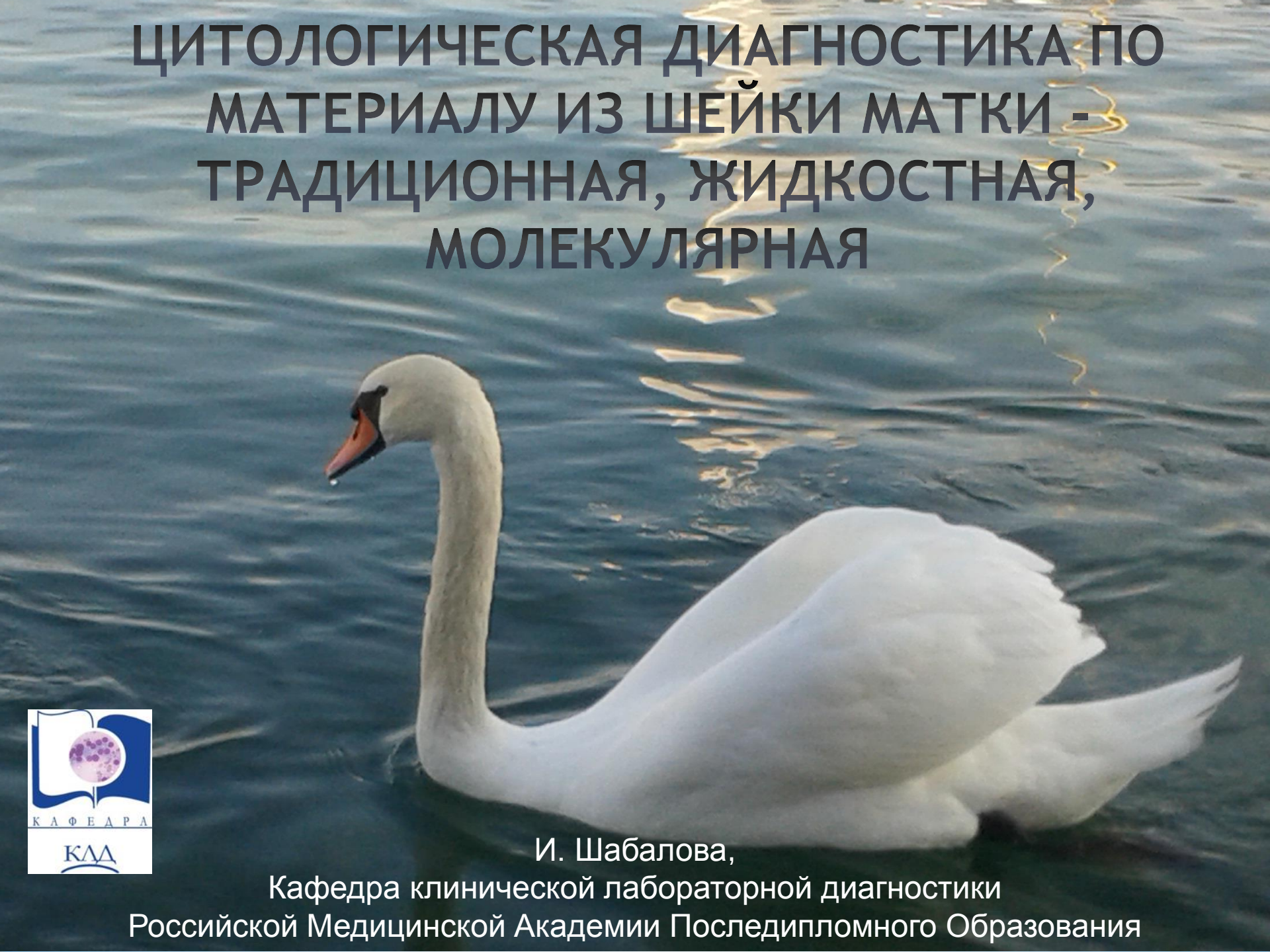
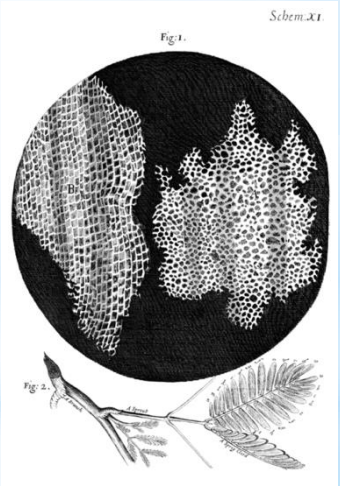
ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПО МАТЕРИАЛУ ИЗ ШЕЙКИ МАТКИ - ТРАДИЦИОННАЯ, ЖИДКОСТНАЯ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ



И. Шабалова,
Кафедра клинической лабораторной диагностики
Российской Медицинской Академии Последипломного Образования

* Цитология – наука о клетке, ее строении, функциях, взаимоотношении с другими клетками и средой, в которой клетки образуются, размножаются, созревают, «учатся» выполнять те или иные функции, располагаться в определенном порядке, обмениваться информацией, подчиняться определенным законам.



- Рисунок Роберта Гука, изображающий срез пробковой ткани под микроскопом (из книги «Микрография», 1664 год)

КАФЕДРА КЛД

* **Клиническое цитологическое исследование - оценка характеристик морфологической структуры клеточных элементов в цитологическом препарате (мазке) с целью установления морфологического диагноза доброкачественной или злокачественной опухоли и неопухолевых поражений.**

Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. 2009. Основы клинической цитологической диагностики: учебное пособие. - 136 с.: ил.

Скрининг и диагностика

* **СКРИНИНГ (screen) – просеивание (определенная система мер, направленная на выявление определенного заболевания)**

* **ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ ОСМОТР (определенная система мер, направленная на выявление заболеваний)**

* **ДИАГНОСТИКА (уточнение характера заболевания, возможных причин его возникновения)**

Любое цитологическое исследование (исследование клеточного материала) должно сопровождаться поиском измененных клеток

*Традиции

Клиническая цитология в нашей стране развивалась из лабораторного исследования костного мозга, выпотных жидкостей, мокроты, мочи и др.:

мазки, окрашенные по Романовскому (Романовскому-Гимзе, Лейшману, MGG, Diff-Quick)

Оределенную роль сыграли традиции гистологического исследования:

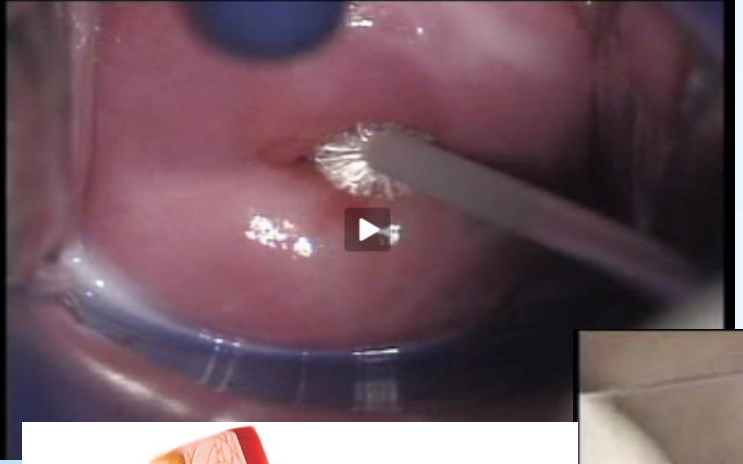
мазки, окрашенные гематоксилин-эозином

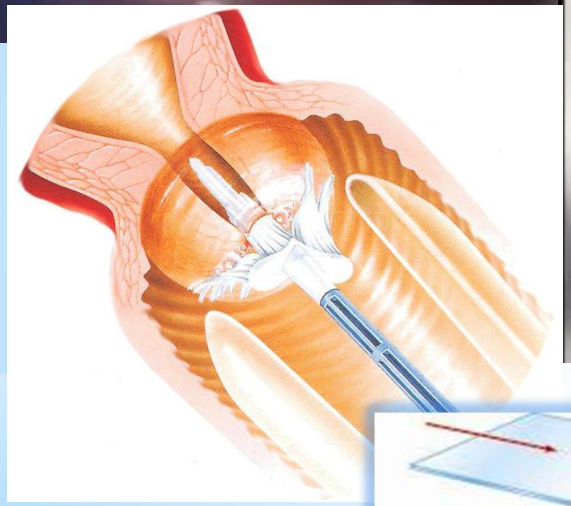
Когда выполняется цитологическое исследование?

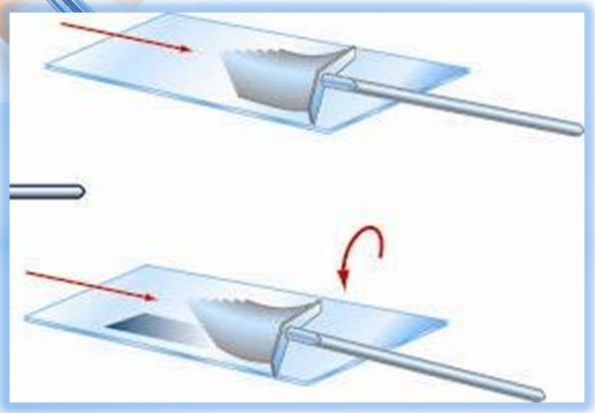
* Профилактический осмотр (скрининг)
* Случайная находка патологически измененных клеток при выполнении общеклинических исследований (мазки из цервикального канала влагалища на микробиоту)
* Назначается клиницистом при необходимости верификации патологического процесса

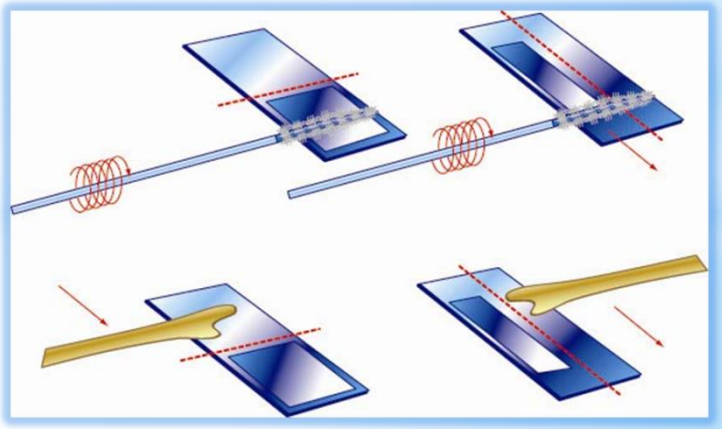
Стандартизованные технологии получения материала и приготовления препарата

Получение материала и приготовление препаратов традиционным методом





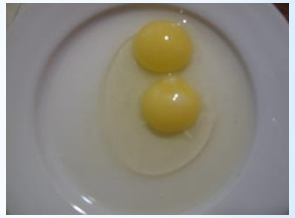




- для цитологических препаратов нужны стандартные стекла
- материал важно распределять по стеклу тонким слоем

Пап-тест (цервикальный мазок) классический:

* *влажная фиксация мазка,*
* *окрашивание по Папаниколау*



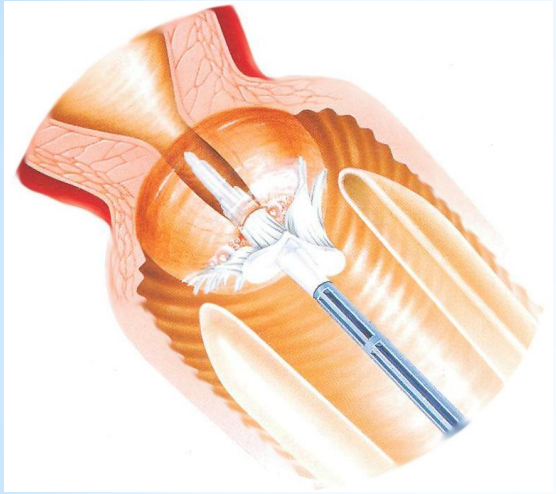
Цервикальный мазок в России:

* *высушивание препарата на воздухе без предварительной фиксации*
* *окрашивание по Романовскому (в различных модификациях)*
* *Окрашивание гематоксилин-эозином*

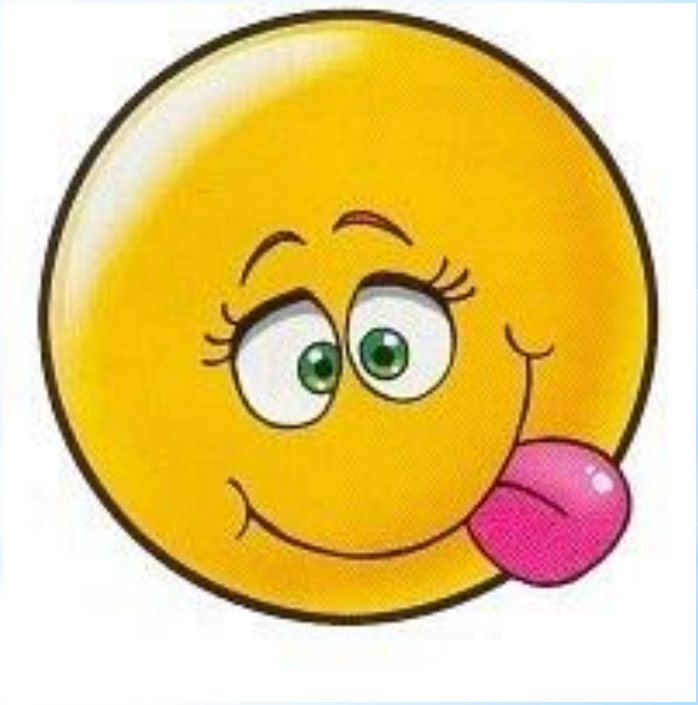
Оптимальные приспособления для получения материала:

- **Rovers Cervex-Brush®**
- **Combi-Sampler**
- **Cytobrush Plus GT & Pap Perfect™ (комбинированный пластиковый шпатель/эндоцервикальная щеточка)**

Получение материала для приготовления препаратов методом жидкостной цитологии



Стандарт?
Индивидуальный алгоритм?



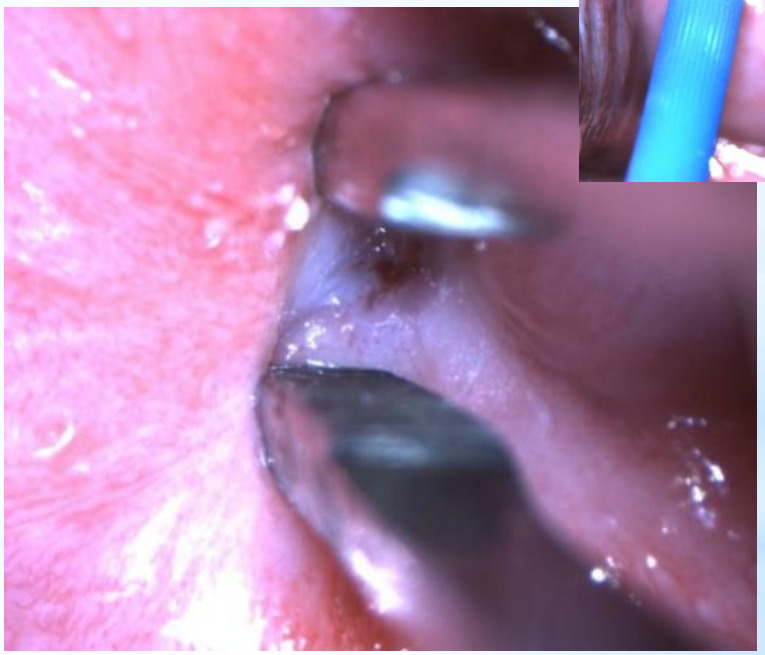
ПРОФОСМОТР?

ОРГАНИЗОВАННЫЙ СКРИНИНГ?

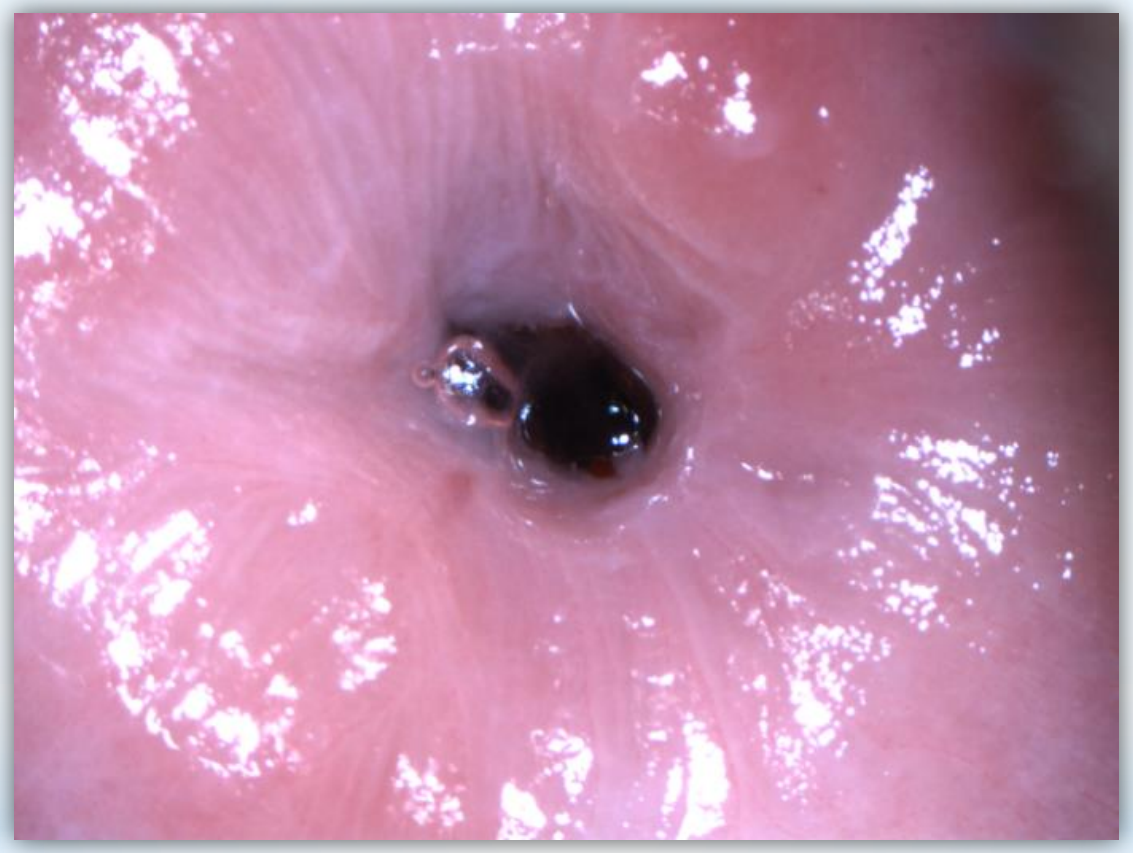
ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ?

КСх7,5. Эктопия с ободком метаплазированного эпителия. (от проф. Минкиной Г.Н.)

КС х 7,5. Шейка матки гипертрофирована. Эктропион, по периферии ЗТ с плотным ацетобелым эпителием (от проф. Минкиной Г.Н.)



КС х 7,5. Наружный зев в складке, визуализируется с помощью корнцанга. ЗТ 3 типа. Материал для повторного цитологического исследования получен с помощью «глубокого» мазка с использованием эндоцервикальной щетки.



КСх15. ЗТ 3 типа. Белесоватый плоский эпителий с радиальным рисунком через 3 месяца после лечения. (от проф. Минкиной Г.Н.)

ЖИДКОСТНАЯ ЦИТОЛОГИЯ

Жидкостная цитология (ЖЦ) – совокупность методов приготовления цитологических препаратов из биологических жидкостей или специально приготовленной взвеси клеток.*

***СТАНДАРТИЗОВАННАЯ АНАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ «МЕТОД ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ»**

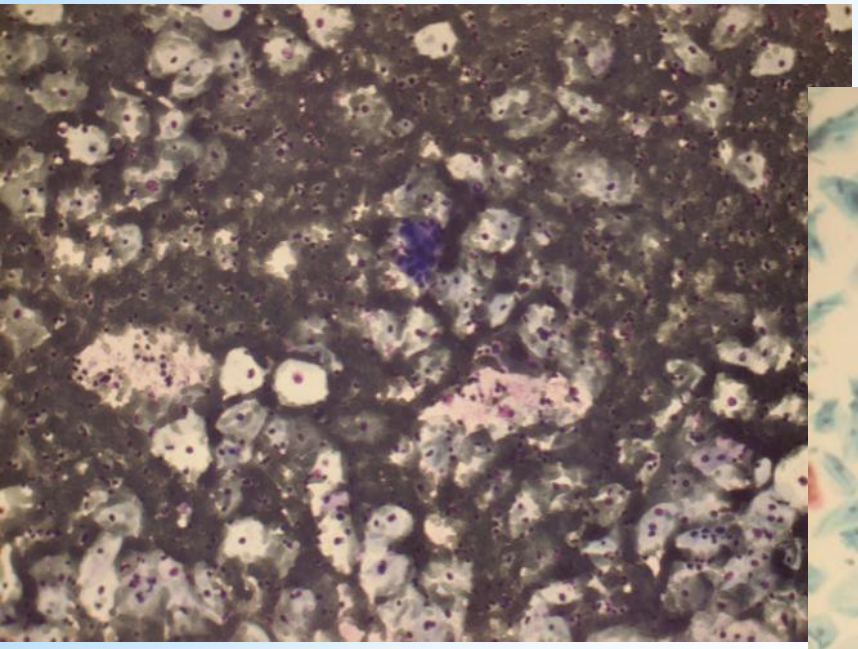
Разработчики:
И. П. Шабалова, Н. Н. Волченко, Т. В. Джангирова, К. Т. Касоян,М. В. Савостикова, Е. Н. Славнова, Л. В. Мехеда, Л. М. Пименова, И. Н. Костючек, Г. В. Лешкина,О. В. Синицина, И. В. Назарова

Неинформативный материал

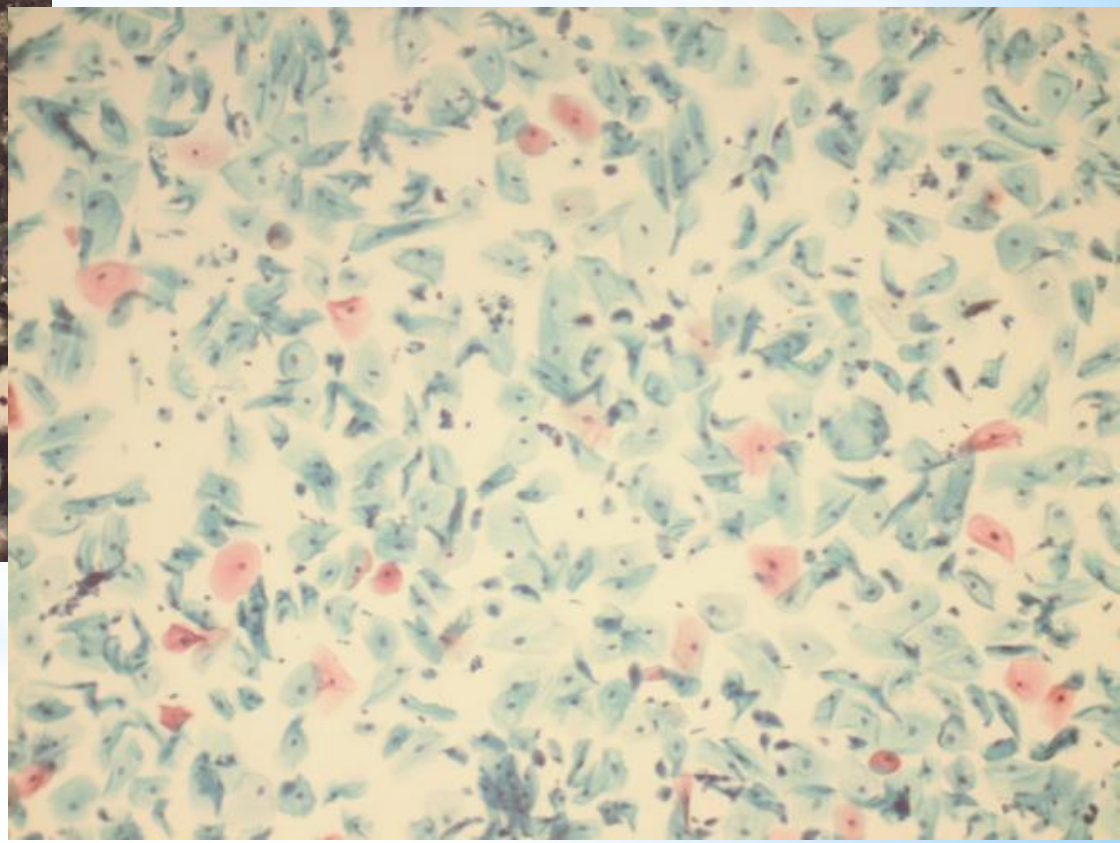
* **Материал жидкостной цитологии (РМАПО) - 0,17%**

Традиционные мазки (ЗАО г.Москвы) - 15%

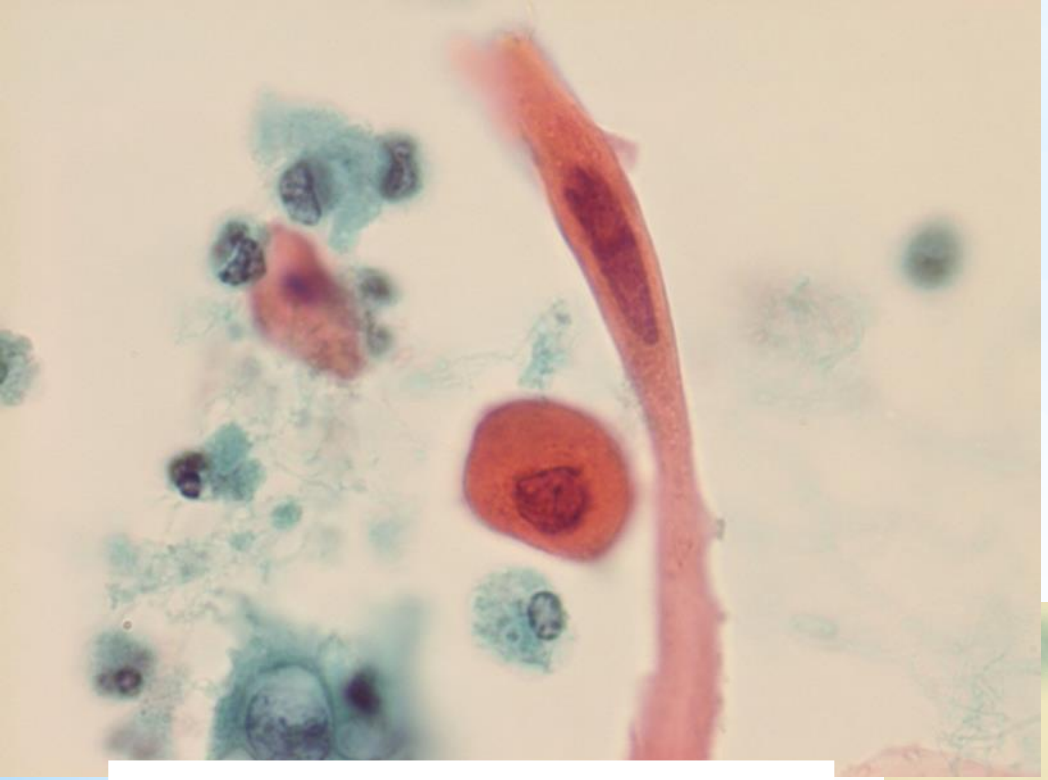
* В скрининге заболеваний шейки матки у жидкостной цитологии преимущество



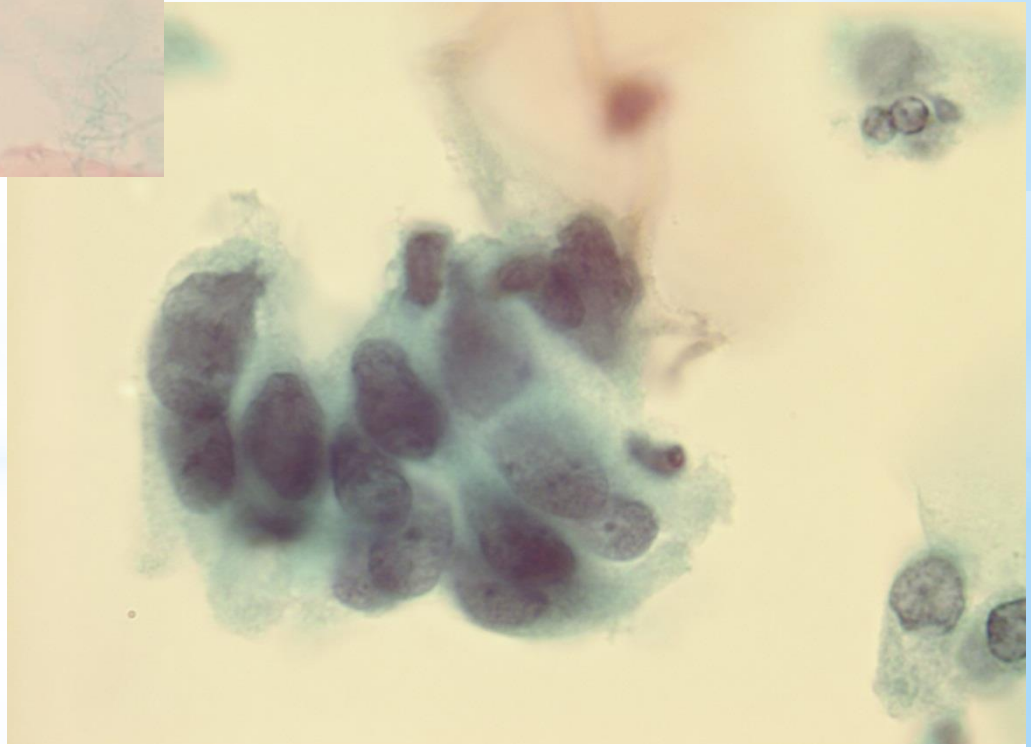
Conventional (MGG) x100



LBC(SurePath
(Papanicolaou stain), x100

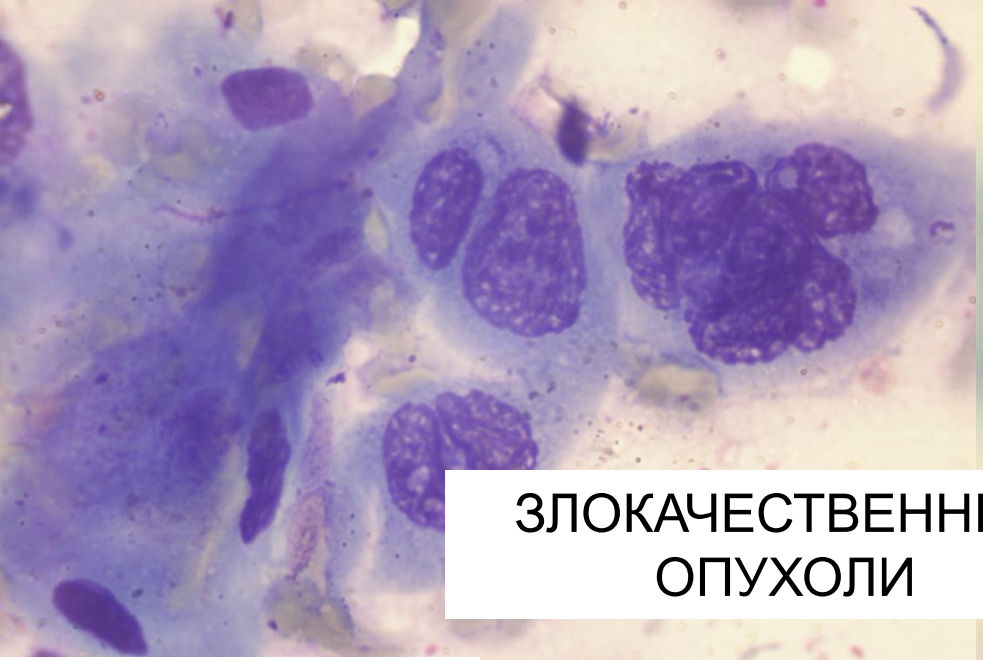


Плоскоклеточный рак
ЖЦ-SurePath(BD)-
Окрашивание по Папаниколау

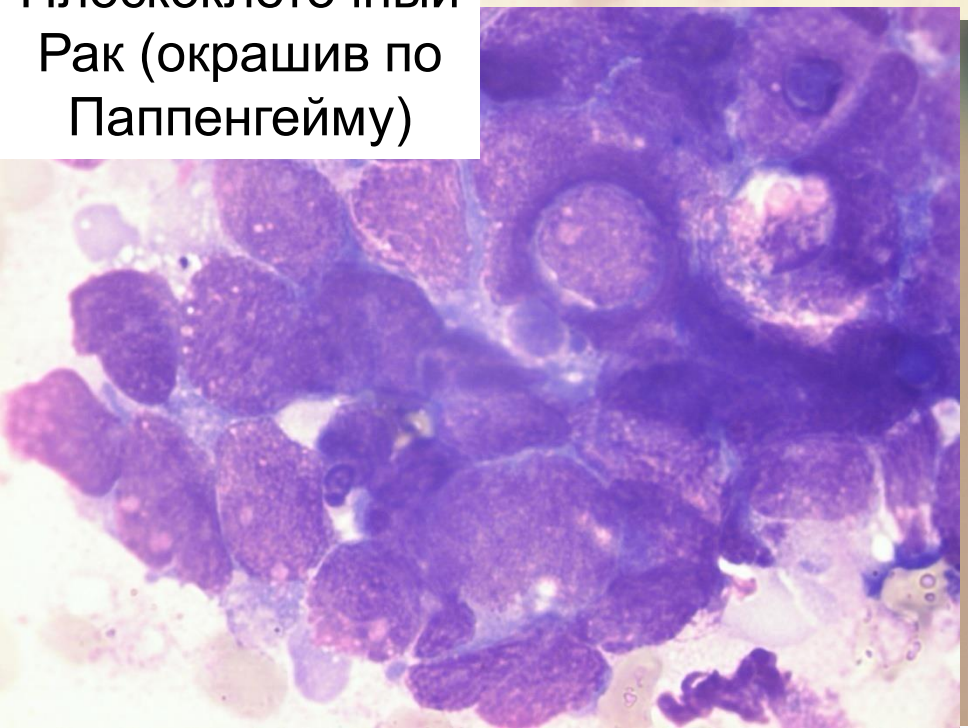


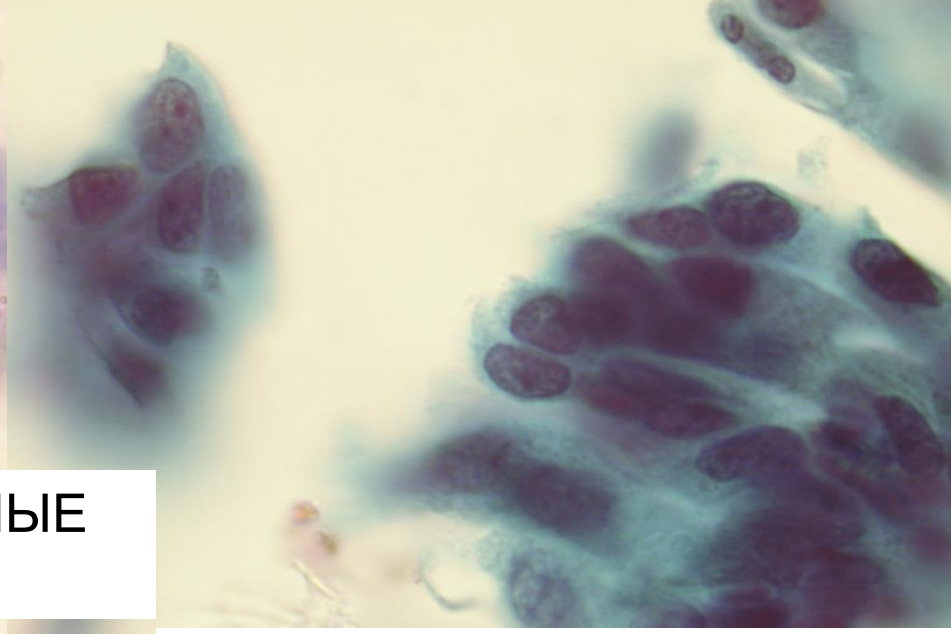
Жидкостная цитология –окрашивание по Папаниколау

ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ



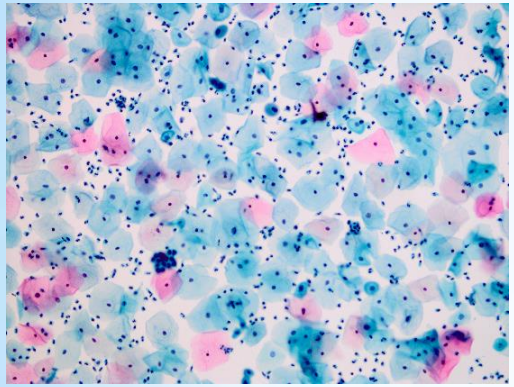
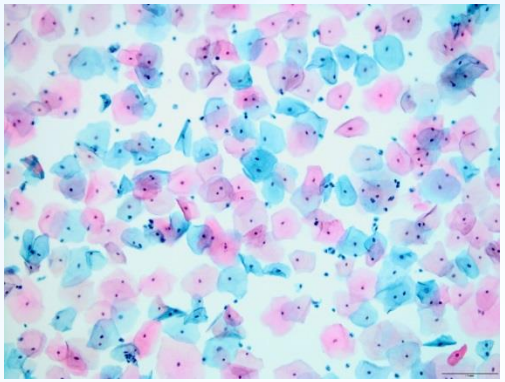
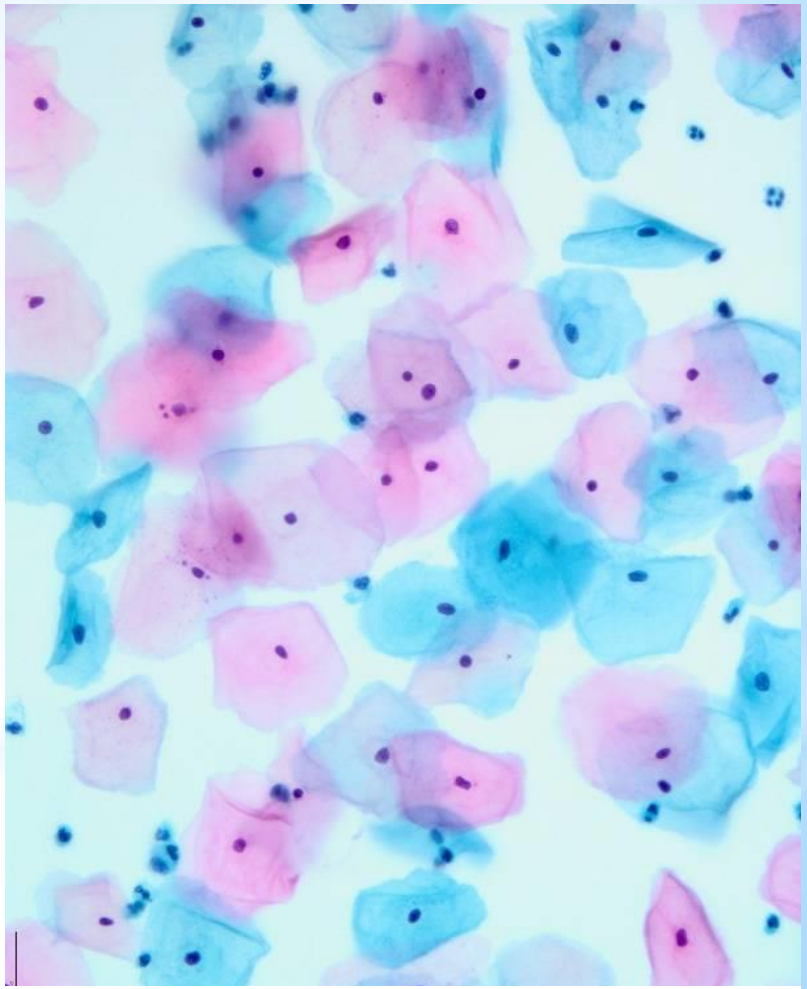
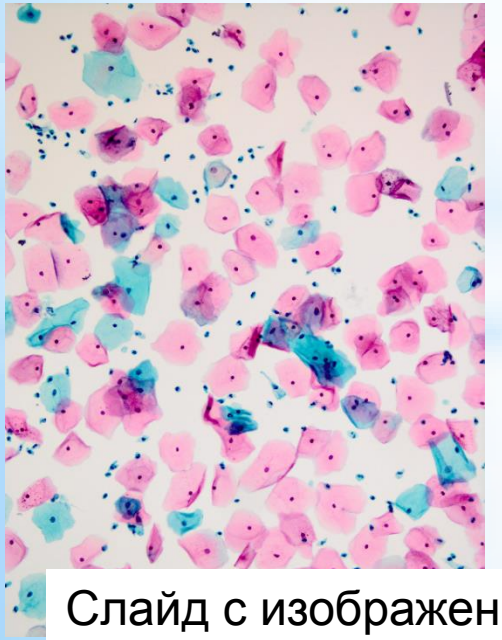
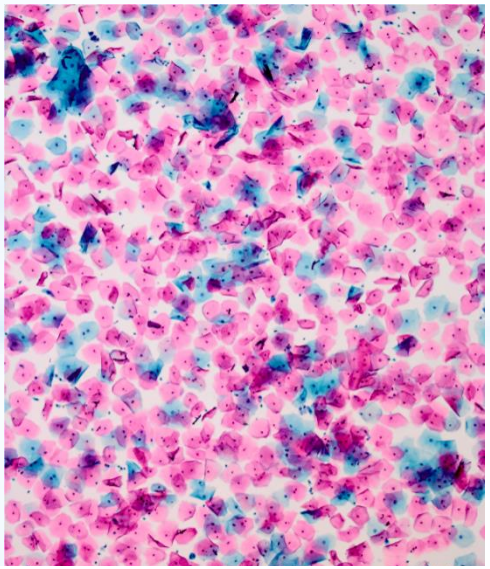
Плоскоклеточный Рак (окрашив по Паппенгейму)





Аденокарцинома (BD SurePath)

*NILM - норма

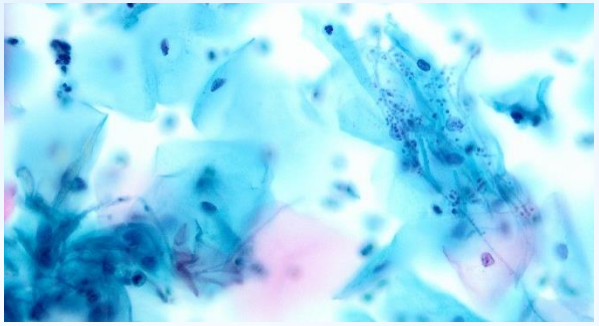






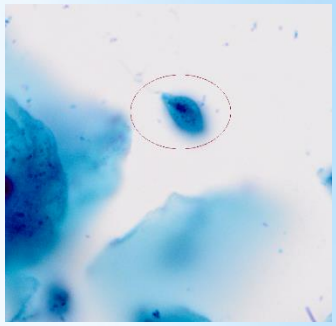
Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха

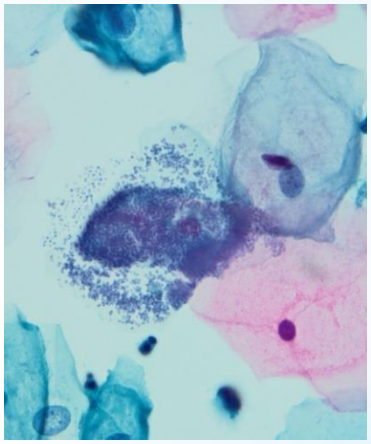
NILM - Цитологические признаки инфекций

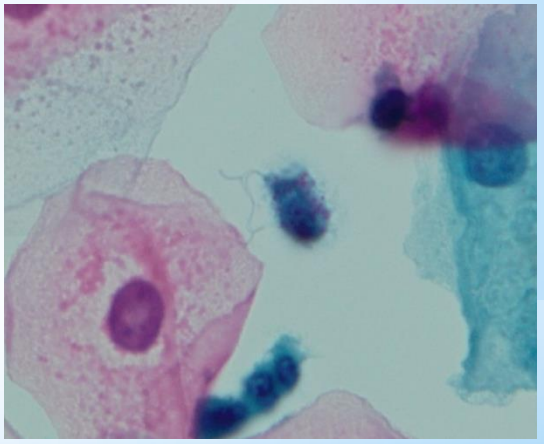
Признак	Количество наблюдений
«ключевые клетки»	1006
candida spp	854
trichomonas vaginalis	12
actinomyces spp	19
leptotrichia	9

скрининг не предполагает выявления грибов, трихомонад и прочих инфекционных агентов

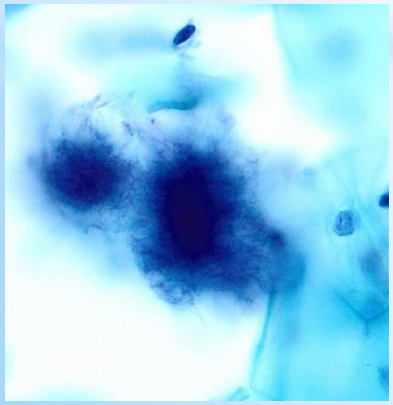






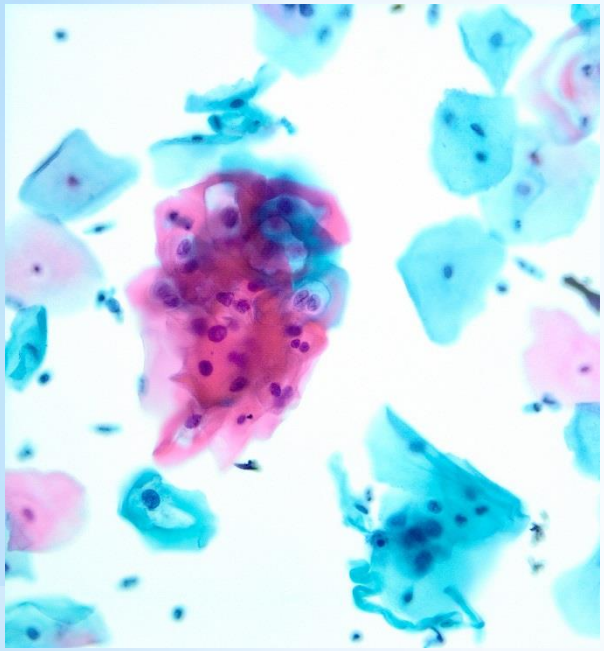
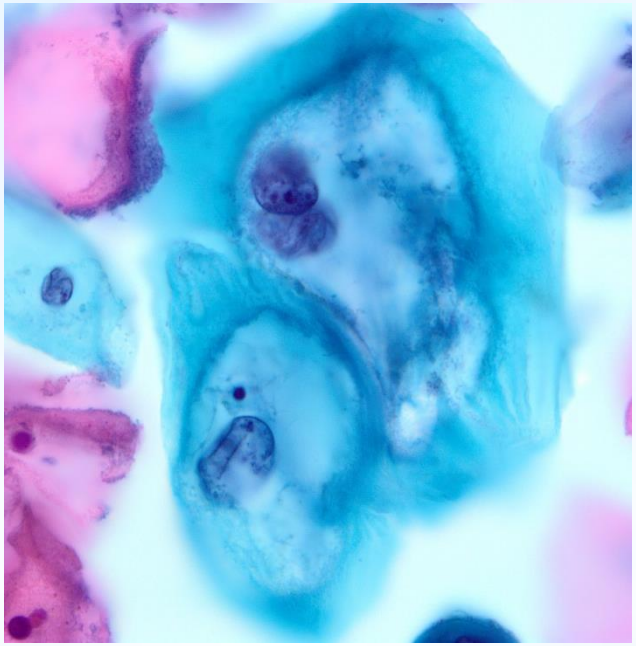
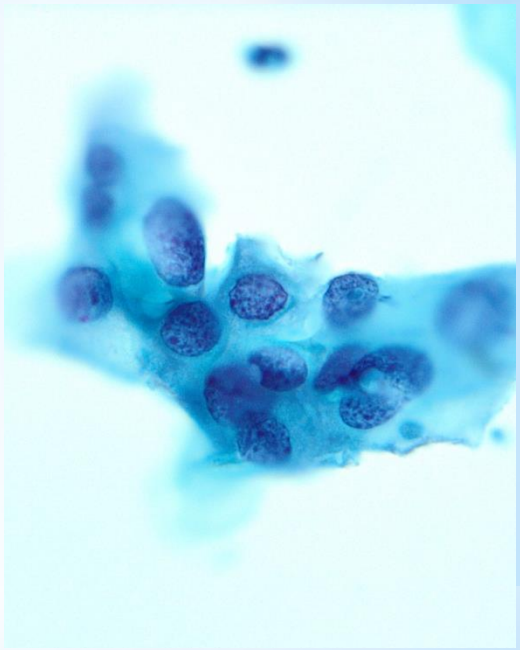


Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха



*L-SIL

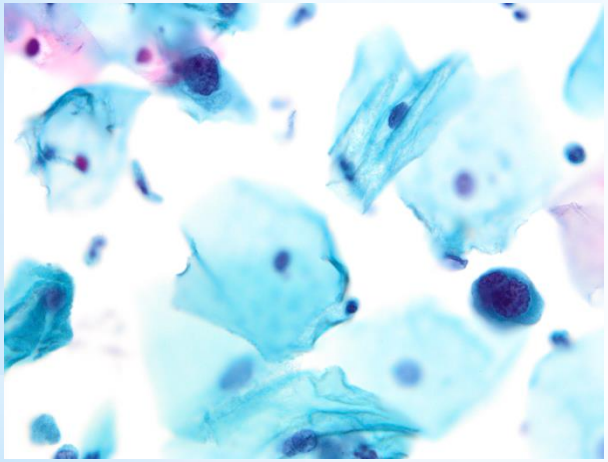
низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального

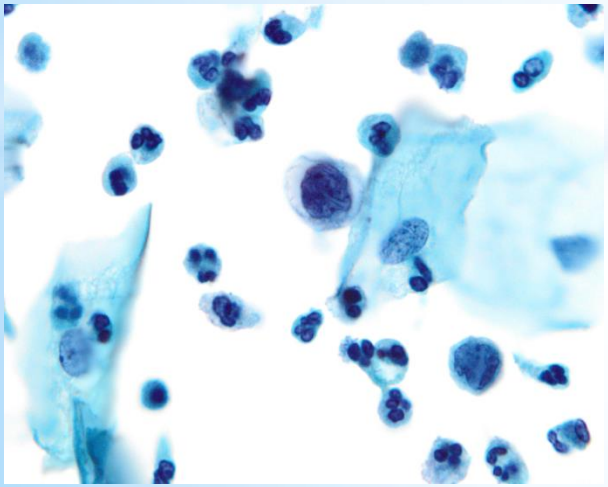




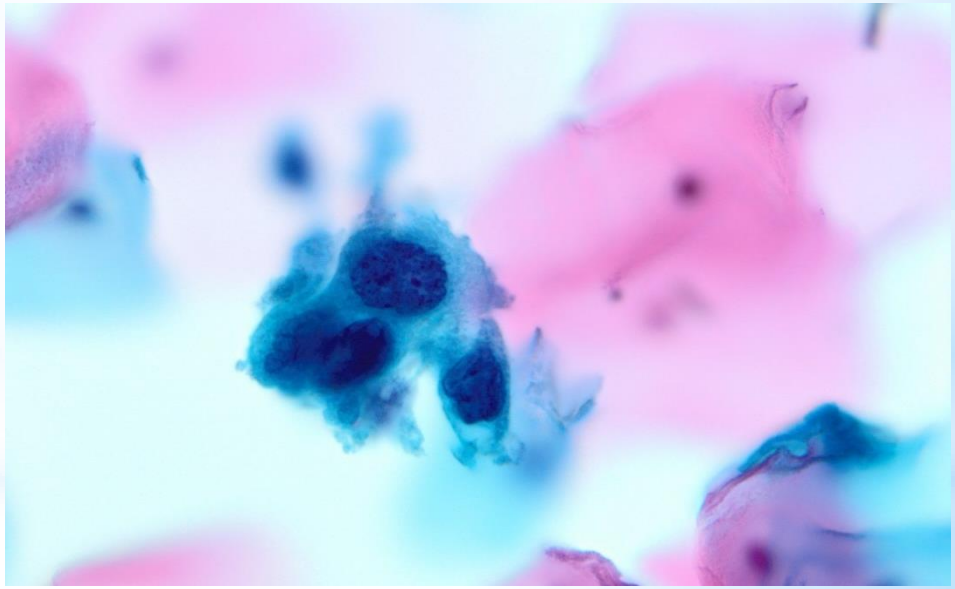
Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха

* ASC-H

малое количество материала, крайне подозрительного по наличию тяжелой интраэпителиальной неоплазии

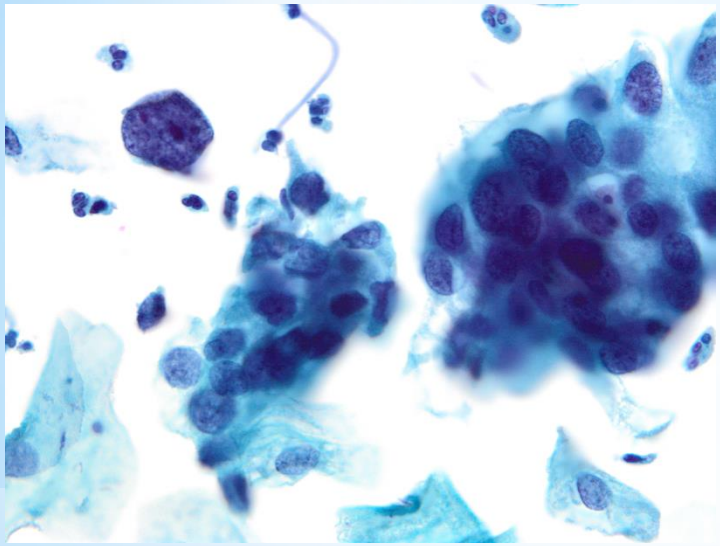
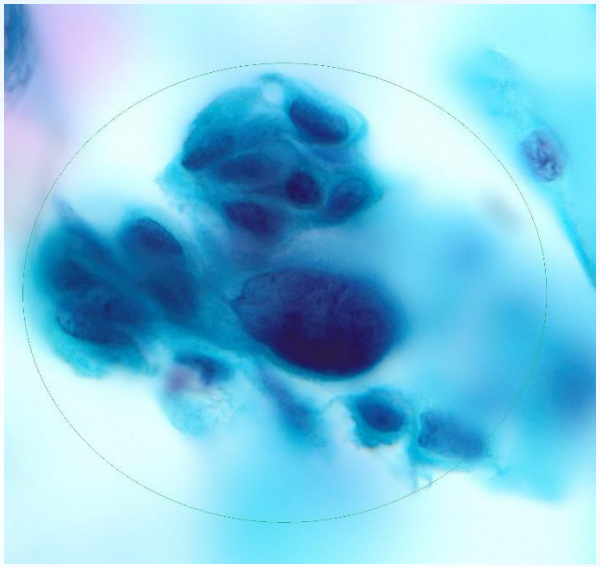
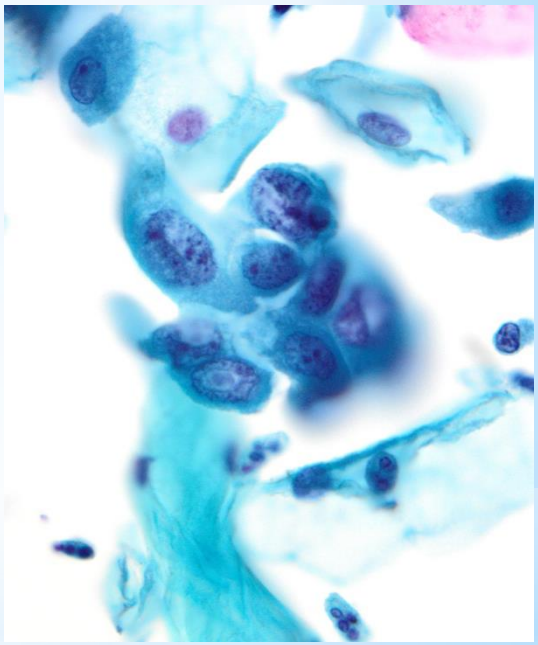


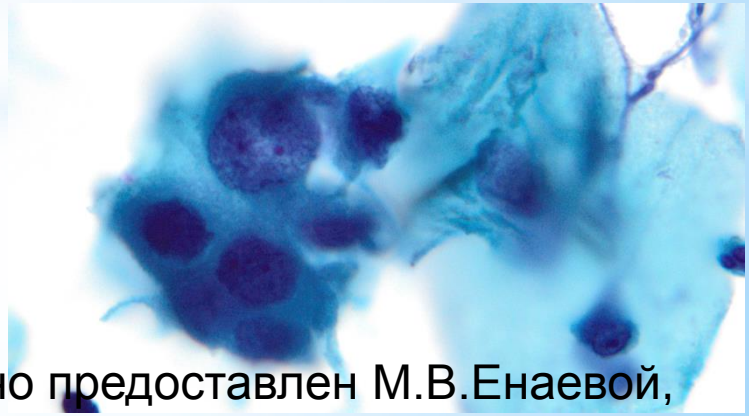




Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха

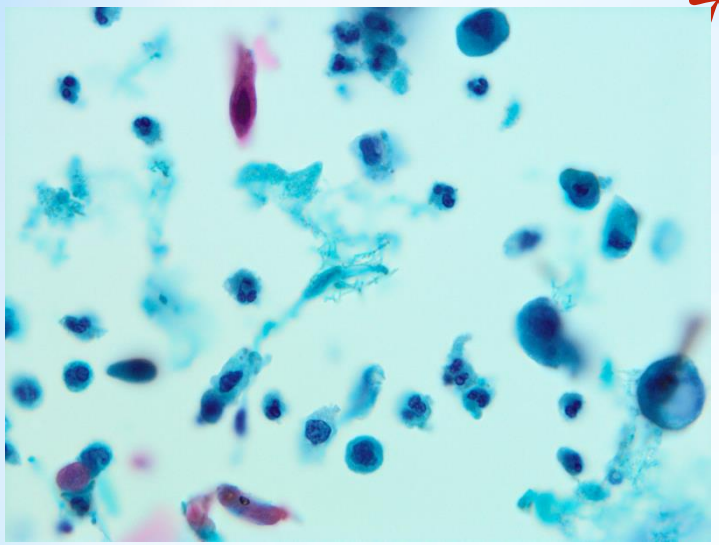
*H-SIL Высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения

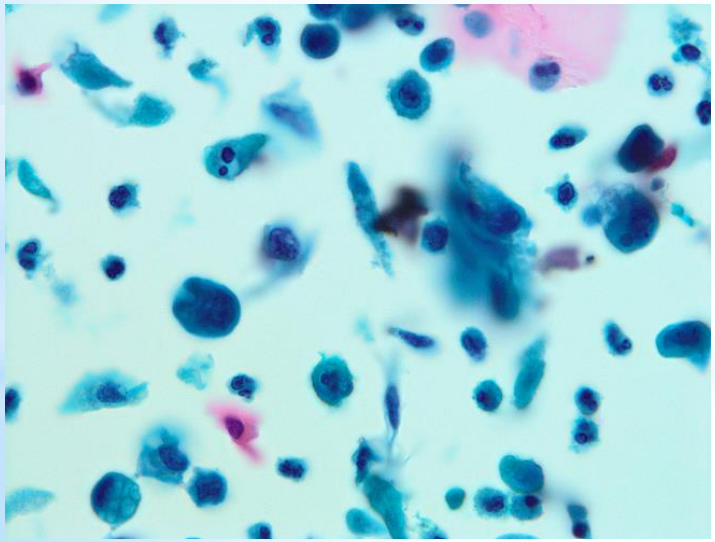




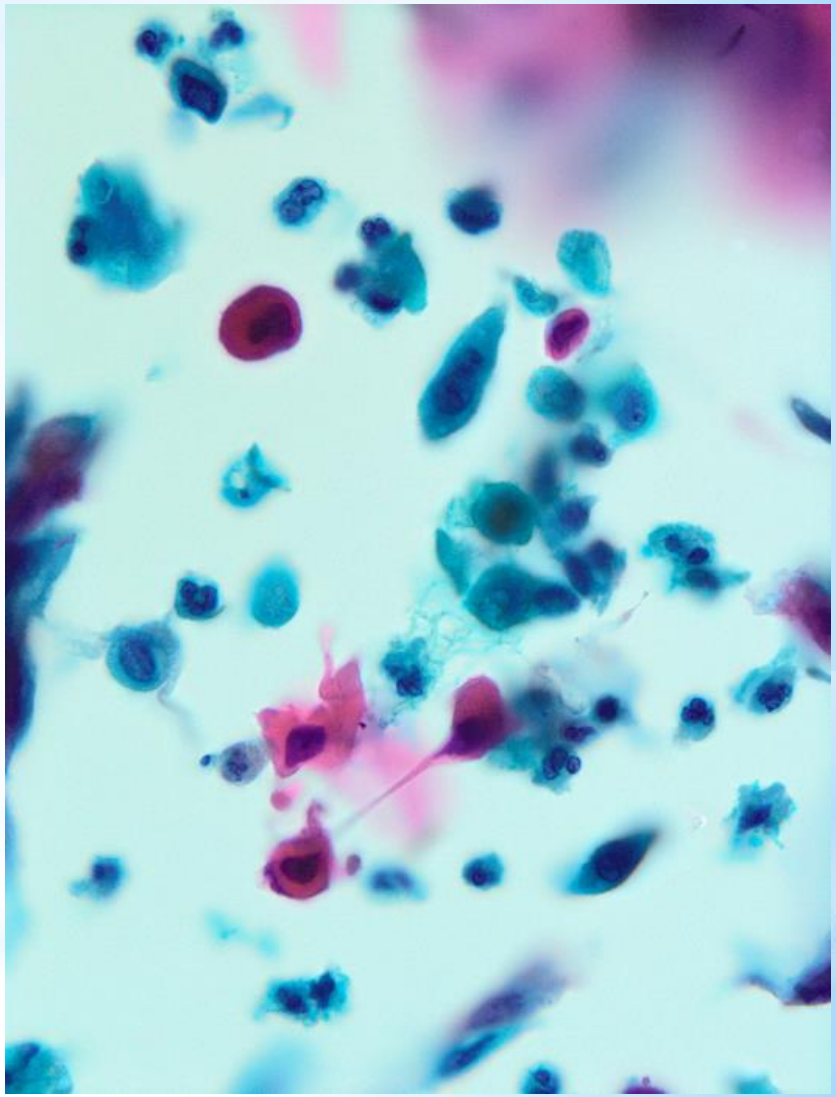


Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха

*CIS



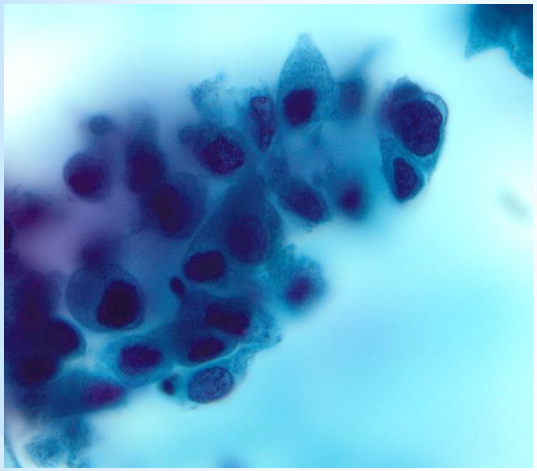


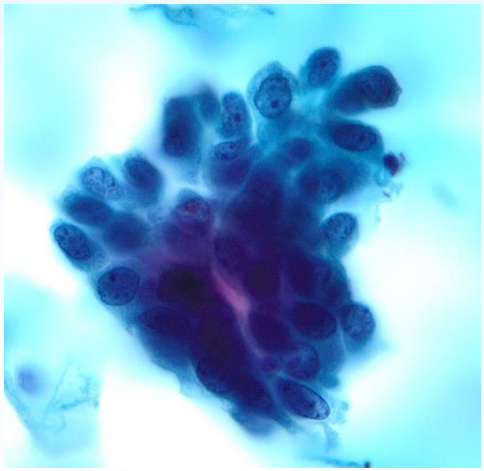


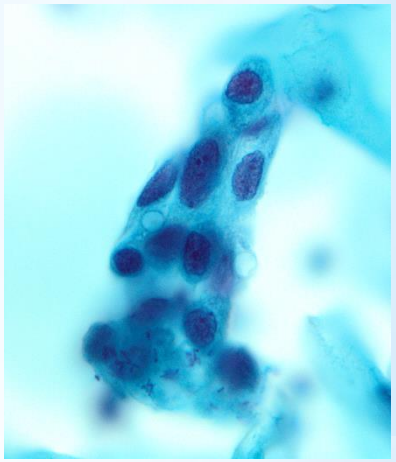
Слайд с изображениями любезно предоставлен М.В.Енаевой, перинатальный центр, Московская область, Балашиха

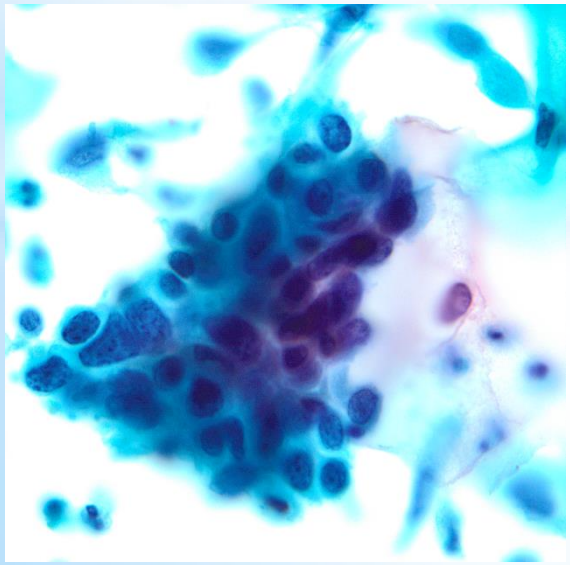
AGC

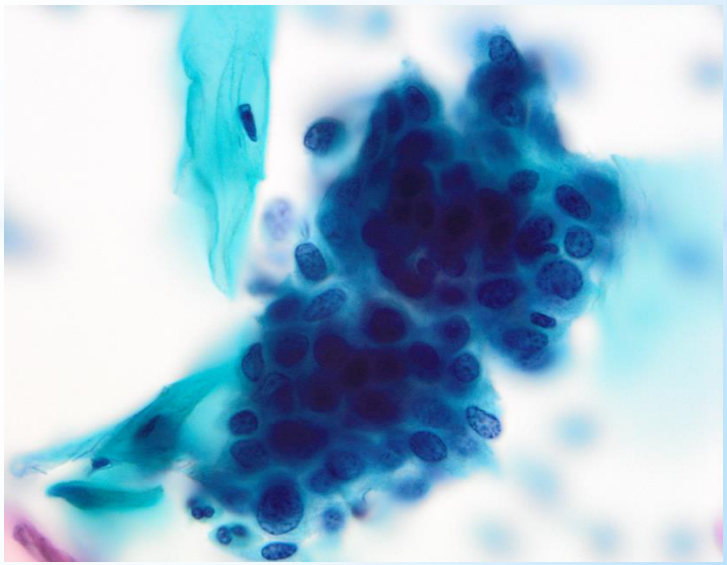
изменения в железистом эпителии неясного значения, так и изменения, не исключающие неопластический процесс



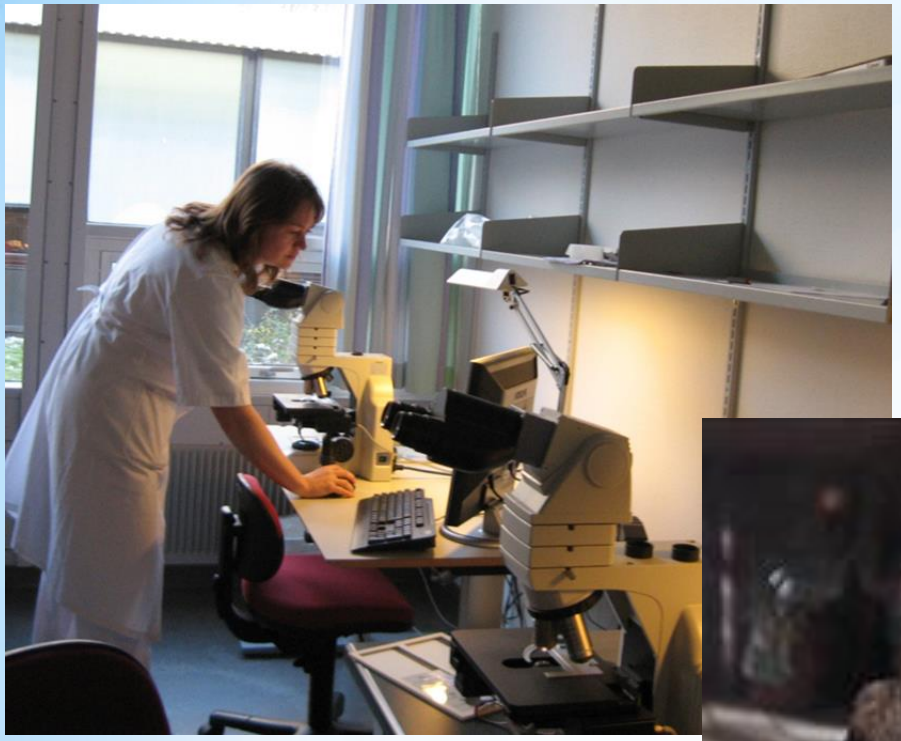








В диагностических целях можно использовать оба метода



* Роботы облегчают работу цитотехнологов, оставляя время на искусство интерпретации

Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины

Выпуск 2

Под редакцией В. В. Меньшикова

Приложение к журналу
«Клиническая лабораторная диагностика» № 7/2013

СТАНДАРТИЗОВАННАЯ АНАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ «МЕТОД ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ»

Разработчики:
И. П. Шабалова, Н. Н. Волченко, Т. В. Джангирова, К. Т. Касоян,М. В. Савостикова, Е. Н. Славнова, Л. В. Мехеда, Л. М. Пименова, И. Н. Костючек, Г. В. Лешкина,О. В. Синицина, И. В. Назарова

Стр.70-89

Молекулярные исследования

Иммуноцитохимическое исследование

Проточная цитометрия

Генетический анализ на цитологическом материале

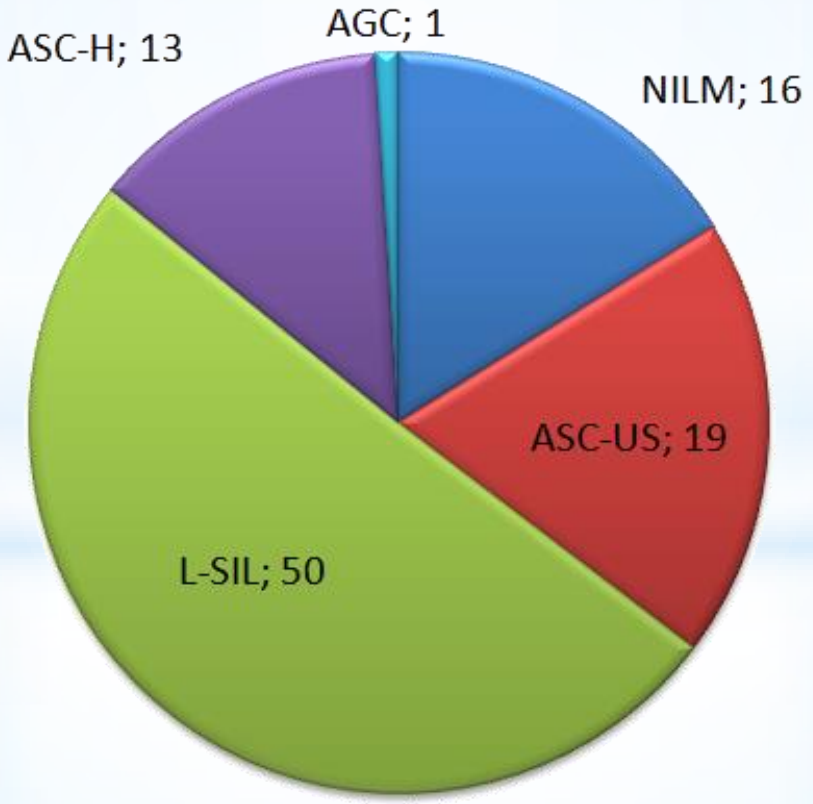
Гибридизация in situ на цитологическом материале
ISH FISH CISH SISH

Мутации
PCR секвенирование
Экспрессия мРНК
RT-PCR
qRT-PCR

* *Ретроспективный анализ 224 наблюдений с диагнозом HSIL*

* *Ретроспективный анализ 224 наблюдений с диагнозом HSIL*

* Распределение цитологических диагнозов в 99 наблюдениях с гистологическим диагнозом HSIL



Результаты ВПЧ-тестирования у пациенток с гистологическим диагнозом HSIL

«АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL» 12 типов ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59 типы)

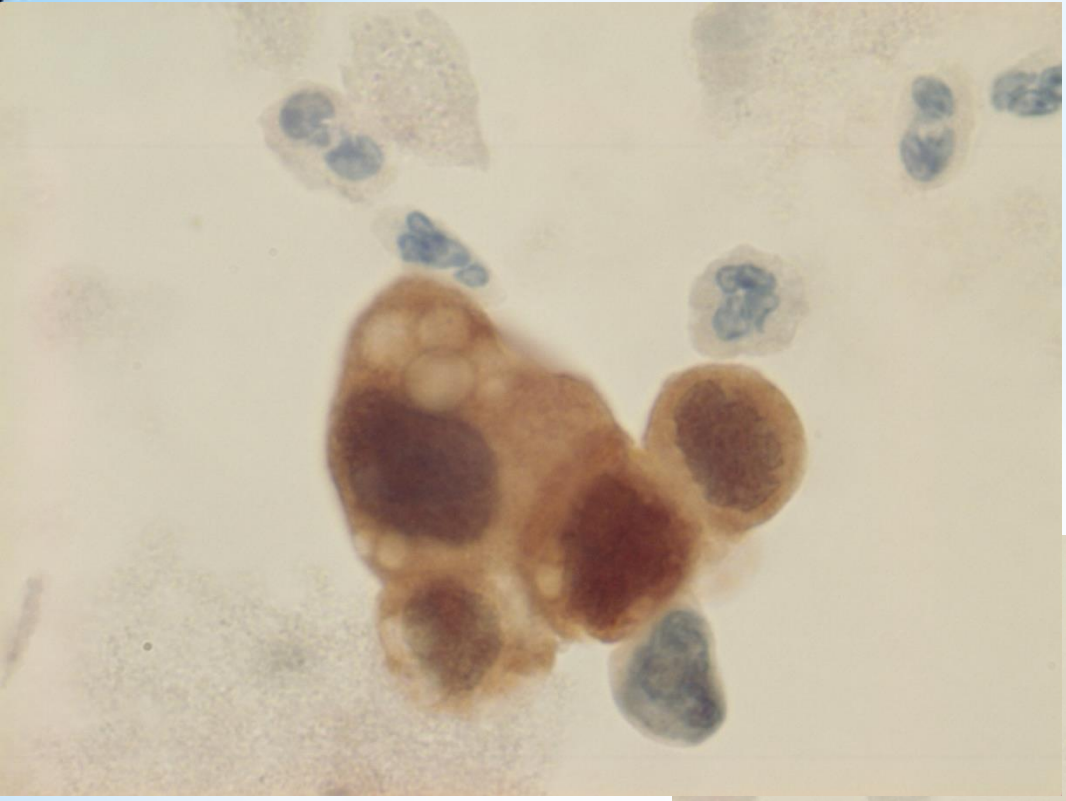
ВПЧ-позитивными считали образцы с вирусной нагрузкой более 1000 копий ДНК ВПЧ на 10^5 клеток (3 lg)

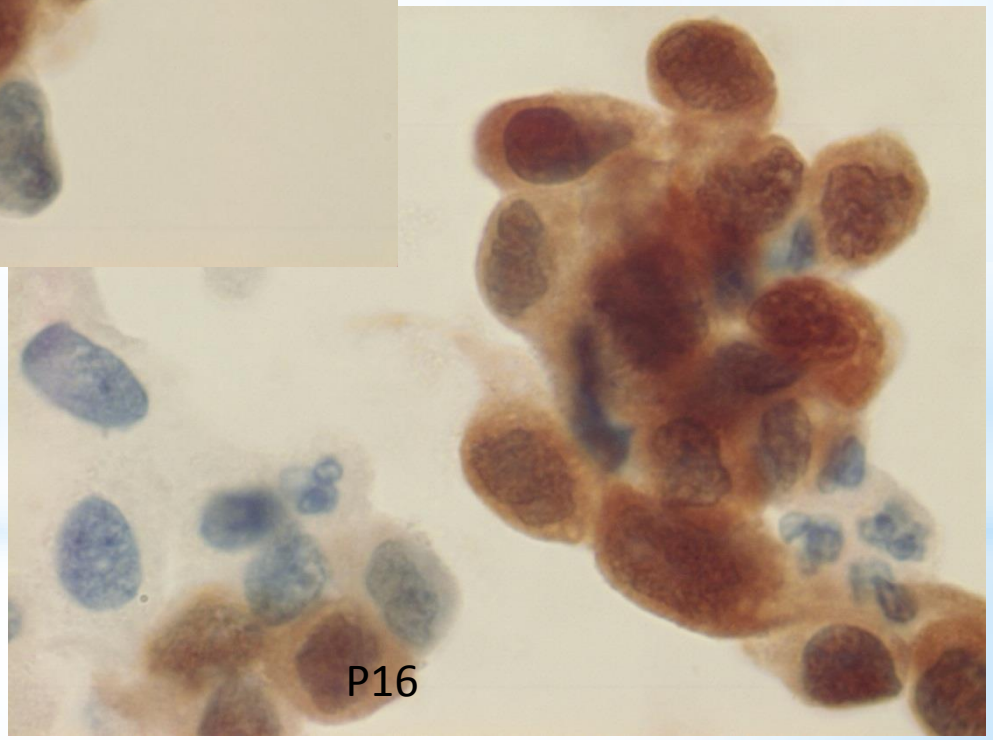
* лаборатория молекулярных методов центра молекулярной диагностики ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии

* Ростов-на-Дону, Ростовская область
* Первые отдаленные результаты скрининговых программ с программ с установленными тарифами ОМС (Приказ МЗ РО и ТФОМС РО № 2756/04-696 от 30.12.2011 и использованием автоматизированной системы BD TriPath и автоматизированного компьютерного анализа (BD FocalPoint GS)

* За последние два года заболеваемость снизилась на 2,5%, число запущенных форм на 5%. Благодаря существующей программе скрининга в регионе удалось сместить большую долю числа заболевших в сторону начальных форм рака и предраковых изменений, когда лечение максимально эффективно.

Иммуноцитохимические исследования





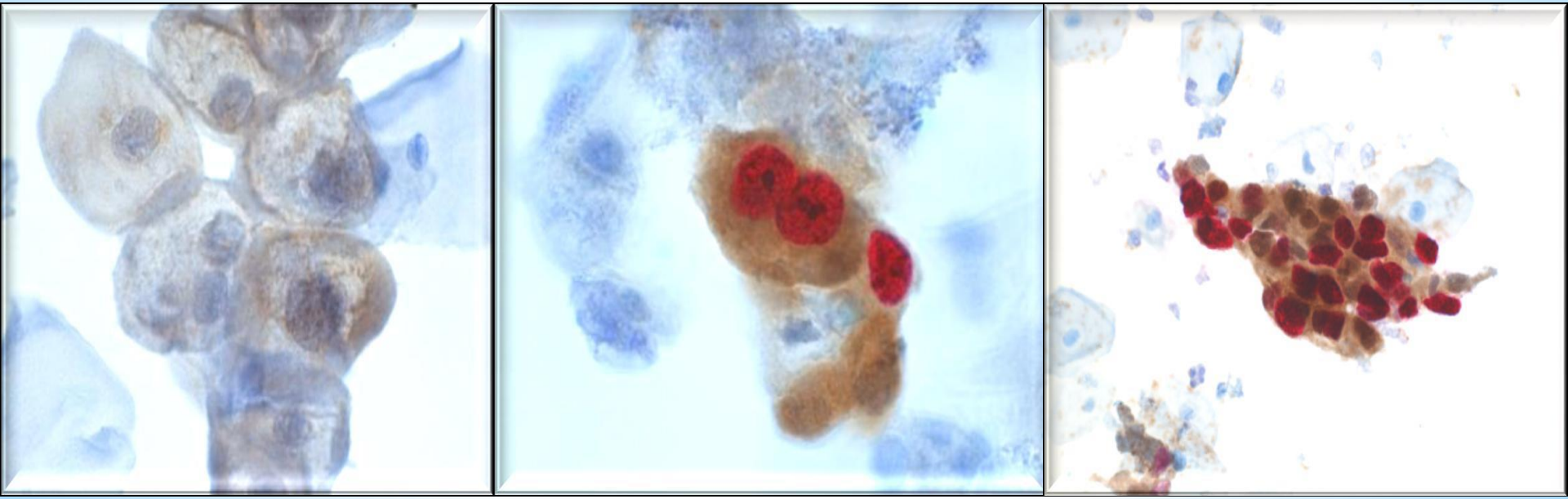
Cr in situ

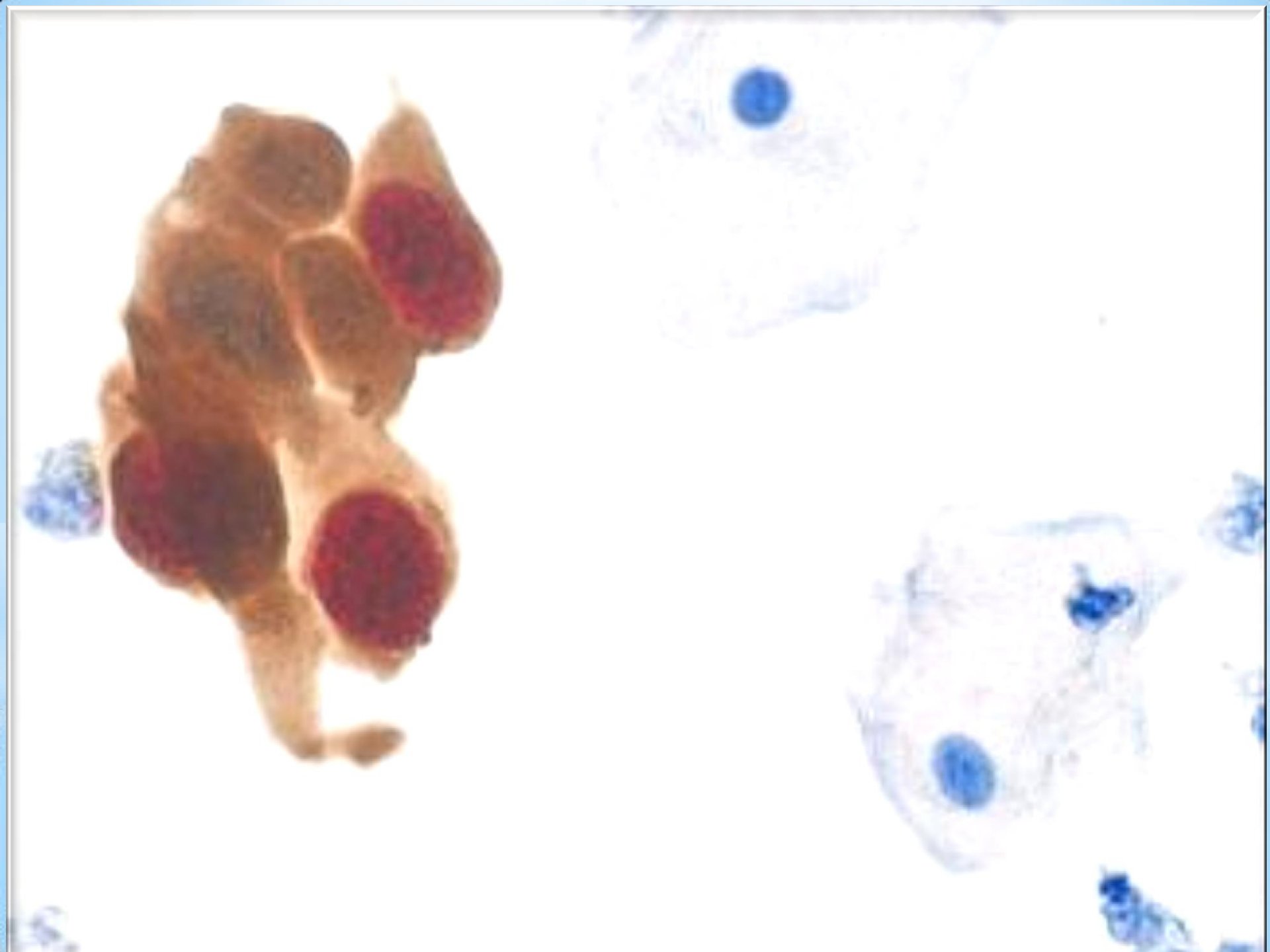
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

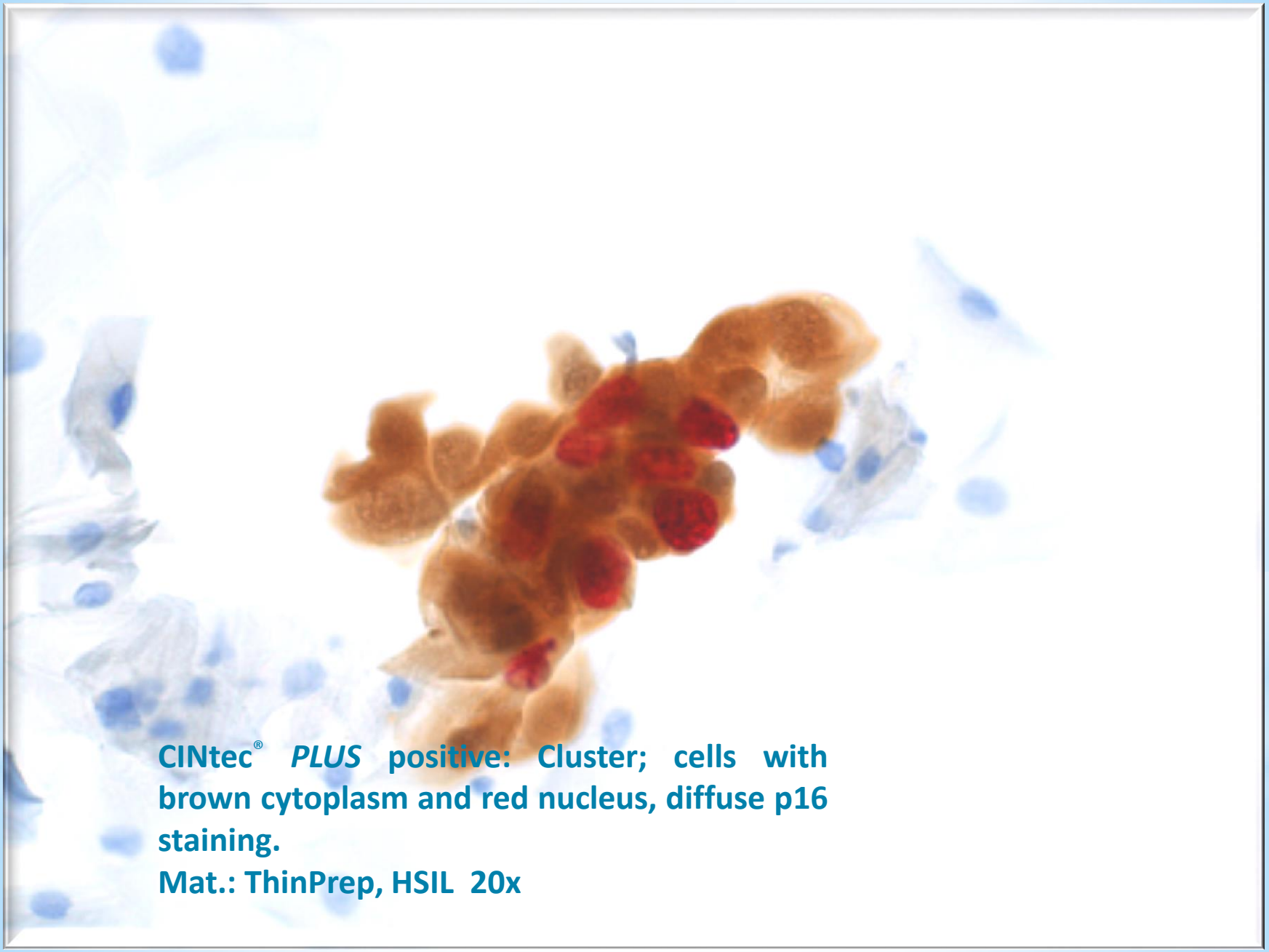
* Выявление ДНК и РНК возбудителей инфекционных болезней
* Выявление вариаций в структуре исследуемого участка ДНК (аллеля, гена, региона хромосомы) человека
* Обнаружение ДНК/РНК микроорганизмов или вирусов в образцах биоматериала
* Определение концентрации ДНК /РНК микроорганизмов или вирусов в образцах биоматериала

* Набор Cintec® PLUS цитология

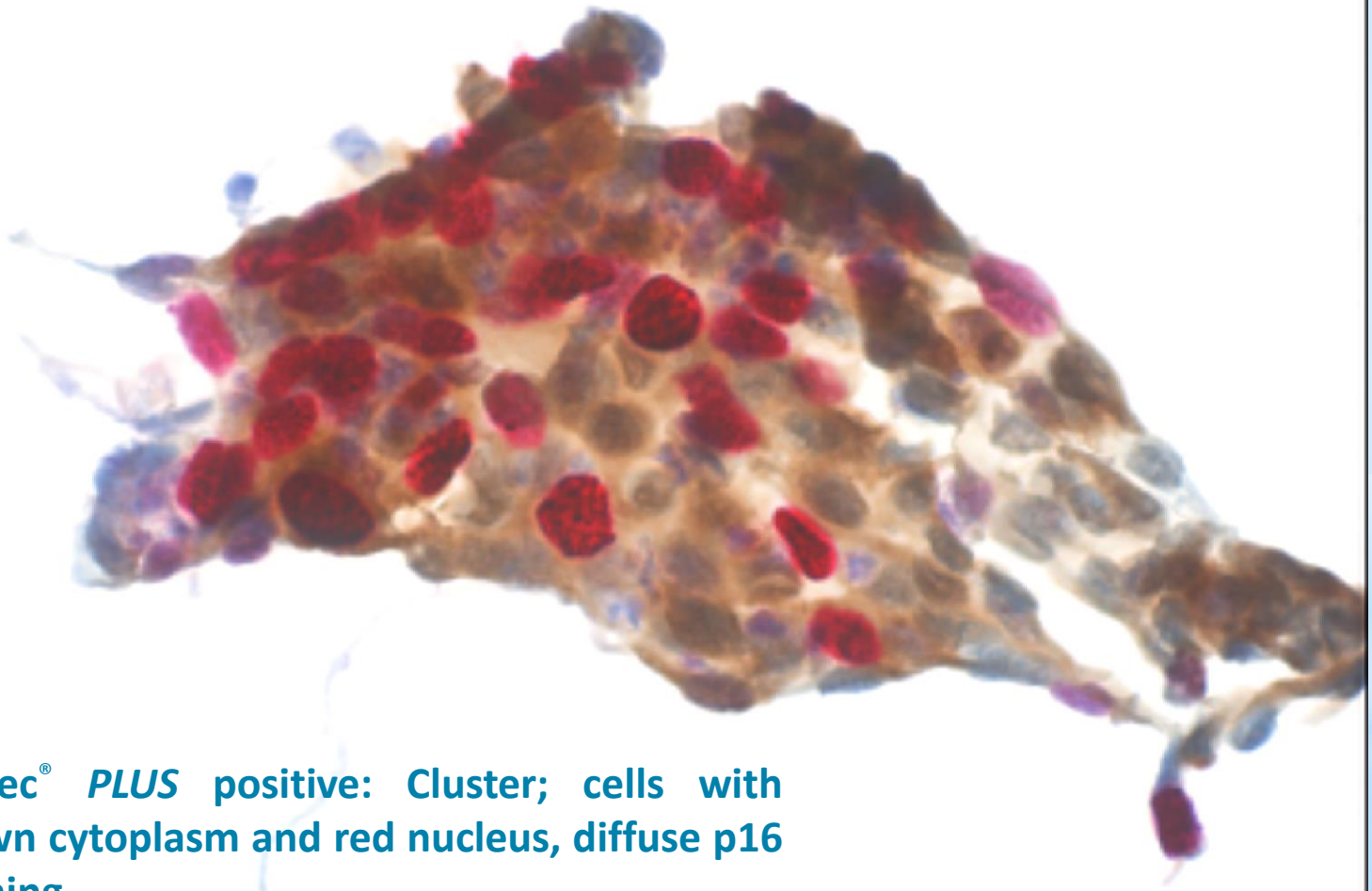
* Двойное окрашивание p16/Ki67:
* Высокая чувствительность и специфичность в определении степени трансформации клеток эпителия шейки матки







CINtec® *PLUS* positive: Cluster; cells with brown cytoplasm and red nucleus, diffuse p16 staining.
Mat.: ThinPrep, HSIL 20x



CINtec® *PLUS* positive: Cluster; cells with brown cytoplasm and red nucleus, diffuse p16 staining.
Mat.: ThinPrep, HSIL 40x

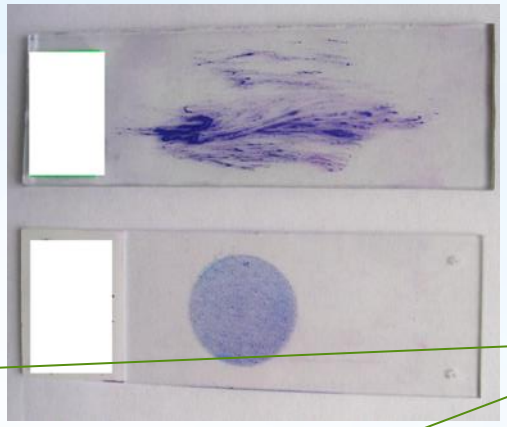
Молекулярные маркеры

- p16, p53
- HPV тестирование
- Биохимические тесты E6, E7
- Метилирование ДНК
- **Потенциальные маркеры (S.Syrjänen)***
  - **hTERT**
  - **DKC1**
  - **Bcl-2**
  - **S100A8**
  - **S100A9**
  - BIRC5
  - p300
  - Hsp90
  - c-Myc
  - теломераза

Материал из шейки матки

* Из доклада на конференции в г. Москва, 2013 г.

От обнаружения патологических изменений к диагностике



Опухолевые маркеры

Проточная цитометрия

Цитогенетическое исследование

Иммуноцитохимическое исследование

МАНК

Важно

* Организация обучения и повышения квалификации всех специалистов, вовлеченных в цитологический скрининг, акушерок, гинекологов, лаборантов и врачей цитологов.
* Совершенствование методов забора цитологического материала (использование специальных приспособлений для получения материала).

* Сохранение и развитие сети централизованных цитологических лабораторий, оснащение их современным оборудованием, техникой и программным обеспечением.

* Важно

Цитологическое исследование в многопрофильном стационаре и других лечебных учреждениях

* МАЗКИ ИЗ ШЕЙКИ МАТКИ
* Профилактический осмотр
* Гинекологическое заболевание

Важно

* Четко налаженная система обеспечения (внутреннего контроля качества) и внешнего контроля качества работы
* Нагрузка медицинских технологов (цитотехников) и врачей с учетом гигиенических требований к специалистам, работающим с микроскопами и иммерсионной системой, гигиеническим требованиям к труду женщин

* Проведение цито-гистологических сопоставлений
  * Анализ причин расхождения диагнозов
  * Анализ ошибок (в том числе гистологической диагностики) с целью их исправления и предотвращения в дальнейшем

* Важно

* Использование и совершенствование цитологического исследования в соответствии с возможностями конкретного лечебного учреждения

* Важно

* Совершенствование методики окрашивания и приготовления цитологических препаратов, при наличии финансовых возможностей - использование жидкостной цитологии и окрашивания по Папаниколау.

* Важно

* Внедрение ЖЦ в практику требует дополнительного обучения специалистов и тщательного анализа получаемых результатов, что можно осуществить на базе существующих ЦЦЛ с использованием дистанционных методов обучения и контроля качества
* При возможности желательно сочетать традиционный метод и жидкостную цитологию как методы, взаимно дополняющие и взаимно обогащающие друг друга

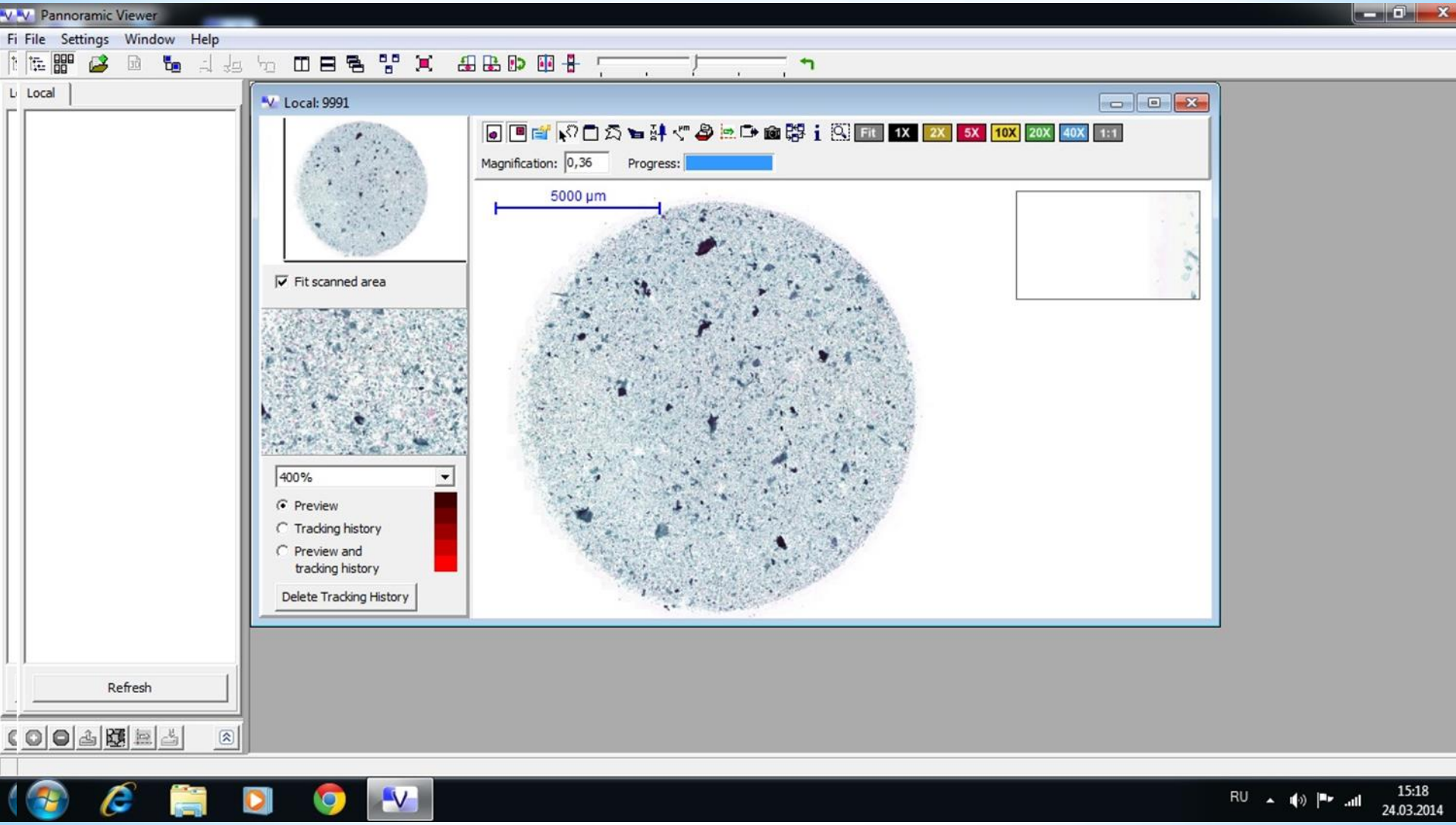
* Разработка «на местах» рациональных схем (алгоритмов) использования различных методов и их сочетания при исследования материала из шейки матки и других органов и тканей

* Обеспечение и контроль качества цитологических исследований материала, приготовленного традиционным методом и методом ЖЦ

*ВАЖНО

Виртуальная микроскопия

Virtual microscopy

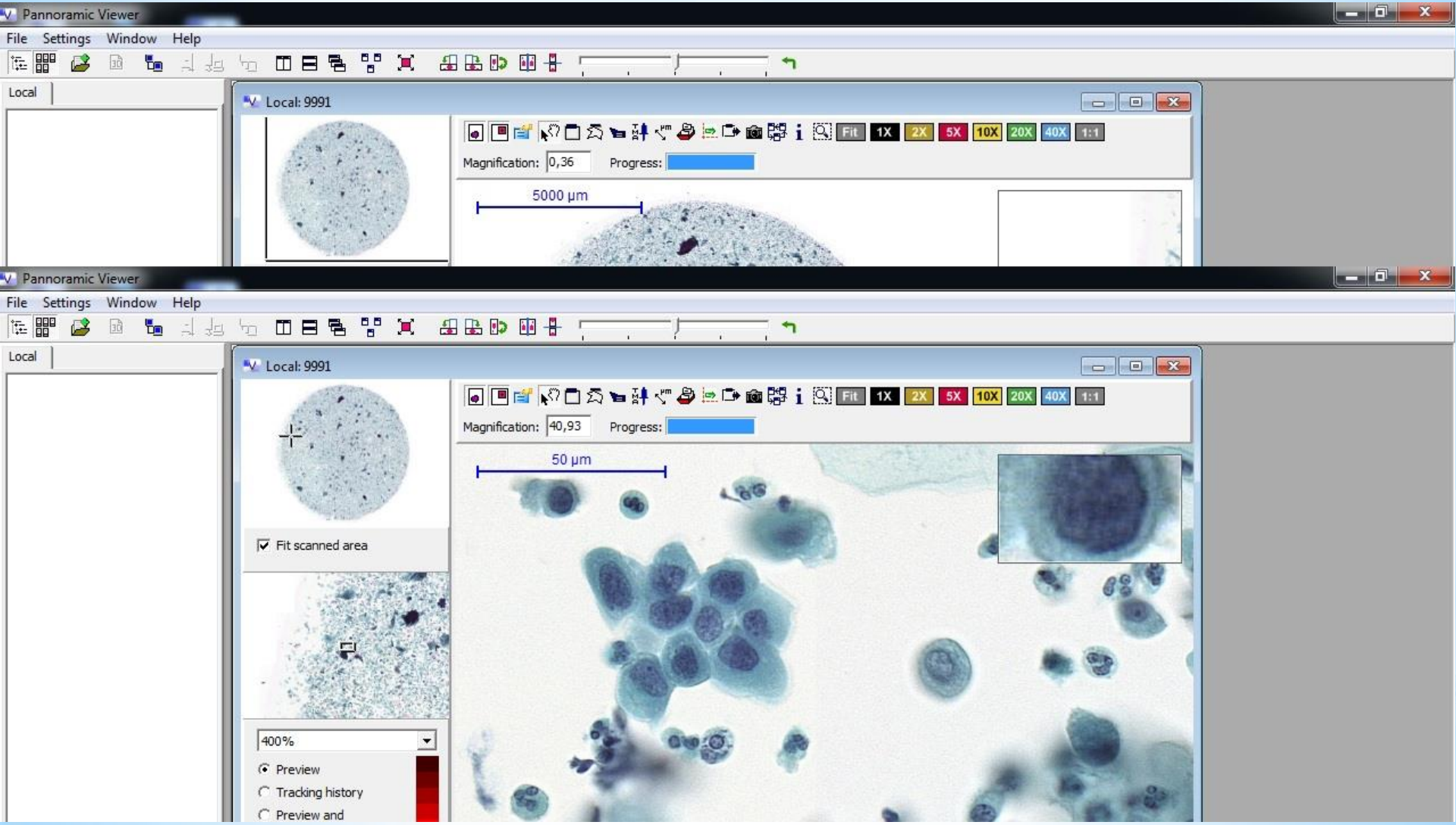


Sure Path (BD)

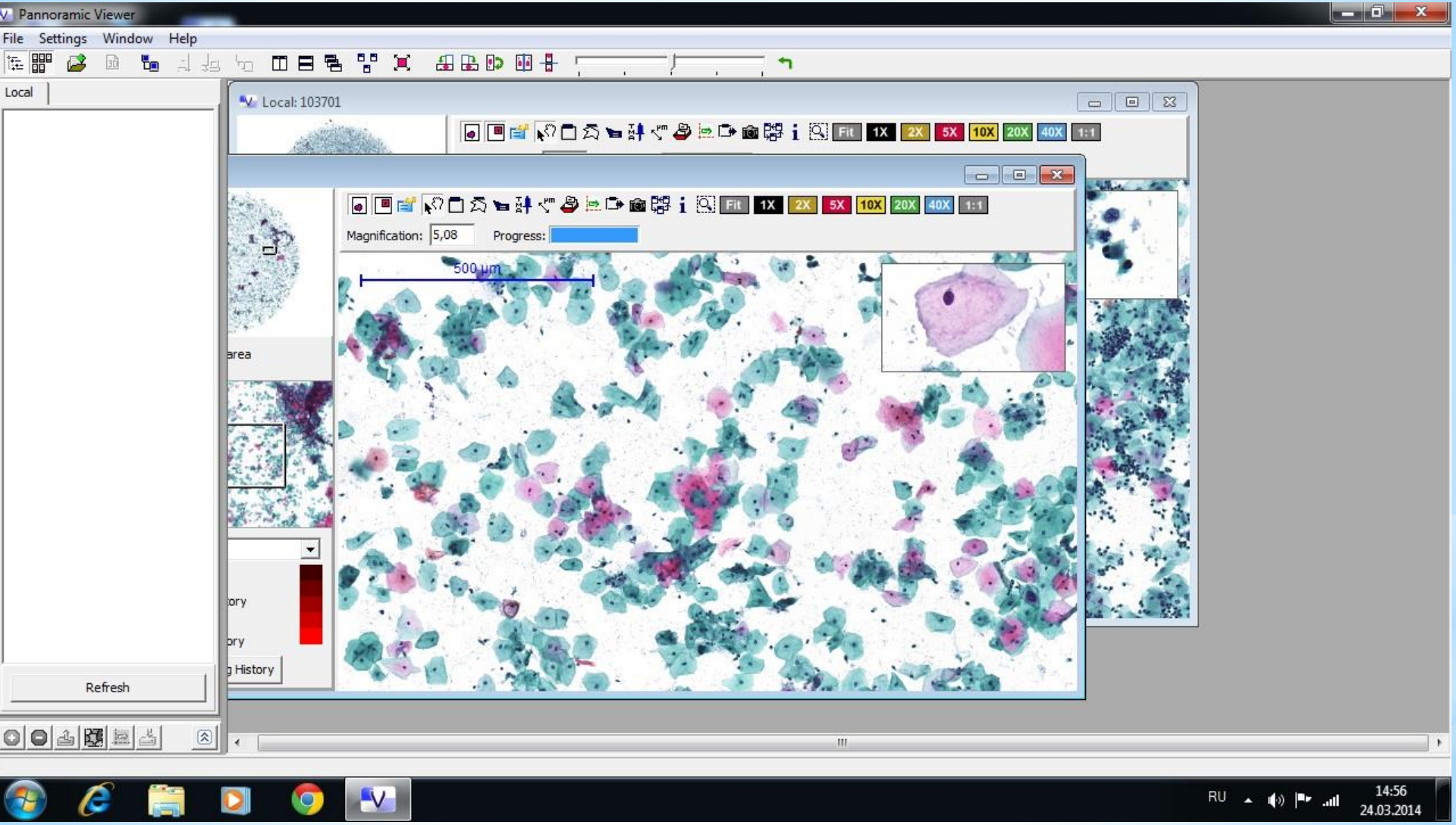
Scanning ООО «ОПТЭК»

9991 - 25 years
Sure Path (BD)

ООО «ОПТЭК»

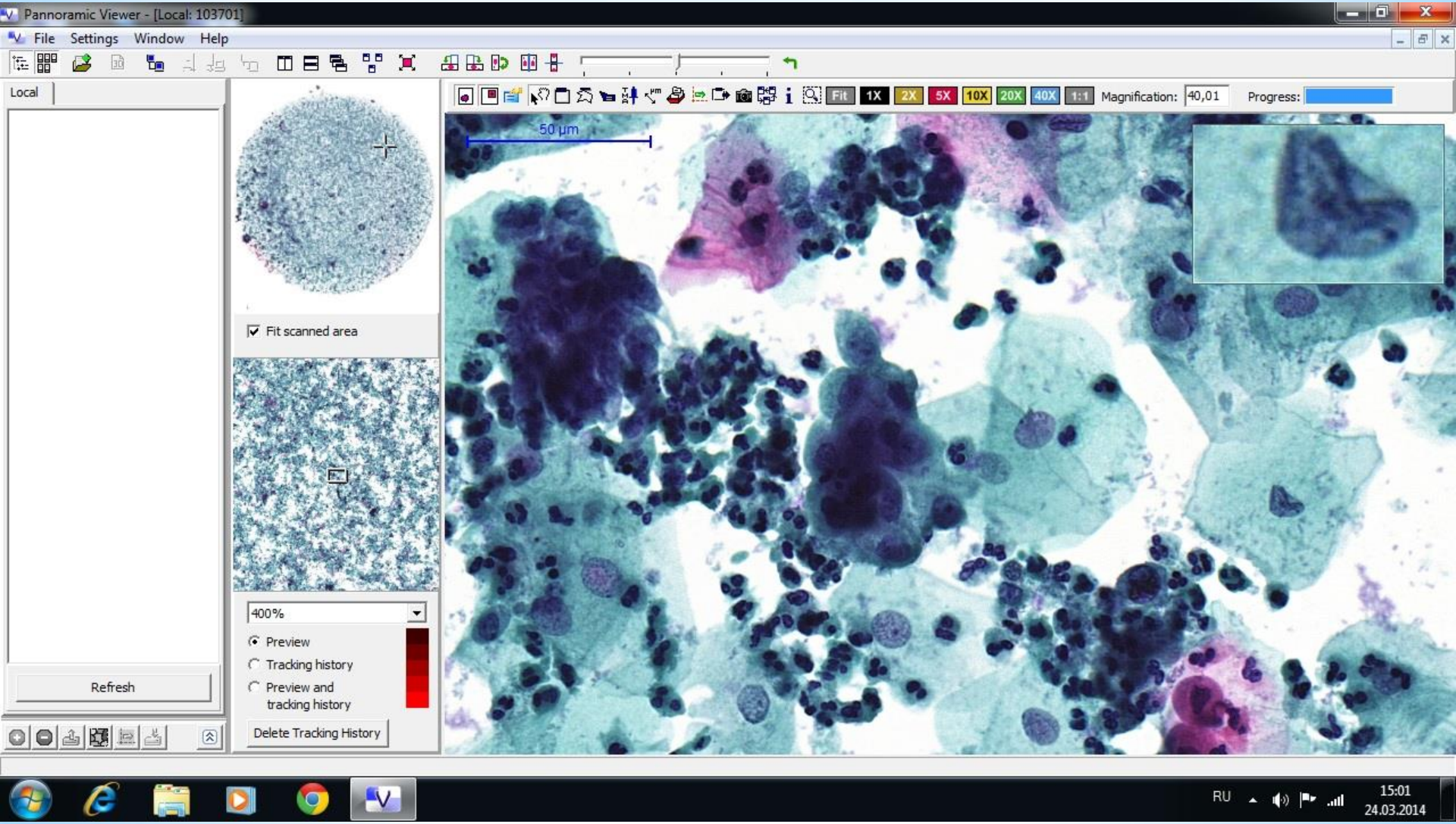


HSIL, CINIII
Histology: CINIII, cis HPV 16+

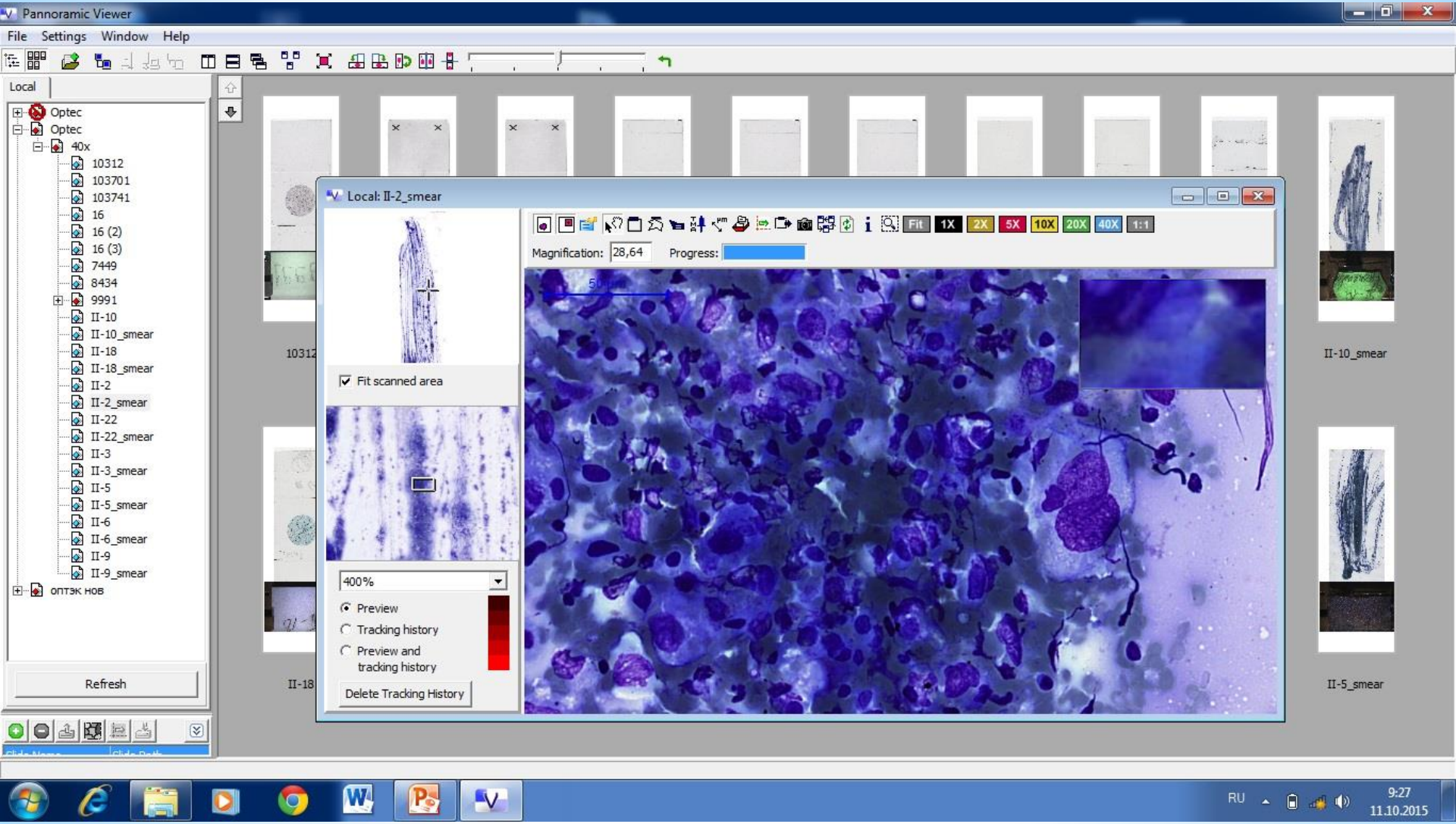


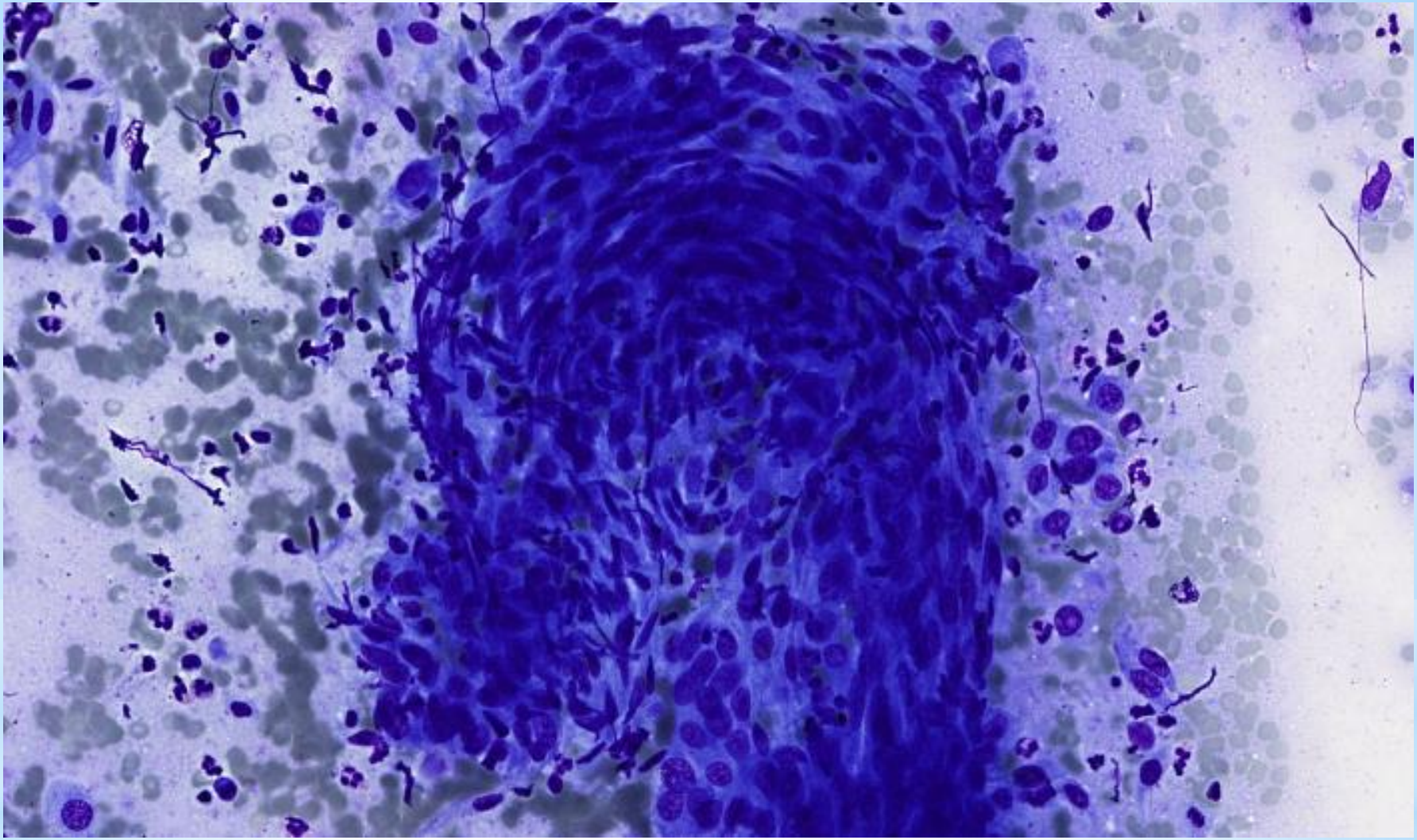
103741

Cytoscreen

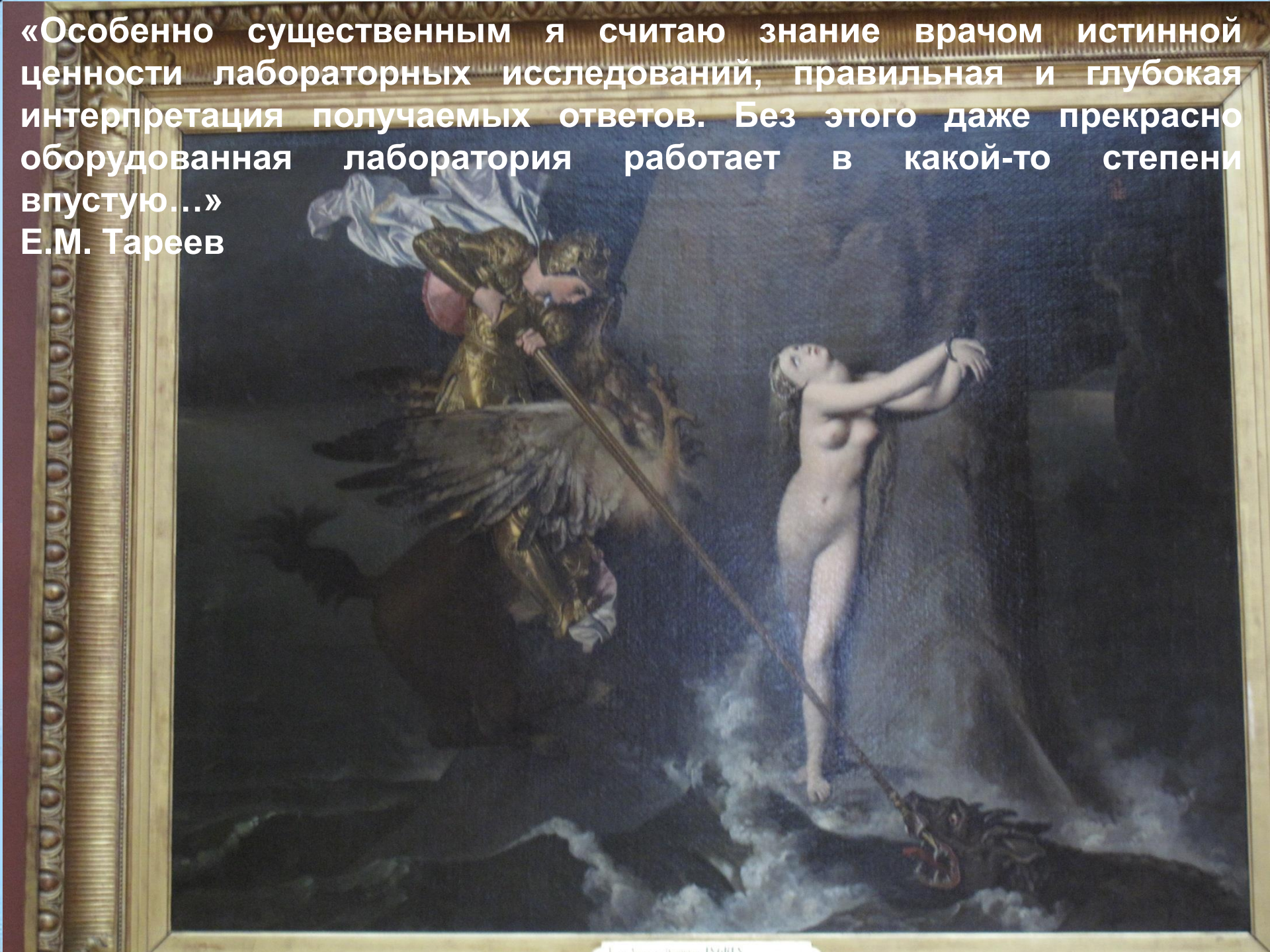


Сканирование препаратов - ООО «ОПТЭК»


Pannoramic Viewer
File Settings Window Help
Local
Optec
Optec
40x
10312
103701
103741
16
16 (2)
16 (3)
7449
8434
9991
II-10
II-10_smear
II-18
II-18_smear
II-2
II-2_smear
II-22
II-22_smear
II-3
II-3_smear
II-5
II-5_smear
II-6
II-6_smear
II-9
II-9_smear
оптэк нов
Refresh
Local: II-2_smear
Fit 1X 2X 5X 10X 20X 40X 1:1
Magnification: 28,64
Progress:
Fit scanned area
400%
Preview
Tracking history
Preview and tracking history
Delete Tracking History
II-10_smear
II-5_smear
RU
9:27
11.10.2015



«Особенно существенным я считаю знание врачом истинной ценности лабораторных исследований, правильная и глубокая интерпретация получаемых ответов. Без этого даже прекрасно оборудованная лаборатория работает в какой-то степени впустую…»
Е.М. Тареев

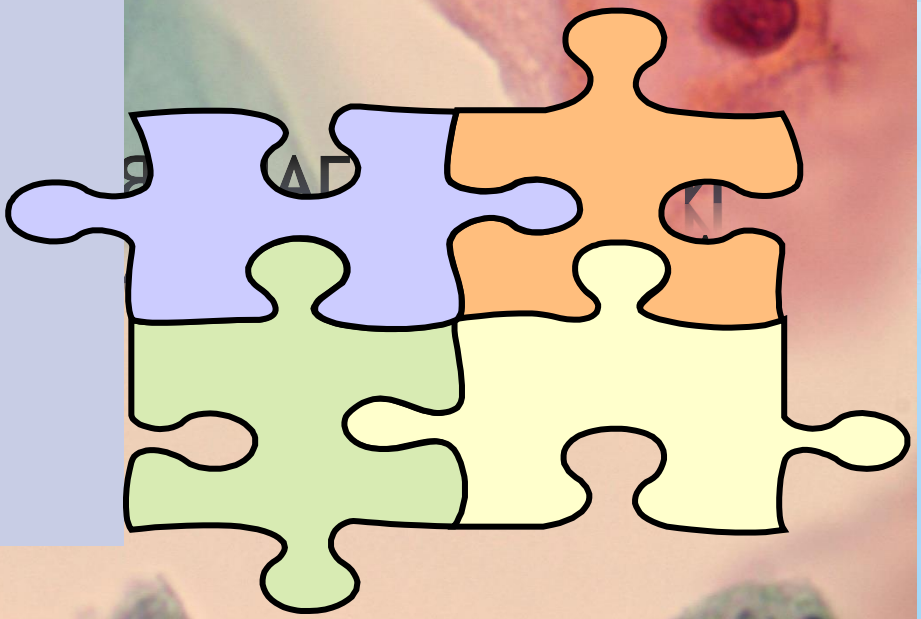


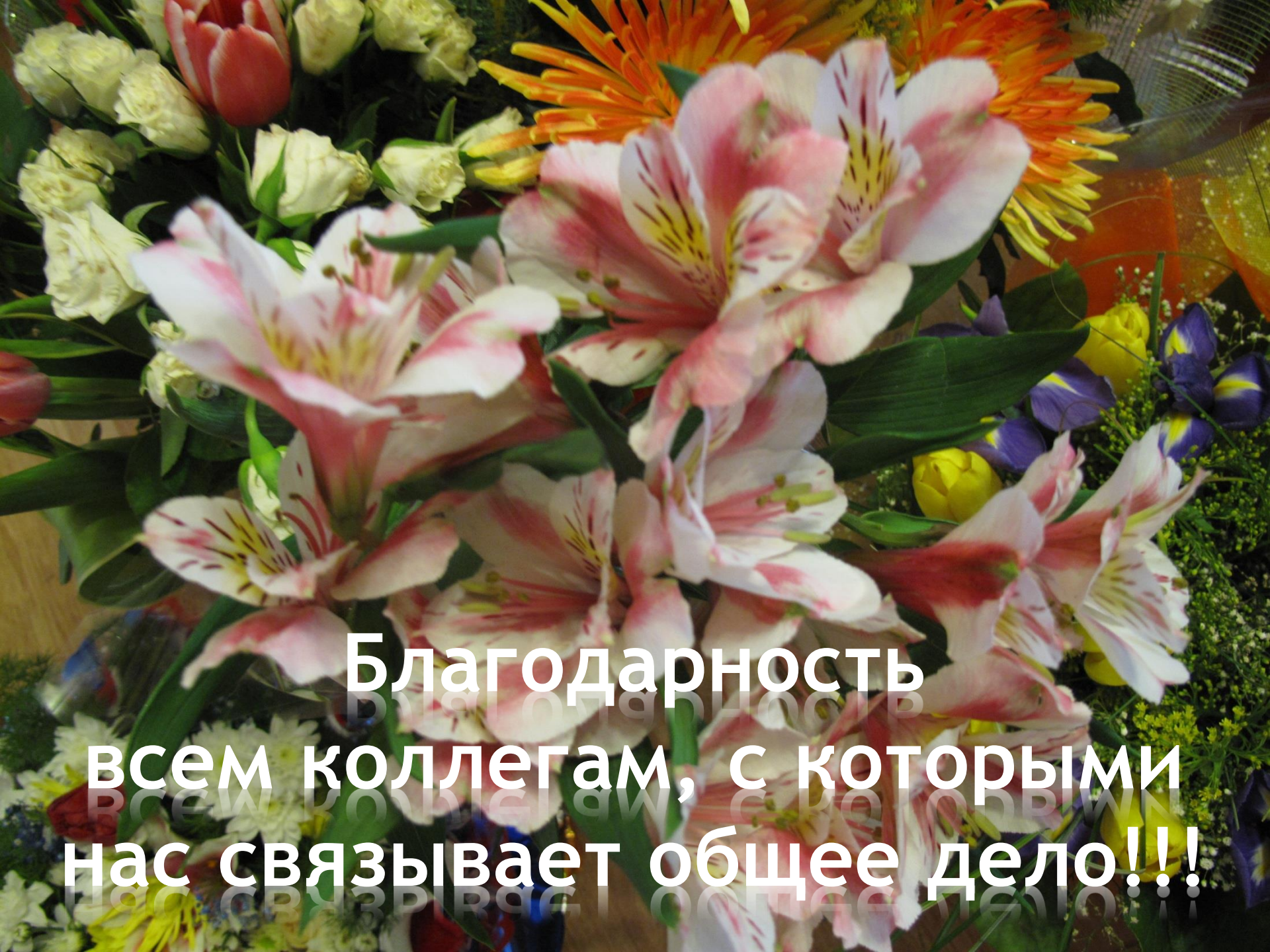
Коллегиальность

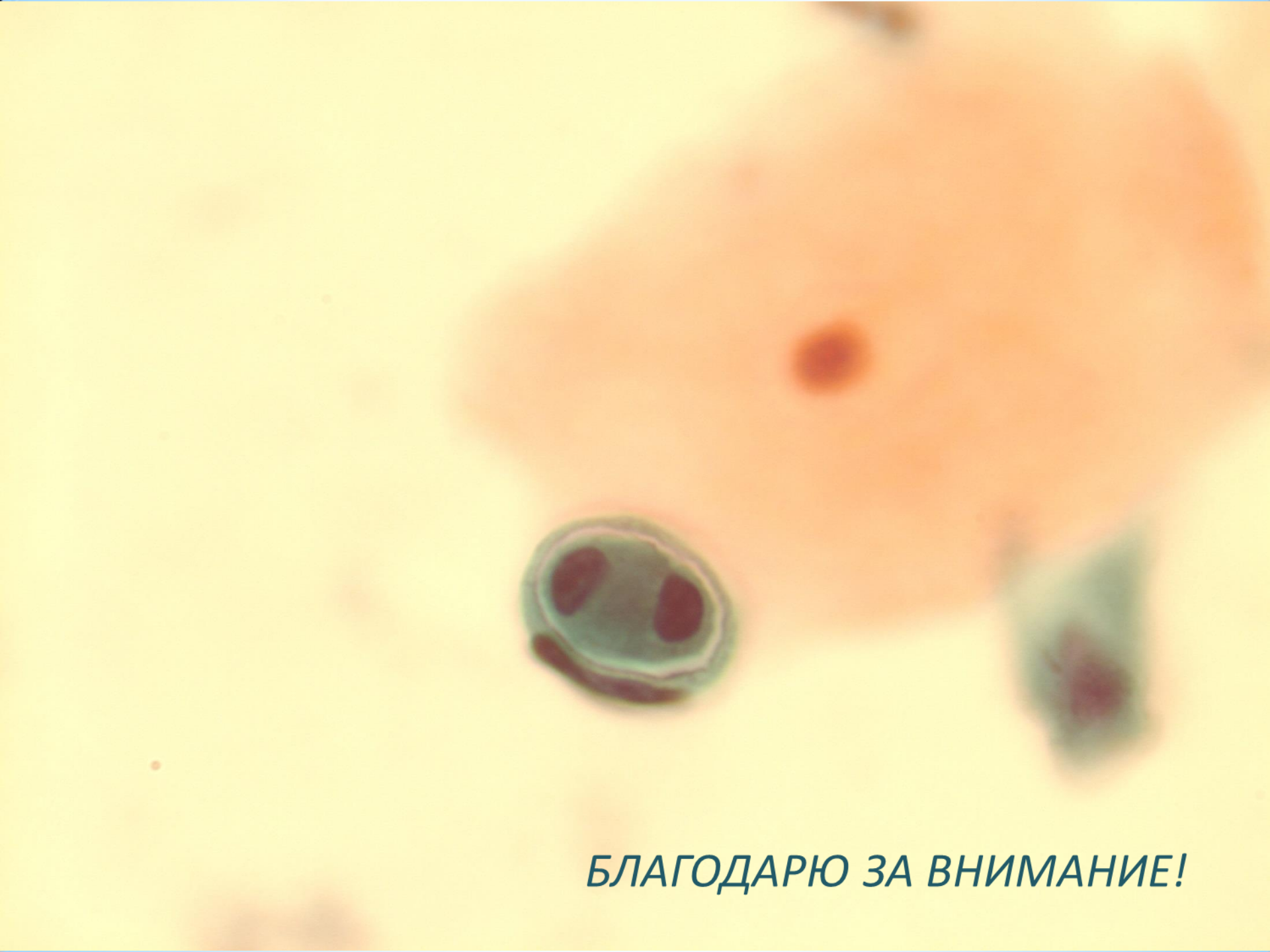
- **Профессионализм в «узкой» специальности» и во взаимоотношениях:**
  - врачей, выполняющих морфологические, в том числе цитологические исследования
  - врачей-клиницистов
  - специалистов по эндоскопии, УЗИ, лучевой диагностике
  - специалистов по общеклиническим , гематологическим , микробиологическим, вирусологическим, биохимическим, иммунологическим исследованиям
  - специалистов по молекулярно-биологическим исследованиям

При сложностях или несовпадении (противоречиях) результатов - консилиум, коллегиальное решение

* КОЛЛЕГИАЛЬНОСТЬ
* ОБМЕН ОПЫТОМ
  * Клинические дисциплины
  * Лучевая, ультразвуковая, эндоскопическая диагностика
  * Цитопатология
  * Гистопатология
  * Биохимия
  * Молекулярная биология
  * Молекулярная генетика
  * Микробиология
  * Вирусология и др.




Благодарность
всем коллегам, с которыми
нас связывает общее дело!!!


БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!