



Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра клинической лабораторной диагностики

Цитологические исследования

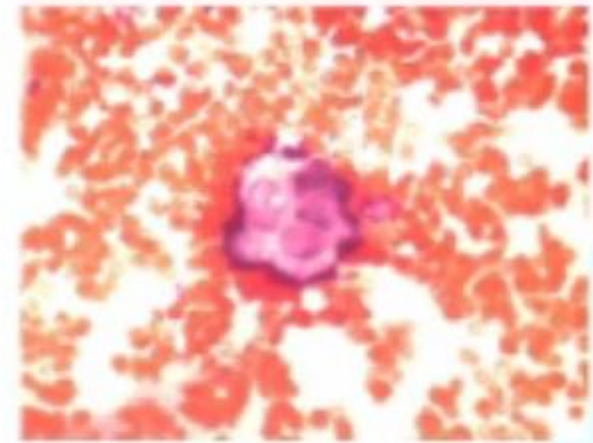
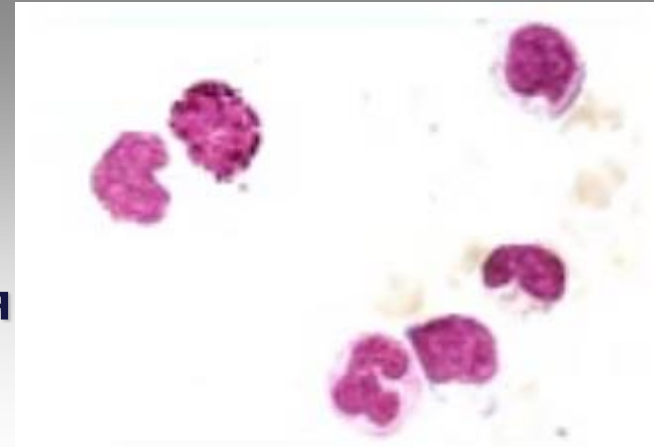
Развитие клинической ЦИТОЛОГИИ

Клиническая цитология в России является частью КЛД

Клиническая цитология в нашей стране развивалась из лабораторного исследования биологического материала (костного мозга, выпотной жидкости, мокроты, мочи)

Мазки окрашиваются по Романовскому, Лейшману и т.д.

Определенную роль сыграли традиции гистологического исследования, мазки окраской гематоксилин-эозином



Развитие цитологии в нашей стране

- Лабораторная медицина и патологическая анатомия в нашей стране являются различными дисциплинами, но цитологическая диагностика находится в сложном положении:
- De jure она относится к лабораторной медицине
- De facto она развивалась самостоятельно
- Цитологи используют гистологический метод заключения, как «золотой эталон» в своей морфологической диагностике

Традиции

- Цитологическое исследование прошло большой путь от поиска «атипичных» клеток – к полноценному морфологическому диагнозу
- Клинические цитологи достигли значительных успехов в морфологической верификации различных патологических состояний

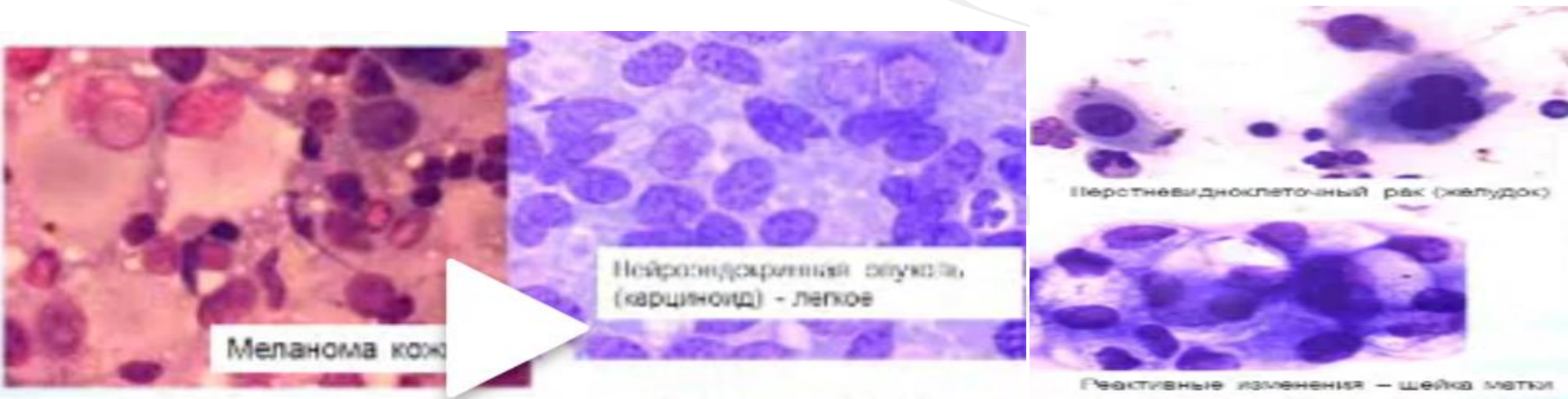
Возможности цитологической

диагностики

- Выявление различных неопухолевых состояний
- Диагностика воспаления, степени его выраженности, характера возможной причины
- Установление некоторых этиологических факторов, вызвавших патологический процесс (простейшие, бактерий, цитопатический эффект вирусов, лучевое воздействие)

Возможности цитологической диагностики

- Диагностика интраэпителиальных неоплазий (дисплазий)
- Диагностика злокачественных опухолей
- По возможности устанавливается гистологическая форма, степень дифференцировки
- В отличие от многих других лабораторных тестов, в которых используются количественные параметры, цель цитологического исследования - установить морфологический диагноз



Развитие цитологической диагностики

Развитию ЦД в стране послужил приказ
Министерства Здравоохранения СССР №1253
от 30 декабря 1976 года, который определил
меры по улучшению цитологической
диагностики онкологических заболеваний, а
также созданием ЦЦЛ

Развитие цитологической диагностики

- Этим же приказом было утверждено «Положение о централизованной лаборатории для цитологических исследований (ЦЦЛ)» на базе различных лечебно-профилактических учреждений:
- Поликлиник
- Стационаров
- Онкодиспансеров
- Крупных городских и районных больниц общего профиля

Когда выполняются

цитологические исследования

- Профилактический осмотр (скрининг)
- Назначается клиницистом при необходимости верификации патологического процесса
- Срочная цитологическая диагностика во время: операции, эндоскопического исследования, УЗИ щитовидной железы, молочной железы, печени и др.
- Контроль в ходе лечения и динамическое наблюдение (раннее выявление рецидивов)
- Случайная находка патологически измененных клеток при выполнении общеклинических исследований (мочи, мокроты, выпотной жидкости, СМЖ)

Способ получения материала

ЭКСФОЛИАТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ

- Отделяемое различных органов (молочная железа, бронхи)

СОСКОБЫ (визуальный или эндоскопический контроль)

- Кожа
- Слизистые оболочки
- Мазки из шейки матки
- ПУНКТАТЫ (визуальный контроль, УЗИ, эндоскопическая сонография, рентген и др.)
- Молочная железа
- Щитовидная железа
- Мозг, СМЖ
- Жидкости из серозных полостей

Способ получения материала

ЭНДОСКОПИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

- (легкое, ЖКТ, матка, лапароскопический материал)
- Отпечатки с биопсийного материала
- Соскобы щеткой
- Пунктаты

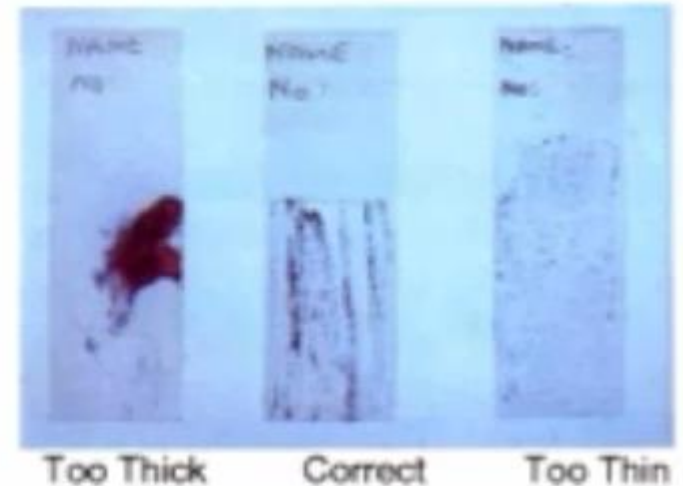
ОТПЕЧАТКИ С БИОПСИЙНОГО (ОПЕРАЦИОННОГО) МАТЕРИАЛА

От чего зависит результат

- ОТ МАТЕРИАЛА
- Качество приготовления препарата
- Качества окрашивания мазков
- КВАЛИФИКАЦИЯ ЦИТОТЕХНОЛОГОВ И ВРАЧЕЙ
- ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ МЕТОДОВ

Качество приготовления препарата

- Для цитологических препаратов должны использоваться стандартные стекла
- Материал нужно распределять по стеклу тонким слоем
- Мазки необходимо правильно маркировать
- Сопроводительный бланк должен содержать необходимую информацию о больном



Жидкостная цитология

Жидкостная цитология – способ получения монослойных цитологических препаратов из взвеси клеток в фиксирующем растворе с использованием методов центрифугирования, осаждения и/или фильтрации

Жидкостная цитология

- Впервые цитоцентрифуги, как аппараты, на принципе работы которых основан принцип работы современных моделей цитоцентрифуг, появились в 1966 году
- С помощью цитоцентрифуг обрабатываются жидкости, содержащие клетки (СМЖ, синовиальная жидкость, выпотные жидкости, смывы физиологическим раствором, в том числе и после БАЛ и др.



Cellspin II





Жидкостная цитология

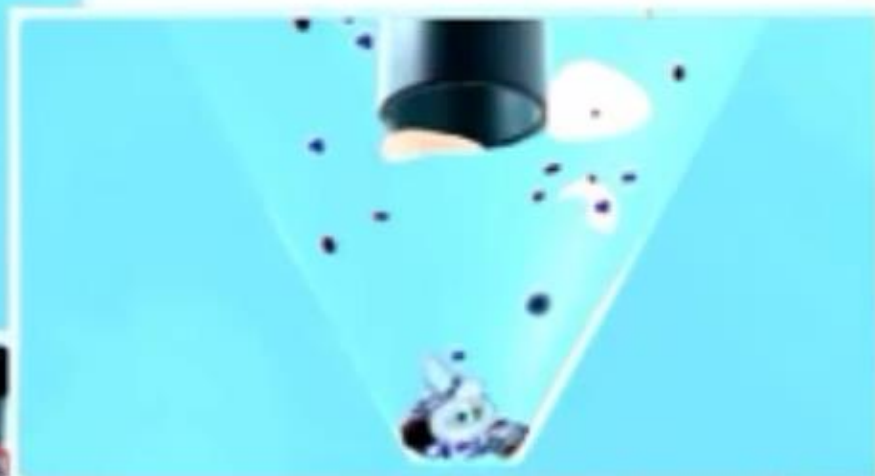
- Транспортная среда «консервирует» собранный клеточный материал, создает оптимальные условия доставки материала в лабораторию



Автоматизированные системы
приготовления цитологических
препаратов методом жидкостной
цитологии без окрашивания и
заклЮчения
препаратов



First enriched cell pellet



Second enriched cell pellet



* Автоматизированные системы приготовления и окрашивания цитологических препаратов



Организованный скрининг

Диагностика:

- гинекологический материал
- негинекологический материал



Стандартизация
аналитических технологий
лабораторной медицины

Выпуск 2

Под ред. В.В.Меньшикова

Приложение к журналу

«Клиническая лабораторная
диагностика» №7 2013

стр. 70-89

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

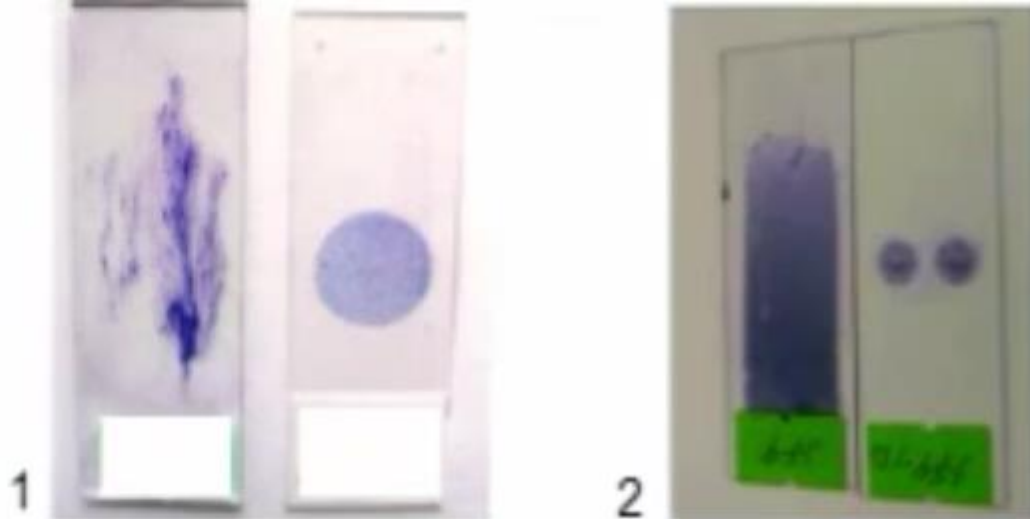
Разработчики:

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

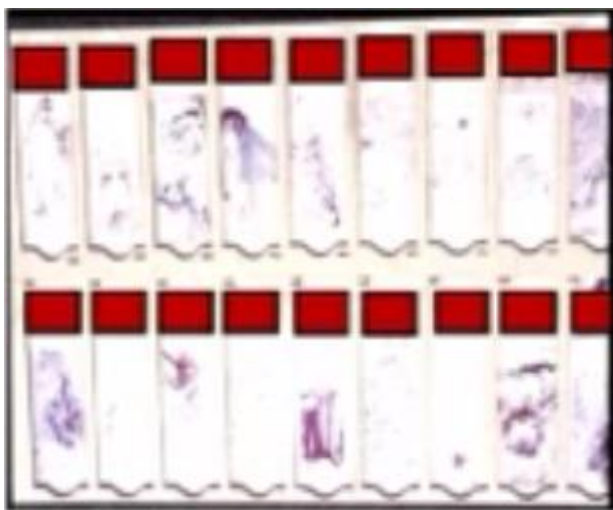
**В РОССИИ ПРИНЯТ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ ПО
ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ**



**Мазки низкого качества,
доставленные в цитологическую
лабораторию для консультации**

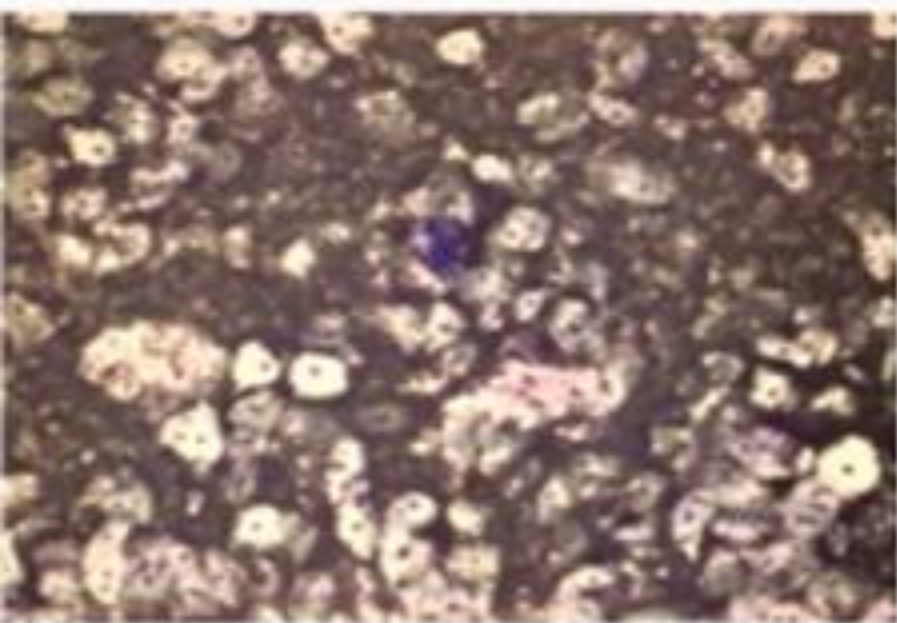


**1 – традиционный мазок из шейки матки и ЖЦ
2 – традиционный мазок из вытока и ЖЦ**

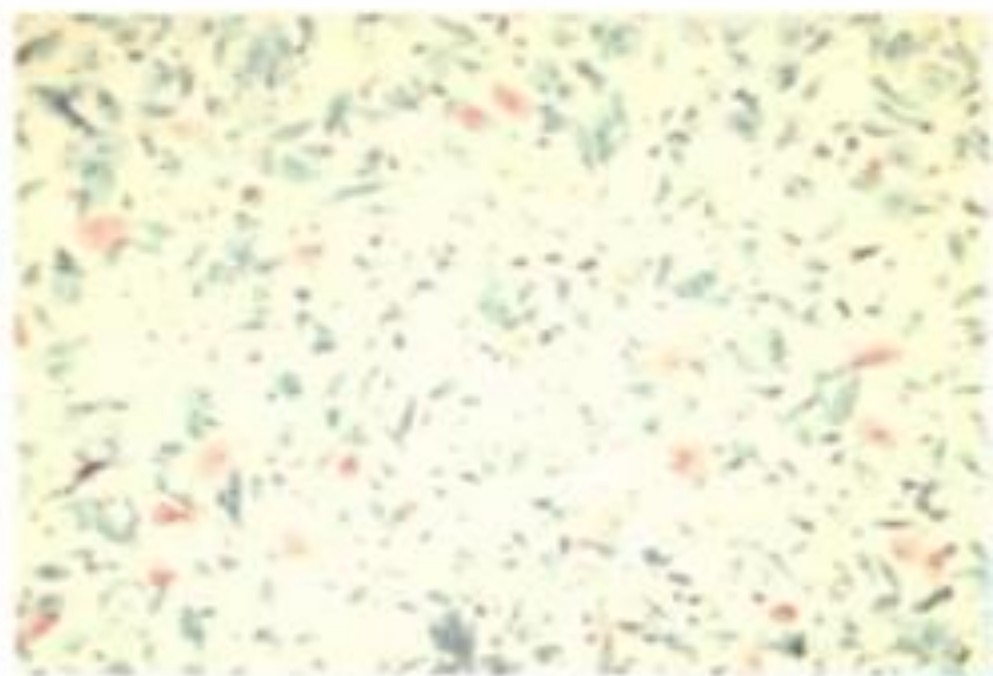


**ПЛАНШЕТЫ: слева – с традиционными гинекологическими мазками
справа – приготовленные методом ЖЦ**

В скрининге заболеваний шейки матки у жидкостной цитологии преимущества



Conventional (MGG) x100



LBC/ (Papanicolaou stain). x100

Системы автоматизированного сканирования и классификации цитологических препаратов

Роботизирующий поиск патологических изменений:

- при их отсутствии – заключение об отсутствии необходимости пересмотра препаратов цитологом под микроскопом;**
- при их наличии – трактовка обнаруженных изменений**

Автоматизированный прескрининг



Focal Point

Управляемое компьютером устройство позиционирования (определения размещения клеток на стекле)



Преимущества жидкостной ЦИТОЛОГИИ

Актуальность морфологических изменений возрастает в связи с возможностью уточнить характер заболевания и интерпретировать данные, полученные с помощью других методов, в том числе и молекулярных



автоматизированные
системы приготовления



компьютеризация
скрининга



ЖИДКОСТНАЯ ЦИТОЛОГИЯ

молекулярные технологии

Гибридизация in situ
на цитологическом
материале
ISH FISH CISH SISH



Мутации
PCR, секвенирование
Экспрессия мРНК
RT-PCR

В диагностических целях можно использовать оба метода



Метод традиционной и ЖЦ при исследовании пунктатов, эндоскопического материала

Если получена капля материала, то :

- 1. ТЦ – выдавить на стекло и приготовить препарат как мазок крови**
- 2. ЖЦ – выдавить содержимое в контейнер со стабилизирующей средой**
- 3. После приготовления мазка иглу промыть в фиксирующем растворе**

Метод традиционной и ЖЦ при исследовании пунктатов, эндоскопического материала

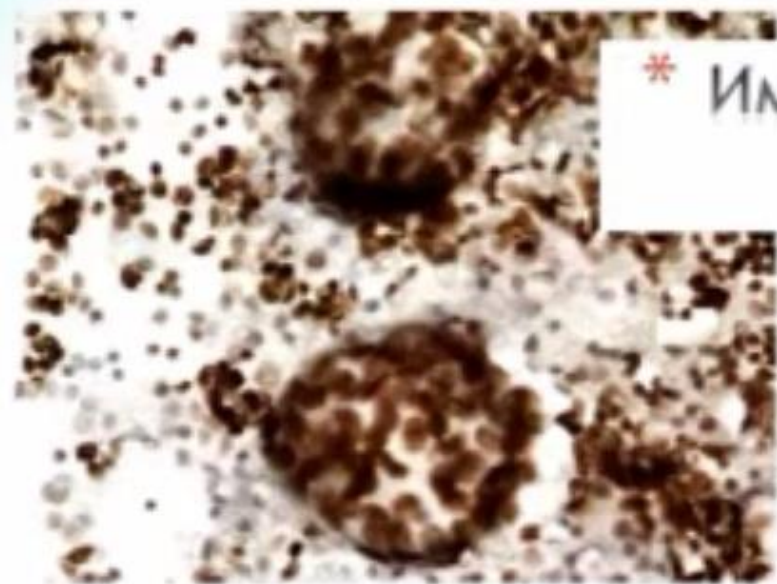
Если получена жидкость, то:

- 1. Жидкость доставляют в лабораторию как можно быстрее**
- 2. Жидкость поместить в контейнер со стабилизирующим раствором и доставить в лабораторию**

Клеточные блоки - жидкость



* Иммуноцитогистохимическое исследование



Ascitis Cr of ovary WT-1+

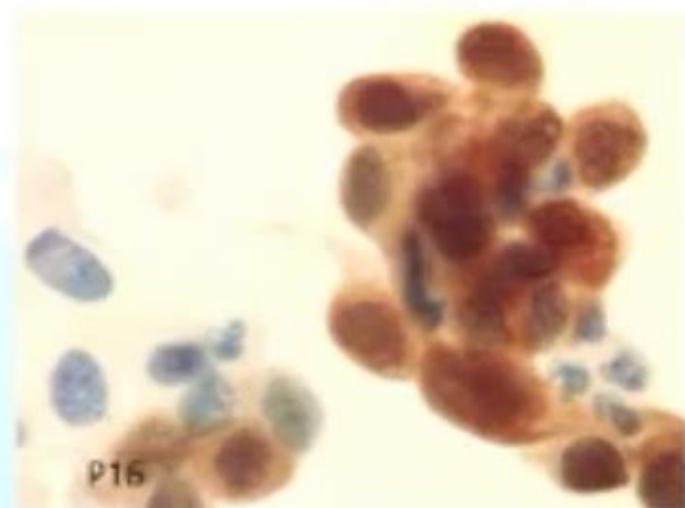
Верификация первичного очага при метастатических поражениях



Ki-67

Установление факторов прогноза

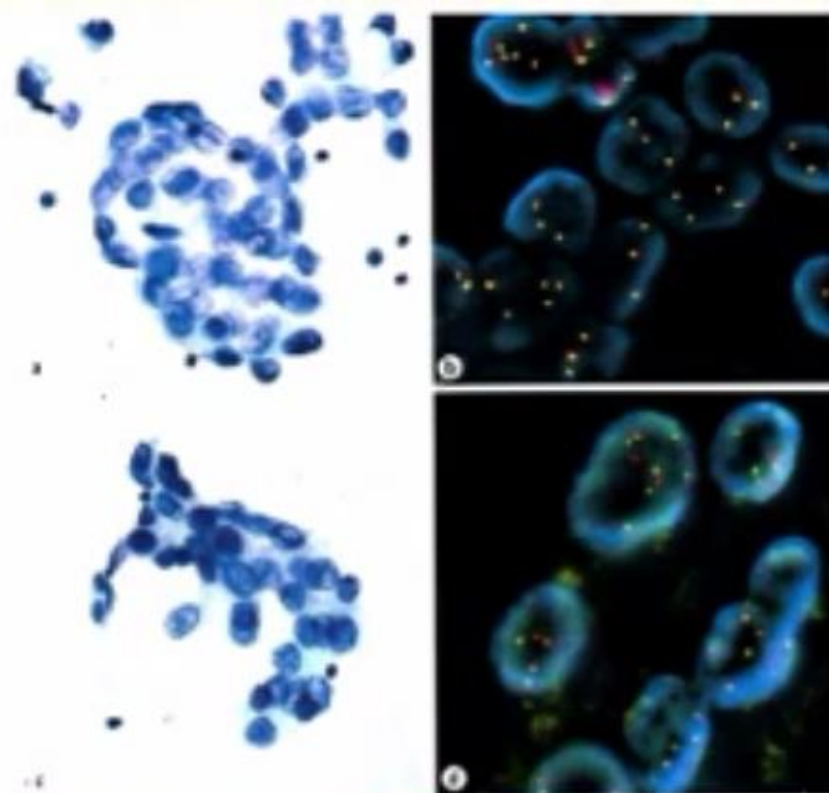
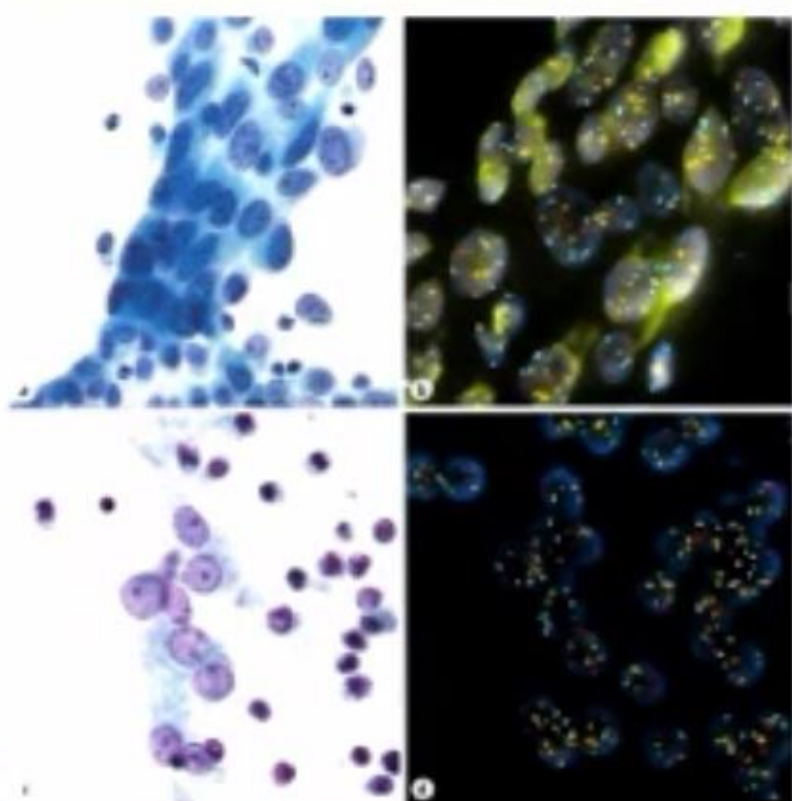
- определение ER, PR и рецепторов HER-2 Neo
- определение наличия рецепторов для таргетной терапии
- выявление микрометастазов в ЛУ
- трактовка первично-множественных поражений
- определение степени распространенности опухоли
- определение характера процесса (доброкачественный или злокачественный);
- выявление предопухолевых состояний (дисплазий)
- установление гистологической формы злокачественного поражения (гистогенеза, тканевой принадлежности)



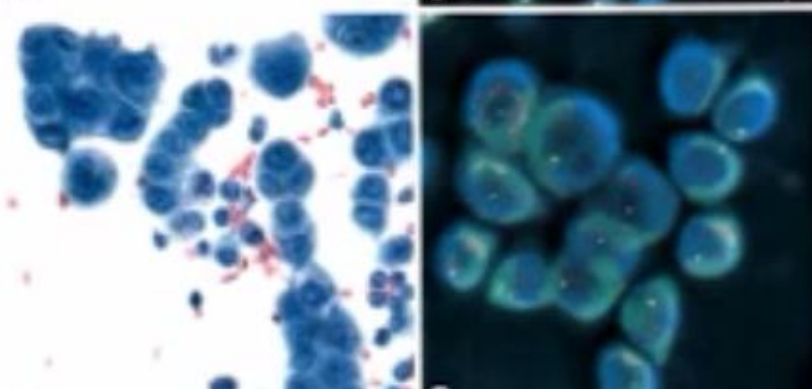
P16

Cr in situ

* Гибридизация in situ флуоресцентная (FISH),
хромогенная (CISH), серебром (SISH)

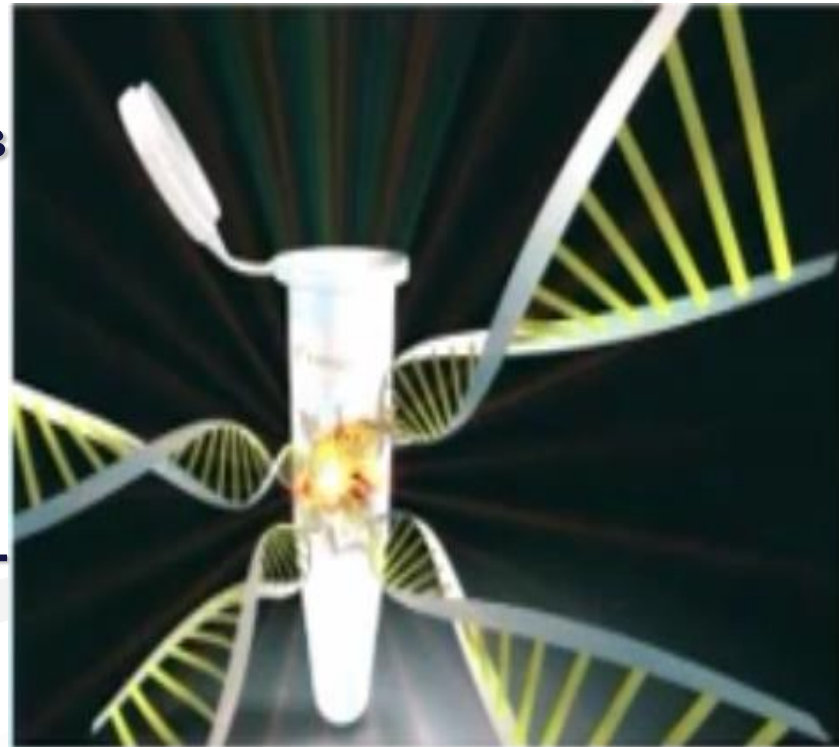


Методы позволяют определить число,
размер и локализацию фрагментов ДНК
и РНК в цитологических препаратах

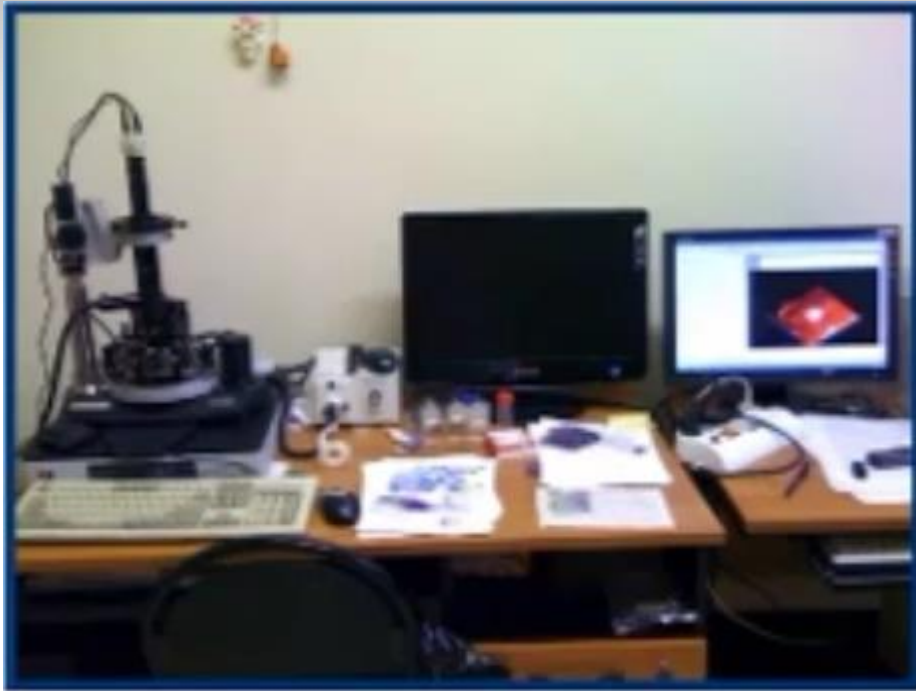


Молекулярно-генетические исследования

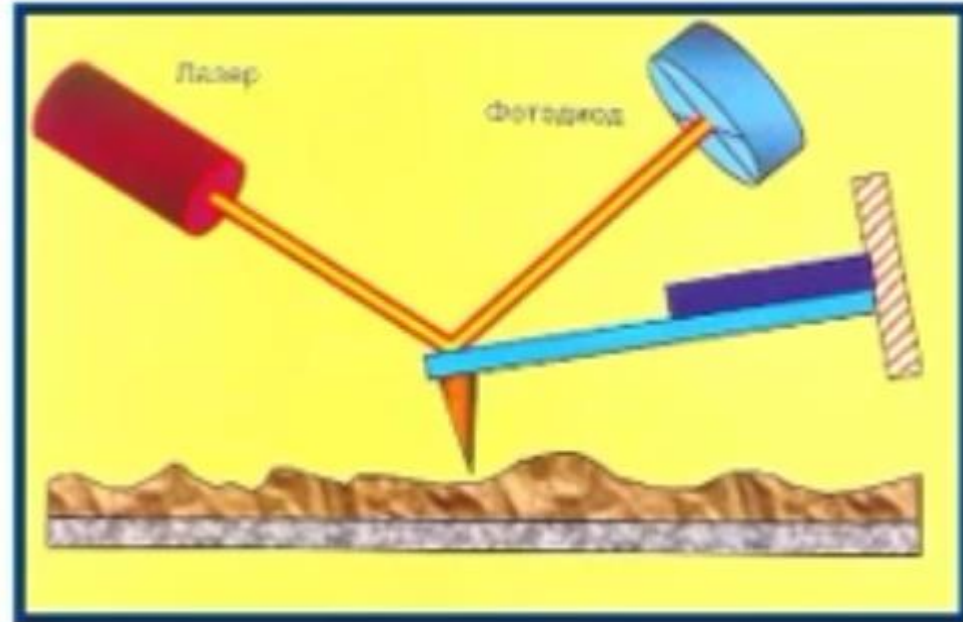
- Выявление ДНК и РНК возбудителей инфекционных болезней
- Выявление вариаций в структуре исследуемого участка ДНК (аллеля, гена, региона хромосомы) человека
- Обнаружение ДНК/РНК микроорганизмов или вирусов в образцах биоматериала
- Определение концентрации ДНК/РНК микроорганизмов или вирусов образцах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



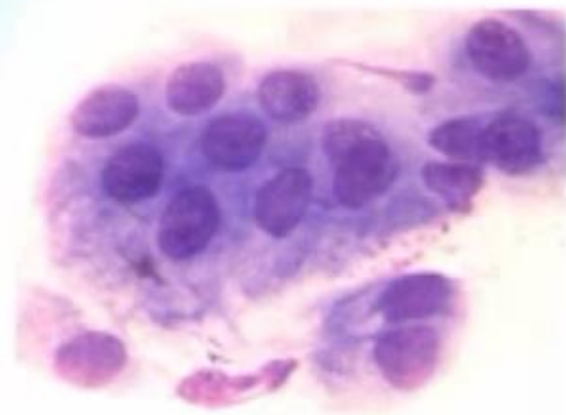
Метод атомно-силовой микроскопии



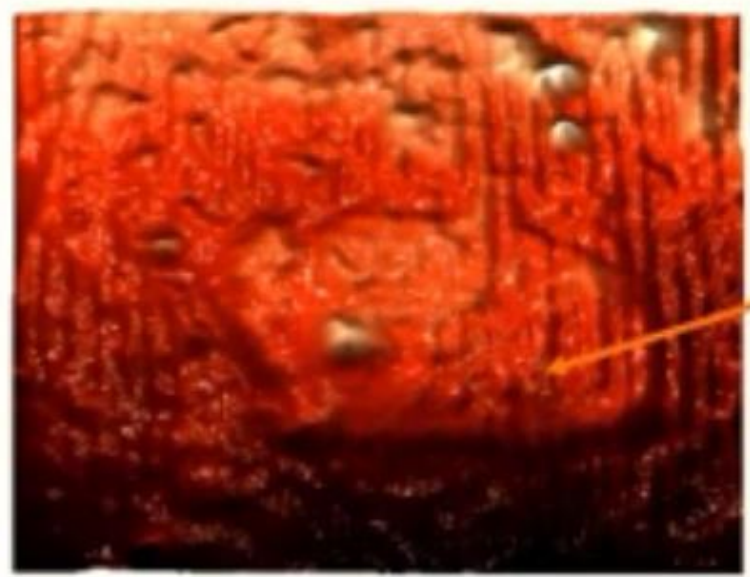
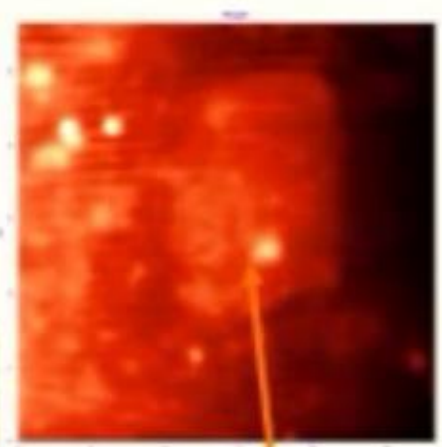
**Атомно-силовой микроскоп
в составе комплекса «Интегра»**



**Принцип работы
атомно- силового
микроскопа**



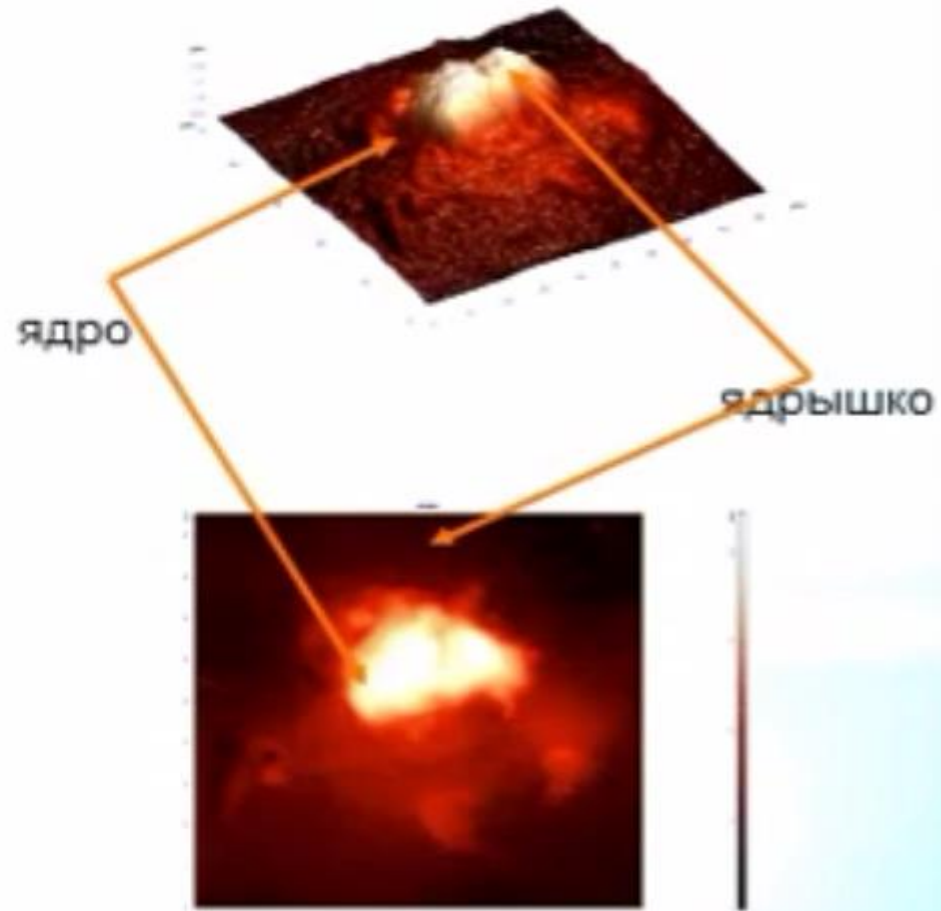
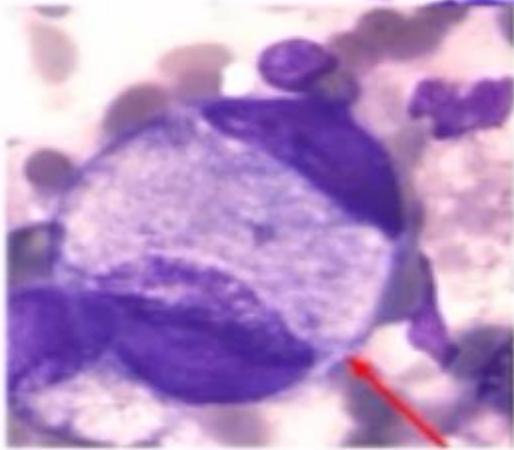
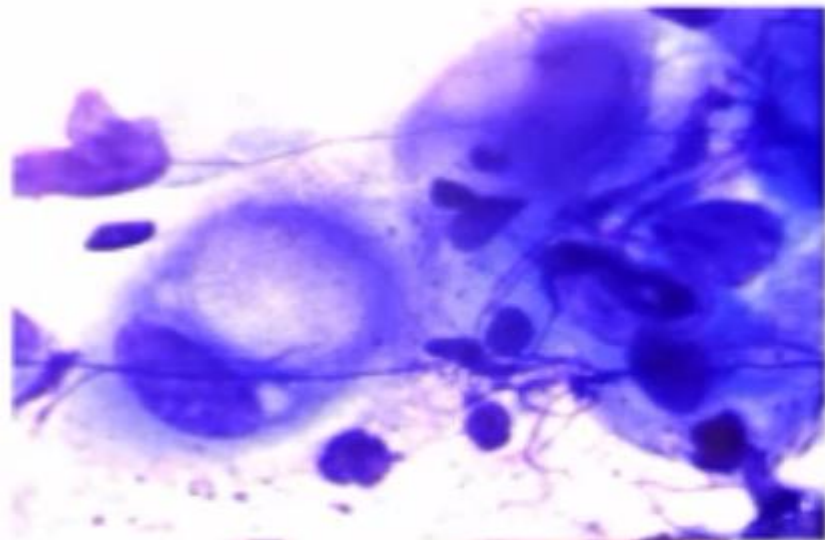
* **Аденома**
(атомно-силовая
микроскопия)

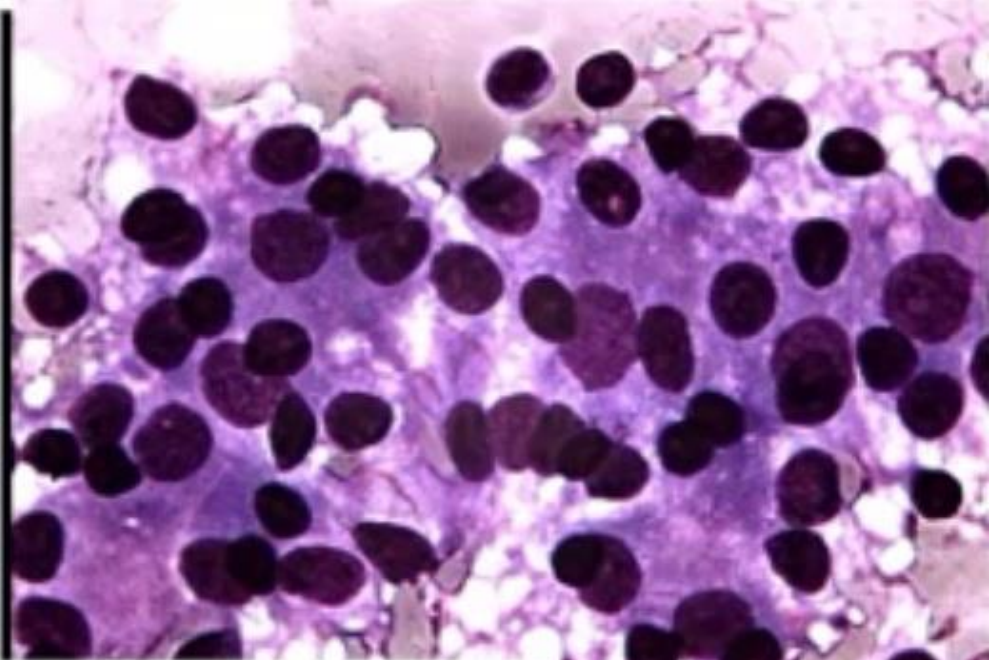
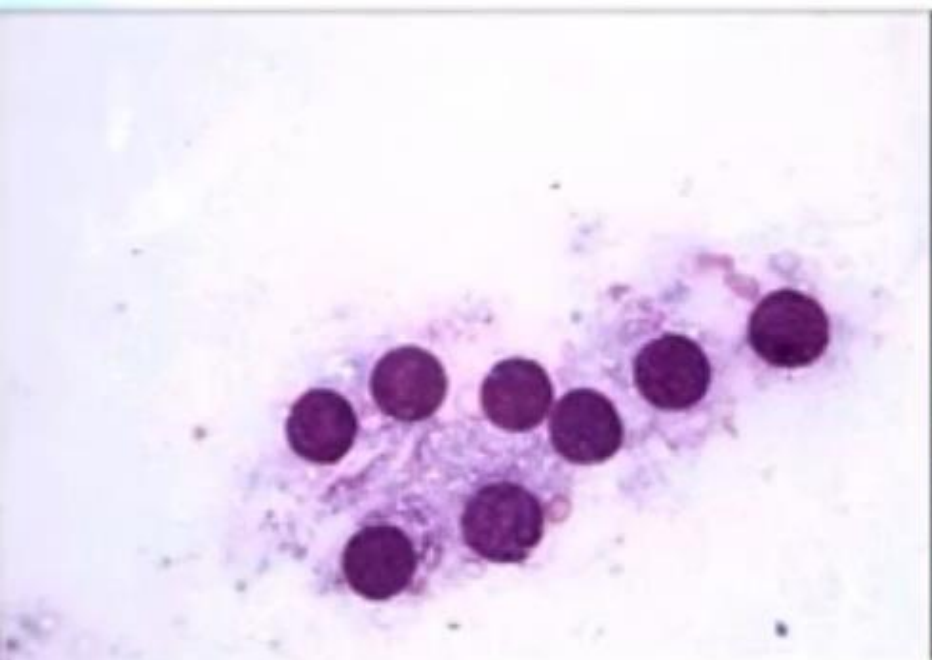


ядро

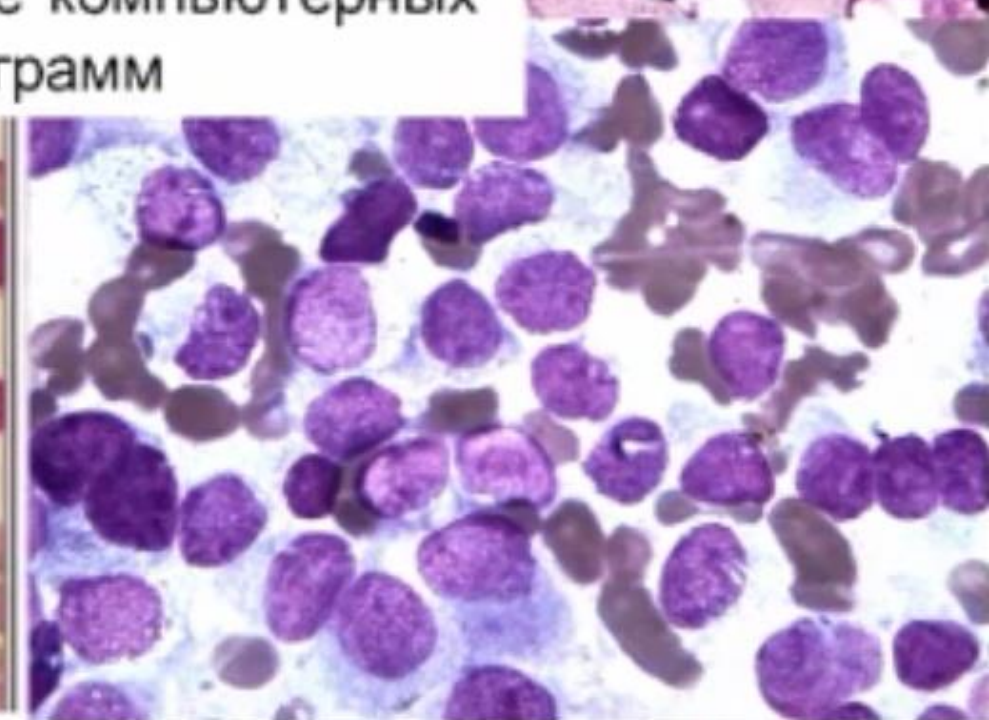
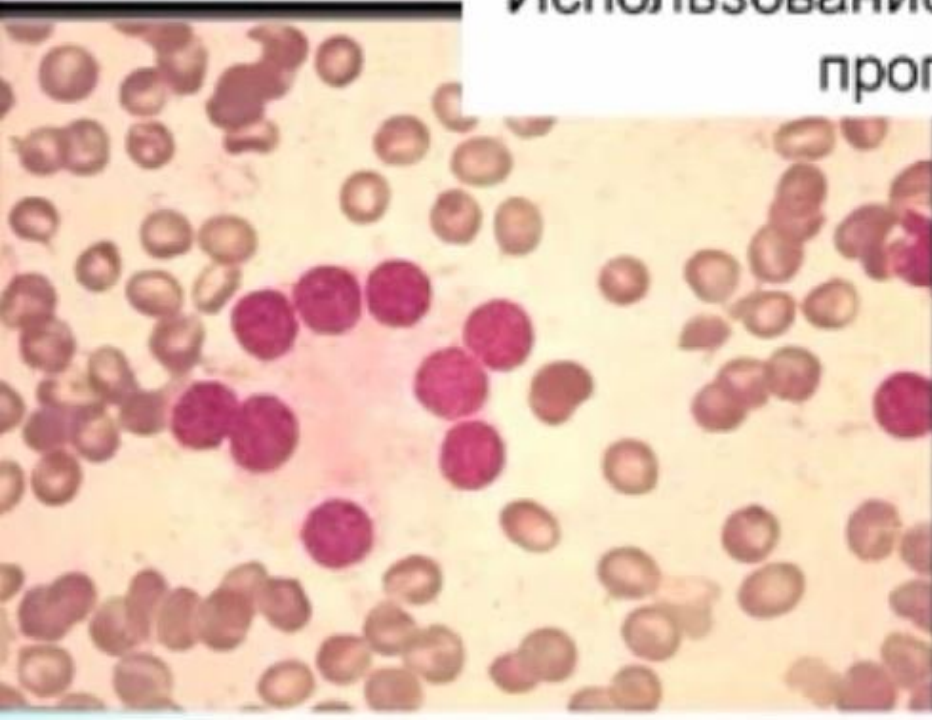


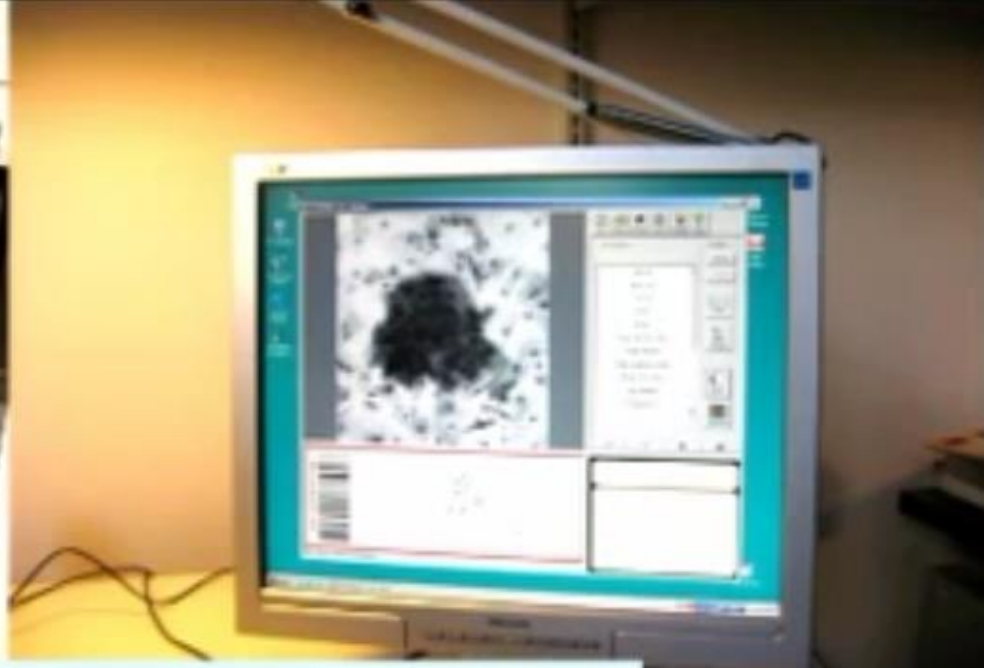
Перстневидноклеточный рак (атомно-силовая микроскопия)



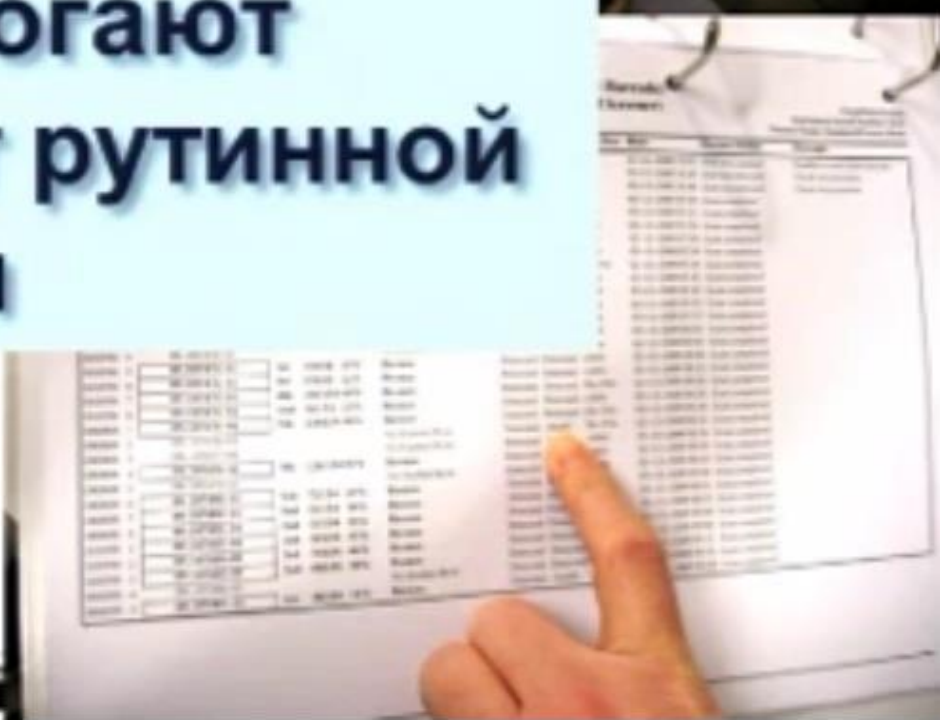


Использование компьютерных программ





**Роботы помогают
освободиться от рутинной
работы**



Роботы облегчают работу врача- цитолога, оставляя время на искусство интерпретации



Требования к врачам- ЦИТОЛОГАМ

- Цитолог должен обладать определенными личностными качествами
 - тщательность в работе
 - интерес и желание познавать новое
- Нормальная рабочая нагрузка:
 - цитотехнолог – не более 70 препаратов в день
 - цитолог – не более 30 препаратов в день

Коллегиальность

При сложностях и несовпадении (противоречиях) результатов исследования проводится консилиум, принимается коллегиальное решение с:

- клиницистом
- специалистом по клинической биохимии
- микробиологом
- цитогенетиком
- цитологом-гистологом
- специалистом по молекулярной биологии
- специалистом УЗИ, лучевой диагностики
- специалистом лабораторной гематологии

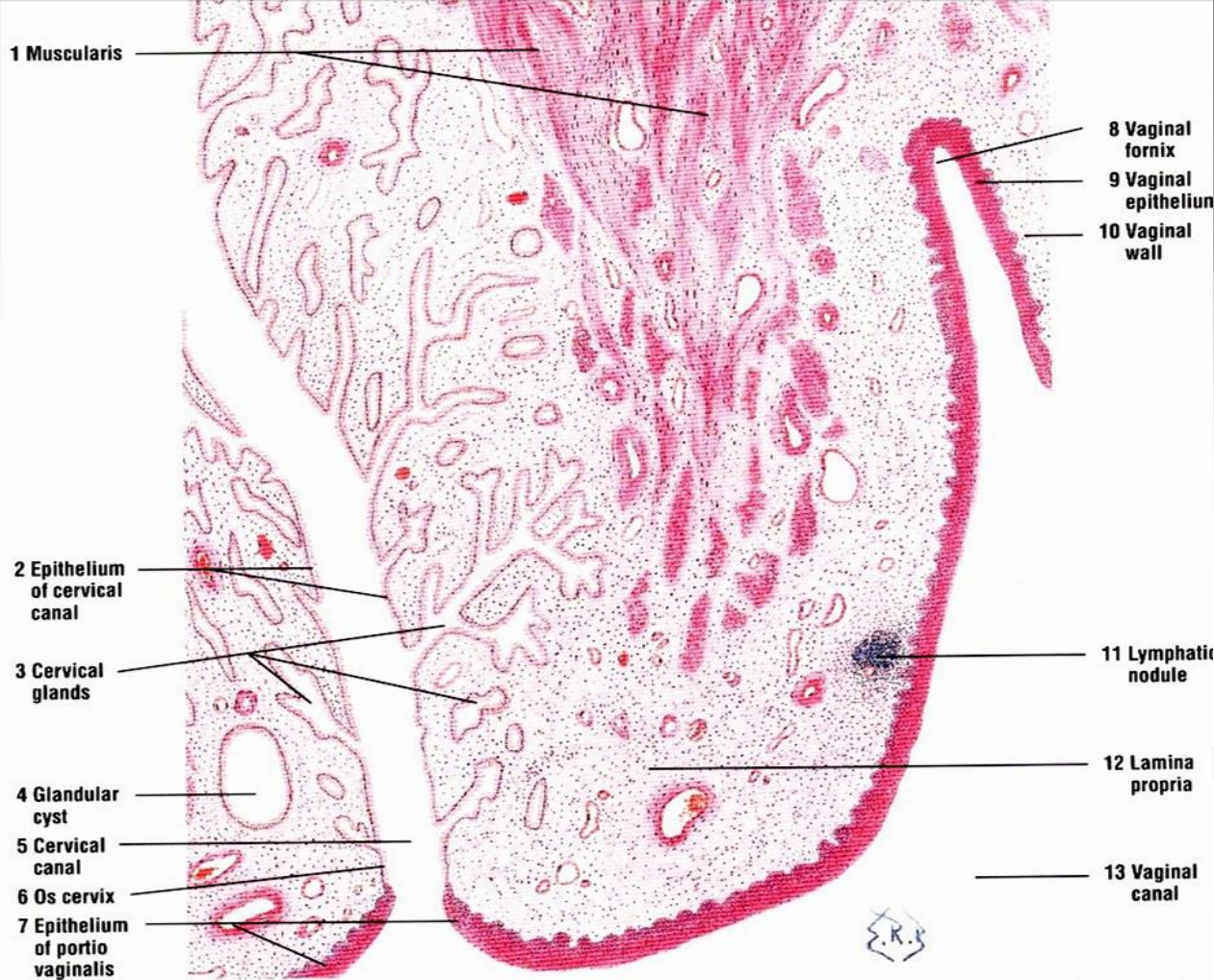
Важно

Современное оснащение цитологических лабораторий (микроскопы, оборудование для жидкостной цитологии, дополнительные методы)

- Выделение клинической цитологии как специальности требующей дополнительного образования и опыта работы; и должностей специалистов, связанных с выполнением цитологических исследований (врачи, биологи, средний медицинский персонал)
- Нормальная рабочая нагрузка

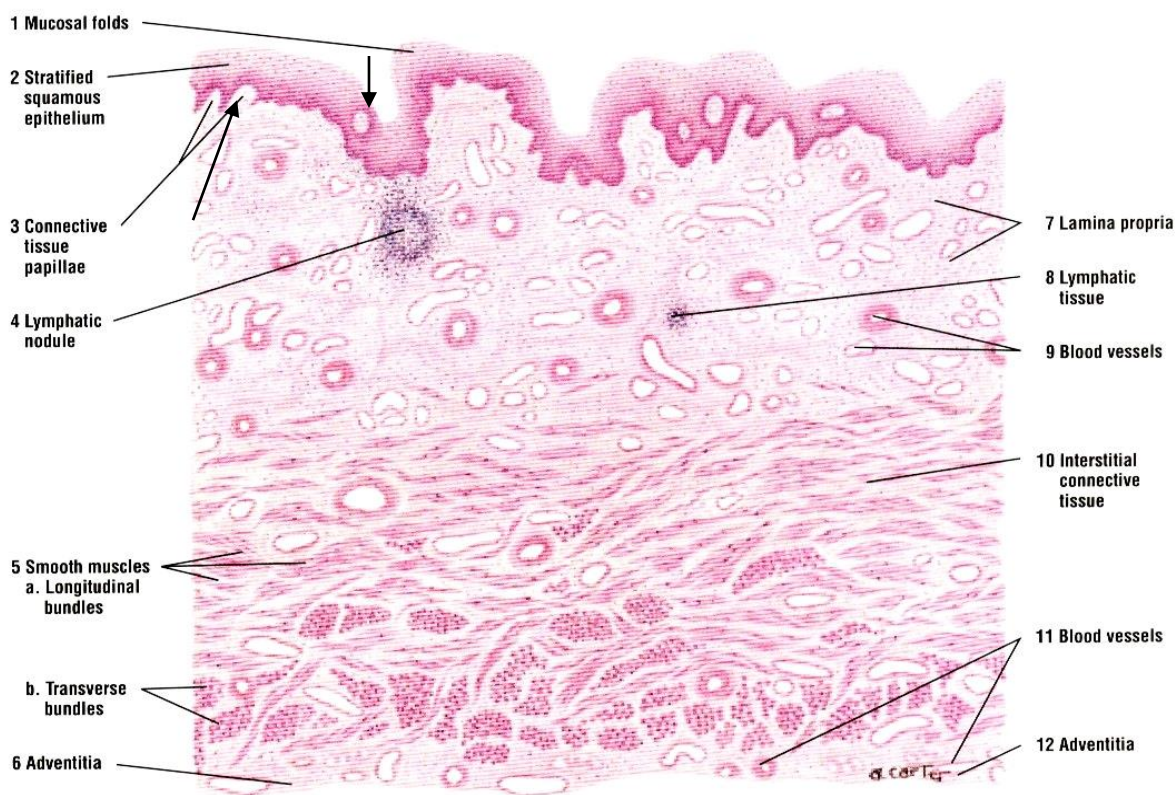
Важно

- Обучение и аттестация специалистов
- Разработка на местах рациональных схем (алгоритмов) использования различных методов и их сочетаний при исследовании материала из шейки матки и других органов и тканей
- Контроль качества (внутрилабораторный контроль качества и внешняя оценка качества) цитологических исследований материала, приготовленного традиционным методом и методом жидкостной цитологии



ШЕЙКА МАТКИ, Г & Э

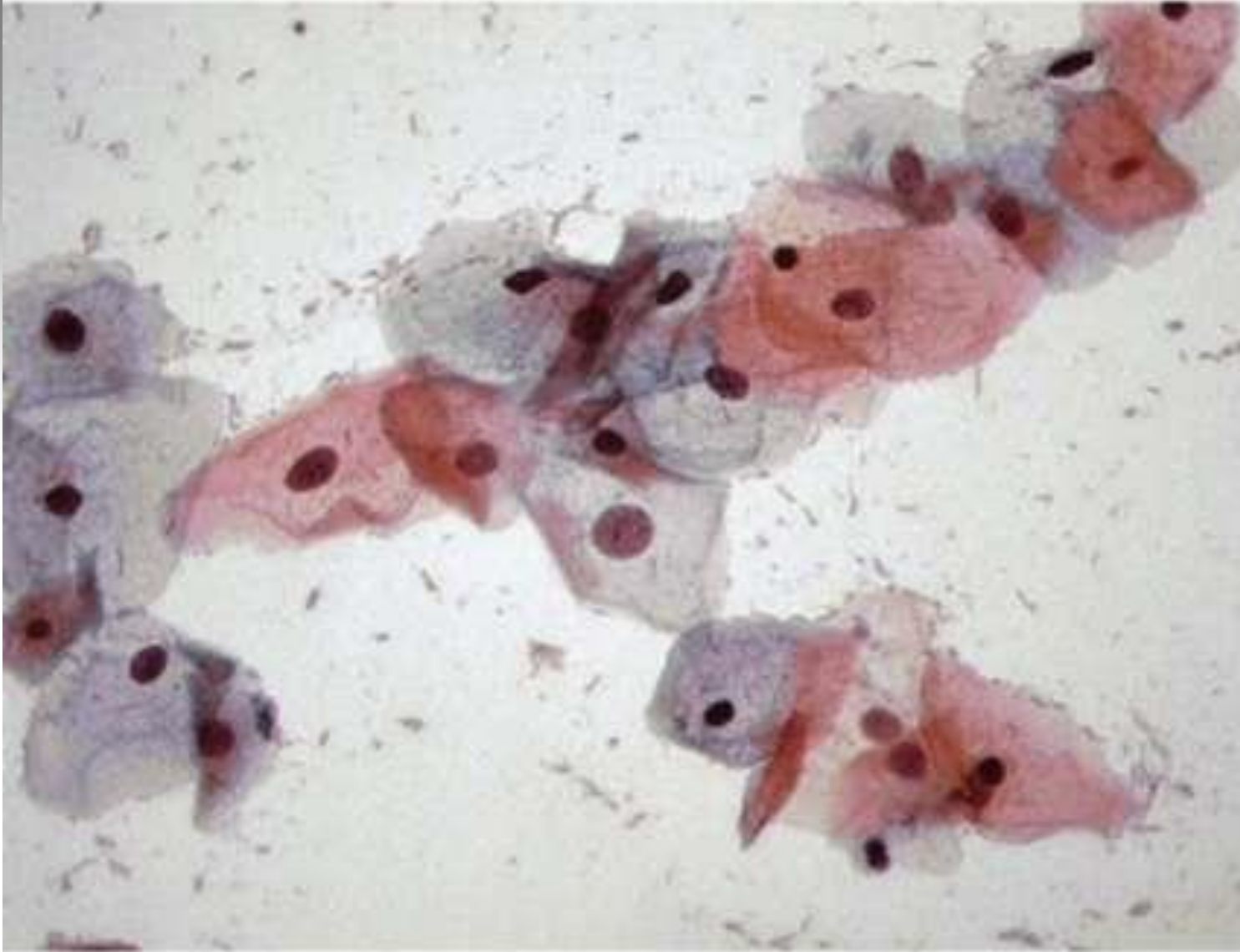
Шейка – это нижняя часть матки, включающая эндоцервикс и экзоцервикс. Эпителий эндоцервикса (цервикального канала) – однослойный цилиндрический с глубокими шейными железами. В области наружного зева однослойный цилиндрический эпителий резко переходит в многослойный плоский неороговевающий эпителий влагалища. Гладкая мышца мышечного слоя не столь компактна, как в теле матки. В собственной пластинке встречаются лимфоидные узелки.



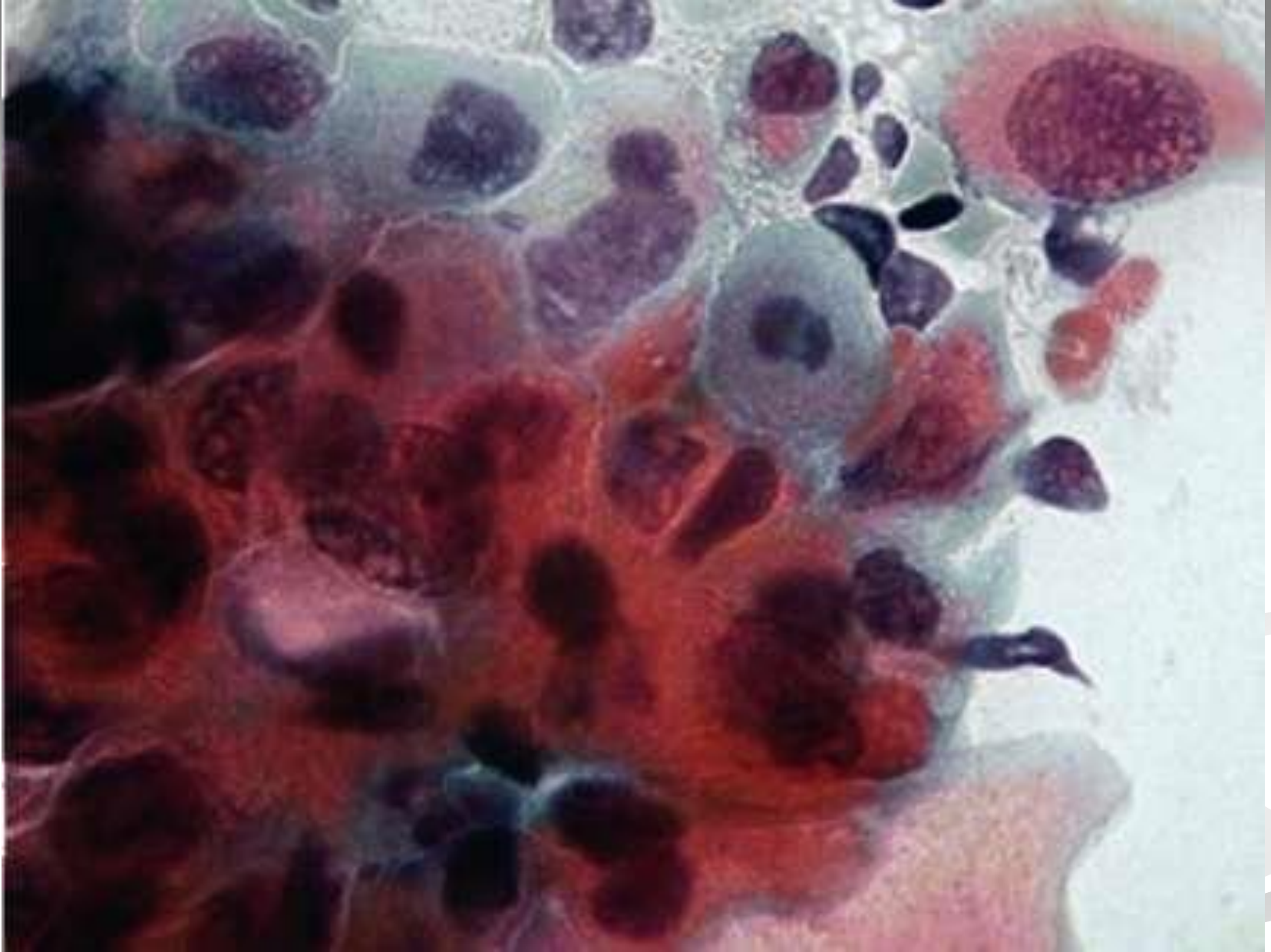
ВЛАГАЛИЩЕ, Г.-Э.

Мышечная оболочка содержит продольные и косые пучки гладкомышечной ткани. Во внутреннем слое могут быть также обнаружены циркулярно идущие волокна. Адвентиция – это рыхлая соединительная ткань с кровеносными сосудами и нервными волокнами.

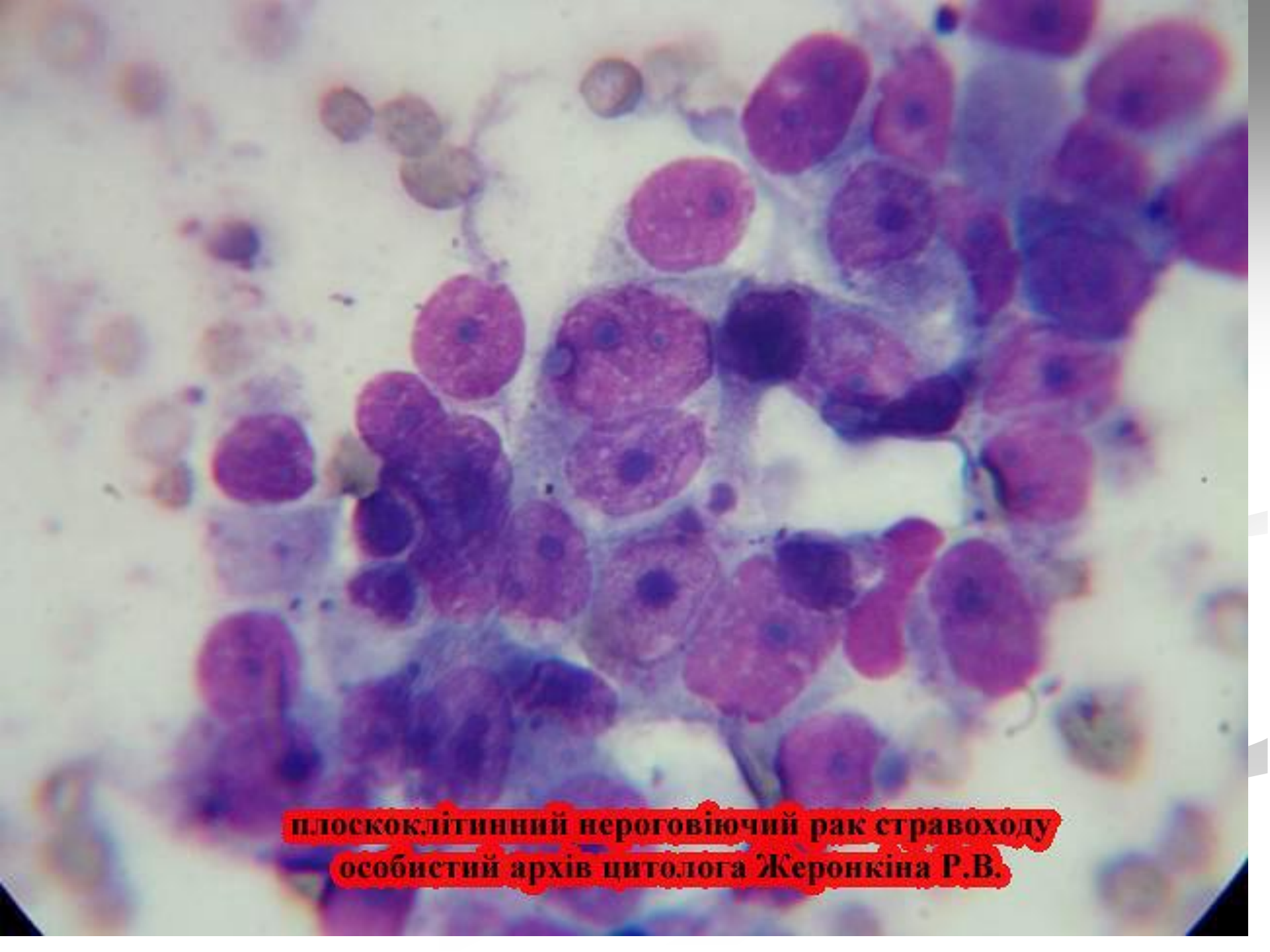
Эпителий влагалища подвержен циклическим изменениям. Во время эстрогеновой стимуляции эпителий влагалища утолщается, клетки начинают синтезировать и накапливать большие количества гликогена по мере того, как они перемещаются по направлению к просвету и слущиваются в него. Бактерии во влагалище метаболизируют гликоген в молочную кислоту, увеличивая таким образом кислотность влагалищного канала. В собственной пластинке влагалища нередко видны лимфоидные фолликулы.



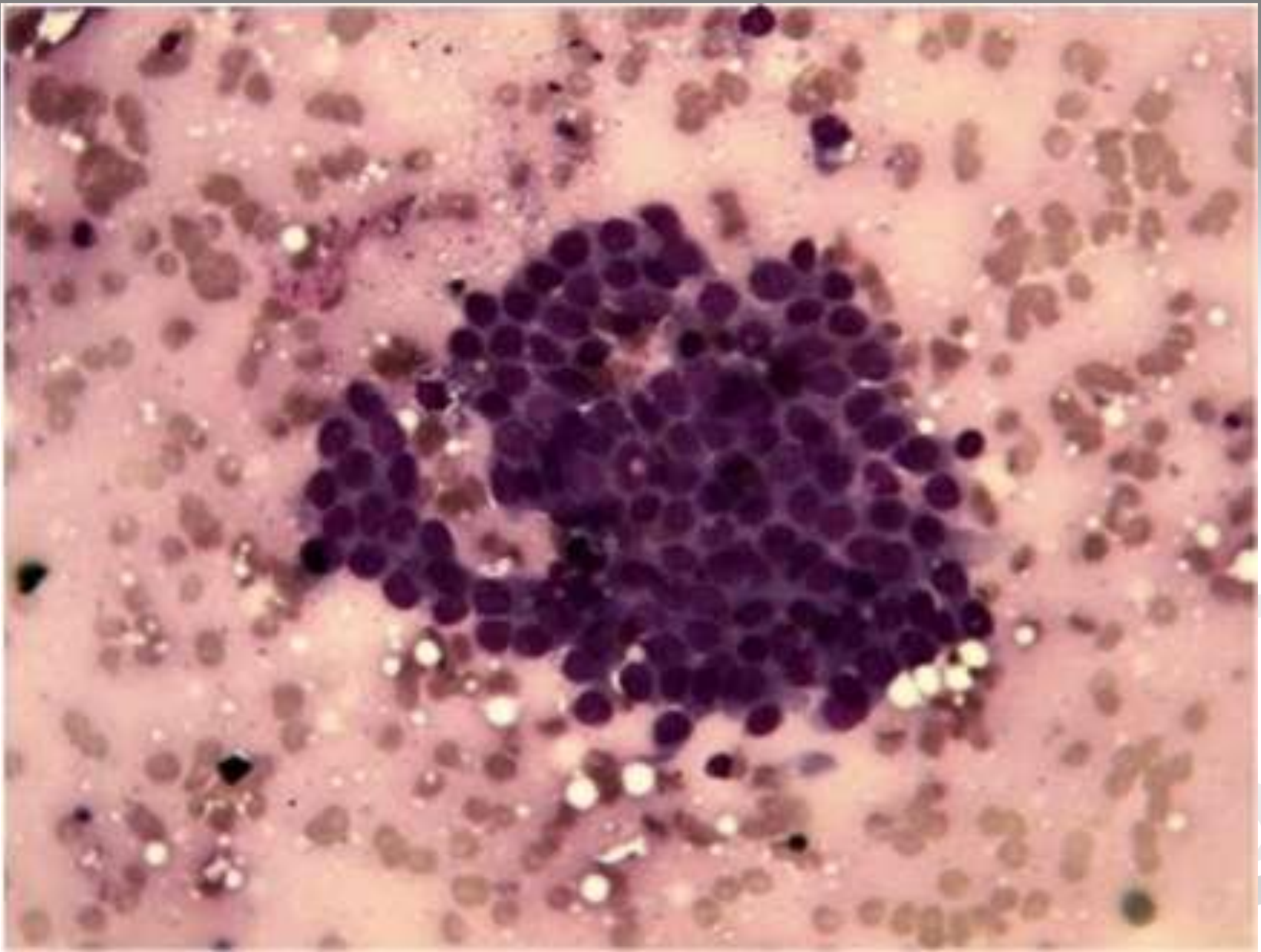
@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Мазок из шейки матки. Норма. Зрелые клетки плоского эпителия крупного размера; ядра мелкие, правильной овальной и округлой формы, окрашены равномерно. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -400



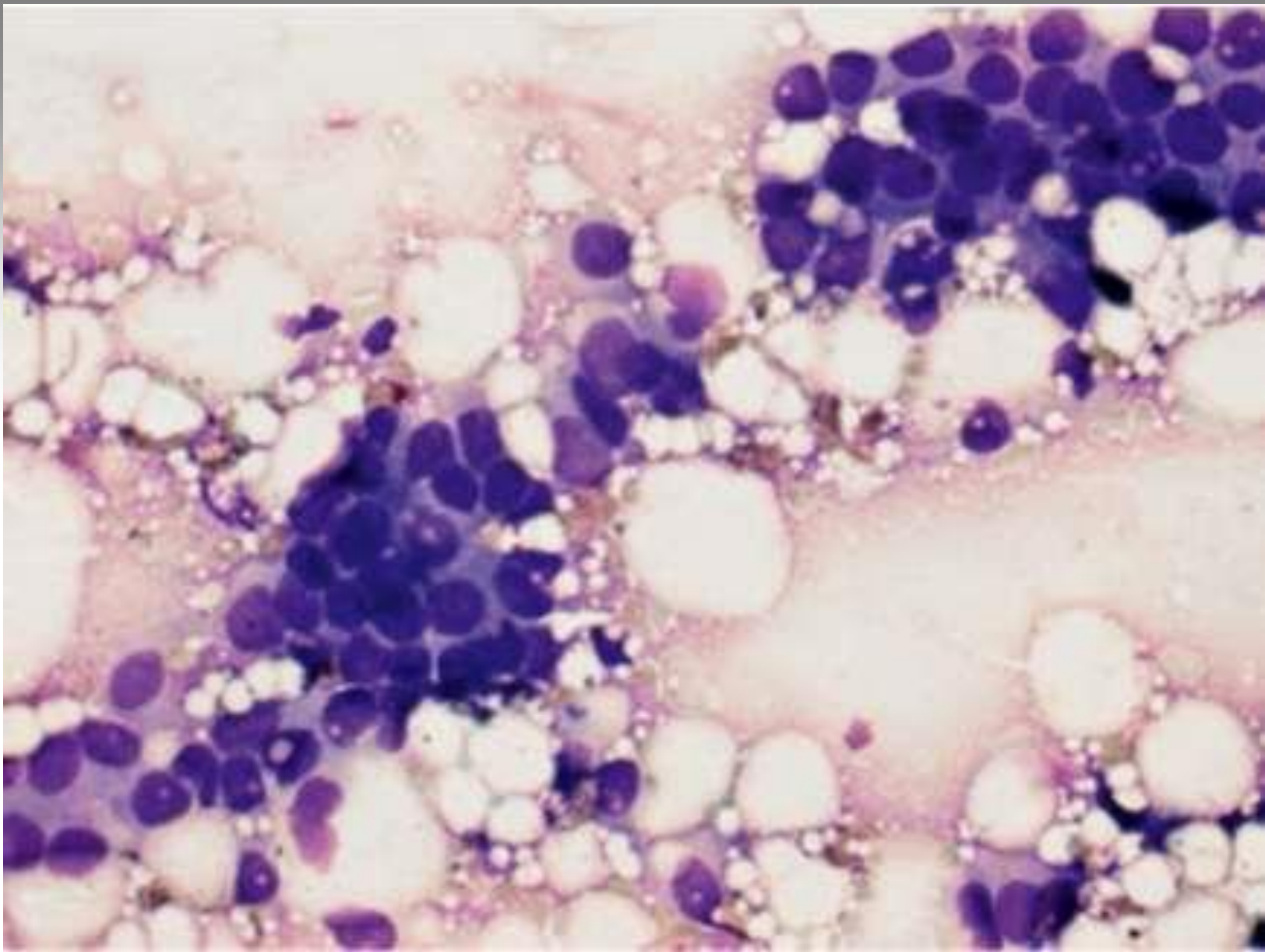
@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Мазок из шейки матки. Рак. Клетки плоского эпителия среднего и мелкого размера; ядра разные по размерам, неправильной формы; хроматин распределен неравномерно. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -1000



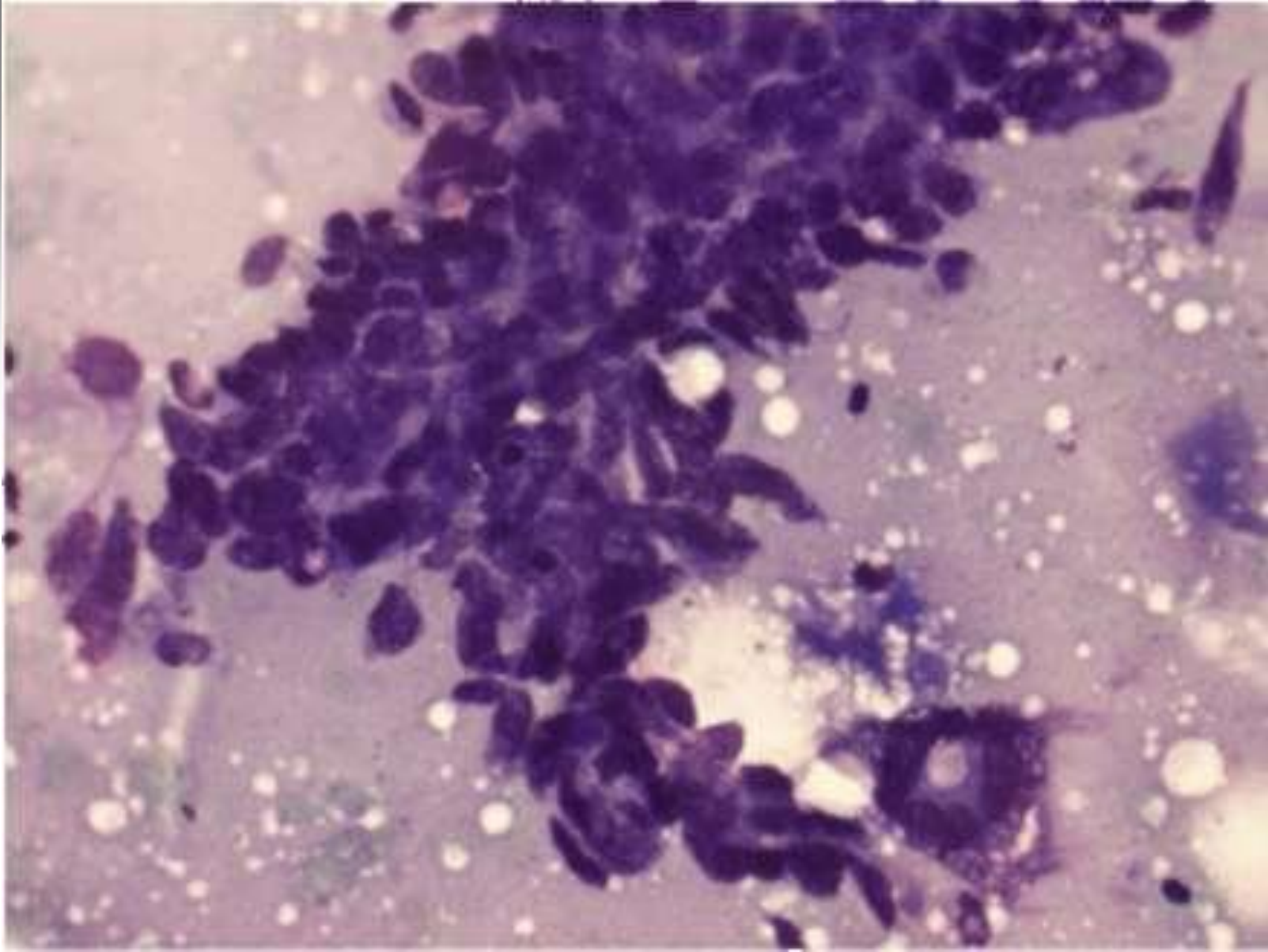
**плоскоклетинний нероговючий рак стравоходу
особистий архів цитолога Жеронкіна Р.В.**



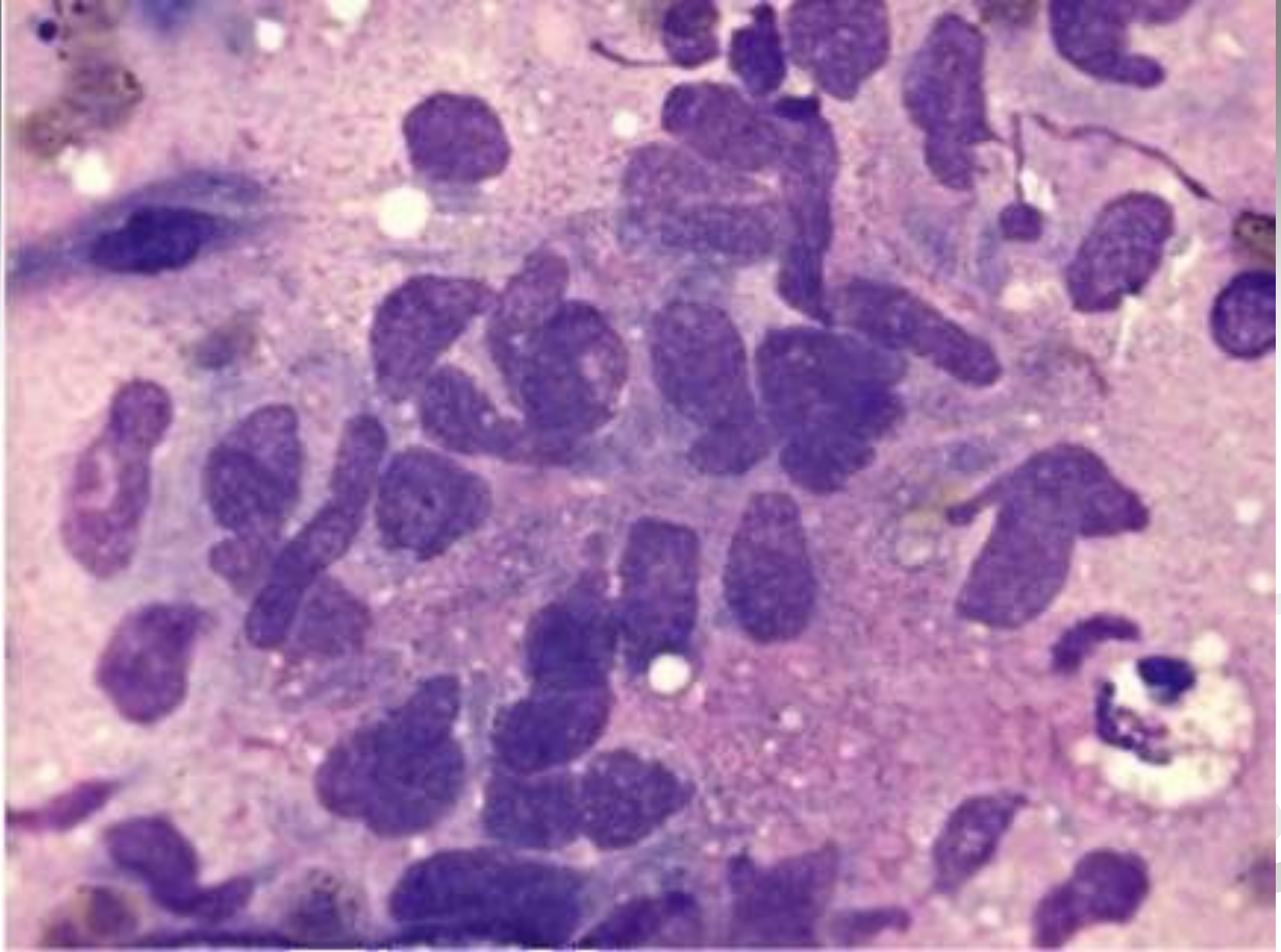
@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Структура сотоподобная. Упорядоченное расположение клеток в виде пчелиных сот - клетки в форме шестигранников. Пунктат молочной железы - фиброзно-кистозная болезнь.



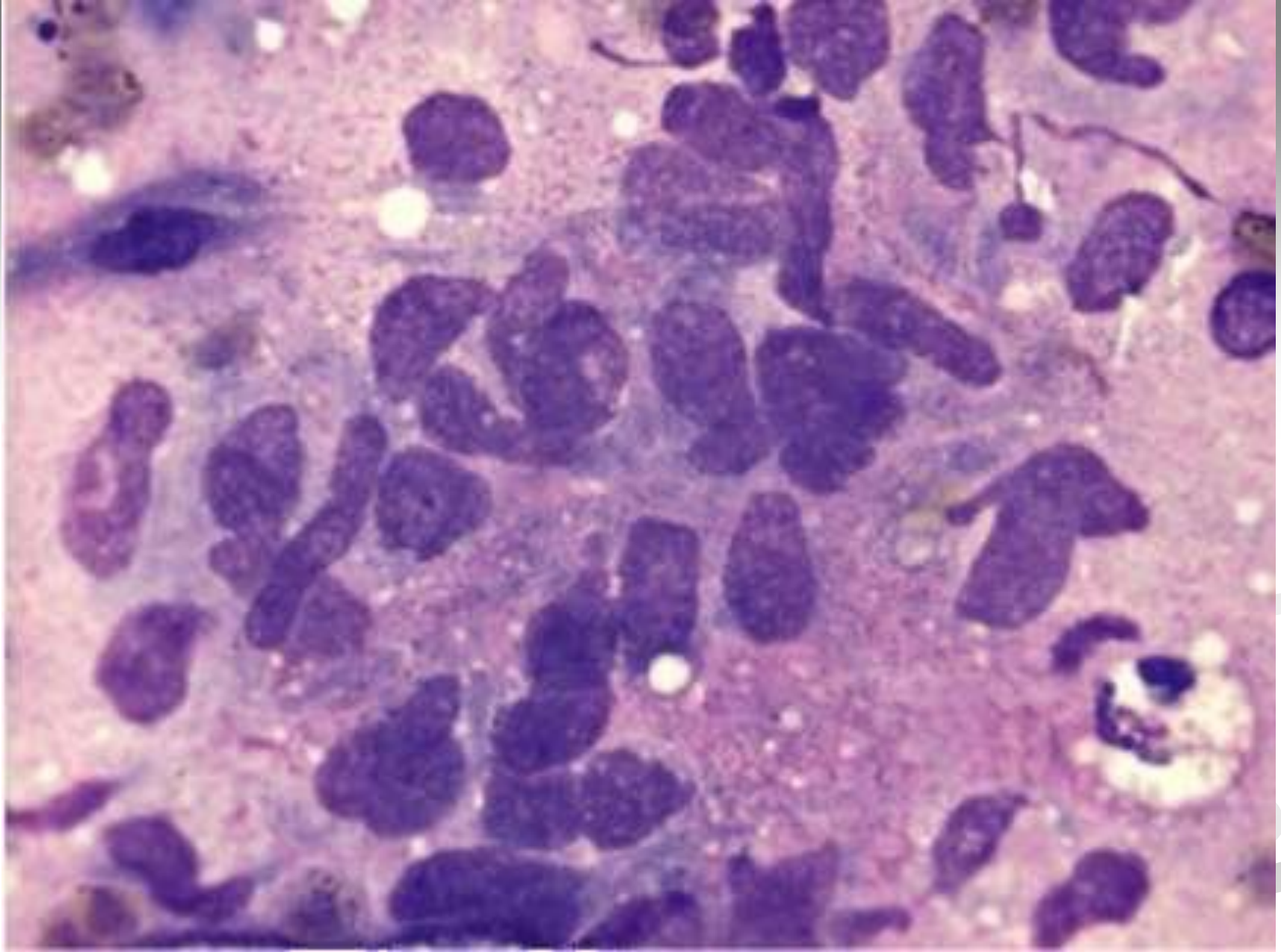
@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Комплексы в виде пластов неопределенной формы. Клетки располагаются беспорядочно, нагромождаются друг на друга. Пунктат молочной железы - рак. Окрашивание по Романовскому. Увеличение -400



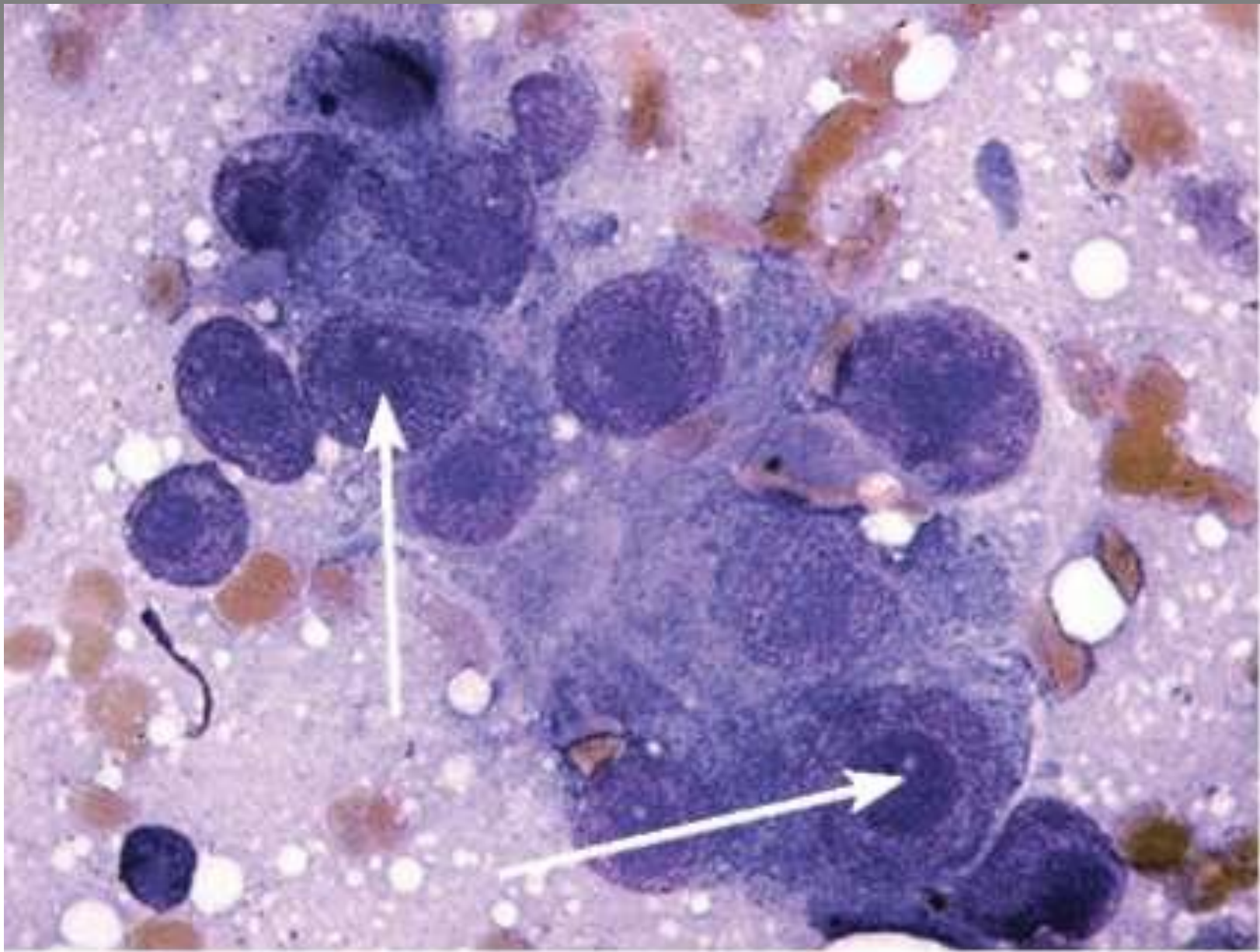
@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Пунктат молочной железы. Злокачественная листовидная опухоль (саркома). Клетки веретенообразной формы, расположены в виде «пучков». Окрашивание по Романовскому. Увеличение -400



@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Пунктат молочной железы. Злокачественная листовидная опухоль (саркома). Клетки веретенообразной формы, расположены в виде «пучков». Окрасивание по Романовскому. Увеличение -1000



@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Пунктат молочной железы. Злокачественная листовидная опухоль (саркома). Клетки веретенообразной формы, расположены в виде «пучков». Окрашивание по Романовскому. Увеличение -1000



@ Шабалова И.П., Полонская Н.Ю. Пунктат опухоли молочной железы. Рак. Комплекс неопределенной формы из клеток разных размеров, располагающихся на разном расстоянии друг от друга; ядра различных размеров и формы; хроматин распределен неравномерно, видны крупные ядрышки (отмечены стрелками). Окрашивание по Романовскому. Увеличение -1000.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

The background features several light gray, wavy, ribbon-like lines that flow from the bottom right towards the center of the slide, creating a sense of movement and depth.