

ЖИДКОСТНАЯ ЦИТОЛОГИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ

А. А. ТУГУЛУКОВА

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Россия

Оптимизация и развитие современной цитологии послужило толчком к созданию новой технологии приготовления цитологических препаратов – жидкостной цитологии (ЖЦ). Использование жидкостной цитологии позволяет длительно хранить, транспортировать материал из отдаленных лабораторий в централизованные, создавать архив и получать тонкослойные цитологические препараты со стандартной областью исследования, что ускоряет и облегчает работу цитолога. Стабилизирующий раствор позволяет сохранить клеточную суспензию для дальнейших контрольных и повторных исследований, в т. ч. для ИЦХ и молекулярно-генетических.

Ключевые слова: метод жидкостной цитологии, оптимизация цитологического исследования.

Информация об авторе:

Тугулукова А.А. – канд. мед. наук,
<https://orcid.org/0000-0001-5371-5593>

Автор, ответственный за переписку:

Тугулукова А.А. – e-mail: mnioict@mail.ru

Как цитировать:

Тугулукова А.А. Жидкостная цитология в диагностике опухолей. *Новости клинической цитологии России*. 2019; 23(1): 19-26.

Метод жидкостной цитологии – это технология приготовления цитологических препаратов из жидкой клеточной суспензии, разработанная с целью улучшения качества и стандартизации методики цитологического исследования [5, 20].

Термин «жидкостное приготовление препаратов» (liquid-based preparation) был введен в 1998 г. Предлагались различные термины для описания методологии промывки образцов в консервирующих жидкостях, которые впоследствии транспортируют в лабораторию, затем частично гомогенизируют и готовят тонкослойный препарат. Термин «жидкостное

приготовление препаратов», предложен для исключения путаницы, связанной с применением коммерческих названий. Процесс приготовления цитологических препаратов должен обеспечивать пригодность взятых образцов для диагностики и позволять наглядно демонстрировать интересующие специалистов клетки. Клетки должны быть сохранными, оптимально распределенными по стеклу, зафиксированными и окрашенными так, чтобы были видны хроматин и различия между клетками [20]. В 70-е годы прошлого века Германия профинансировала два научно-исследовательских проекта, основанных на компьютерном цервикальном скрининге: LEYTAS (Leyden Texture Analysis System) и FAZYTAN (автоматизированная система визуальной оценки цитологических препаратов). При проведении этих исследований выяснилось, что для оценки клеточного материала с помощью автоматизированных технологий, цитологические препараты должны отвечать определенным критериям. (табл. 1). Традиционный цитологический мазок не соответствовал этим требованиям. Проблема была решена благодаря получению тонкослойных цитологических препаратов с помощью сепарации и очищения клеток. Образец помещали в раствор, перемешивали для приготовления суспензии клеток, из которой клеточный материал с помощью специальных технологий наносили тонким слоем на стекло для дальнейшего микроскопического исследования. В результате появилась жидкостная цитология (liquid based cytology, LBC) [13].

В начале 70-х годов прошлого века проводятся комплексные исследования по ряду проблем, в т. ч. – автоматизации процессов диагностики злокачественных образований. В Латвийской ССР проводится разработка и внедрение в практику методики взятия материала, приготовления и окраски цитологических препаратов, пригодных для автоматизированного исследования в телевизионном анализаторе структур изображения – ТАСИ. Пригодность препаратов, взятых с помощью смыва, приготовленных по методу суспензии на предметном стекле и окрашенных по способу Лейшмана в устройстве ТАСИ, оценивались

Таблица 1

Цитологические препараты для использования машинами

Требование	Техническое решение
Изолированное размещение клеток	Изолированное размещение клеток
Размещение в одной оптической плоскости (монослой)	Монодисперсия
Высокая контрастность между ядром, цитоплазмой и фоном	Выделение клеток и их очищение
Чистый фон препарата	

по определенным показателям: 1) минимальная затрата времени для взятия и приготовления препаратов; 2) количество отдельно расположенных клеток; 3) соответствие спектра красителей спектральной характеристике видикона, примененного в автоматизированном устройстве ТАСИ, установленное при исследовании препаратов в фотоэлектрическом микроколориметре и цитоспектрофотометре; 4) степень выражения контраста фон – цитоплазма – ядро в препарате, определенная по 5-ти бальной системе; 5) возможность микроскопического исследования без дополнительного окрашивания [7].

Саккоманно предложил жидкостное приготовление цитологических препаратов в 1963 г. (за 33 года до того как стала употребляться соответствующая терминология) и в дальнейшем для приготовления препаратов ручным жидкостным методом стала использоваться модернизированная техника Саккоманно, которая требует только наличия центрифуги и вортекс-миксера [20].

Правильная интерпретация любого исследуемого цитологического препарата зависит от качества приготовления мазка. Процедура забора образца для всех автоматизированных технологий практически одинакова. Выбор метода фиксации определяется видом материала. После забора клеточного материала ее рабочая часть отделяется щеточкой и помещается в контейнер с жидкостью. Состав жидкостей запатентован и является буферной средой с низким содержанием спирта (метанола), что соответствует требованиям к транспортной и фиксирующей среде клеток. Фиксаторы модифицируют биоматериалы, сохраняют их целостность при последующих стадиях обработки. Пробы, полученные при использовании ЖЦ, могут быть двух типов: с фиксированным и нефиксированным клеточным материалом. Для получения проб используют специальные многокомпонентные растворы, в состав которых входят: фиксирующие спиртовые смеси 30–50% (этанол, метанол, изопропанол), которые также способствуют денатурации внеклеточных белков; муколитические вещества, разрушающие слизь; 2–3% растворы кетонов и альдегидов (фиксаторы клеточных структур); водно-солевые буферные растворы; полиолы и детергенты (дезагреганты и стабилизаторы жидких суспензий) [5, 20].

В настоящее время разработаны различные системы жидкостного приготовления тонкослойных цитологических препаратов, работа которых основана на разных физических принципах, такие как; цитоцентрифугирование (Cytospin, PapSpin), двойная мембранная фильтрация (E-Prep), естественная седиментация и центрифугирование в градиенте плотности (SurePath) и другие. Методы ЖЦ отличаются друг от друга степенью автоматизации – ручной способ, полуавтоматический и автоматический.

Ручной жидкостный метод дает возможность получить адекватные для оценки цитологические препараты, в процессе приготовления препаратов клеточные элементы подвергаются минимальному воздействию физических факторов, это позволяет получить хорошего качества, не измененные по форме и объему клетки как плоского, так и железистого эпителия. Благодаря низкой стоимости, ручной метод жидкостной цитологии может стать полезной альтернативой автоматизированным системам, в тех лабораториях, где установить автоматизированные системы не представляется возможным [6, 10, 11, 41, 44].

Впервые автоматизированная жидкостная технология для приготовления гинекологических мазков была утверждена для использования в США (Food and Drug Administration, FDA) в 1996 г. для системы ThinPrep2000™; Hologic Co., USA, а в 1999 г. для системы SurePath™; TriPath (Becton Dickinson, USA). Метод жидкостной цитологии хорошо зарекомендовал себя и успешно используется не только в гинекологическом скрининге, но и в диагностике опухолей различных локализаций [1, 8, 9, 12, 17, 37, 47, 49].

Системы CytoSpin (Thermo Shandon Inc), CytoSystem (Andreas Hettich GmbH), Cyto-Tek® (Sakura Finetek), Cytopro (Wescor Inc., США) и аналогичные методы – это технология, при которой концентрация и уплощение клеток на стекле происходит под действием центробежной силы, т.е. перенос клеток из суспензии на поверхность стекла осуществляется цитоцентрифугированием, при этом получают тонкослойные высококачественные препараты. Монослойные препараты, полученные с использованием данного метода, сохраняют все типы клеток используемой суспензии, сохранность клеток и структурного компонента. Универсальные, разной производительности лабораторные цитоцентрифуги при

Таблица 2

Преимущества и недостатки метода жидкостной цитологии – автоматизированные технологии

Преимущества	Недостатки
Стандартизированная подготовка препарата	Более высокие требования к оборудованию и материально-техническому обеспечению
Снижение количества неудовлетворительных препаратов (почти все мазки могут быть исследованы)	Цитологические препараты, приготовленные методом жидкостной цитологии, отличаются от традиционных
Клетки обрабатываются осторожно с целью предупреждения повреждений, деформаций	Врачам-цитологам необходима соответствующая подготовка
Возможность использования биологического материала из консервирующей жидкости для других исследований: цитометрии, иммуноцитохимии, молекулярной диагностики	
Клетки на стекле распределяются монослоем	

помощи специализированных роторов обеспечивают седиментацию клеток из жидких суспензий на ровные стекла (без потери клеток) для быстрого получения высококачественных образцов методом ЖЦ и достижения максимальной защиты оператора, имеют гибкую систему, легко адаптируемую к конкретным задачам цитологического исследования. Специальная разновидность контейнеров для образцов позволяет получить жидкостные цитологические препараты с переменным диаметром окошка от 5 до 22 мм, работать с живыми клетками, использовать любые способы фиксации (любых фирм производителей разных составов, в т.ч. и самостоятельно приготовленную «среду накопления»), сохранить клеточный и структурный компоненты, удалять, мешающие микроскопии факторы, избежать потери диагностически значимых клеток, создавать на 1 слайде от 1 до 8 зон для исследования, регулировать влажность препарата при помощи специальных фильтров-вставок, применять различные методики окраски, азур-эозином – различными модификациями метода Романовского, методом Папаниколау, проводить ИЦХ и молекулярно-генетические исследования. Для адекватного количественного ИЦХ анализа требуется как минимум 250–300 клеток в препарате. Хороший пунктат – это главное условие полноценного как цитологического, так и иммуноцитохимического исследования. Клеточность в 10% цитоспиновых препаратов может быть низкой, не превышать 50–80 клеток на одном стекле, что не зависит от способа приготовления, а объясняется плохим взятием материала. При анализе рутинных цитологических мазков удовлетворительное качество препаратов отмечается в 87% случаев, тогда как в 13% качество мазков не позволяет провести иммуноцитохимическое исследование. Подобные результаты подтверждаются целым рядом научных работ. Технологии цитоцентрифугирования демонстрируют все преимущества ЖЦ [4, 5, 20].

Мембранная фильтрация, к которой относят системы E-Prep Processor (Han Bi Medical Co.), CellPrep Plus (Biodyne), получила широкое распространение для получения клеток из образцов любой локализации. Принцип фильтрации заключается в пропускании клеточной суспензии через фильтр и осаждении клеток на его поверхности. Мембранная фильтрация впервые была внедрена в середине 50-х годов прошлого века, чтобы сконцентрировать клетки рака из жидких образцов большого объема. При помощи фильтрации из образца удаляются детрит, элементы крови, слизь и другие затрудняющие микроскопию элементы. Остаются только эпителиальные клетки, которые автоматически переносятся с фильтрующей мембраны на предметное стекло тонким слоем. Эта технология позволяет получить достаточное для диагностики количество клеток в препарате, независимо от исходной клеточности образцов. За счет отрицательного давления в процессе фильтрации этот метод дает возможность получения уплощения клеток, что улучшает их визуализацию. [20].

Естественная седиментация и центрифугирование в градиенте плотности SurePath – метод «клеточно-обогащения», т.к. основан на центрифугировании в плотном градиенте. Технология Sure Path (Bekton

Dikinson) – это полуавтоматизированная закрытая система, используемая как для гинекологического Pap-скрининга, так и для исследования негинекологических образцов [5, 17, 20, 21, 39, 50].

В последние годы проводится большое число исследований, для того, чтобы оценить жидкостную цитологию в сравнении с традиционным методом. Они направлены на описание морфологии жидкостных цитологических препаратов и оценку эффективности ЖЦ в диагностике патологических процессов различных органов. Эти исследования показывают, что ЖЦ превосходный метод для надежного сбора клеток на стеклопрепарат из образца с малым числом клеток [57].

Имелась разница между жидкостной и традиционной цитологией с точки зрения количества клеток в образце, которые могут быть оценены. Больше число клеток в жидкостных препаратах улучшило точность диагностики и, напротив, в более чем половине случаев традиционные мазки не могли быть оценены, т.к. было собрано недостаточное число клеток. Большая разница в процентном соотношении образцов, которые можно было оценить, обусловлена несколькими факторами. Даже при малом числе клеток в образце, клетки в жидкостной цитологии собраны надежно, равномерно распределены на стекле и трудно отшелушиваются (снижена потеря клеток). Несмотря на то, что диагностическая специфичность ЖЦ была ниже по отношению к биопсии, диагностическая специфичность и точность оказалась выше в ЖЦ, по сравнению с традиционным методом цитологической диагностики [23].

В исследовании факторов, влияющих на адекватность цитологических образцов в жидкостных препаратах, было выявлено, что большинство исследованных факторов существенно не влияло на цитологическую адекватность или клеточность [30, 58].

Жидкостная цитология является эффективным диагностическим инструментом в цитологической диагностике респираторного тракта, результаты сопоставимы с традиционным методом.

В исследовании Zendehtrokh N. с соавторами, проводилось сравнение диагностической эффективности жидкостной цитологии SP/TriPath и традиционных мазков на материале бронхиальных смывов и соскобов. В целом диагностическая эффективность SP была такой же хорошей, как и в традиционных мазках, не было никакой статистически значимой разницы. Лучшая сохранность клеток в CRR/TriPath в части случаев облегчала постановку диагноза, а в части случаев могла привести к ложноположительному диагнозу. В мелкоклеточных карциномах такие признаки как раздавливание клеток и формирование мозаичных структур были менее выражены в CRR/TriPath, но это не повлияло на диагностическую точность, а сокращение времени анализа одного стеклопрепарата значительно снижает стоимость исследования, в сравнении с ТП, и, таким образом, жидкостный метод является предпочтительным для бронхиальных смывов и соскобов [59].

Жидкостные и традиционные цитологические препараты в 82 случаях, подозрительных на рак легкого и опухоль средостения, подвергшиеся трансбронхиальной биопсии и трансторакальной аспирационной

биопсии сравнили с гистологическими заключениями. Жидкостная цитология соответствовала гистологическим заключениям в более высокой пропорции – 72% при сравнении с традиционной – 48,8%, т.к. процент адекватного материала в жидкостной цитологии был выше 85,37% по сравнению с традиционной – 56,1%. Оценка всех морфологических параметров была преимущественно эквивалентна в обоих методах, за исключением нескольких случаев [53].

Бронхиальная ЖЦ является хорошим дополнительным исследованием для фибробронхиопсии [31, 45, 56].

Совместное применение традиционного и жидкостного методов в диагностике злокачественных новообразований легких превосходит использование традиционного метода как единственного. Эти 2 метода должны применяться совместно для улучшения диагностики первичных и вторичных злокачественных опухолей легкого. Так, при отдельном анализе традиционного метода чувствительность составила 86,7%, жидкостного SurePath – 87,3% соответственно. При совместном анализе чувствительность достигла 90,4% [21].

В исследовании Robinson I, крупного числа исследований тонкоигольных аспирационных биопсий головы и шеи, жидкостная цитология имела эквивалентную чувствительность, специфичность, и число неадекватных образцов [48].

В исследовании Han Suk Ryu с соавторами, жидкостные препараты SurePath тонкоигольных аспирационных биопсий образований молочных желез продемонстрировали цитоморфологические изменения в сравнении с традиционным методом. Такие характеристики, как выраженная трехмерная конфигурация клеточных кластеров, частые и заметные ядрышки, были лучше представлены в препаратах SP. В целом, диагностическая эффективность традиционного и жидкостного методов была сопоставима, но оказалась слегка ниже для SP в сравнении с традиционным исследованием. Диагностическая точность, полученная 2 исследователями оказалась 87,6 % и 90,5% для SP в сравнении с 91,2% и 92,7% для традиционного метода, ретроспективно [50].

В исследовании, проведенном Березкиной И.С. с соавторами, диагностическая точность метода ЖЦ оказалась выше, чем метода традиционной цитологии в диагностике злокачественных опухолей в щитовидной железе (88% против 83%), особенно при наличии сопутствующего аутоиммунного воспалительного процесса. Метод ИЦХ экспрессии Ki-67 обладает 81,8% чувствительностью и 100% специфичностью в дооперационной диагностике рака щитовидной железы, а совместное определение HS (Histochemical Score) Ki-67 и проведение ЖЦ повышает чувствительность и специфичность дооперационной диагностики высокодифференцированного рака щитовидной железы до 100%. [2].

В одном исследовании, чувствительность в выявлении опухолевых заболеваний щитовидной железы оказалась в традиционных препаратах выше (74%), чем в жидкостной цитологии (67%), а специфичность была ниже в традиционных препаратах 58% в сравнении с жидкостными – 90% [3].

Исследование 253 тонкоигольных биопсий щитовидных желез, приготовленных жидкостными методами EasyPrep и SurePath не показало значительной разницы в чувствительности. Цитологический диагноз совпадал в 90,1%, несовпадение было связано с неравномерным распределением патологических клеток в препаратах. EasyPrep показал меньше трехмерных структур в доброкачественных процессах [14].

Chong Y. с соавторами (2017) провели систематический обзор с метаанализом, используя электронные базы данных, оригинальных статей, включающих цитогистологическую корреляцию данных сравнения точности жидкостных технологий TP, SurePath, LiquidPrep с традиционной цитологией при патологии щитовидной железы. Средняя величина неадекватных образцов ниже для 2 основных жидкостных методов SurePath и TP, чем в традиционной цитологии. Специфичность и чувствительность были такими же или слегка выше в ЖЦ при сравнении с традиционным методом. Описаны цитоморфологические изменения для каждого метода.

Описаны особенности морфологической картины для наиболее распространенных поражений слюнных желез. Акцент был поставлен на клеточные изменения, изменения внеклеточного материала и структурные изменения. Множество артефактов злокачественных и доброкачественных опухолей слюнных желез в жидкостной цитологии TP затрудняет диагностику для большинства патологов и цитологов. По этой причине неохотно используют жидкостную цитологию для этих поражений [26, 40, 46].

Описана хорошая сохранность клеточных элементов в жидкостной цитологии SurePath, с хорошо представленными деталями ядра и цитоплазмы, отсутствием затрудняющего визуализацию клеток фонового материала, при исследовании 52 тонкоигольных аспирационных биопсий лимфатических узлов с лимфаденопатиями [52].

Для определения цитологической разницы между лимфоидной тканью лимфомы (MALT-L) и неопухолевыми лимфоцитами в щитовидной железе использовался метод жидкостной цитологии. Suzuki A с соавторами пришли к заключению, что лимфоэпителиальные поражения не имеют надежных маркеров для диагноза лимфомы при использовании жидкостных препаратов. Крупные, набухшие голые и вытянутые ядра играют полезную роль в дифференциальной диагностике лимфомы щитовидной железы от неопухолевых лимфоцитов в жидкостных цитологических препаратах [55].

Проводились исследования, в которых применялась жидкостная цитология для жидкостей серозных полостей и тонкоигольных аспирационных биопсий, включая пункцию молочных желез, показавшие лучшую сохранность клеток, меньшую степень наслоения клеток друг на друга и отсутствие элементов, затрудняющих просмотр препарата (кровь, элементы воспаления, детрит) в сравнении с традиционной [29].

При исследовании 3171 плевральных и перитонеальных экссудатов методом жидкостной цитологии TP в сравнении с традиционной цитологией авторами документирована 88% чувствительность, 100% специфичность, 98% диагностическая точность, 98%

прогнозирование отрицательного результата и 100% прогнозирование положительного результата. Проведено иммуноцитохимическое исследование на дополнительных цитологических препаратах и клеточных блоках и существенной разницы в экспрессии не было получено. В 47 наблюдениях плевральных выпотов проведен анализ на EGFR мутацию и в 10 обнаружены мутации при немелкоклеточном раке легкого. Таким образом, остаточный материал жидкостной цитологии может использоваться для иммуноцитохимической оценки и молекулярного тестирования [49].

В исследовании Dadhich Н. с соавторами (2016) проанализированы достоинства и недостатки жидкостного метода в определении злокачественных клеток в плевральных, перитонеальных и перикардальных экссудатах в сравнении с традиционным методом, с применением статистического анализа. Не отмечалось статистически значимой разницы в отношении клеточности, клеточного распределения, и диагнозе злокачественности. Жидкостная цитология обеспечивает статистически значимый чистый фон и меньшие затраты времени на анализ препарата. Традиционный метод обеспечивает значительно лучшее окрашивание препарата и более четкие цитоморфологические признаки [15]. Таким образом, несмотря на 2 основных преимущества жидкостной цитологии – более короткое время просмотра и более чистый фон, традиционный метод дает лучшее качество окрашивания с более четкими цитоморфологическими признаками, что играет решающую роль в цитологической интерпретации [15].

Изменения в архитектонике и клеточной морфологии, потеря информативного фона в виде стромальных элементов и внеклеточного материала, описаны на тонкоигольных аспирационных биоптатах образцов, приготовленных методом жидкостной цитологии. В связи с этим, некоторые авторы выступают за то, что необходимо предварительное обучение для избежания диагностических ошибок [18, 19, 35, 50].

Цитоморфологические признаки тонкоигольных аспирационных биоптатов молочных желез были проанализированы в ряде исследований, в которых проводилось сравнение образцов, полученных методом жидкостной и традиционной цитологии. Сравнение проводилось по следующим критериям: клеточность, структурные признаки, клеточные изменения, изменения фона. Описаны цитоморфологические признаки, данные диагностической эффективности и роль вспомогательных тестов в жидкостной цитологической диагностике пунктатов молочной железы. [19, 25, 38, 39].

Клеточность в жидкостных препаратах выпотных жидкостей и тонкоигольных аспирационных биопсий была описана как эквивалентная, слегка снижена, или немного повышена [16, 35, 41, 50, 58].

Клеточные агрегаты были фрагментированы, уменьшены и менее отчетливые в препаратах жидкостной цитологии, клеточные кластеры уменьшены и клетки расположены разрозненно [35].

В других исследованиях описаны трехмерные структуры, которые более выражены и при доброкачественных и при злокачественных поражениях молочной железы. Присутствие мелких кластеров, по-

теря сцепления и трехмерное расположение клеток могут привести к ошибочному диагнозу злокачественности [19, 50].

Вследствие того, что клетки зафиксированы в жидкой среде, они могут иметь тенденцию к округлению и меньший размер, чем уплощенные клетки в традиционных препаратах [20, 35, 48].

В некоторых исследованиях показана плохая сохранность клеточных элементов и плохо представленные ядерные признаки в препаратах TP и набухшие (раздутые ядра) в SP [16, 42, 50].

Большинство исследований показали лучшую сохранность клеток с лучше представленными деталями ядер, включая строго очерченными, чаще более выраженными ядрышками. В более темный цвет окрашенные ядра (гиперхромазия) были найдены в обоих доброкачественных и злокачественных образцах молочной железы приготовленных методом SP [19, 28, 50].

В соответствии Feoli с соавторами (2013), ядерные изменения могут быть едва различимые в случаях тубулярной карциномы, папиллярной карциномы и низкодифференцированных инвазивных протоковых карциномах, и вследствие этого – высокая частота ложно-негативных диагнозов до обучения жидкостной цитологии [18]. Цитоплазма может быть плотной или перекрашенной, а клетки, расположенные по периферии клеточных агрегатов могут иметь рваную (потрепанную цитоплазму). Миоэпителиальные клетки (биполярные клетки) уменьшены в размере или уменьшены в числе в аспиратах молочной железы, приготовленных методом жидкостной цитологии. Некоторые миоэпителиальные клетки могут иметь и неповрежденную цитоплазму подобную цитоплазме фибробластов [19, 35].

Исследования согласованы в отношении присутствия чистого фона в негинекологических образцах, приготовленных методом жидкостной цитологии, как результат удаления таких элементов, создающих фон, как элементы крови, большое число элементов воспаления и клеточный детрит [16, 34, 35, 41, 50, 51, 58].

Присутствие лейкоцитов может помочь в диагностике воспалительного процесса [58]. В некоторых исследованиях установлено, что трудно определить то ли воспалительные клетки присутствуют в жидкостных образцах из лизированной крови или это истинный воспалительный процесс [35].

Воспалительный фон в жидкостных препаратах может также быть удален, а также может быть снижение или потеря внеклеточного материала, такого как слизь и фрагментов стромы. Фоновых элементов, затрудняющих исследование препарата, и артефактов, связанных с высушиванием на воздухе, значительно меньше в ЖЦ [18, 35, 42, 50, 51, 58].

Использование фиксирующих растворов на основе спирта позволяет приготовить не только цитологические препараты для световой микроскопии, но и использовать собранный материал в иммуноморфологии и молекулярно-генетических тестах, т. к. деструкция ДНК и РНК минимальна и структуры остаются стабильными в течение длительного периода времени. Следовательно, эта технология используется для других анализов, дополнительно к цитологии [20, 23].

По данным Kim W.Y. с соавторами, ЖЦ может иметь недостатки в долгосрочной сохранности ДНК из-за ускоренной деградации ДНК, по сравнению с алкоголь-фиксированными традиционными препаратами. Использование праймеров для амплификации фрагментов более короткого размера может быть полезно для уменьшения потери сигнала из-за деградации ДНК в ЖЦ [24].

Из материала, хранящегося в среде для жидкостной цитологии, могут быть приготовлены препараты Cell-blocks, дополнительные препараты ЖЦ для иммуноцитохимического окрашивания и молекулярного тестирования. Это важные дополнительные методы могут быть успешно выполнены для достижения окончательного диагноза [4, 22, 25, 27, 33, 36, 43, 54, 121].

Заключение

В настоящее время важность использования жидкостных технологий несомненна, т.к. они являются надежными, легко выполнимыми и имеют преимущества, в ряде случаев, нивелирующие недостатки традиционного метода. Существует достаточно большое число публикаций в области исследования патологических процессов негинекологических локализаций, что говорит о важности применения жидкостных технологий. Методы ЖЦ продолжают активно развиваться в этом направлении. Подавляющее большинство авторов отмечает существующие трудности в трактовке цитологической картины жидкостных цитологических препаратов из-за того, что подвергшийся обработке цитологический материал, погруженный в жидкую среду и подвергшийся обработке через центрифугирование, фильтрацию или осаждение в градиенте плотности меняет морфологию. В проведенных исследованиях, авторы описывают особенности цитологической картины при различных патологических процессах, а также ошибки, которые могут возникнуть при отсутствии навыков в трактовке цитологической картины жидкостных цитологических препаратов. Знание особенностей цитологической картины помогает цитологу избежать в дальнейшем ошибочных заключений и повысить точность ЖЦ.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Батороев Ю.К., Кислицина Л.Ю., Самарская О.С., Сосова Л.А., Комиссарова Э.К., Галиакберова О.Н., Лисичникова И.В. Результаты жидкостной цитологии патологических изменений эндометрия. *Новости клинической цитологии России*. 2017; 21(1-2): 22-3.
2. Березкина И.С., Саприна Т.В., Зима А.П., Исаева А.В., Латыпова В.Н., Мухамедов М.Р., Базилевич Л.Р., Попов О.С., Касоян К.Т., Брынова О.В., Бразовская Н.Г. Возможности традиционной и жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимической детекцией некоторых молекулярных маркеров в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреодология*. 2016; 12(1): 38-45.
3. Брынова О.В., Касоян К.Т., Шабалова И.П., Зима А.П., Исаева А.В., Саприна Т.В. Метод жидкостной цитологии в диагностике заболеваний щитовидной железы. *Клин. лаб. диагностика*. 2016; 61(4): 225-8.
4. Волченко Н.Н., Савостикова М.В. *Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей*. М.: «Репроцентр М», 2010: 236.
5. Крюкова В.А. Преаналитические технологии в современных цитологических исследованиях. *Справочник зав. КДЛ*. 2008; (9): 11-16.
6. Родионова О. М., Назарова И.В., Тихонов Я.Н. Жидкостная технология CLEAR PREP в цитологической диагностике заболеваний шейки матки. *Новости клин.цитол. России*. 2017; 21(1-2): 75-6.
7. Рошонок М.П. Цитологический метод при массовых гинекологических профилактических осмотрах с применением автоматизированного устройства. *ТАСИ. дис. ... канд. мед. наук*. Рига, 1979; 22.
8. Сушинская Т.В., Волченко Н.Н., Доброхотова Ю.Э., Мельникова В.Ю., Петров А.Н., Тугулукова А.А., Вознесенский В.И., Поминальная В.М. Эффективность цитологической диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии и рака шейки матки в зависимости от способа взятия материала. *Онкогинекология*. 2017; (3): 51-9.
9. Шабалова И.П., Касоян К.Т. *Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки. Цитологический атлас. 4-е издание исправленное и дополненное*. М.: Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2016; 320: 1122 ил.
10. Alves V.A., Bibbo M., Schmitt F.C., Milanezi F, Longatto Filho A. Comparison of manual and automated methods of liquid-based cytology. A morphologic study. *Acta Cytol*. 2004; (48-2): 187-93.
11. Arul P. Utility of manual liquid-based cytology and conventional smears in the evaluation of various fine-needle aspiration samples. *J. Cytol*. 2016;33(4):177-181.
12. Bizzarro T., Martini M., Capodimonti S., Straccia P., Lombardi C.P., Pontecorvi A., Larocca L.M., Rossi E.D. Young investigator challenge: the morphologic analysis of noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features on liquid-based cytology. Some insights into their identification. *Cancer Cytopathol*. 2016; 124(10): 699-710.
13. Bollmann R. Liquid-based cytology for risk-adapted cervical screening // *Gynakol Geburtsmed Gynakol Endokrinol*. 2008; 4 (2): 164-80.
14. Chong Y., Baek K.H., Kim J.Y., Kim T.J., Lee E.J., Kang C.S. Comparison of EasyPrep(®) and SurePath(®) in thyroid fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol*. 2016; 44(4): 283-90.
15. Dadhich H., Toi P.C., Siddaraju N., Sevvanthi K. A comparative analysis of conventional cytopreparatory and liquid based cytological techniques (Sure Path) in evaluation of serous effusion fluids. *Diagn Cytopathol*. 2016; 44(11): 874-9.
16. Dey P., Luthra U.K., George G., Zuhairy F., George S.S., Haji B.I. Comparison of ThinPrep and conventional preparations on fine needle aspiration cytology material. *Acta Cytologica*. 2000; 44: 46-50.
17. Fan Y.B., Wang Q.S., Ye L., Wang T.Y., Wu G.P. Clinical application of the SurePath liquid-based Pap test in cytological screening of bronchial brushing for the diagnosis of lung cancer. *Cytotechnology*. 2010; 62: 53-9.
18. Feoli F., Ameye L., Van Eeckhout P., Paesmans M., Marra V., Arisio R. Liquid-based cytology of the breast:

- pitfalls unrecognized before specific liquid-based cytology training – proposal for a modification of the diagnostic criteria. *Acta Cytologica*. 2013; 57: 369-76.
19. Gerhard R., Schmitt F.C.. Liquid-based cytology in Fine-Needle Aspiration of Breast Lesions: a review. *Acta Cytologica*. 2014; 58: 533-42.
 20. Gill G. W. *Cytopreparation: Principles & Practice*. Springer. New York. 2013: 437.
 21. Gong D., Chen T., Qiyuan L., Nian L., Xueying S. Surepath liquid-based cytology combined with conventional bronchial brushing smears in the diagnosis of primary and secondary pulmonary malignant tumors. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2017; 10(4): 4115-22.
 22. Hansen T., Pedersen H., Brauner V., Hariri J. Control specimens for immunocytochemistry in liquid-based cytology. *Cytopathology*. 2011;22(4):243-6.
 23. Imura J., Abe K., Uchida Y., Shibata M., Tsunematsu K., Sathoh M., Miwa S., Nakajima T., Nomoto K., Hayashi S., Tsuneyama K.. Introduction and utility of liquid-based cytology on aspiration biopsy of peripheral nodular lesions of the lung. *Oncol Lett.* 2014; 7(3): 669-73.
 24. Kim W.Y., Oh S.Y., Kim H., Hwang T.S. DNA degradation in liquid-based cytology and its comparison with conventional smear. *Diagn Cytopathol.* 2016;44(5):450-8.
 25. Konofaos P., Kontzoglou K., Georgoulakis J., Megalopoulou T., Zoumpouli C., Christoni Z., Papadopoulos O., Kouraklis G., Karakitsos P. The role ThinPrep cytology in the evaluation of estrogen and progesterone receptor content of breast tumors. *Surg. Oncol.* 2006; 15: 257-66.
 26. Kumar M., Katiyar S., Sagar M., Kumari M., Goel M.M. Liquid-based cytology versus conventional cytology in fine-needle aspirates of salivary gland neoplasms. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2018; 61(1): 45-9.
 27. Kwon H., Kim W.G., Eszlinger M., Paschke R., Song D.E., Kim M., Park S., Jeon M.J., Kim T.Y., Shong Y.K., Kim W.B. Molecular diagnosis using residual liquid-based cytology materials for patients with nondiagnostic or indeterminate thyroid nodules. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2016; 31(4): 586-91.
 28. Lee H., Han M., Yoo T., Jung C., Son H.J., Cho M. Evaluation of nuclear chromatin using grayscale intensity and thresholded percentage area in liquid-based cervical cytology. *Diagn Cytopathol.* 2018; 46(5): 384-9.
 29. Lee Y.M., Hwang J.Y., Son S.M., Choi S.Y., Lee H.C., Kim E.J., Han H.S., An J.Y., Han J.H., Lee O.J. Comparison of diagnostic accuracy between CellprepPlus® and ThinPrep® liquid-based preparations in effusion cytology. *Diagn Cytopathol.* 2014; 42(5): 384-90.
 30. Lee Y.J., Kim D.W., Jung S.J., Baek H.J. Factors that influence sample adequacy in Liquid-Based Cytology after Ultrasonography-Guided Fine-Needle Aspiration of Thyroid Nodules: A Single-Center Study. *Acta Cytologica*. 2018; 62(4): 253-8.
 31. Li D., Wan T, Su Y., Ding M., Wu J., Zhao Y. Liquid-based cytological test of samples obtained by catheter aspiration is applicable for the bronchoscopic confirmation of pulmonary malignant tumors. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014; 7: 2508-17.
 32. Luu M.H., Fischer A.H., Pisharodi L., Owens C.L. Improved preoperative definitive diagnosis of papillary thyroid carcinoma in FNAs prepared withboth ThinPrep and conventional smears compared with FNAs prepared with Thin Prep alone. *Cancer Cytopathol.* 2011; 119(1): 68-73.
 33. Martini M., Capodimonti S., Cenci T., Bilotta M., Fadda G., Larocca L.M., Rossi E.D. To Obtain More With Less: Cytologic Samples With Ancillary Molecular Techniques-The Useful Role of Liquid-Based Cytology. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2018; 142(3): 299-307.
 34. McGoogan E., Colgan T.J., Ramsy I., et al. Cell preparation methods and criteria for sample adequacy. IAC Task Force Summary. *Acta Cytol.* 1998; 42(1): 25-32.
 35. Michael C.W., Hunter B. Interpretation of fine-needle aspirates processed by the Thin Prep technique: cytologic artifacts and diagnostic pitfalls. *Diagn Cytopathol.* 2000; 23: 6-13.
 36. Mishra S., Husain N., Awasthi N.P., Pradeep Y., Roohi R., Saxena S. Liquid-based cytology: do ancillary techniques enhance detection of epithelial abnormalities? *Arch Gynecol Obstet.* 2018; 298(1): 159-69.
 37. Naito Y., Kawahara A., Okabe Y., Ishida Y., Sadashima E., Murata K., Takase Y., Abe H., Yamaguchi T., Tanigawa M., Mihara Y., Kondo R., Kusano H., Nakayama M., Shimamatsu K., Yano H., Akiba J. SurePath® LBC improves the diagnostic accuracy of intrahepatic and hilar cholangiocarcinoma. *Cytopathology*. 2018; 9(4): 349-54.
 38. Nishimura R., Aogi K., Yamamoto T., Takabatake D., Takashima S., Teramoto N., Kagawa A., Morita S. Usefulness of liquid-based cytology in hormone receptor analysis of breast cancer specimens. *Virchows Arch.* 2011; 458(2): 153-8.
 39. Osugi M., Kinoshita K., Sugita A., Kito K., Maeda T. Expression of p63 immunostaining in liquid-based cytology (BD SurePath) of breast fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol.* 2018; 46(10): 845-52.
 40. Parfitt J.R., McLachlin C.M., Weir M.M. Comparison of ThinPrep and conventional smears in salivary gland fine-needle aspiration biopsies. *Cancer.* 2007; 111: 123-129.
 41. Pawar P.S., Gadkari R.U., Swami S.Y., Joshi A.R. Comparative study of manual liquid-based cytology (MLBC) technique and direct smear technique (conventional) on fine-needle cytology/fine-needle aspiration cytology samples. *J. Cytol.* 2014; 31(2): 83-6.
 42. Perez- Reyes N., Mulford D.K., Rutkowski M.A., Logan-Young W., Dawson A.E. Breast fine-needle aspiration: a comparison of thin-layer and conventional preparation. *Am. J. Clin. Pathol.* 1994; 102: 349-53.
 43. Prigenzi K.C.K., Heinke T., Salim R.C., Focchi G.R.A. Dual p16 and Ki-67 Expression in Liquid-Based Cervical Cytological Samples Compared to Pap Cytology Findings, Biopsies, and HPV Testing in Cervical Cancer Screening: A Diagnostic Accuracy Study. *Acta Cytol.* 2018; 62(2): 104-14.
 44. Rahangdale L., Budwit D., Asgari D., Ohadugha A.L. Manual Liquid-Based Cytology: A Clinical Pilot Study of the VitroPrep™ Cytology Processing Kit. *Acta Cytol.* 2014; 58(4): 373-7.
 45. Ramieri M.T., Marandino F., Visca P., Salvitti T., Gallo E., Casini B., Giordano F.R., Frigieri C., Caterino M., Carlini S., Rinaldi M., Ceribelli A., Pennetti A., Alò P.L., Marino M., Pescarmona E., Filippetti M. Usefulness of conventional transbronchial needle aspiration in the diagnosis, staging and molecular characterization of pulmonary neoplasias by thin-prep based cytology: experience of a single oncological institute. *J Thorac. Dis.* 2016; 8(8): 2128-37.
 46. Rarick J.M., Wasman J., Michael C.W. The utility of liquid-based cytology in salivary gland fine-needle aspirates: experience of an academic institution. *Acta Cytol.* 2014; 58(6): 552-62.
 47. Ren S., Solomides C., Draganova-Tacheva R., Bibbo M. Overview of nongynecological samples prepared

with liquid-based cytology medium. *Acta Cytol.* 2014; 58(6): 522-32.

48. Robinson I. A. diagnostic head and neck fine needle aspiration service can be provided using liquid-based cytology only. *Cytopathology.* 2017; 28(1): 24-30.

49. Rossi E.D., Bizzarro T., Schmitt F., Longatto-Filho A. The role of liquid-based cytology and ancillary techniques in pleural and pericardic effusions: an institutional experience. *Cancer Cytopathol.* 2015; 123(4): 258-66.

50. Ryu H.S., Park I.A., Park S.Y., Jung Y.Y., Park S.H., Shin H.S: A pilot study evaluating liquid-based fine needle aspiration cytology of breast lesions: a cytomorphological comparison of SurePath liquid-based preparations and conventional smears. *Acta Cytol.* 2013; 57: 391-9.

51. Scarpa Carniello J.V., Pareja E., Santos-Zabala M.L., Edelweiss M. Diagnostic dilemmas and pitfalls in Thin-Prep® cytology of breast fine needle aspiration biopsy: Report of Six Cases with Histological Correlates. *Diagn Cytopathol.* 2017; 45(7): 655-61.

52. Singh P., Rohilla M., Dey P. Comparison of liquid-based preparation and conventional smear of fine-needle aspiration cytology of lymph node. *J. Cytol.* 2016; 33(4): 187-191.

53. Singh G., Agarwal P., Goel M.M., Kumar M., Singh D.P. Conventional vs. Liquid Based Cytology in Fine Needle Aspirates of Lung and Mediastinal Masses. *J. Pulm. Respi.r Med.* 2017; 7: 400.

54. Sun X., Liu X., Xia M., Yang S., Fei L., Zhang M., Ma H., Wang L., Chen S., Yu L. The combined application of urinary liquid-based cytology with fluorescence in situ hybridization and p16/Ki-67 dual immunostaining is valuable for improving the early diagnosis of upper tract urothelial carcinomas. *Diagn Cytopathol.* 2017; 45(10): 895-902.

55. Suzuki A., Hirokawa M., Ito A., Takada N., Higuchi M., Hayashi T., Kuma S., Miyauchi A. Identification of Cytological Features Distinguishing Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma from Reactive Lymphoid Proliferation Using Thyroid Liquid-Based Cytology. *Acta Cytol.* 2018; 62(2): 93-8.

56. Thakur A., Bakshi P., Kaur G., Verma K. Liquid-based and conventional cytology for bronchial washings/bronchoalveolar lavages in the diagnosis of malignancy – An institutional experience. *J. Cytol.* 2017; 34(3): 127-32.

57. Tripathy K., Misra A., Ghosh J.K. Efficacy of liquid-based cytology versus conventional smears in FNA samples. *J Cytol.* 2015; 32(1): 17-20.

58. Veneti S, Daskalopoulou D, Zervoudis S, Papatotiriou E, Ioannidou-Mouzaka L. Liquid-based cytology in breast fine needle aspiration. Comparison with the conventional smear. *Acta Cytol.* 2003; 47: 188-92.

59. Zendehrokh N, Olejnicka B, Westman A, Dejmek A. Liquid-based cytology using CytoRich Red/Tripath is diagnostically equivalent to conventional smears for bronchial washings and brushings and reduces the cost. *Diagn Cytopathol.* 2013; 41(10): 876-84.

LIQUID CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS OF TUMORS: A REVIEW OF THE LITERATURE

A.A. TUGULUKOVA

P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Branch, National Medical Radiology Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

The optimization and development of modern cytology served as the impetus for the creation of a new technology for the preparation of cytological preparations – liquid cytology (LC). Using liquid cytology allows you to store, transport material from remote laboratories to centralized ones for a long time, create an archive and receive thin-layer cytological preparations with a standard viewing area, which speeds up and facilitates the work of the cytologist. Stabilizing solution allows you to save the cell suspension for further control and repeated studies, including for ICH and molecular genetic.

Keywords: liquid cytology.

Information about the authors:

Tugulukova A.A. – <https://orcid.org/0000-0001-5371-5593>

Corresponding author: Tugulukova A.A. – e-mail: mnioict@mail.ru

To Cite This Article: Tugulukova A.A. Liquid cytology in the diagnosis of tumors: a review of the literature. *Russian News of Clinical Cytology.* 2019; 23(1): 19-26. (In Russ.)

The author declare no conflict of interest.