

**Григорук
Ольга Григорьевна**

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ОПУХОЛЕВЫХ И НЕОПУХОЛЕВЫХ ПЛЕВРИТОВ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика
14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
имени А.М. Никифорова» МЧС России и Федеральном государственном
бюджетном научном учреждении «Российский онкологический научный центр
имени Н.Н. Блохина» (Алтайский филиал)

Научные консультанты:	Лазарев Александр Федорович доктор медицинских наук профессор Дударенко Сергей Владимирович доктор медицинских наук
Официальные оппоненты:	Кветная Татьяна Викторовна доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биogerонтологии отдела биogerонтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН Новик Виктор Иванович доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории цитологии ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Ми- нистерства здравоохранения Российской Феде- рации, ведущий научный сотрудник отдела морфологии опухолей Шапиро Наум Абрамович доктор медицинских наук, профессор, руководитель цитологической лаборатории «Научный клинический Центр ОАО «Российские железные дороги»
Ведущая организация:	ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский ме- дицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Фе- дерации

Защита состоится «___» _____ 2015 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54, и на сайте <http://www.arcerm.spb.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

М.В. Санников

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время известно более 50 этиологических факторов, ведущих к появлению жидкости в одной или обеих плевральных полостях. Частота плевральных выпотов связана с достаточно высокой распространенностью заболеваний лёгких, плевры, системных и онкологических заболеваний в общеврачебной практике и отражает широкий диапазон лежащих в их основе патологических состояний. Наличие плеврита может диагностироваться при первичном осмотре врача достаточно просто после обращения больного за медицинской помощью, однако верификация причины его развития для назначения адекватного лечения занимает, по опубликованным научным данным, от 11 до 62 дней от начала заболевания (Варин А.А., Ханин А.Л., 2009). В работах А.Г. Чучалина (2014) подчеркивается, что «проблема плеврального выпота интересует практических врачей и научных работников в связи с его распространенностью, большим количеством вызывающих причин, сложностью дифференциальной диагностики и необходимостью обеспечения адекватного лечения в зависимости от характера, патогенеза и особенностей течения процесса».

Частота диагностики опухолевых плевритов составляет в среднем 70 случаев на 100 000 населения (English J.C., Leslie K.O., 2006). Плевральная пункция и цитологическое исследование плевральной жидкости входят в обязательный диагностический минимум, дают много информации, позволяющей верифицировать диагноз (Ryu J.S., Ryu S.T., Kim Y.S. et al., 2003; Porcel J., 2011; Сельчук В.Ю., Бычков М.Б., Киселевский М.В., 2011). Открытая биопсия лёгкого и плевры, безусловно, считается надёжным методом диагностики, но обладает существенными недостатками, связанными с возможными осложнениями, и не всегда технически выполнима (Walters J., Maskell N.A., 2011). У больных со злокачественным процессом в лёгких или плевре результаты биопсии лёгких и плевры помогают установить точный диагноз в 39–75% случаев (Light R.W., 1997; Chakrabarti B., Ryland I., Sheard J. et al., 2006). Это связано с тем, что приблизительно у 30% больных патологический процесс расположен в висцеральной плевре, а париетальная плевра, доступная биопсии, чаще поражается отдельными участками (Light R.W., 1997).

Исследования плевральной жидкости при опухолевых и неопухолевых поражениях плевры проводятся во всех клиничко-диагностических лабораториях, однако до настоящего времени дифференциальная цитологическая диагностика плевритов остается одним из наиболее сложных разделов клинической цитопатологии. Трудности при проведении цитологического исследования возникают в процессе идентификации клеточного состава плевральной жидкости при пролиферативных и воспалительных процессах, а также при дифференциальной цитологической диагностике первичных опухолей плевры и метастатических поражений плевры и лёгких из других органов (Бычков М.Б., Большакова С.А., Бычков Ю.М., 2005; Benlloch S., Galbis-Caravajal J.M., Martin C. et al., 2006; Lovrenski A., Panjković M., Tegeltija D. et al., 2012). Внедрение в клиническую практику методов жидкостной цитологии, использование современных панелей иммуноцитохимических маркёров для углубленного цитологического исследования значи-

тельно расширяет диагностические возможности исследования плевральной жидкости. В доступной научной литературе имеются единичные, порой разрозненные и противоречивые сведения о стандартизации, оптимизации диагностического цитологического поиска. Приведенные факты объясняют необходимость поиска новых подходов к объективизации и стандартизации методов исследования плевральной жидкости в клинической и лабораторной диагностике для решения практических вопросов в онкологии, пульмонологии и других разделах соматической медицины.

Степень разработанности темы. Оценка характера патологического процесса в плевральной полости с использованием световой микроскопии продолжает оставаться традиционным методом исследования, однако не решает поставленных задач, что требует актуализации и разработки объективных дифференциальных критериев при различных характерах состава плевральной жидкости. Новые возможности в решении проблемы дифференциальной диагностики при исследовании плевральной жидкости связаны с развитием современных методов обработки жидкостного материала и применением новых дополнительных методов исследования, в числе которых — использование иммуноцитохимических и иммуногистохимических методик. До настоящего времени не разработаны алгоритмы использования иммуноцитохимических методов исследования. При этом многие исследователи считают, что иммуноцитохимические исследования плевральных экссудатов в сложных диагностических случаях значительно повышают результативность цитологического метода (King J.E., Thatcher N., Pickering C.A., Hasleton P.S., 2006; Westfall D.E., Fan X., Marchevsky A.M., 2010; Sheaff M., 2011).

Актуальной задачей при исследовании экссудатов из серозных полостей является оптимальный подбор панели маркёров, позволяющих надежно отличить клетки мезотелия и гистиоциты-макрофаги от метастатических клеток рака (King J.E., Thatcher N., Pickering C.A., Hasleton P.S., 2006; Li Q., Bavikatty N., Michael C.W., 2006; Ordóñez N.G., 2007; Westfall D.E., Fan X., Marchevsky A.M., 2010). В настоящее время существуют различные группы антител, рекомендованных для дифференциальной диагностики клеточного состава в серозных полостях, однако алгоритма по их использованию в доступной научной литературе нет. Данный факт может приводить к серьезным диагностическим ошибкам в установлении правильного диагноза и выборе методов лечения.

Таким образом, актуальность данного исследования обусловлена необходимостью поиска новых возможностей методов цитологического, цитохимического и иммуноцитохимического исследований, разработки алгоритма использования различных методик в определении характера плеврального выпота. Данная проблема не может быть решена другими морфологическими методами.

Цель исследования: научное обоснование новых возможностей цитологических исследований при опухолевых и неопухолевых плевритах с использованием иммуноцитохимических методов для повышения качества диагностики патологических процессов.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ диагностической информативности использования световой микроскопии при цитологическом исследовании плевральной жидкости при опухолевых и неопухолевых плевритах.

2. Выявить наиболее информативные клеточные признаки при цитологическом исследовании плевральной жидкости, характеризующие разные патологические процессы при опухолевых и неопухолевых плевритах.

3. Провести сравнительный анализ диагностической информативности использования цитохимических исследований для установления диагнозов опухолевых и неопухолевых заболеваний плевры.

4. Провести сравнительный анализ диагностической информативности иммуноцитохимических маркёров для установления диагнозов опухолевых и неопухолевых заболеваний плевры.

5. Выявить наиболее информативные критерии для дифференциального иммуноцитохимического исследования плевральной жидкости у больных с опухолевыми и неопухолевыми заболеваниями плевры.

6. Разработать диагностический алгоритм использования цитологического и иммуноцитохимического методов исследования плевральной жидкости для дифференциальной диагностики типа патологического процесса в плевральной полости.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Впервые описаны три клеточных типа (мезотелиально-лимфоцитарный, гранулоцитарно-клеточный и макрофагальный) при неопухолевых плевритах и разработаны классификационные критерии отнесения каждого конкретного случая к указанному клеточному типу.

На основании изучения клеточного состава плевральной жидкости впервые разработаны критерии цитологической диагностики метастазов долькового рака молочной железы в плевру, оценены цитологические характеристики злокачественных мезотелиом (эпителиоидной, саркоматоидной и бифазной), изучены особенности метастазов мезенхимальных сарком в плевру (полиморфноклеточной рабдомиосаркомы, остеогенной саркомы, миксоидной липосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы).

Научно обоснован алгоритм применения иммуноцитохимических методик при оценке клеточного состава плевральной жидкости для уточнения локализации первичного очага опухоли у больных с метастатическим плевритом. Впервые разработаны дифференциальные критерии диагностики опухолевых и неопухолевых плевритов.

Практическая значимость работы. Исследование плевральной жидкости должно проводиться в два этапа: 1) световая микроскопия клеточного состава; 2) пробоподготовка методом жидкостной цитологии и иммуноцитохимическое исследование. Впервые доказана диагностическая значимость цитологического исследования при парапневмоническом плеврите, плевральном выпоте при сердечной недостаточности и плеврите при туберкулёзе легких. Разработано решающее правило дискриминантной функции для правильной классификации указанных типов плевральной жидкости. Точность цитологической диагностики патологии

плевральной жидкости при опухолевых плевритах недостаточна (колеблется от 28,1 при метастазе рака желудка до 91,9% при метастазе рака молочной железы). При дополнении к световой микроскопии цитохимических исследований точность цитологической диагностики патологии плевральной жидкости увеличивается незначительно.

Использование иммуноцитохимических исследований повышает точность диагностики патологии плевры до $92,3 \pm 6,69\%$ от числа наблюдений (колеблется от 83,7 при метастазе рака желудка до 99,9% при реактивных и паранеопластических плевритах). Создан алгоритм использования иммуноцитохимических антител для проведения цитологических исследований плевральной жидкости. Применение дифференциального алгоритма позволяет не только оценить гистологический тип злокачественного процесса, но и его первичную локализацию. Описаны клеточные признаки метастазирования в плевру редких типов злокачественных опухолей (мезенхимальные саркомы).

Методология и методы исследования. Для реализации цели исследования и обоснования основных положений использованы теоретический анализ литературы, лабораторные методы (традиционная цитология, цитохимия, иммуноцитохимия) и методы статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. На основании сравнительного изучения цитологических данных больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости при неопухолевых плевритах описаны три основных клеточных типа: мезотелиально-лимфоцитарный, гранулоцитарно-клеточный и макрофагальный. Указанные морфологические типы характерны для парапневмонического, туберкулёзного плеврита или отмечаются в плевральном выпоте при сердечной недостаточности.

2. Световая микроскопия позволяет установить цитологический диагноз по клеточному составу плевральной жидкости с указанием морфологического типа опухоли только при плоскоклеточном и мелкоклеточном раке лёгкого, протоковом раке молочной железы, светлоклеточном почечно-клеточном раке. Применение метода световой микроскопии для оценки клеточного состава плевральной жидкости при других формах онкологических заболеваний малоинформативно. Использование для решения данных задач цитохимических методик незначительно увеличивает точность цитологического метода световой микроскопии.

3. Применение иммуноцитохимических методик при дифференциальной диагностике состава плевральной жидкости больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости в 92–99% наблюдений определяет гистологический тип злокачественного процесса и цитологический диагноз у пациентов без выявленного первичного опухолевого очага.

4. Для дифференциальной цитологической диагностики клеточного состава плевральной жидкости при опухолевых и неопухолевых плевритах необходимо использовать следующие иммуноцитохимические маркёры: мезотелиальные, эпителиальные, тканеспецифичные, лимфоидные и транскрипционные факторы (калретинин, мезотелин, тромбомодулин, маммаглобин, эпителиальный антиген, цитокератины 5/6, 7, 18, 20, эпителиальный мембранный антиген, карциноэм-

бриональные моно- и поликлональные антигены, виментин, CD15, CD45, TTF-1, WT1, CDX2).

Возможные области применения и формы внедрения: клиническая лабораторная диагностика, цитология, онкология, пульмонология, патологическая анатомия. Экономическая значимость от внедрения иммуноцитохимических методов диагностики в онкологических учреждениях определяется уменьшением периода времени на диагностический поиск локализации первичного образования метастазирования в плевру у больного и назначения адекватной терапии.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность полученных результатов обеспечена теоретическим анализом проблемы, репрезентативным объемом выборок обследованных пациентов, достаточным количеством выполненных наблюдений с использованием иммуноцитохимических методов исследования и статистическим анализом данных.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс преподавания курса клинической лабораторной диагностики на кафедре биохимии и клинической лабораторной диагностики и кафедре онкологии, лучевой терапии и лучевой диагностики Алтайского государственного медицинского университета. Результаты работы используются в практической деятельности лечебно-профилактических учреждений общего профиля и отделений онкологических диспансеров Алтайского края.

Полученные сведения апробированы и доложены на съездах, конгрессах, научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 55 научных работ, из них 1 монография и 19 статей в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личное участие автора. Диссертант лично участвовала в планировании и организации работы, проведении основной части цитологических, цитохимических и иммуноцитохимических исследований, обработке, анализе, обобщении и представлении полученных данных.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 421 странице и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, семи глав результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 116 таблицами, 112 микрофотографиями и 8 рисунками. Список литературы включает 403 публикации, из них 65 — отечественных авторов и 338 — зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1.1. Общая характеристика обследованных больных

В настоящем исследовании получены данные, основанные на анализе результатов обследования 2222 больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости (ССЖПП) в Краевом государственном бюджетном учреждении «Алтайский краевой онкологический диспансер» в период с 2001 по 2009г. Материалом для исследования служили плевральные жидкости пациентов, данные медицинских карт лечебных учреждений Алтайского края и города Барнаула (рис. 1). Окончательное суждение о патологическом процессе

складывалось на основе информации канцер-регистра краевого онкологического диспансера и гистологического изучения операционного материала.

Мужчин было 1038 (46,7%) человек; женщин — 1184 (53,3%). Средний возраст пациентов составил $58,5 \pm 0,9$ года.

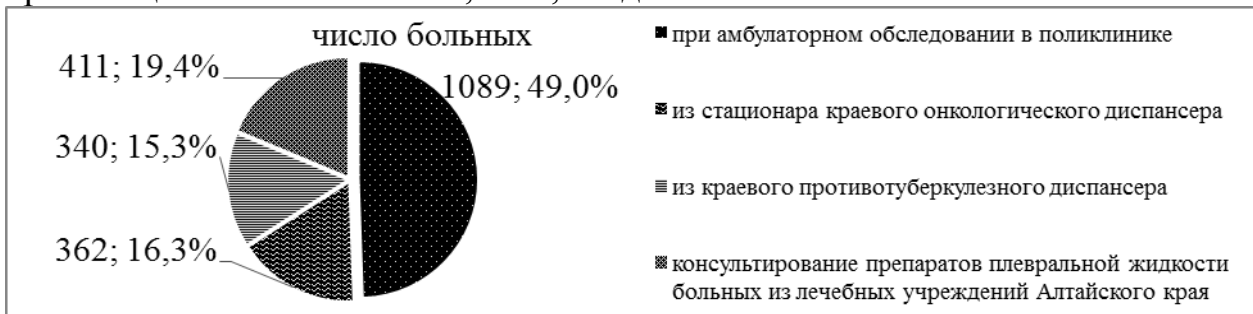


Рис. 1. Характеристика обследованных больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости

1.2. Алгоритм обследования больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости

При обращении пациента с ССЖПП в лечебном учреждении проведена оценка клинического статуса, собран анамнез, проведены инструментальные исследования, торакоцентез с последующим общим, бактериологическим и цитологическим исследованием жидкости (рис. 2). Цитологические исследования полученного плеврального выпота служили в исследовании основным методом для дифференциальной диагностики.



Рис. 2. Дифференциально-диагностический алгоритм обследования больных

2. Методы исследования

2.1. Приготовление и окрашивание препаратов, приготовленных из плевральной жидкости, для световой микроскопии

Полученную плевральную жидкость оценивали макроскопически: геморрагические жидкости — 920 (51,4%), серозные — 795 (44,4%), студенистые — 76 (4,2%). Готовили препараты с использованием центрифуги Centrifuge CM-6M (ELMI, Латвия). Для приготовления монослойных препаратов применяли цитоцентрифугу Cytospin-4 (SHANDON, США). Нами усовершенствована методика: режим работы цитоцентрифуги подбирали в зависимости от размера клеток опухоли. Для более мелких клеток использовали режим работы с ускорением вращения 3000 об./мин в течение 10 мин; при среднем размере клеток — 1500 об./мин в течение 4 мин. Для более крупных опухолевых клеток использовали скорость вращения 1000 об./мин в течение 3 мин. Окрашивали препараты по методу Паппенгейма и Паппаниколау, клеточный состав оценивали при использовании микроскопов Axiostar plus (Zeiss, Германия) и NIKON ECLIPSE E400 (Япония).

2.2. Использование цитохимических методик

При окрашивании клеточного состава препарата на обнаружение слизи применяли методики с альциановым синим (30 мин) с фиксацией в смеси Никифорова, проводкой через спирты понижающей концентрации (96, 70, 50, 30%) с задержкой в каждом растворе спирта на 2–3 мин, докрашивая препараты гематоксилином. Слизь в клетках окрашивалась бирюзовым цветом. Другим методом цитохимических окрашиваний на обнаружение слизи был метод окрашивания муцикармином Мейера с фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина, окрашиванием гематоксилином и неразбавленным муцикармином Мейера. Слизь в клетках окрашивалась ярко-розовым цветом.

Для обнаружения гранул гликогена в клетках использовали окраску по методу Фута: фиксировали препараты в 96% этаноле, окрашивали материал альциановым синим. Препараты помещали в 0,5% йодную кислоту, окрашивали раствором Шиффа, вновь промывали, докрашивали гематоксилином. Гранулы гликогена по краю цитоплазмы окрашивались в малиновый цвет.

2.3. Использование иммуноцитохимических методик

При проведении иммуноцитохимических исследований использовали предметные стекла с адгезивным покрытием (Polysine™, Menzel-Glaser, США). Контролем наличия необходимого количества опухолевых клеток служили препараты, окрашенные по методике Паппенгейма. Изготовленные препараты сохраняли в фольге при температуре –20 °С. Протокол проведения реакции начинали с фиксации в течение 5 мин в охлажденном (–20 °С) 96% этиловом спирте, а затем 2 мин в ацетоне (–20 °С). Применяли стандартный протокол проведения иммуноцитохимических реакций, для визуализации реакции антиген/антитело использовали стрептавидин-биотиновую тест-систему LSAB2 и систему на полимерной основе REAL™ EnVision™ (ДАКО). В работе использовали «ручной» метод проведения реакции, а также аппарат для иммуноцитохимических исследований SEGUENZA (SHANDON, США). Цели и задачи исследования обусловили подбор группы антител (табл. 1). Для работы выбраны антитела, чувствительность и ин-

формативность которых не вызывает сомнений, — они анонсируются в ведущих иммуногистохимических и иммуноцитохимических каталогах, используются для диагностики не менее 5 лет.

Подсчет результатов проводили в полях зрения, содержащих максимальное число положительно окрашенных опухолевых клеток, под увеличением $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$. Окрашивание оценивали в 200–400 клетках, степень и интенсивность окрашивания распределяли в баллах от 0 до 3+ (негативное окрашивание, 0; слабое, 1+; умеренное, 2+; выраженное, 3+).

Распределение иммунореактивности отмечали как ядерное, ядерно-цитоплазматическое, цитоплазматическое, цитоплазматически-мембранное и мембранное.

Для успешного проведения иммуноцитохимических реакций нами рекомендованы следующие требования:

- при проведении протокола иммуноцитохимического исследования соблюдать режим сохранности клеток;
- при микроскопии контрольных препаратов подобрать панель антител для предполагаемого диагноза, сохранив при этом 2–3 препарата для возможности проведения дополнительных исследований;
- оценивать реакцию необходимо с учетом контрольных препаратов, которыми могут быть взаимоконтролирующие препараты и препараты из предыдущих исследований, а также образцы производителей DAKO.

Таблица 1

Характеристика антител, использованных для иммуноцитохимических исследований

№	Маркер	Клон антител	Характеристика антител в нормальных и опухолевых тканях	Локализация маркера	Разведение
1	2	3	4	5	6
1	Calretinin	Clone DAK-Calret 1	Мезотелиальные клетки, нервные клетки и ретикулярные клетки толстой кишки	Цитоплазма, ядро	1 : 50
2	Mesothelial Cell	Clone HBME-1	Мезотелиальные клетки	Цитоплазма, мембрана	Готовые
3	Thrombomodulin	Clone 1009	Кровеносные сосуды, альвеофаги легкого, мезотелиальные клетки	Мембрана, цитоплазма	1 : 50
4	Cytokeratin-pan	Clone MNF 116	В плоском и призматическом эпителии	Диффузно в цитоплазме	Готовые
5	Cytokeratin-pan	Clone AE1/AE3	В плоском и призматическом эпителии	Цитоплазма	Готовые
6	Cytokeratin 5/6	Clone D 5/16 B4	В плоском эпителии, в плоскоклеточном раке, эпителиоидной мезотелиоме	Цитоплазма	1 : 50
7	Cytokeratin 7	Clone OV-TL 12/30	В железистом и переходноклеточном эпителии, раках из этих эпителиев	Цитоплазма	1 : 50
8	Cytokeratin 18	Clone DC 10	В эпителиальных клетках желез и протоков, всех аденокарциномах	Цитоплазма	1 : 50

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5	6
9	Cytokeratin 20	Clone Ks20.8	В клетках кишечника и желудочных крипт, раке Меркеля	Цитоплазма	1 : 50
10	Vimentin	Clone V9	Опухоли мезенхимального происхождения	Цитоплазма	Готовые
11	Epithelial Membrane Antigen	Clone E29	Широкий спектр эпителиальных опухолей, нейроэндокринные опухоли	Цитоплазма, мембрана	Готовые
12	Epithelial Antigen	Clone Ber-EP4	Окрашивается в большинстве карцином	Мембрана, цитоплазма	Готовые
13	Carcinoembryonic Antigen	Clone II-7 (CEA)	В аденокарциномах различного происхождения	Цитоплазма мембрана	Готовые
14	Polyclonal Carcinoembryonic Antigen	Polyclonal	Широкий ряд карцином	Цитоплазма, мембрана	Готовые
15	Granulocyte-Associated Antigen (CD 15)	Clone C3D-1	Моноциты, макрофаги, лимфома Ходжкина	Мембрана, цитоплазма	1 : 50
16	Phagocytic Glycoprotein-1 (CD 44s)	Clone DF1485	Моноциты, лейкоциты, фибробласты, эпителиальные клетки, в различных опухолях	Цитоплазма, мембрана	1 : 50
17	Leucocyte Common Antigen (CD 45)	Clones 2B11+ PD7/26	Присутствует на всех лейкоцитах вне зависимости от степени дифференцировки	Мембрана, иногда цитоплазма	1 : 50
18	Thyroid transcription factor (TTF-1)	Clone 8G7G3/1	Карцинома легкого, рак щитовидной железы	Ядро	Готовые
19	Wilms' Tumor 1 Protein (WT1)	Clone 6F-H2	Клетки мезотелия и мезотелиомы, раке яичника	Ядро и/или цитоплазма	1 : 50
20	CDX2	Clone DAK-CDX2	Кишечные аденокарциномы и кишечный карциноид	Цитоплазма, ядро	1 : 50
21	Mammaglobin	Clone 304-1A5	Рак молочной железы, реже эндометрия и легкого	Цитоплазма	1 : 50
22	Chromogranin A	Clone DAK-A3	В нейроэндокринных клетках и опухолях APUD-системы	Цитоплазма	1 : 50
23	Neuron-Specific Enolase	Clone BBS/NC/VI-H14	В нейроэндокринных клетках и опухолях APUD-системы	Цитоплазма	1 : 50
24	CA125	Clone OC 125	Серозные карциномы яичника, эндометриоз	Цитоплазма	1 : 50
25	T-cell - CD 3 Monoclonal Mouse Anti-Human	Polyclonal Rabbit Anti Human	T-лимфоциты, T-клеточные неходжкинские лимфомы	Цитоплазма, мембрана	Готовые
26	T-cell - CD 8 Monoclonal Mouse Anti-Human	Clone C8/144B	T-лимфоциты, T-клеточные неходжкинские лимфомы	Цитоплазма	Готовые
27	B-cell - CD 20cy Monoclonal Mouse Anti-Human	Clone L26	B-лимфоциты, B-клеточные неходжкинские лимфомы	Мембрана	Готовые
28	B-cell - CD 79 α Monoclonal Mouse Anti-Human	Clone JCB 117	B-лимфоциты, B-клеточные неходжкинские лимфомы	Цитоплазма	Готовые
29	Ki-67	Clone MIB-1	Эпителиальные клетки	Ядро	Готовые
30	p53	Clone DO7	Различные клетки опухоли	Ядро	Готовые
31	Receptor estrogen (ER)	Clone 1D5	В матке, молочной железе, печени, гипофизе	Ядро	Готовые
32	Receptor progesteron (PR)	Clone PgR 636	В матке, молочной железе, печени, гипофизе	Ядро	Готовые

2.4. Методы статистического анализа

Полученные данные оценивали с помощью прикладных программ Microsoft® Office Excel 2007, программы SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., США), Statistica Microsoft Windows версия 10.0, StatSoft Inc. (США).

Все данные представлены в виде средних $M \pm m$, использованы значения медианы с 25 и 75% квантилями. Достоверность различий значений признаков в группах проверяли с применением тестов χ^2 и по критерию Холма — Сидака. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$ (95% точности).

С помощью многофакторного анализа отобраны наиболее значимые цитологические показатели, оценено влияние отобранных признаков для решения дифференциально-диагностических задач при установлении цитологического диагноза.

С применением дискриминантного анализа статистически определены признаки, которые позволили установить максимальные различия в группах больных с ССЖПП. Значимость особенностей клеток опухоли, включенных в модель для выполнения дискриминантного анализа, оценивалась с использованием статистического F-критерия Фишера. Решающие правила (дискриминантные функции) представляли собой линейные классификационные функции вида $d_j(x_1, x_2, \dots, x_n) = b_{0j} + b_{1j}x_1 + b_{2j}x_2 + \dots + b_{nj}x_n$, где d_j — линейная дискриминантная функция для j -й группы пациентов; b_{0j} — константа для j -й линейной дискриминантной функции; $b_{1j}, b_{2j}, \dots, b_{nj}$ — коэффициенты для признаков x_1, x_2, \dots, x_n в j -й линейной дискриминантной функции; x_1, x_2, \dots, x_n — значения признаков классифицируемого пациента.

3. Результаты собственных исследований

3.1. Характеристика клеточного состава плевральной жидкости при реактивных и воспалительных процессах

Плевриты реактивного и воспалительного характера отмечены у 1309 пациентов (59,0% всех наблюдений). Все больные с ССЖПП реактивного и воспалительного характера были распределены на пять групп (рис. 3):

- 1) больные плевритом реактивного характера (513 человек);
- 2) больные паранеопластическим плевритом (405 человек);
- 3) больные парапневмоническим плевритом (26 человек);
- 4) больные с выпотом при сердечной недостаточности (48 человек);
- 5) больные ССЖПП при туберкулёзе легких (317 человек).

Критерием включения в указанные группы был цитологический признак отсутствия опухолевых клеток в плевральной жидкости. По результатам многофакторного анализа клеточного состава плевральной жидкости нами сформированы группы взаимосвязанных цитологических признаков, описывающих большинство наблюдений. Это позволило нам сформировать цитологические типы, описывающие клеточный состав плевральной жидкости при плевритах реактивного и воспалительного характера. К ним относятся мезотелиально-лимфоцитарный, гранулоцитарно-клеточный и макрофагальный типы.

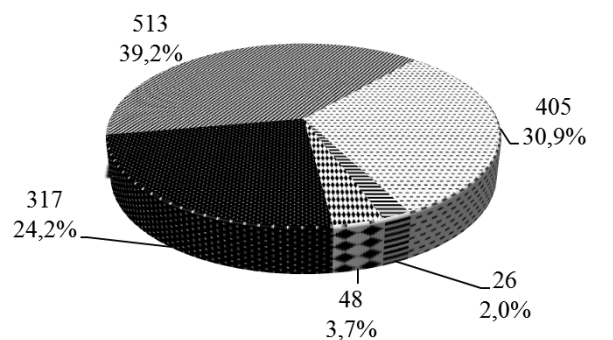


Рис. 3. Больные плевритом различного характера с синдромом скопления жидкости в плевральной полости

- больные плевритом «реактивного» характера
- больные паранеопластическим плевритом
- больные плевритом при пневмонии
- больные плевритом при сердечной недостаточности
- больные плевритом при туберкулёзе лёгких

Использованный поиск различий между неоднородными группами пациентов позволил с помощью дискриминантного анализа установить признаки, отличающие клеточный состав плеврального выпота (только с применением цитологических методик) при туберкулёзе лёгких, плеврите при пневмонии и при плевральном выпоте у больных с сердечной недостаточностью (процент правильных классификаций составляет до 99,9%). Основными критериями цитологической диагностики для плеврита туберкулёзной этиологии является количество лимфоидных элементов, которое при подсчёте в полях зрения составляет от 97 до 288; $242,4 \pm 45,30$ клеток. При плеврите, который развился после пневмонии, к таким признакам относится абсолютное число нейтрофильных гранулоцитов (от 125 до 234; $179,1 \pm 54,38$ клеток). У больных с плевральным выпотом при сердечной недостаточности критериями цитологической диагностики являются преобладание в процентном содержании количества клеток мезотелия (от 36 до 66; $51,7 \pm 15,0\%$ клеток) и присутствие многоядерных клеток «сердечных пороков». Изученные количественные цитологические характеристики позволяют оценить характер плеврита и по полученным результатам отнести конкретный случай к одному из трёх видов описываемых плевритов (туберкулёзный, парапневмонический и плевральный выпот при сердечной недостаточности).

Нами предложено использовать уравнение дискриминантной функции ($d_j(x_1, x_2, \dots, x_n) = b_{0j} + b_{1j}x_1 + b_{2j}x_2 + \dots + b_{nj}x_n$), позволяющее с большой вероятностью на основании только цитологического исследования правильно установить диагноз при плевритах туберкулёзного, парапневмонического характера и плевральных выпотах при сердечной недостаточности, которые, по нашим данным, составляют 29,9% всех неопухолевых поражений плевры.

Максимальное значение d_j соответствует максимальной вероятности отнесения к группе больных с ССЖПП (неопухолевые плевриты) на основании проведённого цитологического исследования (табл. 2). Проведение дискриминантного анализа с целью выявления различий между цитологическими данными в группах показало недостаточно высокую степень достоверности полученных результатов у больных с плевритами реактивного и паранеопластического характера (процент правильных классификаций — от 50 до 55%). Данный факт привел нас к заключению о том, что в случаях, когда цитологический состав плевральной

жидкости не входит в референтный интервал или максимальное значение дискриминантной функции приблизительно одинаково для групп больных с реактивным и паранеопластическим плевритами, весьма вероятным может быть заключение о последних. В этих случаях дифференциальный диагноз должен быть построен на использовании дополнительных цитологических методик и комплексной оценке клинических, лабораторных и инструментальных данных.

Таблица 2

Значение коэффициентов решающего правила дискриминантной функции

Значение дискриминантной функции для групп больных с ССЖПП при плевритах	Коэффициент				
	b_{1j}	b_{2j}	b_j	b_{4j}	b_{5j}
Реактивного характера	0,34	0,36	0,71	0,15	1,09
Паранеопластических	0,38	0,34	0,21	0,18	0,23
Пневмонии	0,14	0,14	0,06	0,16	0,05
Туберкулёзе	0,03	0,03	0,70	0,07	0,02
Выпоте при сердечной недостаточности	0,38	0,35	0,74	0,12	0,51
Константа	-24,9	-23,16	-85,65	-22,03	-43,89

*количество клеток: x_1 — мезотелия; x_2 — макрофагов; x_3 — лимфоцитов; x_4 — гранулоцитов; x_5 — других клеток (тучные, плазматические и многоядерные).

Таким образом, при плевритах неопухолевого характера клеточный состав плевральной жидкости описывается тремя основными типами: мезотелиально-лимфоцитарным, гранулоцитарно-клеточным и макрофагальным. Для дифференциальной диагностики с применением только цитологических методик решающее значение имеет абсолютное число лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов, а дополнительное — процентное содержание клеток мезотелия, лимфоцитов и других (плазматических, тучных, многоядерных) клеток в плевральной жидкости. Невозможно провести дифференциальную диагностику на основании оценки цитологических данных при паранеопластических и реактивных плевритах, что обосновывает использование уточняющих методик.

3.2. Характеристика клеточного состава плевральной жидкости при первичных опухолях плевры

Первичные опухоли плевры (7,3% всех пациентов) чаще представлены эпителиоидным вариантом (150 наблюдений) (табл. 3).

Таблица 3

Количество больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости при мезотелиоме

№	Злокачественная мезотелиома плевры	Количество больных	Доля, %
1.	Эпителиоидный вариант	150	92,6
2.	Саркоматоидный вариант	2	1,2
3.	Бифазный вариант	10	6,2
Всего больных		162	100,0

3.2.1. Цитологическая характеристика плевральной жидкости при эпителиоидной мезотелиоме

На основании оценки цитологических данных 150 наблюдений нами описано 17 основных цитологических признаков, из которых достоверность различий по критерию χ^2 ($p < 0,001$) определена только у 12 переменных. При многофакторном анализе установлены следующие типы клеточных признаков эпителиоидной мезотелиомы. Для первого типа типичны: расположение клеток в однослойных, «рыхлых» скоплениях и разрозненно; наличие плотного, зернистого или глыбчатого хроматина ядер; присутствие во многих ядрах крупных, разной формы нуклеол размером более 5 мкм; образование мелких светлых вакуолей по периферии цитоплазмы (фенестрация); феномен «клетка в клетке»; образование межклеточного пространства в скоплениях по типу «окна» и наличие оксифильных мелкозернистых масс гиалурона. Для второго типа цитологических закономерностей характерны признаки в виде образования морулоподобных и сосочкоподобных структур и однотипная, преимущественно округлая и кубическая форма клеток. Для третьего типа наиболее значимыми были признаки в виде наличия оксифильного межклеточного вещества в клеточных скоплениях и сочетания гиперхромии ядер и базофилии цитоплазмы в клетках. Несмотря на выявленные цитологические закономерности, факторный вес указанных клеточных типов был недостаточно высоким и составлял максимально 0,77, а изучаемые нами факторы описывали только 48,0% выборки (дисперсии).

Проведенный нами дискриминантный анализ для поиска различий по совокупности цитологических признаков в группах больных с верифицированной эпителиоидной мезотелиомой плевры и больных с реактивными плевритами показал процент правильных классификаций 54,0 и 42,0% соответственно, что недостаточно для медико-биологических исследований и требует использования уточняющих методик.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют заключить, что цитологическая диагностика эпителиоидной мезотелиомы должна быть основана на результатах оценки особенностей клеток плевральной жидкости, объединенных в основные цитологические типы. Точность цитологического метода диагностики эпителиоидной мезотелиомы невелика и не может быть рекомендована как окончательный метод диагностики.

3.2.2. Цитологическая характеристика плевральной жидкости при саркоматоидной и бифазной мезотелиомах

Саркоматоидная мезотелиома относится к редким заболеваниям, с чем связано небольшое число наблюдений в данной группе (2 наблюдения). Клеточные признаки саркоматоидной мезотелиомы плевры в плевральной жидкости характеризуются фибробластоподобным видом опухолевых клеток. По нашим данным отмечено, что саркоматоидные мезотелиомы имеют менее выраженную эксфолиацию клеток в плевральную полость, в связи с этим для установления морфологического диагноза требуется проведение биопсии плевры.

Клеточные признаки бифазной мезотелиомы плевры (10 наблюдений) имеют клеточный состав, состоящий из опухолевых клеток фибробластоподобного вида и опухолевых клеток, напоминающих эпителиоидную мезотелиому. По нашим

данным, преобладающим клеточным компонентом при цитологическом исследовании плевральной жидкости в случаях бифазной мезотелиомы был эпителиоидный компонент опухоли (85% клеток опухоли). Опухолевые клетки бифазной мезотелиомы так же, как и саркоматоидной, имеют менее выраженную эксфолиацию клеток в плевральную полость.

Таким образом, морфологическая верификация саркоматоидной и бифазной мезотелиом требует проведения биопсии плевры с последующим гистологическим изучением от 3 до 5 биоптатов. Единственным цитологическим критерием саркоматоидной и бифазной мезотелиом является присутствие фибробластоподобных клеток.

3.3. Характеристика клеточного состава плевральной жидкости при эпителиальных метастатических поражениях плевры

Метастазы опухолей эпителиального генеза в плевру у больных с ССЖПП наблюдались наиболее часто — 713 больных (32,09% всех пациентов) (табл. 4). Карциноматозные плевриты чаще всего были обусловлены аденокарциномами различных органов (632 пациента) и лишь у 81 обследованного вызваны другими формами рака (плоскоклеточного, мелкоклеточного, светлоклеточного, переходно-клеточного).

Таблица 4

Количество больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости с установленным онкологическим заболеванием по результатам комплексного обследования

№	Нозология / локализация	Количество больных	Доля, %
I.	Мезотелиома	162	17,74
II.	Карциноматоз плевры	713	78,10
1.	Аденокарцинома:		
	лёгкое	307	33,63
	молочная железа	166	18,17
	яичники	94	10,29
	желудок	35	3,83
	предстательная железа	10	1,10
	кишечник	8	0,88
	эндометрий	7	0,77
	поджелудочная железа	3	0,33
	щитовидная железа	2	0,22
2.	Плоскоклеточный рак лёгкого	30	3,29
3.	Мелкоклеточный рак лёгкого	34	3,72
4.	Плоскоклеточный рак пищевода	3	0,33
5.	Почечно-клеточный рак	13	1,43
6.	Переходно-клеточный рак мочевого пузыря	1	0,11
III.	Неэпителиальные опухоли в плевре	38	4,16
	Всего	913	100

В результате исследования нами установлено, что количественная оценка клеток рака при цитологическом исследовании плевральной жидкости для уста-

новления диагноза метастаза решающего значения не имеет. Клеточный состав плевральной жидкости у больных при раке различных локализаций был разным, при этом количество опухолевых клеток колебалось от $6,7 \pm 5,50\%$ (при раке предстательной железы) до $75,9 \pm 5,67\%$ (при дольковом раке молочной железы).

При метастазах в плевру рака любой локализации в плевральной жидкости отмечена активная реакция иммунокомпетентных клеток, при этом минимальное количество лимфоцитов составило $5,0 \pm 1,02\%$ при плоскоклеточном раке лёгкого, а максимальное — $55,5 \pm 17,68\%$ при раке щитовидной железы. Макрофаги в плевральной жидкости в минимальном количестве $1,3 \pm 2,19\%$ отмечены при протоковом раке молочной железы, а в максимальном — $28,3 \pm 2,08\%$ при перстневидно-клеточном раке желудка. Клетки мезотелия в плевральной жидкости обнаружены в минимальном числе $2,2 \pm 0,9\%$ при плоскоклеточных формах рака (лёгкое, пищевод), а в максимальном — $50,3 \pm 37,07\%$ при мелкоклеточном раке лёгкого. Минимальное число гранулоцитов $0,9 \pm 0,81\%$ наблюдали при дольковом раке молочной железы, а максимальное — $28,2 \pm 9,8\%$ при плоскоклеточном раке лёгкого. Другие клетки (тучные, плазматические и многоядерные) в большинстве наблюдений опухолевых плевритов отсутствовали или встречались редко.

На основании проведённого нами исследования можно заключить, что цитологическая диагностика плевральной жидкости при эпителиальных метастатических поражениях плевры должна быть основана не на количественном анализе состава плевральной жидкости (количество лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов, клеток мезотелия и др.), а на качественном анализе и поиске только опухолевых клеток.

3.3.1. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости при метастазах рака лёгкого в плевру

Карциноматозный плеврит отмечен нами у 307 из 913 пациентов (33,6%) с аденогенным раком лёгкого. Из 16 основных цитологических признаков для дифференциальной диагностики с эпителиоидной мезотелиомой наибольшую информативность по критерию χ^2 ($p < 0,001$) имели только восемь. При многофакторном анализе нами констатировано, что совокупность клеточных признаков у 76,0% больных характеризовала в плевральной жидкости цитологический тип аденогенного рака, который описывается как «неспецифические железистоподобные комплексы опухолевых клеток». Другие цитологические признаки не вносили существенного вклада в правильную классификацию переменных при многофакторном анализе.

При дискриминантном анализе для решения вопроса о наборе переменных дифференциального диагноза и отнесения пациентов к одной из двух групп (метастазы аденогенного рака лёгкого в плевральную полость и эпителиоидная мезотелиома) статистически определены только пять. Однако при этом доля правильной классификации клеточного состава плевральной жидкости при метастазах аденогенного рака лёгкого составляет 38,0%, что статистически не значимо.

Клеточный состав плевральной жидкости у больных с плоскоклеточным раком лёгкого по данным многофакторного анализа нами охарактеризован как фактор «причудливые опухолевые клетки с гиперхромными ядрами и присутствием детритных масс». Данный цитологический тип отмечен у 73,3% больных. Дис-

криминантный анализ позволил (для отнесения пациентов к одной из двух групп: с метастазами плоскоклеточного рака или аденогенного рака лёгкого) из семи переменных статистически выделить только две: наличие опухолевых клеток причудливой формы (ракеткообразной, ладьевидной) и детритные массы. Данные признаки позволили установить гистотип опухоли в 86,1% случаев.

Общий цитологический тип клеточного состава при метастазах мелкоклеточного рака лёгкого в плевру при выполнении многофакторного анализа позволил выявить особенности типов опухолевых клеток: тесно прилегающие друг к другу клетки (словно «пазлы»); ядра клеток занимают все клеточное тело; ядрышки в клетках отсутствуют. Данный цитологический тип описывает 88,2% больных. Дискриминантный анализ позволил нам заключить, что доли правильной классификации больных с ССЖПП при мелкоклеточном раке лёгкого в плевральной жидкости в сравнении с группой больных аденогенным раком лёгкого составляют 79,9%.

Таким образом, клеточный состав плевральной жидкости при цитологическом исследовании позволяет правильно установить морфологический тип опухоли только при плоскоклеточном и мелкоклеточном раке лёгкого. К морфологическим признакам этих процессов относят при плоскоклеточном раке причудливые опухолевые клетки с гиперхромными ядрами и присутствием детритных масс, а при мелкоклеточном — прилегающие друг к другу опухолевые клетки (словно «пазлы»), ядра которых занимают все клеточное тело, отсутствие ядрышек. Цитологическое исследование плевральной жидкости при метастазировании аденогенного рака лёгкого в плевру позволяет констатировать факт наличия клеток аденокарциномы и степень её дифференцировки, но не даёт возможность уточнить первичный очаг метастазирования и требует применения уточняющих методик исследования.

3.3.2. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости при метастазах протокового и долькового рака молочной железы в плевру

Метастазирование рака молочной железы в плевральную полость нами чаще отмечено при протоковом раке (160 наблюдений, 96,4%) и значительно реже — при дольковой форме рака молочной железы (6 наблюдений, 3,6%) у женщин.

При статистической обработке (многофакторный анализ) результатов цитологического исследования клеточного состава плевральной жидкости у больных с метастазами протокового рака молочной железы нами выделен основной цитологический тип опухолевых клеток — ацинусоподобные комплексы из мноморфных клеток. Данный цитологический тип отмечен у 73,1% больных. При дискриминантном анализе к цитологическим дифференциально-диагностическим критериям протокового рака молочной железы в сравнении с аденогенным раком лёгкого нами отнесены следующие критерии: наличие комплексов клеток в виде ацинусоподобных структур; мноморфная округлая форма клеток; опухолевые клетки размером от 12 до 45 мкм с центральным расположением ядер. Данные признаки позволяют правильно классифицировать состав плевральной жидкости с использованием только цитологических методик при протоковом раке молочной железы в 91,9%.

Клеточный состав при цитологическом исследовании плевральной жидкости у больных с плевритами при дольковом раке молочной железы можно охарактеризовать цитологическим типом — образование «цепочек» из прилегающих друг к другу клеток опухоли. Ввиду небольшого числа наблюдений многофакторный анализ в данной группе был невозможен, однако данный цитологический тип отмечен в четырёх случаях из шести (66,7% наблюдений), что позволило нам охарактеризовать цитологический тип опухолевых клеток.

Таким образом, цитологический метод исследования плевральной жидкости позволяет с большой степенью вероятности (91,9% при протоковой форме и 66,7% при дольковой форме рака молочной железы) констатировать метастазы рака молочной железы только на основании цитологического типа опухоли. К таким цитологическим типам относятся: наличие комплексов клеток в виде ацинусоподобных структур; мономорфная округлая форма клеток; опухолевые клетки размером от 12 до 45 мкм с центральным расположением ядер при протоковой форме и образование «цепочек» из прилегающих друг к другу клеток опухоли при дольковой форме рака молочной железы.

3.3.3. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости при метастазах рака яичника в плевру

Метастатическое поражение плевры с развитием ССЖПП отмечено нами при серозном раке яичника у 92 (97,9%) и муцинозном раке яичника у 2 (2,1%) женщин. Из установленных нами 12 основных цитологических признаков для серозной аденокарциномы яичника при световой микроскопии при многофакторном анализе наиболее значимыми оказались 9, которые мы объединили в три типа клеточного состава: структурные изменения цитоплазмы (крупная вакуолизация), размер клеток от 20 до 80 мкм и железисто-папиллярная комплексация. Данные цитологические типы отмечены нами у 83,7% больных. Следует отметить, что описанные клеточные признаки, характеризующие первый клеточный тип (структурные изменения цитоплазмы и размера клеток) и третий клеточный тип (железисто-папиллярная комплексация) являются распространенными для аденогенных раков различных локализаций. Специфические клеточные признаки серозного рака яичника, преимущественно при его высокодифференцированном варианте (присутствие псаммомных телец и признаки секреции в виде венчика тонких волокон с одного полюса), включены по результатам многофакторного анализа в первый тип клеточного состава (факторный вес равнялся 0,21 и 0,09).

По результатам дискриминантного анализа нами к цитологическим дифференциальным критериям метастазов серозной аденокарциномы яичника в плевру (в сравнении с группой больных аденогенным раком лёгкого) отнесены следующие признаки: наличие крупных, оптически пустых вакуолей в опухолевой клетке; размеры клеток от 20 до 80 мкм; гиперхромная или рыхлая структура хроматина ядер опухолевых клеток; наличие признаков секреции в виде венчика тонких волокон с одного полюса опухолевой клетки; наличие псаммомных телец в опухолевой клетке и внеклеточно. При данном виде статистического анализа правильно классифицировать по клеточному составу с использованием только цитологических методик серозную аденокарциному яичника возможно в 70,3% случаев. Однако данный процент классификации в биологии и медицине недоста-

точен, что позволяет сделать вывод о необходимости использования уточняющих методик для правильного цитологического диагноза.

Клеточный состав при исследовании плевральной жидкости у больных с метастазом в плевру при муцинозной аденокарциноме яичника (два наблюдения) можно охарактеризовать железистоподобными комплексами без слизистых масс, которые неотличимы от аденокарцином различных локализаций.

Таким образом, проведение дифференциальной диагностики метастатического процесса в плевру при раке яичника с помощью цитологических исследований плевральной жидкости затруднительно и недостаточно достоверно, требует использования уточняющих цитохимических и иммуноцитохимических методик исследования.

3.3.4. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости при метастазах рака желудка в плевру

Метастазирование в плевру при раке желудка, по нашим данным, отмечено в 35 наблюдениях. Клеточные характеристики плевральной жидкости при метастазах аденокарциномы желудка в плевру (n=25) определены у 68,0% пациентов с помощью многофакторного анализа в общий цитологический тип, который описывается наличием неспецифических железистых комплексов с присутствием изолированных перстневидных клеток. При проведении сравнения с помощью дискриминантного анализа с аденогенным раком лёгкого значимыми оказались только три цитологических признака: 1) наличие неспецифических железистых комплексов; 2) смещение ядер к краю в цитоплазме опухолевых клеток, присутствие перстневидных клеток; 3) слизистые массы на препарате. По данным дискриминантного анализа доли правильной классификации по указанным переменным у больных раком желудка с метастазами в плевру составляют лишь 28,1%.

При метастазах перстневидно-клеточного рака желудка (9 наблюдений из 35; 25,7%) в плевральной жидкости нами определён набор признаков, характеризующих клетки опухоли. По результатам многофакторного анализа общие признаки метастазирования перстневидно-клеточного рака желудка в плевру определены в плевральной жидкости у 52,7% больных. К таким признакам относится наличие мелких перстневидных клеток с плотным хроматином. Наряду с клетками опухоли, при перстневидно-клеточных карциномах в плевральной жидкости содержится большое количество гистиоцитов, лейкоцитов и лимфоцитов. При выполнении дискриминантного анализа для отнесения пациентов к одной из двух групп (с метастазами аденокарциномы желудка и перстневидно-клеточного рака желудка в плевральной жидкости) нами использованы девять исходных, наиболее информативных показателей клеток опухоли (дискриминантные индексы). Однако данный уровень значимости не отражает истинного значения, установлено, что различий между совокупностями нет.

Метастаз недифференцированного рака желудка описан нами лишь у одного больного (2,9%). Клеточный состав отличался отсутствием комплексов клеток опухоли, при этом все опухолевые клетки располагались отдельно, в их числе отмечались перстневидные формы.

Таким образом, используя только цитологический метод световой микроскопии, дифференцировать метастазы рака желудка или рака лёгкого в плевру по

составу плевральной жидкости невозможно ввиду малой достоверности результатов цитологического исследования. Данный факт объясняет необходимость применения цитохимического и иммуноцитохимического методов исследований для решения вопросов дифференциальной диагностики.

3.3.5. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости при метастазах почечно-клеточного рака в плевру

Метастатическое поражение плевры с развитием ССЖПП при светлоклеточном почечно-клеточном раке (10 наблюдений; 1,09%) при цитологическом исследовании нами описано по семи признакам. С помощью многофакторного анализа определён общий признак (тип клеточного состава) в данной группе больных, который описывал 78,3% выборки, — наличие «пенистых клеток» рака средних размеров с интенсивным хроматином ядер. Из семи клеточных признаков в сравнении с аденогенным раком лёгкого с помощью дискриминантного анализа статистически определён только один (описывает 90,4% правильных классификаций) — отдельно лежащие и лежащие в скоплениях специфические «пенистые» опухолевые клетки. Данный факт позволяет утверждать, что клеточные признаки, установленные нами в данной группе больных, при световой микроскопии являются критериями установления правильного диагноза светлоклеточного почечно-клеточного рака.

Таким образом, наши исследования позволяют констатировать возможности установления диагноза метастазов в плевру светлоклеточного почечно-клеточного рака почки на основании световой микроскопии. К значимым дифференциальным критериям такого процесса относится морфологический признак отдельно лежащих и лежащих в скоплениях специфических «пенистых» опухолевых клеток.

3.3.6. Цитологическая характеристика состава плевральной жидкости в группе метастазирующих в плевру эпителиальных опухолей (рак предстательной, поджелудочной, щитовидной желёз, кишечника, эндометрия)

К группе метастазирующих в плевральную полость опухолей в данной работе отнесены наблюдения ещё 33 человек. Метастазы в плевру отмечены при раке предстательной железы у 10 (1,4%) мужчин, раке поджелудочной и щитовидной желёз — в 3 (0,4%) и 2 (0,3%) случаях соответственно, при раке кишечника — у 8 (1,1%) больных, эндометрия — у 7 (1,0%) женщин, пищевода — 3 (0,4%) случая, и мочевого пузыря — 1 (0,1%) случай.

Состав плевральной жидкости при метастазировании рака предстательной железы в плевру мы характеризовали шестью признаками, которые при многофакторном анализе имели общий цитологический тип у 47,4% больных. Данную группу признаков мы назвали «ацинарно-ядерное расположение клеток». По результатам дискриминантного анализа цитологических исследований у больных раком предстательной железы и раком лёгких процент правильной классификации при метастазе в плевру составляет всего 42,6%. Мы полагаем, что установить цитологический диагноз по клеточному составу плевральной жидкости в данном случае затруднительно, что требует применения уточняющих методик.

В трёх наблюдениях клеточный состав плевральной жидкости при метастазах рака поджелудочной железы в плевру был подобен опухолевым клеткам, ха-

рактизирующим рак желудка или кишечника. В плевральной жидкости у обследованных больных нами выявлены перстневидные клетки, которые в доступной научной литературе и по результатам наших исследований описаны в случае метастазирования в плевру рака желудка. Можно предположить, что перстневидные клетки являются критерием диагностики метастатического процесса в плевре при указанной патологии.

Клеточный состав плевральной жидкости у двух пациенток при метастазах папиллярного рака щитовидной железы в плевру ранее в доступной научной литературе не описан. По нашим данным, клетки опухоли щитовидной железы в плевральной жидкости были крупнее, чем в первичном образовании щитовидной железы. Из семи определённых нами признаков клеток опухоли (папиллярные комплексы; размеры клеток опухоли — от 45 до 60 мкм; мономорфные ядра; гиперхромный хроматин; присутствие ядрышек в единичных клетках; обильная базофильная цитоплазма; единичные многоядерные клетки) при метастазах папиллярного рака щитовидной железы в плевральной жидкости отмечен лишь один отличительный признак — многоядерные клетки с внутриядерным просветом.

В трёх описываемых нами случаях карциноматозный плеврит возник при раке прямой кишки, в двух — сигмовидной, в двух — ободочной кишки, в одном случае — слепой кишки. В плевральной жидкости у указанных больных нами выявлены перстневидные клетки, которые в доступной научной литературе и по результатам наших исследований описаны в случае метастазирования в плевру рака желудка. Можно предположить, что перстневидные клетки являются критерием диагностики метастатического процесса в плевре при указанной патологии.

Таким образом, при метастазах рака из разных отделов кишечника в плевру цитологический состав плевральной жидкости не имеет определенных особенностей и закономерностей. Для уточнения цитологического диагноза в данных случаях требуется проведение исследований по уточняющим методикам.

При метастазе рака эндометрия в плевру у семи пациенток (в доступной литературе ранее эти факты не отражены) клеточный состав плевральной жидкости состоял из семи клеточных признаков, которые описывали (по данным многофакторного анализа) 53,5% наблюдений. Наиболее значимым был признак, описываемый как переплетения клеточных комплексов и «узкая цитоплазма» опухолевых клеток, что не позволяет отнести указанные признаки к дифференциально-диагностическим.

Таким образом, используя только цитологический метод световой микроскопии, дифференцировать метастазы рака предстательной, поджелудочной, щитовидной желез, кишечника, эндометрия по составу плевральной жидкости крайне затруднительно ввиду редкой встречаемости, отсутствия значимых закономерностей. Приведённые случаи объясняют необходимость применения дополнительных диагностических методов исследований для решения вопросов дифференциальной диагностики метастатического процесса в плевру при указанных выше первичных локализациях рака.

Подводя итоги цитологического исследования плевральной жидкости при метастатическом поражении плевры опухолевым процессом эпителиального происхождения различных локализаций, можно заключить, что процедура правиль-

ной классификации цитологических данных возможна лишь в группе больных с плоскоклеточным и мелкоклеточным раком лёгкого, протоковым раком молочной железы, светлоклеточным почечно-клеточным раком. Другие формы онкологических заболеваний и их метастазирование в плевру не доступны цитологической диагностике на основе световой микроскопии.

3.4. Характеристика клеточного состава плевральной жидкости при неэпителиальных метастатических поражениях плевры

3.4.1. Цитологическая характеристика злокачественных лимфом в плевральной жидкости

Группа пациентов, у которых в плевральной жидкости обнаружены опухолевые клетки мезенхимального происхождения, была малочисленной (рис. 4).



Рис. 4. Соотношение количества больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости с установленным опухолевым процессом и плевритами воспалительного характера

В-клеточную крупноклеточную неходжкинскую лимфому (7 наблюдений) при световой микроскопии оценивали по шести клеточным признакам; Т-клеточную (9 наблюдений) — по семи. Совокупность клеточных признаков, названная нами «хроматиново-цитоплазматический фактор», объединяла цитологические типы у 37,8% больных. Аналогичные результаты получены и у пациентов при В- и Т-клеточной лимфолейкозе/лимфоме (6 и 1 наблюдение).

Из использованных нами семи исходных клеточных признаков при дискриминантном анализе для отнесения пациентов к одной из двух групп (В- или Т-клеточная лимфома) статистически определены только два, при этом процент правильной классификации составил 7,9% в каждой группе. Данный факт указывает на невозможность использования световой микроскопии в проведении цитологической диагностики состава плевральной жидкости у данной категории больных.

В то же время нами отмечены некоторые особенности состава плевральной жидкости при лимфомах и плазмоцитомах. Диагностическим критерием лимфомы Ходжкина (4 пациента) в плевральной жидкости явилось наличие клеток Березовского — Штернберга в сочетании с эозинофилией (эозинофилов

10,4 ± 1,08% от всех клеток в плевральной жидкости). В клеточном составе плевральной жидкости при плазмоцитоме опухолевые клетки напоминают плазматические клетки и составляют 88,0% всего клеточного состава.

Таким образом, по нашим данным, клеточный состав плевральной жидкости у больных злокачественными лимфомами дифференцировать при световой микроскопии В-клеточные и Т-клеточные крупноклеточные лимфомы (также лимфоциты/лимфомы) невозможно. В то же время при нахождении в плевральной жидкости клеток Березовского — Штернберга и опухолевых плазмоцитов цитологический метод световой микроскопии достаточен для утвердительного диагноза.

3.4.2. Цитологическая характеристика плевральной жидкости при метастазах мезенхимальных сарком в плевру

Клеточные изменения изучены при полиморфноклеточной рабдомиосаркоме — 3 наблюдения, остеогенной саркоме — 2 наблюдения, миксоидной липосаркоме и злокачественной фиброзной гистиоцитоме — по одному наблюдению. Объединив клеточные признаки состава плевральной жидкости при метастазах сарком в плевральную полость, мы провели многофакторный анализ, который позволил определить общий цитологический тип (присутствие многоядерных, отдельно лежащих клеток крупных размеров (от 60 до 180 мкм) с зернистостью в цитоплазме и грубым хроматином). Так как указанный тип описывал всего лишь 53,4% наблюдений, мы пришли к выводу о том, что световая микроскопия для цитологической диагностики указанной группы заболеваний не является методом выбора. Кроме того, нами отмечено, что трудности диагностики метастазов данных опухолей в плевральной жидкости связаны с крайне небольшим количеством опухолевых клеток: от 1,7 ± 0,47% (при полиморфноклеточной рабдомиосаркоме) до 8,5 ± 2,5% (при остеогенной саркоме).

3.4.3. Цитологическая характеристика плевральной жидкости при метастазах меланомы в плевру

При диагностике метастазов эпителиоидно-клеточной меланомы в плевральной жидкости у трёх пациентов во всех случаях нами описан цитологический тип клеток как меланинсодержащие клетки с плазматическим цитоплазматомом и признаками «траурной каймы». В доступной научной литературе данный феномен описан, что позволяет включить указанный цитологический тип клеток в диагностический цитологический критерий.

4. Использование цитохимических и иммуноцитохимических исследований при дифференциальной диагностике заболеваний плевры

4.1. Использование цитохимических методик при исследовании плевральной жидкости

Цитохимический метод нами использован при изучении клеточного состава плевральной жидкости больных с ССЖПП в качестве дополнительного метода к результатам классической цитологической диагностики. Цитохимические методики (окрашивание клеток на слизь и гликоген) использованы у 33 пациентов (1,5% всех наблюдений).

При дифференциальной диагностике метастазов перстневидно-клеточного рака желудка в плевральную полость и перстневидных клеток мезотелия при сердечной недостаточности проведенные реакции позволяют исключить метастаз рака (11 наблюдений). Гликоген окрашивался в клетках эпителиоидной мезотелиомы у 12 больных и отсутствовал в скоплениях клеток аденогенного рака лёгкого в 6 наблюдениях. Гранулы гликогена по краю цитоплазмы в клетках эпителиоидной мезотелиомы окрашивались малиновым цветом, что является дифференциальным критерием.

Методика окрашивания на слизь использована у 4 больных при диагностике метастаза серозной аденокарциномы яичника. Слизь по краю клеток окрашивалась бирюзовым цветом альциановым синим и ярко-розовым при окраске муцикармином Мейера.

Нами установлено, что использование цитохимических реакций при исследовании плевральной жидкости позволило установить принадлежность клеток к виду онкологического заболевания и повысить результативность цитологической диагностики на 2,7%.

Таким образом, использование цитохимических методик незначительно увеличивает точность цитологического метода световой микроскопии. Его применение возможно лишь в некоторых случаях — для дифференцирования перстневидных клеток (мезотелий или перстневидно-клеточный рак), в остальных случаях при сомнительной оценке принадлежности клеток рекомендуем использовать иммуноцитохимические методики.

4.2. Использование иммуноцитохимических методик при исследовании плевральной жидкости

Нами установлено, что при некоторых видах ССЖПП световая микроскопия недостаточно информативна. Это потребовало применить в качестве уточняющих методик иммуноцитохимический метод. Для решения вопросов о выборе дифференциально-диагностического критерия нами использованы стандартные или рекомендованные в мировой практике наборы антител (антигенов). В качестве критерия чувствительности нами выбрана степень окрашивания клеток опухоли данным антителом.

4.2.1. Характеристика клеток мезотелия при иммуноцитохимическом исследовании плевральной жидкости

Иммуноцитохимические исследования плевральной жидкости проведены у 100 больных паранеопластическим плевритом и 27 пациентов с плевритом реактивного характера. Применение иммуноцитохимических исследований позволило нам дифференцировать клетки пролиферирующего мезотелия и клетки эпителиального происхождения (рака) с использованием всего двух антител (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4). Данные антитела позволили исключить (подтвердить) наличие опухолевых клеток в плевральной жидкости. Необходимость применять большее количество антител возникает при позитивной реакции на эпителиальный антиген (Epithelial Antigen Clone Ber-EP4) для определения типа и вида опухоли. В настоящей работе таких пациентов было 11 из группы больных с реактивным плевритом. Применение

эпителиального антигена позволило установить клетки злокачественной природы при отсутствии других цитологических данных (клеточных скоплений и признаков неоплазии).

Дискриминантный анализ позволил нам определить процент правильной классификации клеточного состава плевральной жидкости у больных реактивным и паранеопластическим плевритами при использовании иммуноцитохимического исследования (по сравнению с группой больных с карциноматозными плевритами). Вероятность отнесения к группе больных с опухолевыми и неопухолевыми плевритами составила 99,9%. Данный факт свидетельствует о том, что применение иммуноцитохимического метода при дифференциальной диагностике клеточного состава плевральной жидкости у больных реактивными и паранеопластическими плевритами значительно информативнее световой микроскопии (вероятность составляла 50,0 и 55,0% соответственно). Учитывая данное обстоятельство, мы рекомендуем использование мезотелина и эпителиального антигена (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4) для исключения карциноматоза в плевральной жидкости у больных реактивными и паранеопластическими плевритами.

4.3. Использование иммуноцитохимических методик при исследовании плевральной жидкости у больных с опухолевыми плевритами

Из 913 больных, вошедших в группы нашего исследования, опухолевый плеврит констатирован у 493 (54,0%) пациентов при известном онкологическом заболевании, и проведение иммуноцитохимических исследований в этих случаях, как правило, не требовалось (рис. 5).

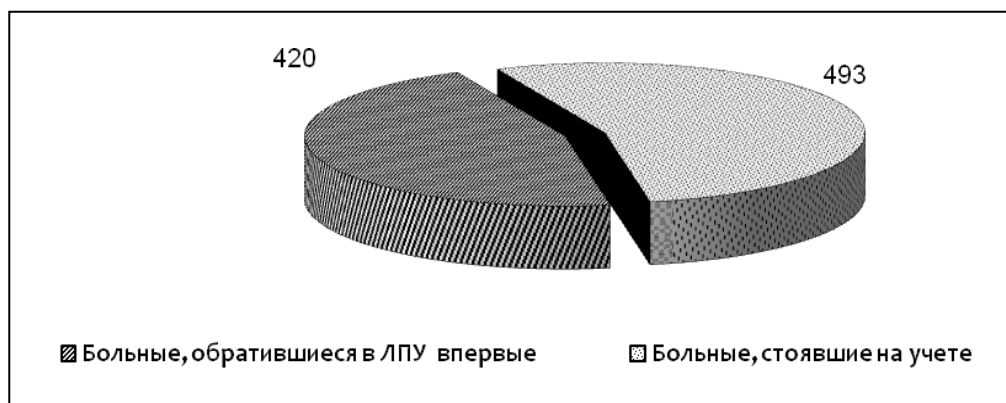


Рис. 5. Количество больных с установленным цитологическим методом злокачественным новообразованием в плевре

Часть больных (420 пациентов, 46,0%) обследованы нами при первичном обращении в различные медицинские учреждения, в которых был начат диагностический поиск причин развития ССЖПП с использованием клинических и инструментальных обследований. В части данных случаев (181 наблюдение, 43,1%) в течение 1–2 дней установлен первичный очаг злокачественной опухоли, что не требовало иммуноцитохимических исследований плевральной жидкости. В то же время у 239 больных (56,9%) проведённые диагностические исследования не по-

зволили установить локализацию первичной опухоли (в том числе и мезотелиомы). В этих случаях при исследовании плевральной жидкости потребовалось использование иммуоцитохимических методик (табл. 5).

Таблица 5

Количество больных, у которых диагноз установлен с использованием иммуоцитохимического метода

№ п/п	Установлен диагноз	Число больных	Всего исследований	Доля, %
1.	Паранеопластический плеврит	100	1252	27,3
2.	Плеврит реактивного характера	27	76	7,4
3.	Эпителиоидная мезотелиома	97	1337	26,5
4.	Аденогенный рак лёгкого	33	528	9,0
5.	Плоскоклеточный рак лёгкого	12	115	3,3
6.	Мелкоклеточный рак лёгкого	10	110	2,8
7.	Рак молочной железы	14	193	3,8
8.	Серозная аденокарцинома яичника	29	426	7,9
9.	Аденокарцинома и перстневидно-клеточный рак желудка	13	208	3,6
10.	Светлоклеточный почечно-клеточный рак	2	22	0,5
11.	Ацинарный рак предстательной железы	2	20	0,5
12.	Аденокарцинома кишечника	2	36	0,5
13.	Неходжкинская лимфома	23	198	6,3
14.	Эпителиоидно-клеточная меланома	2	40	0,5
Всего больных		366	4561	100

4.3.1. Характеристика клеток эпителиоидной мезотелиомы при иммуоцитохимическом исследовании плевральной жидкости

Дифференциальная диагностика эпителиоидной мезотелиомы плевры (97 наблюдений) проводится при сомнительном результате изучения клеточного состава, когда нет существенных цитологических отличий между клетками пролиферирующего мезотелия и клетками эпителиального происхождения (метастаза аденокарциномы из различных органов).

Опыт нашей работы и результаты проведённого исследования предполагают для дифференциации клеток мезотелиального происхождения использование антител, различающихся качественными характеристиками (в скобках – значение реакции):

- 1) для клеток мезотелия — калретинин (цитоплазма, 2+), мезотелин (цитоплазма, 2+), СК5/6 (цитоплазма, 2+), эпителиально-мембранный антиген (–), эпителиальный антиген (–);
- 2) для эпителиоидной мезотелиомы — калретинин (ядро — цитоплазма, 3+), мезотелин (мембрана — цитоплазма, 3+), СК5/6 (цитоплазма 3+), эпителиально-мембранный антиген (мембрана, 2+, 3+), эпителиальный антиген (–).

Результаты дискриминантного анализа, проведённого в 97 наблюдениях, позволили нам установить, что для эпителиоидной мезотелиомы значимы лишь выраженные иммуоцитохимические реакции (3+) на калретинин, мезотелин, тромбомодулин, СК5/6, СК7, виментин, ЕМА, WT1. Доли правильно установленного

диагноза у больных с ССЖПП в группах эпителиоидной мезотелиомы и реактивном плеврите с выраженной пролиферацией мезотелия при иммуноцитохимических исследованиях составили 96,2%, что значительно выше световой микроскопии (54,00%).

Данный факт позволяет утверждать, что диагноз эпителиоидной мезотелиомы плевры, установленный при использовании иммуноцитохимического метода диагностики (в совокупности с результатами клинико-инструментального исследования), может являться окончательным диагнозом.

4.3.2. Характеристика клеток рака лёгкого в плевральной жидкости при иммуноцитохимическом исследовании

Для решения задач дифференциальной диагностики клеточного состава плевральной жидкости в группе пациентов с аденогенным раком лёгких (33 наблюдения) и эпителиоидной мезотелиомы (97 наблюдений) нами для иммуноцитохимического исследования использованы следующие панели антител (в скобках – значение реакции):

- 1) для аденогенного рака лёгкого — калретинин (–), мезотелин (–), тромбомодулин (–), СК5/6 (–), эпителиальный антиген (2+), СЕАмоно (2+), СЕАpoly (2+), ТТФ-1 (3+, 2+, 1+), WT1 (–);
- 2) для эпителиоидной мезотелиомы — калретинин (3+), мезотелин (3+), тромбомодулин (3+), СК5/6 (3+), эпителиальный антиген (–), СЕАмоно (–), СЕАpoly (–), ТТФ-1 (–), WT1 (3+).

По результатам иммуноцитохимического исследования в указанных группах больных нами выполнен дискриминантный анализ для оценки доли точности диагностики. В результате статистической обработки полученных данных нами установлено, что с использованием иммуноцитохимических методик из указанной выше панели позволяет при аденогенном раке лёгких (в сравнении с эпителиоидной мезотелиомой) правильно классифицировать 86,4% случаев, что значительно выше результатов световой микроскопии (38,0%).

Таким образом, первичный очаг аденогенного рака лёгких по клеточному составу плевральной жидкости можно установить с использованием иммуноцитохимического метода в 86,4% случаев. Наиболее значимы для решения поставленных вопросов оказались позитивные реакции на ТТФ-1 (реакция на антиген 3+, 2+ или 1+) антиген, эпителиальный антиген (2+) и СЕАмоно (2+) и СЕАpoly (2+).

Плоскоклеточный рак в клетках плевральной жидкости характеризуется следующими иммуноцитохимическими реакциями: калретинин (–), мезотелин (–), тромбомодулин (–), СК5/6 (3+ или 2+), эпителиальный антиген (3+), СЕАpoly (3+, 2+), ТТФ-1 (–). Как показали наши исследования, доли правильной классификации по данным дискриминантного анализа с использованием иммуноцитохимических реакций в сравнении с аденогенным раком лёгкого составляют 99,2%.

Для клеток мелкоклеточного рака лёгкого в плевральной жидкости при проведении иммуноцитохимических исследований значимым является отсутствие реакции на мезотелиальные антитела, СК5/6, СЕАмоно/poly при позитивных реакциях на эпителиальный антиген (2+) и ТТФ-1 (3+, 2+). Ввиду однотипных размеров клеток мелкоклеточного рака с лимфоидными элементами необходимыми

являются исследования на общелейкоцитарный антиген CD45. При иммуноцитохимических реакциях на нейроэндокринные маркеры (хромогранин и нейронспецифическую энолазу) в клетках мелкоклеточного рака отмечены как позитивные, так и иммунонегативные реакции. Данный факт позволяет нам предположить, что метастазируют в плевру преимущественно мелкоклеточные раки, не экспрессирующие нейроэндокринные маркеры. По данным дискриминантного анализа доли правильной цитологической классификации больных при мелкоклеточном раке лёгкого в плевральной жидкости с использованием иммуноцитохимических реакций в сравнении с аденогенным раком лёгкого составляют 87,6% (при световой микроскопии 79,9%).

Таким образом, использование иммуноцитохимических методов с подобранным набором антител с высокой вероятностью позволяет установить диагноз при аденогенном раке в 86,4%; плоскоклеточном раке — около 100%; при мелкоклеточном раке лёгкого — в 87,6% наблюдений и в комплексе с клинично-инструментальными данными установить окончательный морфологический диагноз.

4.3.3. Характеристика клеток рака молочной железы в плевральной жидкости при иммуноцитохимическом исследовании

При проведении дифференциальной диагностики клеточного состава плевральной жидкости у 14 пациенток возникла необходимость использования иммуноцитохимических исследований. При проведении иммуноцитохимических реакций наиболее значимы были исследования на маммаглобин (2+, 3+), СЕА mono/poly (3+, 2+, 1+), при негативной реакции на мезотелиальные антитела, TTF-1 (–), WT1 (–). По результатам дискриминантного анализа оценки иммуноцитохимического исследования доли точной классификации карциноматоза плевры у пациенток при раке молочной железы в сравнении с аденогенным раком лёгкого составили 98,8% (при световой микроскопии 91,9%).

4.3.4. Характеристика клеток серозной аденокарциномы яичника в плевральной жидкости при иммуноцитохимическом исследовании

При дифференциальной диагностике клеточного состава плевральной жидкости у 29 пациенток серозным раком яичника с помощью иммуноцитохимического исследования нами установлено, что наиболее информативной является реакция с моноклональным карциноэмбриональным антигеном. По результатам дискриминантного анализа доли правильной цитологической классификации при метастазах серозного рака яичника в плевру с использованием иммуноцитохимических исследований составляют 85,6%, что выше, чем при световой микроскопии (70,3%).

Таким образом, при негативной реакции клеток опухоли в плевральной жидкости на моноклональный карциноэмбриональный антиген и разноплановых положительных реакциях на другие антигены наиболее вероятным является метастазирование серозного рака яичника в плевру (85,6%).

4.3.5. Характеристика клеток рака желудка в плевральной жидкости при иммуноцитохимическом исследовании

По нашим данным, при дифференциальной диагностике метастазов аденокарциномы желудка в плевру, наряду с позитивной (3+) реакцией на карциноэмбриональные антитела, наиболее ценной является реакция с цитокератином 20.

Последняя отмечена во всех наблюдениях (13 случаях) в клетках метастазов рака желудка в плевральной жидкости (3+, 2+).

Дифференциальная диагностика клеток перстневидно-клеточного рака в плевральной жидкости проводится с гистиоцитами, которые, по данным световой микроскопии, схожи между собой. С помощью иммуноцитохимических методов нами установлено, что наиболее значимые различия в свойствах клеток опухоли отмечены на карциноэмбриональные антигены. Выраженное мембранно-цитоплазматическое (3+) окрашивание характеризует клетки перстневидно-клеточного рака. Позитивную реакцию мы отмечали в тех клетках, которые при световой микроскопии были без признаков анаплазии, при этом в гистиоцитах реакция на карциноэмбриональные антигены была негативная. По результатам дискриминантного анализа доли правильной классификации больных с ССЖПП при метастазе рака желудка в плевру (в группе сравнения с аденогенным раком лёгкого в плевральной полости) с использованием иммуноцитохимических исследований составляют 83,7%, что значительно выше, чем при световой микроскопии (28,1%).

Таким образом, установить метастазирование в плевральную полость опухолей из желудка (перстневидно-клеточный или аденогенный рак) с использованием иммуноцитохимических методик возможно с вероятностью 83,7%.

4.3.6. Характеристика клеток рака почки и предстательной железы в плевральной жидкости при иммуноцитохимическом исследовании

Иммуноцитохимические исследования маркёров (калретинин, мезотелин, тромбомодулин, СК5/6, СК7, СК20, эпителиальный антиген, СЕАмоно, ТТФ-1 и WT1) в клеточном составе плевральной жидкости клеток опухолей почки и предстательной железы оказались отрицательными во всех наблюдениях (по 2 пациента с редкой формой метастазирования). При этом позитивная реакция отмечена на виментин (2+) и эпителиальный антиген (2+) в клетках опухоли из предстательной железы, а также на виментин (2+) в клетках светлоклеточного почечно-клеточного рака.

4.3.7. Характеристика клеток рака кишечника при иммуноцитохимическом исследовании плевральной жидкости

При дифференциальной диагностике метастазов рака кишечника в плевру с аденогенными карциномами различных локализаций организма наиболее ценной является позитивная реакция с цитокератином 20, однако она не позволяет дифференцировать его от метастазов рака желудка. В этих случаях вместе с цитокератином 20 необходимо использовать цитокератин 7, позитивный при раке желудка.

4.3.8. Характеристика клеточного состава плевральной жидкости у больных неходжкинскими лимфомами при иммуноцитохимическом исследовании

Клеточный состав плевральной жидкости с использованием иммуноцитохимических исследований изучен у 16 пациентов с крупноклеточной неходжкинской лимфомой и 7 больных с мелкоклеточной. Наши данные по использованию иммуноцитохимических реакций с эпителиальным антигеном (клон Ber-EP4) и с группой антител CD3, CD8, CD20 и CD79 позволяют определить принадлежность лимфомы к В- или Т-клеточной и исключить опухолевое эпителиальное поражение плевры. По данным дискриминантного анализа доли правильной классификации больных при В- или Т-клеточных неходжкинских лимфомах в плевраль-

ной жидкости с использованием иммуноцитохимических реакций составляют 93,8%, что позволяет рекомендовать указанные антитела в дифференциальной диагностике лимфом и эпителиальных злокачественных поражений плевры.

4.3.9. Характеристика клеточного состава эпителиоидно-клеточной меланомы при иммуноцитохимическом исследовании плевральной жидкости

При использовании иммуноцитохимических реакций клетки метастазов эпителиоидно-клеточной меланомы в плевру у 2 больных с редкой формой метастазирования были позитивны на CK7 (3+), хромогранин (2+) и нейронспецифическую энолазу (2+). Проведённое исследование по изучению клеточного состава плевральной жидкости позволяет рекомендовать указанные антитела для иммуноцитохимических исследований при подозрении на эпителиоидно-клеточную меланому.

4.3.10. Эффективность использования иммуноцитохимических исследований при диагностике различных заболеваний с развитием плеврита

Полученные результаты исследования позволили нам сопоставить возможности световой микроскопии как метода цитологической диагностики и иммуноцитохимических исследований при дифференциальной диагностике заболеваний в плевральной полости (табл. 6).

Таблица 6

Сравнительные данные результатов использования цитологических методов исследования плевральной жидкости

Характер патологического процесса в плевральной полости	Доли точной цитологической диагностики от числа наблюдений (по результатам дискриминантного анализа), %	
	световая микроскопия	иммуноцитохимический метод
Реактивный плеврит	50,0	99,9
Паранеопластический плеврит	55,0	99,9
Эпителиоидная мезотелиома	54,0	96,2
Аденогенный рак лёгкого	38,0	86,4
Плоскоклеточный рак лёгкого	86,1	99,2
Мелкоклеточный рак лёгкого	79,9	87,7
Рак молочной железы	91,9	98,8
Серозная аденокарцинома яичника	70,3	85,6
Аденокарцинома желудка	28,1	83,7
Аденокарцинома кишечника	37,5	85,4
Светлоклеточный рак почки	90,0	Не увеличил точность диагностики
Ацинарный рак предстательной железы	42,6	Не увеличил точность диагностики
Неходжкинская лимфома: крупно- и мелкоклеточная	7,9	93,8
Эпителиоидно-клеточная меланوما	78,8	87,4
Мезенхимальная саркома	53,4	Опухолевых клеток для исследования недостаточно
Всего	57,6 ± 23,94	92,3 ± 6,69

Как следует из данных таблицы 6, использование иммуноцитохимических исследований при изучении клеточного состава плевральной жидкости увеличивает возможность оценки морфологического типа опухоли и локализации ее первичного очага с $57,6 \pm 23,94$ при световой микроскопии до $92,3 \pm 6,69\%$ при иммуноцитохимическом исследовании.

Подводя итоги иммуноцитохимического исследования плевральной жидкости при метастатическом поражении плевры опухолевым процессом различной локализации, отметим, что процедура правильной классификации цитологических данных возможна в группе больных реактивным и паранеопластическим плевритами, эпителиоидной мезотелиомой, раком лёгкого, молочной железы, яичника, желудка, кишечника, при неходжкинских лимфомах и эпителиоидно-клеточной меланоме. В тех случаях, когда диагностируется ССЖПП у больных со светлоклеточным почечно-клеточным раком и ацинарным раком предстательной железы, диагностическая ценность иммуноцитохимического метода недостаточно высока.

Полученные результаты исследования позволяют составить иммуноцитохимический алгоритм оценки локализации первичного очага злокачественной опухоли (рис. 6).



Рис. 6. Иммуноцитохимический алгоритм обследования больных без установленного первичного очага злокачественной опухоли

* только в сочетании с клиническими и клинико-инструментальными данными

Таким образом, проведённое исследование позволило установить значение иммуноцитохимических исследований в диагностике поражений плевры с развитием плеврального выпота при метастатических ее поражениях и первичных опухолях. Использование иммуноцитохимических методов позволяет значительно повысить точность диагностики патологического процесса в плевре у онкологических больных, оптимизировать подходы к дифференцированной терапии патологического процесса.

ВЫВОДЫ

1. Клеточный состав плевральной жидкости при неопухолевых плевритах описывается тремя основными типами: мезотелиально-лимфоцитарным, гранулоцитарно-клеточным и макрофагальным. Для дифференциальной диагностики с применением цитологических методик имеет значение только абсолютное число лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов и процентное содержание клеток мезотелия, лимфоцитов и других клеток (плазматических, тучных, многоядерных) в плевральной жидкости. Дифференциальная диагностика клеточного состава при паранеопластических и реактивных плевритах по данным световой микроскопии недостоверна, однако с учётом преобладающего типа клеточного состава можно с вероятностью 99,9% утверждать (или исключать) развитие парапневмонического, туберкулёзного плевритов и плеврального выпота при сердечной недостаточности.

2. Световая микроскопия позволяет установить цитологический диагноз по клеточному составу плевральной жидкости только при плоскоклеточном и мелкоклеточном раке лёгкого, протоковом раке молочной железы, светлоклеточном почечно-клеточном раке, а также лимфоме Ходжкина, плазмоцитоме. Клеточный состав плевральной жидкости при других формах онкологических заболеваний при цитологической диагностике малоинформативен при использовании световой микроскопии.

3. Применение цитохимических методик увеличивает точность цитологического метода световой микроскопии на 2,7% и показано лишь для дифференцирования перстневидных клеток в плевральной жидкости.

4. Диагностическая информативность иммуноцитохимических методов в 92–99% случаев превышает информативность данных световой микроскопии и цитохимических методов исследований. Информативность цитологического метода исследования плевральной жидкости, несмотря на менее значимую дифференциально-диагностическую ценность, не теряет своей роли и рекомендуется как обязательное исследование на первоначальном этапе проведения диагностического цитологического поиска.

5. Для дифференциальной иммуноцитохимической диагностики неопухолевых плевритов рекомендуется использование мезотелина и эпителиального антигена (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4), что позволяет исключить карциноматоз в плевре у больных с реактивными и паранеопластическими плевритами.

6. Панель иммуноцитохимических маркёров для дифференциальной диагностики клеточного состава плевральной жидкости должна состоять из мезотелиальных, эпителиальных, тканеспецифичных, лимфоидных и транскрипционных факторов (калретинин, мезотелин, тромбомодулин, маммаглобин, эпителиальный антиген, цитокератины 5/6, 7, 18, 20, эпителиальный мембранный антиген, карциноэмбриональные моно- и поликлональные антигены, виментин, CD15, CD45, TTF-1, WT1, CDX2), позволяющих отличить клетки мезотелия и гистиоциты-макрофаги от клеток метастазирующей опухоли и клеток злокачественной мезотелиомы.

7. Диагностический алгоритм исследования у больных с синдромом скопления жидкости в плевральной полости должен состоять из двух этапов. На первом этапе плевральная жидкость исследуется с помощью световой микроскопии для оценки цитологических типов клеточного состава и выявления клеток, подозрительных на опухолевые. На втором этапе проводится пробоподготовка методом жидкостной цитологии, и с учётом клинических и инструментальных данных, результатов световой микроскопии осуществляется подбор необходимого количества иммуноцитохимических антител. Оценка данных иммуноцитохимического исследования проводится на основе степени окрашивания органелл клетки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пробоподготовка методом жидкостной цитологии плевральной жидкости позволяет улучшить качество иммуноцитохимического исследования.

2. При использовании цитоцентрифуги на этапе пробоподготовки необходимо использовать для мелких клеток режим работы с ускорением 3000 об./мин в течение 10 мин; при среднем размере клеток – 1500 об./мин в течение 4 мин; для крупных опухолевых клеток – 1000 об./мин в течение 3 мин.

3. Применение решающего правила дискриминантного анализа на основе данных световой микроскопии состава плевральной жидкости при неопухолевых плевритах определяет клеточный тип и характер патологического процесса.

4. При формулировке цитологического заключения у больных с неопухолевыми плевритами нами рекомендовано установление клеточных типов состава плевральной жидкости (мезотелиально-лимфоцитарный, гранулоцитарно-клеточный и макрофагальный), что позволяет обосновать цитологический диагноз.

5. В практической работе врача-цитолога требуется использование диагностического двухэтапного алгоритма исследования плевральной жидкости: на первом этапе плевральная жидкость исследуется с помощью световой микроскопии для оценки цитологических типов клеточного состава и выявления опухолевых клеток; на втором этапе проводятся пробоподготовка методом жидкостной цитологии и иммуноцитохимические исследования с набором необходимого количества антител.

6. Подбор набора необходимого количества иммуноцитохимических антител осуществляется дифференцированно с учётом данных клинико-инструментального обследования и световой микроскопии.

7. Для дифференциальной иммуноцитохимической диагностики реактивного и паранеопластического плевритов используются мезотелин и эпителиальный антиген.

8. Дифференциальная иммуноцитохимическая диагностика опухолевых плевритов проводится с применением мезотелиальных, эпителиальных, тканеспецифических, лимфоидных антител и транскрипционных факторов (калретинин, мезотелин, тромбомодулин, маммаглобин, эпителиальный антиген, цитокератины 5/6, 7, 18, 20, эпителиальный мембранный антиген, карциноэмбриональные моно- и поликлональные антигены, виментин, CD15, CD45, TTF-1, WT1, CDX2).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Музалевский, П.Н. Взаимосвязь модифицирующих факторов с заболеваемостью мезотелиомой сельского населения (на примере Алтайского края) / П.Н. Музалевский, Я.Н. Шойхет, А.Ф. Лазарев, О.Г. Григорук // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – №3. – С. 167–172.

2. Григорук, О.Г. Метастазы рака почки в плевре / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.С. Дорошенко // Урология. – 2007. – №2. – С. 42–44.

3. Григорук, О.Г. Диагностическая ценность цитологического метода при исследовании клеточного состава плевральной жидкости / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, Л.М. Базулина // Пульмонология. – 2007. – №3. – С. 66–71.

4. Музалевский, П.Н. Мезотелиома: распространенность и модифицирующие факторы (литературный обзор) / П.Н. Музалевский, Я.Н. Шойхет, А.Ф. Лазарев, О.Г. Григорук // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – №2 (22). – С. 77–83.

5. Григорук, О.Г. Пункционная биопсия в диагностике онкологических заболеваний женских половых органов / О.Г. Григорук, Р.П. Беляева, Л.М. Базулина, Л.Н. Добровольская, В.Н. Сёмина, Т.А. Максименко, А.Ф. Лазарев // Акушерство и гинекология. – 2007. – №4. – С. 51–53.

6. Григорук, О.Г. Дифференциальная диагностика злокачественных новообразований по клеточному составу плевральной жидкости / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, Л.М. Базулина // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2007. – Т. 18, №4. – С. 37–42.

7. Григорук, О.Г. Использование иммуноцитохимических исследований при изучении экссудатов из серозных полостей в практической работе лаборатории / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – №1. – С. 20–36.

8. Григорук, О.Г. Злокачественная мезотелиома плевры: возможности использования иммуноцитохимических методик / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, В.С. Дорошенко, А.Ф. Лазарев // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – Т. 25, №1. – С. 51–54.

9. Григорук, О.Г. Диагностика злокачественной мезотелиомы плевры с использованием иммуноцитохимических методов / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, Л.М. Базулина // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2008. – Т. 19, №1. – С. 29–34.

10. Григорук, О.Г. Цитологическое исследование плевральной жидкости в диагностике лимфом / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев, Л.М. Базулина, В.С. Дорошенко // Российский онкологический журнал. – 2008. – №5. – С. 30–33.

11. Григорук, О.Г. Особенности карциноматозных плевритов при раке молочной железы с использованием цитологического метода диагностики / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, Л.Н. Добровольская, Т.А. Максименко, М.Н. Чечулин, А.Ф. Лазарев // Опухоли женской репродуктивной системы. Маммология / Онкогинекология. – 2008. – №4. – С. 18–22.

12. Григорук, О.Г. Карциноматозный плеврит у женщин при злокачественных опухолях репродуктивной системы: возможности цитологического метода диагностики / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев, М.Н. Чечулин // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – №4. – С. 22–29.

13. Григорук, О.Г. Цитологические методы диагностики плевритов / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, №1. – С. 73–78.

14. Григорук, О.Г. Особенности карциноматозных плевритов при раке молочной железы (цитологический метод диагностики) / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, Л.Н. Добровольская, Т.А. Максименко, М.Н. Чечулин, А.Ф. Лазарев // Опухоли женской репродуктивной системы. Маммология / Онкогинекология. – 2010. – №1. – С. 11–14.

15. Григорук, О.Г. Особенности диагностики метастаза серозного рака яичника в асцитической и плевральной жидкости с использованием иммуноцитохимического метода / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырёв, Л.М. Базулина, Т.А. Максименко, А.Ф. Лазарев // Российский онкологический журнал. – 2013. – №1. – С. 4–9.

16. Лазарев, А.Ф. Мезотелиома плевры: этиология, заболеваемость, диагностика, лечение, выживаемость / А.Ф. Лазарев, О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, П.Н. Музалевский, В.Ю. Кравцов // Российский онкологический журнал. – 2013. – №5. – С. 15–20.

17. Григорук, О.Г. Особенности использования иммуноцитохимической реакции на цитокератины при дифференциальной диагностике опухолевых и неопухолевых плевритов и асцитов / О.Г. Григорук, В.Ю. Кравцов, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев // Российский онкологический журнал. – 2013. – №6. – С. 16–20.

18. Григорук, О.Г. Диагностика метастазов перстневидно-клеточного рака желудка в плевральной и асцитической жидкости с использованием цитологического метода / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, Е.С. Сигитова, Т.А. Москвина, А.С. Степанова, Л.В. Маликова, С.Н. Лопатин, С.В. Дударенко, А.Ф. Лазарев // Российский онкологический журнал. – 2014. – №1. – С. 40–44.

19. Григорук, О.Г. Дифференциальная цитологическая диагностика плевральной жидкости при плевритах различной этиологии / О.Г. Григорук, С.В. Дударенко, Л.М. Базулина, В.Н. Эллиниди, А.Ф. Лазарев // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2014. – Т. 45, №1. – С. 99–104.

Монография:

20. Григорук, О.Г. Дифференциальная цитологическая диагностика плевритов / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырёв. – Барнаул : ОАО «ИПП «Алтай», 2012. – 258 с.

Публикации материалов в журналах и сборниках научных конференций:

21. Григорук, О.Г. Мезотелиома плевры / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, Т.С. Фролова, В.С. Дорошенко, П.Н. Музалевский // Проблемы клинической медицины. – 2005. – №1. – С. 68–73.

22. Григорук, О.Г. Дифференциальная диагностика злокачественной мезотелиомы и метастатических новообразований плевры / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, Т.С. Фролова, В.С. Дорошенко, Л.М. Базулина, П.Н. Музалевский, Н.М. Полякова // IX Российский онкологический конгресс, 22–24 ноября : материалы конгресса. – М., 2005. – С. 168.
23. Григорук, О.Г. Дифференциальная диагностика заболеваний плевры на клеточном уровне / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев, Л.М. Базулина // Материалы IV съезда онкологов и радиологов СНГ. – Баку, 2006. – С. 127–129.
24. Григорук, О.Г. Комплексный подход в диагностике мезотелиомы плевры на цитологическом материале / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // X Российский онкологический конгресс : материалы конгресса. – М., 2006. – С. 203.
25. Григорук О.Г. Возможности пункционного метода цитологической диагностики при злокачественных опухолях яичников / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, Л.Н. Добровольская, Т.С. Фролова, В.Н. Сёмина, Т.А. Москвина, А.А. Красилова, Т.А. Максименко, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Проблемы клинической медицины. – 2007. – №2 (10). – С. 81–85.
26. Григорук, О.Г. Возможности пункционной цитологической диагностики при опухолях гениталий / О.Г. Григорук, Р.П. Беляева, Л.Н. Добровольская, В.Н. Сёмина, Т.А. Москвина, Л.М. Базулина, А.А. Красилова, Т.А. Максименко, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Новости клинической цитологии России. – 2007. – Т. 11, № 1–2. – С. 6–9.
27. Григорук, О.Г. Цитологическая диагностика мезотелиомы плевры с использованием иммуноцитохимического метода / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, Л.М. Базулина // Новости клинической цитологии России. – 2007. – Т. 11, №3–4. – С. 26–29.
28. Григорук, О.Г. Метастатические поражения плевры неэпителиальными опухолями: возможности цитологической диагностики / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Новости клинической цитологии России. – 2007. – Т. 11, №3–4. – С. 57–58.
29. Григорук, О.Г. Диагностическая ценность использования цитологического метода при исследовании характера патологии плевры / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев // XI Российский онкологический конгресс : материалы конгресса. – М., 2007. – С. 189.
30. Григорук, О.Г. Цито-гистологические параллели в диагностике мезотелиомы плевры / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, В.С. Дорошенко, П.Н. Музалевский, Л.М. Базулина // Материалы V съезда онкологов и радиологов СНГ, 14–16 мая. – Ташкент, 2008. – С. 73–74.
31. Лазарев, А.Ф. Этапы использования современных цитологических методов в диагностике плевритов / А.Ф. Лазарев, О.Г. Григорук, Л.М. Базулина // Проблемы клинической медицины. – 2008. – №2 (14). – С. 20–24.
32. Григорук О.Г. Карциноматозный плеврит при раке молочной железы: особенности цитологической диагностики / О.Г. Григорук, Л.Н. Добровольская, А.Ф. Лазарев // Материалы Российской научно-практической конференции «Современные аспекты диагностики и лечения рака молочной железы». Сибирский онкологический журнал. Приложение №2. – Томск, 2008. – С. 40–41.
33. Григорук, О.Г. Карциноматозный плеврит при раке яичника: возможности цитологического метода диагностики / О.Г. Григорук, М.Н. Чечулин, А.Ф. Лазарев,

В.Н. Богатырев // XII Российский онкологический конгресс : материалы конгресса. – М., 2008. – С. 197.

34. Григорук, О.Г. Использование иммуноцитохимического метода диагностики в онкологической практике / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Вопросы онкологии : тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. – СПб., 2009. – Т. 55, №2 (Приложение). – С. 15.

35. Григорук, О.Г. Карциноматозные плевриты при раке молочной железы по данным цитологического исследования / О.Г. Григорук, В.Н. Богатырев, А.Ф. Лазарев, Л.М. Базулина // Материалы VI Международной ежегодной конференции «Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы», «Белые Ночи Санкт-Петербурга». – СПб., 2009. – С. 95–96.

36. Григорук, О.Г. Эффективность использования новых методик в сравнении с традиционными цитологическими методами на примере диагностики плевритов / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Новости клинической цитологии России : мат. VIII Всеросс. съезда цитологов. – 2009. – Т. 13, №3–4. – С. 67.

37. Григорук, О.Г. Возможности цитологической диагностики опухолевых плевритов у больных без первично выявленного очага / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев, Л.М. Базулина // Материалы VI съезда онкологов и радиологов СНГ, 1–4 октября. – Душанбе, 2010. – С. 308.

38. Григорук, О.Г. Диагностика первичных и метастатических опухолей плевры с использованием иммуноцитохимического метода / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Материалы XIV онкологического конгресса. – М., 2010. – С. 274–275.

39. Григорук, О.Г. Использование иммуноцитохимической реакции на цитокератины (ЦК) при диагностике опухолевых плевритов без первично выявленного очага / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Материалы XV онкологического конгресса. – М., 2011. – С. 147–148.

40. Григорук, О.Г. Иммуноцитохимический метод при дифференциальной диагностике опухолевых плевритов без первично выявленного очага / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Новости клинической цитологии России. – 2011. – Т. 15, №1–2. – С. 47–48.

41. Григорук, О.Г. Диагностика серозного рака яичников по метастазу в брюшную и плевральную полость с использованием иммуноцитохимического метода диагностики / О.Г. Григорук, Т.А. Максименко, А.А. Красилова, А.Ф. Лазарев // VII съезд онкологов и радиологов СНГ. – Астана, 2012. – С. 46–47.

42. Лазарев, А.Ф. Диагностика редко метастазирующих эпителиальных опухолей в плевру с использованием цитологического метода / А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев, О.Г. Григорук // VII съезд онкологов и радиологов СНГ. – Астана, 2012. – С. 50.

43. Григорук, О.Г. Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика злокачественных опухолей яичника / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, В.Н. Богатырев // Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология. – 2012. – №4. – С. 42–49.

44. Григорук, О.Г. Использование дополнительных цитологических методик при диагностике перстневидно-клеточного рака желудка в асцитической и плевральной жидкости / О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, Е.С. Сигитова, Т.А. Москвина, А.С. Степанова, Л.В. Маликова, С.Н. Лопатин, С.В. Дударенко, А.Ф. Лазарев // Новости клинической цитологии России. – 2013. – Т. 17, №3–4. – С. 42–43.

45. Григорук, О.Г. Цитологическая диагностика эпителиоидной мезотелиомы плевры с использованием иммуноцитохимического метода / О.Г. Григорук, С.В. Дударенко,

А.Ф. Лазарев // Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16–18 сентября 2014 г. Евразийский онкологический журнал. – 2014. – №3 (03). — С. 454.

46. Григорук, О.Г. Дифференциальная цитологическая диагностика плевральной жидкости при плевритах различной этиологии / О.Г. Григорук, С.В. Дударенко, В.Н. Эллиниди, Л.М. Базулина, А.Ф. Лазарев // Новости клинической цитологии России : расширенный пленум Центрального исполнительного совета Ассоциации клинических цитологов России. – 2014. – Т. 18, №1–2. – С. 37–38.

47. Григорук, О.Г. Особенности оценки клеточного состава при паранеопластических плевритах с использованием иммуноцитохимического метода диагностики / О.Г. Григорук, А.Ф. Лазарев, С.В. Дударенко, Л.М. Базулина, Е.С. Сигитова, Т.А. Москвина, А.С. Степанова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – №9. – С. 6–7.

48. Григорук О.Г. Значение иммуноцитохимического метода при диагностике первичных и метастатических опухолей в плевральной жидкости / О.Г. Григорук, С.В. Дударенко, А.Ф. Лазарев // Злокачественные опухоли : материалы XVIII Российского онкологического конгресса. – М., 2014. – №3. – С. 219–220.

49. Григорук, О.Г. Синдром скопления жидкости в плевральной полости у больных при реактивных и паранеопластических плевритах. Особенности цитологической диагностики / О.Г. Григорук, С.В. Дударенко, А.Ф. Лазарев // Материалы Международного научного форума «Многопрофильная клиника XXI века. Экстремальная медицина». – СПб., 2015. – С. 85–86.

50. Grigoruk, O.G. Cytological characteristics of pleura pathology / O.G. Grigoruk, V.N. Bogatyrev, A.F. Lazarev, L.M. Bazulina, S.A. Terechova // Acta Cytologica. 16th International Congress of Cytology, May 13–17 2007. – Canada, 2007. – V. 51, №2 (Supplement). – P. 119.

51. Bazulina, L.M. Cytological diagnostics of ovarian carcinoma using immunocytochemistry / L.M. Bazulina, O.G. Grigoruk, D.G. Lazareva, A.F. Lazarev // ECCO 14th European Cancer Conference. European Journal of Cancer Supplements. – Barselona, 2007. – Vol. 5. №4. – P. 318.

52. Grigoruk, O.G. Malignant mesothelioma of pleura: potentialities of immunocytochemistry / O.G. Grigoruk, L.M. Bazulina, V.S. Doroshenko, A.F. Lazarev // ECCO 14 the European Cancer Conference. European Journal of Cancer Supplements. – Barselona, 2007. – Vol. 5. №4. – P. 369.

53. Grigoruk, O.G. Differential diagnostics of tumours based on cell compositions of pleural effusion / O.G. Grigoruk, V.N. Bogatyrev, A.F. Lazarev, L.M. Bazulina // XXXIII European Congress of Cytology. – Madrid, M. Santamaria, 2007. – Poster 65. – P. 39.

54. Grigoruk, O.G. Diagnostic value of Cytological Method in Research of Pleura Pathology / O.G. Grigoruk, V.N. Bogatyrev, A.F. Lazarev, L.M. Bazulina // Journal of Cytopathology : 34th European Congress of Cytology, Rovaniemi, Finland, poster 108. – 2008. – 19 (Suppl. 1), 1–101. – P. 55.

55. Grigoruk, O.G. Cytological and Histological Parallels in Diagnostics of Pleural Mesothelioma / O.G. Grigoruk, V.N. Bogatyrev, A.F. Lazarev, L.M. Bazulina // Journal of Cytopathology : 34th European Congress of Cytology, Rovaniemi, Finland, poster 145. – 2008, 19 (Suppl. 1), 1–101. – P. 67.

Подписано к печати 07.08.2015.
Формат 60*84/16. Объем 2,0 п.л. Тираж 100 экз.

Типография Алтайского государственного университета:
656049, Барнаул, ул. Димитрова, 66