

ЦИТОЛОГИЯ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616-08-039.74-076.5

Круглова И.А.¹, Денисенко А.Н.¹, Зиновьев С.В.², Уткин О.В.^{2,3}, Князев Д.И.³

ВОЗМОЖНОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХАРАКТЕРА ЭКССУДАТА НА ЭТАПЕ ОКАЗАНИЯ ЭКСТРЕННОЙ ПОМОЩИ

¹ГБУЗ «Городская больница №35», 603089, Нижний Новгород, Россия;

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава РФ, 603950, Нижний Новгород, Россия;

³ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора», 603005, 603006, Нижний Новгород, Россия

Цитологическая диагностика по выпотным жидкостям в настоящее время - единственный достоверный метод морфологической верификации диагноза, имеет прогностическую значимость и определяет выбор стратегии лечения. Вместе с тем вариабельность нормальных клеток мезотелия вызывает значительные затруднения в его дифференциальной диагностике с реактивно изменённым мезотелием, злокачественной мезотелиомой и метастазом рака, что требует привлечения дополнительных аналитических методов. Проведено ретроспективное исследование цитологических препаратов за 2017 г., а также оценена эффективность применения флуоресцентной иммуноцитохимии (ФИЦХ) на тест-системе «Биочип» в сочетании с традиционным цитологическим исследованием. За период ноябрь 2017г. – июль 2018г. исследовано 46 экссудатов серозных полостей: у 9(19,6%) пациентов диагностировали метастатический выпот, у 31 (66,7%) пациента установлен реактивный характер экссудата, высказано подозрение на злокачественную природу серозной жидкости у 4(8,7%) пациентов, а у 4,8% (2 образца) точный диагноз поставить не удалось. После проведения дополнительного исследования ФИЦХ с использованием тест-системы «Биочип» число пациентов с установленным диагнозом метастатический выпот возросло до 7 (25,9%) за счёт снижения процента случаев неустановленного характера выпота. Совместное использование методов традиционной цитологии и ФИЦХ в диагностике выпотных жидкостей на этапе оказания экстренной медицинской помощи пациенту способствует более быстрой и достоверной постановке диагноза, так как позволяет подтвердить злокачественность исследуемого материала и предположить местонахождение первичного очага.

Ключевые слова: цитологическая диагностика по выпотным жидкостям; иммуноцитохимия; ФИЦХ; биочип; флуоресценция; цитологическое исследование экссудата.

Для цитирования: Круглова И.А., Денисенко А.Н., Зиновьев С.В., Уткин О.В., Князев Д.И. Возможности цитологической диагностики экссудата на этапе оказания экстренной помощи. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (12): 768-772. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-768-772>

Kruglova I. A.¹, Denisenko A. N.¹, Zinoviev S. V.², Utkin O. V.^{2,3}, Knyazev D. I.³

POSSIBILITIES OF CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF THE NATURE OF THE EXUDATE AT THE STAGE OF EMERGENCY

¹ State budgetary institution of health care "City hospital No. 35", 603089, Nizhny Novgorod;

² Federal state budgetary educational institution of higher professional education "Privolzhskiy Research Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federatsii, 603950, Nizhny Novgorod;

³ Federal budgetary institution of science "Nizhny Novgorod research Institute of epidemiology and microbiology. academician I. N. Blokhina Rospotrebnadzor", 603005, 603006, Nizhny Novgorod, Russia

Cytological diagnosis by effusions is currently the only reliable method of morphological verification of the diagnosis, it has prognostic significance and determines the choice of treatment strategy. At the same time, the variability of normal mesothelial cells causes significant difficulties in its differential diagnosis with reactive mesothelium, malignant mesothelioma and cancer metastasis, which requires additional analytical methods. A retrospective study of cytological preparations for 2017 was conducted, as well as the effectiveness of the use of fluorescent immunocytochemistry (FITZ) on the test system "biochip" in combination with a traditional cytological study was evaluated. During the period of November 2017 – July 2018, 46 exudates of serous cavities were studied, which showed that 9 patients (19.6%) were diagnosed with metastatic effusion, 31 (66.7%) patients had reactive exudate, suspicion of the malignant nature of serous fluid was expressed in 4 patients (8.7%), and 4.8% of persons (2 samples) failed to make an accurate diagnosis. After an additional FITZ study using the "Biochip" test system, the number of patients diagnosed with metastatic effusion increased to 7 (25.9%) due to a decrease in the percentage of cases of unspecified effusion. The combined use of traditional cytology and fluorescent immunocytochemistry in the diagnosis of effusion fluids at the stage of emergency medical care to the patient complements each other and contributes to a faster and more reliable diagnosis, as it allows to confirm the malignancy of the test material, and to assume the primary focus.

Key words: cytological diagnosis of exudative liquids; immunocytochemistry; FISH; biochip; fluorescence; cytology of exudates.

For citation: Kruglova I. A., Denisenko A. N., Zinoviev S. V., Utkin O. V., Knyazev D. I., Possibilities of cytological diagnosis of the nature of the exudate at the stage of emergency, *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (12): 768-772 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-768-772>

For correspondence: Kruglova I.A., clinical laboratory diagnostics doctor (cytologist); e-mail: irisha-kruglova@yandex.ru

Information about authors:

Kruglov I. A. <https://orcid.org/0000-0001-7955-349X>

Denisenko A. N. https://elibrary.ru/autor_items.asp?authorid=16069

Zinoviev, S. V. <https://orcid.org/0000-0003-1037-2601>

Utkin O. V. <https://orcid.org/0000-0002-0941-9890>

Knyazev D. I. <https://orcid.org/0000-0003-4797-2520>

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 06.12.2018
Accepted 10.12.2018

Введение. Брюшная, плевральная и перикардиальная полости (серозные полости) человека со стороны целома выстланы однослойным мезотелием. В норме мезотелий характеризуется полиморфизмом, приобретающим признаки выраженной пролиферации при неоплазиях, инфекционных заболеваниях и других патологических состояниях [4, 11].

У здорового человека в каждой из серозных полостей находится небольшое количество жидкости: перикардиальная - до 2,0 мл, плевральная - около 10,0 мл, брюшная - до 50,0 мл. Считается, что объём жидкости в серозных полостях организма в количестве, достаточном для пункции, говорит о наличии патологического процесса [4, 15]. Следует отметить, что цитологическая диагностика по выпотным жидкостям на данный момент времени остаётся единственным достоверным методом (от 64 до 96%) морфологической верификации диагноза, имеет прогностическую значимость и определяет выбор стратегии лечения [1, 2, 5]. Вместе с тем вариабельность нормальных клеток мезотелия вызывает затруднения при дифференциальной диагностике с реактивно изменённым мезотелием, злокачественной мезотелиомой и метастазом рака, что требует привлечения дополнительных аналитических методов [4, 15].

К признакам злокачественной трансформации мезотелиальных клеток относят высокую клеточность препарата, большой размер и изменение формы клеток, присутствие папиллярных, многоядерных структур, многоядерные клетки с признаками гипертрофии ядер и нуклеол. Для клеток пролиферирующего мезотелия и злокачественной мезотелиомы общими признаками являются наличие зубчатых границ пластов, краевое снижение интенсивности окраски цитоплазмы, низкое ядерно-цитоплазматическое соотношение [16]. Злокачественную мезотелиому чётко характеризуют клетки «одной популяции», сходные между собой. Метастатический характер выпотной жидкости характеризуют контуры клеточных комплексов, формирующих многослойные и железистоподобные структуры, резко выраженная разница в размерах клеток (от 10–15 мкм до 100–200 мкм), ядерный полиморфизм и др. [6, 7]. Несмотря на это единых цитологических критериев, позволяющих дифференцировать мезотелиому и метастатический рак, не разработано [16]. В этой связи цитологическая диагностика по выпотным жидкостям осуществляется во взаимосвязи с клинической картиной заболевания. По данным литературы у 14% больных с экссудатом в плевральной полости и у 7% пациентов с асцитом первичный диагноз злокачественной опухоли устанавливается

по результатам исследования серозной жидкости при обращении в ЛПУ по причине другого заболевания. У 15% таких пациентов на момент исследования первичная локализация опухоли неизвестна, а в 3-7% случаев необходима дифференциальная диагностика между прогрессированием основного заболевания и первично-множественным поражением [6, 14].

Стандартные диагностические алгоритмы клинико-рентгенологических и лабораторных исследований позволяют установить природу экссудата лишь в 80–85% случаев (Лискина И.В., Суслов Е.И., Куц В.В., 2007). Описанную ранее проблему в большинстве случаев можно преодолеть, используя иммуноцитохимические исследования (ИЦХИ).

По данным литературы метастатический аденогенный рак характеризуется положительной реакцией (до 90% случаев) на ЕрСАМ (клон ВегЕр4), который экспрессируется на мембране эпителиальных клеток, в том числе злокачественно трансформированных [11, 16]. В сочетании с другими маркерами ЕрСАМ может использоваться в выявлении опухолей эпителиального происхождения и в дифференциальной диагностике между аденокарциномой и мезотелиомой. Позитивную реакцию на ЕрСАМ выявляют в 100% аденогенных карцином лёгкого, в 93% нелёгочных карцином, в 100% при плоскоклеточном раке, в 84% при аденокарциноме без первично выявленного очага, в 26% при мезотелиоме [1, 2, 15]. Кроме того, клетки злокачественной мезотелиомы дают положительную реакцию на кальретинин, мезотелин, тромбодулин, а также виментин и панцитокератины [13].

Используя данные ИЦХИ выпотных жидкостей, с высокой долей вероятности можно определить локализацию патологического процесса. Например, при раке яичника выявляется положительная реакция к СК7, СА125 и РЭА на фоне отрицательной реакции к СК20 и вариабельности картины экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона [5]. Другим примером высокой диагностической значимости исследования выпотных жидкостей методом ИЦХИ является возможность дифференцировки аденогенного и мелкоклеточного рака лёгкого (МКРЛ). Аденогенный вариант РЛ даёт положительную реакцию на СК7 и ТТФ-1. МКРЛ дополнительно характеризуется положительной реакцией на хромогранин А, синаптофизин, CD57 [5].

ИЦХИ традиционных цитологических препаратов является финансово- и времязатратной процедурой, что обусловлено значительным расходом антител и продолжительностью подготовительного этапа. Для оптимиза-

ции диагностики и снижения стоимости исследования в настоящее время применяют биочипы, позволяющие проводить мультиплексный анализ опухолевых маркеров. Исследуя с их помощью серозные жидкости, обладающие низким по сравнению с кровью клеточным составом, можно определить характер выпота (реактивный или неопластический), а также обнаружить первичный опухолевый очаг.

Цель исследования – повысить качество цитологической диагностики по выпотным жидкостям за счёт использования флуоресцентного ИЦХИ на тест-системе «Биочип», а также установить преимущества тест-системы «Биочип» перед традиционным ИЦХИ.

Материал и методы. Материалом служил серозный экссудат неясной этиологии, полученный от 27 пациентов, поступивших в приёмное отделение городской больницы № 35 Нижнего Новгорода. Полученный биоматериал исследовали методом традиционной цитологии, суть которого заключается в сухой фиксации биообразца на стекле с последующей окраской по Романовскому и светооптической микроскопией препарата, а также с помощью разработанных нами биочипов (патент на полезную модель № 142470). Последние представляют собой стеклянную подложку, рабочая зона которой имеет адгезивное покрытие, разделённое пластиковой решёткой на 15 секторов, каждый из которых содержит определённое наименование AlexaFluor488-конъюгированных моноклональных антител, направленных к антигенам опухоли (рис.1).

Процесс исследования материала с использованием биочипов включает несколько этапов.

Получение клеточного осадка путём центрифугирования образца в течение 5 мин при 2000 об/мин с последующей двукратной отмывкой избытком 6% раствора полиглобина.

Внесение клеточного материала в ячейки рабочей зоны биочипа с последующей инкубацией в течение 30 мин в термостате при 37°C.

Флуоресцентная микроскопия биочипа.

Для визуализации результатов, полученных методом традиционной цитологии и с помощью биочипов, применяли микроскопы Zeiss Primo Star (Carl Zeiss, Германия) и Leica DM1000 (Leica, Германия).

Также проведено ретроспективное исследование цитологических препаратов выпотных жидкостей за 2016 г.

Результаты и обсуждение. При ретроспективном исследовании получены следующие результаты: всего было 97 пациентов с наличием свободной жидкости в брюшной и/или плевральной полости, при этом цитологическое исследование проведено у 23 (23,7%) пациентов. По результатам исследования реактивные клеточные изменения установлены у 19 (82,6%) пациентов, подозрительные клеточные изменения – у 3 (13%) и злокачественные изменения – у 1 (4,3%) пациента. Данные показатели объясняются отсутствием специалистов и недостаточной подготовкой сотрудников для выполнения цитологических исследований в лаборатории.

С внедрением цитологического метода за период ноябрь 2017 г. – июль 2018 г. исследовано 46 экссудатов серозных полостей. У 9 (19,6%) пациентов диагностировали метастатический выпот, у 31 (66,7%) – реактивный характер экссудата; подозрение на злокачественную природу серозной жидкости было у 4 (8,7%) пациентов, а у 4,8% лиц (2 образца) точный диагноз поставить не удалось.



Рис.1. Структурные элементы биочипа.

1 – рабочая зона, разделённая на 15 ячеек, в каждой из которых содержится определённое антитело; 2 – функциональная зона, содержащая информацию об антителах и их локализации (в ячейке 1 – антитело к СА-125, в ячейке 2 – антитело к РЭА, в ячейке 3 – антитело к СК7 и т.д.).

После проведения дополнительного флуоресцентного ИЦХИ (ФИЦХИ) с использованием тест-системы «Биочип» число пациентов с установленным диагнозом - метастатический выпот - возросло до 7 (25,9%) за счёт снижения процента случаев неустановленного характера выпота. Наиболее информативные клинические случаи описаны далее.

Клинический случай № 1. Пациентка 70 лет поступила в приёмное отделение с диагнозом острая кишечная непроходимость; асцит. При рентгенографии брюшной полости на фоне свободного газа определяется уровень свободной жидкости в центральной части брюшной полости, раздутые петли тонкой кишки и восходящей части ободочной кишки. Выполнен лапароцентез с забором 600 мл асцитической жидкости.

На светооптическом уровне отмечаются обильные скопления клеток среднего размера с периферически расположенным и увеличенным ядром (ядерно-цитоплазматическое соотношение повышено), неровной ядерной мембраной; хроматин в клетках распределён неравномерно (складчатость, мелкие борозды), в большинстве ядер детектируется одно или несколько ядрышек, форма клеток овальная, цитоплазма серо-голубая с мелкой вакуолизацией. Расположение клеток в препаратах как раздельное, так и в виде папилляроподобных скоплений. В небольшом количестве в препаратах встречаются мелкие клетки с серо-голубой цитоплазмой и центрально расположенным ядром. Ядерно-цитоплазматическое соотношение не нарушено, контур ядерной мембраны ровный, хроматин мелкозернистый, распределён равномерно. Клетки располагаются раздельно или в виде мелких скоплений из 4–5 клеток (рис.2, а–г, см. обложку). Дано заключение о предположительно злокачественной природе полученной жидкости (вторичный характер поражения). При проведении ФИЦХИ на биочипах отмечали положительные реакции на СК7, рецепторы эстрогена, СА-125, HerEr4, РЭА и отрицательные реакции с СК20, TTF-1, виментином, CDX2 (рис.2, д–к, см. обложку). Полученный иммунофенотип соответствует метастатической природе экссудата (вероятно, аденокарцинома яичника). По результатам проведённой операции и гистологического исследования выявлена аденокарцинома умеренной степени дифференцировки с иммунофенотипом при постановке иммуногистохимического исследования (ИГХИ) СК7+, СК20-, рецепторы к эстрогенам+, CDX2-, СА125+, что соответствует аде-

нокарциноме яичника. При сопоставлении результатов, полученных при ФИЦХИ на биочипах и ИГХИ, совпадение отмечено по всем антителам.

Клинический случай № 2. Пациент 63 лет, направленный в приёмное отделение с диагнозом левосторонний экссудативный плеврит для удаления накопившейся жидкости. По данным рентгенографии грудной клетки в левой плевральной полости уровень жидкости до VII ребра. После плевральной пункции получено 1100 мл геморрагической жидкости.

На светооптическом уровне фон препаратов представлен клетками лимфоцитарного ряда, гистиоцитами и мономорфными клетками малого размера, округлой формы с обильной серо-голубой цитоплазмой и эксцентрически расположенным ядром. Клетки локализованы раздельно или в виде мелких пластов (по 5–7 клеток). Ядерная мембрана ровная, хроматин распределён равномерно (рис.3, а, б, см.обложку). В пластах встречаются крупные клетки округлой формы с серо-голубой цитоплазмой, в части которых отмечаются признаки вакуолизации, а ядерно-цитоплазматическое соотношение смещено в сторону ядра. Контур ядерной мембраны неровный, хроматин распределён неравномерно, практически в каждом ядре выявляли одно или несколько ядрышек с признаками гипертрофии (рис.3, в–ж). На основе традиционной цитологии дано заключение о метастатическом характере полученной жидкости (предположительно аденокарцинома лёгкого). При проведении ФИЦХИ на биочипах отмечены положительные реакции на СК7, ТТФ-1, ВегЕр4, РЭА и отрицательные реакции с СК20, виментином, CDX2, СА-125, рецепторами эстрогена (рис.3, з–л). Иммунофенотип соответствует метастатическому процессу (аденокарцинома лёгкого). При гистологическом исследовании в плевре обнаружены метастазы аденокарциномы. Иммунофенотип при ИГХИ (CD56-, ТТФ1+, р63-, СК7+) соответствует аденокарциноме лёгкого. Совпадение экспрессии при ФИЦХИ на биочипах и ИГХИ отмечено по основным антителам (при ФИЦХИ использована более расширенная панель антител).

Клинический случай №3. Пациент в возрасте 37 лет поступил в приёмное отделение с диагнозом экссудативный правосторонний плеврит; внебольничная пневмония?, сопутствующая патология ВИЧ-инфекция стадии 2В. В клинической картине субфебрильная температура в течение 2 нед, нарастающая одышка, боли в грудной клетке справа. При рентгенографии грудной клетки в правой половине усиление лёгочного рисунка, горизонтальный уровень жидкости до VI ребра, на фоне которого фрагмент затемнения в области S6. После плевральной пункции удалено 1250 мл мутной жидкости жёлтого цвета.

На светооптическом уровне в цитологических препаратах наблюдали разрозненные клетки, а также псевдопапиллярные скопления с относительно чётким контуром и нерезким наложением внутренней архитектоники. Размер клеток варьировал в широких пределах, форма клеток округло-овальная, а ядерно-цитоплазматическое соотношение низкое, встречали двух- и многоядерные клетки (ядра расположены эксцентрически, хроматин грубый, просматривались ядрышки, фигуры митоза), цитоплазма от светло-голубой до базофильной, выявляла цитоплазматические выросты и вакуоли (рис.4, а–г, см.обложку). Основываясь только на результатах традиционной цитологии и данных анамнеза, трудно

дифференцировать морфотип между злокачественным поражением и реактивными изменениями. При проведении ФИЦХИ на биочипах отмечены отрицательные реакции с СК20, виментином, CDX2, СА-125, рецепторами эстрогена, СК7, ТТФ-1, ВегЕр4, РЭА, подопланином, что соответствует реактивной природе экссудата (рис. 4, д–е, см.обложку). По данным дополнительных методов инструментального обследования подозрительных очагов у пациента выявлено не было, в связи с чем ИГХИ в данном случае не проводилось.

Анализ применения тест-системы «Биочип» выявил следующие особенности:

Совпадение преаналитического этапа подготовки материала для традиционной цитологии, ФИЦХИ с использованием тест-системы «Биочип» и традиционного ИЦХИ.

Формирование специфических иммунных комплексов с антителами в тест-системе «Биочип» и традиционной ИЦХИ занимает одинаковое время (30 мин).

Визуализация результата в тест-системе «Биочип» не требует дополнительных манипуляций и возможна сразу после окончания реакции, что снижает время исследования по сравнению с традиционной ИЦХИ в 2–3 раза (в зависимости от используемой системы визуализации), которое составило около 60 мин.

Возможность исследования до 15 антител на одной тест-системе повышает информативность полученных результатов и не требует подготовки дополнительных образцов в сравнении с традиционным ИЦХИ.

Последующее изучение клеточного состава в ячейках тест-системы «Биочип» после оценки реакций иммунофлуоресценции и окрашивания традиционным способом показало сохранение всех морфологических показателей клеточных изменений, учитывающихся при постановке диагноза в традиционной цитологии.

Заключение. Цитологический метод в качестве диагностического исследования выпотных жидкостей является целесообразным и клинически значимым.

Реализация ИЦХИ с использованием тест-системы «Биочип» занимает меньше времени по сравнению с традиционным ИЦХИ. Таким образом, данный метод с полным основанием можно отнести к категории экспресс-диагностики. Совместное использование методов традиционной цитологии и флуоресцентной иммуноцитохимии в диагностике выпотных жидкостей на этапе оказания экстренной медицинской помощи пациенту способствует более быстрой и достоверной постановке диагноза, так как в современной экологической обстановке и в процессе метастазирования опухолевые клетки могут утрачивать свой иммуноцитохимический профиль, присущий органу. Использование иммуноцитохимической диагностики позволяет не только подтвердить злокачественность исследуемого материала, но и установить первичный очаг.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 12-17 см. REFERENCES)

1. Волченко Н.Н., Борисова О.В., Шевчук А.С. Цитологическая диагностика пограничных опухолей яичника. *Онкология*. 2013; 4: 25-9.
2. Волченко Н.Н., Борисова О.В. Современные возможности цитологического метода при исследовании плевральных и перитонеальных жидкостей.

ЦИТОЛОГИЯ

- неальных экссудатов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 5: 23–7.
3. Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухоли. М.: Репроцентр М; 2010.
 4. Долгов В.В., Шабалова И.П., Миронова И.И. и др. Выпотные жидкости. Тверь: Триада; 2006.
 5. Глузман Д.Ф. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев: Морин; 2003.
 6. Григорук О.Г., Базулина Л.М., Лазарев А.Ф. Использование иммуноцитохимических методов исследований при изучении экссудатов из серозных полостей в практической работе лабораторий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008; 1: 20–12.
 7. Григорук О.Г., Дорошенко Л.М., Лазарев А.Ф. Злокачественная мезотелиома плевры: возможности использования иммуноцитохимических методик. *Сибирский онкологический журнал*. 2008; 1: 51–4.
 8. Клюкина Л.Б., Ерохина О.А., Гапанович Е.А. и др. Цитологический метод исследования выпотных жидкостей. *Онкологический журнал*. 2012; 6 (1): 79–85.
 9. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань: Идеал-Пресс; 2004.
 10. Савостикова М.В., Фурминская Е.Ю., Федосеева Е.С., Кудайбергенова А.Г. Флуоресцентное иммуноцитохимическое исследование выпотов и смывов с серозных полостей при интраоперационной диагностике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(12): 742–5.
 11. Семенов Д.А., Целуйко С.С. Гистофизиология плевральной полости и плеврального выпота. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012; 2 :140–4.
 12. Долгов В. В., Шабалова И. П., Миронова И. И. et al. Effluent liquids. Tver': Triada; 2006. (in Russian)
 13. Gluzman D.F. Diagnostic immunocytochemistry of tumors. Kiev: Morion; 2003.
 14. Grigoruk O. G., Bazulin L. M., Lazarev A. F. The use of immunocytochemical methods in the study of exudate of serous cavities in the practical work of laboratories. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2008; 1: 51–4. (in Russian)
 15. Grigoruk O. G., Doroshenko M., L., Lazarev, A. F., Malignant mesothelioma of the pleura: the possibilities of using immunocytochemical methods. *Sibirskiy onkologicheskij zhurnal*. 2008; 1: 51–4. (in Russian)
 16. Klukin L. B., Erokhin, O. A., Gapanovich E. A. et al. Cytological method of investigation of exudative fluids. *Onkologicheskij zhurnal*. 2012; 6 (1): 79–85. (in Russian)
 17. Petrov S. V., Raikhlin N. T. Manual immunohistochemical diagnosis of human tumors [Rukovodstvo po immunogistochimicheskoy diagnostike opukholey cheloveka]. Kazan': Ideal-Press; 2004. (in Russian)
 18. Savostikova M. V., Furminskaya E. Y., Fedoseeva E. S., Kudaibergenova A. G. Fluorescent immunocytochemical study of effusions and washes of serous cavities in intraoperative diagnosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62 (12): 742–5.
 19. Semenov D., Tseluyko S. S. Histophysiology of pleural cavity and pleural effusion. *Dal'nevostochnyi meditsinskiy zhurnal*. 2012; 2: 140–4. (in Russian)
 20. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. Edinburgh; Elsevier Science, 2006.
 21. Gabris S., Kern L. Two color immunostaining of pleural effusions with Ber-EP4 and CK5/6. *Cytopathology*. 2004; 15 (Suppl.2):14.
 22. Koss L.G., Woyke S., Oeszewski W. Aspiration biopsy: cytologic interpretation and histologic bases 2nd ed. New York – Tokyo, Igaku-Shoin, Medical Publishers, Inc.; 1992.
 23. Pereira T.C. The diagnosis of malignancy in effusion cytology: a pattern recognition approach. *Advances in Anatomic Pathology*. 2006;13(4): 174–84.
 24. Schnell U., Cirulli V., Giepmans B.N. EpCAM: structure and function in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013; 1828:1989–2001.

Поступила 06.12.18

Принята к печати 10.12.18

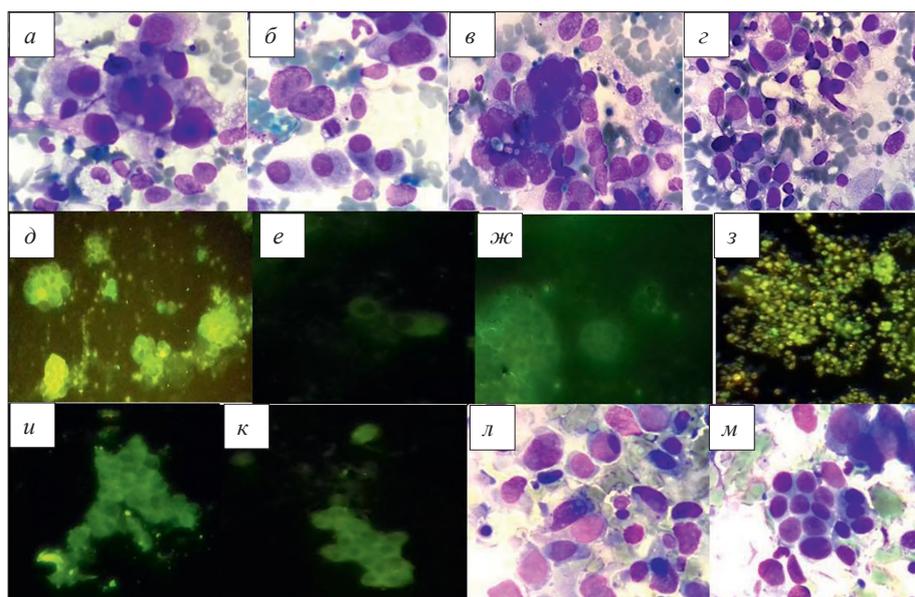


Рис.2. Асцитическая жидкость (клинический случай 1)

a-d – псевдопапиллярные скопления опухолевых клеток с увеличенными ядрами и грубозернистым хроматином, среди которых единичные мезотелиальные клетки (стрелка); *д-к* – ФИЦХИ в ячейках биочипа. Флуоресценция клеточных мембран (положительная мембранная реакция) с антителами к СА125 и BerEp4 (*д, ж*), флуоресценция цитоплазмы опухолевых клеток при негативном окрашивании ядра (положительная цитоплазматическая реакция) с антителами к CK7 (*е*). В части клеток отмечается флуоресценция в области ядра при негативном или аутоокрашивании цитоплазмы (положительная ядерная реакция) с антителами к рецепторам эстрогенов (*з*). Затемнение в области ядра клеток (отрицательные ядерные реакции) с антителами к TTF-1, CDX2 (*и, к*). *л, м*: скопления и отдельно лежащие опухолевые клетки в ячейках биочипа после проведения ФИЦХИ. *a-г, л, м* – окрашивание по Романовскому. Ув 1000; *д-к* – окрашивание флуорохром AlexaFluor488. Ув. 200.

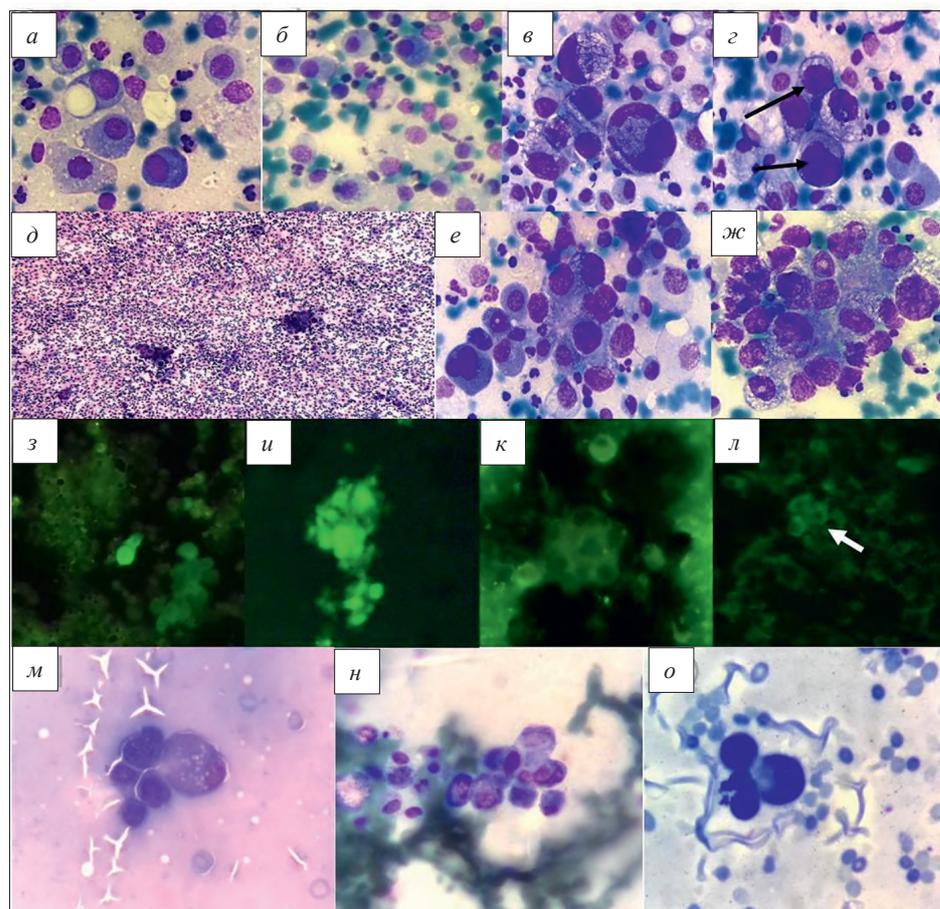


Рис.3. Плевральная жидкость: диссеминация опухолевых клеток по плевре (клинический случай 2).

a, б, – мезотелиальные клетки; *в-ж* – комплексы опухолевых клеток. Граница скоплений чёткая, клеточный и ядерный полиморфизм резко выражен, отмечаются гипертрофированные ядрышки (стрелки); *з-л*: ФИЦХИ в ячейках биочипа. Положительная цитоплазматическая реакция с антителами к CK7 (*з, л*); ядерная реакция с антителами к TTF-1 (*и*); мембранная реакция с антителами к BerEp4 (*к*) *м-о* – комплексы клеток и отдельно лежащие опухолевые клетки в ячейках биочипа после проведения ФИЦХИ. *a-ж, м-о* – окрашивание по Романовскому. УВ. 1000. *д* – ув.100. *з, л* – окрашивание флуорохром AlexaFluor488. Ув. 200.

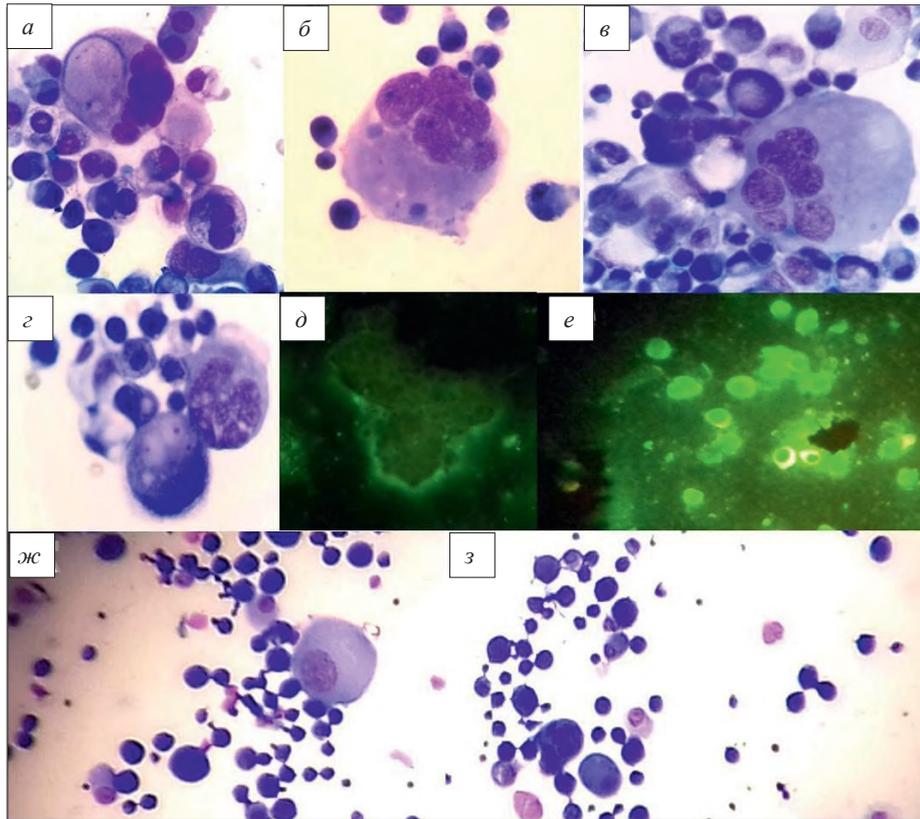


Рис.4. Асцитическая жидкость (клинический случай 3).

а-з – мелкие псевдопапиллярные скопления (*в*) и разрозненно лежащие клетки с признаками полиморфизма, в том числе поликарियोны; *д-е* – ФИЦХИ в ячейках биочипа. Отрицательные реакции с антителами к *VeEр4* (*д*) и *CDX2* (*е*); *жс-з* – клеточный состав в ячейках биочипа после проведения ФИЦХ.

а-з, жс, з – окрашивание по Романовскому. Ув. 1000. *д-е* – окрашивание флуорохромом AlexaFluor488. Ув. 200.