



Жидкостная  
ЦИТОЛОГИЯ -  
множество решений

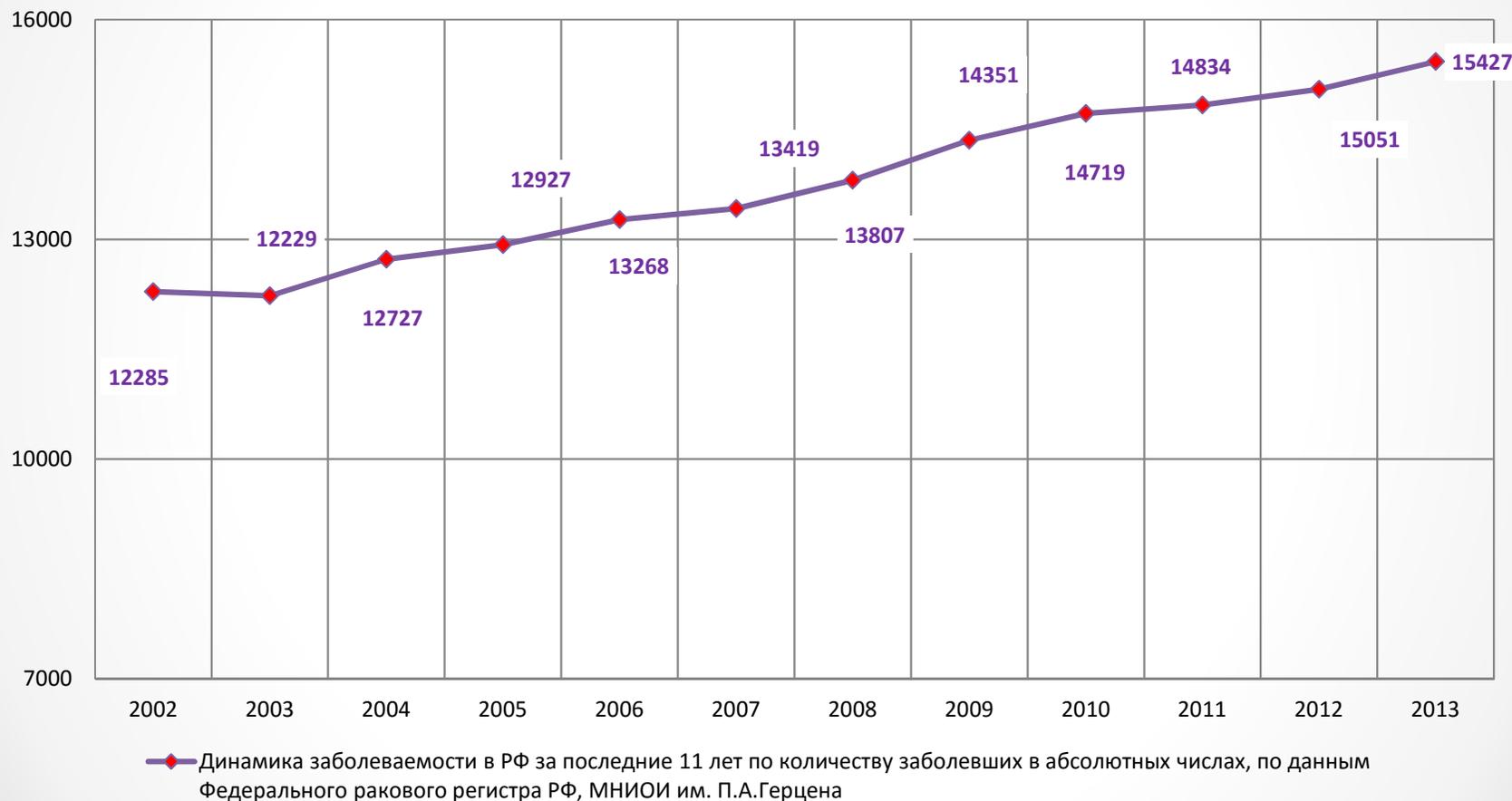
Заведующая клинико-диагностической лабораторией МГОБ № 62 О.В. Синицына

г. Москва  
2016

# РАК ШЕЙКИ МАТКИ: МИФЫ И ФАКТЫ

- Рак шейки матки (РШМ) по распространенности занимает 2-е место среди всех злокачественных опухолей у женщин (после рака молочной железы)
  - Частота инвазивного рака шейки матки в мире составляет 15-25 на 100 000 женщин
  - Каждый год в странах Европейского союза диагностируется более 25000 случаев возникновения рака шейки матки и около 12000 летальных исходов от него...
  - 5-летняя выживаемость при локализованном (in situ) раке шейки матки равна 88%, в то время как выживаемость при распространенном раке не превышает 13%...
  - **СМЕРТНОСТЬ ОТ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ КОЛИЧЕСТВЕННО ПРЕВЫШАЕТ СМЕРТНОСТЬ ОТ СПИДА И ГЕПАТИТА В...**
-

# РШМ – прирост заболеваемости 26% за последние 10 лет



# Принципы проведения скрининга рака шейки матки, предложенные в разные годы крупнейшими организациями

Популяции	ACOG 2009г.	ACS/ASCCP/ASCP, 2012г.	USPSTF 2012г.	ACOG 2009г.
до 21 года	начало с 21 года (уровень рекомендаций А)	начало с 21 года	начало с 21 года	начало с 21 года (уровень рекомендаций А)
21 - 29 лет	цитология каждые 2 года	цитология каждые 3 года	цитология каждые 3 года	цитология каждые 2 года (уровень рекомендаций А)
30 - 65 лет	цитология и тест на ВПЧ каждые 3 года	цитология и тест на ВПЧ каждые 5 лет	цитология и тест на ВПЧ каждые 5 лет или цитология каждые 3 года	цитология и тест на ВПЧ каждые 5 лет
Старше 65 лет	между 65 и 7- гг прекратить скрининг в случае 3 и более негативных цитологических тестов за последние 10 лет	Прекратить скрининг в 65 лет у лиц в отсутствие CIN2+ в течение последних 20 лет и наличия отрицательных результатов первичного скрининга (3 цитологических исследования или 2 цитологических + 2 теста на ВПЧ за последние 10 лет, с последними данными скрининга 5-летней давности)	Не проводить у лиц старше 65 лет, имеющих отрицательные результаты первичного скрининга (3 негативных цитологических теста или 2 негативных теста на ВПЧ на протяжении 10 лет, с последними данными скрининга 5-летней давности)	Прекратить скрининг в 65 лет у лиц в отсутствие CIN2+ в течение последних 20 лет и наличия отрицательных результатов первичного скрининга (3 цитологических исследования или 2 цитологических + 2 теста на ВПЧ за последние 10 лет, с последними данными скрининга 5-летней давности) (уровень рекомендаций А)
После гистерэктомии	прекратить скрининг	прекратить скрининг	прекратить скрининг	прекратить скрининг (уровень рекомендаций А)
После ВПЧ-вакцинации	также как и у лиц неимунных	также как и у лиц неимунных	также как и у лиц неимунных	также как и у лиц неимунных (уровень рекомендаций А)

*Xian Wen Jin, Cervical cancer screening: What's new and what's coming? Cleveland Clinic Journal of Medicine, 19/03/2013*

# Международные рекомендации:

- Скрининговое (досимптомное обследование) всех женщин на рак шейки матки через 3 года после начала половой жизни, но не позже 21 года
- Начиная с 30-летнего возраста пациентки с тремя последовательными отрицательными результатами при исследовании мазков из шейки матки, скрининг каждые 2-3 года
- Женщины с факторами риска (HPV, ВИЧ) должны продолжать ежегодный скрининг
- Женщины старше 65 лет и старше с тремя и более нормальными результатами анализа за последние 10 лет могут НЕ УЧАСТВОВАТЬ в скрининге
- Переболевшие раком шейки матки, имеющими папилломовирусную инфекцию или ослабленную иммунную систему, ЖЕЛАТЕЛЬНО продолжить скрининг.
- Женщины, перенесшие удаление матки и шейки матки, могут не сдавать этот анализ, если операция выполнена НЕ ИЗ-ЗА РАКА ИЛИ ПРЕДРАКОВОГО СОСТОЯНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ
- Те, у кого операция была только на матку, без удаления шейки, ДОЛЖНЫ продолжить участие в скрининге

Arbyn M. et al (2014) «European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second Edition – Summary Document»

---



## Показатели диагностики злокачественных новообразований, выявленных в 2014 г\*.

Локализация опухоли	Зарегистрировано ЗНО	Диагноз подтвержден морфологически	Имели стадию заболевания %					Летальность
			I	II	III	IV	Не установлена	
Шейка матки	15840	98,0	31,8	30,5	26,2	9,2	2,3	16,3

\* «Состояние онкологической помощи населению России в 2014 г.»  
под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой

# Для снижения заболеваемости и смертности от РШМ важное значение имеют:

- Ранняя диагностика
- Рациональное лечение предраковых состояний
- Тщательный отбор больных с повышенным риском развития цервикального рака и контроль за их состоянием

Cuzick J. Mayrand M. Ronco G. Chapter O.  
New dimensions in cervical cancer screening 2009

# Цитологические исследования на риск развития рака шейки матки в России

- При проведении диагностики на определение патологии шейки матки в большинстве случаев используется ТРАДИЦИОННЫЙ цитологический метод
- Только 20 % материала переносится на стекло
- Влияние других компонентов материала (слизь, кровь и др. клетки не из ШМ) на возможность интерпретации микропрепарата



# Традиционное взятие мазка



Образец с пораженными клетками (выделено красным)



Только часть пораженных клеток попадает на стекло



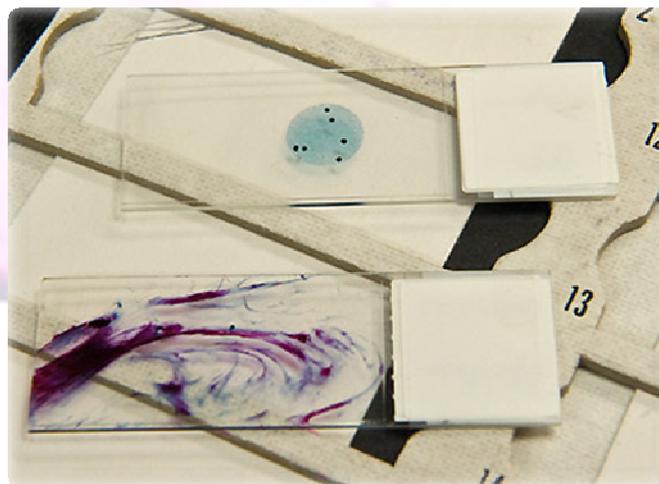
Порядка 80% клеточного материала выбрасывается



Мазок пересушен или клетки наслаиваются друг на друга



Точный диагноз поставить не возможно



# СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ: метод ЖИДКОСТНОЙ цитологии

## ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ:

1. Улучшение качества материала

- в контейнер со стабилизирующим раствором попадает ВЕСЬ полученный эпителиально-клеточный материал

- минимизируется содержание слизи, элементов периферической крови, разрушенных клеток

- клетки сохраняют как морфологические, так и молекулярно-биологические свойства

2. Длительный срок хранения полученного биоматериала: материал хранится в специальном стабилизирующем растворе.

3. Приготовление стандартизированного монослойного мазка, стандартизированные методики окрашивания – следовательно – один из этапов стандартизации преаналитического этапа цитологического исследования

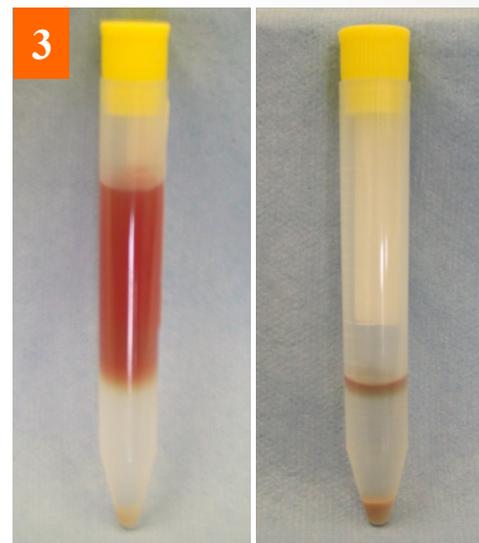
# Приготовление препаратов BD Surepath™



1. Контейнер с образцом



2. Рандомизация клеточного состава и перенос в пробирки



3. Обогащение клеточного состава по градиенту плотности



4. Автоматизированное нанесение монослоя клеток на предметное стекло и окрашивание препарата.

# Компьютеризированная система скрининга **BD FocalPoint™**

- Обработка и ранжирование препаратов для дальнейшего целенаправленного пересмотра предметных стекол цитологом
- Выделение 10 полей зрения и **навигация для цитолога по предметному стеклу** – сокращение времени на пересмотр
- Группа «без пересмотра» - возможность **не пересматривать 25% исследований**
- Контроль качества исследования – не просматривает неправильно приготовленные препараты, неинформативные препараты
- **Персонализация и электронное хранение данных**
- Снижение временных и трудовых затрат, оптимизация работы лаборатории, продуктивность цитологической лаборатории увеличивается на 68%
- Предметные стекла помещаются в штативы Штативы загружаются в прибор BD FocalPoint™ (макс. 36 штативов за раз = 288 стекол)
- Просмотр 1000 SurePath предметных стекол занимает 1605 Minutes (26.7 часов):



# Жидкостная цитология – **выявление на ранних стадиях** и **100%** обнаружения рака

Обеспечивает:

- ✓ **существенное уменьшение неудовлетворительных результатов (43%- 81%)**
- ✓ **увеличивает выявление HSIL + на 64.4%**
  
- ✓ Применение системы **BD FocalPoint** обеспечивает повышение вероятности обнаружения всех значимых изменений:
  - ✗ 98,1 % при HSIL
  - ✗ 98% при LSIL
  - ✗ 100% при раке шейки матки

**!!! Использование комбинированной цервикальной щеточки Rovers Cervex-Brush Combi увеличивает количество собранных эндоцервикальных клеток в 2 - 3 раза!!!**

# Правовые основы для внедрения программы скрининга шейки матки

## **Приказ 36ан от 27.02.15 «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенные групп взрослого населения» и Методические рекомендации к нему (5 редакция):**

все взрослое население РФ подлежит ежегодному профилактическому осмотру раз в два года и раз в три года – **диспансеризации**. В рамках диспансеризации согласно п. 12. предусматривается два этапа с первичным и углубленным осмотром. На первом этапе для лечения и диагностики РШМ обязательным считается осмотр фельдшера (акушерки), включая взятие мазка с шейки матки на цитологическое исследование (для женщин). При этом согласно Приказа цитологическое исследование должно проводиться при условии окрашивания по Папаниколау<sup>3</sup>.

## **Приказ №572н: цитология мазков (РАР-тест)**

Приложение № 20

Базовый спектр обследования в амбулаторных условиях: А - обязательный минимум обследований гинекологических больных : **цитология мазков (РАР-тест)**. (...) (1 раз в год, далее – по показаниям).

**Базовый объем обследования в стационарных условиях:** Диагностические мероприятия: 1.

Обследование в соответствии с рубрикой А

# Программы скрининга в России

В настоящее время в России работает **12** скрининговых проектов методом жидкостной цитологии по выявлению РШМ: **Ростовская область** (Приказ МЗ РО и ТФОМС РО № 2756/04-696 от 30.12.2011); **Тамбовская область** (Приказ Управления Здравоохранения Тамбовской области №2079 от 30.12.2013); **Ханты-Мансийский автономный округ** (Приказ № 122 от 06.03.2104); **Московская область** (Приказ МЗ Московской области №1286 от 22.10.2013); **Волгоградская область** (Приказ Комитета здравоохранения Волгоградской области №2071 от 29.06.2015); **Республика Татарстан** (Приказ МЗ Республики Татарстан №877 от 13.05.2015); **Республика Калмыкия** (Приказ МЗ Республики Калмыкия №805пр от 25.06.2015); г. **Севастополь** (Приказ Департамента здравоохранения №367 от 18.06.2015); **Калужская область** (Приказ №190 от 25.02.2015); **Ставропольский край** (Приказ МЗ Ставропольского края № 01-05.282 от 18.05.2015)

Все указанные скрининговые программы основаны на оснащении лабораторий автоматическими системами для цитологических исследований BD TriPath.

**Проводится порядка 1 млн. исследований в год.**

## Также рекомендуется:

- Исследование ВПЧ (Human Papillomavirus высокого канцерогенного риска 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59)
- Определение p16ink4a – онкопротеин, биологический маркер инициации канцерогенеза в клетке.

# Использование в скрининге биомаркёров цервикальной дисплазии и дисрегуляции клеточной пролиферации

## p16<sup>ink4a</sup> и Ki-67 ?

чувствительность:

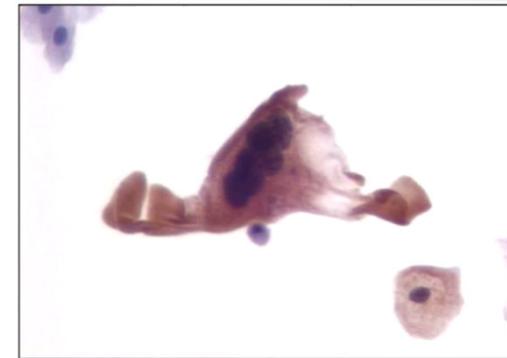
91,9% в выявленной CIN-II+;

96,4% в CIN-III+

специфичность:

82,1% CIN-II+

76,9% в выявленной CIN-III+



*Xian Wen Jin, Cervical cancer screening: What's new and  
what's coming? Cleveland Clinic Journal of Medicine,  
03/19/2013*

## **Значение диагностики для дальнейшего лечения**

- **Анализ полученных данных жидкостной цитологии и исследования онкомаркера p16ink4a позволяет врачу разработать для пациентки ОПТИМАЛЬНУЮ программу дальнейшей профилактики и/или лечения**
- В случае, когда p16ink4a в диспластических клетках не определяется – низкий онкологический риск
- Если p16ink4a – «положительный результат» - врач проводит лечение и информирует пациентку о необходимости дальнейших регулярных обследований

# Рак мочевого пузыря(РМП)

- В мире: более 200 000 новых случаев ежегодно
- В РФ :
  - Заболеваемость 9,34 на 100 000 («грубый» показатель)
  - 13260 новых случаев
  - умерло 6933 больных
  - прирост за последние 10 лет-14.85 %

В структуре онкологической заболеваемости в РФ:

- ✓ -4-ое место у мужчин, 10-ое место у женщин
- ✓ -мужчины/женщины= 3/1

В.И.Чиссов с соавт.,2014,2015

# ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ

Материал: моча

Оборудование :

- -Анализатор осадка мочи UF-1000i, Sysmex
- -SurePath, BD
- -AutostainerLink 48, Dako

Методы исследования:

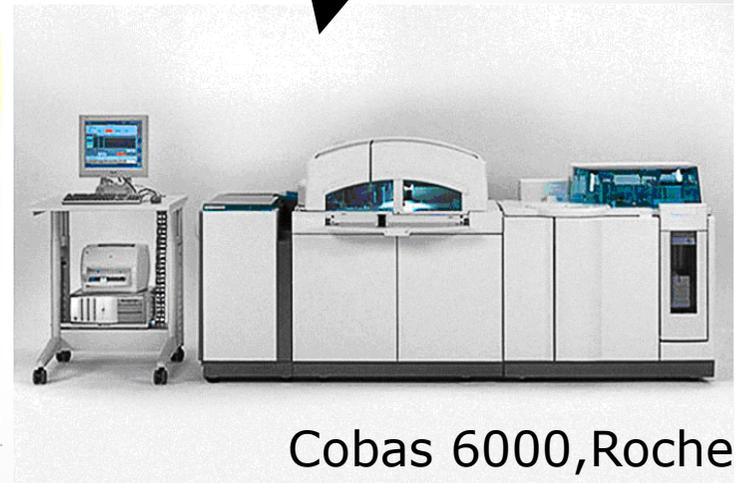
- -проточная цитометрия,
- -цитологический, иммуноцитохимический

# Алгоритм приготовления образца



Клинико-диагностическая лаборатория  
 № пробы: 78197 Штатив: 3 Пробирка: 9  
 Ф.И.О.:  
 Анализ мочи  
 Sysmex UF-500i 24/02/2014 10:03:50

	Муж -	Жен -	Дети: Мал -	Дев -
Лейкоциты	88.3 кл/мкл	(0 - 9,2 - 39,0 кл/мкл)	(0 - 5,8 - 9,2 кл/мкл)	
Эритроциты	18.5 кл/мкл	(0 - 13,1 - 30,7 кл/мкл)	(0 - 11,6 - 19,1 кл/мкл)	
из них: изменённых	8.0 кл/мкл			
неизменённых	3.8 кл/мкл			
лизированных	6.6 кл/мкл			
Эпителий плоский	9.7 кл/мкл	(0 - 5,7 - 45,6 кл/мкл)	(0 - 4,8 - 7,7 кл/мкл)	
<b>Эпителий переходный</b>	<b>7.9 кл/мкл</b>	(0 - 4,08 - 5,97 кл/мкл)	(0 - 3,8 - 4,5 кл/мкл)	
Цилиндры	0.64 кл/мкл	(0 - 2,2 - 2,4 кл/мкл)	(0 - 0,27 - 0,25 кл/мкл)	
Цилиндры патологические	0.00 кл/мкл	(0 - 0,523 - 0,667 кл/мкл)	(0 - 0,17 - 0,17 кл/мкл)	
Бактерии	29126.8 кл/мкл	(0 - 11,4 - 385,8 кл/мкл)	(0 - 3,4 - 34,8 кл/мкл)	
Дрожжеподобные клетки	0.0 кл/мкл	(0 - 0 - 0,019 кл/мкл)	(0 - 0 - 0 кл/мкл)	
Слизь	2.69 кл/мкл	(0 - 7,14 - 4,82 кл/мкл)	(0 - 0,6 - 0,6 кл/мкл)	
Кристаллы	0.2 кл/мкл	(0 - 0,27 - 0,304 кл/мкл)	(0 - 0 - 0,1 кл/мкл)	
Сперматозоиды	0.0 кл/мкл			
Проводимость мочи	10.8 мС/мсм			



Cobas 6000, Roche

# Клинический случай пациентка М., 75 лет

- 2012г-гематурия, на УЗИ обнаружена экзофитная опухоль, проведена операция ТУР, гистология- Уротелиальная карцинома с плоскоклеточной метаплазией.
- в январе 2013г.-папиллярная опухоль- рецидив?, гистология-воспаление, p16ink4a обнаружен умеренно выраженный позитивный сигнал в опухолевых клетках.
- в октябре 2013г.- клинически рецидив, **CYFRA 21-1**= 20.1 нг/мл.(норма 0-4)
- в ноябре 2013г. –папиллярное стеелящиеся образование –ТУР и 6 курсов химиотерапии. Гистология – уротелиальная карцинома с низким потенциалом злокачественности.

# Клинический случай пациентка М., 75 лет

- Июнь 2014 Контроль:

**CYFRA** в моче=5,2 нг/мл(N=0-4),

в крови=1,1 нг/мл(N=0-1),

**p16ink4a** обнаружен позитивный  
сигнал в опухолевых клетках,

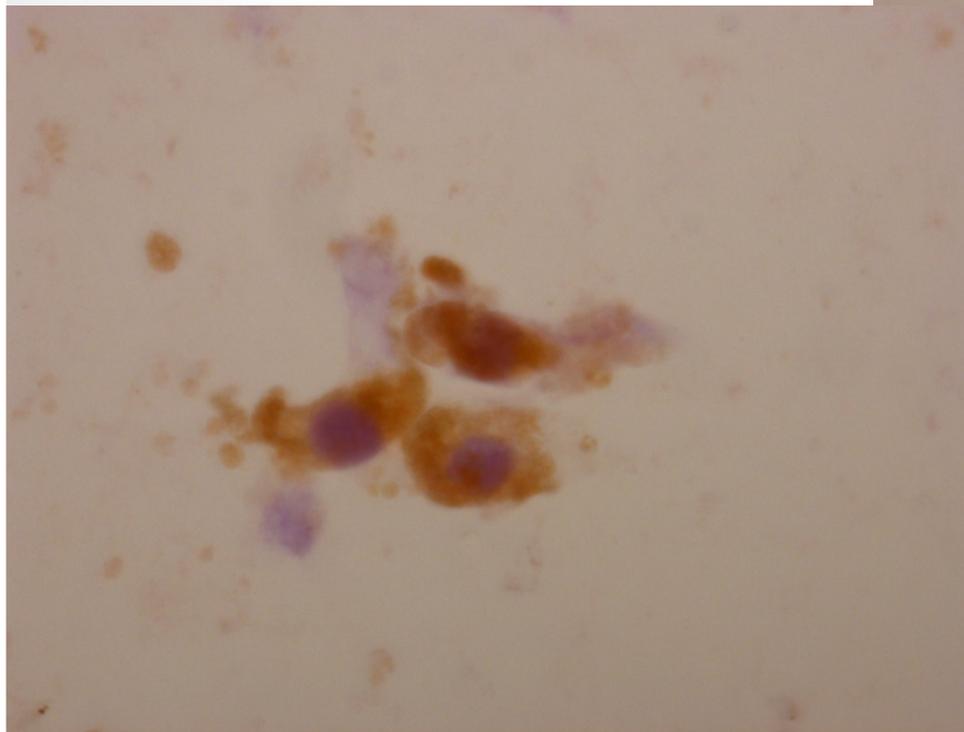
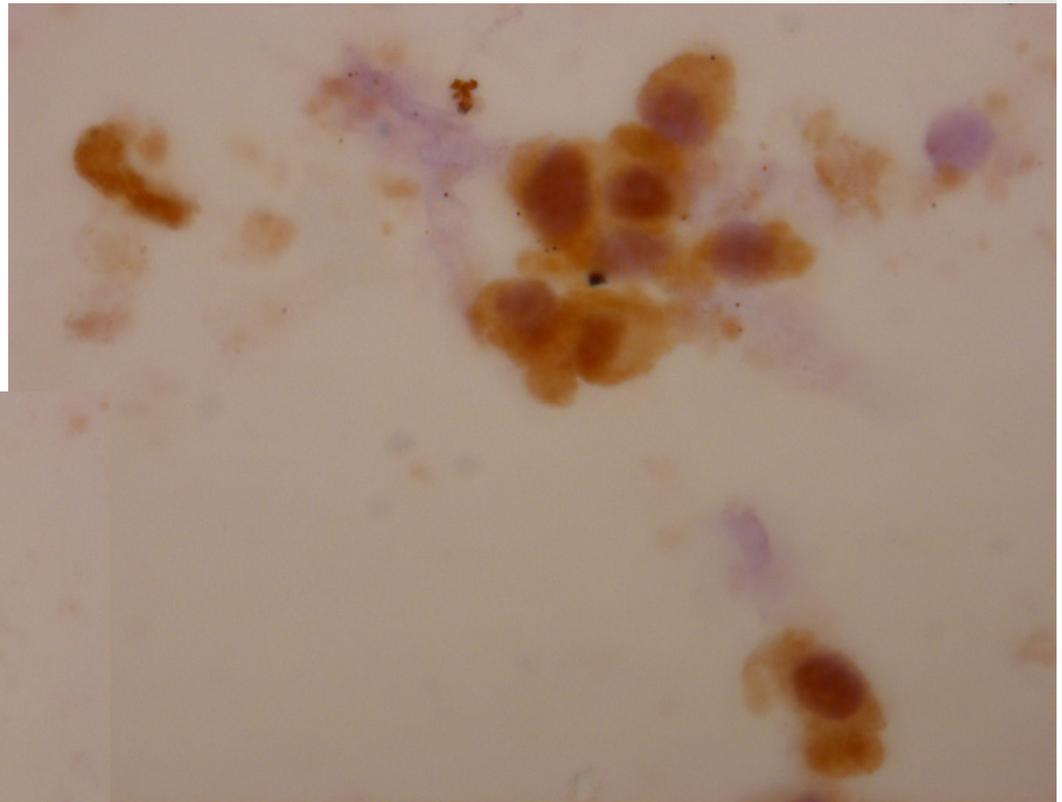
цистоскопия-опухоль 5 мм, рецидив, ТУР.

Гистологически уротелиальный рак.

Пациентка М., 75 лет

p16ink4a позитивный сигнал

CINtec, Roche  
Corp., x40



## Структура заболеваемости

- Основные злокачественные гинекологические опухоли занимают около 20 % в общей структуре заболеваемости женщин
- Каждый год в России опухолями гениталий заболевают более 45 тыс. женщин
- За последние 11 лет в России прирост:
  - рак эндометрия **32,0 %**;
  - инвазивные формы рака шейки матки **16,6 %**;
  - рак яичников **13,6 %**.

# Цитологическое исследование пайпель-аспирата (Pipelle de Cornier) из полости не утратило своей значимости до настоящего времени

## Возможности цитологического метода:

- ❖ Позволяет исследовать слизистую матки на клеточный состав;
- ❖ Обнаружить и изучить изменения, происходящие в клетках эндометрия;
- ❖ Провести дифференциальную диагностику между злокачественными образованиями и гиперпластическими процессами в эндометрии;
- ❖ Позволяет определять выраженность пролиферативных изменений эндометрия;
- ❖ Своевременно выявить рак эндометрия в его ранних преклинических стадиях.



## Ограничения цитологического метода

- Требуется специальная подготовка врача – цитолога, которая возможна лишь при условии достаточного каждодневного объема исследований;
- Исследуется поверхностная часть функционального слоя эндометрия, следовательно могут быть недиагностированные патологические изменения эндометрия;
- Цитологическое исследование не дает четкого представления о гистологической структуре эндометрия.

Чувствительность метода составляет 62,5 – 91,5 %, специфичность 94 %, ложноположительные результаты встречаются в 31 %, ложноотрицательные – 7,9%.

Polena V., Mergui J.L., Zerati L. et al. The role of Pipelle (®) Mark I sampling in endometrial disease diagnosis. 2009.

## АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ:

- В настоящее время метод традиционной цитологии не является высокоинформативным в исследовании материала из полости матки и не позволяет провести дообследование без повторного забора материала для уточнения характера процесса (ИЦХ-исследование, реал-тайм ПЦР) на догоспитальном этапе.

## ЦЕЛЬ

- Улучшить качество получаемых результатов при первичном исследовании эндометрия и для коррекции лечения патологии эндометрия

**Клинический материал:** пайпель-аспират из  
• полости матки

# ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЭНДОМЕТРИЯ

**586 пациенток, 33.4-86.7%** ( *Sharkey A.M.,2003, Nulsen J.C.et al, 2010*)

Молекулярно-биологические исследования

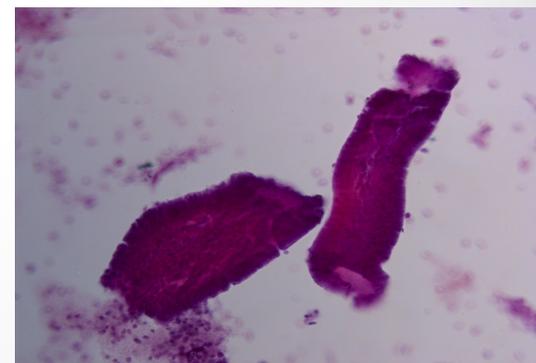
- ДНК ВПЧ
- ДНК хламидий
- ДНК факультативных и облигатных анаэробов



Цитологические исследования  
(обзорная)

Иммуноцитохимические исследования

рецептивность эндометрия, CD-138, маммоглобин, KI 67 ,CD 20, 56



С 2014 по 2015 в КДЛ был исследован материал,  
полученный при Пайпель – биопсии у 586  
пациенток

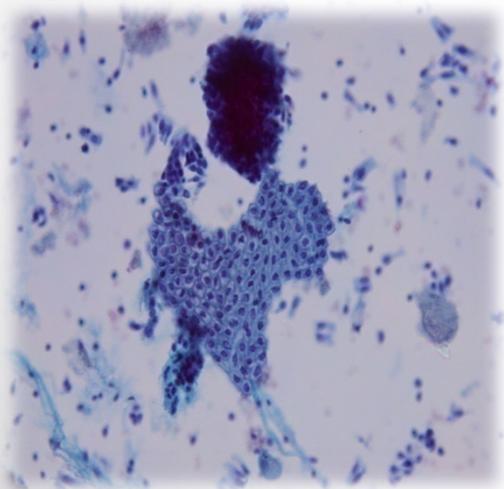
<b>Нозология</b>	<b>Количество</b>
Патология эндометрия(гиперплазия)	98
Миома матки	38
Невынашивание после ЭКО	90
Привычное невынашивание	<b>152</b>
Бесплодие первичное	112
Бесплодие вторичное	64
Нарушение менструальной функции	32



## Алгоритм приготовления образца



Несмотря на разнообразие моноклональных антител, используемых в иммунохимии – они **ЕДИНЫ ДЛЯ ГИСТОЛОГИИ И ЦИТОЛОГИИ** (Глузман Д.Ф. с соавт. 2003, Петров С.В., Райхлин Н.Т. 2004)



# 100% собранного материала попадает в лабораторию для исследования



Молекулярно-биологические исследования

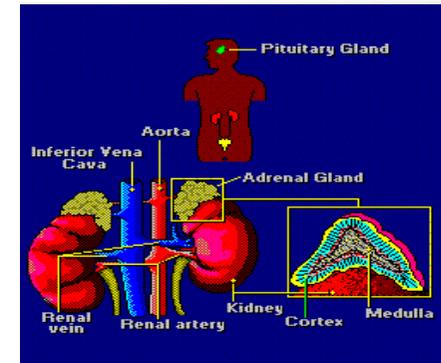
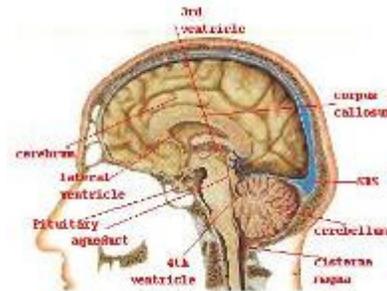
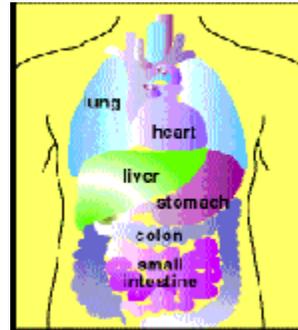
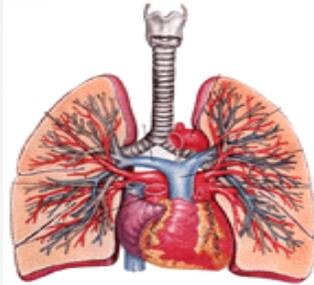
- ДНК ВПЧ
- ДНК Хламидий

Имуноцитохимические исследования

- Эпителий шейки матки
- Эндометрий
- Выпотные жидкости
- Пунктаты опухолей и опухолеподобных образований

Цитологические исследования (стандартные)

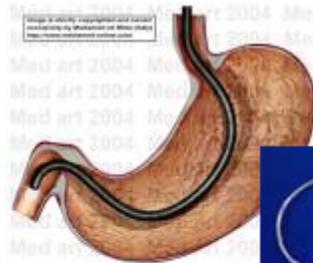
# Негинекологические образцы



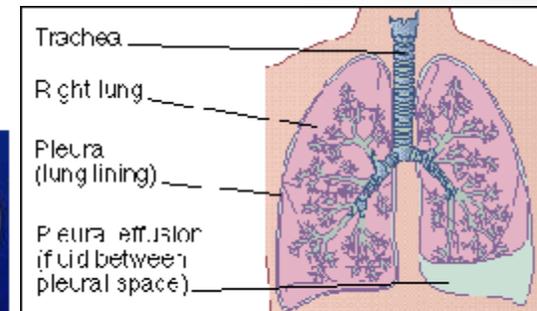
Слушивание



Тнкоигольные  
аспираты



Эндоскопиче  
ские  
смывы/соск  
обы



Fluid Taps

# Негинекологические образцы

Моча

Плевральная жидкость

Асцитические жидкости

Перикардальные выпоты

Тонкоигольные биопсии

Лимфоузлы

Щитовидная железа

Лёгкие

Смывы

Соскобы

Мокрота

Спинномозговая жидкость

## **Все усовершенствования в проведении скрининга могут остаться неэффективными при отсутствии:**

- профессиональной подготовки
- слаженной работы гинекологов, цитологов, морфологов и онкологов



Благодарю за внимание !!!