

На правах рукописи

БУТЕНКО ГАЛИНА РОМАНОВНА

**СОВРЕМЕННАЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Стилиди Иван Сократович).

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук

Савостикова Марина Владимировна

Официальные оппоненты:

Аллахвердиев Ариф Керим оглы, доктор медицинских наук, заведующий отделом торакоабдоминальной хирургии государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы»

Волченко Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом онкоморфологии Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена — филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «10» сентября 2020 года в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д 001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте www.ronc.ru.

Автореферат разослан «.....» 2020 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Эпителиальные опухоли вилочковой железы – самые частые новообразования (47%) переднего средостения у взрослых (Detterbeck F.C. et al, 2013; Travis W.D. et al, 2015).

Тимомы считаются редкими опухолями, заболеваемость в мире составляет от 2,2 до 3,2 на миллион населения в год (Huang J. et al, 2010, Den Bakker M.A. et al, 2014, Travis W.D. et al, 2015). Фактическая заболеваемость может быть выше, поскольку тимомы без инвазии расценивались как доброкачественные опухоли и могли не учитываться в канцеррегистрах (Engels E.A. et al, 2010). Тимомы включают в себя группу злокачественных органоспецифичных опухолей, которые в зависимости от морфологического строения подразделяются на основные типы A, AB, B1, B2, B3 и редкие формы (WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, Travis W.D. et al eds, 2015). Тимомы, как правило, имеют низкий или умеренный потенциал злокачественности, склонны к местному распространению и редко метастазируют. Рак вилочковой железы характеризуется быстрым ростом, прорастанием в окружающие органы средостения, ранним появлением имплантационных, лимфогенных и гематогенных метастазов (Weissferdt A. et al, 2012; Weksler B. et al, 2013). Нейроэндокринные опухоли вилочковой железы более агрессивны, чем их аналоги в легких и других органах. Прогноз неблагоприятный из-за склонности к местным рецидивам и отдаленному метастазированию (Girard N., 2017). По данным Европейского общества торакальных хирургов (ESTS) среди эпителиальных опухолей тимуса отмечается рост заболеваемости карциномами вилочковой железы с 9% до 28%, нейроэндокринными опухолями – с 2% до 15% (Ruffini E. et al, 2019).

Для морфологической верификации опухолей вилочковой железы в дооперационном периоде приоритетное значение имеют малоинвазивные методы диагностики. Тонкоигольная аспирационная биопсия под контролем компьютерной томографии или ультразвука позволяет быстро и наименее травматично получить материал для цитологического исследования. Однако выраженная вариабельность морфологического строения тимом, сходство их микроскопических признаков с другими новообразованиями средостения (лимфомами, мезенхимальными, герминогенными, нейроэндокринными опухолями) нередко вызывают затруднения при интерпретации материала и приводит к ошибочной диагностике этих новообразований (Assaad, M.W. et al, 2007; Wakely P.E., 2008; Ali, S. Z. et al, 2012).

Степень разработанности темы

Цитологический метод для диагностики опухолей вилочковой железы не используется в полной мере в сравнении с новообразованиями других локализаций. Это связано со слабой изученностью темы и, соответственно, недостаточным опытом цитопатологов в диагностике данных редких опухолей (Wakely P.E., 2008; Zakowski M.F. et al, 2010). Возможности

цитологической диагностики опухолей вилочковой железы в соответствии с классификацией ВОЗ рассматриваются лишь в немногих работах зарубежных авторов (Wakely P.E., 2008; Ali, S.Z. et al, 2012; Ryu H.S. et al, 2012). В отечественной цитологии опухоли вилочковой железы изучались более 40 лет назад (Никитина Н.И. и соавт., 1975). В тот период времени к тимомам относили разные по гистогенезу опухоли, развивающиеся в вилочковой железе. Не проводились исследования по иммуноцитохимической диагностике тимом. В работах зарубежных цитопатологов некоторые иммунофенотипические характеристики тимом представлены на гистологических препаратах (Alexiev B.A. et al, 2007; Ali S.Z. et al, 2012).

Таким образом, не решены следующие вопросы цитологической диагностики опухолей вилочковой железы:

- не изучены цитологические признаки разных морфологических типов тимом и возможности их цитологической диагностики в соответствии с современной международной классификацией (2015 г.);
- не определены критерии дифференциальной цитологической диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы с другими новообразованиями переднего средостения;
- не изучены возможности использования иммуноцитохимического метода в уточнении диагноза данных опухолей;
- цитологическая диагностика опухолей вилочковой железы не освещена в отечественной литературе.

Цель исследования

Улучшить морфологическую диагностику эпителиальных опухолей вилочковой железы путем разработки цитоморфологических и иммуноцитохимических критериев.

Задачи исследования

1. Разработать цитоморфологические критерии тимом типов А, АВ, В1, В2, В3.
2. Изучить иммунофенотипические особенности эпителиальных опухолей вилочковой железы.
3. Изучить цитологические характеристики нейроэндокринных опухолей и плоскоклеточного рака вилочковой железы.
4. Определить цитоморфологические и иммуноцитохимические критерии дифференциальной диагностики тимом с морфологически сходными новообразованиями переднего средостения.

Методы и методология исследования

Проведен анализ проспективного материала 152 пациентов с новообразованиями переднего средостения, обследованных и леченных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им.

Н.Н.Блохина» Минздрава России в период 2003-2018 гг. В исследование включены 78 больных с эпителиальными опухолями вилочковой железы, среди которых было 67 тимом, 6 карцином, 5 нейроэндокринных опухолей. Для разработки критериев дифференциальной диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы изучены клинические и морфологические данные 74 новообразований переднего средостения (лимфомы, герминогенные опухоли, бронхогенные и перикардальные кисты, метастатические опухоли). Проведены цитологические исследования материала тонкоигольной аспирационной биопсии, а также приготовлены и изучены отпечатки с опухоли при операционном исследовании материала. С целью определения дополнительных критериев дифференциальной диагностики выполнены иммуноцитохимические исследования 43 новообразований средостения.

Результаты цитологической диагностики оценивали по общепринятым стандартизованным тестам оценки метода: чувствительность, специфичность, точность, прогностическая ценность положительного результата, прогностическая ценность отрицательного результата. Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel, Statistica for Windows v.10 Ru.

Научная новизна

В работе определены и систематизированы цитоморфологические признаки тимом типов А, АВ, В1, В2, В3 в соответствии с ВОЗ классификацией опухолей вилочковой железы (2015).

Предложен оптимальный набор антител для иммуноцитохимической диагностики тимом.

Определены цитоморфологические и иммуноцитохимические критерии дифференциальной диагностики тимом с морфологически сходными новообразованиями переднего средостения, основными из которых являются двухкомпонентность опухоли, наличие незрелых Т-лимфоцитов (TdT+, CD99+, CD1a+), эпителиальных клеток CD20+ в тимомах А и АВ, иммунофенотипом AE1/AE3+, CK19+, p63+, CD5-, CD117- в тимомах типов В.

В целом результаты работы расширяют возможности цитологической диагностики опухолей вилочковой железы и открывают перспективы для дальнейшего поиска, направленного на повышение качества морфологической диагностики новообразований средостения.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты исследования могут быть использованы в практическом здравоохранении при изучении материала пункционной биопсии и проведении операционного цитологического исследования опухолей вилочковой железы. Внедрение в цитологическую практику разработанных в настоящей работе диагностических критериев эпителиальных опухолей

вилочковой железы улучшит результаты цитологической диагностики данных опухолей в онкологических учреждениях. Морфологическая верификация новообразований вилочковой железы в амбулаторных условиях будет способствовать сокращению сроков обследования больного и планированию адекватной лечебной тактики.

Полученные в работе данные могут быть использованы для теоретической и практической подготовки специалистов по цитологической диагностике, а также при составлении учебных пособий.

Личный вклад

Автор лично провела анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, принимала непосредственное участие в постановке целей, задач и разработке плана исследования. Автором осуществлен набор материала, выполнены цитологические и иммуноцитохимические исследования, фотодокументирование микроскопических картин. Автором проведен анализ и обобщение полученных данных, подготовлены публикации, полностью отражающие все полученные результаты исследования. Доклады по теме диссертационной работы были представлены лично автором на всероссийских и международных научных конференциях.

Соответствие паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.01.12 – Онкология («медицинские науки»), области исследований п.3 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики».

Положения, выносимые на защиту

1. На основании проведенных исследований установлены характерные цитологические признаки тимом типов А, АВ, В1, В2, В3, что позволило повысить чувствительность, специфичность, точность метода цитологической диагностики.
2. При цитологической диагностике тимом рекомендуется иммуноцитохимическое исследование для верификации эпителиального и лимфоцитарного компонентов.
3. Цитологическая диагностика эпителиальных опухолей вилочковой железы, основанная на характерных цитоморфологических и иммуноцитохимических признаках, позволяет дифференцировать их с морфологически сходными новообразованиями переднего средостения: лимфомами, мезенхимальными, нейроэндокринными, герминогенными, метастатическими опухолями.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в работе цитологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, лаборатории онкоцитологии центра патоморфологии и молекулярно-генетической диагностики ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД

Президента России, в учебном процессе Ассоциации клинических цитологов России, Российского общества онкопатологов. Основные положения диссертации доложены на следующих конференциях: V, VI, XII съезды Ассоциации клинических цитологов России (2003, 2005, 2017 гг.), 29-й Европейский конгресс цитологии (2003 г.), Пленум Ассоциации клинических цитологов России (2008 г.), III Конгресс Российского общества онкопатологов (2018 г.).

Апробация

Апробация диссертации состоялась 20 сентября 2019 года на совместной научной конференции лабораторий и отделений НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, кафедры онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Публикации

Материалы диссертационных исследований изложены в 8 научных статьях, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 129 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список цитируемой литературы, включающий ссылки на 10 отечественных и 110 зарубежных источников, содержит 123 рисунка и 16 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Материалом данного исследования послужил анализ проспективного материала 152 пациентов с новообразованиями переднего средостения, обследованных и леченных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период 2003-2018 гг.

В исследование включены 78 больных с эпителиальными опухолями вилочковой железы: 67 пациентов с тимоматами (тип А - 9, тип АВ - 23, тип В1 - 14, тип В2 - 11, тип В3 - 10), 6 - с карциномами; 5 - с нейроэндокринными опухолями (НЭО). Возраст пациентов колебался от 48 до 76 лет (средний возраст $59,5 \pm 14$ лет). Соотношение мужчин и женщин составило 1:1,6. Выполнено 604 цитологических исследования: 320 исследований материала тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ), 284 исследования отпечатков с опухолей.

Данные о распределении пациентов и цитологических исследований по гистологическому типу эпителиальных опухолей вилочковой железы представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов и цитологических исследований по гистологическому типу эпителиальных опухолей вилочковой железы

Гистологический тип опухоли	Число пациентов		Число цитологических исследований	
	абс.	%	Тонкоигольная аспирационная биопсия	Отпечатки с операционного материала
Тимома тип А	9	11,54	41	43
Тимома тип АВ	23	29,49	85	74
Тимома тип В1	14	17,95	62	48
Тимома тип В2	11	14,10	46	34
Тимома тип В3	10	12,82	37	38
Рак	6	7,69	26	19
НЭО	5	6,41	23	28
Итого	78	100,00	320	284

Для разработки критериев дифференциальной диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы с морфологически сходными новообразованиями изучены клинические и морфологические данные 74 пациентов с образованиями переднего средостения: лимфомы (19), герминогенные опухоли (9), солитарная фиброзная опухоль (5), кисты (8), гиперплазия лимфоузлов (7), метастатические опухоли (26). Распределение пациентов и цитологических исследований по гистологическому типу новообразований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение пациентов и цитологических исследований по гистологическому типу новообразований переднего средостения

Гистологический тип новообразования	Число больных	Число цитологических исследований
Лимфомы	19	62
Герминогенные опухоли:	9	41
<i>семинома</i>	3	11
<i>зрелая тератома</i>	6	30
Солитарная фиброзная опухоль	5	26
Бронхогенные и перикардальные кисты	8	37
Гиперплазия лимфоузлов	7	22
Метастатические опухоли:	26	84
<i>Аденокарцинома легкого</i>	6	20
<i>НЭО легкого</i>	5	17
<i>Мелкоклеточный рак легкого</i>	10	31
<i>Рак щитовидной железы</i>	3	10
<i>Рак молочной железы</i>	1	6
Итого	74	272

С целью определения дополнительных критериев дифференциальной диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы выполнены иммуноцитохимические (ИЦХ) исследования 43 новообразований средостения, среди которых были тимомы (18), рак вилочковой железы (2), лимфомы (8), НЭО (2), солитарная фиброзная опухоль (2), метастатические опухоли (11).

Всего выполнено 1152 исследования: ТАБ – 592, отпечатки и соскобы с опухоли – 284, ИЦХ исследования – 276.

Цитологический метод исследования. Цитологическое исследование материала ТАБ проведено у 152 больных, изучено 592 препарата. У 38 пациентов выполняли цитологическое исследование операционного материала: готовили мазки-отпечатки и соскобы с опухоли (284 препарата). У всех больных диагноз был верифицирован при гистологическом исследовании. Гистологическая структура опухоли определялась в соответствии с классификацией Всемирной Организации Здравоохранения (WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, 2015).

Цитологические препараты окрашивали по методу Паппенгейма раствором азура и эозина. Микроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа Leica DM 1000 при увеличении x100, x200, x400 и x1000 с использованием масляной иммерсии. На малых увеличениях (x100, x200) отмечали: качество полученного материала (адекватность, сохранность клеток), клеточность мазка (многоклеточный, отдельные скопления, изолированные клетки), фон препарата (элементы крови, воспаления, фиброза, межклеточное вещество), расположение клеток и наличие структур (пучки, розетки, разнонаправленные структуры и др.), форму клеток (вытянутая, веретенообразная, полигональная, округлая) и их размер (крупные, средние, мелкие), размер цитоплазмы (широкая, умеренная, узкая) и ее контуры (четкие, нечеткие). При увеличении x400 и x1000 оценивали детальные характеристики ядер, ядрышек, цитоплазмы, наличие полиморфизма и атипии клеток.

Иммуноцитохимический метод исследования. ИЦХ исследования проводили на дооперационном или интраоперационном материале, приготовленном стандартным методом (134 препарата) или методом жидкостной цитологии (142 препарата). Для приготовления препаратов по методу жидкостной цитологии материал помещали в микропробирку, содержащую 800 мкл специальной питательной среды. Препараты готовили с помощью цитоцентрифуги Cytospin-3 (Shandon, UK). Материал центрифугировали в режиме 1000 об/мин в течение 5 минут. Контроль качества проводили окрашиванием двух препаратов рутинным методом по Паппенгейму. При наличии в мазках достаточного материала (200-300 клеток) выполняли ИЦХ исследование на неокрашенных препаратах. Выбор антител в каждом случае проводили с учетом иммуногистохимических исследований и данных литературы (12, 26, 31,

91, 92, 100, 101, 110, 115).

В работе использованы антитела Cell Marque: CD1a (EP3622, 1:25-1:100), CD3 (MRQ-39, 1:100-1:500), CD5 (4C7, 1:10-1:50), CD8 (SP16, 1:100-1:500), TdT (EP266, 1:50-1:200), CD20 (L26, 1:100-1:500), CD34 (QBEnd/10, 1:50-1:200), CD117 (YR145, 1:100-1:500), CK5/6 (D5&16B4, 1:50-1:200), CK7 (OV-TL12/30, 1:100-1:500), CK19 (A53-B/A2.26, 1:100-1:500), Cytokeratin cocktail AE1&AE3 (AE1/AE3, 1:25-1:50), Synaptophysin (MRQ-40, 1:100-1:500), Chromogranin A (LK2H10, 1:100-1:500), TTF1 (8G7G3/1, 1:100-1:500), Thyroglobulin (2H11+6E1, 1:100-1:500); Calcitonin (SP17, 1:100-1:500), GATA3 (L50-823, 1:100-1:500); Dako: CD4 (4B12, готовый), CD8 (C8/144B, готовый), p63 (DAK-p63, 1:50), Estrogen receptor α (1D5, 1:35); Spring: CD99 (M4194, 1:200).

Для диагностики эпителиальных клеток тимом и карцином тимуса использовали антитела к белку p63, цитокератинам 19, 5/6, 7, AE1/AE3 (коктейль из антител широкого спектра действия: антитело AE1 реагирует с кислыми кератинами I типа 10, 14, 15, 16, 19; AE3 реагирует с основными кератинами II типа 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8), CD5 и CD117 (экспрессия в клетках карциномы тимуса). Для исследования лимфоцитов и степени их дифференцировки использовали антитела к CD3, CD4, CD8, CD5, CD99, CD1a, TdT, CD20. Для исследования веретенообразных клеток использовали антитела к CD20 (экспрессия в веретенообразных эпителиальных клетках тимомы A и AB), CD34, Vimentin (экспрессия в клетках солитарной фиброзной опухоли). Для определения нейроэндокринной дифференцировки использовали общие нейроэндокринные маркеры Chromogranin A, Synaptophysin. Для определения органопринадлежности метастатических опухолей использовали антитела к TTF1, Thyroglobulin, Calcitonin, Estrogen receptor α , GATA3, CK7, CK19, CK20.

ИЦХ исследования проводили с использованием иммуногистостейнера BenchMark ULTRA (Ventana Medical Systems). Применяли стандартный протокол проведения ИЦХ реакций. Для визуализации реакции антиген-антитело использовали стрептавидин-биотиновую тест-систему LSAB2 и EnVision (DAKO). Подсчет результатов реакции проводили в полях зрения, содержащих максимальное число положительно окрашенных клеток при увеличениях микроскопа $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Оценку ИЦХ реакции проводили полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-позитивных клеток. ИЦХ реакцию оценивали, как негативную (0) – при отсутствии реакции, слабopозитивную (1+) – при наличии менее 10% окрашенных клеток, умеренную (2+) – более 10% клеток средней интенсивности окраски и выраженную (3+) – более 50% интенсивно окрашенных клеток.

Методы статистического анализа результатов. Результаты цитологической диагностики оценивали по общепринятым стандартизованным тестам оценки метода: чувствительность (SN), специфичность (SPC), точность (ACC), прогностическая ценность

положительного результата (PPV), прогностическая ценность отрицательного результата (NPV). Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel, Statistica for Windows v.10 Ru.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цитоморфологическая и иммуноцитохимическая характеристика эпителиальных опухолей вилочковой железы

Тимома тип А диагностирована у 9 пациентов (11,5% от всех тимом). Возраст больных был от 53 до 78 лет (средний возраст $63,8 \pm 11,5$ лет). Проведено 84 цитологических исследования (ТАБ - 41, отпечатки и соскобы с опухоли - 43). В материале преобладали вытянутые и веретенообразные клетки (веретенноклеточный тип цитограммы), формирующие разнонаправленные структуры, пучки (Рисунок 1а). Ядра вытянутой и веретенообразной формы с мелкозернистым хроматином, мелким невыраженным ядрышком (Рисунок 1б). Для тимомы А характерно небольшое количество лимфоцитов с преобладанием зрелых форм, расположенных преимущественно в составе эпителиальных структур (Рисунок 1в). При ИЦХ исследовании в опухолевых клетках наблюдалась экспрессия цитокератинов AE1/AE3, CK19, p63. В веретенообразных эпителиальных клетках определялась экспрессия маркера CD20 (Рисунок 1г), что сочетается с данными литературы (М.А. den Bakker et al, 2014; Travis W.D. et al, 2015).

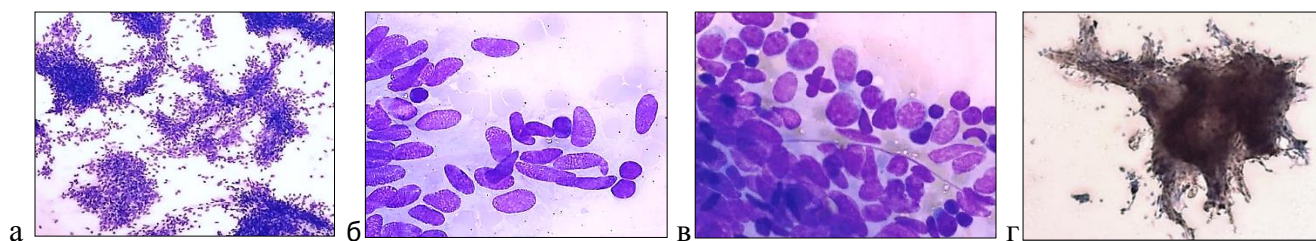


Рисунок 1 – Тимома тип А: а – разнонаправленные структуры из веретенообразных клеток ($\times 100$); б – опухолевые клетки с вытянутым ядром, мелкозернистым хроматином ($\times 100$), в – зрелые и незрелые лимфоциты в структуре опухолевых клеток ($\times 1000$); г – экспрессия CD20 в эпителиальных клетках ($\times 100$)

Тимома тип АВ встречалась наиболее часто, составила 29,5% (23 пациента). Возраст больных – от 48 до 76 лет, (средний возраст $59,3 \pm 14$ лет). Выполнено 159 цитологических исследований (ТАБ – 85, отпечатки с опухоли – 74). В цитограммах хорошо выражены два компонента: эпителиальный и лимфоцитарный (смешанный тип цитограммы). Опухолевые клетки веретенообразной и овальной формы, располагаются в плотных скоплениях (рисунок 2а), много изолированных клеток (рисунок 2б). Цитоморфологические признаки эпителиальных

клеток сходны с клетками тимомы тип А. Основным отличием является большое количество зрелых и незрелых лимфоцитов, которые составляют фон препарата, а также присутствуют в структурах опухолевых клеток. При ИЦХ исследовании веретенообразные клетки экспрессировали CD20 (рисунок 2в), панцитокератины AE1/AE3, CK19 (рисунок 2г). В лимфоцитах определялась экспрессия CD3, CD5, а также маркеров незрелой дифференцировки – TdT, CD1a, CD99.

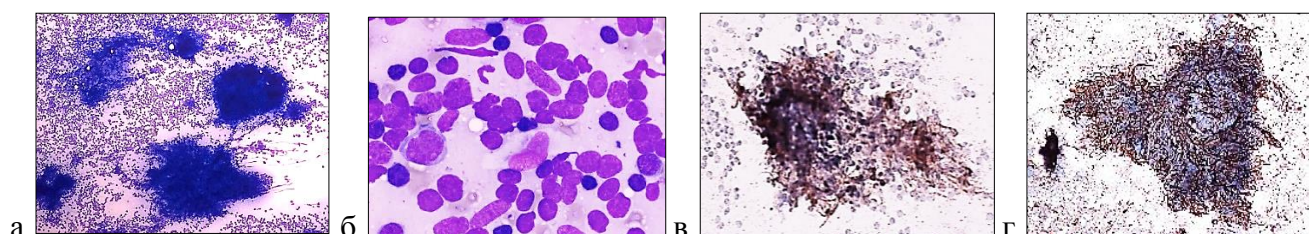


Рисунок 2 – Тимома тип АВ: а – плотные скопления веретенообразных клеток среди многочисленных зрелых и незрелых лимфоцитов ($\times 100$); б – разрозненные веретенообразные клетки среди лимфоцитов ($\times 1000$); в – экспрессия CD20 в эпителиальных клетках ($\times 200$); г – экспрессия CK19 в эпителиальных клетках ($\times 200$)

Тимома тип В1 диагностирована у 14 больных (18%) в возрасте от 52 до 75 лет (средний возраст $62,8 \pm 11,5$ лет). Проведено 110 цитологических исследований (ТАБ – 62, отпечатки с опухоли – 48). Цитограмма тимомы В1 состоит преимущественно из лимфоцитов разной степени зрелости (лимфоцитарный тип цитограммы). Встречаются только единичные разрозненные эпителиальные клетки полигональной формы, небольших размеров с нечеткими границами цитоплазмы (Рисунок 3а). Ядра округлые, с ровными контуром, мелкозернистым хроматином и мелким центрально расположенным ядрышком. В препаратах присутствует много тканевых фрагментов с межклеточным веществом в виде тонких волокон (Рисунок 3б). При рутинном цитологическом исследовании единичные эпителиальные клетки трудно обнаружить в обильном лимфоцитарном компоненте, визуализировать их удалось с помощью ИЦХ исследования. Определялись единичные эпителиальные клетки, экспрессирующие CK19, AE1/AE3, p63. В лимфоцитах отмечалась экспрессия CD3 (Рисунок 3в), CD4, CD8, CD99, CD1a, TdT (Рисунок 3г). Встречались лишь единичные В-лимфоциты (CD20+).

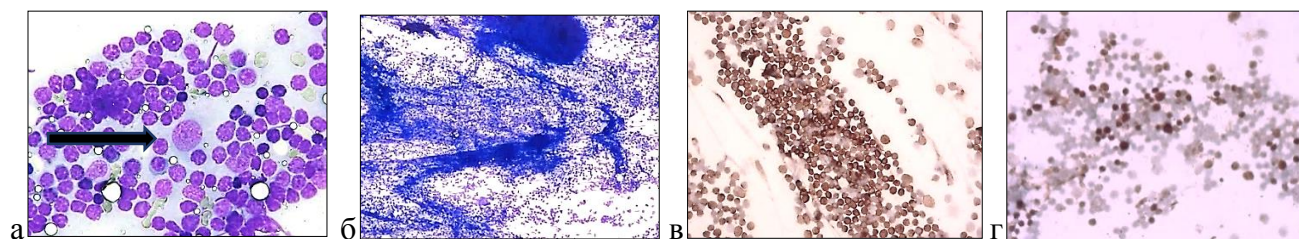


Рисунок 3 – Тимома тип В1: а – эпителиальная клетка (стрелка) среди многочисленных зрелых и незрелых лимфоцитов ($\times 1000$), б - тканевые фрагменты с межклеточным веществом ($\times 200$), в – экспрессия CD3 в лимфоцитах ($\times 400$), г – экспрессия TdT в лимфоцитах ($\times 400$)

Тимома тип В2 составила 14% от всех типов тимом (11 пациентов). Возраст больных от 52 до 70 лет (средний возраст $60,4 \pm 9$ лет). Выполнено 80 цитологических исследований (ТАБ - 46, отпечатки и соскобы с опухоли – 34). В цитограммах тимомы В2 наблюдали больше эпителиальных клеток, чем в тимоме В1 (Рисунок 4а). Они располагались в группах среди большого количества зрелых и незрелых лимфоцитов. В ядрах определялось центрально расположенное ядрышко. В отпечатках с опухоли встречались структуры типа телец Гассалья – концентрические структуры из эпителиальных клеток с признаками ороговения (Рисунок 4б). При ИЦХ исследовании эпителиальные клетки экспрессировали СК19 (Рисунок 4в), АЕ1/АЕ3, р63, лимфоциты экспрессировали CD3, CD5, TdT (Рисунок 4г).

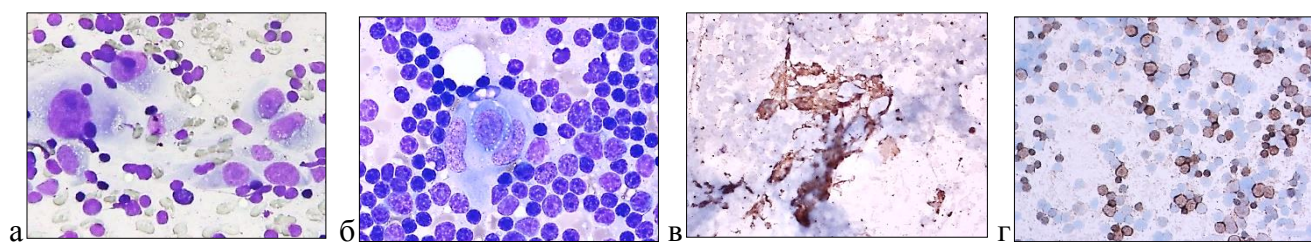


Рисунок 4 – Тимома тип В2: а – эпителиальные клетки крупных размеров среди зрелых и незрелых лимфоцитов ($\times 400$); б – структура типа тельца Гассалья среди лимфоцитов ($\times 1000$); в – экспрессия СК19 в группе опухолевых клеток, ($\times 200$); экспрессия TdT в лимфоцитах ($\times 400$)

Тимома тип В3 составила 12,8% (10 пациентов). Возраст больных был от 49 до 74 лет (средний возраст $55,9 \pm 13$ лет). Проведено 75 цитологических исследований (ТАБ - 37, отпечатки – 38). В цитограмме преобладали эпителиальные клетки полигональной формы (эпителиоидный тип цитограммы), чаще крупных размеров (Рисунок 5а), располагающиеся разрозненно и скоплениями. Ядра округлые, с крупным центрально расположенным ядрышком. Встречались клетки с признаками умеренной атипии: увеличением размеров и неровными контурами ядер, нагромождением клеток друг на друга (Рисунок 5б). Лимфоцитарный компонент скудный, но присутствовали зрелые и незрелые формы. При ИЦХ исследовании эпителиальные клетки, преобладающие в препаратах, экспрессировали панцитокератины АЕ1/АЕ3, СК 19, СК5/6 (Рисунок 5в), не экспрессировали CD5, CD117 (Рисунок 5г).

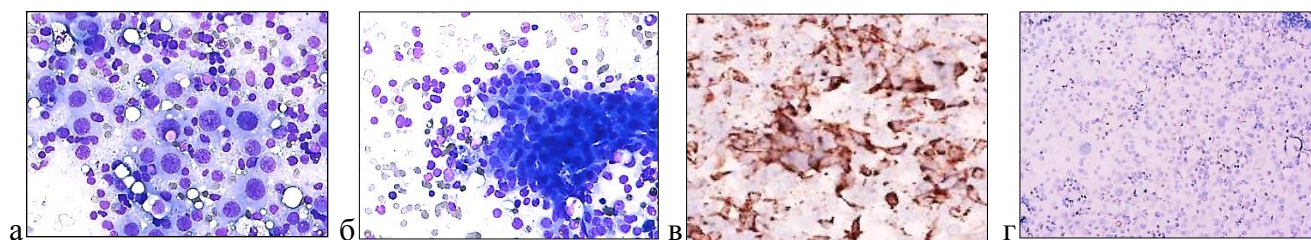


Рисунок 5 – Тимома тип В3: а – крупные эпителиальные клетки, небольшое количество зрелых и незрелых лимфоцитов ($\times 400$); б – скопление опухолевых клеток с нагромождением ядер ($\times 400$); в – экспрессия СК5/6 ($\times 400$); г – отсутствие экспрессии CD117 ($\times 200$)

В результате проведенного исследования определены цитоморфологические диагностические критерии тимом (Таблица 3).

Таблица 3 – Цитоморфологические диагностические критерии тимом

Цитологи- ческий признак	Тимомы				
	Тип А	Тип АВ	Тип В1	Тип В2	Тип В3
Тип цитограммы	Веретено- клеточный	Смешанный (веретено- образные эпителиаль- ные клетки и лимфоциты)	Лимфоцитар- ный	Смешанный (полигональ- ные эпите- лиальные клетки и лимфоциты)	Эпителиоид- ный
Форма опухолевых клеток	Веретено- образная, вытянутая	Веретено- образная, овальная	Полигональ- ная	Полигональ- ная	Полигональ- ная
Количество эпителиаль- ных клеток	Большое	Умеренное	Единичные	Умеренное	Большое
Количество лимфоцитов	Небольшое	Большое	Большое	Большое	Небольшое
Располо- жение опухолевых клеток	Плотные разнонаправ- ленные структуры, пучки	Плотные разнонаправ- ленные структуры, пучки	Разрозненные клетки	Небольшие группы	Группы, скопления, иногда с нагроможде- нием, разроз- ненные клетки
Цитоплазма	С нечеткими границами, в изолированных клетках чаще отсутствует	С нечеткими границами, в изолирован- ных клетках чаще отсутст- вует	Умеренная, с нечеткими границами	Умеренная, с нечеткими границами	Умеренная или широкая, с нечеткими границами
Форма и контуры ядер	Вытянутая, веретенообраз- ная с ровными контурами	Веретено- образная, овальная, с ровными контурами	Округлая с ровными контурами	Округлая, чаще с ровными контурами	Округлая, с ровными или слегка неровными контурами
Структура хроматина	Мелкозер- нистая	Мелкозе- рнистая	Мелкозер- нистая	Мелкозер- нистая	Крупнозер- нистая
Ядрышки	Мелкие, невыраженные	Мелкие, невыражен- ные	Мелкие, центрально расположены	Чаще крупные, центрально расположены	Крупные, центрально расположены

Рак вилочковой железы диагностирован у 6 пациентов (плоскоклеточный рак у 5, аденокарцинома – 1). Средний возраст пациентов $54,3 \pm 7,5$. Выполнено 45 цитологических исследований. В цитограммах плоскоклеточной карциномы отмечались выраженные признаки атипии. Опухолевые клетки располагались в пластах и бесструктурных скоплениях (Рисунок 6а), ядра крупных размеров, с неровными контурами, грубым хроматином, одним или несколькими ядрышками. Наблюдалась лимфоидная инфильтрация, однако отсутствовали незрелые лимфоциты. Как и в тимоммах, опухолевые клетки экспрессировали панцитокератины AE1/AE3, CK19, p63 (Рисунок 6б). Определялась экспрессия маркеров CD117 (Рисунок 6в), CD5 (Рисунок 6г), которые были негативны в тимоммах. По данным литературы экспрессия CD117 и CD5 наблюдается в 80%-100% случаев плоскоклеточного рака вилочковой железы и не характерна для тимом (N. Song et al, 2012; X.-Y. Su et al, 2015)

В цитограмме аденокарциномы тимуса среди зрелых лимфоидных элементов обнаружены крупные опухолевые клетки, располагающиеся изолированно, небольшими группами и в виде железистоподобных структур. Ядра крупных размеров, эксцентрично расположенные, с темными ядрышками, встречались двухъядерные клетки.

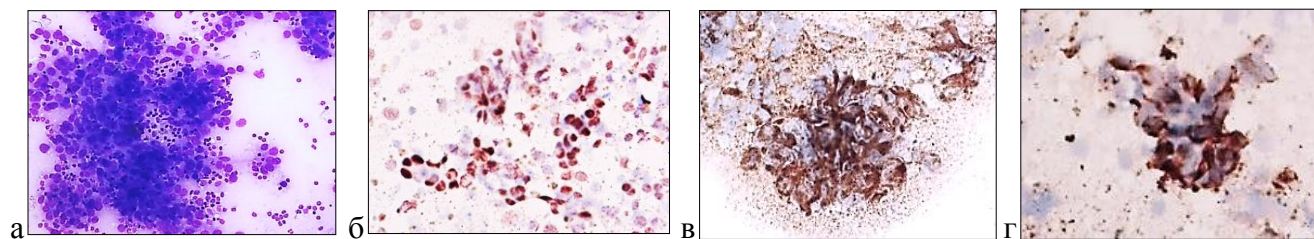


Рисунок 6 – Плоскоклеточный рак вилочковой железы: а – скопления крупных полиморфных клеток и зрелые лимфоциты ($\times 200$), б - экспрессия p63 ($\times 400$), в – экспрессия CD117 ($\times 400$), г - экспрессия CD5 ($\times 400$)

Нейроэндокринные опухоли вилочковой железы. Цитологическое исследование проводилось у 5 пациентов с НЭО вилочковой железы, средний возраст пациентов $60,4 \pm 9,5$. Проведено 51 исследование (ТАБ - 23, отпечатки с опухоли – 28). В цитограммах отмечались типичные морфологические признаки нейроэндокринной дифференцировки, ядра с характерным неравномерно крупнозернистым хроматином, мелкими светлыми ядрышками. Клетки располагались в рыхлых скоплениях, встречались розеткоподобные структуры. При ИЦХ исследовании определялась экспрессия синаптофизина, хромогранина А. Цитоморфологические признаки мелкоклеточного рака вилочковой железы не отличались от аналога в легких. Опухолевые клетки небольших размеров с узкой цитоплазмой, округлыми ядрами, смазанной структурой хроматина и наличием «фасеток» на соседних ядрах.

Результаты ИЦХ диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы

представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты ИЦХ исследования эпителиальных опухолей тимуса

Тип опухоли	Эпителиальные клетки	Лимфоциты
Тимома тип А	CD20+, CK19+, AE1/AE3+, p63+	CD3+, TdT-/+
Тимома тип АВ	CD20+, CK19+, AE1/AE3+, p63+	CD3+, TdT+
Тимома тип В1	CK19+, AE1/AE3+, p63+	CD3+, TdT+
Тимома тип В2	CK19+, AE1/AE3+, p63+	CD3+, TdT+
Тимома тип В3	CK19+, AE1/AE3+, p63+, CD5-, CD117-	CD3+, TdT+
Плоскоклеточный рак	CK19+, AE1/AE3+, p63+, CD5+, CD117+	CD3+, TdT-
НЭО	Synaptophysin +, Chromogranin A +	

Предложен следующий оптимальный набор антител для ИЦХ диагностики тимом: CD20, CK19, AE1/AE3 – для диагностики эпителиального компонента тимом типов А и АВ; CK19, AE1/AE3, p63, CD5, CD117 – для диагностики эпителиального компонента тимом типов В; CD3, TdT, CD20 – для исследования лимфоцитарного компонента всех типов тимом.

Дифференциальная цитологическая диагностика тимом

Микроскопические признаки тимомы тип А имеют сходство с веретенноклеточной НЭО, мезенхимальными опухолями, особенно с солитарной фиброзной опухолью. При цитологическом исследовании веретенноклеточной НЭО отмечено, что, в отличие от тимомы А, клетки располагаются в более рыхлых скоплениях (Рисунок 7а), формируют розеткоподобные структуры, много изолированных клеток. Определяются цитологические признаки нейроэндокринной дифференцировки (неравномерно крупнозернистый хроматин ядер, светлое ядрышко), экспрессия нейроэндокринных маркеров хромогранина А, синаптофизина (Рисунок 7б). Для тимомы тип А характерны плотные, почти непросматриваемые скопления опухолевых клеток, с формированием пучков и разнонаправленных структур, экспрессия CD20 в эпителиальных клетках. В цитограммах солитарной фиброзной опухоли наблюдаются ангиоперицитомо-подобные структуры и ветвящиеся сосуды (Рисунок 7в), в то время как для тимомы А характерны линейные сосуды. В структурах опухолевых клеток солитарной фиброзной опухоли отсутствуют лимфоциты, определяется экспрессия CD34 (Рисунок 7г).

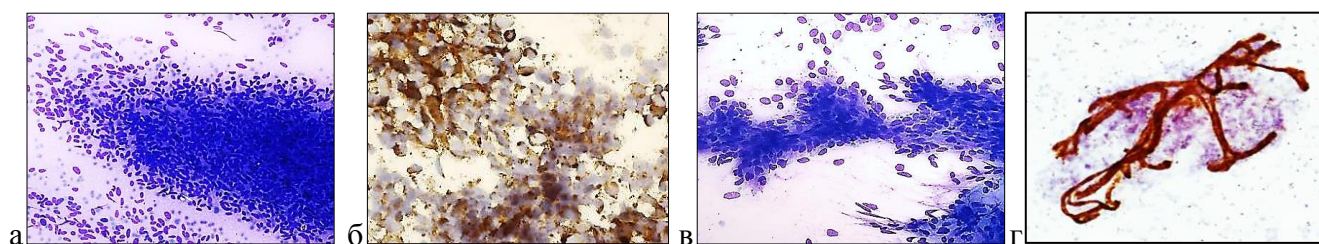


Рисунок 7 – Опухоли переднего средостения: а – веретенноклеточная НЭО (×200), б – экспрессия синаптофизина в НЭО (×400), в – солитарная фиброзная опухоль (×400), г – экспрессия CD34 в солитарной фиброзной опухоли (×400)

В результате проведенного исследования определены дифференциально-диагностические критерии тимомы тип А (Таблица 5).

Таблица 5 – Цитологические дифференциально-диагностические критерии тимомы А

Цитологический признак	Тимома тип А	Веретенноклеточная НЭО	Солитарная фиброзная опухоль
Форма опухолевых клеток	Веретенообразная, вытянутая	Веретенообразная, овальная	Веретенообразная, овальная
Расположение клеток	Плотные скопления, единичные разрозненные клетки	Рыхлые скопления, многочисленные разрозненные клетки	Плотные скопления и разрозненные клетки
Ядра	Веретенообразные, вытянутые	Веретенообразные, овальные	Веретенообразные, овальные
Хроматин	Мелкозернистый	Неравномерно крупнозернистый типа «соль-перец»	Мелкозернистый
Ядрышки	Мелкое, слабо заметное	Мелкое светлое	Мелкое, слабо заметное
Структуры	Разнонаправленные, пучки	Розеткоподобные	Ангиперицитарные
Фрагменты сосудов	Линейной формы	Отсутствуют	Ветвящиеся
Незрелые лимфоциты	Есть	Нет	Нет
ИЦХ	CD20+, AE1/AE3+, CK19+, p63+ (в эпителиальных клетках), CD3+, TdT-/+ (в лимфоцитах)	Synaptophysin +, Chromogranin A +	CD34+, виментин+

Цитограммы **тимом В1, В2** с большим числом незрелых лимфоцитов нередко ошибочно интерпретируют как лимфому. В переднем средостении из неходжкинских лимфом наиболее часто встречается первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ). Проведено сравнение микроскопических картин тимомы В1 с лимфомами (19 наблюдений). В адекватном материале аспирационной пункции ПМВКЛ цитологические признаки довольно отчетливы. Чаще наблюдались относительно мономорфные опухолевые клетки крупного и среднего размера. Ядра округлой, неправильной формы, с одним или несколькими ядрышками. В некоторых случаях преобладали клетки с сегментированными, многодольчатыми ядрами. В тимоме лимфоциты разной степени зрелости, экспрессируют маркеры Т-лимфоцитов тимуса (CD3, CD4, CD8, CD99, CD1a, TdT). Труднее дифференцировать тимому с Т-лимфобластной лимфомой, при которой клетки преимущественно малых и средних размеров. Однако клетки лимфомы в 1,5-2 раза больше малых лимфоцитов. Ядра с неровными или извитыми контурами,

тонкодисперсным хроматином и неразличимыми ядрышками.

Основные дифференциально-диагностические цитологические критерии тимом В1, В2 представлены в таблице 6.

Таблица 6– Цитологические дифференциально-диагностические критерии тимом В1, В2

Цитологический признак	Тимомы В1, В2	ПМВКЛ	Т-лимфобластная лимфома
Размер лимфоидных клеток	Мелкие (зрелые), крупные (незрелые)	Крупные и средние, в 3-5 раз больше малых лимфоцитов	Средние и мелкие, в 1,5-2 раза больше малых лимфоцитов, относительно мономорфные
Ядра	Округлые с ровными контурами	Округлые с неровными контурами, многодольчатые, сегментированные	Округлые с неровными, извитыми контурами
Хроматин	В зрелых лимфоцитах неразличим, в незрелых глыбчатый	Глыбчатый	Тонкодисперсный
Ядрышки	Одно или несколько в незрелых лимфоцитах	Чаще несколько	Неразличимы
Цитоплазма	В зрелых лимфоцитах неразличима, в незрелых-узкая, базофильная	Светлая, вакуолизированная	Узкая, базофильная
Наличие эпителиальных клеток	Единичные в тимоме В1, небольшие группы в тимоме В2	Отсутствуют	Отсутствуют
ИЦХ исследование	CD99+, CD1a+, TdT+, CD3+, CD4+, CD8+ (в лимфоцитах); CK19+, AE1/AE3+, p63+ (в эпителиальных клетках)	CD20+, CD19+, CD23+, CD79a+	TdT+, CD1a+, CD3+, CD7+

Цитологическая картина **тимомы В3**, в которой присутствует много эпителиальных клеток, имеет сходство с герминогенными опухолями (особенно с семиномой), карциномой тимуса, метастатическими карциномами.

В нашем исследовании в 3 наблюдениях медиастинальной семиномы цитологическая картина напоминала тимому В3: крупные опухолевые клетки с центральными ядрышками, лимфоидная инфильтрация (Рисунки 8а, 8б). В отличие от тимомы, в клетках семиномы отмечались более выраженный полиморфизм ядер, вакуолизированная цитоплазма с четкими границами, пенистый фон препарата. Плоскоклеточный рак вилочковой железы отличается от тимомы выраженными признаками атипии опухолевых клеток (Рисунок 8в), отсутствием незрелых (TdT+, CD1a+, CD99+) лимфоцитов, экспрессией маркеров CD5 и CD117. Цитологические характеристики метастатического рака в область тимуса не имеют признаков

органоспецифичности, дифференцировать их по цитоморфологическим признакам крайне затруднительно. С учетом анамнеза, клинико-рентгенологических данных и ИЦХ исследований удалось уточнить диагноз некоторых метастатических опухолей. Опухолевые клетки метастатической НЭО и аденокарциномы легкого экспрессировали TTF1 (Рисунок 8г), при папиллярном раке щитовидной железы отмечалась экспрессия тироглобулина, при раке молочной железы – экспрессия рецепторов эстрогенов, GATA3.

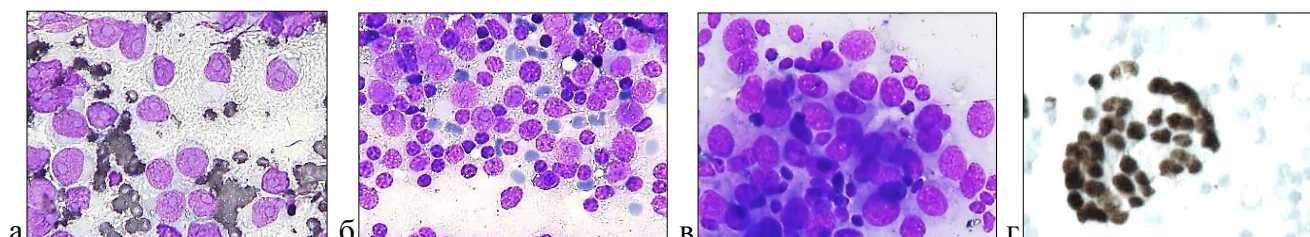


Рисунок 8 – Опухоли переднего средостения: а – семинома (×400), б – тимома тип В3 (×400), в – плоскоклеточный рак вилочковой железы (×400), г – экспрессия TTF1 в клетках метастатической аденокарциномы легкого (×400)

Основные критерии дифференциальной диагностики тимомы тип В3 представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Цитологические дифференциально-диагностические критерии тимомы В3

Цитологический признак	Тимома тип В3	Медиастинальная семинома	Плоскоклеточный рак тимуса
Степень атипии опухолевых клеток	Умеренная или слабая	Выраженная	Выраженная
Форма и контуры ядер	Округлые, слегка неровные контуры	Округлые, неровные контуры	Округлые, неровные контуры
Хроматин	Крупнозернистый	Крупнозернистый	Грубый
Ядрышки	Одно, центрально расположенное, крупных размеров	Одно, центрально расположенное, крупных размеров	Одно или несколько, разных размеров
Цитоплазма	Светлая, с нечеткими контурами	Вакуолизированная, с четкими контурами	Чаще плотная, с четкими или нечеткими контурами
Наличие незрелых (TdT+, CD1a+, CD99+) Т-лимфоцитов	Есть	Нет	Нет
ИЦХ	CD117-, CD5-, AE1/AE3+, CK19+, p63+	PLAP+, CD117+, panCK+	CD5+, CD117+, AE1/AE3+, CK19+, p63+

При пункции тимомы в некоторых случаях был получен жидкостный материал. Кистозный тип цитограммы встречался при тимоме с кистозной дегенерацией, а также и при других медиастинальных новообразованиях – зрелой тератоме, бронхогенной, перикардиальной кистах. При пункции участка тимомы с кистозной дегенерацией в цитограмме отмечались бесструктурное вещество, большое количество макрофагов, кристаллы холестерина, а также клеточные элементы тимомы – зрелые и незрелые лимфоциты, единичные эпителиальные клетки. В материале пункции бронхогенной кисты встречались клетки респираторного, уплощенного эпителия, зрелые лимфоциты, при перикардиальной кисте преобладали клетки мезотелия. В цитограмме зрелой тератомы на фоне кистозного компонента наблюдали элементы тератомы – плоский, респираторный эпителий, жировая, хрящевая ткань, элементы сальных желез и других придатков кожи, клетки эпителия поджелудочной железы и другие элементы.

Цитологический диагноз при кистозных образованиях в значительной степени зависит от качества материала тонкоигольной пункции, который должен быть получен из стенки или солидного участка кистозной опухоли.

Таким образом, тимомы типов А, АВ, В1, В2, В3 характеризуются значительной вариабельностью цитологической картины и каждый тип требует разный спектр дифференциального диагноза, который рекомендуется проводить по преобладающему типу цитограммы: веретенноклеточному, лимфоцитарному, эпителиоидному, кистозному (Таблица 8).

Таблица 8 – Дифференциальная цитологическая диагностика тимом

Тип цитограммы	Дифференциальный диагноз
Веретенноклеточный	Тимома тип А НЭО с веретенноклеточной морфологией Мезенхимальные опухоли (чаще солитарная фиброзная опухоль)
Лимфоцитарный	Тимома типов В1, В2 Лимфома Гиперплазия лимфоузлов
Эпителиоидный	Тимома тип В3 НЭО Герминогенные опухоли (чаще семинома) Рак вилочковой железы Рак метастатический
Кистозный	Кистозная тимома Тератома Бронхогенная, перикардиальная киста

Для оценки значимости разработанных цитоморфологических и иммуноцитохимических критериев эпителиальных опухолей вилочковой железы проведено изучение основных показателей эффективности цитологической диагностики (чувствительность, специфичность, точность, прогностическая ценность положительного результата, прогностическая ценность отрицательного результата). Набор материала и изучение данных редких опухолей осуществляли в течение 16 лет (2003-2018 гг.). За период 2003-2010 гг. чувствительность (SN) цитологического метода в диагностике эпителиальных опухолей вилочковой железы составляла 63,3%, специфичность (SPC) – 56,2%, точность (ACC) – 60 %, прогностическая ценность положительного результата (PPV) – 73%, прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) – 42,1%. Неинформативный материал был получен в 19,3 % случаев. За период внедрения разработанных критериев (2011-2018 гг.) чувствительность цитологической диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы составила 89,1%, специфичность – 78,6%, точность – 86,3%, прогностическая ценность положительного результата – 91,7%, прогностическая ценность отрицательного результата – 73,3% (Рисунок 9). Неинформативный материал был получен в 16,2 % случаев.

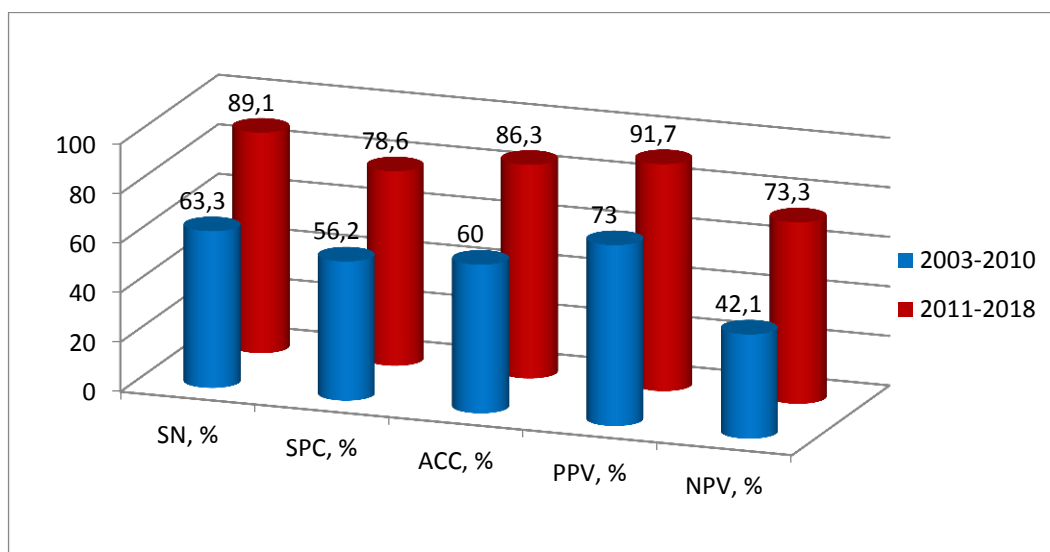


Рисунок 9 – Показатели эффективности цитологической диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы за периоды 2003-2010 гг. и 2011-2018 гг.

Таким образом, применение разработанных в данном исследовании цитоморфологических и иммуноцитохимических диагностических критериев эпителиальных опухолей вилочковой железы позволили улучшить результаты цитологической диагностики данных опухолей: чувствительность увеличилась на 25,8%, специфичность – на 22,4%, точность – на 26,3%, прогностическая ценность положительного результата – на 18,7%, прогностическая ценность отрицательного результата – на 31,2%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпителиальные опухоли вилочковой железы – наиболее частые новообразования переднего средостения. Для морфологической верификации данных опухолей в амбулаторных условиях приоритетное значение имеет малоинвазивный метод тонкоигольной аспирационной биопсии с цитологическим исследованием. Возможности цитологической диагностики опухолей вилочковой железы, а также критерии их дифференциальной диагностики с другими новообразованиями средостения мало изучены.

Целью настоящей работы было улучшение цитологической диагностики эпителиальных опухолей вилочковой железы путем разработки цитоморфологических и иммуноцитохимических критериев. Нами изучены и систематизированы цитоморфологические признаки тимом типов А, АВ, В1, В2, В3, нейроэндокринных опухолей и карцином вилочковой железы. Показано, что для тимом характерна двухкомпонентность клеточного состава: эпителиальные клетки веретенообразной или полигональной формы, и лимфоциты, зрелые и незрелые формы. Использование ИЦХ исследований позволяет верифицировать эпителиальный и лимфоцитарный компоненты тимом. В эпителиальных клетках тимом А и АВ определяется экспрессия маркера CD20, в эпителиальных клетках тимом типов В – экспрессия CK19, AE1/AE3, p63, отсутствие экспрессии CD5 и CD117. Лимфоцитарный компонент всех типов тимом содержит незрелые Т-лимфоциты (TdT+, CD99+, CD1a+). Для плоскоклеточного рака вилочковой железы характерны выраженные признаки атипии опухолевых клеток, отсутствие незрелых лимфоцитов, экспрессия CD5, CD117. В НЭО тимуса определяются цитологические признаки нейроэндокринной дифференцировки, экспрессия нейроэндокринных маркеров (синаптофизина, хромогранина А). Результаты исследования позволили предложить оптимальный набор антител для ИЦХ диагностики тимом. В работе определены критерии дифференциальной диагностики тимомы А с веретенноклеточной НЭО, солитарной фиброзной опухолью; тимомы В1 с лимфомами; тимомы В3 с семиномой, НЭО, плоскоклеточной карциномой. Применение разработанных диагностических критериев эпителиальных опухолей вилочковой железы позволили увеличить чувствительность, специфичность, точность метода цитологической диагностики. Полученные результаты исследования могут быть использованы при изучении материала тонкоигольной аспирационной биопсии и проведении операционного исследования опухолей вилочковой железы. Морфологическая верификация новообразований вилочковой железы в амбулаторных условиях будет способствовать сокращению сроков обследования больного и адекватному планированию лечебной тактики. В целом результаты работы расширяют возможности цитологической диагностики опухолей вилочковой железы и открывают перспективы для дальнейшего поиска, направленного на повышение качества морфологической диагностики новообразований средостения.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны цитоморфологические и иммуноцитохимические диагностические критерии эпителиальных опухолей вилочковой железы, которые позволили повысить чувствительность цитологической диагностики с 63,3% до 89,1%, специфичность – с 56,2% до 78,6%, точность – с 60% до 86,3%, прогностическую ценность положительного результата – с 73% до 91,7%, прогностическую ценность отрицательного результата с 42,1% до 73,3%.

2. Основными цитоморфологическими и иммуноцитохимическими диагностическими критериями тимомы тип А являются наличие веретенообразных эпителиальных клеток с вытянутым ядром, мелкозернистым хроматином, невыраженным ядрышком, иммунофенотипом CD20+, AE1/AE3+, CK19+, p63+ и небольшого количества Т-лимфоцитов (CD3+, TdT-/+) с преобладанием зрелых форм. Тимомы тип АВ отличается от тимомы А большим количеством зрелых и незрелых Т-лимфоцитов (CD3+, TdT+, CD99+, CD1a+) и не содержит много CD20+ веретенообразных эпителиальных клеток.

3. Цитологические диагностические критерии тимомы тип В1: зрелые и незрелые Т-лимфоциты (CD3+, CD4+, CD8+, TdT+, CD99+, CD1a+) и единичные разрозненные эпителиальные клетки полигональной формы с округлым ядром, мелким центральным ядрышком, иммунофенотипом AE1/AE3+, CK19+, p63+. В тимоме тип В2 наряду со зрелыми и незрелыми Т-лимфоцитами (CD3+, TdT+ CD99+, CD1a+) определяется больше эпителиальных клеток (AE1/AE3+, CK19+, p63), располагающихся в группах, чем в тимоме В1. Для тимомы тип В3 характерно преобладание полигональных эпителиальных клеток с округлым ядром, крупным центральным ядрышком, иногда с умеренной атипией, иммунофенотипом AE1/AE3+, CK19+, p63+, CD5–, CD117– и небольшое количество незрелых Т-лимфоцитов (TdT+, CD99+, CD1a+).

4. Цитоморфологические признаки плоскоклеточного рака и нейроэндокринных опухолей вилочковой железы не имеют признаков органоспецифичности, в плоскоклеточном раке определяется экспрессия маркеров CD5, CD117.

5. Основные цитоморфологические и иммуноцитохимические критерии дифференциальной диагностики тимом с морфологически сходными образованиями переднего средостения: двухкомпонентность опухоли, наличие незрелых Т-лимфоцитов (TdT+, CD99+, CD1a+), эпителиальных клеток без выраженных признаков атии, особенностью которых является экспрессия CD20 в тимоме А и АВ, отсутствие экспрессии CD5 и CD117 в тимоме типов В.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При цитологической диагностике тимом рекомендуется иммуноцитохимическое исследование для верификации эпителиального и лимфоцитарного компонентов.
2. В формулировке цитологического диагноза тимомы указывать в предположительной форме морфологический тип опухоли.
3. Специалистам, выполняющим тонкоигольную биопсию, предусмотреть объем материала для рутинного цитологического и иммуноцитохимического исследования опухоли.
4. При большом объеме новообразования выполнять многоточковую тонкоигольную биопсию из-за многокомпонентности тимом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бутенко, Г.Р. Цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика эпителиальных опухолей вилочковой железы / Г.Р. Бутенко, М.В. Савостикова // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2019. – Т.8. – №6. – С. 419-421.
2. Бутенко, Г.Р. Цитоморфологические диагностические критерии тимом / Г.Р. Бутенко, М.В. Савостикова // Онкопатология. – 2019. – Т.2. – №3-4. – С. 10-16.
3. Бутенко, Г.Р. Дифференциальная цитоморфологическая диагностика тимом / Г.Р. Бутенко, М.В. Савостикова // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина. – 2018. – Т.29, №2. – С. 33-39.
4. Бутенко, Г.Р. Цитоморфологическая дифференциальная диагностика тимом / Г.Р. Бутенко, М.В. Савостикова // Новости клинической цитологии России. – 2017. – Т. 21. – № 1-2. – С. 27-28.
5. Бутенко, Г.Р. II. Цитоморфологическая диагностика эпителиальных опухолей тимуса / Г.Р. Бутенко, М.В. Савостикова // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина. – 2016. – Т. 27. – №3. – С. 62-70.
6. Бутенко, Г.Р. Возможности цитологической диагностики опухолей средостения / Г.Р. Бутенко, В.Н. Богатырев // Новости клинической цитологии России. – 2007 – Т.11. – № 3-4. С. 5-8.