,05$).

It was established that application of immunocytochemical method in differential diagnostics of adenocarcinoma, mesothelioma and reactive serositis increases the efficiency of cytological study by 18 % ($p < 0,05$).

Determination of the morphological types of nucleolus regions of chromosomes allows us to determine the nature of the pathological process in the serous cavity in the most complicated cases for cytological diagnostics and, in particular, mesothelioma, for which cells are characterized by a content of compact nucleoli of 0,25 (10,4 %), transitional nucleolenemnyh types 0, 95 (41,2 %) versus reactive mesothelium (0,03 % (0,02 %), 0,57 %, respectively (19,3 %; $p < 0,05$),

which increases the effectiveness of the differential cytological diagnosis of mesothelioma and reactive serositis on 21 % ($p < 0,05$).

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

СПИСОК НАУКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати 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 // Клин. 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.)*

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 // Онкология. – 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 // Клин. 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 // Клин. 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.)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

9. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію : метод. рекомендації / Л. С. Болгова С. В. Мариненко, Т. М. Туганова, О. І. Алексєєнко, В. С. Свінцицький, 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.,

Алексеевко О. І. ; Национальный институт раку. – и 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. Алексеевко, 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 асцитичної рідини / 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 // Матеріали пленума Асоціації клінічних цитологів Росії (02–05 жовтня 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.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1	
СУЧАСНИЙ СТАН ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ЦИТОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ АДЕНОКАРЦИНОМИ, МЕЗОТЕЛІОМИ ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ.....	24
1.1. Значення морфологічних особливостей мезотелію в цитологічній діагностиці різних патологічних процесів і станів.....	24
1.2. Можливості цитологічної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту.....	27
1.3. Імуноцитохімічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту.....	32
1.4. Сучасні уявлення про морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом при диференційній діагностиці мезотеліоми та реактивного серозиту.....	38
1.5. Загальні підсумки даних наукової літератури.....	44
РОЗДІЛ 2	
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	47
2.1. Клінічна характеристика хворих.....	47
2.2. Цитоморфологічні дослідження.....	51
2.3. Цитологічні дослідження за ядерцевоутворюючими регіонами хромосом.....	54
2.4. Імуноцитохімічні дослідження.....	54
2.5. Статистичний аналіз отриманих результатів.....	56

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ТРАДИЦІЙНОЇ ЦИТОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПЕРВИННИХ ТА ВТОРИННИХ УРАЖЕНЬ СЕРОЗНИХ

ПОРОЖНИН.....	58
3.1. Цитоморфологічні ознаки клітин аденокарциноми.....	58
3.2. Цитоморфологічні ознаки клітин мезотеліоми.....	61
3.3. Цитоморфологічні ознаки клітин мезотелію з реактивними змiнами.....	63
3.4. Диференційна цитологічна діагностика уражень серозних порожнин за даними традиційної мікроскопії.....	66

РОЗДІЛ 4

ЦИТОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА АДЕНОКАРЦИНОМИ, МЕЗОТЕЛІОМИ ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ НА ОСНОВІ ІМУНОЦИТОХІМІЇ.....	76
---	----

РОЗДІЛ 5

ДИФЕРЕНЦІЙНА ДІАГНОСТИКА МЕЗОТЕЛІОМИ ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ НА ОСНОВІ МОРФОЛОГІЧНИХ ТИПІВ ЯДЕРЦЕВОУТВОРЮЮЧИХ РЕГІОНІВ ХРОМОСОМ.....	84
--	----

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	98
ВИСНОВКИ.....	106
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	108
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	109
ДОДАТОК 1. СПИСОК НАУКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	123
ДОДАТОК 2. ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.....	126
ДОДАТОК 3. АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	127

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

Вer-EP4	–	Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen (Clone Вer-EP4)
СК 5/6	–	Monoclonal Mouse Anti-Human Cytocерatin 5/6 (Clone D5/16 B4)
ЕМА	–	Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29
ІН	–	істиннонегативний
ІП	–	істиннопозитивний
ІЦХ	–	імуноцитохімічний
КБ	–	клітинний блок
мНАТ	–	моноклональне антитіло
ПН	–	псевдонегативний
ПП	–	псевдопозитивний
РЕА	–	раковий ембріональний антиген (Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (Clone II-7))
ФЦ	–	фібрилярний центр
ЯУР	–	ядерцевоутворюючі регіони

ВСТУП

Актуальність теми. За даними Національного канцер-реєстру, неопластичні процеси в Україні займають 2 місце в структурі захворюваності та в структурі смертності населення [40].

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 [21, 41, 43].

Встановлення морфологічного типу та розповсюдженості пухлинного процесу з цитологічним дослідженням на доопераційному та операційному етапах [33] 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 порожнинах ускладнює той факт, що клітини мезотелію при запальних процесах набувають ознак атипії. В таких випадках діагностика лише цитоморфологічними методами неможлива [4].

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 [59]. Імуноцитохімічний (ІЦХ) метод в диференційній діагностиці проліферуючого мезотелію і метастазів злоякісних пухлин в Україні

започаткував Д.Ф. Глузман та співавт., (1993) [11]. ЩХ дослідження ексудатів зарубіжні автори [72, 74, 79, 89, 90] проводять на клітинних блоках. Більш економічний метод поєднання цитологічного та ЩХ досліджень на тих самих препаратах використовує Ю.М. Божок та співавт. (2013) для визначення гістогенезу пухлинних елементів [18].

Для уточнення патологічних процесів в сучасній онкологічній практиці використовують генетичні методи дослідження [20]. Метод визначення основних морфологічних типів ядерцевоутворюючих організаторів також допомагає проводити диференційну діагностику злоякісних і доброякісних патологічних процесів [3]. Втім існує лише декілька публікацій з цього приводу стосовно плевральних та перитонеальних ексудатів [130, 134, 137].

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 мезотелію; 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 порожнини, 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 конгресів «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.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ЦИТОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ АДЕНОКАРЦИНОМИ, МЕЗОТЕЛІОМИ ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ

1.1. Значення морфологічних особливостей мезотелію в цитологічній діагностиці різних патологічних процесів і станів

Цитологічна діагностика змін мезотеліальних клітин в серозних рідинах з грудної і черевної порожнин при різних пухлинних і непухлинних захворюваннях є першим і надійним методом їх морфологічної верифікації, що дозволяє визначити тактику лікування пацієнта.

Відомо, що мезотелій зазнає значних змін при різних патологічних процесах в організмі людини. В клітинах мезотелію відмічаються ознаки проліферації, інколи атипії, що значно ускладнює диференційну діагностику з пухлинними клітинами.

Доречно нагадати, що мезотелій є одношаровим плоским епітелієм, який вистилає поверхню листків плеври, вісцеральної і парієтальної очеревини. Д.А. Семенов і С.С. Целуйко [45] виокремили три типи мезотеліоцитів. Перший і другий типи клітин, за термінологією авторів, належать до «світлих» форм, а мезотеліоцити третього типу – до «темних» форм. Як вважають дослідники, наявність трьох типів мезотелію пов'язана з процесами його оновлення: «світлі» клітини перебувають в стані «регресії», а «темні» елементи розцінюють як молоді форми. Мезотелій в нормі характеризується певним поліморфізмом, а його реакція на різні патологічні процеси та стани в організмі (інфекція, операція, хіміотерапія, неопластичні процеси та ін.) набуває різко виражених ознак проліферації і навіть атипії [45].

Багато авторів повідомляють, що клітини мезотелію в рідинах можуть розміщуватися ізольовано, в скупченнях (до 10 і більше клітин) або

в пластах. Розмір мезотеліоцита, що знаходиться в рідині, складає від 10–20 мкм в діаметрі, а іноді і більше. Мезотеліальні клітини, що нашаровуються одна на одну у вигляді конгломерату, запропоновано називати папілярним скупченням [70, 76, 103, 106, 116, 120].

Автори [29, 66, 102, 103, 141] відзначають, що у вільно розташованих клітинах мезотелію при дослідженні за допомогою електронної і світлооптичної мікроскопії іноді виявляється щіткоподібна облямівка, а при її зникненні, коли клітини розташовуються в групах, утворюються, так звані, «мезотеліальні вікна». Цитоплазма мезотеліальних клітин базофільна, досить однорідна, іноді в ній присутні різних розмірів поодинокі чи множинні вакуолі. Ядро займає майже половину площі клітини, розташовується переважно в центрі, рідше – ексцентрично, коли зміщується великими цитоплазматичними вакуолями.

Дослідники надають великого діагностичного значення морфологічним особливостям ядра. На їх думку, в незміненій клітині мезотелію ядра овальної або округлої форми, ядерна мембрана тонка, хроматин забарвлений базофільно від блідого до гіперхромного, розподілений рівномірно. У кожному ядрі виявляється 1–3 невеликих мономорфних ядерця [30, 38, 101].

Клітини мезотелію мають особливість, як і залозистий епітелій, продукувати серозну рідину, яка полегшує зміщення органів не лише при зміні положення тіла, але головним чином при диханні, серцебитті і травленні. У здорової людини в плевральній порожнині міститься до 10 мл, в перикардіальній – 1–2 мл і в черевній – до 50 мл серозної рідини. L.G. Koss et al., В.В. Долгов та співавт. вважають, що об'єм, який перевищує згадані кількості рідини в порожнинах тіла, свідчить про наявність патологічного процесу і достатній для діагностичної пункції [6, 117].

Варіабельність клітин мезотелію спричиняє значні складнощі при його диференційній діагностиці з аденокарциномою і мезотеліомою.

Слід підкреслити, що наявність в серозній рідині великих поліморфних клітин з вираженими ознаками атипії дозволяє встановити правильний діагноз злоякісної пухлини.

У тих випадках, коли мезотеліальні клітини з вираженими ознаками проліферації і з явищами деякої атипії, провести диференційну діагностику з первинною або метастатичною злоякісною пухлиною дуже складно. У таких спостереженнях необхідне застосування додаткових методів дослідження, до яких відносять імуноцитохімічний, цитогенетичний [16, 37, 84].

За даними авторів, накопичення рідини в серозних порожнинах переважно (85 %) спостерігається при непухлинних захворюваннях, до яких належать: серцево-судинна недостатність, тромбоемболія легеневої артерії, постінфарктний синдром, уремія, цироз печінки, мікседема, інфекційні і паразитарні захворювання, дифузні хвороби сполучної тканини, алергічні стани та ін. В інших 15 % хворих випітні рідини спостерігаються при неопластичних процесах [8].

За даними аутопсій у великих онкоцентрах, пухлинний плеврит виникає частіше (64 %) порівняно з асцитом (36 %). У 15,4 % усіх спостережень з випотом в одній або двох плевральних та в черевній порожнинах виявляється також пухлинний перикардит [44].

Залежно від гістологічної структури первинної пухлини випоти в плевральній і черевній порожнинах діагностують, головним чином, при метастазах залозистого раку, у чоловіків – в 66 %, а у жінок – в 82 % спостережень [44].

Карциноматоз серозних оболонок з накопиченням плевральних випотів спостерігається у 48 % хворих при раку грудної залози, зазвичай, на боці ураження, у 26 % – при лімфомі, у 24 % – при первинному раку легені, 10 % – при раку яєчників, у 1 – 6 % пацієнтів – при інших злоякісних пухлинах [99]. Асцит у жінок найчастіше виникає при раку яєчників, матки, грудної залози, органів травної системи, а у чоловіків – при раку шлунка, печінки,

товстої кишки, підшлункової і передміхурової залоз. З пухлин, що найчастіше зустрічаються у дітей, які супроводжуються випотом, виділяють наступні: лімфома, нейробластома, ембріональна рабдоміосаркома, саркома Юїнга і пухлина Вільмса. У віці 2 – 5 років ексудатами супроводжується нейробластома, до 5 – 6 років – пухлина Вільмса [99].

В клінічній практиці частіше необхідно проводити цитологічну диференційну діагностику аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту. Наявність невиражених ознак атипії пухлинних клітин та мезотеліальних клітин з вираженою проліферацією ускладнює верифікацію патологічних процесів, що потребує додаткових методів дослідження.

1.2. Можливості цитологічної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту

У клінічній практиці правильна оцінка стану мезотеліальних клітин у випітних рідинах має вирішальне значення при виборі тактики обстеження та лікування хворого, і тому цитологи прагнуть знайти диференційно-діагностичні ознаки пухлинних і непухлинних захворювань. Цьому питанню присвячена одна з перших ґрунтовних робіт З.Ф. Кліманової, в якій автор представила цитоморфологічні ознаки проліферуючого мезотелію і метастатичного раку [19]. Відтоді вітчизняні і зарубіжні автори значно доповнили ці дані [8, 54, 66, 68, 101, 117].

Серед ознак атипії клітин мезотелію, що свідчать про належність до пухлини, автори відзначають високу клітинність в цитологічних препаратах, збільшення розмірів і зміну форми клітин, формування ними не лише морулоподібних, але і папілярних структур. При цьому зустрічаються багатоядерні клітини, в окремих з них відзначається гіпертрофія ядер, ядерець, іноді відмічаються мітози [6, 151]. Крім того, клітини мезотелію можуть розташовуватися у вигляді «розеток», однорядних і багаторядних структур, в центрі яких міститься оксифільна гомогенна субстанція, як це відмічається і при ракових ураженнях.

Щоб прийняти правильне діагностичне рішення на користь реактивних змін мезотелію, окремі дослідники рекомендують при оцінці цитологічних препаратів звертати увагу на зубчастість контурів клітинних утворень, «ворсинчастість» цитоплазми і вміст в ній яскраво-червоних гранул глікогену (позитивна PAS-реакція). Відмічається також низький показник ядерно-цитоплазматичного індексу та ядер округлої форми з рівним контуром [54]. Досить часто в ексудатах зустрічаються багатоядерні клітини, що містять 4 – 12 ядер, розміщених центрально або у вигляді кільця, без нагромадження. Відмічено також, що при дистрофічних змінах клітини мезотелію нерідко набувають вигляду гістіоцитарних або макрофагальних клітин, і це ще більше ускладнює їх верифікацію [74, 94].

Між тим, в повідомленнях A.N. Husain et al. [108–110] зазначено, що такі цитологічні ознаки, як зубчасті межі шарів клітин, міжклітинні «вікна», менш насичена забарвленість цитоплазми по краях клітин і низьке ядерно-цитоплазматичне співвідношення, є загальними для проліферуючого мезотелію і клітин злоякісної епітеліоподібної мезотеліоми, що обмежує можливості цитологічного методу в діагностиці злоякісної мезотеліоми.

Водночас, деякі автори відзначають, що однією з головних цитологічних ознак злоякісної мезотеліоми є виявлення структур, що дістали назву «клітина в клітині» [54, 117]. На думку T.C. Pereira et al. [129], при злоякісній мезотеліомі в цитологічних препаратах відсутні клітини, так званої, «чужої» популяції, а виявлені клітини дуже схожі між собою, мають ознаки мезотеліальної тканини з явищами злоякісності. Зубчаста, мереживна межа між шарами, що містять значну кількість клітин (від 50 до 200), характерна для мезотеліоми і відрізняється від чіткого контуру комплексів, які складаються з клітин аденокарциноми.

Названих вище диференційно-діагностичні цитологічні ознак між реактивним мезотелієм, мезотеліомою і аденокарциномою небагато, тому вони не можуть вважатись достатньо аргументованими для упевненого цитологічного висновку. Виходячи з цього, T.C. Pereira et al. [129]

запропонували, при підозрі на наявність клітин злоякісної мезотеліоми, обмежитися висновком про проліферативні зміни мезотелію з атипією клітин і рекомендувати проведення тканинної біопсії з подальшим гістологічним дослідженням для підтвердження або виключення діагнозу злоякісної мезотеліоми.

За даними багатьох дослідників, дотепер не сформульований єдиний перелік цитоморфологічних критеріїв, який дозволив би відрізнити клітини реактивного мезотелію від клітин злоякісної мезотеліоми або метастатичного раку [60, 70, 76, 99, 103, 120]. В цьому контексті об'єктивними є рекомендації L.G. Koss [117] і T.C. Pereira et al. [129] в яких відзначається, що інтерпретація цитологічного матеріалу повинна проводитися з обережністю і з обов'язковим урахуванням клінічних даних, які іноді можуть мати вирішальне значення в ідентифікації клітинних елементів випітних рідин.

Світовий досвід розпізнавання саркоматозної і біфазної мезотеліоми за допомогою цитологічного методу обмежений і представлений описом поодиноких випадків в окремих повідомленнях [68, 110]. Загальновідомо, що біфазний варіант злоякісної мезотеліоми ґрунтується на наявності в пухлині епітеліоподібного і мезенхімального компонентів. У матеріалах Міжнародної експертної групи з діагностики мезотеліоми чітко визначено, що при біфазній мезотеліомі веретенноклітинний компонент повинен складати не менше 10 % [108]. На думку L.G. Koss et al. [117], біфазна злоякісна мезотеліома нагадує злоякісну синовіому і в гістологічних зрізах має вигляд солідних пластів, які складаються з дрібних веретеноподібних клітин зі схожими на зрізі з порожнинами, які вистилають епітеліоподібні клітини кубічної форми. Досвідчений патолог вважає, що виявлення в цитологічних препаратах ексудатів своєрідних клітин веретеноподібної форми з ознаками злоякісності є підставою припустити саркоматозний або біфазний варіант мезотеліоми [117].

Багато авторів при оцінці ексудату виділяють цитоморфологічні органоспецифічні ознаки [4, 6, 68, 99]. В. В. Долгов зі співав. стверджують,

що про метастатичний характер випоту при аденокарциномі грудної залози свідчать виявлені при рутинному цитологічному дослідженні в препаратах однотипні ракові клітини, тісно прилеглі одна до одної, які формують кулясті структури [6]. Т. С. Pereira et al. відзначили специфічність клітин долькового раку грудної залози: лінійне розташування, вміст слизових вакуолей в цитоплазмі, що робить їх схожими на перснеподібні клітини, а також хаотичне розташування поліморфних ядер [129].

Для серозного раку яєчника типовою є велика кількість клітинних елементів пухлини в асцитичній рідині, причому в більшості випадків переважає розташування клітин у вигляді папілярних і залозистоподібних структур. Характерним, особливо при диференційованих формах пухлини, є наявність клітин, що секретують слиз, який розташовується на апокриновій поверхні клітин [4, 6, 72].

Особливу групу при дослідженні ексудатів складають граничні пухлини яєчника. Саме ця група пухлин при верифікації викликає значні труднощі через відсутність об'єктивних ознак атипії клітин. Найбільш вірогідною ознакою граничних пухлин яєчника є наявність в асцитичній рідині щільних сосочкових структур, що складаються з дрібних мономорфних клітин з рівномірним сітчастим малюнком хроматину. При цьому клітини мають тенденцію щільно прилягати одна до одної, через що порізно розташовані епітеліальні клітини в мазках визначаються в невеликій кількості, що відображає гістологічну структуру граничної пухлини: сосочки з поверхні пухлини яєчника відділяються і вільно розташовуються в рідині [9, 32, 33, 79, 113, 140].

Ексудат при раку легені не завжди є результатом ураження плеври пухлиною. Він може виникнути в результаті закриття бронха пухлиною і розвитку ателектазу із запальною реакцією в легеневій тканині. Тому малу кількість елементів пухлини в ексудаті при раку легені можна пояснити не недоліком методу, а наявністю вторинного запального процесу [6]. Елементи аденогенного раку легені в рідині розташовуються порізно у вигляді

залозистоподібних, сосочкоподібних структур і пластів. Як правило, діагноз аденогенного раку за клітинами пухлини в ексудаті не спричиняє труднощів, оскільки є типова для залозистого раку цитологічна картина з різко вираженою атипією, поліморфізмом клітин і ядер, наявністю ядерців в більшості спостережень [122].

Елементи плоскоклітинного раку легені в ексудаті мають дуже різну морфологію залежно від ступеня диференціювання. Найпростіше розпізнати клітини плоскоклітинного високодиференційованого зроговілого раку, але у випотах вони виявляються дуже рідкі в невеликій кількості. Цитоморфологічні особливості клітин плоскоклітинного помірно та низьку диференційованого незроговілого раку в рідині часто нагадують клітини залозистого раку [6, 122].

При цитологічному дослідженні асцитичної рідини діагноз аденогенного раку шлунка в більшості випадків є складним, бо відсутні органоспецифічні ознаки клітин. Тільки перснеподібноклітинний рак має характерну ознаку – наявність внутрішньоклітинного слизу. За морфологічними характеристиками при цитологічному дослідженні можна виділити два різновиди перснеподібноклітинного раку. Один з них з вираженими ознаками поліморфізму і при цитологічному дослідженні не викликає труднощів при його оцінці. Інший складається з дрібних пухлинних клітин з пінистою цитоплазмою, з невеликими ядрами, відтісненими до периферії цитоплазми, або невеликими серпоподібними ядрами, які дуже важко, а часом неможливо, відрізнити від дистрофічно зміненого мезотелію або навіть макрофагів [6, 68, 99]. При різних патологічних процесах в черевній порожнині секреція мезотеліальними клітинами серозної рідини посилюється і вони набувають перснеподібної форми. У таких спостереженнях диференційна діагностика його з перснеподібноклітинним раком при дослідженні ексудату надзвичайно складна і потребує додаткового ІЦХ дослідження.

При колоректальному раку досить часто зберігається морфологія клітин кишкового епітелію: клітинні елементи мають видовжену форму з витягнутими по великій осі ядрами, містять поліморфні ядрця, розташовуються в залозистоподібних скупченнях. Папілярні структури спостерігаються рідко. При низькодиференційованому колоректальному раку, як правило, встановити характер процесу нескладно, проте досить складно встановити гістогенез [6, 68, 99].

За даними наукової літератури, існують різні погляди стосовно диференційної діагностики саме аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. Недостатньо висвітлені диференційні цитологічні ознаки кожної нозології, що потребує поглибленого їх вивчення.

1.3. Імуноцитохімічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту

Описані проблеми диференційної цитологічної діагностики проліферуючого мезотелію, мезотеліоми і метастазів злоякісних пухлин значною мірою можна вирішити за допомогою ІЦХ дослідження.

Цю проблему вивчали співробітники відділу імуноцитохімії ІЕПОР ім. Р. Е. Кавецького НАН України при проведенні ІЦХ досліджень ексудатів з серозних порожнин у 210 хворих, які перебували на лікуванні в Київському міському пульмонологічному центрі, Київській міській онкологічній лікарні та Національному інституті раку. Серед них було 129 пацієнтів з онкологічними захворюваннями і 81 – із непухлинними захворюваннями (деструктивна пневмонія, хронічна недостатність кровообігу, туберкульоз легень, травматичні пошкодження органів грудної клітки). При проведенні досліджень авторами були використані пероксидазний та лужнофосфатазний-методи і мНАТ до різних епітопів РЕА, антигену В6.2, віментину, Н1 до цитокератину 8, Н4 до широкого спектра цитокератинів; до поліморфного епітеліального муцину, нейроспецифічної енолази, антигенів головного комплексу гістосумісності, антигену епітеліальних клітин

(клон Ver-EP4) (Ver-EP4), широкого спектра диференційованих антигенів лейкоцитів. На думку авторів, за допомогою означених антитіл визначалась експресія антигенів як у ракових, так і мезотеліальних клітинах, на відміну від антигенів раково-ембріонального, B6.2 і епітеліального, які виявлялись виключно в ракових клітинах. У зв'язку з експресією Х-гаптена на гістіоцитах і непостійною його присутністю на ракових клітинах для діагностичних досліджень, автори вказують, що необхідно використовувати додаткові маркери, перш за все мнАТ до цитокератинів і антигістіоцитарні. З-поміж останніх авторами були апробовані мнАТ до антигенів CD 14, CD 11с, CD 68. Всі вони реагували виключно з гістіоцитами, макрофагами і застосовувались для їх ідентифікації [11].

Аналогічну роль відіграють мнАТ до панлейкоцитарного антигену CD 45. Вони реагували з гістіоцитами, лімфоцитами, але не взаємодіяли з мезотелієм і раковими клітинами [11].

Були виявлені нові позитивні маркери мезотеліом, такі як тромбомодулін, калретинін, мезотелін, цитокератин 5-го типу (СК 5/6) [75, 82, 83, 97, 125].

Реакція на тромбомодулін (CD 141), за результатами одних досліджень, була позитивною практично в 100 % випадків у клітинах мезотеліом і тільки в 8 % – при метастазах залозистого раку. За уточненими даними інших авторів, виявлення тромбомодуліну клітинами мезотеліоми відзначалася у 77 % хворих, а у ракових клітинах – у 11 % пацієнтів [73].

Калретинін – білок, який виявляється в цитоплазмі мезотеліальних клітин і відсутній в клітинах ракових пухлин, за винятком серозних папілярних аденокарцином яєчника, який також може бути ефективно використаний при проведенні диференційної цитологічної діагностики мезотеліоми і аденокарциноми [73, 79].

Мезотелін – глікопротеїн з молекулярною масою 40 кД, що виявляється на поверхневих мембранах клітин за допомогою мнАТ К1. Експресія мезотеліна установлена на клітинах мезотеліом і серозних (немуцинозних)

пухлин яєчника [92]. Спочатку застосування мнАТ К1 обмежувалося виявленням антигену в нефіксованих зрізах свіжозамороженої тканини, але використання технологій теплової обробки розширило можливості використання мнАТ К1 в діагностиці мезотеліоми і широкого спектра аденокарцином при вивченні зрізів, фіксованих у формаліні і залитих парафіном, тканин.

Цитокератин 5/6 (СК 5/6) також може бути віднесений до білків, асоційованих з мезотелієм [111, 137]. Крім мезотеліом, він виявляється в клітинах плоскоклітинного раку різної локалізації [96].

Девід Дабс вивчав чутливість і специфічність методу із застосуванням ряду антитіл для диференційної діагностики аденокарциноми і мезотеліоми на гістологічному матеріалі [81]. Автор встановив, що серед епітеліальних маркерів доцільно використовувати мнАТ РЕА і Ver-EP4, оскільки специфічність їх складає 100 % при чутливості 79 і 56 % відповідно; а серед мезотеліальних маркерів – калретинін зі специфічністю 97 % при чутливості 27 % і тромбомодулін – зі специфічністю 95 % при чутливості 43 %.

Серед робіт, присвячених саме цитологічній діагностиці ексудатів із застосуванням ІЦХ, варто вказати монографію Z. A. Syed та S. C. Edmund [142], в якій показана висока чутливість застосування ІЦХ методу. Вони виявили, що реактивність клітин мезотеліоми з мнАТ калретинін становить 65–100 %, СК 5/6 – 83 %, тоді як позитивна реакція з Ver-EP4 в клітинах аденокарциноми – 92 %, і з РЕА – 85–95 % [143].

Особливий інтерес викликає монографія О.Г. Григорука та співав., присвячена сучасним можливостям цитологічної діагностики плевритів [8]. За даними авторів, в першу чергу проводиться рутинне цитологічне дослідження, коли при виявленні клітин з ознаками атипії і складності їх інтерпретації на світлооптичному рівні діагностики потребувало застосування ІЦХ. Виявлення епітеліального антигену у всіх пухлинах епітеліального походження суттєво допомагає при диференційній діагностиці епітеліоподібної мезотеліоми плеври і аденокарциноми, що метастазує

в плевру. Однак, визначення епітеліального антигену і мезотеліну дає можливість відрізнити клітини реактивного мезотелію і аденокарциноми. Поряд з цим, за інтенсивністю реакції на мезотелін і відсутності реакції з епітеліальним антигеном можна провести диференційну діагностику клітин реактивного мезотелію і епітеліоподібної мезотеліоми. Автори відзначають, що неодмінною умовою успіху ІЦХ дослідження є достатня кількість пухлинних клітин в рідині (оптимально – 200–300).

Багато дослідників виокремили низку імуноцитохімічних ознак характерних для тієї або іншої органоналежності метастатичного ексудату [4, 68, 78, 89, 91, 93].

Н. Н. Волченко із співавт. [4] вважають, що для успішного визначення первинної локалізації, при підозрі на рак грудної залози, необхідно при дослідженні серозної рідини застосувати панель наступних мнАТ до: цитокератину 7, жирових глобул людського молока, естрогенового рецептора і прогестеронового рецептора.

Автори рекомендують дослідження за пофарбованими препаратами асцитичної рідини при граничних пухлинах яєчника доповнити ІЦХ дослідженнями [99, 105, 116, 133, 136]. Серозний рак яєчника діагностується при вираженій експресії цитокератину 7 і СА 125, експресія цитокератину 20 відсутня, РЕА слабо позитивна або відсутня, експресія рецепторів естрогену та прогестерону, що слід враховувати при оцінці ІЦХ [10, 149, 153, 155].

Найбільш значущими для діагностики аденогенного раку легені є експресія наступних антигенів: цитокератину 7 і тиреотропного фактора. Клітини дрібноклітинного раку складно виявити серед лімфоїдних і мезотеліальних клітин, якщо вони розташовуються в невеликих скупченнях. При цьому відзначається позитивна експресія цитокератину 7, тиреотропного фактора, хромогранину А, синаптофізину, CD 57 [142, 145–148]. Для плоскоклітинного раку легені характерними є експресія білка р63 і високомолекулярних цитокератинів (СК 34βE12) [17].

Клітини аденокарциноми шлунка переважно містять цитокератин 7 і PEА, а інколи цитокератин 20 [152].

Патогномонічним при ІЦХ дослідженні для клітин колоректального раку є експресія цитокератину 20 і cdx-2, без супутньої експресії цитокератину 7 [118].

Проте первинну локалізацію пухлини не завжди можна оцінити однозначно, бо пухлинні клітини в результаті метастазування можуть втрачати певні антигени, властиві органі, в якому виникла пухлина. Проведені розробки в області епітеліально-мезенхімального переходу підтверджують зміну ІЦХ профілю при пасажі культури тканини [59, 62].

Існує багато публікацій, у яких автори вивчають експресію антигенів в клітинах епітеліального або мезотеліального походження, використовуючи методику так званого клітинного блоку (КБ, «cell-block») [5, 80, 90, 103, 112, 128]. Наведемо кілька прикладів. J. S. Cho et al. вказують на використання мНАТ mucins (MUC1 та MUC4) для виявлення антигенів клітин аденокарциноми і можуть використовуватися в диференційній діагностиці реактивного мезотелію та аденокарциноми [90]. Н. J. Kim et al. вивчали роль insulin-Like Growth Factor-II mRNA-Binding Protein 3 при верифікації клітин аденокарциноми шлунка в ексудатах [112]. L. Waters et al. констатують діагностичне значення PAX2 та PAX8 при діагностиці метастазів раку яєчника та нирок в ексудатах [128]. В зазначених роботах ІЦХ дослідження проводяться з застосуванням КБ. Цей метод забезпечує збереження клітин і внутрішньоклітинних структур на кілька років для подальшого ретроспективного дослідження. Крім того, методика клітинних блоків дозволяє стандартизувати ІЦХ метод з імуногістохімічним, тому що клітинний матеріал обробляється таким же чином, як і зразки тканини для гістологічного дослідження, що дає можливість отримати численні зрізи з одного КБ і застосовувати, при необхідності, багато антитіл [71, 77].

Останнім часом автори вивчають чутливість і специфічність мНАТ, використаних для ІЦХ діагностики випотів [115, 150, 154]. Так, в результаті

статистичного аналізу за допомогою програми Meta-Disc 1.4 і STATA 12.0, була встановлена сумарна оцінка для мНАТ Ver-EP4 чутливості 0,8 (95 % CI: 0,78–0,82), специфічності 0,9 (95 % CI: 0,93–0,96), коефіцієнт позитивної правдоподібності 12,72 (95 % CI: 8,66–18,7), коефіцієнт негативної правдоподібності 0,18 (95 % CI: 0,12–0,26) і коефіцієнт діагнозу 95,05 (95 % CI: 57,26–157,77). Отримані результати показують, що мНАТ Ver-EP4 може бути найбільш диференційно значущим в цитологічній діагностиці ексудатів [86]. Аналогічна робота присвячена вивченню мНАТ калретинін. Отримані уточнені дані про чутливість і специфічність свідчать про високу ефективність застосування мНАТ до калретинін в діагностиці мезотеліоми [87]. Ю.М. Божок зі співавт. впровадив в практику одночасного використання ІЦХ і цитологічного методів. При цьому застосовуються пофарбовані цитологічні препарати, отримані в результаті аспіраційної пункційної біопсії новоутворень щитоподібної залози. Тобто, враховуючи досвід вітчизняних колег, можливо проводити імуноцитохімічне дослідження на традиційних цитологічних препаратах [18].

За даними багатьох авторів встановлено, що епітеліальний антиген виявляється в переважній більшості аденокарцином – в середньому 80 % спостережень, тоді як епітеліоїдна і біфазна мезотеліома інколи містить цей антиген в 12 % [67, 69, 79, 86, 126, 132]. Однак, в окремих спостереженнях при визначенні експресії Ver-EP4, виявлено, що ІЦХ при застосуванні КБ буде виявлятися рідше, ніж при використанні традиційно пофарбованих цитологічних препаратів [8].

Отже, застосування ІЦХ в диференційній діагностиці аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту, використовуючи традиційні цитологічні препарати ексудатів, має певні труднощі, але, оскільки метод КБ вимагає значних матеріальних затрат і не завжди дає очікувані результати, тому подальше вивчення ІЦХ із застосуванням традиційних цитологічних препаратів необхідні для зниження економічних витрат та доцільність впровадження в практику.

1.4. Сучасні уявлення про морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів хромосом при диференційній діагностиці мезотеліоми та реактивного серозиту

Для характеристики функціональної активності клітин широке використання отримав метод визначення аргентофільних білків, асоційованих із зонами ядерцевоутворюючих регіонів (ЯУР) хромосом. ЯУР – це ділянки молекули ДНК, в яких здійснюється транскрипція рРНК. У людини ЯУР хромосом локалізовані на коротких плечах 5 пар акроцентричних хромосом (13, 14, 15, 21 і 22) в ділянках вторинних перетинок [13]. З ЯУР зв'язані кислі негістонові білки, яким притаманні аргентофільні властивості. Це протеїни С 23/нуклеолін, В 23/нуклеофозмін, фібриларин, РНК-полімераза-1, ДНК-топоізомераза-1, фактор ініціації транскрипції [15]. Аргентофільність ЯУР акроцентричних хромосом є спадковою ознакою і залежить від кількості копій рибосомних генів та їх транскрипційної активності [22].

За сучасними уявленнями, ЯУР хромосом в інтерфазних клітинах (у вигляді розплетеної рДНК) локалізуються в фібрилярних центрах (ФЦ), навколо яких в тілофазі формується ядерце. Однак кількість ФЦ не залежить від кількості хромосом з активними ЯУР. Як правило, кількість ФЦ набагато перевищує кількість ЯУР. Це пояснюється тим, що кожний ЯУР формує декілька ФЦ. Співвідношення між кількістю ФЦ і ЯУР з більшою мірою залежить від транскрипційної активності клітини. При низькій функціональній активності клітин кількість ФЦ узгоджується з кількістю ЯУР, при високій – набагато перевищує число ЯУР. Очевидно, під час активації ядерця відбувається поступова дисперсія хроматину рибосомних генів і збільшується кількість послідовностей ДНК, за якими здійснюється транскрипція рРНК. За рахунок цього утворюється більша кількість ФЦ на основі одного ЯУР. В ядерці навколо ФЦ утворюється щільний фібрилярний і гранулярний компоненти.

Детальні дослідження привели до висновку фібрилярний комплекс, який містить різну кількість ФЦ в залежності від стадії клітинного циклу, відповідає одному ЯУР [123].

Морфологічні особливості метаболізму рРНК в клітині визначаються методом імпрегнації сріблом, який вперше запропонували в 1973 р. S. Matsui і M. Sasaki [121], та спростили в 1975 р. C. Goodpasture і S.E. Bloom [100] для виявлення ЯУР в метафазних хромосомах. В подальшому метод був адаптований для дослідження ЯУР в ядечках інтерфазних клітин. Широке використання набули методики сріблення за W.H. Howell і D.A. Black [107], Z. Likovsky і K. Smetana [119], D. Ploton et al. [138] та їх модифікації [1].

Вважається, що один із механізмів змін функціональної активності ЯУР в пухлинних клітинах пов'язаний з їх проліферативним статусом [3, 47–49, 61]. Це знайшло підтвердження при порівняльному аналізі кількості ЯУР і проліферативної активності клітин, яка виявляється за часткою клітин в S- і G₂/M-фазах клітинного циклу методом проточної цитометрії. Проліферативна активність клітинних елементів новоутворень також визначалась за іншими параметрами, такими, як тимідиновий індекс, експресія ядерних антигенів, асоційованих з проліферативною активністю, та при дослідженні ЯУР в культивованих клітинах, які були стимульовані до проліферації. Іншою причиною змін функціонування ЯУР є ампліфікація і реаранжування рибосомних генів, а також зміни плоідності ядра [135].

В основі реакції сріблення лежить вибіркоче з'єднання нітрату срібла з кислими негістоновими хромосомальними білками, які утворюють рибонуклеопротейнові комплекси з щойно синтезованою рРНК. Під час фарбування здійснюється відновлення іонів срібла карбоксильними, дисульфідними і сульфгідрильними групами білків. В результаті фарбування ядро забарвлюється жовтим кольором, ядечка – коричневим, а над ядечкутворюючими зонами відкладаються частки колоїдного срібла у вигляді чорних гранул [15, 135].

Морфологічна структура ядерця тісно пов'язана з його функціональною активністю і відображає рівень біогенезу рибосом: синтез пре-рРНК, процесінг і міграцію зрілих субодиниць рибосом із ядерця в нуклеоплазму. На світловому рівні виділяють чотири основні морфофункціональні типи ядерець: компактні – великих розмірів (3–4 мкм), щільні і однорідні; нуклеолонемні – великі (2–4 мкм) з чітко означеною нитчатою структурою; кільцеподібні – дрібні (біля 1 мкм) зі світлою серцевиною і щільною периферією; та мікроядерця – темні дрібні гранули (до 1 мкм в діаметрі). П.В. Челідзе і О.В. Зацепіна, базуючись на даних електронної мікроскопії, запропонували достатньо повну морфологічну класифікацію ядерець з виділенням їх 9 типів: компактні; нуклеолонемні; ядерця типу кора-серцевина; ретикулярні (трабекулярні); вакуолізовані (лакунарні); кільцеподібні (анулярні); сегреговані; щільні фібрилярні ядерця; вільні фібрилярні центри (як різновид мікроядерець). Крім того, окремо авторами описані ядерця перехідних форм (компактно-нуклеолонемні, ретикулярно-вакуолізовані та ін.) [58].

Ядерце активно функціонуючих клітин відноситься до нуклеолонемного типу, який при додатковому посиленні транскрипції трансформується в компактний. При сильному пригніченні транскрипції рРНК нуклеолонемні ядерця перетворюються в кільцеподібні, сегреговані або щільні фібрилярні центри. Цей процес має зворотний характер [58].

В результаті впливу ряду хімічних і фізичних чинників, а також при вірусних, бактеріальних і грибкових інфекціях спостерігається своєрідна структурна перебудова ядерця, відома під назвою сегрегації ядерцевих компонентів. При цьому порушується злиття аргентумпозитивних пренуклеолярних тіл, внаслідок чого в інтерфазі утворюється не одне, а кілька, причому функційно неповноцінних, дрібних ядерець. Сегрегація ядерцевого матеріалу розглядається як маніфестація цитолізу [39]. Часткова просторова сегрегація ядерець спостерігається під впливом розчинів низької іонної сили при обробці клітинного матеріалу перед фіксацією.

Дія гіпотонічного розчину призводить до роз'єднання скупчень зерен срібла та їх просторового відокремлення як в зоні ядерця, так і поза ним. Дослідники стверджують, що подібна обробка полегшує ідентифікацію і підрахунок ядерцевих Ag-гранул [14].

Дані наукової літератури також свідчать про те, що нелегко досягти стабільних результатів фарбування. На специфічність забарвлення впливає додержання певних умов фарбування (рН, температура, тривалість фарбування, концентрація AgNO_3) та способу фіксації препаратів. В зв'язку з тим, що спорідненість до срібла проявляють практично всі компоненти хроматину, зміна умов проведення реакції призводить до виявлення окрім ЯУР інших структур. А враховуючи існуючі модифікації методу сріблення ЯУР, слід оцінювати результати реакції лише в рамках певного способу фарбування [39].

За даними наукової літератури, існують різні методичні підходи до оцінки ступеня виразності клітинної проліферації. По-перше, це пов'язане зі складнощами обліку результатів сріблення і, перш за все, зі здатністю гранул срібла зливатись в середині ядерця в конгломерати різної щільності так, що близько розташовані гранули не розрізняються між собою [39]. По-друге, існують різні класифікаційні поняття щодо продуктів реакції сріблення [2].

Таким чином, в науковій літературі існують різні методичні і класифікаційні підходи до оцінки результатів реакції сріблення при різних доброякісних і злоякісних пухлинах. Як зазначає В.М. Погорелов [39], оцінка цитохімічної реакції структур ядерця з нітратом срібла, як і проведення цієї реакції, залежать від вибору методів, що відповідають меті дослідження. Описані в літературі методичні підходи потребують подальшого вдосконалення [2].

Слід також зазначити, що поняття «кількість аргентофільних гранул» досить умовне і деякі автори відмічають про відповідність аргентофільних гранул «істинним» ЯУР [13]. Доведено, що в результаті сріблення виявляються білки, асоційовані з ФЦ, щільним фібрилярним компонентом

і частиною гранулярного компонента (фібрилярним комплексом). Як зазначалось, один ЯУР може утворювати декілька фібрилярних комплексів. Таким чином, кількість аргентофільних гранул відповідає кількості фібрилярних комплексів. Однак на цитологічному рівні одна така аргентофільна гранула є дискретною структурою, в якій преципітовані більш дрібні гранули срібла. Тому розмежування таких структур в комплексах ще більше ускладнене, ніж в гістологічних препаратах. Тому в цитограмах доцільним є визначення типу ядерця на основі преципітації гранул срібла на відміну від визначення кількості аргентофільних гранул. Водночас, при наявності щільних агрегатів не завжди можливо визначити в них кількість аргентофільних гранул.

Іншим методичним підходом до оцінки результатів сріблення є визначення площі, діаметра і периметра кожної аргентофільної гранули та площі всіх аргентофільних гранул на ядро, які досліджувались на різному матеріалі. Вважається, що ці параметри є більш точними і показовими, ніж кількість аргентофільних гранул на ядро. Пояснюється це тим, що на загальну площу аргентофільних гранул їх щільне розташування істотного впливу не має [135].

Метод сріблення білків ЯУР активно використовується в діагностичній онкоморфології. Так, підрахунок білків ЯУР дозволяє чітко розмежувати доброякісні і злоякісні новоутворення ендометрію [65, 85], шийки матки [3, 88], товстої кишки [95, 98], легені [47–49], передміхурової залози [43], ротової порожнини [63, 104], печінки [130], грудної [124, 130], щитоподібної і підшлункової залоз, наднирників [114] та прямої кишки [131]. В цілому загальний вміст аргентофільних гранул в злоякісній пухлині вищий, ніж в доброякісній. При оцінці інших показників відзначено, що при злоякісній пухлині збільшується кількість внутрішньоядерцевих аргентофільних гранул, більша середня площа всіх аргентофільних гранул на ядро, переважає дифузний тип аргентофільних гранул, з'являються компактні ядерця та

перехіднонуклеолонемні їх форми, збільшується кількість периферично розташованих аргентофільних гранул на відміну від доброякісного процесу.

Невелика кількість публікацій присвячена вивченню морфологічних типів ЯУР хромосом ексудатів [134, 138, 144]. Одна з перших робіт з вивчення морфологічних типів ЯУР в плевральній рідині хворих на рак легені належить М.М. Мамаєву зі співав. [50]. Незалежно від морфологічного типу пухлин авторами відзначена виражена гетерогенність популяції пухлинних елементів за відношенням кількості ядерців на ядро та їх функціональної активності в плані синтезу рРНК, що є важливою ознакою пухлини. В основі відзначеної гетерогенності пухлинної популяції лежить збільшення чи, навпаки, зменшення в пухлинних клітинах кількості акроцентричних хромосом з функціонально активними ядерцевими організаторами [50].

С. W. M. Bedrossian [68] лише згадав про існування морфологічних типів ЯУР. Дослідник досить детально описав роль цитологічного і імуноцитохімічного методів при вивченні плевритів і асцитів, при цьому не розкрив важливості і необхідності застосування обліку основних морфофункціональних типів ядерців в аргентум–позитивних пухлинних і мезотеліальних клітинах ексудатів.

Meenu Gill et al. вказує, що вивчення морфологічних типів ЯУР є корисним додатковим методом для цитологічної діагностики випотів, а цей метод можна використати на мазках, пофарбованих за методом Паппаніколау або Май-Грюнвальда-Гімзе [134].

К. Sujathan et al. констатують, що в злоякісних клітинах ексудатів середня кількість ядерцевих організаторів в середньому складає $(4,72 \pm 0,76)$, а в клітинах реактивного мезотелію – $(1,92 \pm 0,23)$ [138], що підкреслює важливу діагностичну вагомість згаданого методу. Подібна робота належить S. Karki et al. Науковцями було визначено, що середні значення ядерцеутворюючих регіонів $(10,43 \pm 0,73)$ і $(10,21 \pm 0,51)$ при злоякісних перитонеальних і плевральних випотах було значно вищим ($p < 0,0001$)

порівняно зі значеннями ($2,12 \pm 0,54$) і ($2,11 \pm 0,54$) при не злоякісних випотах [143].

Отже, доведена діагностична цінність вивчення ядерцеутворюючих регіонів при диференційній діагностиці доброякісних і злоякісних новоутворень. Однак дослідження з вивченням активності морфологічних типів ЯУР в диференційній діагностиці мезотеліоми та реактивного серозиту на сучасному етапі є поодинокі.

Крім того, дослідження морфологічних типів ЯУР порівняно з загальним вмістом ядерцевоутворюючих регіонів є більш показовим. Тому, є важливими подальші поглиблені дослідження морфологічних типів ЯУР клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію для визначення цитогенетичних диференційно-діагностичних критеріїв мезотеліоми і реактивного серозиту.

1.5. Загальні підсумки даних наукової літератури

Узагальнюючи дані літератури про застосування цитологічного методу, можна зробити висновок про загально визнану клінічну значущість цього методу. Ці дані базуються на еволюції та вдосконаленні цитологічного методу упродовж декількох десятиків років. Проте сучасний рівень цитологічної лабораторії потребує обов'язкового використання імуноцитохімічного дослідження, що сприятиме рішення завдань онкоцитологічної діагностики захворювань.

З даних літератури зрозуміло, що чітко не виділені диференційно-діагностичні ознаки, які виникають при цитоморфологічній діагностиці ексудатів в медичній практиці. На підставі проведених досліджень вітчизняних і зарубіжних авторів про цитоморфологічні, імуноцитохімічні і цитогенетичні критерії клітин реактивного мезотелію, мезотеліоми і метастазів раку можна констатувати, що цитологічні ознаки подані на описовому рівні.

Згідно з даними більшості авторів, пухлинні клітини, що виявляються в ексудаті, найчастіше відносяться до залозистого раку різних органів. Крім того, відомо, що пухлинні клітини в ексудатах можуть втрачати характерні для первинної пухлини антигени, але зберігати тканиннспецифічні антигени, характерні для залозистого раку різних локалізацій. При цьому не усі діагностичні мнАТ дозволяють визначити органоналежність пухлини в ексудаті. Крім того, ІЦХ дослідження проводилися з використанням КБ. Це метод приготування цитологічних препаратів, заснований на техніці заливки клітинного матеріалу (суспензії клітин) об'ємним середовищем з метою формування КБ з подальшим виготовленням з нього тонких зрізів і нанесенням їх на предметне скло (як при гістологічній техніці). Використання КБ на відміну від традиційних пофарбованих цитологічних препаратів для ІЦХ дослідження є низку наступних переваг. Метод ІЦХ дослідження уніфікований з імуногістохімічним (ІГХ) методом при використанні КБ. Тобто, всі мнАТ виробником розроблені для гістологічного блоку, тоді як при використанні традиційних цитологічних препаратів необхідно підбирати – метод фіксації, демаскування – етапи ІЦХ дослідження для кожного мнАТ. Водночас використання КБ має низку недоліків. ІЦХ метод так само як ІГХ метод, не може проводитися без традиційного цитологічного і відповідно гістологічного методів дослідження. Тобто для того, щоб підібрати панель мнАТ для ІЦХ необхідно вивчити традиційно забарвлені цитологічні препарати. При цьому, морфологічні ознаки мезотеліоми, аденокарциноми і реактивного мезотелію в КБ значно відрізняються від таких в цитологічному препараті, що тим самим може ускладнювати вибір діагностичних мнАТ. Наступним недоліком КБ є те, що для виготовлення КБ необхідні значні додаткові матеріальні затрати. Крім того, за даними окремих авторів, мнАТ Ver-EP4 є одним з основних в цитологічній діагностиці аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного мезотелію не завжди дає змогу виявити Ver-EP4, при використанні КБ на відміну від цитологічних препаратів.

Отже, вивчення використання ПЦХ на традиційних цитологічних препаратах є актуальним для діагностики аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного мезотелію [2].

Відома методика визначення аргентумпозитивних ядерцевих організаторів є показовою і надійною при діагностиці злоякісних і доброякісних пухлин, але представлена на матеріалах плевральних та асцитичних ексудатів в поодиноких роботах, є перспективним способом оцінки характеру патологічного процесу. Крім того, в тій невеликій кількості робіт висвітлені дані про загальний вміст аргентумпозитивних ядерцевих організаторів в клітинах аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію. Тоді як, науковими співробітниками науково-дослідного відділу цитопатології та патологічної анатомії Національного інституту раку доведена значимість вивчення саме ЯУР на матеріалах пухлин різних локалізацій [2].

На сьогодні гістологічні заключення формулюються згідно з класифікацією [28, 127], яка оновлюється кожні десять років і тільки в 2020 році планується видання класифікації захворювань мезотелію. Тоді як для цитологічної діагностики ексудатів не існує алгоритму досліджень, за яким проводиться диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту.

Отже, створення алгоритму використання різних методів дослідження дозволить з більшою вірогідністю проводити диференційну діагностику аденокарциноми, мезотеліоми і реактивних серозитів.

Результати даного розділу викладені в публікаціях:

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.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Цитологічна верифікація первинного та метастатичного неопластичного ураження серозних оболонок є часто складною у визначенні біологічного характеру і гістологічного типу новоутворення. З метою визначення диференційно-діагностичних ознак клітин реактивного мезотелію, аденокарциноми і мезотеліоми були проведені комплексні цитоморфологічні, імуноцитохімічні дослідження і вивчення ЯУР хромосом в трьох групах хворих.

2.1. Клінічна характеристика хворих

Дисертаційна робота ґрунтується на результатах обстеження 104 хворих, серед яких 61 з плевритами та 43 з асцитами. Досліджено архівні препарати 7050 хворих, які мали первинне та метастатичне неопластичне ураження серозних оболонок або ексудатів непухлинного генезу і обстежувались в Національному інституті раку у 2007–2017 роках. Крім пацієнтів Національного інституту раку, враховувались хворі, які обстежувались і лікувались в Національному інституті серцево-судинної хірургії імені М.М. Амосова та Національному інституті хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова.

Можливо було зіставити з гістологічними та клініко-рентгенологічними результатами лише дані 104 хворих:

- з аденокарциномою 34;
- з мезотеліомою – 28;
- з наявністю ексудатів, які мають реактивний характер, – 42.

Клінічна характеристика хворих, залучених у дослідження, представлена в таблиці 2.1.

Клінічна характеристика хворих, які мали екsudати

Показник		Всього хворих, n=104
Стать	жінки	62
	чоловіки	42
Вік, років	10–39	14
	40–49	16
	50–59	30
	60–69	33
	70–89	10
Діагноз при обстеженні	ексудат неясної етіології	86
	наявність ексудату, продовження основного захворювання?	18
Кінцевий діагноз	аденокарцинома	34
	мезотеліома	28
	реактивний серозит	42
Локалізація первинної пухлини при метастатичному ексудаті	яєчники	17
	легені	6
	шлунок	6
	грудна залоза	3
	тіло матки	2
Причина ексудату не пухлинного походження	серцево-судинна патологія	17
	неспецифічне запалення легенів	11

Як видно з таблиці 2.1, частіше всі ексудати при пухлинних та непухлинних захворюваннях діагностували у жінок. У більшості досліджених хворих спостерігався широкий віковий діапазон – від 18 до 80 років.

З урахуванням завдань, які ставить клініцист перед цитологом хворих, які мали екsudати можна розподілити на дві групи: до першої групи належать хворі з екsudатами неясної етіології – 86 (83 %), а до другої – з екsudатами, які потребують уточнення пролонгації злоякісного процесу, – 18 (17 %).

Локалізація первинної злоякісної пухлини при метастатичних екsudатах розподілилась наступним чином: у 17 (50 %) пацієток гістологічно верифіковано аденокарциному яєчників, у 6 (18 %) – шлунка, у 6 (18 %) – легені, у 3 (9 %) – грудної залози, у 2 (5 %) – тіла матки.

Причиною екsudатів, які мали реактивний характер, найчастіше були серцево-судинні захворювання – 17 (40 %). Крім цього, причинами виникнення екsudату були: неспецифічне запалення легенів – 11 (26 %) хворих, печінки або підшлункової залози – 13 (32 %), післяопераційні ускладнення 1 (2 %).

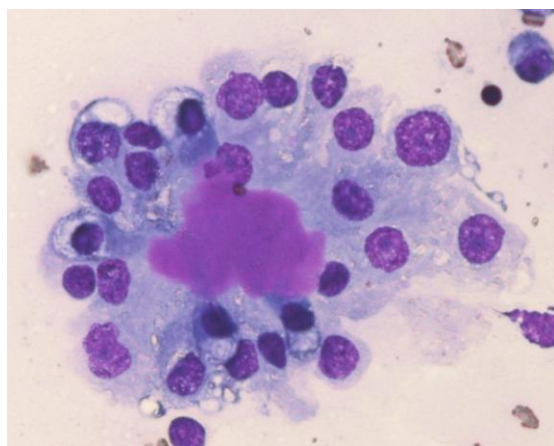
Дизайн дослідження подано на рисунку 2.1.



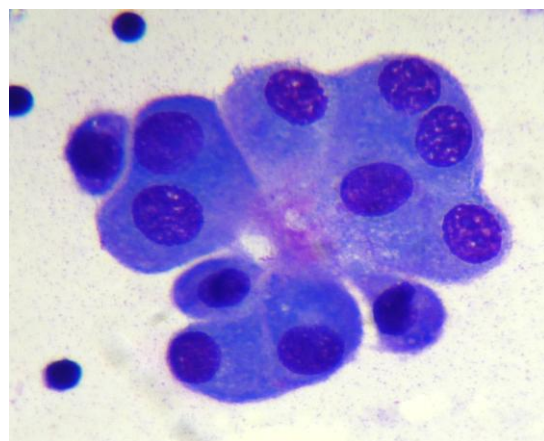
Рис. 2.1. Схема дизайну дослідження

На підставі вивчення цитоморфологічних даних виділили три групи:

– група (аденокарцинома–реактивний серозит) склали 35 (34 %) пацієнтів, у яких при дослідженнях випоту виявляли значну кількість клітин мезотелію з вираженими ознаками проліферації, в частині з них – з атипією, але такі ознаки не дозволили підтвердити наявність тільки мезотеліальних клітин;



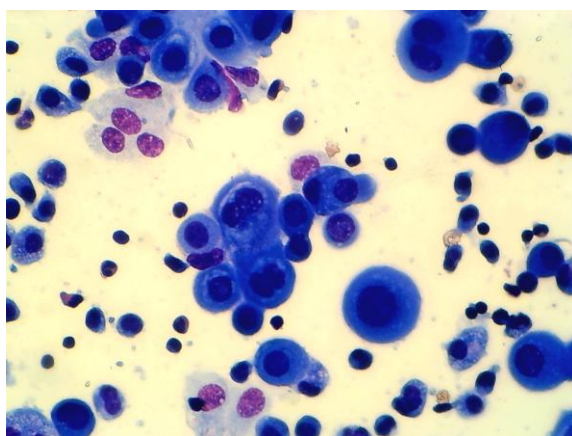
А



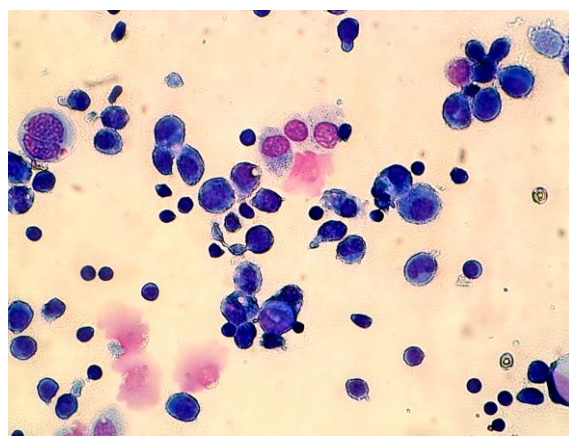
Б

Рис. 2.2. Препарат асцитичної рідини. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400: А – метастаз аденокарциноми яєчників; Б – реактивний серозит

– група (мезотеліома–реактивний серозит) 39 (38 %) при дослідженні забарвлених за методом Паппенгейма цитологічних препаратів було виявлено значну кількість мезотеліальних клітин з вираженими ознаками проліферації, в частині з них – атипії, що потребувало проведення диференційної діагностики мезотеліоми і реактивного серозиту;



А



Б

Рис. 2.3. Препарат асцитичної рідини. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400: А – злоякісна епітеліоїдна мезотеліома; Б – реактивний серозит

– група (аденокарцинома–мезотеліома) 30 (28 %) при традиційній цитологічній діагностиці визначення злякисного процесу не викликало діагностичних перешкод, оскільки всі клітини в цитологічних препаратах мали явні ознаки атипії, але необхідно було провести ПЦХ дослідження для встановлення належності пухлини до мезотеліоми або аденокарциноми.

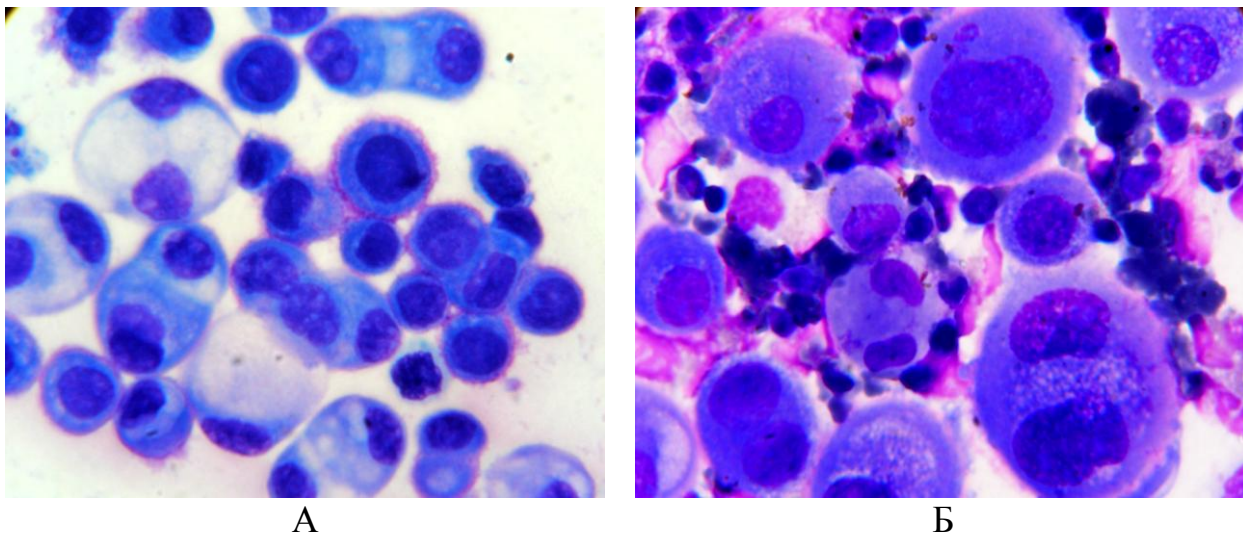


Рис. 2.4. Препарат асцитичної рідини. Забарвлення за Паппенгеймом. X1000: А – метастаз аденокарциноми яєчників; Б – злякисна епітеліоїдна мезотеліома

У всіх пацієнтів з метою диференційної діагностики застосували ПЦХ дослідження. У пацієнтів 2-ої групи (мезотеліома–реактивний серозит), крім ПЦХ методу, додатково проводили підрахунок морфофункціональних типів ЯУР хромосом в ядрах клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію.

Дані дослідження схвалені локальною етичною комісією Національного інституту раку (протокол № 126 від 21.11.18 р.).

2.2. Цитоморфологічні дослідження

Методи дослідження, які застосовувались при виконанні дисертаційної роботи, представлені в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

**Кількість ознак, вивчених у хворих з аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним серозитом
із застосуванням цитологічного, цитогенетичного і імуноцитохімічного методів**

Діагноз	Метод дослідження					
	цитологічний, n		цитогенетичний, n		імуноцитохімічний, n	
	хворих	ознак	хворих	ознак	хворих	ознак
Аденокарцинома	34	1904	-		34	245
Мезотеліома	28	1568	21	5931	25	182
Реактивний серозит	42	2352	35	11680	42	301
Всього	104	5824	56	17611	104	728

Цитоморфологічні ознаки вивчали за пофарбованими препаратами за методом Паппенгейма. Оцінювали їх за «Схемою цитологічних ознак для формалізованої оцінки якісного та кількісного складу клітин», де враховано 56 основних показників та їх градацій, які стосуються всіх морфологічних ознак клітин, що представлені в розділі 3. Вивчали розмір, форму, тинкторіальні особливості цитоплазми, ядра та ядерець в 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 +, помірнорозвинена ++, інтенсивно розвинена +++.

Цитометричні вимірювання проводили за допомогою програмного забезпечення Digimizer, 4.3.0. Діагностичну ефективність цитологічного методу виражали у відсотках (формула 2.1):

$$\text{Діагностична ефективність} = \frac{\text{ІІ} + \text{ІН}}{\text{ІІ} + \text{ІН} + \text{ІІІ} + \text{ІНН}} \times 100 \%, \quad (2.1)$$

де ІІ – істиннопозитивний результат;

ІН – істиннонегативний результат;

ІІІ – псевдопозитивний результат;

ІНН – псевдонегативний результат.

«Золотим» стандартом вважали гістологічне заключення в випадках аденокарциноми і мезотеліоми, а при реактивному серозиті – клініко-рентгенологічні дані підтвердили непухлинний процес.

2.3. Цитологічні дослідження за ядерцеутворюючими регіонами хромосом

Проведені дослідження 17611 ядерць в 56000 ядер клітин мезотелію при непухлинному та неопластичному первинному ураженні серозних оболонок в цитологічних препаратах 56 хворих, з них – 5931 ядерць в 2100 ядер клітин мезотеліоми, 11680 ядерць в 3500 ядер реактивного мезотелію (див. табл. 2.2).

Цитологічні препарати фарбувались розчином срібла за загальноприйнятою методикою за W.M. Howell, D.A. Black [101] в модифікації Л.С. Болгової, Т.М. Туганової, І.С. Кузіної (2001) [1], з урахуванням рекомендацій щодо стабілізації розчину срібла за Z. Likovsky, K. Smetana [113]. За означеною модифікацією фарбувався архівний цитологічний матеріал, попередньо пофарбований за методом Паппенгейма.

Вивчення цитограм здійснювалось в імерсійній системі за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Olympus CX 41 при збільшеннях X200, X400, X1000. В кожному випадку проаналізовані ядерця в 100 ядрах реактивних та злякисних клітин. Основні морфофункціональні типи ядерць оцінювали згідно з класифікацією П.В. Челідзе і О.В. Зацепіної [54].

В кожному випадку була проаналізована кількість ядерць (n=100 ядер в полі зору) у реактивних та злякисних клітинах. Підраховували загальну кількість морфологічних типів ЯУР і відсотковий їх вміст: компактних, нуклеолонемних, кільцеподібних і мікроядерць.

2.4. Імуноцитохімічні дослідження

Проведені ІЦХ дослідження при непухлинному та неопластичному первинному і метастатичному ураженні серозних оболонок в цитологічних препаратах 104 хворих, з них:

- 34 хворих з аденокарциномою;
- 28 з мезотеліомою;
- 42 – з непухлинними хворобами серозних оболонок.

ІЦХ реакції проводили з використанням мНАТ (Dako, Данія):

- Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4;
- Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clon II-7;
- Monoclonal Mouse Anti- Human Epithelial MembraneAntigen Clone E29;
- Monoclonal Mouse Anti-Human Cytoceratin Cocteil Clone AE1+AE3;
- Monoclonal Mouse Anti-HumanCytoceratin 5/6 Clon D5/16 B4;
- Monoclonal Mouse Anti-Human Calretinin Clon DAK- Calret 1;
- Monoclonal Mouse Anti-Vimentin Clon V9.

Для ІЦХ дослідження були відібрані препарати, зафіксовані метиловим спиртом та пофарбовані за Паппенгейма, в яких визначалися клітини мезотелію з цитоморфологічними ознаками атипії та вираженої проліферації. Ділянки з цими клітинами позначалися гідрофобним олівцем.

Всі наступні маніпуляції проводили в окресленій зоні. Потім на цитологічний препарат наносили 0,1 % розчину трипсину у фосфатно-сольовий буфер (рН 7,4) на 5 сек для демаскування антигену. Послідовно промивали препарат у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу (по 2 хв. в кожній) та один раз—дистильованою водою.

Цитологічний препарат знебарвлювали у 5 % розчині оцтової кислоти протягом 15 хв.

Після промивання у 3-х змінах дистильованої води та один раз у фосфатно-сольовому буфері. Для блокування активності ендогенної пероксидази на цитологічний препарат наносили 1 % розчин перекису водню (H_2O_2) на фосфатно-сольовий буфер і залишали на 30 хв. Препарат промивали у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу, після чого наносили на нього перші мНАТ проти потрібного антигену.

Інкубацію з первинними мНАТ здійснювали протягом 1 год. при кімнатній температурі. Потім, після промивання у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу, наносили мічені пероксидазою другі антитіла проти глобулінів миші (Polyclonal Rabbit Anti-Mouse Immunoglobulins/HRP Code

No./Code/Code-Nr. P 0260), розведені фосфатно-сольовим буфером у співвідношенні 1:100 та з додаванням 1 % сироватки людини (групи АВ) для зменшення фонового забарвлення та інкубували 1 год. при кімнатній температурі. Промивали у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу та проявляли пероксидазну активність у розчині 3,3'діамінобензидинтетрагідрохлориду 15 хв. Після промивання препарату в дистильованій воді і висушування вивчали результат ІЦХ реакції.

При проведенні ІЦХ реакцій паралельно ставили як позитивний, так і негативний контроль. Позитивним контролем були цитологічні препарати з клітинами, які завідомо містили досліджуваний антиген. На цих цитологічних препаратах проводили аналогічну досліджуванім препаратам ІЦХ реакцію. Для негативного контролю виключали з імуноцитохімічної реакції нанесення перших мнАТ.

Оцінку наявності мічених клітин в препаратах проводили якісним способом незалежно від кількості мічених клітин: є мічені клітини – позитивна реакція, немає мічених клітин – негативна реакція.

Спочатку розглядаємо позитивний контроль. При виявленні цитоплазматичних антигенів цитоплазма клітин повинна бути забарвлена у брунатний колір. Далі аналізуємо 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 ІЦХ методу виражали у відсотках за формулою 2.1.

2.5. Статистичний аналіз отриманих результатів

Аналіз результатів цитологічного та імуноцитохімічного дослідження проводили згідно зі статистичним пакетом MedCalc v. 18.5 (MedCalc Software, Belgium, 1993–2018).

Для побудови таблиць і діаграм використовували прикладні програми Microsoft Excel.

Для представлення статистичних даних розраховували середнє значення показника (M) та його стандартну похибку (m). Для порівняння значень цитологічних показників у всіх хворих використовували t-критерій Стьюдента.

Для представлення даних розраховували медіанне значення показника (Me) та його міжквартильний інтервал (Q_I – Q_{III}). Для порівняння значень показників в двох групах хворих на мезотеліому та реактивний серозит використовували критерій W-Вілкоксона 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 (95 % VI). Оцінку діагностичних характеристик тестів визначали за їх чутливістю та специфічністю, проводили оцінку 95 % VI цих параметрів.

Критичний рівень значимості у всіх статистичних тестах при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ТРАДИЦІЙНОЇ ЦИТОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПЕРВИННИХ ТА ВТОРИННИХ УРАЖЕНЬ СЕРОЗНИХ ПОРОЖНИН

Цитологічна діагностика змін мезотеліальних клітин за матеріалами серозних рідин з грудної та черевної порожнин при різних пухлинних і непухлинних захворюваннях є першим методом морфологічної верифікації патологічного процесу, що обґрунтовує подальшу тактику обстеження і лікування пацієнта. Відомо, що мезотелій вельми лабільна структура, яка зазнає значних змін при різних патологічних процесах і станах в організмі людини. Особливо складно відрізнити від пухлинних клітин клітини мезотелію з вираженими ознаками проліферації та атипії.

Основні цитоморфологічні ознаки таких змін достатньо повно описані у вітчизняній та зарубіжній науковій літературі [6, 11, 12]. Проте, подібність клітинного субстрату цитограм в таких випадках обумовлює поглибленого вивчення аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. З метою уточнення диференційних цитологічних критеріїв вивчали цитоморфологічні характеристики мезотеліальних та пухлинних клітин у тонкогोलкових пунктатах серозних порожнин.

3.1. Цитоморфологічні ознаки клітин аденокарциноми

Цитограма ексудату при залозистому раку мали наступні цитоморфологічні характеристики. Фоновими компонентами були в різній кількості (від значної до поодиноких клітин) еритроцити, лейкоцити, частіше лімфоцити, некротичні маси, макрофаги, клітини мезотелію. Щодо останніх, їх кількість та розміри змінювались залежно від кількості клітин аденокарциноми. Нами була відмічена певна закономірність – чим більше клітин аденокарциноми в препаратах серозних рідин, тим менше – мезотеліальних. Клітини мезотелію набували виражених ознак проліферації

при наявності поодиноких клітин аденокарциноми. При значній кількості клітин аденокарциноми, які створювали цілі клітинні комплекси, мезотеліальні клітини містилися в невеликій кількості, здебільшого малого розміру, з дрібним ядром [31, 32].

В цитограмах клітини аденокарциноми розташовувались переважно в залозистоподібних групах ($46,5 \pm 1,8$) %, які мали чітко відмежований, гладкий, округлий зовнішній край та порізно ($44,6 \pm 1,7$) %. При вивченні цитограм залозистого раку ці ознаки відрізняли мезотеліальні клітини від епітеліальних. Клітини аденокарциноми різко поліморфні за розмірами – від дрібних ($8,9 \pm 0,5$) % до великих ($37,0 \pm 1,6$) %, здебільшого округлої ($78,4 \pm 1,1$) %, рідше неправильної ($11,2 \pm 1,1$) % форми (рис. 3.1) [23, 34].

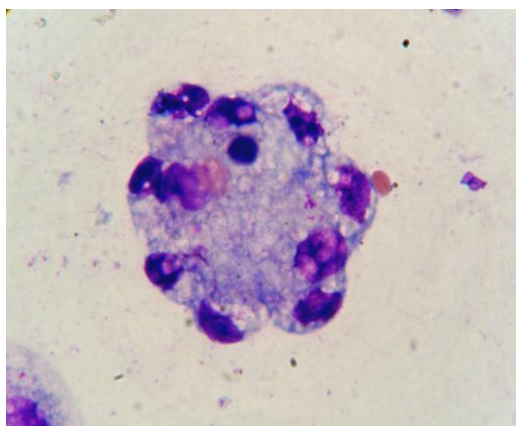


Рис. 3.1. Препарат метастазу раку шлунка в яєчник (пухлина Крукенберга). Асцитична рідина. Залозистоподібна група пухлинних клітин з дрібною вакуолізацією цитоплазми. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Найчастіше клітини аденокарциноми мали ексцентрично розташоване ($84,4 \pm 1,8$) % одне ядро ($74,6 \pm 1,2$) %. Ядра клітин аденокарциноми різних розмірів – великі ($56,4 \pm 1,7$) % і дрібні ($10,0 \pm 1,4$) %, як правило, округлої форми ($73,9 \pm 1,0$) %, з нерівним контуром ($74,0 \pm 1,2$) % та нерівномірним дрібнобрилистим маргінально розташованим хроматином ($81,9 \pm 1,8$) %; переважно містили декілька ядерць ($61,8 \pm 1,7$) % різних розмірів (від дрібних ($19,2 \pm 0,9$) % до великих – ($30,5 \pm 1,8$) % із нечітким контуром ($51,7 \pm 1,6$) % (рис 3.2) [23].

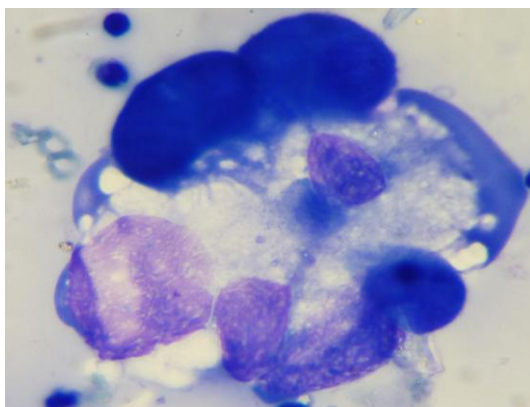


Рис. 3.2. Препарат аденокарциноми яєчника. Асцитична рідина. Залозистоподібна група пухлинних клітин з різко вираженими ознаками атипії, поєднанням світлої цитоплазми та гіперхромного ядра. Забарвлення за Паппенгеймом. X1000

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення у третині клітин зсунуте в бік ядра, цитоплазма у вигляді вузької облямівки ($30,0 \pm 1,5$) %, переважно забарвленої інтенсивно базифільно ($46,6 \pm 1,5$) %. Крім того, цитоплазма клітин аденокарциноми помірно розвинена ($52,0 \pm 1,7$) %, частіше збережена ($52,0 \pm 1,7$) %, із чітким контуром ($81,3 \pm 1,6$) %, помірно базифільна ($16,2 \pm 0,7$) %. Водночас у 38,2 % клітин вона чітко відтінялася від гіперхромного ядра (рис. 3.3) [23].

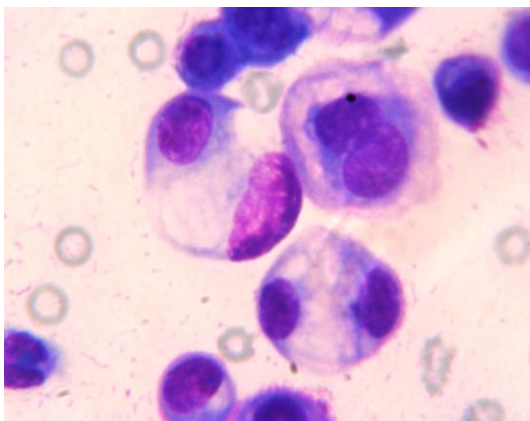


Рис. 3.3. Препарат аденокарциноми яєчника. Асцитична рідина. Пухлинні клітини при посиленій секретії виявляються у вигляді двоклітинного комплексу, в якому ядра розташовані ексцентрично і орієнтовані до його протилежних полюсів. Забарвлення за Паппенгеймом. X400

3.2. Цитоморфологічні ознаки клітин мезотеліоми

У групі хворих з мезотеліомою в кожного четвертого макроскопічно ексудат мав бурштиновий колір і часто драглеподібну консистенцію. При цьому в пофарбованих цитологічних препаратах фоном була оксифільна речовина ($24,0 \pm 1,9$) %. Оскільки мезотеліальні клітини в нормі секретують протеоглікани та глікозаміноглікани (в основному гіалуронат), що забезпечує утворення неадгезивної поверхні для вільного ковзання органів. При мезотеліомі кількість гіалуронату збільшується [136, 137]. Крім оксифільного фону в рідині при мезотеліомі у різній кількості можуть бути еритроцити (рис. 3.4).

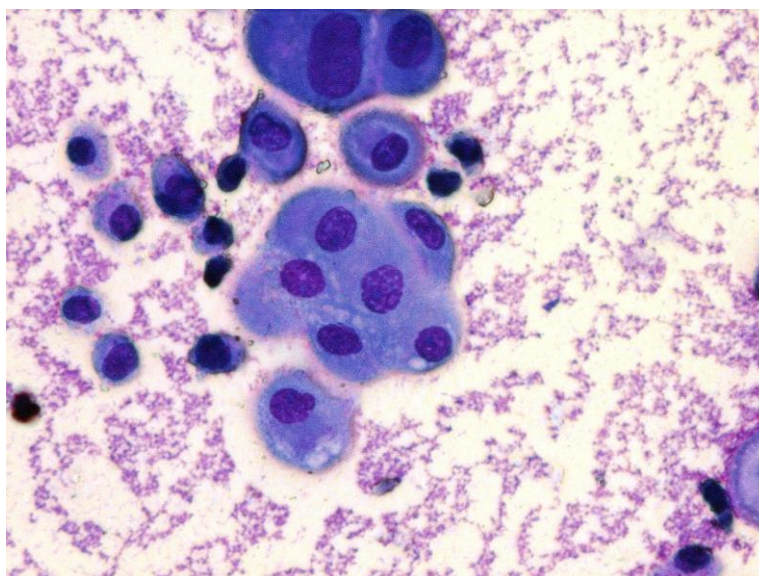


Рис. 3.4. Препарат мезотеліоми. Асцитична рідина. Фоном препарату є оксифільні гомогенізовані маси. Зabarвлення за Паппенгеймом. X200

Для мезотеліоми властиве розташування клітин у вигляді скупчень ($40,9 \pm 1,4$) %, які складаються зі щільно притиснутих одна до одної напівмісячної форми клітин, що оточують округлу центральну клітину. Крім того, пухлинні клітини формують своєрідний просвіт – вузький, щілиноподібний простір між двома сусідніми, так зване «міжклітинне вікно» (рис. 3.5) [12].

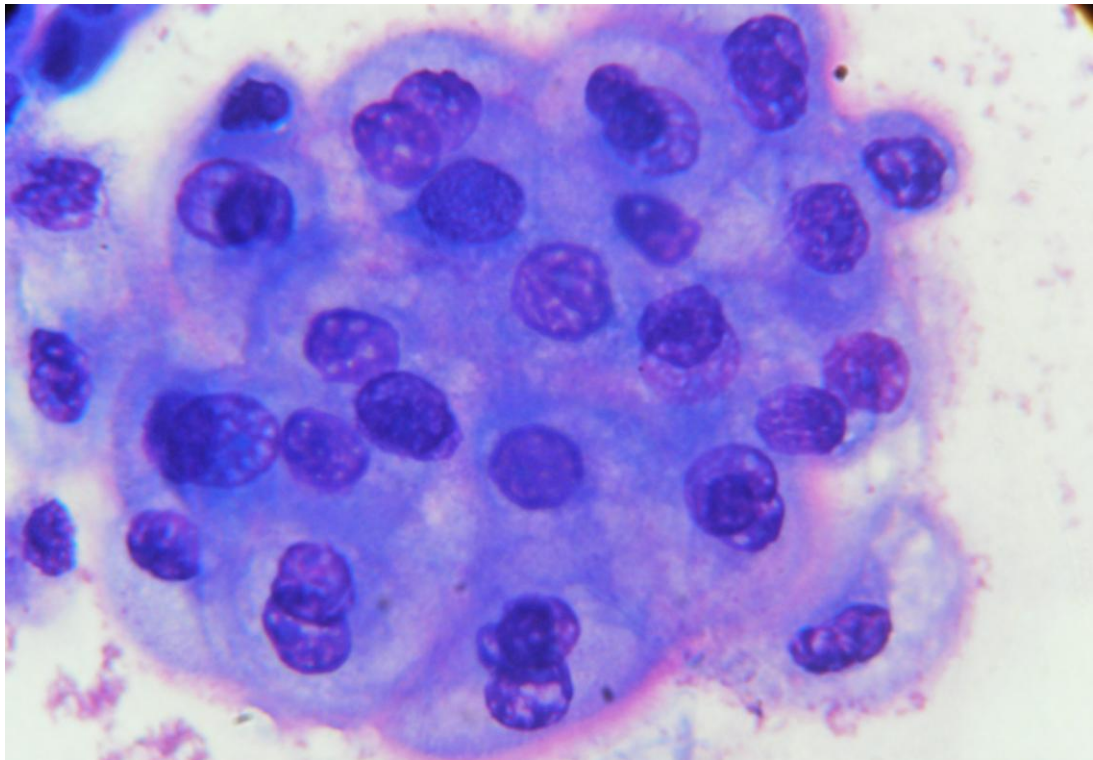


Рис. 3.5. Препарат мезотеліоми. Плевральна рідина. Розташування пухлинних клітин у вигляді структур, які складаються зі щільно прилеглих одна до іншої напівмісячних клітин, що оточують округлу центральну клітину. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Пухлинні клітини мали розміри переважно 24–39 мкм ($60,7 \pm 0,9$) % та округлу ($65,3 \pm 1,6$) % форму. Клітини мезотеліоми частіше містили одне ядро ($76,9 \pm 0,8$) %, ексцентрично ($54,8 \pm 1,3$) % розташоване, переважно середнього ($62,5 \pm 0,7$) % розміру і округлої ($64,2 \pm 1,3$) % форми, з нерівним контуром ($72,5 \pm 1,2$) %, нормохромне ($48,9 \pm 1,5$) %, з нерівномірним дрібнобрилистим хроматином ($73,7 \pm 1,4$) %. Ядра клітин мезотеліоми містили частіше багато ($63,2 \pm 1,2$) % ядерць, середнього ($52,8 \pm 1,1$) % та великого ($31,4 \pm 1,1$) % розмірів, з чіткими контурами ($64,1 \pm 1,2$) % (рис. 3.6) [23].

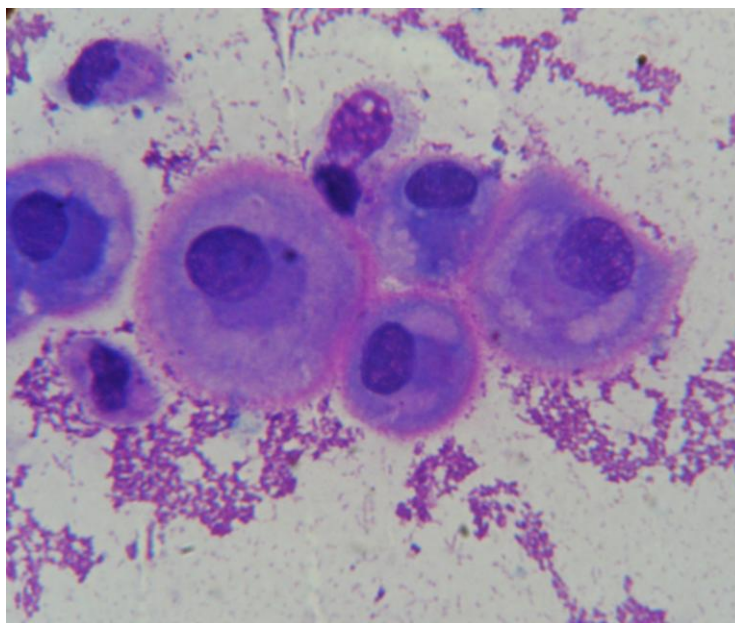


Рис. 3.6. Препарат мезотеліоми. Плевральна рідина. Пухлинні клітини з базофільною «двох відтінковою» цитоплазмою. Навколо ядра виявляється слабобазофільна цитоплазма (так зване гало), а периферична її частина ущільнена, більш інтенсивно забарвлена порівняно з центральною. Відзначається наявність мікрворсинок на поверхні клітин, що надає їй «мереживного» вигляду. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Цитоплазма пухлинних клітин розвинена помірно ($62,9 \pm 0,9$) %, переважно збережена ($60,2 \pm 1,3$) %, із зубчастим, горбистим, «мереживним» краєм, помірно базофільна ($61,6 \pm 1,4$) %. Вакуолізація цитоплазми змішана, в центральній частині – дрібні вакуолі, а по периферії – великі ($64,9 \pm 1,4$) % (див. рис. 3.6).

3.3. Цитоморфологічні ознаки клітин мезотелію з реактивними змінами

При проліферативних процесах мезотелію в цитологічних препаратах переважали клітини мезотелію, які розташовувались окремо ($56,8 \pm 1,5$) % та групами ($26,6 \pm 1,2$) %, у вигляді однорядних і багаторядних структур, іноді «розеток», в центрі яких іноді містилися оксифільна, гомогенна субстанція.

Клітини мезотелію були поліморфні за формою та розмірами, від незрілих і темних форм до дистрофічних і світлих форм, мали середні ($51,7 \pm 1,3$) % та дрібні ($41,8 \pm 1,6$) % розміри, округлу ($76,2 \pm 0,7$) %, рідше – овальну ($22,6 \pm 0,6$) % форму. Відмічались дистрофічні зміни клітин мезотелію до голоядерних структур, які утворювали скупчення, підозрілі на злоякісну пухлину переважно епітеліального генезу ($14,2 \pm 0,8$) % (рис. 3.7).

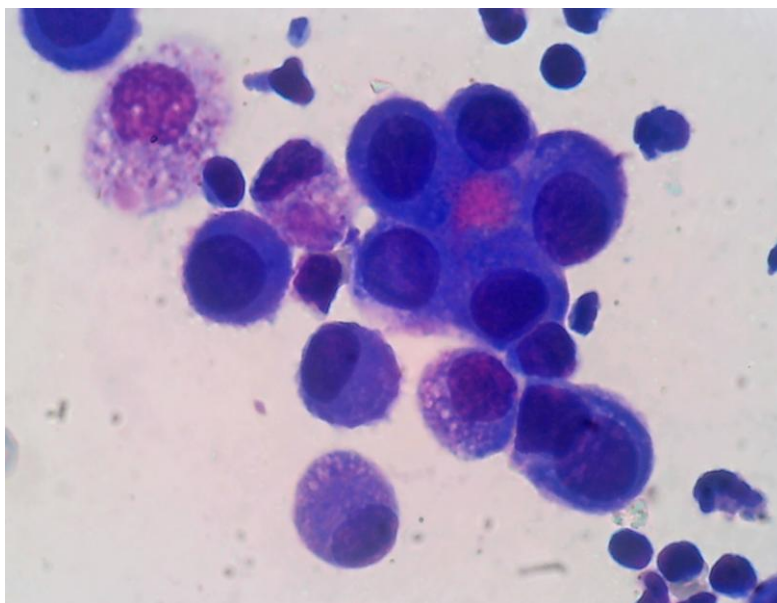


Рис. 3.7. Препарат реактивного серозиту. Плевральна рідина. Клітини мезотелію можуть розташовуватися у вигляді «розеток», у центрі яких іноді міститься оксифільна, гомогенна субстанція. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Мезотеліальні клітини частіше містили одно ($76,0 \pm 0,8$) % ядро, центрально ($54,1 \pm 1,4$) % і ексцентрично ($46,9 \pm 1,4$) % розташоване, середнього ($54,8 \pm 1,5$) % і дрібного ($39,0 \pm 1,6$) % розміру, округлої ($78,3 \pm 1,0$) % і овальної ($22,7 \pm 0,9$) % форми, з рівним контуром ($85,3 \pm 0,5$) %, нормохромне ($63,1 \pm 1,6$) %, з рівномірним зернистим хроматином ($85,5 \pm 0,6$) %. Ядра клітин реактивного мезотелію інколи містили ядерця переважно дрібного ($62,7 \pm 1,6$) % та середнього ($33,3 \pm 1,2$) % розмірів, з нечіткими контурами ($58,9 \pm 1,8$) % ядерця (рис. 3.8) [23].

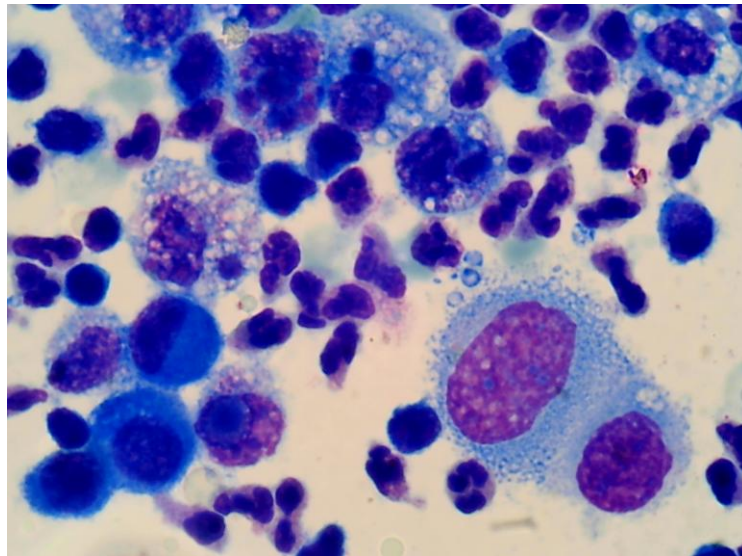


Рис. 3.8. Препарат реактивного серозиту. Асцитична рідина. На фоні підвищеної кількості лейкоцитів клітини мезотелія з ознаками проліферації. Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

Цитоплазма клітин мезотелію помірно ($70,3 \pm 0,9$) % розвинена, переважно збережена ($65,1 \pm 1,4$) %, з чітким контуром ($71,6 \pm 1,3$) %, помірно базофільна ($58,5 \pm 1,5$) %. Водночас незрілі клітини мезотелію мали вузьку облямівку ($19,5 \pm 0,8$) % інтенсивно базофільної ($17,2 \pm 0,8$) % цитоплазми. Часто в мезотеліальних клітинах визначалась дрібно ($49,6 \pm 1,9$) % та крупновакуолізована ($12,8 \pm 1,3$) % цитоплазма (рис. 3.8).

При запальних процесах у мазках ексудатів були присутні в різних співвідношеннях сегментоядерні лейкоцити, гістіоцитарні і макрофагальні клітини, еритроцити, лімфоцити, еозинофіли. Іноді ексудат містив невелику кількість клітин мезотелію, а на тлі гістіоцитів, макрофагів переважали лімфоцити чи еозинофіли, що припускає наявність специфічного запалення (туберкульоз, алергія). За розмірами та вакуолізацією цитоплазми гістіоцитарні клітини в ексудативних рідинах частіше були подібні до клітин мезотелію, але ядра гістіоцитів одне або кілька в одній клітині, брунькоподібні, меншого розміру, ніж у мезотеліальних клітинах, з дрібнозернистим хроматином, а інколи ядерцями (рис. 3.9) [27].

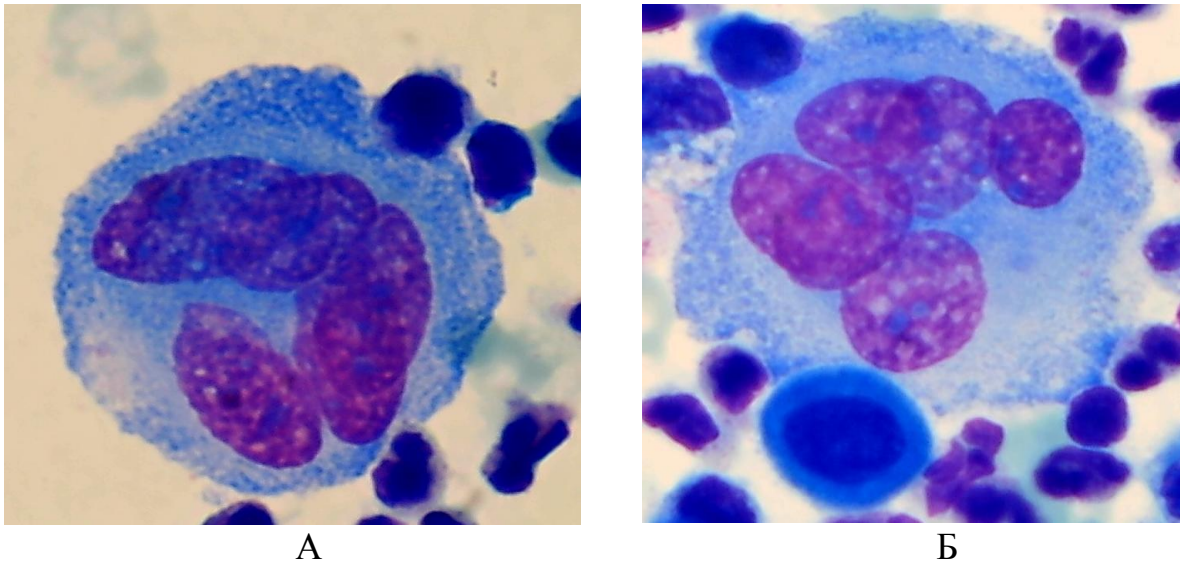


Рис. 3.9. Препарат реактивного серозиту. Плевральна рідина. В багатоядерних гістіоцитарних клітинах, що містять ядра різного розміру та форми, розташовані центрально або у вигляді кільця. Забарвлення за Паппенгеймом. X1000

3.4. Диференційна цитологічна діагностика уражень серозних порожнин за даними традиційної мікроскопії

При традиційній мікроскопії цитологічних препаратів ексудатів в рутинній роботі морфолога виникає необхідність диференційної діагностики частіше аденокарциноми та реактивного серозиту, рідше аденокарциноми та мезотеліоми і інколи мезотеліоми та реактивного серозиту. Отже, можна виділити три диференційно-діагностичні групи, які схематично представлені на рисунку 3.10.

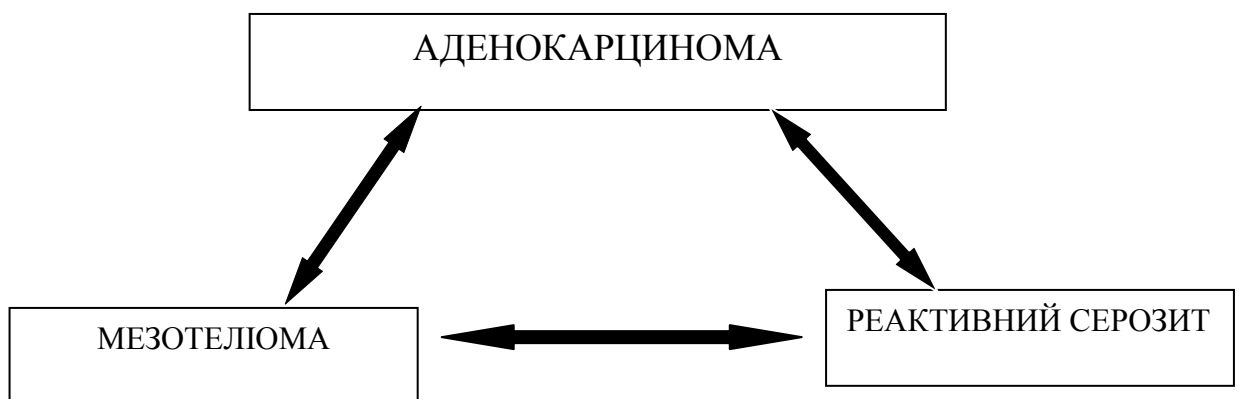


Рис. 3.10. Диференційно-діагностичні групи при традиційній мікроскопії

Цитоморфологічні ознаки аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту в кожній з трьох груп, проаналізовані за «Схемою цитологічних ознак для формалізованої оцінки якісного та кількісного складу клітин», подано в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Цитологічні ознаки кількісної оцінки якісного та кількісного складу клітин аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію

Цитологічна ознака в цитологічному препараті	Клітини, %			p	
	аденокарцинома (n=34)	мезотеліома (n=28)	реактивний мезотелій (n=42)		
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	
Оксифільна субстанція: слиз	3,0 ± 1,5	24,0 ± 1,9		<0,05	
Розташування клітин: порізно	44,6 ± 1,7	28,8 ± 1,4	56,8 ± 1,5		
в групах	46,5 ± 1,8	28,2 ± 1,2	26,6 ± 1,2		
в скупченнях	10,9 ± 0,9	40,9 ± 1,4	18,9 ± 1,0		
в пластах		4,1 ± 0,5	0,8 ± 0,1		
Розмір клітин: дрібні (8–23 мкм)	8,9 ± 0,5	23,7 ± 1,1	41,8 ± 1,6		
середні (24–39 мкм)	55,1 ± 1,6	60,7 ± 0,9	51,7 ± 1,3		
великі (40 мкм і більше)	37,0 ± 1,6	17,6 ± 0,8	8,5 ± 0,5		
Форма клітин: округла	78,4 ± 1,1	65,3 ± 1,6	76,2 ± 0,7		
овальна	11,4 ± 0,6	23,6 ± 0,6	22,0 ± 0,6		
витягнута	11,2 ± 1,1	12,7 ± 0,7	2,8 ± 0,1		
Цитоплазма					
Розмір: вужька облямівка (+)	30,0 ± 1,5	26,1 ± 1,1	19,5 ± 0,8		<0,05
помірно розвинена (++)	52,0 ± 1,7	62,9 ± 0,9	70,3 ± 0,9		
значно розвинена (+++)	18,0 ± 1,7	12,0 ± 0,6	11,2 ± 0,5		
Тинкторіальні властивості: слабобазофільна (+)	38,2 ± 1,5	11,2 ± 0,6	25,3 ± 1,7		
помірнобазофільна (++)	16,2 ± 0,7	61,6 ± 1,4	58,5 ± 1,5		
інтенсивнобазофільна (+++)	46,6 ± 1,5	28,2 ± 1,2	17,2 ± 0,8		

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5
Ядро				<0,05
Розташування ядра в клітині:				
центрально	16,6 ± 0,6	46,2 ± 1,4	54,1 ± 1,4	
ексцентрично	84,4 ± 1,8	54,8 ± 1,3	46,9 ± 1,4	
Кількість:				
одно	74,6 ± 1,2	76,9 ± 0,8	76,0 ± 0,8	
два	16,9 ± 0,4	19,6 ± 0,6	14,1 ± 0,6	
>2	10,5 ± 0,7	5,5 ± 0,3	10,9 ± 1,7	
Розмір:				
дрібні (8–15 мкм)	10,0 ± 1,4	20,0 ± 0,8	39,0 ± 1,6	
середні (16–23 мкм)	34,6 ± 1,7	62,5 ± 0,7	54,8 ± 1,5	
великі (24 мкм і більше)	56,4 ± 1,7	18,5 ± 1,1	7,2 ± 0,3	
Форма:				<0,05
округла	73,9 ± 1,0	64,2 ± 1,3	78,3 ± 1,0	
овальна	12,3 ± 0,4	25,7 ± 1,0	22,7 ± 0,9	
полігональна	15,8 ± 0,9	11,1 ± 0,4		
Контур:				
рівний	26,0 ± 1,9	28,5 ± 1,2	85,3 ± 0,5	
нерівний	74,0 ± 1,2	72,5 ± 1,2	15,7 ± 0,4	
Тинкторіальні властивості:				
нормохромні (+)	33,2 ± 1,8	48,9 ± 1,5	63,1 ± 1,6	
гіпохромні (++)	14,0 ± 1,0	12,0 ± 0,6	25,1 ± 1,4	
гіперхромні (+++)	53,8 ± 1,6	40,1 ± 1,7	12,8 ± 1,9	
Структура хроматину:				
рівномірна (+)	19,1 ± 1,9	27,3 ± 1,2	85,5 ± 0,6	
нерівномірна (++)	81,9 ± 1,8	73,7 ± 1,4	15,5 ± 0,5	
Ядерце				
Кількість:				
одно	20,3 ± 0,8	16,0 ± 0,8	74,2 ± 1,7	
два	61,8 ± 1,7	21,8 ± 0,9	14,4 ± 1,2	
> 2	19,9 ± 1,3	63,2 ± 1,2	12,4 ± 0,6	
Розмір:				
дрібні	19,2 ± 0,9	17,8 ± 0,8	62,7 ± 1,6	
середні	51,3 ± 1,7	52,8 ± 1,1	33,3 ± 1,2	
великі	30,5 ± 1,8	31,4 ± 1,1	5,0 ± 1,0	
Контур:				
чіткий	49,3 ± 1,5	64,1 ± 1,2	42,1 ± 1,7	
нечіткий	51,7 ± 1,6	36,9 ± 1,2	58,9 ± 1,8	

Як видно з даних, наведених в таблиці 3.1, пухлинні епітеліальні клітини частіше розташовувалися групами ($46,5 \pm 1,8$) %, а реактивні мезотеліальні клітини – порізно ($56,8 \pm 1,5$) % (див. табл. 3.1). Цитоплазма клітин аденокарциноми була переважно інтенсивно базофільна ($46,6 \pm 1,5$) %, а реактивного мезотелію помірно базофільна ($58,5 \pm 1,5$) % $p < 0,05$ (див. табл. 3.1) [23, 35].

При реактивних серозитах клітини мезотелію одночасно мали гіперхромне ядро та інтенсивно базофільну цитоплазму (див. рис. 3.7). У випадку метастатичного серозиту, навпаки, містили гіперхромне ядро та мали світлу, вакуолізовану цитоплазму (див. рис. 3.2) [46].

Для ядер клітин аденокарциноми найбільш характерні наступні ознаки: великі розміри ($56,4 \pm 1,7$) %, полігональна форма ($15,8 \pm 0,9$) %, нерівний контур ($74,0 \pm 1,2$) %, гіперхромія ($53,8 \pm 1,6$) %, нерівномірний розподіл хроматину ($81,9 \pm 1,8$) %, вміст великих ядерць ($30,5 \pm 1,8$) %. Тоді як ядра проліферуючого мезотелію в частині спостережень були гіперхромні ($12,8 \pm 1,9$) %, але з рівномірною структурою хроматину ($85,5 \pm 0,6$) %, в деяких випадках з ледь помітними дрібними ядерцями ($62,7 \pm 1,6$) % $p < 0,05$ (див. табл. 3.1) [23, 51].

При цитологічній діагностиці аденокарциноми та мезотеліоми сумнівів щодо характеру процесу, як правило, не виникали, оскільки ознаки атипії виражені досить добре. Але при метастатичному ураженні серозних оболонок аденокарциномою диференціальна цитологічна діагностика з мезотеліомою в ряді випадків була складною. Це пов'язано з тим, що на пізніх стадіях поширення раку по серозних оболонках в ексудаті визначаються переважно елементи аденокарциноми, а клітини мезотелію можуть бути в незначній кількості або відсутні. При цьому клітини мезотелію невеликих розмірів, розташовані поодинокі, з помірно розвиненою, переважно помірно базофільною цитоплазмою та нормохромними ядрами [52, 53].

При кількісній оцінці клітин аденокарциноми та мезотеліоми виявлені найбільш характерні клітинні ознаки. Пухлинні епітеліальні клітини переважно розташовувалися в групах ($46,5 \pm 1,8$) %, а пухлинні мезотеліальні клітини – в скупченнях ($40,9 \pm 1,4$) %. Клітини аденокарциноми були великого розміру ($37,0 \pm 1,6$) % частіше, ніж мезотеліоми ($17,6 \pm 0,6$) %. Цитоплазма клітин аденокарциноми виявлялася досить різного забарвлення від – слабобазофільною ($38,2 \pm 1,5$) % до інтенсивно базофільного ($46,6 \pm 1,5$) %, тоді як, цитоплазма клітин мезотеліоми переважно – помірно базофільна ($61,6 \pm 1,4$) % (див. табл. 3.1), яка іноді утворювала мікрворсинки. Деякі автори краї такої цитоплазми описують як «вуса», «бакенбарди», «щіточка», що має «мереживний» вигляд або «фенестрації» (див. рис. 3.6) [55].

Наявність в серозних рідинах однорідних залозистоподібних груп і розвинених папілярних структур, що містили переважно мономорфні атипові вакуолізовані клітини середнього розміру, зі збільшеним ядерно-цитоплазматичних співвідношень до 1:2 спостерігалася при мезотеліомі і аденокарциномі (рис. 3.3, 3.5). Однак слід зауважити, двокомпонентні або не мезотеліальні клітинні популяції у вигляді чітко відмежованих залозистих груп з чітким округлим загальним зовнішнім краєм виявлялися при аденокарциномі. Водночас клітинні пухлинні структури 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 ззовні від ущільненої базофільної частини цитоплазми, а також внутрішньоцитоплазматичні грудочки гомогенної безструктурної оксифільної речовини, що, за даними літератури, відповідає наявності гіалуронової кислоти (див. рис. 3.2, 3.5) [7, 55].

Характерною цитологічною особливістю аденокарциноми при посиленій секреції було виявлення двоклітинних комплексів, у яких ядра розташовані ексцентрично і орієнтовані до його протилежних полюсів,

а в центрі такого комплексу є великі вакуолі, що зливаються. Разом з тим, при мезотеліомі відзначалася менш виражена вакуолізація клітин, виявлялися 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 дрібної вакуолізації (мікровакуолізації), а в периферичній – збільшувалася кількість і розмір вакуолей (макровакуолізація).

Злоякісні залозисті клітини містили поліморфні, гіперхромні ядра, часто з нерівним горбистим контуром. При цьому структура ядерного хроматину грубозерниста або дрібнобрилиста, розріджена з нерівномірними просвітленнями, в ядрах спостерігаються гіпертрофовані ядерця. Ядра клітин мезотеліоми відносно аденокарциноми мономорфні, але також мали нерівномірний розподіл хроматину, нерівний контур ядерної мембрани та дрібні і середні, чіткі ядерця.

В тих випадках, коли цитограма була представлена значною кількістю мезотеліальних клітин з ознаками вираженої проліферації та інколи деякої атипії, то диференційну діагностику проводили між реактивними змінами клітин мезотелію та мезотеліоми.

Слід зазначити, що через велику кількість гіалуронової кислоти зовнішній вигляд випоту при мезотеліомі часто мав характерний бурштиновий колір і тягучу консистенцію, подібну до «меду». При цьому в цитологічних препаратах ексудатів визначалася в якості фонового компонента оксифільна субстанція, яка часто кристалізувалася. Зовнішній вигляд ексудату при реактивних змінах клітин мезотелію мав колір від світло-жовтого до насичено 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 складали фон цитологічного препарату.

При мезотеліомі пухлинні клітини розташовувалися у вигляді щільно притиснутих одна до одної напівмісячних структур. Крім того, вони формували своєрідний просвіт – вузький щілиноподібний простір між двома сусідніми клітинами, так зване «міжклітинне вікно». Тоді як в реактивних ексудатах клітини мезотелію переважно розміщувалися порізно чи у вигляді одношарових груп, пластів. На це вказують дані кількісної оцінки клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію. Для мезотеліоми більш характерне розташування клітин у вигляді скупчень ($40,9 \pm 1,4$) %, а для клітин реактивного мезотелію – порізно ($56,8 \pm 1,5$) %. Дрібних клітин мезотеліоми було майже половину менше ($23,7 \pm 1,1$) %, ніж таких за розмірами мезотеліальних клітин в реактивному серозиті ($41,8 \pm 1,6$) %, а великих навпаки – більше, $17,6 \pm 0,8$ % при мезотеліомі і $8,5 \pm 0,5$ % при реактивному серозиті, $p < 0,05$ (табл. 3.1).

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення малігнізованих мезотеліальних елементів збільшується до 1:2 порівняно з клітинами проліферуючого мезотелію, де воно становило 1:3 – 1:4. Цитоплазма клітин мезотеліоми була різного об'єму, щільності і нерівномірного забарвлення. Найбільш характерна ознака клітин мезотеліоми – це перевага в наявності клітин з базофільною ($28,2 \pm 1,2$) % «двовідтінковою» цитоплазмою (табл. 3.1). При цьому навколо ядра виявлялася слабобазофільна цитоплазма (так зване гало), а периферична її частина ущільнена, більш інтенсивно забарвлена порівняно з центральною. Крім того, в клітинах мезотеліоми також відзначалися ознаки секреції. При цьому в центральній частині клітини виявлялася дрібна вакуолізація (мікровакуолізація), а в периферичній – біля ущільненої базофільної облямівки, збільшується кількість і розмір вакуолей (макровакуолізація). Тоді як цитоплазма клітин реактивного мезотелію рівномірно базофільна – від світлих ($25,3 \pm 1,7$) % відтінків до інтенсивних ($17,2 \pm 0,8$) %. Може мати дрібні вакуолі, які рівномірно розташовувалися. Рідко спостерігаються крупні вакуолі, які відтискують ядро до периферії і клітина має вигляд каблучки (див. табл. 3.1) [23].

Ядра клітин як мезотеліоми, так і реактивного мезотелію переважно мономорфні, однакового розміру та форми. Ядра клітин мезотеліоми переважали з нерівними контурами ядерної мембрани ($72,5 \pm 1,2$) %, гіперхромні ($40,1 \pm 1,7$) %, з нерівномірним розподілом хроматину ($73,7 \pm 1,4$) %. Для реактивного серозиту були більш характерні ядра мезотеліальних клітин з рівними контурами ($85,3 \pm 0,5$) %, нормохромні ($63,1 \pm 1,6$) % і рівномірним розподілом хроматину ($85,5 \pm 0,6$) %. Пухлинні клітини мезотеліоми містили ядерця в багатьох ядрах, які відрізнялися за розміром та контуром.

Ядерця в ядрі клітин реактивного мезотелію частіше відсутні або поодинокі, дрібного розміру ($62,7 \pm 1,6$) % та з нечітким контуром ($58,9 \pm 1,8$) %, а при мезотеліомі ядерця пухлинних клітин переважно середнього розміру ($52,8 \pm 1,1$) %, з чіткими контурами ($64,1 \pm 1,2$) % $p < 0,05$ (див. табл. 3.1).

При мезотеліомі та реактивних серозитах відзначалися дво- і багатоядерні клітини. При цьому ядра в клітинах мезотеліоми були різної форми та розмірів, тоді як у клітинах реактивного мезотелію ядра однакової форми та розмірів і розташовувалися центрально або у вигляді кільця. Також при мезотеліомі спостерігали феномен «клітина в клітині», коли більш дрібні клітинні елементи захоплюються більшими.

Таким чином, застосовуючи метод кількісного цитологічного дослідження, виявлено низку особливостей, характерних для аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. Проте, лише використання традиційного цитологічного методу не завжди достатньо. В тих випадках, коли клітини мезотелію з ознаками проліферації та нерізко вираженої атипії схожі з первинними чи метастатичними пухлинними клітинами, виникає необхідність в застосуванні додаткових методів, а саме ПЦХ та підрахунку морфофункціональних типів ЯУР хромосом.

Результати даного розділу викладені в публікаціях:

- 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.
- Опухоли яичника: цитологическая диагностика выпота в брюшной полости при цистаденофибrome / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // Лаб. диагностика. – 2013. – № 2 (64). – С. 44–47.
- 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.
- 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.
- Мариненко С. В. Цитоморфологические признаки псевдомиксомы / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук // Онкология. – 2018. – Т. 20, № 1 (75). – С. 45–47.
- 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.
- 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. онкологія. – 2015. – № 1 (17). – С. 93.

– Можливості цитологічної діагностики пограничних пухлин яєчника за асцитичної рідини / 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.

– 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.

– 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.

– 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.

– 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.

– 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.

РОЗДІЛ 4
ЦИТОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА
АДЕНОКАРЦИНОМИ, МЕЗОТЕЛІОМИ
ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ НА ОСНОВІ
ІМУНОЦИТОХІМІЇ

Клітини аденокарциноми та мезотеліоми, що не мають виражених ознак атипії, складно верифікувати в присутності клітин реактивного мезотелію, застосовуючи традиційні методи фарбування цитологічних препаратів. Визначення експресії пухлино-асоційованих або лінійноспецифічних антигенів на поверхні клітин може надати додаткову інформацію щодо їх природи та гістогенезу. На сьогодні наразі розроблені панелі мНАТ для визначення характеру процесу випітних рідин і органоналежності метастатичних пухлинних клітин [4, 9, 15, 63, 74]. При цьому, як правило, проводяться ІЦХ реакції на препаратах, виготовлених з КБ. З метою підвищення ефективності диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту нами розроблено методичний підхід для менш затратного і доступного у виконанні дослідження. Для цього використовувався традиційний цитологічний метод з пофарбованими і попередньо вивченими цитологічними препаратами з наступним проведенням ІЦХ реакцій для визначення генезу клітин. Результати визначення експресії деяких антигенів (Ber-EP4, PEA, EMA, панцитокератин, СК 5/6, калретинін, віментин) представлені в таблиці 4.1.

Експресія антигенів на клітинах серозних ексудатів

Клітини серозних ексудатів	Експресія антигенів						
	Вср-EP4	PEA	EMA	панцитокератин	СК5/6	калретинін	віментин
Аденокарцинома	30/34 88 %	18/34 52 %	22/34 65 %	31/34 91 %	3/34 8 %	4/34 12 %	4/34 12 %
Мезотеліома	3/28 11 %	3/28 11 %	5/28 18 %	23/28 82 %	14/28 50 %	25/28 89 %	17/28 60 %
Реактивний мезотелій	2/42 5 %	1/42 2 %	3/42 7 %	8/42 19 %	3/42 7 %	16/42 38 %	21/42 50 %

Примітка. У чисельнику – позитивна реакція, у знаменнику – загальна кількість хворих, матеріал від яких був досліджений.

Як видно з даних, наведених у таблиці, в клітинах аденокарциноми були виявлені наступні антигени: Вср-EP4 в 88 %, PEA – 52 %, EMA – 65 %, панцитокератин – 91 %. Тоді як, в клітинах мезотеліоми навпаки панцитокератин в 82 %, СК 5/6 – 50 %, калретинін – 89 %, віментин – 60 %. Клітини реактивного мезотелію містили переважно віментин (50 %).

Отже, нами були окревлено три диференційно-діагностичні групи хворих:

- у хворих першої групи (n=35, 34 %) проводили диференційну діагностику між аденокарциномою з нерізко вираженими ознаками атипії та реактивними змінами мезотелію з вираженими ознаками проліферації;
- у пацієнтів другої групи (n=39, 38 %) необхідно було визначити характер процесу, а саме мезотеліома чи реактивний серозит;
- у хворих третьої групи (n=30, 28 %) при традиційній цитологічній діагностиці визначення злякисного процесу не викликало діагностичних перешкод, оскільки всі клітини в цитологічних препаратах мали явні ознаки атипії, але необхідно було провести ІЦХ дослідження для встановлення належності пухлини до мезотеліоми або аденокарциноми.

У всіх пацієнтів з метою диференційної діагностики застосували ІЦХ дослідження.

У 15 (43 %) пацієнтів першої групи на основі клінічних та рентгенологічних даних було встановлено реактивний серозит. При цьому в клітинах реактивного мезотелію виявляли віментин у 7/15 (46 %) і калретинін – 6/15 (40 %). У цій групі хворих при проведенні ІЦХ реакції досліджувані клітини не містили епітеліальних антигенів [24, 25].

У 20 (57 %) пацієнтів першої групи гістологічно верифікована аденокарцинома різної локалізації, при цьому в підозрілих клітинах були виявлені: Her-EP4 – 17/20 (85 %), ЕМА – 13/20 (65 %) і РЕА – 11/20 (55 %), що свідчило про епітеліальне походження цих клітин (рис. 4.1) [26, 42].

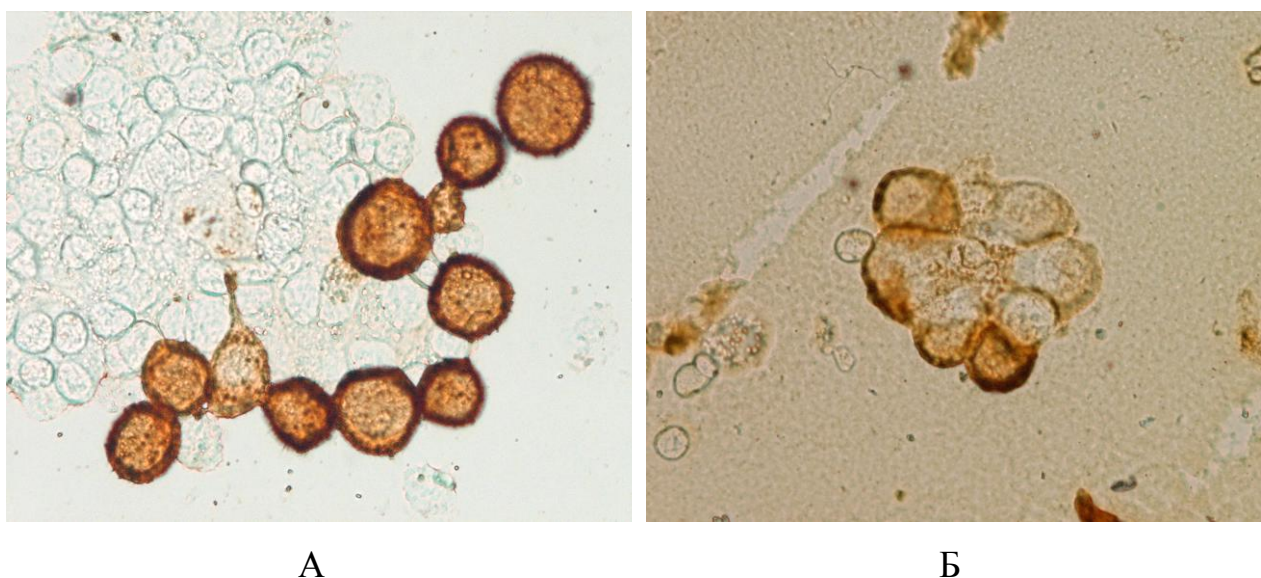


Рис. 4.1. Експресія РЕА на клітинах аденокарциноми. ІЦХ. Х400:
А – шлунка; Б – яєчника.

В результаті гістологічного дослідження у 17 (52 %) пацієнтів другої групи була встановлена мезотеліома, а у 27 (48 %) хворих на основі клініко-рентгенологічних даних – реактивний серозит. При цьому у цих хворих клітини мезотеліоми містили панцитокератин – 14/17 (82 %), калретинін – 15/17 (88 %), віментин – 10/17 (59 %), СК 5/6 – 8/17 (47 %), тоді як

епітеліальні антигени майже не виявлялися (рис. 4.2А). Так, ЕМА був у 3/17 (18 %) пацієнтів, РЕА – у 2 (12 %) з них. У хворих з реактивним серозитом в клітинах реактивного мезотелію визначалися: віментин в 50 % та калретинін в 44 %, тоді як панцитокератин лише в 19 %, Вег-ЕР4 6 %, ЕМА 6 %, СК 5/6 6 %, а РЕА був відсутній (рис. 4.2Б) [56, 57].

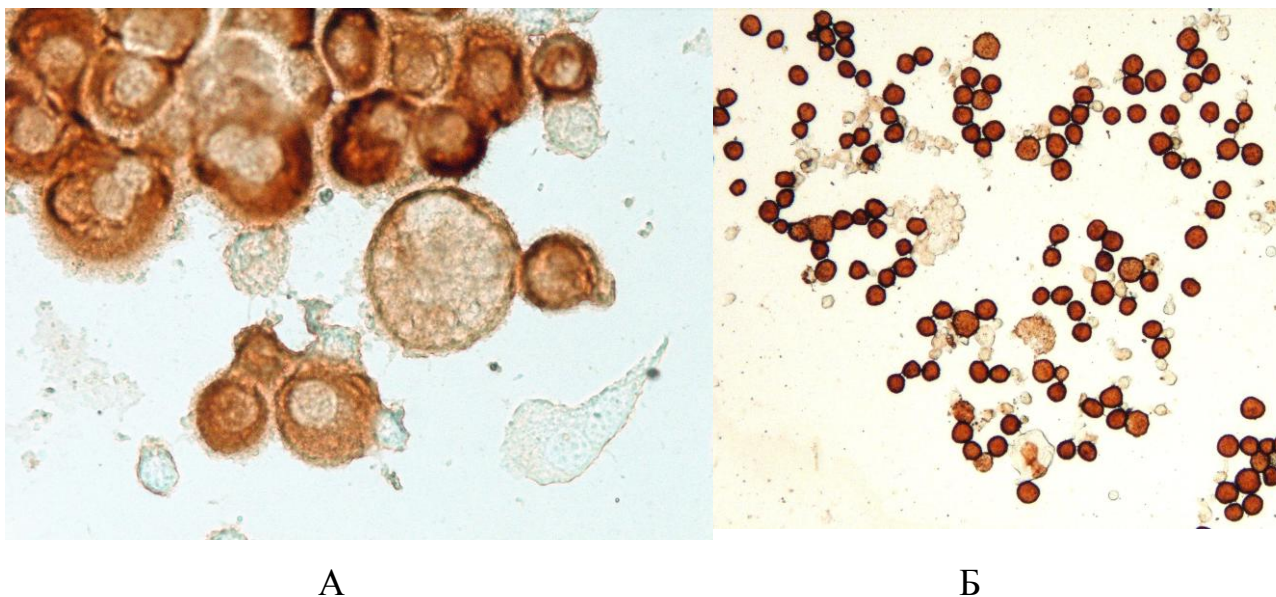


Рис. 4.2. Експресія антигенів. ІЦХ:

А – калретинін на клітинах мезотеліоми. Х400;

Б – віментин на клітинах реактивного мезотелію. Х200

У хворих третьої групи гістологічно встановлено в 14 (56 %) пацієнтів аденокарциному, а у 11 (44 %) – мезотеліому. У клітинах аденокарциноми при імуноцитохімічному дослідженні виявлені наступні антигени: панцитокератин – 13/14 (93 %), Вег-ЕР4 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 % (рис. 4.3) [25, 56, 57].

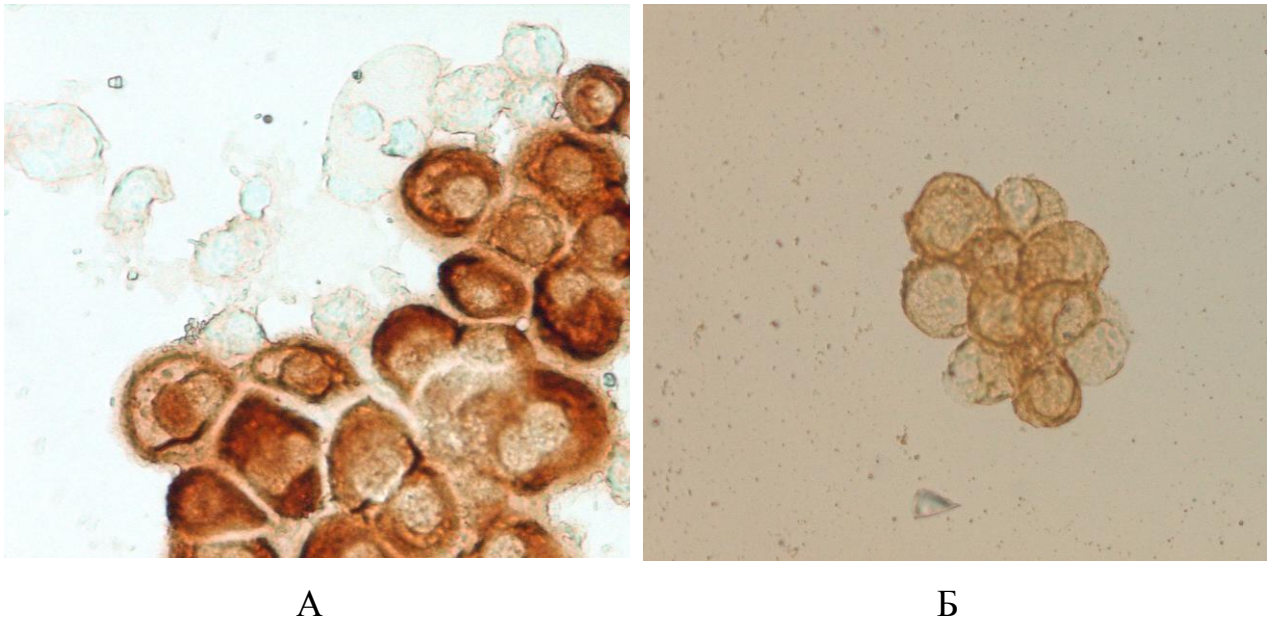


Рис. 4.3. Експресія антигенів. ІЦХ:

А – панцитокератин на клітинах мезотеліоми. Х400;

Б – ЕМА на клітинах аденокарциноми. Х200

Проводили порівняння діагностичної ефективності цитологічного та ІЦХ методів діагностики в кожній з трьох груп з урахуванням цитологічних 56 показників, представлених в розділі 3 (див. табл. 3.1) та 7 імуноцитохімічних показників представлених в розділі 4 (див. табл. 4.1). у відповідності з урахуванням результатів гістологічного дослідження.

На рисунку 4.4 представлені ROC-криві моделей традиційного цитологічного (m 1) та ІЦХ методів (m 2). Як видно, ROC-криві дозволяють дати оцінку якості моделей цитологічного та ІЦХ методів по розподілу двох класів чутливості та специфічності. Оскільки ROC-крива моделі імуноцитохімічного методу розташована ближче до верхнього лівого кута, то модель саме цього методу більш ефективна, ніж модель цитологічного методу ($p < 0,05$).

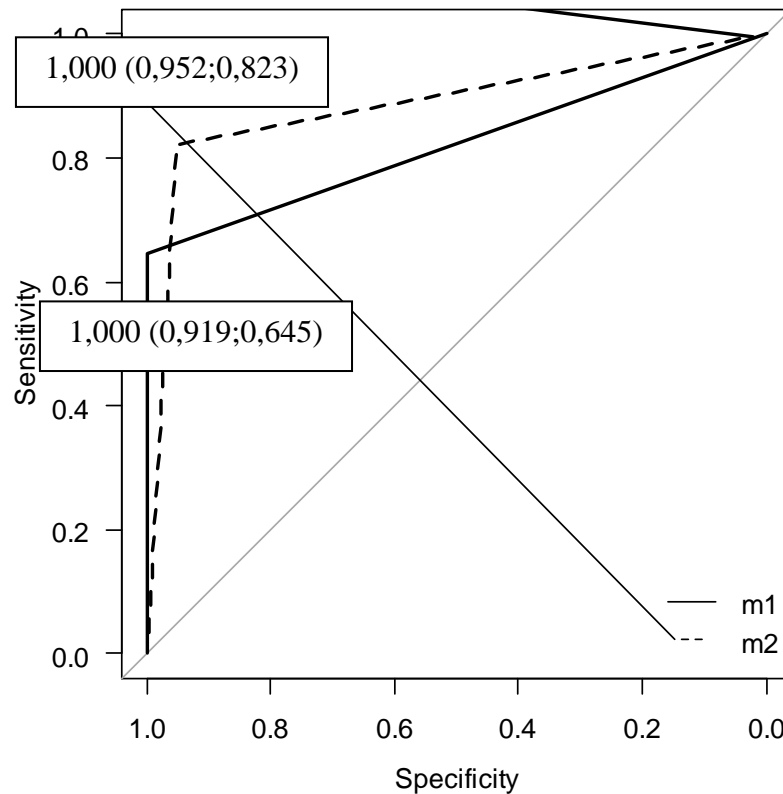


Рис. 4.4. ROC-криві моделей традиційного цитологічного (m 1) та імуноцитохімічного методів (m 2)

Площа під ROC кривою моделі цитологічного методу 0.623 95 % CI 0,763–0,883.

Площа під ROC кривою моделі імуноцитохімічного методу 0.887 95 % CI 0,833–0,945.

Як видно з рисунку 4.7, площа під кривою для цитологічного методу складає 0,623, а для імуноцитохімічного – 0,887. Вважається, чим більше значення площі під кривою, тим кращу діагностичну силу має модель, тобто імуноцитохімічний метод має кращу діагностичну силу, ніж цитологічний метод.

Нами визначена діагностична ефективність цитологічного та ІЦХ методів за формулою, наведеною в розділі 2. В результаті підрахунків ефективність цитологічного методу становила 67 %, а імуноцитохімічного – 85 %.

Таким чином, при використанні ІЦХ методу дослідження клітин випітних рідин отримали диференційно-діагностичні критерії і підвищили ефективність цитологічної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. Зокрема, при диференційній діагностиці аденокарциноми та реактивного серозиту застосування ІЦХ методу підвищує ефективність цитологічного дослідження на 18 %. Крім того, апробований ІЦХ метод на традиційних цитологічних препаратах випітних рідин після їх вивчення дозволив визначити диференційно-діагностичні параметри аденокарциноми, мезотеліоми, реактивних серозитів і представити у вигляді висновків.

Результати даного розділу викладені в публікаціях:

– 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.

– 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.

– Мариненко С. В. Необходимость применения иммуноцитохимических исследований при цитологической диагностике серозных выпотев / 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.

– Цитоморфологические и иммуноцитохимические особенности асцитической жидкости при цистаденофиброме 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.

– 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.

– 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.

– 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.

– 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.

РОЗДІЛ 5

ДИФЕРЕНЦІЙНА ДІАГНОСТИКА МЕЗОТЕЛІОМИ ТА РЕАКТИВНОГО СЕРОЗИТУ НА ОСНОВІ МОРФОЛОГІЧНИХ ТИПІВ ЯДЕРЦЕВОУТВОРЮЮЧИХ РЕГІОНІВ ХРОМОСОМ

При цитологічній діагностиці мезотеліоми часто виникають труднощі в зв'язку з тим, що ознаки атипії не завжди виражені в пухлинних клітинах. Крім того, при реактивних серозитах мезотеліальні клітини можуть набувати різко виражених ознак проліферації з атипією, що значно ускладнює їх морфологічну діагностику. Тому нами для діагностики мезотеліоми та реактивного серозиту був застосований, крім цитологічного та ІЦХ методів, метод вивчення морфофункціональних типів ядерцевоутворюючих регіонів хромосом.

На основі вивчення аргентумпозитивних гранул (їх кількість, розмір та взаєморозташування) визначають морфологічний тип ЯУР хромосом, що є морфологічним відображенням транскрипції рибосомних генів у клітині, і дозволяють оцінити ступінь проліферації клітин та наявність малігнізації [2, 6–8, 19]. Метод вивчення ЯУР хромосом застосовується для більш об'єктивної оцінки рівня проліферативних процесів в різних популяціях клітин і виявлення ознак їх малігнізації.

Отже, труднощі, які виникають при традиційній цитологічній діагностиці мезотеліоми та реактивного серозиту, можна вирішити завдяки комплексному застосуванню традиційного цитологічного, цитогенетичного та ІЦХ методів. Для цього була використана методика сріблення, що дозволило виявити і об'єктивно оцінити ступінь активності ЯУР хромосом.

Метод вивчення ЯУР та ІЦХ метод нами були застосовані для диференційно-діагностичної групи (мезотеліома-реактивний серозит), оскільки саме в даній ситуації необхідно вирішувати, крім гістогенетичної

належності клітин за допомогою ІЦХ методу, також їх проліферативну активність за допомогою методу вивчення ЯУР хромосом.

При вивченні фарбованих за методом Паппенгейма цитологічних препаратів, виготовлених з осаду клітин ексудатів, виявлена значна кількість мезотеліальних клітин з вираженими ознаками проліферації, частина яких мала атипію, що ускладнювало проведення диференційної діагностики мезотеліоми та реактивного серозиту (рис. 5.1).

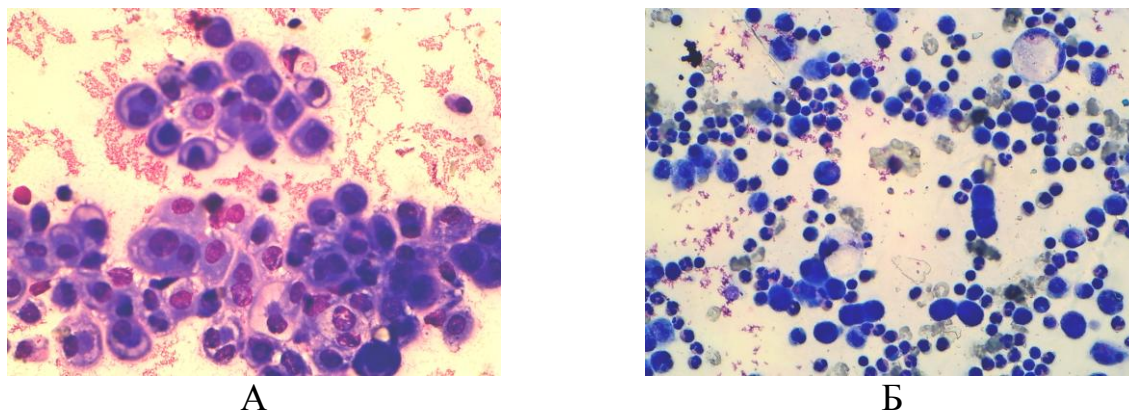


Рис. 5.1. Препарати мезотеліоми (А) та реактивного серозиту (Б).
Забарвлення за Паппенгеймом. Х400

В таких випадках було проведений метод вивчення ЯУР. На рисунку 5.2 представлені препарати мезотеліоми і реактивного серозиту, пофарбовані за W. M. Howell, D. A. Black.

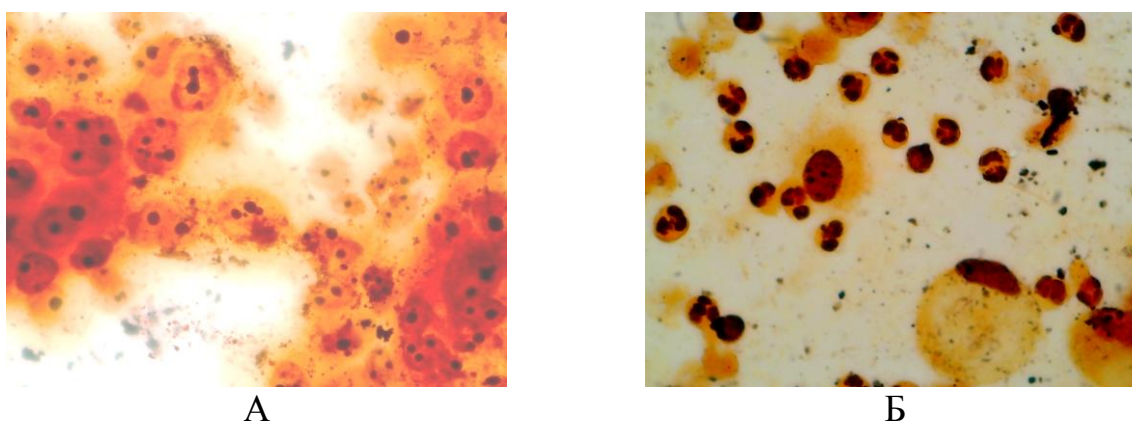


Рис. 5.2. Препарати мезотеліоми (А) та реактивного серозита (Б).
Модифікований метод фарбування за W. M. Howell, D. A. Black X 1000

В таблицях 5.1 і 5.2 наведені індивідуальні результати підрахунку ЯУР у кожного пацієнта.

Середня кількість ЯУР в ядрі клітин мезотеліоми

Пацієнт (n=21)	Середня кількість на одне ядро	Одиниця вимірювання	Ядерця				
			компактні	нуклеонемні	перехідно- нуклеонемні	кільцевидні	мікро
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Б.К.М.	2,70 ± 0,01	n	0,31 ± 0,01	0,58 ± 0,04	1,41 ± 0,08	0,19 ± 0,04	0,21 ± 0,04
		%	11,48 ± 0,09	21,48 ± 0,19	52,22 ± 0,32	7,04 ± 0,09	7,78 ± 0,08
Б.В.В.	1,84 ± 0,004	n	0,22 ± 0,02	0,29 ± 0,04	0,91 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,23 ± 0,04
		%	11,96 ± 0,07	15,76 ± 0,14	49,46 ± 0,19	10,33 ± 0,12	12,50 ± 0,05
В.С.М.	1,22 ± 0,01	n	0,29 ± 0,02	0,15 ± 0,04	0,51 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,15 ± 0,04
		%	23,77 ± 0,09	12,29 ± 0,13	41,80 ± 0,27	9,85 ± 0,24	12,29 ± 0,13
Г.А.П.	2,02 ± 0,01	n	0,21 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,96 ± 0,06	0,30 ± 0,04	0,44 ± 0,04
		%	10,39 ± 0,09	5,45 ± 0,09	47,52 ± 0,18	14,85 ± 0,08	21,79 ± 0,38
Г.М.М.	2,91 ± 0,01	n	0,69 ± 0,06	0,22 ± 0,04	0,74 ± 0,04	0,67 ± 0,06	0,59 ± 0,04
		%	23,71 ± 0,18	7,56 ± 0,11	25,43 ± 0,20	23,02 ± 0,09	20,28 ± 0,17

Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Д.М.В.	1,71 ± 0,01	n	0,26 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,68 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,28 ± 0,02
		%	15,20 ± 0,16	8,77 ± 0,09	39,77 ± 0,35	19,88 ± 0,35	16,38 ± 0,24
М.М.М.	2,73 ± 0,01	n	0,42 ± 0,06	0,36 ± 0,04	1,21 ± 0,08	0,26 ± 0,04	0,48 ± 0,04
		%	15,38 ± 0,12	13,19 ± 0,11	44,32 ± 0,19	9,52 ± 0,06	17,59 ± 0,12
П.І.С.	3,8 ± 0,02	n	0,22 ± 0,02	0,64 ± 0,04	1,69 ± 0,08	0,64 ± 0,02	0,61 ± 0,02
		%	5,79 ± 0,09	16,84 ± 0,11	44,47 ± 0,13	16,84 ± 0,10	16,10 ± 0,13
П.Н.І.	2,48 ± 0,01	n	0,24 ± 0,02	0,28 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,66 ± 0,06	0,68 ± 0,1
		%	9,67 ± 0,10	11,29 ± 0,12	25,0 ± 0,26	26,61 ± 0,41	27,43 ± 0,18
П.І.Ю.	2,52 ± 0,01	n	0,28 ± 0,02	0,43 ± 0,04	0,87 ± 0,06	0,53 ± 0,06	0,41 ± 0,04
		%	11,11 ± 0,15	17,06 ± 0,17	34,52 ± 0,15	21,03 ± 0,08	16,28 ± 0,12
Р.С.Ю.	2,26 ± 0,02	n	0,22 ± 0,02	0,26 ± 0,04	0,88 ± 0,02	0,32 ± 0,04	0,58 ± 0,02
		%	9,73 ± 0,09	11,50 ± 0,12	38,94 ± 0,13	14,16 ± 0,24	25,67 ± 0,28
Р.А.А.	3,25 ± 0,01	n	0,22 ± 0,02	0,32 ± 0,04	1,83 ± 0,08	0,47 ± 0,06	0,31 ± 0,04
		%	6,98 ± 0,08	10,16 ± 0,10	58,09 ± 0,15	14,92 ± 0,15	9,85 ± 0,04
Ф.М.М.	1,35 ± 0,01	n	0,30 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,61 ± 0,04	0,11 ± 0,02	0,19 ± 0,02
		%	22,22 ± 0,10	10,37 ± 0,21	45,19 ± 0,28	8,15 ± 0,28	14,07 ± 0,15

Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8
М.А.В.	3,59 ± 0,02	n	0,25 ± 0,02	0,36 ± 0,12	1,73 ± 0,12	0,65 ± 0,02	0,60 ± 0,02
		%	6,96 ± 0,03	10,03 ± 0,09	48,19 ± 0,21	18,11 ± 0,22	16,71 ± 0,23
Т.О.І.	3,13 ± 0,01	n	0,21 ± 0,02	0,48 ± 0,04	0,89 ± 0,06	0,88 ± 0,06	0,67 ± 0,04
		%	6,71 ± 0,08	15,34 ± 0,07	28,43 ± 0,24	28,12 ± 0,31	21,40 ± 0,11
С.В.А.	2,92 ± 0,02	n	0,24 ± 0,02	0,68 ± 0,04	1,12 ± 0,04	0,46 ± 0,06	0,42 ± 0,04
		%	8,22 ± 0,08	23,29 ± 0,09	38,36 ± 0,17	15,75 ± 0,11	14,38 ± 0,06
П.І.С.	3,80 ± 0,01	n	0,22 ± 0,04	0,64 ± 0,06	1,69 ± 0,08	0,63 ± 0,04	0,62 ± 0,06
		%	5,79 ± 0,06	16,84 ± 0,16	44,47 ± 0,23	16,58 ± 0,07	16,32 ± 0,14
Ш.В.В.	2,82 ± 0,01	n	0,22 ± 0,02	0,31 ± 0,04	0,95 ± 0,06	0,65 ± 0,06	0,69 ± 0,04
		%	7,80 ± 0,11	10,99 ± 0,09	33,69 ± 0,19	23,05 ± 0,20	24,47 ± 0,25
К.Т.В.	3,23 ± 0,01	n	0,55 ± 0,06	0,19 ± 0,04	1,33 ± 0,08	0,47 ± 0,04	0,69 ± 0,06
		%	17,03 ± 0,25	5,88 ± 0,12	41,18 ± 0,32	14,55 ± 0,18	21,36 ± 0,20
У.К.В.	3,24 ± 0,01	n	0,27 ± 0,02	0,39 ± 0,06	1,28 ± 0,08	0,69 ± 0,06	0,61 ± 0,12
		%	8,33 ± 0,09	12,04 ± 0,17	39,51 ± 0,12	21,29 ± 0,09	18,83 ± 0,14
П.І.П.	2,29 ± 0,02	n	0,28 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,57 ± 0,04	0,69 ± 0,04	0,56 ± 0,04
		%	12,23 ± 0,23	8,29 ± 0,11	24,89 ± 0,26	30,13 ± 0,34	24,46 ± 0,42

Середня кількість ЯУР в ядрі клітин реактивного мезотелію

Пацієнт (n=35)	Середня кількість ЯУР на одне ядро	Одиниці вимі- рювання	Ядерця				
			компактні	нуклеонемні	перехідно- нуклеонемні	кільцевидні	мікро
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Ф.С.В.	2,42 ± 0,01	n	0,04 ± 0,02	0,52 ± 0,04	0,2 ± 0,02	1,13 ± 0,06	0,53 ± 0,06
		%	1,66 ± 0,04	21,48 ± 0,16	8,27 ± 0,13	46,69 ± 0,24	21,90 ± 0,25
Б.О.С.	2,53 ± 0,01	n	0,03 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,21 ± 0,04	0,69 ± 0,06	1,08 ± 0,06
		%	1,18 ± 0,004	20,56 ± 0,22	8,30 ± 0,16	27,27 ± 0,10	42,69 ± 0,25
В.С.Т.	2,73 ± 0,01	n		0,53 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,73 ± 0,06	1,17 ± 0,08
		%		19,41 ± 0,24	10,99 ± 0,12	26,74 ± 0,19	42,86 ± 0,12
Б.В.С.	3,59 ± 0,02	n		0,65 ± 0,06	0,32 ± 0,02	0,81 ± 0,06	1,81 ± 0,1
		%		18,10 ± 0,22	8,93 ± 0,10	22,56 ± 0,14	50,41 ± 0,17
К.В.Б.	2,52 ± 0,03	n	0,04 ± 0,02	0,68 ± 0,06	0,25 ± 0,02	0,67 ± 0,06	0,88 ± 0,08
		%	1,59 ± 0,04	26,98 ± 0,28	9,92 ± 0,15	26,58 ± 0,14	34,93 ± 0,23
Т.К.В.	2,76 ± 0,01	n	0,03 ± 0,02	0,5 ± 0,04	0,28 ± 0,04	0,87 ± 0,06	1,08 ± 0,1
		%	1,09 ± 0,03	18,12 ± 0,14	10,14 ± 0,19	31,52 ± 0,22	39,13 ± 0,27
М.О.І.	2,22 ± 0,03	n	0,02 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,1 ± 0,02	0,52 ± 0,06	1,04 ± 0,12
		%	0,90 ± 0,13	24,32 ± 0,33	4,50 ± 0,06	23,43 ± 0,16	46,85 ± 0,31

Продовження таблиці 5.2

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
З.С.В.	2,97 ± 0,01	n	0,02 ± 0,02	0,55 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,92 ± 0,06	1,23 ± 0,08
		%	0,67 ± 0,002	18,52 ± 0,026	8,42 ± 0,09	30,98 ± 0,17	41,41 ± 0,23
Б.Р.М.	2,93 ± 0,05	n		0,61 ± 0,04	0,06 ± 0,02	0,68 ± 0,06	1,58 ± 0,1
		%		20,82 ± 0,18	2,05 ± 0,03	23,21 ± 0,36	53,92 ± 0,15
М.В.Ф.	2,87 ± 0,01	n	0,05 ± 0,02	0,42 ± 0,06	0,36 ± 0,04	0,79 ± 0,08	1,25 ± 0,08
		%	1,75 ± 0,04	14,63 ± 0,24	12,54 ± 0,18	27,53 ± 0,15	43,55 ± 0,21
П.И.И.	3,26 ± 0,02	n		0,58 ± 0,06	0,23 ± 0,04	0,82 ± 0,06	1,63 ± 0,12
		%		17,79 ± 0,12	7,06 ± 0,06	25,15 ± 0,18	50,0 ± 0,12
Ж.П.С.	2,14 ± 0,01	n	0,03 ± 0,02	0,35 ± 0,04	0,44 ± 0,04	0,5 ± 0,08	0,82 ± 0,08
		%	1,40 ± 0,01	16,36 ± 0,31	20,56 ± 0,35	23,36 ± 0,28	38,32 ± 0,32
О.Т.Л.	2,30 ± 0,02	n	0,04 ± 0,02	0,50 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,52 ± 0,06	1,11 ± 0,04
		%	1,74 ± 0,03	21,74 ± 0,25	5,65 ± 0,12	22,61 ± 0,28	48,26 ± 0,34
Р.С.В.	2,91 ± 0,01	n	0,02 ± 0,02	0,55 ± 0,04	0,18 ± 0,04	0,92 ± 0,06	1,24 ± 0,12
		%	0,69 ± 0,002	18,90 ± 0,21	6,19 ± 0,10	31,62 ± 0,38	42,60 ± 0,10
Х.Н.В.	4,91 ± 0,03	n	0,01 ± 0,04	0,99 ± 0,02	0,54 ± 0,02	1,24 ± 0,02	2,13 ± 0,05
		%	0,20 ± 0,02	20,16 ± 0,17	10,99 ± 0,07	25,27 ± 0,06	43,38 ± 0,17
Ч.Н.О.	4,51 ± 0,02	n		0,77 ± 0,02	0,42 ± 0,02	1,22 ± 0,01	2,1 ± 0,03
		%		17,07 ± 0,08	9,31 ± 0,05	27,05 ± 0,06	4,66 ± 0,49

Продовження таблиці 5.2

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
К.Д.О.	4,66 ± 0,01	n	0,02 ± 0,1	0,83 ± 0,02	0,62 ± 0,02	1,18 ± 0,01	2,01 ± 0,03
		%	0,43 ± 0,04	17,82 ± 0,07	13,30 ± 0,08	25,32 ± 0,08	43,13 ± 0,10
Л.Л.Б.	3,76 ± 0,02	n	0,03 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,3 ± 0,01	0,84 ± 0,01	1,68 ± 0,02
		%	0,80 ± 0,02	24,20 ± 0,09	7,98 ± 0,14	22,34 ± 0,13	44,68 ± 0,17
П.О.М.	5,04 ± 0,02	n	0,2 ± 0,04	1,56 ± 0,01	0,07 ± 0,01	1,16 ± 0,02	2,05 ± 0,02
		%	3,97 ± 0,06	30,95 ± 0,18	1,39 ± 0,01	23,02 ± 0,25	40,67 ± 0,16
К.Ю.Я.	3,78 ± 0,02	n	0,04 ± 0,02	0,68 ± 0,02	0,16 ± 0,02	1,18 ± 0,01	1,72 ± 0,04
		%	1,06 ± 0,03	17,99 ± 0,10	4,23 ± 0,05	31,22 ± 0,14	45,50 ± 0,14
Д.П.І.	3,82 ± 0,02	n	0,69 ± 0,04	0,35 ± 0,04	1,12 ± 0,12	1,66 ± 0,12	0,69 ± 0,04
		%	18,06 ± 0,12	9,16 ± 0,15	29,32 ± 0,10	43,46 ± 0,08	18,06 ± 0,12
Е.В.М.	3,81 ± 0,01	n		0,59 ± 0,06	0,28 ± 0,04	1,24 ± 0,18	1,7 ± 0,14
		%		15,49 ± 0,08	7,35 ± 0,07	32,55 ± 0,13	44,61 ± 0,09
Н.В.В.	3,92 ± 0,02	n		0,88 ± 0,04	0,36 ± 0,04	1,46 ± 0,10	1,22 ± 0,08
		%		22,45 ± 0,18	9,18 ± 0,15	37,24 ± 0,15	31,13 ± 0,19
П.Н.В.	2,93 ± 0,03	n	0,04 ± 0,02	0,53 ± 0,04	0,22 ± 0,04	0,77 ± 0,06	1,37 ± 0,1
		%	1,37 ± 0,04	18,09 ± 0,18	7,50 ± 0,20	26,28 ± 0,58	46,76 ± 0,59
Д.Т.П.	4,28 ± 0,02	n		1,04 ± 0,06	0,3 ± 0,02	1,48 ± 0,06	1,46 ± 0,12
		%		24,30 ± 0,23	7,01 ± 0,05	34,58 ± 0,23	34,11 ± 0,11

Продовження таблиці 5.2

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Р.С.А.	4,21 ± 0,01	n		0,89 ± 0,10	0,63 ± 0,06	1,06 ± 0,10	1,63 ± 0,20
		%		21,14 ± 0,24	14,96 ± 0,16	25,18 ± 0,05	38,72 ± 0,15
К.Л.А.	3,11 ± 0,01	n		0,51 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,8 ± 0,06	1,55 ± 0,14
		%		16,40 ± 0,20	8,04 ± 0,20	25,72 ± 0,26	49,84 ± 0,25
З.К.П.	2,60 ± 0,01	n	0,02 ± 0,02	0,52 ± 0,04	0,2 ± 0,02	0,83 ± 0,06	1,03 ± 0,08
		%	0,76 ± 0,001	20,0 ± 0,14	7,69 ± 0,09	31,92 ± 0,08	39,63 ± 0,13
Г.Г.В.	2,91 ± 0,01	n	0,04 ± 0,02	0,56 ± 0,04	0,42 ± 0,04	0,73 ± 0,06	1,16 ± 0,08
		%	1,37 ± 0,04	19,25 ± 0,21	14,43 ± 0,06	25,09 ± 0,12	39,86 ± 0,17
Н.В.Л.	3,29 ± 0,01	n	0,04 ± 0,02	0,57 ± 0,04	0,05 ± 0,02	1,38 ± 0,08	1,25 ± 0,08
		%	1,22 ± 0,02	17,32 ± 0,26	1,52 ± 0,04	41,95 ± 0,31	37,99 ± 0,38
Ш.Т.В.	3,14 ± 0,01	n	0,02 ± 0,02	0,64 ± 0,04	0,27 ± 0,04	0,91 ± 0,06	1,3 ± 0,08
		%	0,64 ± 1,66	20,38 ± 0,14	8,60 ± 0,04	28,98 ± 0,09	41,40 ± 0,13
В.М.А.	2,92 ± 0,01	n	0,05 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,76 ± 0,06	1,36 ± 0,1
		%	1,71 ± 0,04	17,80 ± 0,15	7,88 ± 0,09	26,03 ± 0,26	46,58 ± 0,20
Л.М.Г.	2,86 ± 0,01	n	0,03 ± 0,02	0,53 ± 0,04	0,28 ± 0,02	0,66 ± 0,06	1,36 ± 0,12
		%	1,05 ± 0,03	18,53 ± 0,22	9,79 ± 0,09	23,08 ± 0,25	47,55 ± 0,30
Ш.О.Я.	5,33 ± 0,02	n	0,04 ± 0,02	1,25 ± 0,08	0,78 ± 0,04	1,65 ± 0,08	1,61 ± 0,08
		%	0,75 ± 0,004	23,46 ± 0,10	14,63 ± 0,06	30,96 ± 0,05	30,20 ± 0,09
Б.В.С.	2,86 ± 0,01	n	0,02 ± 0,02	0,56 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,90 ± 0,04	1,20 ± 0,04
		%	0,70 ± 0,09	19,58 ± 0,11	6,29 ± 0,15	31,47 ± 0,33	41,96 ± 0,19

Як видно з таблиці 5.1, вивчали відсотковий вміст кожного ЯУР на 100 досліджених ядер в клітинах мезотеліоми. Кількість компактних ядерець коливалась від 0,21 до 0,69, що в середньому склала $(0,29 \pm 0,03)$ $(11,90 \pm 1,20)$ %.

Серед нуклеолонемних ядерець визначений вміст власне нуклеолонемних $(0,34 \pm 0,04)$ $(12,60 \pm 1,00)$ %, в інтервалі від 0,11 до 0,68, і перехіднонуклеолонемних форм $(1,07 \pm 0,09)$ $(40,30 \pm 2,00)$ %, при коливанні від 0,51 до 1,83.

Експресія кільцеподібних ядерець в пухлинних клітинах мезотеліоми визначалась в діапазоні від 0,11 до 0,88, складаючи середнє значення $(0,47 \pm 0,05)$ $(17,30 \pm 1,40)$ %. Значення мікроядерець в ядрах клітин мезотеліоми зростали від 0,15 до 0,69, які в середньому склали $(0,48 \pm 0,04)$ $(17,90 \pm 1,10)$ %.

Як видно з таблиці 5.2, при вивченні вмісту кожного типу ядерець на 100 досліджених ядер клітин реактивного мезотелію виявлено, що амплітуда коливань значень компактних ядерець склала від 0,0 до 0,20 при середньому значенні $(0,03 \pm 0,01)$ $(0,84 \pm 0,14)$ %. Кількість власне нуклеолонемних ядерець в клітинах реактивного мезотелію більша, ніж перехіднонуклеолонемних, і спостерігалась від 0,35 до 1,56 – середнє значення $(0,67 \pm 0,04)$ $(20,00 \pm 0,60)$ %. Перехіднонуклеолонемні ядерця виявлялись в межах 0,05–0,78, складаючи в середньому $(0,29 \pm 0,03)$ $(8,70 \pm 0,70)$ %. Показники кільцеподібних типів ядерець в ядрах клітин мезотелію з ознаками проліферації коливались в межах від 0,50 до 1,65, при середньому показнику $(0,95 \pm 0,05)$ $(28,40 \pm 1,00)$ %. Експресія мікроядерець в клітинах реактивного мезотелію визначалась в інтервалі від 0,53 до 2,13, що в середньому склало $(1,40 \pm 0,06)$ $(42,00 \pm 1,10)$ %.

Аналізуючі дані, наведені в таблицях 5.1, 5.2, нами узагальнені результати підрахунку морфофункціональних типів ЯУР хромосом в ядрах клітин мезотеліоми та реактивного мезотелію і представлені в таблиці 5.3. За всіма показниками відмінність між групами статистично значима, $p < 0,05$.

Морфофункціональні типи ядерця Me (Q_I– Q_{III}) у клітинах мезотеліоми і реактивного мезотелію

Морфофункціональні типи ядерця	Одиниці вимірювання	Мезотеліома (n = 21)	Реактивні зміни клітин мезотелію (n = 35)	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 ядерця на 1 ядро		2,73 (2,2–3,17)	2,95 (2,76–3,81)	0,01

Як видно за даними таблиці 5.3, при цитогенетичному дослідженні експресії ядерця в пухлинних клітинах мезотеліоми визначені такі основні морфофункціональні їх типи, які можна виявити за допомогою імерсійної мікроскопічної системи: компактні, власно нуклеолонемні, перехідні нуклеолонемні, кільцеподібні і мікроядерця. При цьому 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 ядерця на одне ядро – 2,73 (2,2–3,17).

В ядрах клітин реактивного мезотелію кількість компактних ядерцевоутворюючих регіонів складала 0,03 (0,02–0,04), власно нуклеолонемних – 0,27 (0,2–0,36), перехідних нуклеолонемних – 0,57 (0,52–0,75), кільцеподібних – 0,87 (0,74–1,18) і мікроядерця – 1,36 (1,16–1,65) (p<0,05) [36].

За отриманими показниками встановлено переважання компактних, власне і перехідно нуклеолонемних серед усіх визначених типів ядерць в ядрах клітин мезотеліоми, тоді як у клітинах реактивного мезотелію – кільцеподібних та мікроядерць.

Порівняння діагностичних характеристик цитогенетичного (m2) та ІЦХ (m3) методів проводили шляхом побудови кривих операційних характеристик, що зображено ROC-кривими на рис. 5.3.

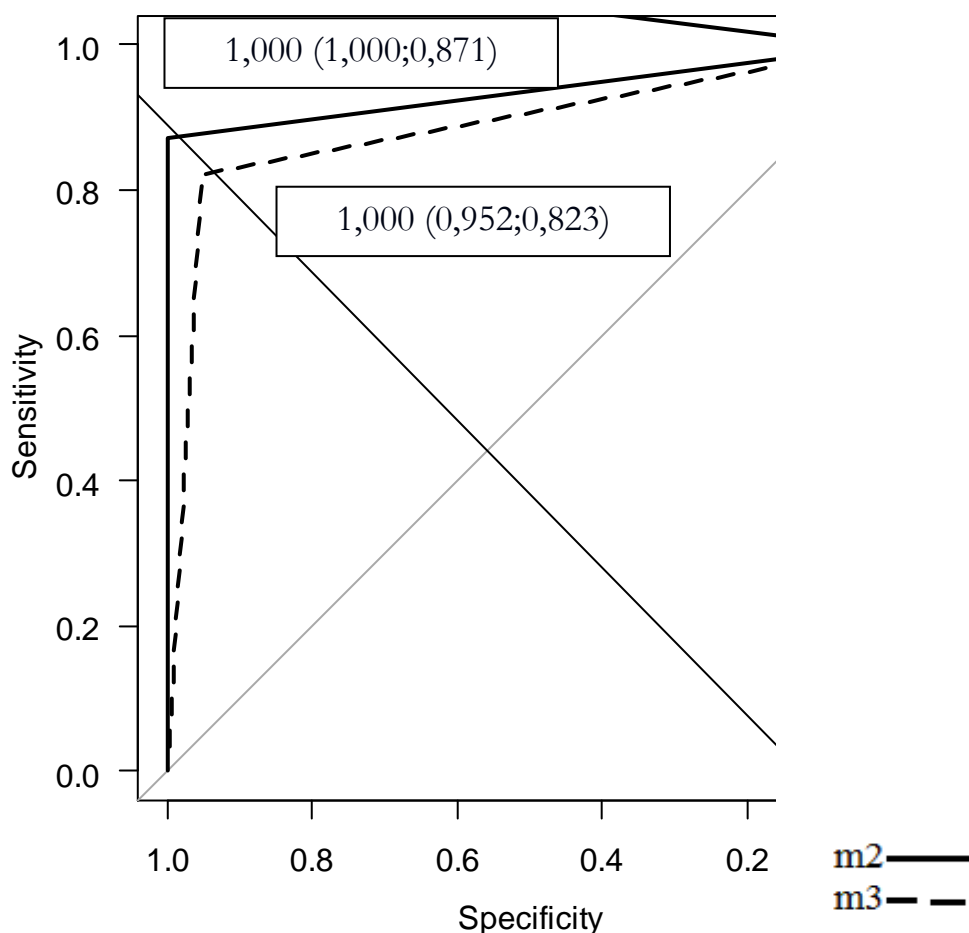


Рис. 5.3. ROC-криві операційних характеристик методів діагностики мезотеліоми та реактивних серозитів: m2 – цитогенетичний метод, m3 – ІЦХ метод

В таблиці 5.4 наведені діагностичні характеристики цитологічного, ІЦХ та методу вивчення ЯУР хромосом.

Порівняльна характеристика традиційного цитологічного, ЩХ та цитогенетичних методів в діагностиці аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту

Метод	Площа під кривою (95 % ВІ)	Чутливість, % (95 % ВІ)	Специфічність % (95 % ВІ)	р
m1	0,623 95 % ВІ 0,763–0,883	0,645	0,919	<0,05
m2	0,935 95 % ВІ 0,893–0,978	0,871	1,000	
m3	0,887 95 % ВІ 0,833–0,945	0,823	0,952	

Примітки:

m1 – традиційний цитологічний метод;

m2 – цитогенетичний метод;

m3 – ЩХ метод.

При порівнянні діагностичних характеристик мезотеліоми та реактивного серозиту за результатами трьох тестів було виявлено їх статистично значущу ($p < 0,05$) відмінність (див. табл. 5.4). При цьому кращі характеристики мав метод вивчення морфологічних типів ЯУР хромосом для якого площа під кривою операційних характеристик склала 0,935 95 % СІ 0,893–0,978, чутливість цього тесту становила 0,871, специфічність – 1,000 [36].

Нами визначена діагностична ефективність цитологічного методу та метод вивчення морфологічних типів ЯУР хромосом за формулою, наведеною в розділі 2. В результаті підрахунків ефективність цитологічного методу становила 67 %, цитогенетичного – 88 %.

Таким чином, використаний цитогенетичний метод дозволяє диференціювати клітини мезотеліоми, для яких характерне збільшення вмісту компактних і нуклеолонемних ядерців морфофункціональних типів, при порівнянні з реактивним мезотелієм. Крім того, комплекс застосованих цитоморфологічного, цитогенетичного та ІЦХ методів, дозволяє виявити певні параметри та порівняти ці сучасні методи для диференційно-діагностичної групи (мезотеліома-реактивний серозит). Зокрема, при диференційній діагностиці мезотеліоми та реактивного серозиту застосування цитогенетичного методу підвищує ефективність цитологічного дослідження на 21 %.

Результати даного розділу викладені в публікаціях:

- 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 // Клин. онкологія. – 2018. – Т. 8, № 2 (30). – С. 133–137.
- 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.
- 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.
- Об'єктивізовані цитоморфологічні ознаки мезотелію з різним ступенем проліферації при пухлинах / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. М. Туганова, Т. М. Ярошук, 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.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Цитологічна верифікація онкологічних і неонкологічних ушкоджень серозних оболонок є одним із найбільш складних питань онкоморфології [68, 103, 117]. Злоякісні захворювання часто супроводжуються випотом в плевральну і черевну порожнини, а цитологічний метод є важливим при вивченні його клітинного складу. Цитологічне дослідження ексудатів з серозних порожнин часто виявляється єдиним методом морфологічної верифікації клінічного діагнозу до початку проведення спеціального лікування.

Дані наукової літератури свідчать, що за результатами цитологічних досліджень кількість помилок при визначенні характеру патологічного процесу та локалізації первинної пухлини може досягати 43,0 %. При цьому основні труднощі пов'язані з подібністю цитоморфологічних ознак пухлинних клітин аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію [8, 44, 68]. В одних спостереженнях клітини мезотелію виглядають малозміненими і їх можна легко оцінити. Але в більшості випадків при пухлинних захворюваннях мезотелій набуває ознак проліферації різного ступеня вираженості і атипії, що значно ускладнює їх диференційну діагностику з елементами злоякісної пухлини. В вітчизняній і зарубіжній літературі лише окремі роботи присвячені визначенню деяких цитоморфологічних диференційних ознак цих пухлин і лише на описовому рівні [6, 68, 101, 117].

Подібність цитограм і значний ступінь суб'єктивності їх оцінки спонукали до пошуку більш точних диференційних цитологічних критеріїв аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту з використанням додаткових методів дослідження, які сприяють об'єктивізації і уточненню

отриманих цитологічних характеристик. Наразі такими методами є імуноцитохімічний і метод вивчення ЯУР хромосом [11, 17, 39].

Метою нашого дослідження є удосконалення цитологічної диференційної діагностики метастазів аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту з використанням сучасних морфологічних методів.

Вивчаючи цитологічні препарати ексудатів, нами відзначена така закономірність – чим більше клітин аденокарциноми в препаратах серозних рідин, тим менше – мезотеліальних. Водночас клітини мезотелію набували виражених ознак проліферації при наявності поодиноких клітин аденокарциноми. При значній кількості клітин аденокарциноми мезотеліальні клітини мали дегенеративні ознаки. У випадках, коли переважали клітини аденокарциноми над мезотеліальними клітинами, останні створювали цілі клітинні комплекси. Такі особливості не описані в вітчизняній та зарубіжній науковій літературі.

Клітини аденокарциноми розташовувались переважно в залозистоподібних групах, які мали чітко відмежований, гладкий, округлий зовнішній край. Різко поліморфні за розмірами – від дрібних до великих, здебільшого округлої форми, найчастіше мали ексцентрично розташоване одне ядро. Ядра клітин аденокарциноми різних розмірів, як правило, округлої форми, з нерівним контуром та нерівномірним дрібнобрилистим маргінально розташованим хроматином; переважно містили декілька поліморфних ядерць з нечіткими контурами. Ці дані узгоджуються з основною цитоморфологічною характеристикою аденокарциноми, представленою в вітчизняних роботах [4, 6, 19, 32, 33].

При вивченні цитограм метастатичного серозиту було відмічено поєднання світлої цитоплазми з гіперхромним ядром в одній пухлинній клітині, що тим самим ще більше підкреслює різко виражений поліморфізм клітин аденокарциноми. Однак у вітчизняній і зарубіжній науковій літературі ці особливості не згадуються.

В науковій літературі не була виділена диференційно-діагностична ознака – вакуолізація цитоплазми в клітинах аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту. Так, у клітинах аденокарциноми відмічаються великі вакуолі, тоді як в мезотеліомі – змішані, в центральній частині – дрібні вакуолі, а по периферії можуть бути великі. Для мезотеліальних клітин з ознаками проліферації частіше спостерігалися дрібні вакуолі. Ці дані були нами визначені при кількісній оцінці цієї ознаки.

За вивченням цитологічних препаратів мезотеліоми було відмічено в кожному четвертому випадку, що фоном є оксифільна речовина і за даними наукової літератури відповідає наявності гіалуронової речовини.

Отримані нами цитологічні дані дозволили встановити, що для клітин аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного серозиту характерне різне розташування клітинних елементів в цитограмах. Так, при аденокарциномі пухлинні клітини розташовувались групами, при мезотеліомі – переважно у вигляді скупчень, які складаються із щільно притиснутих одна до одної клітин напівмісячної форми і оточують округлу центральну клітину, таким чином формуючи своєрідний просвіт – вузький, щілиноподібний простір між двома сусідніми, так зване «міжклітинне вікно». Мезотеліальні клітини при реактивному серозиті частіше розміщуються порізно. При цьому нами була відмічена характерна особливість щодо контурів клітинних угруповань при аденокарциномі та мезотеліом: для груп клітин аденокарциноми – чіткий контур, а для мезотеліоми – нерівний за рахунок наявності мікрворсинок, які містять пухлинні мезотеліальні клітини.

Отримані цитологічні дані мезотеліоми узгоджуються з представленими в літературі [19, 54, 68, 99, 117]. Однак проведені нами дослідження цитограм мезотеліоми дозволили виявити деякі особливості пухлинних клітин при цьому. Так, клітини мезотеліоми мали нерізко виражені ознаки поліморфізму на відміну від аденокарциноми, але досить помітні ознаки ядерного поліморфізму на відміну від реактивного мезотелію. Клітини мезотеліоми і реактивного серозиту були переважно середнього

розміру та округлої форми, частіше містили одне ядро, ексцентрично розташоване, переважно середнього розміру і округлої форми. Ядра пухлинних клітин були з нерівним контуром, з нерівномірним дрібнобрилистим хроматином, а ядра клітин реактивного мезотелію – з рівним контуром та рівномірно розподіленим хроматином. Ядра клітин мезотеліоми містили частіше багато ядерця, середнього та великого розмірів, з чіткими контурами, а в ядрі реактивного мезотелію – інколи виявлялися переважно дрібного та середнього розмірів, ядерця з нечіткими контурами. Врахування всіх визначених вище характеристик дозволяє морфологічно установити аденокарциному, мезотеліому і реактивний серозит, але при труднощах в диференційній діагностиці означених патологічних процесів необхідно застосовувати додаткові методи, одним з яких є ІЦХ.

Нами використаний спосіб поєднання цитоморфологічного та ІЦХ методів дослідження клітин на одних і тих самих цитологічних препаратах із застосуванням, за даними вітчизняних та зарубіжних авторів, найбільш ефективних АТ, які вони вивчали використовуючи КБ. В результаті було встановлено, що клітини аденокарциноми містили Ber-EP4, PEA, EMA, мезотеліоми – панцитокератин, СК 5/6, калретинін і віментин, клітини реактивного мезотелію – калретинін та віментин.

Нами було проаналізовано результати імуноцитохімічного та цитогенетичного дослідження згідно зі статистичним пакетом MedCalc v. 18.5 (MedCalc Software, Belgium, 1993–2018). За допомогою ROC-аналізу ми порівнювали результати традиційного цитологічного, цитогенетичного та ІЦХ методів. За даними ROC-аналізу перевага надається ІЦХ на відміну від традиційного цитологічного методу для хворих трьох диференційно-діагностичних груп. Тоді як, для хворих диференційно-діагностичної групи (мезотеліома-реактивний серозит) при порівнянні традиційного цитологічного, ІЦХ методів та методу вивчення ЯУР хромосом перевага належить останньому.

Нами визначена діагностична ефективність цитологічного (59 %) та ІЦХ (85 %) методів. В результаті встановлено, при застосуванні ІЦХ методу ефективність цитологічного дослідження підвищується на 26 %.

Одним із методів, який має діагностичну цінність і дозволяє уточнити ступінь проліферації і анаплазії злоякісних клітин, є метод вивчення ЯУР хромосом [39, 47–50]. Вивчення морфологічних особливостей метаболізму рРНК в клітині і морфофункціонального стану ядерцевого апарату активно використовується для чіткого розмежування доброякісних і злоякісних пухлин різного генезу [61, 63–65, 84], ступеня диференціювання малігнізованих новоутворень [88, 98, 104, 107] та розпізнання гістологічних варіантів для окремих гістологічних типів пухлин [124].

За даними літератури, вивчення кількості AgNOR в пухлинах проводиться як за гістологічними, так і за цитологічними препаратами. Однак аналізування результатів реакції сріблення і специфічність локалізації гранул срібла в ядерці (тільки над ФЦ; або переважно над ФЦ і частково – над щільним фібрилярним компонентом; або більшість гранул локалізована над фібрилярними центрами і щільним фібрилярним компонентом, а частково – над гранулярним компонентом) залежить від певного способу фіксації і методики сріблення AgNOR [39, 47]. Це обумовлено тим, що спорідненість до срібла проявляють практично всі компоненти хроматину і зміна умов проведення реакції приводить до виявлення, окрім ФЦ, інших структур ядерця [84, 88]. Тому оцінювати результати реакції слід лише в рамках певного способу фарбування.

Вивчення ЯУР у пухлинних клітин мезотеліоми та реактивних мезотеліальних клітин проведені за цитограмами, пофарбованими за загальноприйнятою методикою W. M. Howell, D. A. Black [107] в модифікації Л. С. Болгової, Т. М. Туганової, І. С. Кузіної [1] з урахуванням рекомендацій по стабілізації розчину срібла. При цьому використання модифікованої методики дозволило вивчити ЯУР злоякісних та доброякісних елементів ексудатів.

При вивченні ЯУР у пухлинних клітинах мезотеліоми та клітинах реактивного мезотелію визначені за відомою класифікацією [58] такі основні морфологічні типи ядерцевоутворюючих регіонів, які можна виявити в імерсійній мікроскопічній системі: компактні, власні та перехідні нуклеолонемні, кільцеподібні і мікроядерця. При цьому загальний вміст ядерець на одне ядро склав $(2,65 \pm 0,16)$ при мезотеліомі і $(3,3 \pm 0,14)$ – реактивному серозиті відповідно.

Отримані дані відрізняються від представлених у науковій літературі [68, 134, 138, 144]. К. Sujathan et al. констатують, що в злоякісних клітинах ексудатів середня кількість ядерцевих організаторів в середньому склала $(4,72 \pm 0,76)$, а в клітинах реактивного мезотелію – $(1,92 \pm 0,23)$ [138]. Meenu Gill et al. виявили, що реактивні мезотеліальні клітини містили AgNOR від 1 до 2 на ядро, звичайного розміру та форми, а злоякісні – від 3 до 5, з неправильною формою та розмірами [134]. При цьому дослідники вивчали лише загальну кількість AgNOR за цитологічними препаратами ексудатів. Тоді як нами визначена кількість активних (компактних і нуклеолонемних) та неактивних (кільцеподібних і мікроядерець) ядерець в загальній структурі ядерець. В результаті отримано, що переважна більшість ядерець з високою функціональною активністю спостерігалась в клітинах мезотеліоми, а ядерець з низькою функціональною активністю – в ядрах клітин реактивного мезотелію. Особливо потрібно відзначити роль компактних та перехідно-нуклеолонемних в діагностиці мезотеліоми. При порівняльному дослідженні показників основних морфофункціональних типів в матеріалі мезотеліоми виявлено вищий кількісний і процентний вміст активних ядерець (компактних типів ядерець – $(0,29 \pm 0,03)$; $(11,9 \pm 1,2)$ %; ядерець перехідного (нуклеолонемно-компактного) типу – $(40,3 \pm 2,0)$ %) порівняно з реактивним мезотелієм (компактних типів ядерець – $(0,03 \pm 0,01)$; $(0,84 \pm 0,14)$ %; ядерець перехідного (нуклеолонемно-компактного) типу – $(8,7 \pm 0,7)$ %).

Підсумовуючи дані виконаних досліджень, нами запропонований оптимальний алгоритм диференційної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту (рис. 6.1).



Рис. 6.1. Алгоритм цитологічної діагностики аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного серозиту

Як видно з рисунку 6.1, що послідовне комплексне використання всіх методів цитологічного дослідження дозволяє визначити морфологічну структуру патологічних станів серозних оболонок. При цьому цитологічне дослідження і послідовне застосування мНАТ з використанням ПЦХ методу на традиційних цитологічних препаратах дозволяє провести диференційну діагностику аденокарциноми, мезотеліоми і реактивного мезотелію, що має значення для вибору адекватного лікування. Тоді як для визначення характеру ураження мезотеліальних клітин цитогенетичний метод дозволив ймовірно диференціювати клітини мезотеліоми, для яких характерне збільшення вмісту компактних і перехідно-нуклеолонемних ядерць морфофункціональних типів порівняно з реактивним мезотелієм. Крім того, комплекс застосованих цитоморфологічного, цитогенетичного та ПЦХ методів дозволив виявити обґрунтовані параметри для диференційно-діагностичної групи (мезотеліома-реактивний серозит).

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 кожен з форм: для аденокарциноми характерна експресія епітеліального антигену Ber-EP4 (88–93 %), епітеліально–мембранного антигену (57–64 %), раково–ембріонального антигену (43–50 %); для мезотеліоми – панцитокератину AE1/AE3 (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 ядерць 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Болгова Л. С. Модификация окраски по Howell W., Black D. на выявление ядрышкообразующих регионов хромосом при лимфопролиферативных заболеваниях / Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, И. С. Кузина. – Рукопись деп. в ГЦНМБ, Россия, 2001. – N Д-26735. – 20.04.01.
2. 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 // Клин. онкология. – 2015. – № 4 (20). – С. 85–90.
3. Болгова Л. С. Цитологическая диагностика дисплазий и плоскоклеточного рака шейки матки при исследовании ядрышкообразующих регионов хромосом / Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, О. И. Алексеенко // Клин. лаб. диагностика. – 2012. – №. 11. – С. 36–41.
4. Волченко Н. Н. Определение первичной локализации опухолевого процесса при иммуноцитохимическом исследовании экссудата из серозных полостей / Н. Н. Волченко, О. В. Борисова // Рос. онкол. журн. – 2010. – V. 2. – P. 28–32.
5. Волченко Н. Н. Технология клеточный блок в цитологической практике / Н. Н. Волченко, О. В. Борисова // Новости клинической цитологии России. – 2014. – Т. 18, № 1–2. – С. 3–32.
6. Выпотные жидкости / В. В. Долгов, И. П. Шабалова, И. И. Миронова [и др.] // Лабораторное исследование. – Тверь, 2006. – 161 с.
7. Гистологические типы опухолей яичника и развитие экссудата / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярошук // Материалы расширенного пленума центрального совета Ассоциации клинических цитологов России (02–05 октября 2014 г., Анапа Краснодарского края). – Новости клинической цитологии России. – 2014. – Т. 18, № 1–2. – С. 30.
8. Григорук О. Г. Дифференциальная цитологическая диагностика плевритов / О. Г. Григорук, А. Ф. Лазарев, В. Н. Богатырёв. – Барнаул, 2012. – P. 173–180.
9. Давыдова И. Ю. Серозные пограничные опухоли яичников (клиническое течение, морфология, лечение) / И. Ю. Давыдова, В. В. Кузнецов, А. И. Карселадзе // Опухоли женской репродукт. системы. – 2012. – № 3–4. – С. 165–168.
10. Демин С. Ю. Дифференциация интерфазных ядрышковых организаторов в клетках эмбриональной почки свиньи (линия СПЭВ) /

С. Ю. Демин, В. Н. Стефанова // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 4. – С. 320–331.

11. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей / Д. Ф. Глузман, Л. М. Склярченко, В. А. Надгорная, И. А. Крячок. – Киев, 2003. – 155 с.

12. Дифференциальная цитологическая диагностика пролиферирующего мезотелия, аденокарциномы и мезотелиомы / С. В. Мариненко, Е. А. Логинова, Л. С. Болгова [та ін.] // Актуальні питання цитологічної діагностики пухлин : матеріали семінару, присвяч. 115-річчю з дня народження академіка Р.Є. Кавецького, 1 грудня 2014 р., Київ. – Клин. онкологія. – 2015. – № 1 (17). – С. 93.

13. Дубенская Л. И. Белки, ассоциированные с зонами ядрышкового организатора: практическое применение в онкоморфологии и связь с биологическими особенностями опухоли / Л. И. Дубенская, С. М. Баженов // Архив патологии. – 1992. – Т. 54, № 4. – С. 40–43.

14. Дудник О. А. Поведение некоторых ядрышковых белков в условиях обратимого пространственного разобщения структурных компонентов ядрышка / О. А. Дудник, О. В. Зацепина // Цитология. – 1995. – Т. 37, № 1–2. – С. 126–132.

15. Дядык Е. А. Значение выявления ядрышковых организаторов для диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований у человека / Е. А. Дядык, Н. Т. Райхлин, И. В. Василенко // Эксперим. онкология. – 1993. – Т. 15, № 6. – С. 8–12.

16. Иммуноцитохимическая диагностика злокачественных экссудатов / Д. Ф. Глузман, И. В. Абраменко, Л. М. Склярченко, Г. В. Писнячевская. – Киев : Наук. думка, 1993. – 96 с.

17. Иммуноцитохимический метод в цитологическом исследовании плевральных жидкостей / Л. Б. Ключкина, О. А. Ерохина, Е. А. Гапанович [и др.] // Онкол. журн. – 2013. – Т. 7, № 4 (28). – С. 45–49.

18. Кистозная дегенерация и цитokerатин-17 как прогностические факторы радиойодорезистентности метастазов папиллярного рака щитовидной железы / А. В. Зелинская, Г.Н. Кулиниченко, Ю. М. Божок [и др.] // Укр. радіол. журн. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 284–286.

19. Климанова З. Ф. Цитоморфологическая характеристика экссудатов при новообразованиях брюшины и плевры : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Климанова З. Ф. – М., 1965. – 34 с.

20. Клименко С. В. Определение мутаций генов BRCA при раке молочной железы / С. В. Клименко // Здоров'я України. Спец. вип. «Онкологія, гематологія, хіміотерапія». – 2017. – С. 28–29.

21. Ковалев А. А. Рак молочной железы в XXI веке: от мастэктомии и эмпирической терапии к молекулярному персонифицированному лечению /

А. А. Ковалев // Здоров'я України. Спец. вип.. «Онкологія, гематологія, хіміотерапія». – 2017. – С. 5–7.

22. Мамаев Н. Н. Структура и функция ядрышкообразующих районов хромосом: молекулярные, цитологические и клинические аспекты / Н. Н. Мамаев, С. Е. Мамаева // Цитология. – 1992. – Т. 34, № 10. – С. 3–25.

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

24. 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.

25. Мариненко С. В. Современная дифференциальная цитологическая диагностика аденокарциномы, мезотелиомы и реактивного серозита / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова // Клин. онкология. – 2018. – Т. 8, № 1 (29). – С. 74–78.

26. 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.

27. Мариненко С. В. Цитоморфологические признаки псевдомиксомы / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук // Онкология. – 2018. – Т. 20, № 1 (75). – С. 45–47.

28. Международная классификация болезней – онкология (МКБ-О), 3 издание, 1 пересмотр / Э. Фритц, К. Перси, Э. Джек [и др.] / Пер. с англ. А. В. Филочкиной ; под ред. А. М. Беляева, О. Ф. Чепика, А. С. Артемьевой, А. А. Барчука, Ю. И. Комарова. – СПб., 2017. – 352 с.

29. Мезотелиома плевры: этиология, заболеваемость, диагностика, лечение, выживаемость / А. Ф. Лазарев, О. Г. Григорук, Л. М. Базулина [и др.] // Росс. онкол. журн. – 2013. – № 5. – С. 15–18.

30. Мельник А. Н. Цитоморфологическая диагностика опухолей / А. Н. Мельник. – Київ : Здоров'я, 1983. – С. 192–196.

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

32. Нейштадт Э. Л. Опухоли яичника / Э. Л. Нейштадт, И. Н. Ожиганова. – СПб. : Фолиант, 2014. – 350 с.
33. Новикова Е. Г. Пограничные опухоли яичников / Е. Г. Новикова, Ю. Ю. Андреева, А.С. Шевчук // Онкология. Журн. им. П. А. Герцена. – 2013. – № 1. – Р. 84–91.
34. Об'єктивізовані цитоморфологічні ознаки мезотелію з різним ступенем проліферації при пухлинах / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. М. Туганова [та ін.] // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : IV міжнар. мед. конгрес, 15–17 квітня 2015 р., м. Київ. – К., 2015. – С. 23–24.
35. Опухоли яичника: цитологическая диагностика выпота брюшной полости при цистаденофибrome / Л. С. Болгова, С. В. Мариненко, Т. Н. Туганова, Т. М. Ярощук // Лаб. диагностика. – 2013. – № 2 (64). – С. 44–47.
36. Пат. 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. – и 2016 08145 ; заявл. 25.07.16 ; опубл. 25.01.2017. – Бюл. 2.
37. Петров С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. – 4-е изд., доп. и перераб. / под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – Казань, 2012. – С. 24–28.
38. Петрова А. С. Цитологическая диагностика опухолей и предопухолевых процессов / А. С. Петрова. – Мос. : Медицина, 1985. – С. 38–54.
39. Погорелов В. М. Оценка Ag-положительных ядрышкообразующих районов хромосом в нуклеолах интерфазных злокачественных клеток / В. М. Погорелов // Гематология и трансфузиология. – 1994. – Т. 39, № 6. – С. 19–21.
40. Рак в Україні, 2016–2017. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби // Бюлетень Національного канцер-реєстру України / З. П. Федоренко, Ю. Й. Михайлович, Л. О. Гулак [та ін.] ; гол. ред. О. О. Колеснік. – К., 2018. – № 19. – 136 с.
41. Рибін А. І. Сучасні аспекти управління якістю спеціалізованої онкологічної допомоги: нова платформа в онкологічному сервісі / А. І. Рибін // Клин. онкол. – 2018. – Т. 8, № 4 (32). – С. 251–253.
42. 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) :

тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28 березня 2013 р., Київ. – Клин. онкологія. – 2013. – № 2 (10). – С. 182–183.

43. Свиницкий В.С. Пути улучшения онкогинекологической помощи населению Украины / В.С. Свиницкий // Евразийский онкологический журнал (прилож.). – 2015. – № 3 (06). – С. 3–6.

44. Сельчук В. Ю. Опухолевые серозиты: плевриты, асциты, перикардиты / В. Ю. Сельчук, М. Б. Бычков, М. В. Киселевский. – М. : Практическая медицина, 2011. – 278 с.

45. Семенов Д. А. Гистофизиология плевральной полости и плеврального выпота / Д. А. Семенов, С.С. Целуйко // Дальневосточный мед. журн. – 2012. – № 2. – С. 140–144.

46. 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. Борисик, А. М. Вільгаш. – Київ, 2017. – 23 с.

47. Туганова Т. Н. Исследование ядрышковых организаторов хромосом в эпителии паренхимы легкого для уточнения гистогенеза железистого рака / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук // Онкология. – 2011. – № 1. – С. 17–21.

48. Туганова Т. Н. Распределение внеядрышковых аргентофильных гранул в альвеолярном эпителии легкого в процессе опухолевой трансформации / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова // Новости клин. цитологии России. – 2013. – Т. 1, № 2 (17). – С. 9–12.

49. Туганова Т. Н. Сравнительные данные цитогенетических показателей альвеолярного эпителия и опухолевых клеток при плоскоклеточном раке легкого / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова // Клин. онкология. – 2011. – № 3 (3). – С. 102–106.

50. Характеристика окрашенных серебром ядрышек опухолевых клеток из плевральной жидкости больных раком легкого / Н. Н. Мамаев, А. В. Журавлев, Л. Я. Жорно [и др.] // Цитология. – 1987. – Т. 29, № 3. – С. 303–308.

51. Цитологическая диагностика перитонеальных выпотов и смывов с органов брюшной полости / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова, М. Г. Махортова, С. В. Мариненко // Лаб. диагностика. – 2018. – № 1. – С. 33–38.

52. Цитологическая дифференциальная диагностика мезотелиомы, аденокарциномы и пограничной опухоли яичника по материалу жидкостей серозных полостей. / Л. С. Болгова, О. И. Алексеєнко, С. В. Мариненко [и др.] // Евразийский онкол. журн. – 2015. – № 4 (07). – С. 43–51.

53. Цитологические исследования экссудатов как первый этап морфологической диагностики опухолей яичника / С. В. Мариненко,

Л. С. Болгова, Т. М. Ярощук [и др.] // Нові аспекти в організації і проведенні цитологічної діагностики злоякісних пухлин : матеріали наук.-практ. семінару, 4 листопада 2013 р., Київ. – Клин. онкологія. – 2013. – № 4 (12). – С. 117–118.

54. Цитологический метод исследования выпотных жидкостей / Л. Б. Ключкина, О.А. Ерохина, Е.А. Гапанович [и др.] // Онкол. журн. – 2012. – Т. 6, № 1. – Р. 79–84.

55. Цитологічна об'єктивізована диференційна діагностика мезотеліоми та реактивного серозиту / С. В. Мариненко, Л. С. Болгова, Н. І. Мариненко [и др.] // Клин. онкологія. – 2018. – Т. 8, № 2 (30). – С. 133–137.

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

57. 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.

58. Челидзе П. В. Морфофункциональная классификация ядрышек / П. В. Челидзе, О.В. Зацепина // Успехи современ. биологии. – 1988. – Т. 105, № 2. – С. 252–268.

59. Чехун В. Ф. Физиологическая система соединительной ткани и ооцитогенез. III. Формирование резистентности к химиопрепаратам / В. Ф. Чехун, Н. М. Бережная // Онкология. – 2017. – Т. 19, № 3. (73) – Р. 156–170.

60. Шапиро Н. А. Цитологическая диагностика заболеваний легких: цветной атлас. Серия: Цветные атласы по цитологической диагностике. – М., 2005. – С. 52–86.

61. Ядрышкообразующие регионы хромосом рака молочной железы при различных методах неоадьювантной терапии / Т. Н. Туганова, Л. С. Болгова, О. И. Алексеенко [и др.] // Новости клин. цитологии России. – 2011. – Т. 15, № 3–4. – С. 15–18.

62. Ярема Р. Р. Інтраперитонеальний метастатичний каскад: молекулярні та клітинні чинники, механізми / Р. Р. Ярема // Онкологія. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 93–99.

63. Apoptosis and expression of argyrophilic nucleolus organizer regions in epithelial neoplasms of the larynx / С. V. Ribeiroa, A. C. Vasconcelosb,

J. de Souza [et al.] // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* – 2015. – V. 81, № 2. – P. 158–166.

64. Argyrophilic nucleolar organizer regions of thyroid lesions on fine needle aspiration smears / S. Chalise, S. Thapa, G. Sayami, A. Shrestha // *J. Pathol. Nepal.* – 2013. – V. 3, № 1. – P. 361–366.

65. Argyrophilic nucleolar organizing regions associated proteins in oncocytopathology / Recep Eroz // *Oncocytopathology.* – 2015. – V. 5. – P. 21–24.

66. Atkinson B. F. Atlas of diagnostic cytopathology / B. F. Atkinson. – Philadelphia : WB Saunders, 2004. – C. 106–149.

67. Bailey M. E. Ber-EP4 for differentiating adenocarcinoma from reactive and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. Comparison with carcinoembryonic antigen, B72.3 and Leu-M1 / M. E. Bailey, R. W. Brown // *Acta Cytol.* – 1996. – V. 40, № 6. – P. 12–16.

68. Bedrossian C. W. M. Malignant effusions: a multimodal approach to cytologic diagnosis / C. W. M. Bedrossian. – Tokyo, 1991. – P. 262–263.

69. Beer T. V. Ber EP4 and epithelial membrane antigen aid distinction of basal cell squamous cell and basosquamous carcinomas of skin / T. V. Beer, P. Shepherd, J. M. Theaker // *Histopathol.* – 2000. – V. 37. – P. 218.

70. Bono F. Prominent in situ component in a pleural malignant mesothelioma / F. Bono, M. Lombardi // *Int. J. Surg. Pathol.* – 2015. – V. 23. – P. 127–129.

71. Borderline Brenner tumor of the ovary: a case report with immunohistochemical and molecular study / R. De Cecio, M. Cantile, F. Collina [et al.] // *J. Ovarian Res.* – 2014. – V. 7. – P. 101.

72. Cakir E. Cytopathologic differential diagnosis of malignant mesothelioma, adenocarcinoma and reactive mesothelial cells: a logistic regression analysis / E. Cakir // *Diagn. Cytopathol.* – 2009. – V. 37. – P. 4–10.

73. Calretinin, thrombomodulin, CEA, and CD15: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma / C. E. Comin, L. Novelli, V. Boddi [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2001. – V. 32. – P. 529–536.

74. CD163+CD14+ macrophages, a potential immune biomarker for malignant pleural effusion / F. Wang, L. Yang, Q. Gao [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – V. 64, № 8. – P. 965–976.

75. Churg A. New markers for separating benign from malignant mesothelial proliferations: are we there yet? / A. Churg, B. S. Sheffield, G. F. Salle // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2016. – V. 140. – P. 318–321.

76. Churg A. The separation of benign and malignant mesothelial proliferations / A. Churg, F. Galateau-Salle // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2012. – V. 136, № 10. – P. 1217–1226.

77. Collins C. L. Thrombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma / C. L. Collins, N. G. Ordonez, R. Schaefer // *Am. J. Pathol.* – 2010. – V. 141. – P. 827–833.
78. Combined use of novel epithelial (MOC-31) and mesothelial (HBME-1) immunohistochemical markers for optimal first line diagnostic distinction between mesothelioma and metastatic carcinoma in pleura / C. Gonzalez-Lois, C. Ballestin, M. T. Sotelo [et al.] // *Histopathology.* – 2001. – V. 38. – P. 528–534.
79. Comin C. E. H-caldesmon, calretinin, estrogen receptor, and Ber-EP4: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating epithelioid peritoneal mesothelioma from serous papillary carcinoma of the ovary / C.E. Comin, C. Saieva, L. Messerini // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2007. – V. 31, № 8. – P. 1139–1148.
80. Cytologic Features and Immunocytochemical Profiles of Malignant Effusions with Metastatic Papillary Thyroid Carcinoma: A Case Series from a Single Institution / M.n Lew, J. C. Pang, M. H. Roh, X. Jing // *Acta Cytologica.* – 2015. – V. 59. – P. 412–417.
81. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications / Dabbs D. J. – 3rd ed. – Pittsburgh, 2010. – P. 426–435.
82. Davidson B. The role of desmin and N-cadherin in effusion cytology: a comparative study using established markers of mesothelial and epithelial cells / B. Davidson, S. Nielsen // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2001. – V. 25, № 11. – P. 1405–1412.
83. Dejmek A. Reactivity of six antibodies in effusions of mesothelioma, adenocarcinoma and mesotheliosis: stepwise logistic regression analysis / A. Dejmek, A. Hjerpe // *Cytopathology.* – 2000. – V. 11, № 1. – P. 8–17.
84. Derenzini M. Silver-stained nucleolar organizer regions (AgNOR) / M. Derenzini, D. Trere // *Pathologica.* – 2001. – V. 93, № 2. – P. 99–105.
85. Dhingra H. Silver stained Nucleolar organizer regions in nonneoplastic and neoplastic lesions of endometrium / H. Dhingra, S. Alva // *Sch. J. App. Med. Sci.* – 2016. – V. 4, № 1A. – P. 47–51.
86. Diagnostic accuracy of Ber-EP4 for metastatic adenocarcinoma in serous effusions: a meta-analysis / B. Wang, D. Li, X. Ou [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – V. 9, № 9. – P. 707–741.
87. Diagnostic accuracy of calretinin for malignant mesothelioma in serous effusions: a meta-analysis / D. Li, B. Wang, H. Long, F. Wen // *Sci. Rep.* – 2015. – V. 7, № 1. – P. 9507.
88. Diagnostic and prognostic significance of AgNOR counts in radiotherapy treated squamous cell carcinoma of the cervix / K. Akhtar, G. Mehdi, V. Maheshwari [et al.] // *J. Obstet. Gynecol. India.* – 2005. – V. 55, № 2. – P. 163–166.

89. Diagnostic performance of CTLA-4, carcinoembryonic antigen and CYFRA 21-1 for malignant pleural effusion / M. Chen, S. Xie, C. Wan [et al.] // *J. Postgrad. Med.* – 2017. – V. 129, № 6. – P. 644–648.
90. Diagnostic Usefulness of MUC1 and MUC4 for Distinguishing between Metastatic Adenocarcinoma Cells and Reactive Mesothelial I Cells in Effusion Cell Blocks / J. S. Cho, G. E. Kim, J. S. Lee [et al.] // *Acta Cytologica.* – 2013. – V. 57. – P. 377–383.
91. Diagnostic utility of serum and pleural fluid carcinoembryonic antigen, and cytokeratin 19 fragments in patients with effusion from nonsmall cell lung cancer / S. K. Sharma, S. Bhat, V. Chandel [et al.] // *J. Carcinog.* – 2015. – V. 27. – P. 7–14.
92. Effectiveness of mesothelin family proteins and osteopontin for malignant mesothelioma / I. Pantazopoulos, P. Boura, T. Xanthos, K. Syrigos // *Eur. Respiratory J.* – 2013. – V. 41. – P. 706–715.
93. Evaluation of predictive value of pleural CEA in patients with pleural effusions and histological findings. – P. A prospective study and literature review / R. Tozzoli, S. M. Basso, F. D'Aurizio [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2016. – V. 49. – P. 1227–1231.
94. Evaluation of the phenotype pattern of macrophages isolated from malignant and non-malignant pleural effusions / M. Kaczmarek, A. Nowicka, M. Kozłowska [et al.] // *Tumor Biol.* – 2011. – V. 32. – P. 1123–1132.
95. Exposure to cigarette smoke alters AgNOR number and HIF-1 α expression in colorectal tubular adenocarcinoma in rats / L. O. Trivilin, D. C. Cassiano, S. O. Mendes [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2017. – V. 10, № 3. – P. 3822–3829.
96. Expression of thrombomodulin, calretinin, cytokeratin 5/6, D2-40 and WT-1 in a series of primary carcinomas of the lung: an immunohistochemical study in comparison with epithelioid pleural mesothelioma / C. E. Comin, L. Novelli, A. Cavazza [et al.] // *Tumori.* – 2014. – V. 100. – P. 559–567.
97. Galateau-Salle F. Epithelioid mesothelioma / F. Galateau-Salle, A. Churg, V. Roggli. – 4 th ed. – Lyon : IARC Press, 2015. – P. 156–164.
98. Gheryani N. A. Nucleolar organizer regions (AgNORs) as a proliferative index in benign, premalignant and malignant colorectal lesions / N. A. Gheryani, H. Elmati // *Int. J. Med. Health Res.* – 2017. – V. 3. – P. 62–68.
99. Gibas E. S. Cytology: diagnostic principles and clinical correlates / E. S. Gibas, S. B. Ducatman. – 4-ed. – London, 2003 – P. 519–532.
100. Goodpasture C. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining / C. Goodpasture, S.E. Bloom // *Chromosoma.* – 1975. – V. 53, № 1. – P. 37–50.
101. Gray W. Diagnostic cytopathology / W. Gray, G.T. McKee. – London : Churchill Livingstone, 2003. – P. 135–233.

102. Grefte J. M. M. Improved identification of malignant cells in serous effusions using a small, robust panel of antibodies on paraffin-embedded cell suspensions / J. M. M. Grefte // *Acta Cytol.* – 2008. – V. 52, № 1. – P. 35–44.

103. Guidelines for the Cytopathologic Diagnosis of Epithelioid and Mixed-Type Malignant Mesothelioma. Complementary statement from the International Mesothelioma Interest Group, also endorsed by the International Academy of Cytology and the Papanicolaou Society of Cytopathology / A. Hjerpe, V. Ascoli, C. W.M. Bedrossian [et al.] // *Acta Cytologica.* – 2015. – V. 59. – P. 2–16.

104. Gulia S. P. The Role of Silver Staining Nucleolar Organiser Regions (AgNORs) in Lesions of the Oral Cavity / S. P. Gulia, E. Sitaramam, K. P. Reddy // *J. Clin. Diagnos. Res.* – 2011. – V. 5, № 5. – P. 1011–1015.

105. Hasteh F. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions / F. Hasteh, G. Y. Lin // *Cancer Cytopathol.* – 2010. – V. 118. – P. 90–96.

106. Henderson D. W. Challenges and controversies in the diagnosis of mesothelioma. Cytology-only diagnosis, biopsies, immunohistochemistry, discrimination between mesothelioma and reactive mesothelial hyperplasia, and biomarkers / D. W. Henderson, G. Reid, S. C. Kao // *J. Clin. Pathol.* – 2013. – V. 66. – P. 847–853.

107. Howell W. M. Controlled silver staining of nucleolar regions with protective colloidal developer: a one step method / W. M. Howell, D. A. Black // *Experientia.* – 1980. – V. 36. – P. 1014.

108. Husain A. N. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group / A. N. Husain, T. Colby // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2013. – V. 137. – P. 647–667.

109. Husain A. N. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: a consensus statement from the international mesothelioma interest / A. N. Husain // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2009. – V. 133, № 8. – P. 1317–1331.

110. Husain A. N. How useful is GLUT-1 in differentiating mesothelial hyperplasia and fibrosing pleuritis from epithelioid and sarcomatoid mesotheliomas? An international collaborative study / A. N. Husain, M. K. Mirza // *Lung Cancer.* – 2014. – V. 83. – P. 324–328.

111. Hyun T. S. The diagnostic utility of D2-40, calretinin, CK5/6, desmin and MOC-31 in the differentiation of mesothelioma from adenocarcinoma in pleural effusion cytology / T. S. Hyun, M. Barnes, Z. L. Tabatabai // *Acta Cytol.* – 2012. – V. 56, № 5. – P. 527–532.

112. Insulin-Like Growth Factor-II mRNA-Binding Protein 3 Expression in Effusion Cytology: A Marker for Metastatic Adenocarcinoma Cells and a Potential

Prognostic Indicator in Gastric Adenocarcinoma / H. J. Kim, G. E. Kim, J. S. Lee [et al.] // *Acta Cytologica*. – 2014. – V. 58. – P. 167–173.

113. Irwin G. W. Well-differentiated papillary mesothelioma. – P. peritoneal implants are not always metastases in the presence of cancer / G. W. Irwin, A. Ervine, J.A. Kennedy // *Scott. Med. J.* – 2014. – V. 59, № 1. – P. 18–21.

114. Khan M. R. Prevention of CCL4-Induced oxidative damage in adrenal gland by *digera muricata* extract in rat / M. R. Khan, T. Y. Pak // *J. Pharm. Sci.* – 2011. – V. 24, № 4. – P. 469–473.

115. King J. E. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data / J. E. King, N. Thatcher, C. A. Pickering // *Histopathology*. – 2006. – V. 48. – P. 223–232.

116. Korczynski P. Diagnostic utility of pleural fluid and serum markers in differentiation between malignant and non-malignant pleural effusions / P. Korczynski // *Eur. J. Med. Res.* – 2009. – V. 14 (suppl. 4). – P. 128–133.

117. Koss L.G. Aspiration biopsy cytologic bases / L.G. Koss, S. Woyke, W. Oeszewski. – New York : Igaku-Shoin, 1992. – 742 p.

118. Liao N. D. Glucose Transporter 1 Protein Detected by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunocytochemistry A Useful Diagnostic Tool for Malignant Pleural Effusions / N. D. Liao, T. A. Chiang, W. Y. Lee // *Cancer Cytopathology*. – 2013. – V. 121, № 12. – P. 695–702.

119. Likovsky Z. Further studies on the cytochemistry of the standardized silver staining of interphase nucleoli in smear preparation of Yoshida ascitic sarcoma cells in rats / Z. Likovsky, K. Smetana // *Histochemistry*. – 1981. – V. 72, № 2. – P. 301–313.

120. Malignant mesothelioma in situ / A. Churg, H. Hwang, L. Tan [et al.] // *Histopathology*. – 2018. – V. 72. – P. 1033–1038.

121. Matsui S. Differential staining of nucleolus organizers in mammalian chromosomes / S. Matsui, M. Sasaki // *Nature*. – 1973. – V. 246, № 1. – P. 148–150.

122. Michael C. W. The implementation of liquid-based cytology for lung and pleural-based diseases / C. W. Michael, C. C. Bedrossian // *Acta Cytol.* – 2014. – V. 58. – P. 563–573.

123. Montanaro L. Nucleolus, Ribosomes, and Cancer / L. Montanaro, D. Treré, M. Derenzin // *Am. J. Pathol.* – 2008. – V. 173, issue 2. – P. 301–310.

124. Nepal N. Evaluation of AgNoR scores in aspiration cytology smears of breast lesions and their correlation with histopathology / N. Nepal, O. P. Talwar // *J. Pathol. Nepal*. – 2014. – V. 4. – P. 649–653.

125. New Diagnostic Technique for Rapid Fluorescence Immunocytochemical Staining of Adenocarcinoma and Mesothelial Cells Using

Liquid-Based Cytology / A. Morimoto, A. Ito, K. Hashimoto [et al.] // *Acta Cytologica*. – 2014. – V. 58. – P. 461–468.

126. Pan C. C. The diagnostic utility of MOC31, BerEP4, RCC marker and CD10 in the classification of renal cell carcinoma and renal oncocytoma: an immunohistochemical analysis of 328 cases / C. C. Pan, P. C. Chen // *Histopathology*. – 2004. – V. 45, № 5. – P. 452–459.

127. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart / W. D. Travis, E. Brambilla, H. Konrad [et al.]. – Lyon : IARC Press, 2004. – 289 p.

128. PAX2 and PAX8: Useful Markers for Metastatic Effusions / L. Waters, S. Crumley, L. Truong [et al.] // *Acta Cytologica*. – 2014. – V. 58. – P. 60–66.

129. Pereira T. C. The diagnosis of malignancy in effusion cytology : a pattern recognition approach / T. C. Pereira // *Adv. Anat. Pathol.* – 2006. – V. 13, № 4. – P. 174–184.

130. Prognostic significance of AgNOR Proliferative Index in gallbladder carcinoma – A potential alternative to frozen section analysis / S. Gupta, S. Misra, M. Goya [et al.] // *J. Liver*. – 2013. – V. 3, № 1. – P. 2167.

131. Prognostic Significance of Two Dimensional AgNOR Evaluation in Local Advanced Rectal Cancer Treated with Chemoradiotherapy / M. Gundog, O. G. Yildiz, N. Imamoglu [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2015. – V. 16, № 18. – P. 8155–8161.

132. Reetesh K. P. MOC-31 Exhibits Superior Reactivity Compared With Ber-EP4 in invasive lobular and ductal carcinoma of the breast a tissue microarray study / K. P. Reetesh, R. B. West // *Appl. Immun. Mol. Morphol.* – 2009. – V. 17, № 3. – P. 763–771.

133. Roberts F. Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malignant mesothelioma. A study of thirteen antibodies / F. Roberts, C. M. Harper // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2001. – V. 116, № 2. – P. 253–262.

134. Role of argyrophilic nucleolar organizer region staining in identification of malignant cells in effusion / M. Gill, U. Singh, Q. S. Mahapatra [et al.] // *J. Cytol.* – 2011. – V. 28, № 4. – P. 191–195.

135. Sato A. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium / A. Sato, I. Torii // *Mod. Pathol.* – 2010. – V. 23. – P. 1458–1466.

136. Shield P. W. The value of calretinin and cytokeratin 5/6 as markers for mesothelioma in cell block preparations of serous effusions / P. W. Shield, K. Koivurinne // *Cytopathology*. – 2008. – V. 19. – P. 218–223.

137. Significance of AgNOR count in differentiating malignant cells from reactive mesothelial cells in serous effusions / K. Sujathan, S. Kannan, K. Pillai [et al.] // *Acta Cytol.* – 1996. – V. 40, № 4. – P. 724–728.

138. Silver-staining of the nucleolar organiser-regions (NORS). Application to the study of the nucleolar structure and usefulness in pathology / D. Ploton, M. Menager, Ch. Lechki [et al.] // *Ann. Pathol.* – 1988. – V. 8, № 3. – P. 248–252.
139. Simultaneous occurrence of well differentiated papillary mesothelioma and endometrioid ovarian cancer: A case report / S. E. Gill, S. M. Ruple, C.M. Wolff [et al.] // *Gynecol. Oncol. Case Rep.* – 2013. – V. 23, № 4. – P. 53–55.
140. Singhi A. D. The prognostic significance of BAP1, NF2, and CDKN2A in malignant peritoneal mesothelioma / A. D. Singhi, A. M. Krasinskas, H. A. Choudry // *Mod. Pathol.* – 2016. – V. 29. – P. 14–24.
141. Su Y. C. Role of TTF-1, CK20 AND CK7 Immunohistochemistry for diagnosis of primary and secondary lung adenocarcinoma / Y. C. Su, Y. C. Hsu, C. Y. Chai // *Kaohsiung J. Med. Sci.* – 2006. – V. 22, № 1. – P. 14–19.
142. Syed Z. A. Serous Cavity Fluid and Cerebrospinal fluid cytopathology / Z. A. Syed, S.C. Edmund. – New York : Springer, 2012. – P. 35–75.
143. The Role of Argyrophilic Nucleolar Organizer Region (AgNOR) Study in Cytological Evaluation of Fluids, Especially for Detection of Malignancy / S. Karki, A. Jha, G. Sayami // *Kathmandu University Med. J.* – 2012. – V. 10, № 1. – P. 44–47.
144. Thrombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma / C. L. Collins, N. G. Ordonez, R. Schaefer [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1992. – V. 141. – P. 827.
145. Thyroid Transcription Factor 1 and Napsin A Double Staining in Lung Adenocarcinoma in Pleural Fluid / L. Liu, C. Cohen, M. T. Siddiqui // *Acta Cytologica.* – 2012. – V. 56. – P. 425–430.
146. Transcription Expression and Clinical Significance of TTF-1 mRNA in Pleural Effusion of Patients With Lung Cancer / B. Jiang, G. P. Wu, Y. J. Zhao, S. C. Wang // *Diagn. Cytopathology.* – 2008. – V. 36, № 12. – P. 849–854.
147. TTF-1 and napsin A on cell blocks and supernatants of pleural fluids for labeling malignant effusions / J. Porcel, R. Palma, S. Bielsa [et al.] // *Respirology.* – 2015. – V. 20. – P. 831–833.
148. Validation of a minimal panel of antibodies for the diagnosis of malignant pleural mesothelioma / S. C. Kao, K. Griggs, K. Lee [et al.] // *Pathology.* – 2011. – V. 43, № 4. – P. 313–317.
149. Value of PAX8 and WT1 Immunostaining in Confirming the Ovarian Origin of Metastatic Carcinoma in Serous Effusion Specimens / L. Zhao, M. Guo, N. Sneige [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2012. – V. 137. – P. 304–309.
150. Wang L. M. Diagnostic accuracy of BRCA1-associated protein 1 in malignant mesothelioma: a meta-analysis / L. M. Wang, Z. W. Shi, J. L. Wang // *Oncotarget.* – 2017. – V. 8. – P. 68863–68872.

151. Well-differentiated papillarymesothelioma with invasive foci / A. Churg, T. Allen, A. C. Borczuk [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2014. – V. 38, № 7. – P. 990–998.

152. Wong H. H. Immunohistochemical features of the gastrointestinal tract tumors / H. H. Wong, P. Chu // *J. Gastrointest. Oncol.* – 2012. – V. 3 (3). – P. 262–284.

153. WT1, Estrogen Receptor, and Progesterone Receptor as Markers for Breast or Ovarian Primary Sites in Metastatic Adenocarcinoma to Body Fluids / B. H. Lee, J. L. Hecht, J. L. Pinkus, G. S. Pinkus // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2002. – V. 117. – P. 745–750.

154. Yaziji H. Evaluation of 12 antibodies for distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma: identification of a three-antibody immunohistochemical panel with maximal sensitivity and specificity / H. Yaziji // *Mod. Pathol.* – 2006. – V. 19, № 4. – P. 514–523.

155. Zhu W. WT1, Monoclonal CEA, TTF1, and CA125 Antibodies in the Differential Diagnosis of Lung, Breast, and Ovarian Adenocarcinomas in Serous Effusions / W. Zhu, C. W. Michael // *Diagn. Cytopathology.* – 2007. – V. 35, № 6. – P. 370–375.

ДОДАТОК 1

СПИСОК НАУКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати 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 // Клин. 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.)*
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 // Онкология. – 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 // Клин. 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 // *Клин. онкологія*. – 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 // *Онкологія*. – 2018. – Т. 20, № 1 (75). – С. 45–47. (*Особистий внесок: проведення цитологічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.*)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

9. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію : метод. рекомендації / Л. С. Болгова С. В. Мариненко, Т. М. Туганова, О. І. Алексєєнко, В. С. Свінцицький, 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., Алексєєнко 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. Алексєєнко, 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. онкологія*. – 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 асцитичної рідини / 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.

ДОДАТОК 2

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Усні доповіді

– «Цитологические исследования экссудатов как первый этап морфологической диагностики опухолей яичника» – Науково-практичний семінар «Нові аспекти в організації і проведенні цитологічної діагностики злоякісних пухлин» (4 листопада 2013 р., Київ).

– «Роль иммуноцитохимического метода в дифференциальной диагностике первичных и вторичных поражений серозных оболочек» – Науково-практична конференція «Сучасні методи діагностики і лікування злоякісних пухлин» (для молодих вчених) (28 березня 2013 р., Київ).

– «Дифференциальная цитологическая диагностика пролиферирующего мезотелия, аденокарциномы и мезотелиомы» – Семінар, присвячений 115-річчя з дня народження академіка Р.Є. Кравецького «Актуальні питання цитологічної діагностики пухлин» (1 грудня 2014 р., Київ).

– «Необходимость применения иммуноцитохимических исследований при цитологической диагностике серозных выпотов» – XIII з'їзд онкологів та радіологів України (2016 р., Київ).

– «Цитологічна диференційна діагностика реактивних та злоякісних уражень мезотелія» – Науково-практична конференція «Сучасні підходи до профілактики, діагностики та лікування злоякісних пухлин» (25–27 квітня, 2017 р., Київ).

ДОДАТОК 3

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ПП "ЛДЦ "Діліція"

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

«14» грудня 2018

Д.Ю. Єлізарова

Акт впровадження

1. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію
2. Найменування пропозиції для впровадження 1).
3. Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
установа-розробник, її поштова адреса,
Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., Свінціцький В.С., Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
4. Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІЛ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017
5. Впроваджено в 2018 р. ПП "ЛДЦ "Діліція"
6. Строки впровадження³⁾ з 12.03.2018 р. по 19.11.2018р.
7. Загальна кількість спостережень³⁾ 22
8. Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾ 12 %

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та своєчасної діагностики злоякісних новоутворень, (%) - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень, (%) Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих, (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів);	15%	12%
2.	Соціальні: - покращання якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності), (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%);	20%	18%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

8. Зауваження, пропозиції Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотелієм.

«12» грудня 2018 р.

Зав. цитологічної лабораторії ПП "ЛДЦ "Діліція"
відповідальний за впровадження
Л.І. Єлізарова

Примітка:

- 1). Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських державних інстрацій
- 2). Заповнюють розробники
- 3). Заповнюють ті, хто впроваджує розробку
- 4). В акт друкуються тільки ті показники, на які впливає запроваджена розробка.



"Затверджую"
 Головний лікар КУ "МОД"ЗОР
 О.А.Рябіков

"02" листопада 2018 р.

1. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію
 найменування пропозиції для впровадження
2. Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
 установа-розробник, її поштова адреса,
 Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексєнко О.І., Свінціцький В.С., Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
3. Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІІ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017 _____
4. Впроваджено в 2018 р. в комунальній установі «Мелітопольський онкологічний диспансер» Запорізької обласної Ради.
5. Строки впровадження³⁾ з 01.01.2018 р. по 31.07.2018р.
6. Загальна кількість спостережень³⁾ __15_____
7. Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾ 7%

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та своєчасної діагностики злоякісних новоутворень, (%) - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень, (%) Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих, (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів);	15%	7%
2.	Соціальні: - покращання якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності), (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%);	20%	15%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

8. Зауваження, пропозиції _____ Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотелієм.

„02” листопада 2018 р.

Завідувач централізованої цитологічної лабораторії

О.В.Шелудяк

відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.по батькові

Примітка:

- 1) Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських держад мі нстрацій
- 2) Заповнюють розробники
- 3) Заповнюють ті, хто впроваджує розробку
- 4) В акт друкуються тільки ті показники, на які впливає запроваджена розробка.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Головний лікар

КУ «Запорізька міська клінічна

лікарня № 10»

С.Г. Подлужний

«17» грудня 2018

код ЄДРПОУ
05498708

ОЛЕНА КИРІЧ

М. ЗАПОРІЖЖЯ

Акт впровадження

1. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію
2. Найменування пропозиції для впровадження 1).
3. Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
установа-розробник, її поштова адреса,
Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексеєнко О.І., Свінцицький В.С., Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
4. Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІІ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017
5. Впроваджено в 2018 р. КУ "Запорізька міська клінічна лікарня № 10»
6. Строки впровадження³⁾: з 02.04.2018 р. по 21.12.2018р.
7. Загальна кількість спостережень³⁾: 14
8. Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾: 9 %

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та своєчасної діагностики злоякісних новоутворень, (%); - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень, (%); Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих, (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів);	15%	9%
2.	Соціальні: - покращання якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності), (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%);	20%	16%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

8. Зауваження, пропозиції Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотелієм.

«14» грудня 2018 р.

Зав. централізованої цитологічної лабораторії
КУ «Запорізька міська клінічна лікарня № 10»
відповідальний за впровадження

Л.І. Єлізарова

Примітка:

1) Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських держадміністрацій

2) Заповнюють розробники

3) Заповнюють ті, хто впроваджує розробку

4) В акт вноситься тільки ті показники на які впливає запроваджена розробка

"Затверджую"
керівник установи в якій здійснено
впровадження
Головний лікар КНП «Чернігівська
міська лікарня №2» - ЧМР
В.П.Фаль
"22" жовтня 2018 р.

Акт впровадження

- Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію
найменування пропозиції для впровадження 1).
- Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
установа-розробник, її поштова адреса
Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексеєнко О.І., Свінціцький В.С., Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
- Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІЛ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017
- Впроваджено в 2018 р. КНП «Чернігівська міська лікарня №2» Чернігівської міської ради
Найменування лікувально-профілактичної установи 3).
- Строки впровадження³⁾: з 01.02.2018 р. по 31.08.2018р.
- Загальна кількість спостережень³⁾: 20
- Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾: 10 %

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та своєчасної діагностики злоякісних новоутворень. (%); - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень. (%); Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих. (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів).	15%	10%
2.	Соціальні: - покращення якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності). (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%); - повернення до суспільно-корисної праці, (%).	20%	17%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

- Зауваження, пропозиції _____ Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотелієм.
„19,, жовтня 2018 р. Зав. патологоанатомічним відділенням _____ канд.мед.наук С.А.Андрєєв
відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.по батькові

Примітка

- Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських держадміністрацій
- Заповнюють розробники
- Заповнюють ті, хто впроваджує розробку
- В акт друкуються тільки ті показники, на які впливає запроваджена розробка.

"Затверджую"

Головний лікар Київського міського клінічного онкологічного центру
Клюсов С.М.



2019 р.

Акт впровадження

1. Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотеліома
2. Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
установа-розробник, її поштова адреса,
Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексеєнко О.І., Свінцицький В.С.,
Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
3. Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІІ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017 _____
4. Впроваджено в 2018 р. в Київському міському клінічному онкологічному центру
5. Строки впровадження³⁾ з 28.08.2018 р. по 17.12.2018р.
6. Загальна кількість спостережень³⁾ 25 _____
7. Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾ 12 %

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та свчасної діагностики злоякісних новоутворень, (%); - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень, (%); Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих, (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів);	15%	13%
2.	Соціальні: - покращання якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності), (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%);	20%	16%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

8. Зауваження, пропозиції _____ Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотеліом.

„ 8 „ 02 2019 р. Зав. цитологічної лабораторії Київського міського клінічного онкологічного центру
В.М. Краснопольська відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.по батькові

Примітка:

- 1). Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських держад м істрації
- 2). Заповнюють розробники
- 3). Заповнюють ті, хто впроваджує розробку
- 4). В акт друкуються тільки ті показники, на які впливає запроваджена розробка.



Головний лікар Національного інституту раку
Канд. біол. н. П. Безносенко

_____ 2019 р.

Акт впровадження

- Сучасна цитоморфологічна диференційна діагностика аденокарциноми, мезотеліоми та реактивного мезотелію
- Національний інститут раку, м.Київ, вул. Ломоносова, 33/43
установа-розробник, її поштова адреса,
Болгова Л.С., Мариненко С.В., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., Свінціцький В.С., Борисюк Б.О., Вільгаш А.М. Прізвище, ім'я по батькові авторів.
- Джерело інформації: МР (методичні рекомендації), ІЛ (інформаційний лист), НОВ (Нововведення) Методичні рекомендації, Київ, 2017 _____
- Впроваджено в 2018 р. в Національному інституті раку
- Строки впровадження³⁾: з 28.08.2018 р. по 17.12.2018р.
- Загальна кількість спостережень³⁾: 30
- Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі інформації³⁾
15 %

№	Показники ефективності ⁴⁾	За даними	
		розробників ¹⁾	організації, що впроваджує ³⁾
1.	Клінічні показники: - підвищення рівня ранньої та своєчасної діагностики злоякісних новоутворень, (%) - підвищення рівня морфологічної верифікації злоякісних новоутворень, (%) Результати лікування: - безпосередні (оцінка регресії новоутворень за шкалою ВООЗ),(%); - досягнення клінічної ремісії (тривалість безрецидивного періоду); - віддалені результати лікування; - зменшення ускладнень та функціональних порушень, (%); - скорочення числа післяопераційних ускладнень, (%); - зменшення лікарняної летальності, (%); - скорочення строків перебування в стаціонарі (днів); - скорочення строків амбулаторного обстеження хворих, (днів); - скорочення строків амбулаторного лікування хворих, (днів);	15%	14%
2.	Соціальні: - покращання якості життя хворого; - збільшення тривалості життя онкологічного хворого (виживаності), (місяців, років); - зменшення ступеня інвалідизації, (%);	20%	19%
3.	Економічні: (визначають вплив впровадження нових технологій на сукупні витрати лікувально-діагностичного процесу, якщо це обґрунтовано конкретними розрахунками у гривнях).		

8. Зауваження, пропозиції _____ Методика дозволяє в складних випадках проведення диференційної діагностики між аденокарциномою, мезотеліомою та реактивним мезотелієм.

„04 „ 04 _____ 2019 р. Зав. лабораторії цитологічної діагностики Національного інституту раку
_____ канд.біол.н. Е. О. Логінова відповідальний за впровадження посада, підпис,
П.І.по батькові

Примітка:

- Узагальнені акти впровадження затверджує заст. начальника управління охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських держад мі інстрацій
- Заповнюють розробники
- Заповнюють ті, хто впроваджує розробку
- В акт друкуються тільки ті показники, на які впливає запроваджена розробка.