

Л.С. Болгова, А.Ф. Шипко

Два методи — цитологічний і гістологічний — для оптимальної морфологічної верифікації пухлин

Національний інститут раку, Київ, Україна

Одержано 10.08.2022

Прийнято до друку 22.08.2022

DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.45-1.28799

Морфологічна діагностика пухлин відіграє вирішальну роль у визначенні тактики лікування, від чого залежить ефективність терапії і прогноз. Зокрема, загальновідомо, що цитологічна діагностика передракових станів і своєчасне лікування таких пацієнтів часто дозволяють запобігти подальшому розвитку раку, наприклад, при захворюваннях шийки матки така тактика спрацьовує у 80–85% хворих. У Європі і в США давно використовують обидва морфологічні методи для верифікації пухлин, що можна пов'язати з вищою, ніж в Україні, виживаністю пацієнтів зі злоякісними пухлинами. Морфологічні відділи в згаданих країнах складаються з цитологічних і гістологічних лабораторій, що дозволяє під час формулювання висновку про патологічний процес враховувати максимальну кількість клітинних і тканинних морфологічних ознак. У європейських країнах патологоанатомів приймають на роботу лише після засвоєння спеціального курсу з цитологічної діагностики. Велика кількість різних нозологічних форм пухлин, невеликі їх біопсійні шматочки часто викликають значні складнощі під час гістологічної оцінки. Використання двох морфологічних методів — цитологічного і гістологічного — дозволяє вивчити максимальну кількість структурних ознак клітин і тканин, що сприятиме точнішій верифікації пухлинного процесу.

Ключові слова: морфологічна діагностика пухлин; цитологічний метод; гістологічний метод.

З історії розвитку морфологічної діагностики відомо, що вивчення клітинного матеріалу ученими-мікроскопістами на багато десятиліть випередило аналіз тканинного, який дозволяє отримати достовірні результати. З удосконаленням мікроскопів і техніки досліджень став можливим перехід від вивчення окремих клітин до визначення структури тканин. У наш час обидва методи мають широке визнання в медичній практиці всього цивілізованого світу. У країнах Європи і США морфологічні відділи складаються з цитологічних і гістологічних лабораторій, що дозволяє під час формулювання морфологічного висновку враховувати і клітинні, і тканинні структурні ознаки досліджуваного матеріалу для більш точної їх оцінки.

В онкологічній практиці верифікація пухлинних захворювань має вирішальне значення для визначення тактики лікування, від чого залежить його ефективність. Первинна морфологічна діагностика в онкологічному закладі відбувається за допомогою цитологічного методу за матеріалами ексfolіативного (скребок з поверхні новоутворення на шкірі, слизових оболонках порожнини рота, бронхів, шийки матки, виділення із соска, серозна рідина з грудної чи черевної порожнини і т.п.) чи пункційного (пунктати пухлин, які розгалужуються в будь-якому органі чи тканині на різній глибині) способів його одержання.

Інформативний діагностичний матеріал дозволяє цитопатологу зробити висновок про наявність пухлинного процесу і визначити його морфологічну суть у день обстеження пацієнта.

У медичній практиці цитопатологи вивчають і оцінюють більше ніж 50 цитоморфологічних ознак клітин, їх складових і структурних комплексів, що дозволяє діагностувати доброякісне (фіброаденома, кіста, туберкульоз, саркоїдоз та ін.) або злоякісне ураження (рак чи саркома) та визначити гістологічний тип (плоскоклітинний, залозистий чи інший рак, саркома та її генез). У переважній більшості випадків визначається ступінь зрілості пухлинних клітин: мало-, помірно- чи високодиференційований. В інформативному матеріалі цитоморфологічні ознаки пухлин виглядають виразними і чіткими, що дозволяє виявити максимальну кількість ознак для ідентифікації патологічного процесу. Це дало підґрунтя європейському класику з цитологічної діагностики Р.Л. Cardozo [1] визначити одним із завдань методу цитологічної діагностики — контроль

за гістологічними дослідженнями. Винятково висока оцінка цитологічного методу всесвітньовідомим фахівцем є базовою позицією в морфологічній діагностиці пухлин. Для порівняння двох морфологічних методів демонструємо мікрофотографії цитологічного (рис. 1) і гістологічного (рис. 2) препаратів залозистого раку. На рис. 1 очевидні переваги цитологічного методу в оцінці структурних ознак клітин пухлини для ідентифікації нозологічної форми. На рис. 2 визначаються особливості росту, його структурність та співвідношення різних комплексів пухлини. Сума всіх цитологічних і гістологічних ознак допомагає морфологу отримати більш повну характеристику пухлини під час визначення гістологічної форми, гістогенезу і ступеня диференціації.

Для правильної оцінки патологічного процесу в період опанування спеціальності чи в повсякденній діагностичній роботі цитопатологи і патологоанатоми звертаються до ряду монографій, посібників і атласів, в яких детально описано клітинні і тканинні ознаки доброякісних і злоякісних патологічних процесів різних органів, тканин епітеліального і мезенхіального генезу [2–14].

На наступному етапі обстеження пацієнта використовують гістологічний метод дослідження. Для цього отримують клаптик тканини з патологічного осередку. Іноді такий об'єм тканини буває надто малим і під час фіксації, наступного проведення через спирт, зрізи на мікромомі, формування зрізів на предметному скельці клітини, які розгалужуються по краях досліджуваного клаптика, відпадають (технічне приготування препарату, на який неможливо вплинути фахівцю) і в результаті патологоанатом отримує препарат, у якому досить часто недостатньо діагностичного матеріалу для формулювання висновку.

Щоб запобігти такому перебігу подій, необхідно перед тим, як опускати біопсійний клаптик пухлини у фіксувальний розчин (формалін), зробити з нього відбитки на предметне скельце для цитологічного дослідження. Така процедура не впливає на якість гістологічного препарату і на висновок гістолога в цілому. За відомими методиками в цитологічній лабораторії такий препарат фарбують протягом 30–40 хв і цитопатолог уже має можливість оцінити наявність патологічного процесу, а часто й діагностувати злоякісний процес і визначити, який

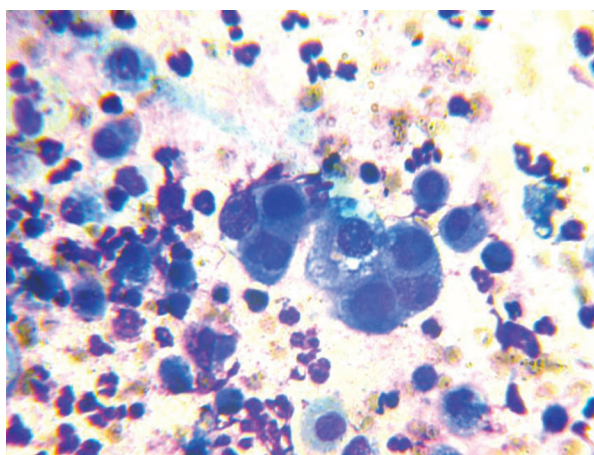


Рис. 1. Аденокарцинома. У центрі дві групи пухлинних клітин серед лейкоцитів. Цитологічний препарат. Паппенгейм, $\times 200$

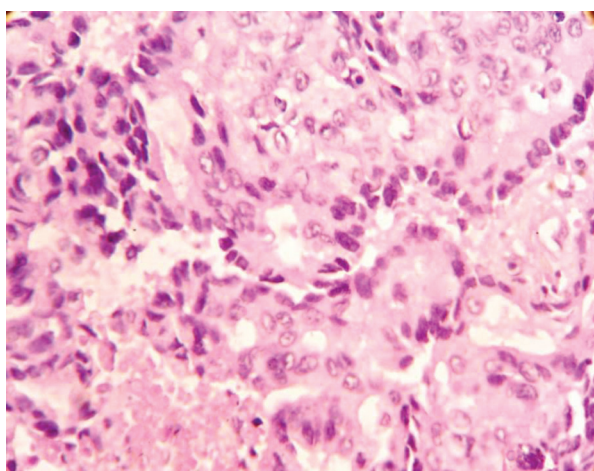


Рис. 2. Аденокарцинома. Гістологічний препарат. Гематоксилін і еозин, $\times 200$

саме. Тобто протягом однієї години за допомогою цитологічного методу можна верифікувати патологічний процес.

У той же час гістологічний висновок можна отримати протягом 2–3 днів (біопсійний матеріал) і 5–7 днів (операційний матеріал), а у разі необхідності строк виконання імуноцитохімічного дослідження збільшується на 1–2 дні, а імуногістологічного — на 3–5 і більше днів.

Велика різноманітність доброякісних і злоякісних пухлинних процесів, можливість первинного і вторинного ураження спонукали експертів-морфологів усього світу створити Міжнародні гістологічні класифікації ВООЗ, які включають надзвичайно велику кількість пухлинних процесів і видаються окремо за органами (грудна, щитовидна, підшлункова залози, печінка, шкіра та ін.), системами (дихальна, травна та ін.) чи тканинами (м'які, кісткові та інші мезенхімні, епітеліальні). Згаданими класифікаціями користуються і цитопатологи. Значна кількість онкоцитологічних форм, які необхідно верифікувати патологоанатому, змусила фахівців звернутися до цитологічного методу, за допомогою якого можна виявити додаткові ознаки, які можуть допомогти у визначенні гістологічного типу новоутворення і отримати більш повну характеристику. З цією метою ще в 80–90-ті роки минулого століття видано спеціальні посібники для морфологів [1, 8, 14].

Зазначимо, що морфологи світу давно прийшли до висновку, що використання двох морфологічних методів — цитоло-

гічного і гістологічного — допомагає отримати велику кількість ознак клітин і тканин, що дозволяє більш точно охарактеризувати нозологічну форму. Саме тому в країнах Західної Європи патологоанатома не зараховують на посаду, поки він не освоїв спеціальний курс з цитологічної діагностики.

Для підтвердження доцільності врахування цитологічних і гістологічних даних для оптимальної морфологічної діагностики пухлин різних локалізацій 18–19 липня 2022 р. в Лондоні відбувся «Tutorial «AN ALGORITHMIC APPROACH TO LIMIT TISSUE SAMPLES», під час якого було представлено доповіді щодо кореляції і врахування цитологічних і гістологічних даних під час діагностики пухлин різних органів за мінімальними біопсійними клаптиками. Такий підхід у морфологічній діагностиці є найбільш раціональним і дозволяє за сумою класичних цитологічних та гістологічних ознак більш точно сформулювати морфологічний висновок.

У разі виникнення ускладнень під час встановлення гістогенезу пухлини в морфологічній діагностиці використовують моноклональні антитіла (мкАТ) (принцип використання їх відомий ще з 40-х років минулого століття) або їх коктейлі, за допомогою яких у ряді випадків можна визначити генез пухлини, її проліферативну активність, якщо класичними методами це зробити неможливо. Але при цьому морфологу необхідно диференційовано підходити до вибору мкАТ і оцінки отриманих результатів [15].

Для адекватного використання мкАТ морфологам доводиться враховувати всі види антигенів, муцинів, клаудинів і катгеринів. Так, серед антигенів є специфічні, їх небагато, наприклад (CD3, CD20, Thyroglobulin і PSA), але більшість антигенів широкого спектра експресії, їх декілька. Розрізняють білінійні з атиповою експресією різних антигенів. Існують антигени з аберантною експресією, які часто не можуть допомогти в діагностиці.

Крім того, відомі муцини, яких нараховується 15 типів, що використовуються залежно від досліджуваного матеріалу і його гістологічної будови. Розрізняють 23 групи трансмембранних білків — клаудинів. Використовуються також кадгеріни, які експресуються на кальцій-залежних молекулах трансмембранної адгезії, пов'язаних із цитоскелетом молекули катеніну і утворюють комплекс катгерин-катенін, які поділяються на підкласи, що включають більше 100 різних типів залежно від тканини і типів клітин [15].

Складність використання і оцінки результатів з мкАТ можна продемонструвати на окремих прикладах. Так, TTF-1 (Thyroid transcription factor-1) дає позитивну реакцію в клітинах як у фолікулярній карциномі щитовидної залози, так і карциномі легені. Цитокератин 7 (СК7) — дає позитивну реакцію в клітинах залозистого раку різного походження — легені, стравоходу, шийки матки, але може давати позитивну реакцію і в клітинах плоскоклітинного раку або навіть в епітеліоїдному компоненті сировальної саркоми. У таких випадках використовують додатково ще одне або декілька антитіл. Іноді застосовують панель моноклоналів. Відомі напрацьовані імуногістохімічні алгоритми для диференційованої діагностики первинних і вторинних патологічних процесів. Існують скринінгові панелі. Найбільш часто використовують 13 алгоритмічних панелей антигенів для визначення гістогенезу пухлин. В основному це ядерні, цитоплазматичні та мембранні антитіла [15]. Крім генезу пухлин, надзвичайно важливо визначити характер росту — доброякісний чи злоякісний. Таких моноклоналів не існує. Відоме мкАТ Ki 67 — негістоновий протеїн, який експресується в активному клітинному циклі і є маркером клітинної проліферації, а не малігнізації. Кількісна його експресія свідчить про рівень проліферації клітин пухлини. Для різних гістологічних типів тканин у нормі і в різних пухлинах визначають характер експресії Ki67 в широкому діапазоні від 5 до 90% клітин. Тобто такий показник має відносне значення.

Ідентифікувати наявність злоякісного процесу можна шляхом визначення морфофункціональних типів ядерцевих організаторів хромосом. Це досить кропітка методика, але в науково-дослідній лабораторії цитологічної діагностики Національного інституту раку нами виконано відповідні завдання на матеріалах пухлин різних локалізацій: лімфатичних вузлів, грудної залози, шийки матки, печінки, підшлункової залози. Визначені активні ядерцеві організатори хромосом, характерні для злоякісних процесів, і відсутність їх — у доброякісних пухлинах. Характерні ознаки проведені за визначеними квантитативними показниками і характеризуються достовірністю.

Важливою ознакою в гістологічній діагностиці є збереження чи порушення структури органу, у якому розвивається пухлинний процес. Це має важливе значення у разі первинних уражень лімфатичних вузлів. Але відомий учений-онкоморфолог Д.І. Головін [4] зазначав, що при проліферації в лімфатичному вузлі порушення його структури може бути виражене більше, ніж при лімфомі. Тому ця ознака не завжди може допомогти гістологу у визначенні характеру ураження, тобто має місце проліферація чи злоякісний процес. У подібних випадках особливості клітинного складу і окремих його елементів, які більш повно можна вивчити за цитологічними препаратами, є вирішальним етапом для встановлення морфологічного діагнозу, а використання спеціальних мКАТ, генетичних аберрацій дозволяє на сучасному рівні визначити тип лімфом і їх особливості.

У якості висновку можна зазначити, що цю статтю можна було б не писати, зважаючи на те, що в економічно розвинених країнах світу давно дві морфологічні служби — цитологічна і гістологічна — працюють в одному руслі, враховуючи максимальну кількість показників обох методів, на основі яких формулюється найбільш об'єктивний морфологічний висновок. Такий підхід до морфологічної діагностики в медичній практиці багатьох державах давно став аксіомою. Але в онкологічних закладах України поки що такий спосіб, на жаль, не ввійшов у широку практику, що спонукало нас звернути на це увагу і більш детально розкрити ці питання.

Зважаючи на те, що Національний інститут раку є головною онкологічною установою в Україні, можна вважати, що морфологічна служба закладу має бути центром онкоморфологічної діагностики і працювати на високому сучасному академічному рівні, враховуючи всі клітинні і тканинні особливості пухлин, які визначаються двома морфологічними методами і обґрунтовують найбільш об'єктивний морфологічний висновок.

Крім того, сучасний рівень морфологічної науки передбачає уточнення молекулярно-біологічної, генетичної характеристики пухлин, що необхідно впровадити в поточну діагностику для призначення сучасної таргетної терапії.

Таким чином, для того, щоб установити всебічно обґрунтований морфологічний діагноз, необхідно враховувати комплекс усіх відомих методів дослідження: цитологічного, гістологічного, імуноцитохімічного, імуногістохімічного і молекулярно-біологічного, що забезпечить вибір адекватної ефективної терапії і буде сприяти покращенню прогнозу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cardoso, P. L. (1976). *Atlas of clinical cytology*. London: William Heinemann Medical Books.
2. Болгова, Л. С. (2021). *Цитоморфологічна діагностика пухлин людини*. Київ: Книга-плюс.

3. Волченко, Н. Н., & Борисова, О. В. (2018). *Диагностика злокачественных опухолей по серозны. Цитологический атлас*. Москва: ГЕОТАР-Медиа.
4. Головин, Д. И. (1975). *Атлас опухолей человека*. Ленинград: Медицина.
5. Краевский, Н. А., Смольяников, А. В., & Саркисов, Д. С. (1993). *Патолого-анатомическая диагностика опухолей человека* (1 т.). Москва: Медицина.
6. Краевский, Н. А., Смольяников, А. В., & Саркисов, Д. С. (1993). *Патолого-анатомическая диагностика опухолей человека* (2 т.). Москва: Медицина.
7. Лазарев, И. М. (1990). *Опухоли лимфатических узлов (цитологическая диагностика)*. Атлас. Кишинев: Штиинца.
8. Мельник, А. Н. (1983). *Цитоморфологическая диагностика опухолей*. Київ: Здоров'я.
9. Пальцев, М. А., & Аничков, Н. М. (2005). *Атлас патологии опухолей человека*. Москва: Медицина.
10. Петрова, А. С. (Ред.). (1985). *Цитологическая диагностика опухолей и предопухлевых процессов*. Москва: Медицина.
11. Титмуш, Э., & Адамс, К. (2009). *Шейка матки. Цитологический атлас*. Москва: Практическая медицина.
12. Шабалова, И. П., & Касоян, К. Т. (2016). *Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки. Цитологический атлас*. Москва: Триада.
13. Шапиро, Н. А., & Батороев, Ю. К. (2015). *Цитологическая диагностика заболеваний кожи: Цветной атлас* (т. 11). Москва-Иркутск: Репроцентр М.
14. Koss, L. S. (Ed.). (2006). *Diagnostic cytology and its histologic bases* (5th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
15. Туффаха, С. А. М., Гичка, С., Гуски, Г., & Кристиансен, Г. (2018). *Иммуногистохимия в диагностике опухолей*. Київ: Книга-плюс.

Two methods — cytologic and histological — for optimal morphological verification of tumors

L.S. Bolgova, A.F. Shypko

National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine

The morphological diagnostic of the tumors, as you know, plays decisive role in the specific tactics of the treatment, which depends on the effectiveness of treatment and prognosis. In particular world-famous what the cytology diagnostic precancer and their timely treatment on their example 80–85% of female patients diseases cervix uterine allows to cure them from the further development of uterine cancer. In Europe and in the United States, there has long been use offense morphological methods for the verification of the tumors, which can be associated with a higher survival rate of the population than in Ukraine of malignant tumors. Morphological departments in the mentioned countries are composed of cytological and histological laboratories are allowed in the formulation of the pathological process for the maximum number of cells and tissue morphological signs. In the European country, pathologists take for work only after mastering a special course of cytological diagnostic. A large number of different nosological forms of tumors, their small biopsy pieces often cause significant difficulties in their histological evaluation. The use of two morphological methods — cytological and histological — allows us to study the maximum number of structural features of cells and tissues, which will contribute to a more accurate verification of the tumor process.

Key words: morphological diagnosis of tumors; cytological method; histological method.

Адреса для листування:

Болгова Лідія Севастиянівна
03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43
Національний інститут раку
E-mail: bolgova2006@ukr.net

Correspondence:

Bolgova Lidia
33/43 Lomonosov Str., Kyiv 03022
National Cancer Institute
E-mail: bolgova2006@ukr.net