

Московский научно-исследовательский
онкологический институт им. П.А. Герцена—филиал
федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Тараканова Ольга Вячеславовна

Совершенствование цитологической диагностики опухолей слюнных желез с
неопределенным потенциалом злокачественности

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)
3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук
Елена Николаевна Славнова

Москва — 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1 Эпидемиология опухолевых заболеваний слюнных желез.....	18
1.2 Основные методы диагностики опухолевых заболеваний слюнных желез.....	23
1.2.1 Методы лучевой диагностики опухолевых заболеваний слюнных желез	23
1.2.2 Тонкоигольная аспирационная биопсия слюнных желез.....	24
1.2.3 Использование Миланской классификация оценки цитопатологии слюнных желез (МСЦСЖ), особенности опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности (IVB категория МСЦСЖ).....	24
1.2.4 Клеточные блоки и иммуноцитохимические исследования на материале клеточных блоков	33
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	42
2.1 Характеристика материала для цитологического исследования.....	45
2.2 Характеристика материала и методов исследования.....	46
2.3 Получение и подготовка материала для цитологического исследования.....	47
2.4 Фиксация и окрашивание цитологических препаратов.....	48

2.5	Методика микроскопического исследования цитологических препаратов.....	48
2.6	Дополнительные методы пробоподготовки цитологических препаратов для иммуноцитохимического исследования.....	49
2.7	Иммуноцитохимическое исследование.....	51
2.8	Оценка полученных результатов при иммуноцитохимическом исследовании.....	53
2.9	Методика статистического анализа данных.....	54
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ.....		56
3.1	Традиционное цитологическое исследование опухолей слюнных желез с гистологической верификацией	56
3.2	Традиционное цитологическое и иммуноцитохимическое исследование опухолей слюнных желез на материале клеточных блоков с последующей гистологической верификацией на резецированном материале.	68
3.3	Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии базалоидных опухолей слюнной железы	85
3.4	Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии онкоцитарных/онкоцитоидных опухолей слюнной желез.....	116
3.5	Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии опухолей слюнных желез с веретенноклеточными элементами.....	138
3.6	Дифференциально-диагностические цитологические и	

иммуноцитохимические критерии опухолей слюнных желез со светлоклеточными элементами.....	146
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	153
ВЫВОДЫ.....	161
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	164
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	166
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения, 5-е издание, 2022 г. в сравнении с опухолями других органов / систем, новообразования слюнных желез демонстрируют одно из самых больших морфологических, фенотипических и генотипических различий, встречающихся в любой системе одного органа. Результаты цитологических исследований включены в большинство разделов в знак признания важности тонкоигольной аспирационной биопсии в качестве начального диагностического подхода, при этом рекомендована Миланская классификация отчетности цитопатологии слюнных желез (МСЦСЖ) [1].

МСЦСЖ в отдельную категорию выделяет опухоли слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP) - IVB [1,2]. Категория SUMP используется в тех случаях, когда нельзя исключить высокодифференцированную злокачественную опухоль с базалоидной, онкоцитарной/онкоцитоидной, светлоклеточной и веретенклеточной морфологией, соответственно, формулируется неопределенное цитологическое заключение [3, 4, 5, 6].

Верификация опухолевых узлов выполняется по цитологическому материалу, полученному с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) [7, 8-15]. В клинических рекомендациях министерства здравоохранения Российской Федерации 2024 «Злокачественные опухоли слюнных желез» (кодирование по МКБ: C08, C07, C06.9) и «Доброкачественные образования головы и шеи» (кодирование по МКБ: D11.0, D11.7, D11.9) предложено всем пациентам выполнять тонкоигольную аспирационную биопсию под УЗИ-навигацией с последующим цитологическим исследованием биопсийного

материала в целях дифференциальной диагностики различных новообразований, верификации диагноза и определения степени распространенности процесса.

Аспираты, оцененные категориями IVB (опухоли слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности), требуют применения дополнительных методов исследования до начала какого-либо лечения. Таким дополнительным методом является иммуноцитохимия на материале клеточных блоков, которая поможет в диагностике. Многие авторы сообщают об улучшенной диагностике пунктатов слюнных желез при использовании клеточных блоков [16, 17].

В настоящее время, применение клеточных блоков с последующим иммуноцитохимическим исследованием в диагностике опухолей слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности по МСЦСЖ, представляется актуальным так как дает возможность максимально приблизить цитологическую диагностику к «золотому стандарту» - гистологическому исследованию и снизить количество неопределенных цитологических заключений до начала какого-либо лечения. Необходимо подчеркнуть, что установление характера опухолевого процесса, особенно в части злокачественности и распространенности злокачественного процесса, безусловно актуально для хирургов онкологов при принятии лечебной тактики о резекции или эктомии, лимфодиссекции, возможности сохранения лицевого нерва и исключения реопераций.

В отечественной литературе отсутствуют работы по выполнению клеточных блоков с иммуноцитохимическим исследованием на материале ТИАБ опухолей слюнной железы, что делает актуальным выполнение нашего исследования. Для снижения количества ошибочных и неопределенных цитологических заключений актуальным представляется создание подробных дифференциально-диагностических цитоморфологических алгоритмов для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и предложение оптимальных иммуноцитохимических панелей для материала клеточных блоков.

Степень разработанности темы исследования

Категория IV В (SUMP) по МСЦСЖ является важной и диагностически сложной категорией, поскольку она охватывает широкий спектр опухолей слюнных желез и зарезервирована для гетерогенной группы случаев, в которых имеются цитоморфологические признаки, диагностирующие новообразование, но конкретная опухоль не может быть установлена и злокачественное новообразование не может быть исключено. В многих исследованиях, посвященных SUMP, сообщалось о большинстве случаев либо в базалоидных, либо в онкоцитарных / онкоцитоидных подкатегориях, и ни один случай не был классифицирован как клеточное новообразование с четкими цитоморфологическими признаками [52,53,54,55]. Так как категория SUMP субъективна, и независимые наблюдатели редко приходят к единому мнению, то для стратификации риска рекомендуется дополнительная детализация по цитоморфологическим подтипам с соответствующим дифференциально-диагностическим рядом. Что касается дополнительных цитологических методов исследования, то следует рассмотреть иммуноцитохимию на клеточных блоках. Еще в 1955 году Ричардсон и соавторы использовали клеточные блоки для образцов выпотной жидкости и пришли к выводу, что, метод позволяет распознавать гистологическую картину, эти препараты улучшают диагностику рака. Существует ограниченное количество исследований, посвященных применению дополнительных исследований с клеточными блоками, полученными с помощью ТИАБ слюнных желез (СЖ) [77-82,88-92]. Например, в многоцентровом исследовании на клеточных блоках Seena Tabibi MD Ancillary studies on cell blocks from fine needle aspiration specimens of salivary gland lesions: A multi-institutional study, авторы смогли дополнительно охарактеризовать: 1) атипичные лимфоциты, неопластические клетки или их происхождение, 2) матрикс на общем фоне (муцин или коллоид), 3) необычное проявление новообразований и метапластических изменений и 4) исключить метастатический процесс известной злокачественности.

Исследования, выполненные на клеточных блоках СЖ ТИАБ с достаточным количеством материала, помогли улучшить результаты диагностики за счет дальнейшей характеристики атипичных / неопластических клеток, особенно в категориях MSRSGC IVa–VI [159]. Однако, в этом и других аналогичных исследованиях не был сделан акцент на опухоли слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности и не представлены оптимизированные панели наиболее специфичных антител, к тому же, статей, посвященных протоколам иммуноцитохимии для клеточных блоков, очень мало. Из этого вытекает необходимость формирования оптимизированных, более коротких и наиболее специфичных панелей антител для решения диагностических задач с учетом ограниченности клеточного материала.

Дополнительная детализация по цитоморфологическим подтипам с соответствующим дифференциально-диагностическим рядом и использование оптимизированных иммуноцитохимических панелей на материале клеточных блоков позволит усовершенствовать цитологическую диагностику на догоспитальном этапе. Это очень важно для пациентов с новообразованиями слюнных желез, которые зачастую первоначально обращаются к врачам неонкологических специальностей (хирургам, челюстно-лицевым хирургам и т.д.). Получив от цитолога заключение о доброкачественности опухоли или SUMP, врачи выполняют удаление новообразования. В последующем, получив от патоморфолога заключение о злокачественном новообразовании, такие больные направляются к онкологу, которым необходимо выполнять реоперацию. Поскольку наиболее часто опухоли локализуются в ОСЖ, требуется работа в проекции ветвей лицевого нерва, которая в рубцовых тканях является затруднительной и может сопровождаться повышенным риском развития парезов и параличей. Таким образом, необходимость внедрения дополнительных методов морфологической диагностики для сокращения хирургических рисков и улучшения прогноза определили актуальность настоящего исследования.

Цель исследования

Повысить эффективность цитологической диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной, онкоцитарной/онкоцитоидной, светлоклеточной и веретенноклеточной морфологией путем разработки дифференциально-диагностических цитоморфологических алгоритмов и оптимальных иммуноцитохимических панелей на материале клеточных блоков.

Задачи исследования

1. Провести цитоморфологический и статистический анализ пунктатов опухолей слюнных желез и сопоставить с гистологическим исследованием на резецированном материале.
2. Провести цитоморфологический и статистический анализ иммуноцитохимических исследований на материале клеточных блоков опухолей слюнных желез с неопределенными цитологическими заключениями и сопоставить с гистологическим исследованием на резецированном материале.
3. Предложить новые дифференциально-диагностические цитоморфологические алгоритмы для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и базалоидной, онкоцитарной, веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией.
4. Предложить оптимизированные иммуноцитохимические панели на материале клеточных блоков для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и преимущественной морфологией для сокращения неопределенных цитологических заключений на догоспитальном этапе.
5. Оценить чувствительность, специфичность, точность исследований опухолей слюнных желез методом традиционной цитологии и иммуноцитохимии на клеточных блоках.

Научная новизна исследования

Полученные данные позволили провести анализ цитологического исследования пунктатов опухолей слюнных желез, анализ иммуноцитохимических

исследований на материале клеточных блоков опухолей слюнных желез с неопределенными цитологическими заключениями и сопоставить эти данные с гистологическим исследованием на резецированном материале.

При выполнении диссертационной работы с позиций цитоморфологических, иммуноцитохимических исследований на материале клеточных блоков и цитогистологических сопоставлений проведено научное обоснование новых дифференциально-диагностических цитоморфологических алгоритмов для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и базалоидной, онкоцитарной, веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией; предложены оптимизированные иммуноцитохимические панели на материале клеточных блоков для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и преимущественной морфологией.

Цитоморфологическая эффективность дифференциально-диагностических алгоритмов и оптимизированных иммуноцитохимических панелей проявилась в снижении неопределенных цитологических заключений на догоспитальном этапе и подтверждена высокими показателями чувствительности, специфичности, точности исследований опухолей слюнных желез методом традиционной цитологии и иммуноцитохимических исследований на клеточных блоках.

Теоретическая и практическая значимость

Проведен цитоморфологический и статистический анализ пунктатов опухолей слюнных желез, цитоморфологический и статистический анализ иммуноцитохимических исследований на материале клеточных блоков опухолей слюнных желез с неопределенными цитологическими заключениями и сопоставление с гистологическим исследованием на резецированном материале, показано распределение по категориям в соответствии с Миланской классификацией и риски малигнизации по категориям, данные подтверждены высокими показателями чувствительности, специфичности, точности исследований опухолей слюнных желез методом традиционной цитологии и

иммуноцитохимических исследований на клеточных блоках.

Представленные дифференциально-диагностические цитоморфологические алгоритмы опухолей с базалоидной, онкоцитарной/онкоцитоидной, светлоклеточной и веретенноклеточной морфологией и оптимальные панели антител для иммуноцитохимической диагностики этих опухолей позволяют снизить неопределенные цитологические заключения на догоспитальном этапе с целью планирования адекватного лечения и исключения реопераций.

Практические результаты работы рекомендуются для использования врачами клинической лабораторной диагностики при исследовании пункционного материала слюнной железы традиционным цитологическим методом с целью определения категории по МСЦСЖ, уточнения морфологического типа опухоли и степени ее злокачественности в категориях опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности по результатам иммуноцитохимических исследований на материале клеточных блоков для дальнейшей маршрутизации пациентов и назначения адекватного лечения. Результаты работы также могут использоваться в образовательных целях для формирования учебных модулей и методических пособий для ординаторов и врачей клинической лабораторной диагностики.

Методология и методы исследования

В представленной диссертационной работе выполнен цитоморфологический анализ материала тонкоигольной аспирационной биопсии опухолей слюнных желез 636 пациентов. 114 случая были категоризованы по МСЦСЖ как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной, онкоцитарной/онкоцитоидной, светлоклеточной и веретенноклеточной морфологией. 131 случай с неопределенными цитологическими заключениями оказался доступен для выполнения клеточных блоков и иммуноцитохимических исследований на догоспитальном этапе. Все 636 пациентов обследованы в Онкологическом центре №1 ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.С.

Юдина» Департамента здравоохранения Москвы и получили хирургическое лечение и гистологическое исследование на резецированном материале в Онкологическом центре №1 «ГКБ им. С.С. Юдина» или в других стационарах Департамента здравоохранения Москвы. Было выполнено цито-гистологическое сопоставление и сопоставления цитологических и иммуноцитохимических заключений с гистологическим диагнозом.

Препараты для традиционного цитологического исследования окрашены по Романовскому (Азур-Эозин) на автостейнере Leica Autostainer XL. Аспираты для клеточных блоков помещали в вials с транспортной средой CLEARprep с последующим центрифугированием, заключением осадка в объемлющую среду (агар-агар), фиксацией в формалине и стандартной гистологической проводкой в общей серии с биопсийным материалом в гистопроцессоре Leica ASP300S. Далее, клеточные блоки микротомировали для окраски гематоксилин-эозином (для контроля количественной адекватности субстрата) и окраски моноклональными антителами в общей серии с гистологическим материалом на иммуностейнерах Ventana Benchmark XT (universal staining system) с использованием Ultra View Universal DAB Detection Kit (Ventana) и на AutostainerLink48 (Dako), обработку материала выполняли с использованием Target Retrieval Solution на PT Link (Dako) при условии 97°C 20 мин. Стеклопрепараты изучены на световом микроскопе «Axio Scope.A1» (Carl Zeiss, Германия), объективы x10, x40, x100.

Статистическая обработка материалов проводилась с использованием расчетных таблиц в формате Excel, при помощи программы Statistica для Microsoft Windows, версия 12.0, программы StatTech v. 4.4.1 (разработчик - ООО "Статтех", Россия), а также онлайн калькуляторов. В качестве уровня статистической значимости принимали $p < 0,05$. Для расчета показателей чувствительности, специфичности, положительной прогностической ценности, отрицательной прогностической ценности и диагностической точности использовали стандартную четырехпольную таблицу сопряженности.

Положения, выносимые на защиту

1. Цитологические заключения об опухолях слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности и преимущественной морфологией предполагают продолжение диагностического поиска и обосновывают необходимость разработки дифференциально-диагностических цитоморфологических алгоритмов и оптимизированных иммуноцитохимических панелей, которые позволят на догоспитальном этапе до назначения лечения, в большинстве случаев, определить морфологический тип опухоли и сократить неопределенные цитологические заключения.

2. Сформированные из пункционного цитологического материала клеточные блоки будут максимально приближены к «золотому стандарту» - гистологическим блокам, и на материале клеточных блоков можно будет провести иммуноцитохимические исследования, что повысит эффективность цитологической диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности и преимущественной морфологией.

3. Выполнение сравнительного анализа результатов цитологического, иммуноцитохимического и гистологического исследований даст возможность оценить чувствительность, специфичность и точность цитологического исследования опухолей слюнных желез.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена этапностью планирования и выполнения работы, тщательным отбором материала, научной аргументированностью исходных теоретических положений, четкостью методических подходов. Использованы репрезентативные выборочные совокупности, большой объем исследовательского материала, современные методики сбора информации. Представленная в работе выборка из 636 пациентов с цитологической и гистологической верификацией, 114 из них категорированы по МСЦСЖ как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности, с

цитологической, гистологической и иммуногистохимической верификацией, микрофотографии, рисунки-алгоритмы, статистический анализ результатов исследований в виде графиков, диаграмм и таблиц, указывают на высокую степень достоверности и обоснованности полученных результатов, предложенных алгоритмов, цитоморфологических и иммуноцитохимических критериев оценки материала и практических рекомендаций диссертационной работы. Достоверность результатов исследования подтверждается комиссией МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (акт проверки первичной документации от 20.03.2025 г.), а также комиссией Онкологического центра №1 ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ» (акт проверки первичной документации от 21.03.2025 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты исследований внедрены в работу цитологической лаборатории Центра патологоанатомической диагностики и молекулярной генетики в Онкологическом центре №1 ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.С. Юдина» Департамента здравоохранения Москвы, цитологические и иммуноцитохимические заключения обследованных пациентов внесены в информационную систему LabForce и ЕМИАС (акт внедрения от 24.06.2025 года). Полученные результаты исследований также внедрены в учебно-педагогическом процессе кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России (акт внедрения от 02.07.2025 года).

Личный вклад автора

Автором лично разработан дизайн исследования, самостоятельно проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, сформулирована задача, требующая решения,

обоснована степень ее разработанности, определен методологический подход, выполнен сбор и анализ данных.

Личный вклад автора в науку заключается в научном обосновании и разработке алгоритмов дифференциальной диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности и преимущественной морфологией и в оптимизации иммуноцитохимических панелей.

Самостоятельно выполнена основная часть работы – изучение цитологических и иммуноцитохимических препаратов, анализ статистических данных, анализ медицинской документации (истории болезни, протоколы гистологических исследований), анализ данных проведенных исследований, проведение расчетов, обобщение результатов, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, подготовка материалов для публикаций по теме диссертационной работы, внедрение результатов исследования в деятельность медицинских и образовательных организаций. Автор лично докладывал результаты исследования на научно-практических конференциях российского уровня.

Публикации результатов исследования

По теме диссертационной работы опубликовано 5 научных работ, из них 5 в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России; в т.ч. 2 статьи в издании, входящем в базу данных SCOPUS.

Апробация работы

Проведение диссертационного исследования «Совершенствование цитологической диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности» одобрено Советом по этике научных исследований МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»

Минздрава России (протокол № 862 от 03.11.2022 г.) и Локальным этическим комитетом при Онкологическом центре №1 ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ» (протокол №13.2025 от 26.09.2025 г.).

Тема диссертации утверждена на Заседании Ученого совета ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (протокол №3 от 29.03.2023г., в окончательной редакции после корректировки темы протокол №7 от 06.05.2025г.). Апробация работы состоялась на заседании межотделенческой конференции отделения патологической анатомии отдела онкоморфологии, отделения онкоцитологии отдела онкоморфологии, отделения микрохирургии, отделения лекарственного лечения опухолей МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (протокол №27 от 29.09.2025.).

Основные результаты диссертации доложены на следующих научно-практических конференциях: VI Всероссийская научно-практическая конференция «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека» ЧООО «Ассоциация врачей онкологического профиля» при поддержке Российского общества патологоанатомов (19 ноября 2021 года г. Челябинск); XXVII Всероссийская научно-практическая конференцию с международным участием «Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией (6 апреля 2022 года, г. Москва); XIII Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (27-29 апреля 2022 года, Москва); II Всероссийский Конгресс с международным участием «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения – 2023» (01 июня 2023 года Москва Крокус Экспо); Российский диагностический саммит (05 октября 2023, Москва, Крокус Экспо); Российский диагностический саммит (03 октября 2024, Москва, Крокус Экспо); 10th Turkish National Cytopathology Congress. [EP-10] The Milan System for Reporting - standard in cytological diagnosis of Salivary Gland Cytopathology Istanbul. April 19th to 21st, 2024; 36th European Congress of Pathology. [E-PS-22-031] Use of the Milan classification in the cytological diagnosis of tumours of the salivary. Florence, Italy, September 07-11 2024; Московский онкологический форум 2025, Москва, 18-20 июня 2025 года.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспортам специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, пункту 8. Морфологические (цитологические) исследования биоматериала и 3.1.6. Онкология и лучевая терапия, пункту 2. Исследования на молекулярном, клеточном, органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы включает 159 источников: 5 отечественных и 154 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 56 рисунками, содержит 30 таблиц.

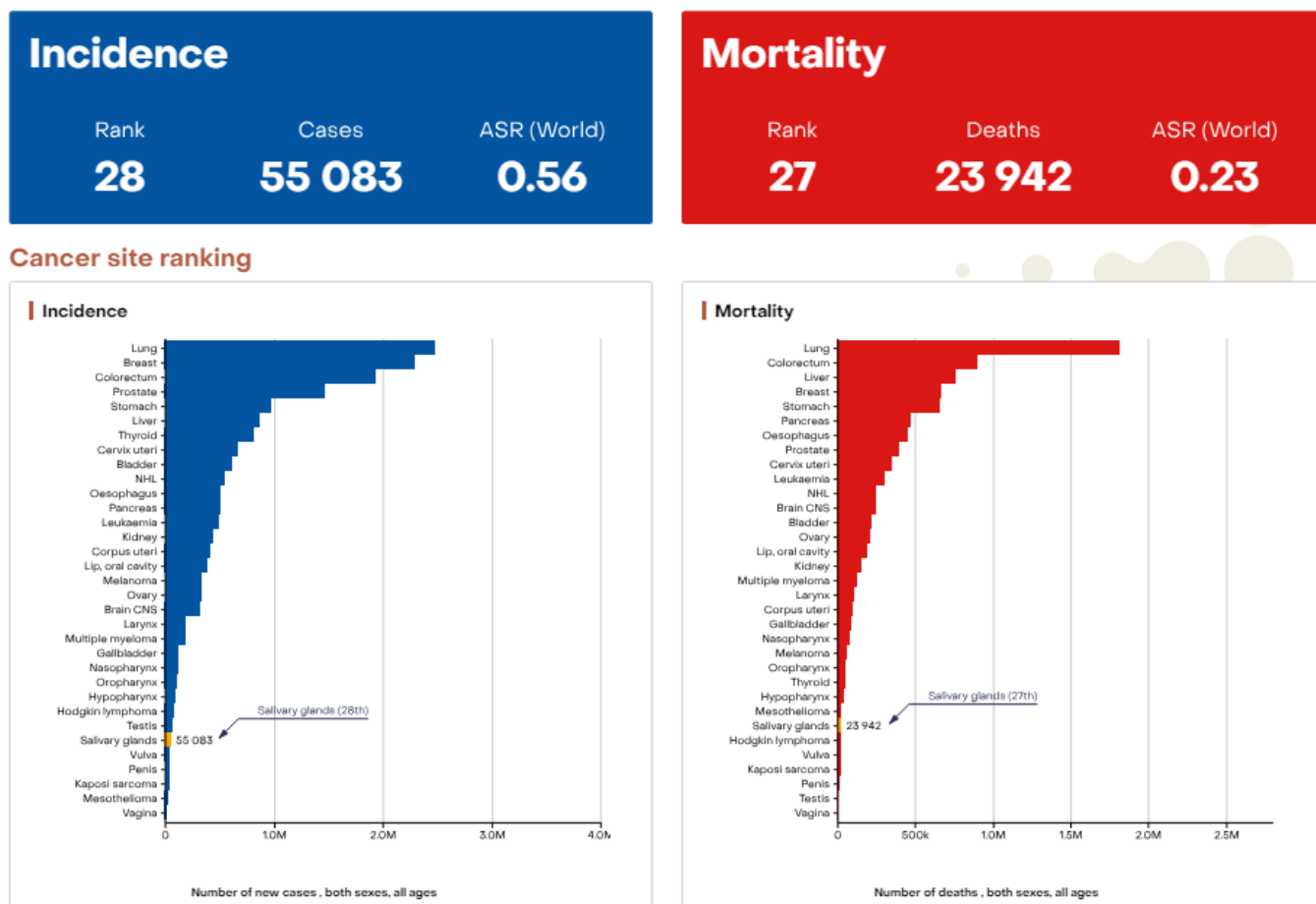
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология опухолевых заболеваний слюнных желез

Данные по опухолевой заболеваемости слюнных желез имеют существенные различия. Например, некоторые исследования включали только опухоли околоушной железы или опухоли больших слюнных желез. В некоторых канцер-регистрах регистрируются только злокачественные опухоли слюнных желез. В ежегодном обзоре "Злокачественные новообразования в России в 2023 году" под редакцией А.Д. Каприна представлены только злокачественные опухоли больших слюнных желез (C07,08) и заболеваемость различных возрастно-половых групп населения злокачественными новообразованиями слюнных желез составляет 0,21 на 100 тысяч населения среди всех злокачественных новообразований в России в 2023 году. При этом, среднегодовой темп прироста злокачественными опухолями (C01-14) для обоих полов составил 2,14% за период с 2011 года по 2021 год, а общий прирост за 10 лет 24,3%. В 2021 году заболеваемость различных возрастно-половых групп населения злокачественными новообразованиями слюнных желез (C07-08) в абсолютных числах составила 1213 пациентов, стандартизованный показатель 0,49 и удельный вес – 0,21%. Наиболее высокий показатель заболеваемости отмечен в Дальневосточном ФО и Южном ФО - 0,68 и 0,59 соответственно. Наименьшие показатели заболеваемости зафиксированы в Северо-Кавказском ФО и в Приволжском ФО - 0,40 и 0,42 соответственно. Смертность от злокачественных опухолей (C01-14) для обоих полов составила 6,32 на 100 тысяч населения в 2021 году; за период с 2011 года по 2021 год среднегодовой темп прироста составил 0,06% [18].

При включении всех опухолей слюнных желез глобальные ежегодные показатели заболеваемости меняются от 0,4 до 13,5 случаев на 100 000 пациентов [19]. Ежегодная заболеваемость только злокачественными опухолями слюнных желез колебалась от 0,4 до 0,86 случаев на 100 000 населения [19,20,21,22,23]. По данным ВОЗ за 2022 год заболеваемость злокачественными опухолями слюнных

желез находится на 28 месте и составляет 0,56% среди всех злокачественных новообразований, а смертность находится на 27 месте и составляет 0,23% среди



всех злокачественных новообразований (рисунок 1).

Рисунок 1 - Заболеваемость и смертность в мире злокачественными опухолями слюнных желез за 2022 г. (заболеваемость - 28 место, смертность - 27 место) [29]

Заболеваемость злокачественными опухолями слюнных желез и смертность за 2022 год преобладают в Азиатском регионе – 54,6% и 57,1% соответственно (рисунок 2) [24].

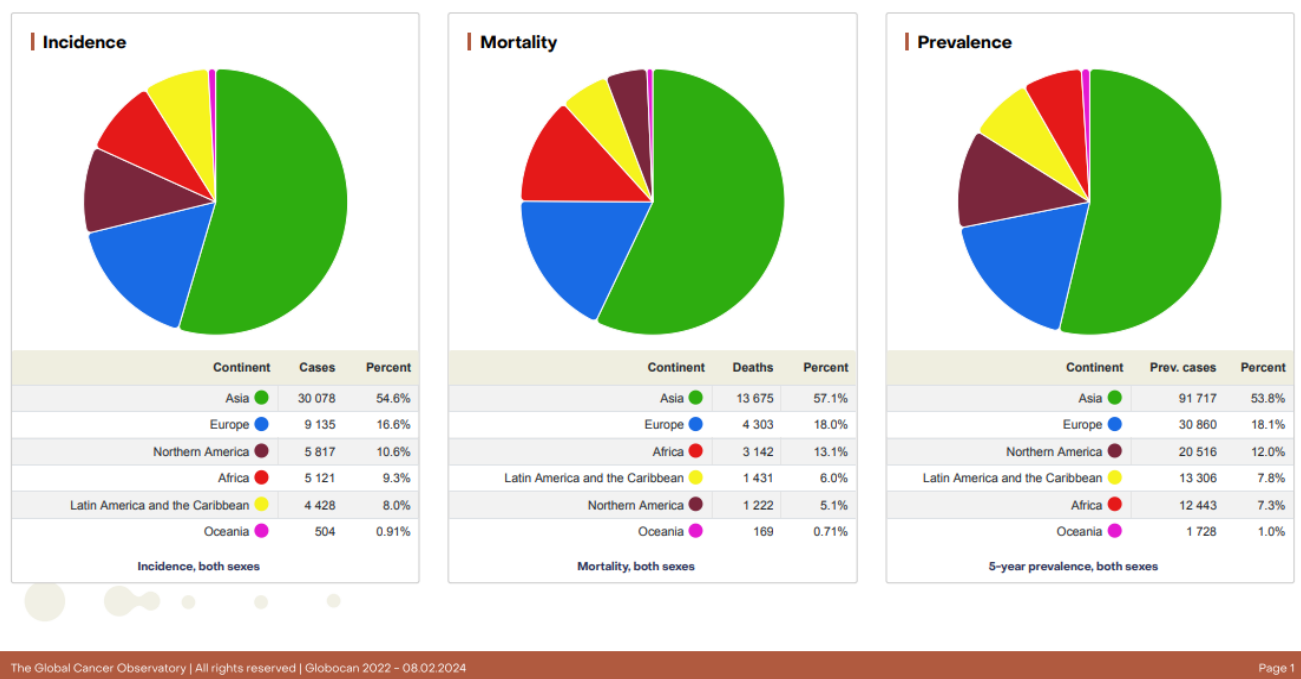


Рисунок 2 - Абсолютные цифры. Случаи. Смертность. [29]

В основных исследованиях околоушная слюнная железа является местом локализации от 64% до 80% всех первичных эпителиальных опухолей слюнных желез [25]. От 7 до 11% опухолей поражают поднижнечелюстные железы, и менее 1% возникают в подъязычных железах. Опухоли малых желез составляют от 9% до 23% случаев. От 54 до 79% из них являются доброкачественными, а 21 - 46% — злокачественными. Существуют различия в соотношении доброкачественных и злокачественных опухолей в разных локализациях. Например, злокачественные опухоли составляют от 15% до 32% опухолей околоушной железы, от 41% до 45% опухолей поднижнечелюстной области и подавляющее большинство опухолей подъязычной области (до 90%). Около половины опухолей малых слюнных желез являются злокачественными [25,26,27,28].

Существует широкое возрастное распределение заболеваемости опухолями слюнных желез с пиком заболеваемости в пятом десятилетии. Плеоморфная аденома является наиболее распространенной опухолью и составляет более половины опухолей слюнных желез. Второе наиболее распространенное новообразование — опухоль Уортина, которая обычно составляет от 10% до 15% случаев.

Хотя ТИАБ стала основой диагностического исследования опухолей слюнных желез, толстоигольная пункционная биопсия все еще проводится время от времени, особенно после недиагностических аспирационных биопсий. Несмотря на то, что толстоигольная пункционная биопсия предоставляет больше архитектурной информации, чем ТИАБ, большинство биопсийных столбиков не позволяют оценить границу раздела между опухолью и окружающими тканями и, следовательно, недостаточны для различения новообразований (например, миоэпителиомы и миоэпителиальной карциномы). Только полностью удаленные образцы обеспечивают ясность диагностики патологии слюнных желез.

Международная гистологическая классификация опухолей слюнных желез (классификация Всемирной организации здравоохранения, 5-е издание, 2023г.) [164]

Неопухолевые эпителиальные поражения (не кодируются по ICD-O)

Узловая онкоцитарная гиперплазия

Лимфоэпителиальный сиаладенит

Доброкачественные эпителиальные опухоли

8940/0 Плеоморфная аденома

8147/0 Базальноклеточная аденома

8561/0 Уортина опухоль

8290/0 Онкоцитомы

8982/0 Миоэпителиома слюнной железы

8149/0 Каналикулярная аденома

8440/0 Цистаденома слюнных желез

8503/0 Внутрипротоковая папиллома

8406/0 Сиаладенома сосочка

8563/0 Лимфаденома

8410/0 Аденома слюнных желез

Аденома и гиперплазия промежуточных протоков – в ICD-O Нет

8503/0 Аденома поперечнополосатого протока

8140/0 Склерозирующая поликистозная аденома

8052/0 Кератоцистома

Злокачественные эпителиальные опухоли

8430/3 Мукоэпидермоидная карцинома

8200/3 Аденоидно-кистозная карцинома

8550/3 Ациноклеточная карцинома

8502/3 Секреторная карцинома

8502/3 Микросекреторная аденокарцинома

8525/3 Полиморфная аденокарцинома

8310/3 Гиалинизирующая светлоклеточная карцинома

8147/3 Базальноклеточная аденокарцинома

8500/2 Внутрипротоковая карцинома

8500/3 Карцинома слюнных протоков

8982/3 Миоэпителиальная карцинома

8562/3 Эпителиально-миоэпителиальная карцинома

8480/3 Муцинозная аденокарцинома

8407/3 Склерозирующая микрокистозная аденокарцинома

8941/3 Карцинома из плеоморфной аденомы

8980/3 Карциносаркома слюнных желез

8410/3 Аденокарцинома слюнных желез

8082/3 Лимфоэпителиальная карцинома

8070/3 Плоскоклеточная карцинома

8974/1 Сиалобластома

8140/3 Карцинома слюнной железы NOS

Мезенхимальные опухоли, специфичные для слюнных желез

8850/0 Сиалолипома

Всего 36 нозологических форм [25]. В нашей работе зафиксировано 39 нозологических форм слюнных желез, включая метастатические поражения из различных органов.

1.2 Основные методы диагностики опухолевых заболеваний слюнных желез

1.2.1 Методы лучевой диагностики опухолевых заболеваний слюнных желез

Обзор методов визуализации слюнных желез

При использовании традиционной визуализации (УЗИ, МРТ, КТ), как и при цитоморфологическом исследовании, может наблюдаться значительное совпадение характеристик доброкачественных и злокачественных образований слюнных желез [30,31]. Хотя визуализация не может установить точный диагноз, она играет важную роль у пациентов с подозрением на опухолевое заболевание слюнных желез. Визуализация должна использоваться для:

- подтверждения, что локализацией опухолевого узла является именно слюнная железа;
- сужения диагностического поиска;
- определения локальной анатомической протяженности патологического процесса и, в случае злокачественного новообразования, оценка регионарных и отдаленных метастазов;
- возможности прямого отбора проб тканей;
- планирования хирургического и/или лучевого лечения;
- оценки рецидива на фоне лечения злокачественного новообразования.

Компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) с контрастированием являются основными методами визуализации слюнных желез. Согласно клиническим рекомендациям, следует: «выполнить КТ или МРТ лицевого отдела черепа с внутривенным контрастированием в случае подозрения распространения опухоли на нижнюю/верхнюю челюсти, основание черепа, с целью исключения вовлечения указанных структур». Однако ультразвуковое исследование (УЗИ) рассматривается как вариант для первоначальной визуализации и возможности получения биопсийного материала (ТИАБ) для цитологического исследования [32, 33,34,35,36,37].

1.2.2 Тонкоигольная аспирационная биопсия слюнных желез

Основным методом получения цитоморфологического материала является тонкоигольная аспирационная биопсия. Пациенты, нуждающиеся в ТИАБ, могут жаловаться на пальпируемую опухоль с болью или без нее в области головы и шеи, а в некоторых случаях - на частичный паралич или парестезию [38,39,40,41]. Кроме того, опухоль может быть пальпирована клиницистом или обнаружена при визуализационных исследованиях. Таким образом, ТИАБ используется при наличии как клинических, так и визуализационных данных при первичной оценке любых образований в больших и малых слюнных железах. Критическим аспектом ТИАБ узлов является адекватный отбор проб и соответствующая подготовка к ним. Врач ультразвуковой диагностики должен настроить параметры визуализации для оптимальной видимости и оценить васкуляризацию в интересующей области с помощью цветного доплера, спланировать подход к биопсии еще до входа в кожу, чтобы избежать других анатомических структур, в частности лицевого нерва, если пунктируется околоушная слюнная железа. В идеале ТИАБ должна выполняться врачом с использованием ультразвукового наведения иглой диаметра 23G или 25G (размер по Gauge) со шприцем размером 10 см³, с перемещением иглы вперед и назад на всю глубину поражения с аспирацией клеточного материала. [42].

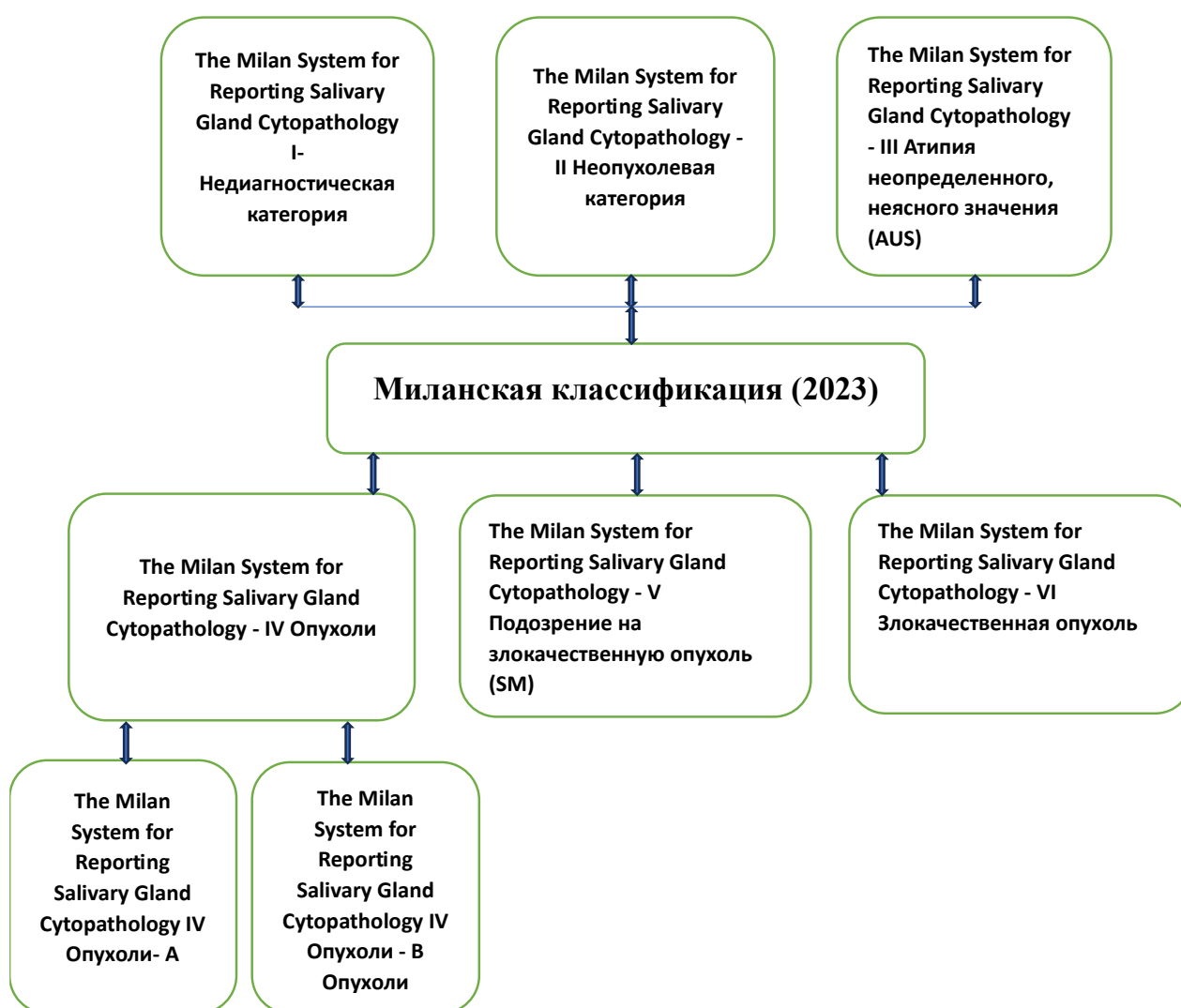
ТИАБ образований слюнных желез и прилегающих лимфатических узлов под контролем УЗИ диагностически эффективен, является минимально инвазивным: в большинстве исследований не сообщается об интрапроцедурных или постпроцедурных осложнениях [43].

1.2.3 Использование Миланской классификации оценки цитопатологии слюнных желез (МСЦСЖ), особенности опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности (IVB категория МСЦСЖ)

В основе современной цитологической диагностики опухолей слюнных

желез лежит Миланская классификация 2017 года и ее второй пересмотр 2023 года (МСЦСЖ). МСЦСЖ состоит из 6 диагностических категорий, включая категории «неопухолевые поражения» и «опухоли». Категория «опухоли» подразделяется на доброкачественные опухоли и опухоли слюнных желез с неопределенным злокачественным потенциалом. МСЦСЖ представлена в виде таблицы, в которой указаны диагностические категории, даны определения и пояснения (Таблица 1).

Таблица 1 Миланская система оценки цитопатологии слюнных желез



МСЦСЖ является доказательной системой, полученной на основании данных литературы, в которой соотносятся диагностические категории с риском малигнизации и клиническими стандартами лечения пациентов. МСЦСЖ акцентирует внимание на оценке риска малигнизации для каждой возрастающей

категории. Риск развития злокачественных новообразований и клинические рекомендации по лечению пациентов для каждой категории указаны в таблице 2.

Таблица 2 Соотношение диагностической категории Миланской системы оценки цитопатологии слюнных желез с риском развития злокачественных новообразований и клиническими рекомендациями по лечению пациентов

Диагностическая категория	Риск злокачественности, %	Рекомендации/тактика
I. Недиагностическая категория	25	Клиническая и радиологическая корреляция (взаимосвязь); повторение ТИАБ под контролем УЗИ
II. Неопухолевая категория	10	Клиническое наблюдение, УЗИ по показаниям
III. Атипия неопределенного, неясного значения (AUS)	20	Повторить ТИАБ или хирургическое лечение
IV. Опухоли:		
IVA. Доброкачественные опухоли слюнной железы	До 5	Хирургическое лечение или клиническое наблюдение
IVB. Опухоли слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности	35	Хирургическое лечение (интраоперационное исследование может быть полезным для определения объема операции)
V. Подозрение на злокачественную опухоль	60	Хирургическое лечение (интраоперационное исследование может быть полезным для определения объема операции)
VI. Злокачественная опухоль	90	Хирургическое лечение

Анализ данных литературы показал следующие диапазоны риска злокачественности для различных диагностических категорий: недиагностические 0 - 67%, неопухолевые 0 - 20%, атипия неопределенного, неясного значения (AUS)

10 - 35%, доброкачественные опухоли 0 - 13%, опухоли слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP) 0 -100%, опухоли, подозрительные на злокачественные 0 - 100%, злокачественные опухоли 57 - 100% [1,25,44,45,46,47,48,49]. В МСЦСЖ рассматривается подробно каждая выделенная диагностическая категория.

Для материала ТИАБ, цитоморфологические признаки которого расцениваются как опухолевые, но невозможно поставить конкретный диагноз, а дифференциальный диагноз включает как доброкачественные, так и злокачественные опухоли, Миланская система отчетности по цитопатологии слюнных желез (2023г.) предусматривает IVB категорию: опухоли слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP). При этом риск малигнизации ROM оценивается в 35% частота встречаемости не должна превышать 10% [1]. Категорию IVB-Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности необходимо рассмотреть с позиции клиницистов для адекватного планирования объема оперативного вмешательства. Как мы уже упоминали в актуальности темы нашего исследования, клиницистов не устраивают неопределенные формулировки цитологических заключений при поражении слюнных желез. Таким образом, цитоморфологическое заключение об опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP) предполагает применение дополнительных методов исследования клеточного материала, полученного при ТИАБ, для достижения однозначного понимания о доброкачественном или злокачественном характере опухоли, что позволит исключить реоперацию или исключить максимальный объем оперативного вмешательства.

В большинстве случаев, поражения, попадающие в категорию опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP), представляют доброкачественные опухоли с пролиферацией, опухоли с признаками атипии, карциномы с низкой степенью злокачественности.

Из клинических данных следует оценивать локализацию опухолевого процесса, длительность заболевания, размеры, смещаемость узла, степень

плотности опухолевого узла, интенсивность роста, наличие пареза или паралича, как маркера вовлеченности в опухолевый процесс лицевого нерва (в случае ОУСЖ).

Визуализационные методы исследования, несмотря на значительное совпадение характеристик доброкачественных и злокачественных образований слюнных желез, подтверждают наличие патологического процесса именно в слюнной железе, его локальную анатомическую протяженность, васкуляризацию, особенности контура, вовлеченность в процесс лимфоузлов.

Разные авторы предлагают следующие подкатегории SUMP на основе преобладающего типа клеток:

- базалоидная опухоль, онкоцитарная опухоль, опухоль со светлоклеточными элементами [1,25].

- базалоидная опухоль (риск малигнизации: 27,6%), опухоль с преобладанием онкоцитарных клеток (риск малигнизации: 20,0%) [1,25,50,51].

- онкоцитарный/сквамозидный подтип (риск малигнизации: 61,1%), базалоидный подтип (риск малигнизации: 40,0%) и миоэпителиальный подтип (риск малигнизации: 18,8%) [1,25,51].

- базалоидные признаки (риск малигнизации: 38,5%), онкоцитарные признаки (риск малигнизации: 7,7%), неуточненные признаки (риск малигнизации: 41%) [1,25,50,51].

- мономорфный базалоидный подтип SUMP (риск малигнизации: 23,5%), мономорфный онкоцитарный подтип SUMP (риск малигнизации: 58,8%) [1,25,50,51].

Второй пересмотр МСЦСЖ 2023 года [1,25,50,51,52,53,54,55] предусматривает подкатегории для IVB (SUMP) на основе преобладающего типа клеток: Базалоидная опухоль, преобладающий тип клеток – базалоидный; Онкоцитарная опухоль, преобладающий тип клеток – онкоцитарный; Опухоли со светлоклеточной морфологией.

Базалоидные опухоли характеризуются преобладающей популяцией клеток со скудной цитоплазмой, что придает ей незрелую «базалоидную»

цитоморфологию. В свою очередь, базалоидные опухоли делятся по типу матрикса и стромы на четыре подкатегории: Базалоидная опухоль со скудным фибриллярным матриксом; базалоидная опухоль с гиалиновой стромой; базалоидная опухоль со смешанным/другим матриксом и базалоидная опухоль со скудным матриксом или без него.

Образцы базалоидных опухолей со скудным фибриллярным матриксом показывают мономорфную популяцию базалоидных клеток с минимальной ядерной атипией и наличием скудного фибриллярного матрикса, отсутствие митозов. Предполагается плеоморфная аденома, однако нельзя полностью исключить другие базалоидные опухоли, продуцирующие матрикс, такие как базальноклеточная аденома, базальноклеточная аденокарцинома, эпителиально-миоэпителиальная карцинома и карцинома из плеоморфной аденомы.

Отсутствие или скудность фибриллярного матрикса, гиалиновая строма, смешанный матрикс или его отсутствие, может служить основой для дифференциально-диагностического анализа и проведения дополнительных исследований [1,25,50,51,52,53,54,55] (Таблица 3).

В большинстве случаев – от 50 до 70%, базалоидной опухолью является плеоморфная аденома, для классического варианта которой описаны четкие цитоморфологические критерии в виде умеренной клеточности с легко идентифицируемым, обильным фибриллярным матриксом, нежными протоковыми эпителиальными и миоэпителиальными клетками и на УЗИ ПА будет визуализироваться как гипоэхогенное образование с умеренной периферической васкуляризацией, четко очерченными границами и дольчатым контуром [1,25,56,57].

Таблица 3 Цитоморфологические особенности и дифференциальная диагностика случаев, классифицированных как «SUMP: Базалоидная опухоль»

Цитоморфологические особенности (а)	Дифференциальная диагностика (в)
-------------------------------------	----------------------------------

1. Базалоидная опухоль со скудным фибриллярным матриксом	- Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента (50% - 70% всех опухолей СЖ) - Эпителиально-миоэпителиальная карцинома (<5% всех карцином СЖ) - Базальноклеточная аденома/ аденокарцинома (3,7%/аденокарцинома <1-2% всех карцином СЖ) - Карцинома из плеоморфной аденомы (3,6% всех опухолей слюнных желез и около 12% всех карцином слюнных желез)
2. Базалоидная опухоль с гиалиновой стромой	- Базальноклеточная аденома/ аденокарцинома (3,7%/аденокарцинома <1-2% всех карцином СЖ) - Аденокистозная карцинома (<10% всех карцином СЖ) - Эпителиально-миоэпителиальная карцинома (<5% всех карцином СЖ) - Карцинома из плеоморфной аденомы (3,6% всех опухолей слюнных желез и около 12% всех карцином слюнных желез)
3. Базалоидная опухоль со смешанным/другим матриксом	- Аденокистозная карцинома (<10% всех карцином СЖ) - Полиморфная аденокарцинома (26% всех карцином малых СЖ ротовой полости) (с) - Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента (50% - 70% всех опухолей СЖ) - Карцинома из плеоморфной аденомы ((3,6% всех опухолей слюнных желез и около 12% всех карцином слюнных желез)

4. Базалоидная опухоль с минимальным матриксом или без него	- Плеоморфная аденома с пролиферацией (50% - 70% всех опухолей СЖ) - Канальцевая аденома - Миоэпителиома - Миоэпителиальная карцинома (<1% всех карцином СЖ) - Карцинома из плеоморфной аденомы (3,6% всех опухолей слюнных желез и около 12% всех карцином слюнных желез)
---	---

Скудный фибриллярный матрикс, пролиферация эпителиального компонента, наличие глобулярных структур, длительность заболевания, рецидивирующая ПА, быстрый рост опухоли и возникновение пареза, изменения в визуализационных исследованиях, позволяют применить диагноз «SUMP-базалоидная опухоль» и выполнить дополнительные уточняющие исследования на материале клеточных блоков (Таблица 3).

Онкоцитарная/онкоцитоидная опухоль. Подкатегория новообразования слюнной железы неопределенного злокачественного потенциала с онкоцитарными/онкоцитоидными признаками включает как доброкачественные онкоцитарные опухоли слюнных желез, так и дифференцируемые с ними, в большинстве случаев, карциномы низкой степени злокачественности, с преобладающим онкоцитарным типом клеток и характерными фоновыми изменениями [1,25,58-65] (Таблица 4).

Вторая по частоте опухоль СЖ опухоль Уортина - 20-30% всех опухолей слюнных желез. Для классического варианта опухоли Уортина описаны четкие цитоморфологические критерии в виде триады признаков: грязный белковый/кистозный фон, смешанная популяция лимфоцитов, в которой преобладают мелкие зрелые клетки и скопления онкоцитов с обильной однородной гранулярной цитоплазмой с четко очерченными границами. Возраст поражения – 6-8 десятилетия; значительный анамнез курения. Факторы риска: радиационное облучение и аутоиммунные заболевания (особенно тиреоидит).

Таблица 4 Цитоморфологические особенности и дифференциальная диагностика опухолей «SUMP: Онкоцитарная опухоль».

Цитоморфологические особенности	Дифференциальная диагностика
1. Кистозный фон (гистиоциты, белковые обломки, ± воспалительные клетки)	• Опухоль Уортина (20-30%) (а) • Склерозирующая поликистозная аденома • Цистаденома, онкоцитарная • Ацинарно-клеточная карцинома (АКК) (0-15% всех карцином СЖ) • Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант (МЭК)
2. Муцинозный фон	• Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант (МЭК) • Редкий случай опухоли Уортина с очаговыми муцинозными метапластическими изменениями (b)
3. Гранулярный (обычно грубый) фон/вакуолизированная цитоплазма	• Ацинарно клеточная карцинома (АКК) (10-15% всех карцином СЖ) (с) • Секреторная карцинома (СК) • Секреторная карцинома / аналог секреторная карцинома молочной железы (редкая, индолентная) • Метастатическая почечно-клеточная карцинома
4. Заметная очаговая ядерная атипия	• Карцинома слюнного протока (КСП) (~ 10% всех злокачественных опухолей слюнных желез) (d) • Мукоэпидермоидная карцинома высокой степени злокачественности • Онкоцитарная карцинома • Эпителиально-миоэпителиальная карцинома (ЭМК) (<5% всех карцином СЖ) • Метастатическая карцинома

На УЗИ ОУ имеют круглую или овальную форму, четко очерченные, гипоэхогенные, иногда с анэхогенными кистозными участками, демонстрируют васкулярность на доплерографии, четко очерченные края, на КТ выглядят как солидные или кистозные образования, могут демонстрировать интенсивное поглощение радиофармпрепарата при ПЭТ/КТ с 18F-ФДГ и сцинтиграфии с пертехнетатом технеция-99m [1,25,66,67,68,69]. Онкоцитарный/онкоцитоидный

эпителий, муцинозная или плоскоклеточная метаплазия, слабая или отсутствующая лимфоцитарная инфильтрация, укрупнение ядер, наличие голых ядер, вакуолизация цитоплазмы, наличие внутриклеточного муцина, быстрый рост опухоли и возникновение болевого синдрома, изменения в визуализационных исследованиях, позволяют применить диагноз «SUMP-онкоцитарная опухоль» и выполнить дополнительные уточняющие исследования на материале клеточных блоков (Таблица 4).

Опухоль со светлоклеточными признаками представлена рядом характерных цитологических признаков [1,25,70]. В аспирате присутствует пролиферирующий эпителиальный компонент, но отсутствуют характерные цитоморфологические признаки конкретной опухоли. Опухолевые клетки со светлоклеточными характеристиками, такими как прозрачная, пенистая, зернистая или вакуолизирующаяся цитоплазма, или любая их комбинация, при этом особенности, характерные для истинных онкоцитов, не визуализируются. Ядерно-цитоплазматическое соотношение в опухолевых клетках от низкого до среднего. Отсутствуют такие признаки, как некроз, выраженная ядерная атипия, митотическая активность. Цитологическая картина светлоклеточной опухоли без выраженных признаков злокачественности и дифференциальный диагноз включает плеоморфную аденому и миоэпителиому, однако не исключается эпителиально-миоэпителиальная карцинома.

1.2.4 Клеточные блоки и иммуноцитохимические исследования на материале клеточных блоков

Клеточные блоки — это цитологические препараты, которые обрабатываются как парафиновые блоки, подобно фиксированным в формалине и залитым в парафин биопсийным тканям. Клеточные блоки не только дополняют другие цитологические препараты для морфологической диагностики, но и играют всё более важную роль, поскольку позволяют получать срезы тканей, которые можно использовать для дополнительных исследований, таких как

иммуногистохимические окрашивания и молекулярные исследования. Клеточные блоки представляют собой препараты, в которых цитологический материал собирается и обрабатывается в виде помещенного в парафин клеточного сгустка в объемлющей среде, способом, сравнимым с фиксированной в формалине и помещенной в парафин биопсийной тканью [148,149]. Клеточные блоки могут быть получены практически из любого типа цитологического образца, включая остаточный материал от жидкостных препаратов или соскобов обычных мазков [150]. Из клеточных блоков получают несколько серийных срезов, которые можно использовать для дополнительных исследований, таких как специальные окрашивания, иммуногистохимия и молекулярные тесты. Их также можно архивировать и хранить в течение длительного времени, чтобы в будущем использовать в диагностических исследованиях или научных работах. Известно, что оценка иммуноцитохимии на материале клеточных блоков является важным дополнением к цитологической диагностике. Исследования показали, что оценка клеточных блоков в дополнение к другим цитологическим препаратам повышает эффективность диагностики: при морфологической оценке частота выявления злокачественных новообразований увеличивается на 6,5–9 % [151]. Сейчас, в эпоху персонализированной медицины, клеточные блоки приобретают всё большее значение как субстраты для тестирования прогностических и предиктивных маркеров. По крайней мере частично это связано с совершенствованием методов минимально инвазивного забора образцов и последующим более широким использованием этих методов для получения тканей. Таким образом, ценность цитологического исследования выходит за рамки диагностической оценки, поскольку оно может избавить от необходимости в дополнительных процедурах для получения тканей для вспомогательных исследований или даже может быть единственным доступным материалом для таких исследований.

Несмотря на то, что методы подготовки клеточных блоков со временем совершенствуются, в их основе лежит один и тот же процесс: концентрация клеток в образце с последующей гистологической обработкой для биопсийного

материала. Факторы, которые могут варьироваться, включают в себя консервант или фиксатор, используемые при обработке, метод концентрирования клеток и метод заключения клеточного осадка в разные объемлющие среды перед фиксацией, проводкой и заливкой. В европейских лабораториях в качестве объемлющей среды чаще всего используется агар и HistoGel [152].

Тонкоигольная аспирационная цитология служит важным инструментом предоперационной диагностики и несмотря на ее значительную диагностическую точность, постановка диагноза, основанного исключительно на морфологическом наблюдении, может быть сложной задачей. Поэтому были применены различные вспомогательные методы диагностики, включая иммуноцитохимию. В настоящее время доступны три метода иммуноокрашивания цитологических материалов: жидкостная цитология, клеточный блок и перенос клеток. Иммуноцитохимия оказывается ценной в таких сценариях, как диагностика опухоли, оценка дифференцировки и классификации карцином, оценка первичных очагов при метастатических карциномах и выявление генных аномалий.

Клиническая история предшествующего злокачественного новообразования, а также цитоморфологические признаки, указывающие на рецидив или метастатический процесс, играют ключевую роль в выборе иммуногистохимических методов исследования для некоторых пациентов. Например, для подтверждения метастатического процесса в околоушной железе у пациента с ранее диагностированной карциномой Меркеля назначаются иммуноцитохимические/иммуногистохимические исследования на цитокератин AE1/AE3, CK20, Ki67 и PAX5 аспирационного материала из околоушной железы, а для исключения метастатической аденокарциномы лёгкого — на TTF-1 и напсин-А. Материал в клеточном блоке пациентов с подтверждённым рецидивом или метастазами может быть использован для молекулярного тестирования, которое можно будет провести в рамках будущего исследования. Кроме того, для выявления случаев плоскоклеточной карциномы, связанной с ВПЧ или p16-положительной, возможно использовать клеточный блок для гибридизации *in situ* с p16 и ВПЧ, что имеет прогностическое значение по сравнению с ВПЧ-

отрицательной или p16-отрицательной карциномой. Для подтверждения диагноза новообразования слюнной железы в некоторых случаях используется иммуноокрашивание и окрашивание муцикармином. Например, для подтверждения случая ацинарноклеточной карциномы используется DOG-1 [153]. Маммаглобин помогает в диагностике случаев секреторной карциномы [154]. Иммуноокрашивание на рецептор андрогена положительное при карциноме слюнного протока, в то время как p63 отрицателен, важен уровень экспрессии Ki67 [155,156,160]. В случаях с атипичными или плохо сохранившимися фрагментами эпителия, экспрессия p40 и p63 указывает на плоскоклеточную дифференцировку. Цитокератин AE1/AE3 и CAM5.2 может подтвердить эпителиальное происхождение неопластических клеток. Плеоморфная аденома — наиболее распространённое новообразование слюнных желёз, которое обычно диагностируется с помощью рутинных методов окрашивания. Однако, в некоторых случаях, когда плеоморфные аденомы цитоморфологически демонстрируют очаговые признаки светлоклеточной опухоли или некроз, можно использовать иммуноокрашивание и окрашивание муцикармином. Миоэпителиальные клетки плеоморфных аденем могут создавать трудности при диагностике, если они составляют значительную часть опухоли или имеют изменчивую морфологию, например, напоминают веретенообразные клетки. Клеточные плеоморфные аденомы с базалоидной морфологией можно исследовать с помощью маркеров p63 и с-KIT, чтобы исключить адено-кистозную карциному. Миоэпителиальные клетки в плеоморфной аденоме иммунореактивны в отношении p40 и p63 и негативны в отношении с-KIT, в то время как адено-кистозная карцинома иммунореактивна в отношении с-KIT и негативна в отношении p40 и p63 [157]. Для оценки клеток с внутриклеточным муцином, например в случаях мукоэпидермоидной карциномы, используется окрашивание муцикармином. Метапластические изменения, связанные с некрозом или атипией, в некоторых случаях указывают на возможность злокачественного процесса несмотря на то, что опухоль выглядит доброкачественной. Плоскоклеточная метаплазия проявляется в виде некротических кератинизированных клеток и кератина в виде обильного

эозинофильного некротического и мумифицированного материала, что подтверждается с помощью AE1/AE3 и амилоидного окрашивания в случае онкоцитомы. Плоскоклеточная метаплазия и многочисленные пенистые макрофаги в опухоли Уортина могут указывать на возможность мукоэпидермоидной карциномы низкой степени злокачественности. Окрашивание муцином дает отрицательный результат, а p63 выделяет плоскоклеточный эпителий. На основании этих данных можно сделать вывод, что дополнительные исследования могут сократить количество атипичных диагнозов или уточнить их, чтобы отнести к более определённым диагностическим категориям МСЦСЖ.

Таким образом, иммуноцитохимические исследования, проведённые на материале клеточных блоков, демонстрирует диагностическую ценность дополнительных исследований, таких как иммуноцитохимия. Материал клеточных блоков может быть использован и для гибридизации *in situ* и для окрашивания на наличие инфекционных агентов в клеточных блоках, полученных из аспирированных поражений слюнных желёз. Дополнительные исследования, проведенные на клеточных блоках, помогают в том числе охарактеризовать: 1) атипичные лимфоциты, неопластические клетки или их происхождение, 2) матрикс (муцин или коллоид), 3) необычное проявление новообразований и метапластических изменений и 4) исключить метастатический процесс известной злокачественности. Дополнительные исследования, выполненные на клеточных блоках аспирированных поражений слюнных желёз с достаточным количеством материала, могут улучшить результаты диагностики за счет дальнейшей характеристики атипичных / неопластических клеток, особенно в категориях MSRSGC IVa–VI. Вспомогательные исследования следует использовать разумно и с учетом конкретного случая, чтобы улучшить диагностику в сложных случаях.

Иммуноцитохимия в первую очередь используется для идентификации опухолевых клеток, и в идеале следует использовать как положительные, так и отрицательные антитела. Если выбрано только одно из нескольких положительных антител, то следует использовать антитело с положительной локализацией в ядре, высокой специфичностью и чувствительностью. К преимуществам

иммуноцитохимии на материале клеточных блоков по сравнению с иммуногистохимией относятся снижение частоты недиагностических результатов и повторных аспираций, возможность принятия решения о клиническом ведении пациента, сокращение числа диагностических операций, отказ от методов извлечения антигена и сокращение рабочего процесса. К недостаткам можно отнести сложность оценки окрашивания, трудности с контролем качества, ограничения в использовании нескольких антител и трудности с разработкой инструкций по методам окрашивания. Следует признать, что если понимать подводные камни и ограничения и умело их обходить, то иммуноцитохимия может сыграть важную роль в снижении количества недиагностических исследований, что приведет к более точной и ценной диагностике и сокращению числа повторных аспираций. Иммуноцитохимический метод не всегда позволяет уточнить характер опухолевого процесса, тем не менее многие опухоли слюнной железы имеют определенный иммуноцитохимический профиль, что позволяет их успешно диагностировать.

Таким образом, применение цитологического исследования пунктатов опухолей слюнных желез в сочетании с иммуноцитохимическими окрашиваниями на материале клеточных блоков позволит цитологу на догоспитальном этапе более точно установить диагноз, а клиницисту назначить больному соответствующее адекватное лечение [1,25,71-76].

Резюме: таким образом, клеточный материал для цитологического исследования опухолей слюнной железы получают с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) под контролем УЗИ. ТИАБ под контролем ультразвука (УЗИ) с цитологическим исследованием широко признана в качестве эффективного морфологического теста первой линии в диагностике заболеваний слюнных желез, является минимально инвазивным и экономически эффективным методом, к тому же исключает потенциальные осложнения трепанбиопсии: повреждения лицевого нерва и контаминацию опухоли вдоль биопсийного следа [1,25,38-43]. Из клинических данных до определения тактики лечения опухолей слюнных желез оценивают локализацию опухолевого

процесса, длительность заболевания, размеры, смещаемость узла, степень плотности опухолевого узла, интенсивность роста, наличие болевого синдрома как маркера вовлеченности в опухолевый процесс лицевого нерва (в случае ОУСЖ). Использование визуализационных методов диагностики – УЗИ, КТ, МРТ, сцинтиграфии и позитронно-эмиссионной томографии позволяет установить гипоехогенность, наличие жидкостных образований, определить размеры и характеристики краев опухолевых узлов, визуализировать глубокие отделы слюнных желез и определить распространенность опухоли. Таким образом, визуализационные методы исследования, несмотря на значительное совпадение характеристик доброкачественных и злокачественных образований слюнных желез, подтверждают наличие патологического процесса именно в слюнной железе, его локальную анатомическую протяженность, васкуляризацию, вовлеченность в процесс лимфоузлов [30-37].

В целом, цитологическое исследование материала ТИАБ показывает чувствительность от 60% до 97%, специфичность от 81% до 95% и диагностическую точность от 91% до 92% при опухолевых поражениях слюнных желез [1,7-14,25].

Для материала ТИАБ, цитоморфологические признаки которого расцениваются как опухолевые, не всегда возможно поставить конкретный диагноз, в ряде случаев не удастся провести дифференциальную цитологическую диагностику доброкачественных и злокачественных опухолей. Большое разнообразие морфологических вариантов опухолей слюнных желез, перекрывающиеся цитоморфологические признаки, отсутствие четких признаков злокачественности определили выделение в МСЦСЖ (2023г.) IVB категорию опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP). При этом риск малигнизации в этой категории ROM оценивается в 35%, частота ее встречаемости не должна превышать 10% [1,25]. Но неопределенные цитологические заключения не удовлетворяют клиницистов, что требует от цитологов дальнейшего пересмотра МСЦСЖ с учетом возможностей дополнительных методов исследования цитологического материала.

Анализ литературы показал, что в настоящее время не во всех случаях возможно поставить окончательный диагноз при базалоидных, онкоцитарных/онкоцитоидных, веретеночлеточных и светлоклеточных поражениях слюнной железы только на основании традиционной цитологии, существует необходимость использования дополнительных методов таких как иммуноцитохимия и молекулярная генетика, т. к. в большинстве случаев их морфология, иммунофенотип и молекулярная генетика различаются. И это небольшое подмножество новообразований слюнных желез с базалоидными онкоцитарными/онкоцитоидными, веретеночлеточными и светлоклеточными признаками уместно классифицировать как новообразования слюнной железы неопределенного злокачественного потенциала (SUMP). В большинстве случаев, поражения, попадающие в эту категорию – доброкачественные опухоли с пролиферацией, опухоли с признаками атипии, карциномы с низкой степенью злокачественности.

В нашем исследовании частота встречаемости опухолей слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP) составила 18%, что указывает на гипердиагностику. Плеоморфная аденома и опухоль Уортина достаточно часто встречаются в практической работе цитолога, цитоморфологические признаки классических вариантов этих опухолей хорошо известны, что определяет высокую эффективность цитологического исследования. Большая же часть различных вариантов опухолей слюнных желез встречается редко в практической работе цитологов, кроме того, отсутствуют четко сформулированные дифференциально-диагностические критерии опухолей слюнных желез, категоризованных по МСЦСЖ как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности. Данный факт подтверждает необходимость разработки дифференциально-диагностических цитологических критериев и оптимизированных иммуноцитохимических панелей для опухолей слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности (SUMP) и внедрения в рутинную практику дополнительных иммуноцитохимических методов исследования. Оптимальным материалом для иммуноцитохимических

исследований являются клеточные блоки, т.к. позволяют стандартизировать иммуноцитохимическое исследование [77-79].

В настоящее время в иностранной литературе встречается довольно много публикаций по применению клеточных блоков в диагностике опухолей слюнных желез. Отмечено, что применение клеточных блоков с последующим иммуноцитохимическим исследованием, наряду с традиционной цитологией повышает точность диагностики и, следовательно, эффективность лечения пациентов. Отмечено, что КБ и иммуноцитохимия могут улучшить диагностическую ценность за счет дальнейшей характеристики атипичных/неопластических клеток, особенно в категориях МСЦСЖ IVa-VI. Авторы Tommola E, Kalfert D и др. представили ретроспективный анализ 359 образцов слюнных желез, обработанных только с помощью клеточных блоков (Cellient CB) в соответствии с МСЦСЖ, который показал общую точность/достоверность 92,9%, чувствительность 75,9%, специфичность 97,9%, прогностическую ценность положительного результата 91,7% и прогностическую ценность отрицательного результата 95% в соответствии с диагностическими категориями [80-82]. Следует отметить, что в нашей стране метод клеточных блоков еще не имеет широкой распространенности прежде всего по организационным причинам. В большинстве лечебных учреждений цитологи работают в составе клинико-диагностических лабораторий и не имеют возможности использовать на базе патологоанатомического отделения методику клеточного блока с последующей гистологической проводкой для биопсийного материала, заливкой парафином и окраской гематоксилин-эозином. Еще большие сложности возникают с окрасками антителами в общей серии с гистологическим материалом. Решением этой задачи может стать включение цитологов в состав центров патологоанатомической диагностики и молекулярной генетики по примеру ведущих онкологических больниц Москвы и федеральных научно-исследовательских онкологических институтов.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика материала для цитологического исследования

В соответствии с поставленными задачами исследования нами был проанализирован материал тонкоигольной аспирационной биопсии опухолевых заболеваний слюнных желез 636 пациентов с последующей гистологической верификацией на операционном материале. Для уточнения морфологического типа опухоли в категории опухолей с неопределенными цитологическими заключениями выполнено 131 иммуноцитохимическое исследование на материале клеточных блоков на догоспитальном этапе, в том числе для 114 больных опухолями с неопределенным потенциалом злокачественности.

Все пациенты обследованы в Онкологическом центре №1 ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.С. Юдина» Департамента здравоохранения Москвы и получили хирургическое лечение в Онкологическом центре №1 «ГКБ им. С.С. Юдина» или в других стационарах Департамента здравоохранения Москвы. Результаты цитологических и иммуноцитохимических заключений внесены в информационную систему LabForce и ЕМИАС.

В группе из 636 пациентов выделены 3 возрастные группы, средний возраст заболевших составил 60 лет, минимальный и максимальный возраст обследованных пациентов 18 и 93 соответственно, большинство заболевших – женщины – 62,3%, наиболее частая локализация патологического процесса – ОУСЖ 80,2% (Таблица 5). Цитологический материал был категорирован в соответствии с Миланской классификацией (МСЦСЖ), преобладающая категория CIVA доброкачественные опухоли – 47,0%.

Таблица 5 Распределение по возрастным группам, полу, локализациям, совпадению цитологии с гистологией, категориям по Миланской классификации

(n=636 пациентов)

Показатели	Категории	Абс.	%
Возрастные группы	1 (18-50 лет)	190	29,8
	2 (51-70 лет)	340	53,5
	3 (71-93 года)	106	16,7
Пол	Ж	396	62,3
	М	240	37,7
Локализация	Малая СЖ	45	7,1
	ОУСЖ	510	80,2
	Подчелюстная СЖ	81	12,7
МСЦСЖ	CI	26	4,1
	СII	23	3,6
	СIII	3	0,5
	CIVA	299	47,0
	CIVB	114	17,9
	CV	40	6,3
	CVI	131	20,6

Распределение по возрастным группам, полу, локализациям, совпадению цитологии с гистологией, категориям по Миланской классификации представлено в таблице 6.

Таблица 6 Распределение по полу, локализациям, цитологическому заключению, гистологическому диагнозу (n=131 пациент)

Показатели	Категории	Абс.	%
Пол	ж	73	55,7
	м	58	44,3
Локализация	ОУСЖ	120	91,6
	Подчелюстная СЖ	11	8,4
Цитологический тип опухоли	ЗНО неясного происхождения	6	4,6
	ЗНО, нельзя исключить mts	6	4,6
	Базалоидная опухоль	76	58,0
	Веретенноклеточная опухоль	7	5,3
	ЗНО, нельзя исключить ЛПЗ	5	3,8
	Продолжение Таблицы 6		
	Онкоцитарная опухоль	29	22,1
	Светлоклеточная опухоль	2	1,5

Гистологический тип опухоли (МКБ-0)	Продолжение Таблицы 6		
	8000/6 Метастаз меланомы	5	3,8
	8010/6 Метастаз недиф. карциномы	1	0,8
	8070/3 ПКР	2	1,5
	8070/6 Метастаз ПКР	6	4,6
	8071/6 ПКР с ороговением	1	0,8
	8149/0 Мономорфная (канальцевая) аденома	1	0,8
	8140/3 Аденокарцинома	1	0,8
	8147/0 Баз.клет. аденома	4	3,1
	8147/3 Баз.клет. карцинома	3	2,3
	8200/3 Аденокистозная карцинома	5	3,8
	8290/0 Оксифильная аденома	5	3,8
	8430/3 Мукоэпидермоидная карцинома	1	0,8
	8440/0 Цистаденома	1	0,8
	8480/3 Муцинозная аденокарцинома	1	0,8
	8500/3 Инфильтрирующая протоковая карцинома	2	1,5
	8550/3 Ацинарно - клет. карцинома	1	0,8
	8561/0 Опухоль Уортина	11	8,4
	8562/3 Эпителиально - миоэпителиальная карцинома	1	0,8
	8811/3 Миксофибросаркома	1	0,8
	8940/0 Плеоморфная аденома	59	45,0
	8982/0 Миоэпителиома	4	3,1
	8982/3 Миоэпителиальная карцинома	2	1,5
	9251/1 Гигантоклеточная опухоль	1	0,8
	9560/0 Шваннома	1	0,8
	9590/3 Лимфома	1	0,8
	9650/3 Лимфома Ходжкина	1	0,8
	9680/3 В-клет. лимфома	4	3,1
	9699/3 В-клет. лимфома маргинальной зоны	1	0,8
	NN	4	3,1

NN -гистологически неопухолевое заболевание

В нашей работе в 131 случае (опухоли с неопределенными цитологическими заключениями) выполнены традиционные цитологические исследования, иммуноцитохимические исследования на клеточных блоках и гистологическое исследование резецированного материала. Проведенный нами анализ 131 пациента позволил выделить 4 возрастные группы и определить средний возраст заболевших, который составил 62,0 лет, минимальный и максимальный возраст обследованных пациентов 19 и 93 соответственно. Большинство заболевших – женщины – 55,7%. Наиболее частая локализация патологического процесса – ОУСЖ 91,6% (Таблица 5,6). Цитологический материал был категорирован в соответствии с Миланской классификацией.

2.2. Характеристика материала и методов исследования

636 пациентов с заболеваниями слюнных желез получили хирургическое лечение, что позволило провести им гистологическое исследование резецированного материала и последующие цито-гистологические сопоставления. Среди 636 случаев были выделены 133 случая с неопределенными цитологическими заключениями, требующими дополнительных методов исследования для уточнения цитологического заключения. Из 133 больных в 131 случае удалось выполнить иммуноцитохимические исследования на клеточных блоках и сопоставить результаты цитологического и иммуноцитохимического исследований с гистологическими диагнозами. Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности составили 114 (18% случаев из 636) случаев и распределились следующим образом: 76 (12% из 636) случаев базалоидная опухоль, 29 (5% из 636) случаев онкоцитарная опухоль, 7 случаев веретенноклеточная опухоль и 2 случая светлоклеточная опухоль. По результатам цитологических и иммуноцитохимических исследований в 90 случаях из 636 (14%) было сформулировано определенное цитологическое заключение (Рис.3).

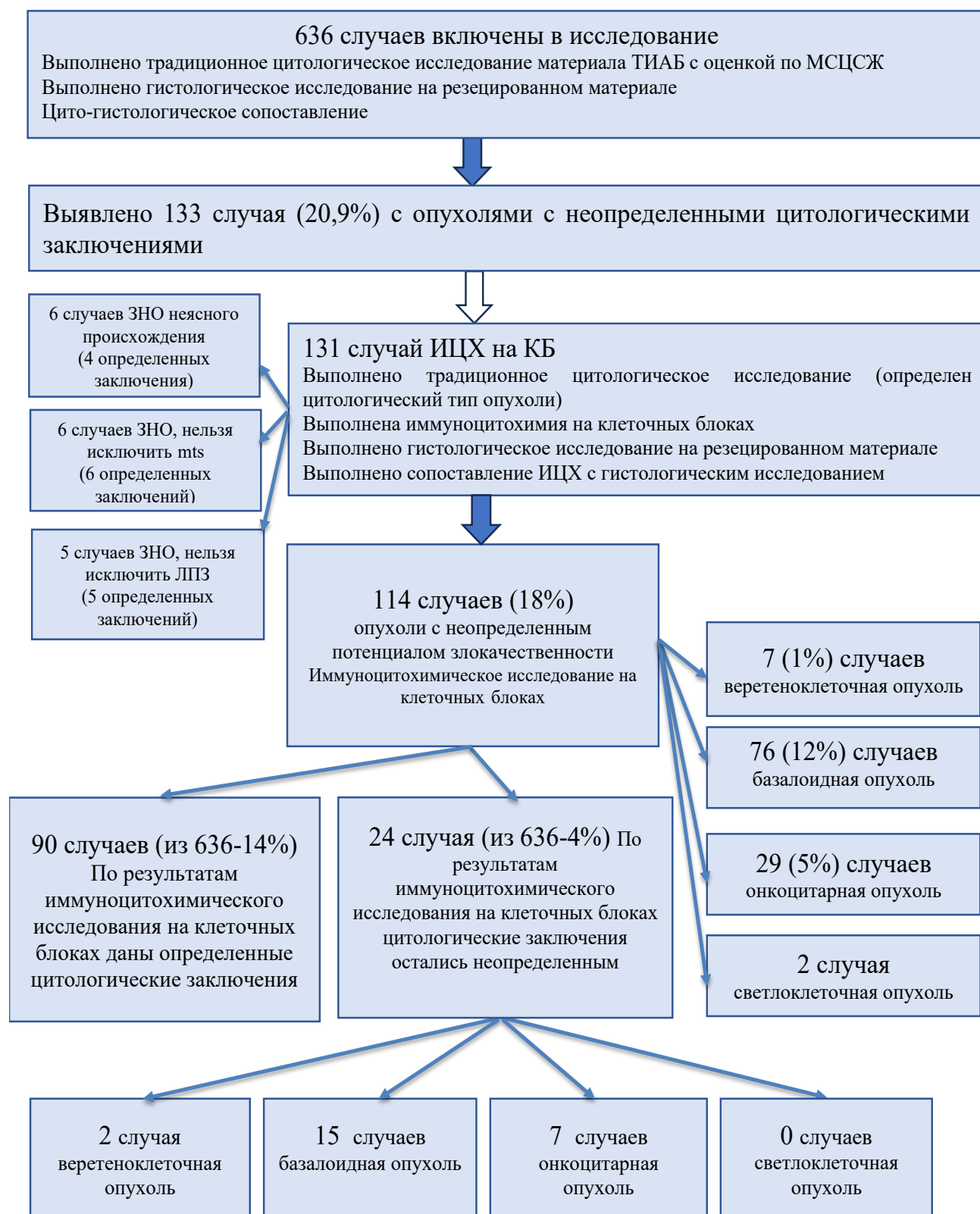


Рисунок 3 - Характеристика материала и методов исследования

В 24 случаях из 636 цитологическое заключение осталось неопределенным: в части опухолей с базалоидной морфологией в 15 случаях, в части опухолей с онкоцитарной морфологией в 7 случаях и в части опухолей с веретеночклеточной морфологией в 2 случаях. Несмотря на применение иммуноцитохимических методов исследования на цитологическом материале до лечения, не во всех случаях удалось дать точное заключение неопухолевого, доброкачественного, либо злокачественного новообразования, но было дано заключение об опухолевом поражении с соответствующей морфологией (базалоидной, онкоцитарной/онкоцитойдной, веретеночклеточной, светлочклеточной).

2.3 Получение и подготовка материала для цитологического исследования

Абсолютное количество клеток, необходимое для адекватности традиционного цитологического исследования при ТИАБ слюнной железы обсуждается. Многие практикующие цитологи склонны использовать критерии, аналогичные тем, которые рекомендованы в системе оценки цитопатологии щитовидной железы Bethesda - минимум шесть групп клеток по десять клеток в каждой группе [1,83,158]. Для оценки адекватности цитологических мазков при проведении традиционного цитологического исследования нами использовались рекомендации Миланской классификации, где рекомендуется минимум 60 измененных клеток в цитологическом материале. Для проведения иммуноцитохимического исследования требовалось наличия 200-300 клеток.

В нашем исследовании ультразвуковые исследования опухолевых узлов слюнных желез и тонкоигольные аспирационные биопсии производились на аппарате экспертного класса Philips Epic 7 с использованием линейного матричного датчика eL18-4. Во время процедуры взятия цитологического материала осуществлялся прокол иглой 21G со шприцем объемом 5,0 мл. Далее, в результате быстрого перемещения иглы вперед и назад, проходя всю глубину поражения, с аспирацией, извлекался клеточный материал. Пункционный материал распределялся на 2-3 стекла и аккуратно растягивался, параллельно расположенной

к стеклу иглой, максимально тонким слоем. Материал для клеточных блоков помещался в виалу с последующим промыванием иглы и стенок шприца транспортной средой CLEARprep.

2.4 Фиксация и окрашивание цитологических препаратов

Особенности цитоплазмы, матрикса и природа белкового или муцинозного фона оценивалась с помощью высушенных на воздухе цитологических препаратов (традиционный цитологический метод). Препараты для традиционного цитологического исследования окрашивались по методу Романовского (Азур-Эозин) на автостейнере Leica Autostainer XL. Аспираты для клеточных блоков помещались в виалы с транспортной средой CLEARprep с последующим центрифугированием, заключением осадка в объемлющую среду (желатин, агар-агар), фиксацией в формалине и стандартной гистологической проводкой в общей серии с биопсийным материалом в гистопроцессоре Leica ASP300S. Далее, клеточные блоки микротомировались для окраски гематоксилин-эозином (для контроля количественной адекватности субстрата) и окраски моноклональными антителами в общей серии с гистологическим материалом на иммуностейнерах Ventana Benchmark XT (universal staining system) с использованием Ultra View Universal DAB Detection Kit (Ventana) и на AutostainerLink48 (Dako). Обработка материала выполнялась с использованием Target Retrieval Solution на PT Link (Dako) при условии 97°C 20 мин. Стеклопрепараты изучались на световом микроскопе «Axio Scope.A1» (Carl Zeiss, Германия), объективы x10, x20, x40, x100 с иммерсией.

2.5 Методика микроскопического исследования цитологических препаратов

Окрашенные традиционные цитологические препараты изучались с помощью светового микроскопа «Axio Scope.A1» (Carl Zeiss, Германия) при увеличениях 100, 200, 400 и 1000 с масляной иммерсией. На увеличении (100 и 200, 400) выбиралась область препарата для оценки «клеточности» материала,

фиксируются структуры для более детального изучения, оценивались структурные изменения и особенности фона. На увеличении 1000 с масляной иммерсией анализировались клеточные и ядерные изменения. Критериями адекватности цитологического материала при традиционном цитологическом исследовании в соответствии с Миланской классификацией были приняты минимум 60 измененных клеток.

2.6 Дополнительные методы пробоподготовки цитологических препаратов для иммуоцитохимического исследования

В качестве дополнительных методов исследования клеточного материала использовали метод клеточных блоков.

Клеточный материал, полученный при ТИАБ для клеточных блоков, помещался в ClearPrep Collection Vial - с консервирующим раствором ClearPrep (забуференный спиртовой раствор с содержанием метанола 1,6%, был разработан для максимального сохранения всех видов эпителия). Срок хранения ClearPrep консерванта с образцом до 6 месяцев в холодильной камере (от 2 до 10 градусов Цельсия) и 4 недели при комнатной температуре (от 15 до 30 градусов Цельсия).

«Клеточный блок» (КБ) (cell-block, cytoblock) – метод приготовления цитологических препаратов, основанный на технике заливки клеточного материала (взвеси клеток) объемлющей средой с целью формирования КБ с последующим изготовлением из него тонких срезов и нанесением их на предметное стекло (как при гистологической технике).

Клеточные блоки позволяли проводить иммуноморфологические исследования, что существенно расширило диагностические возможности традиционного цитологического метода. Для КБ материал был получен при тонкоигольной аспирационной биопсии под контролем УЗИ. Осадки из клеток/фрагментов тканей получали путем центрифугирования пробы, затем очищенный клеточный осадок помещали в связующую основу (желатин, агар-агар). В последующем материал обрабатывался так же, как биопсийный: фиксация, проводка, заливка в парафин, микротомия, окраска, заключение в монтирующую

среду. Из одного блока готовили серию микропрепаратов для постановки иммуноцитохимии с панелью антител.

На КБ применяли различные методы исследования: окрашивание (гематоксилин-эозином), ИЦХ-исследование. Нами КБ использовались с целью обеспечения сохранности клеточных элементов для последующих ИЦХ.

Определены основные преимущества КБ:

- возможность для цитолога изучать дополнительные морфологические признаки, в первую очередь структурные признаки опухоли;
- архивирование цитологического материала на неограниченное время с последующим ИЦХ- и молекулярногенетическим исследованием;
- возможность получить серийные срезы в целях проведения ИЦХ- и молекулярно-генетического исследования;
- возможность повторить ИГХ и молекулярно-генетическое исследование тех же образцов. Например, в случае прогрессирования опухоли дополнительные исследования могут быть проведены на материале исходного КБ, если повторная биопсия не представляется возможной;
- наличие установленных и проверенных протоколов для ИГХ - и молекулярно-генетического исследования;
- простота, безопасность, экономическая эффективность техники, воспроизводимость даже в условиях ограниченных ресурсов.

В нашем случае клеточные блоки выполнялись двумя способами, с желатином и с агар-агаром в качестве объемлющей среды. В конечном итоге, было отдано предпочтение агар-агаровой среде, как наиболее благоприятной для дальнейших дополнительных иммуноцитохимических и молекулярно-генетических исследований [84,85,86,87].

Технология приготовления КБ с применением агар-агара.

Оборудование: центрифуга, водяная баня, морозильная камера.

Расходные материалы: пробирки центрифужные, стеклянные палочки, пипетки (дозаторы), виалы ClearPrep, краситель Гематоксилин Гарриса, агар-агар полужидкий, гистологические кассеты, гистологические фильтры.

Реагенты:

Приготовление полужидкого агара: 3 г сухого агар-агара растворяли в 100 мл воды, ставили на водяную баню и расплавляли до полного растворения при 80-90 градусов Цельсия, полужидкий агар хранили в холодильнике.

Гематоксилин Гарриса- использовали готовую форму.

Последовательность выполнения:

- центрифугировали всю жидкость из виалы в течении 10 минут при 2000 об/мин (если объем жидкости большой использовали несколько пробирок, затем все осадки переносили в одну пробирку);
- сливали надосадочную жидкость;
- подкрашивали бесцветный осадок Гематоксилином Гарриса (20 мкл красителя), перемешивали;
- к осадку добавляли разогретый полужидкий агар 1 :1 и аккуратно перемешали без пузырьков воздуха;
- помещали пробирку в морозильную камеру на 1-2 мин;
- при помощи стеклянной палочки вынимали плотный клеточный сгусток;
- на дно промаркированной гистологической кассеты помещали влажный гистологический фильтр и переносили клеточный сгусток, накрывали влажным гистологическим фильтром, закрывали кассету;
- кассету погружали в 10% забуференный формалин, экспозиция составила от 3 до 6 часов; - кассету передавали в гистологическую «проводку» для биопсийного материала (экспозиция составила 3 часа);
- после проводки проводили заливку кассеты парафином.

КБ хранили при комнатной температуре.

2.7 Иммуноцитохимическое исследование

Прежде чем назначать панель антител для иммуноцитохимического исследования, клеточные блоки микротомировались для окраски гематоксилин-эозином и выполнялась оценка количественной адекватности субстрата. При наличии не менее 200-300 опухолевых клеток в препарате, окрашенном

гематоксилин-эозином, блок передавался на «нарезку» с использованием стекол с адгезивным покрытием Super Frost Plus Ultra. Далее, выполнялась окраска выбранными моноклональными антителами с использованием контрольных материалов, в общей серии с гистологическим материалом на иммуноштейнерах Ventana Benchmark XT (universal staining system) с использованием Ultra View Universal DAB Detection Kit (Ventana) и на AutostainerLink48 (Dako), обработка материала выполнялась с использованием Target Retrieval Solution на PT Link (Dako) при условии 97°C 20 мин. В процессе дифференциально-диагностического поиска использовались разные антитела, в том числе и для материала, подозрительного на метастатические поражения и на лимфопролиферативные заболевания. Перечень антител в Таблице 7 [97-111].

Таблица 7 - Список антител

Список антител	Клон
Actin Smooth muscles	clone 1A4 Cell Marque
Androgen receptor	clone AR441 DAKO
BCL-2	clone 124 Ventana
CA19-9	clone 121SLE Cell Marque
P40	clone BC28 Ventana
P16	clone INK4a Ventana
Calponin	clone EP798Y Cell Marque
b-catenin	clone 14 Cell Marque
CD4	clone SP35 Ventana
CD10	clone sp67 Ventana
CD20	clone L26 Ventana
CD34	clone QBEnd/10 Ventana
CD45	clone LCA 2B11fpd7/26 Cell Marque
CD99	clone O13 Ventana
CD117 c-kit	polyclonal DAKO
CEA	clone CEA31 Cell Marque
CK	clone CAM 5.2 Ventana
CK-Pan	clone AE1/AE3 PCK26 Ventana
CK-7	Clone OV-TL 12/30 Cell Marque
CK14	clone LL002 Sigma Aldrich
CK5/6	clone D5/16B4 Ventana
CK20	clone sp33 Ventana
DOG1	clone (DOG1 (SP31) Ventana

Продолжение Таблицы 7	
EMA	clone E29 Ventana
CEA	Clone TF3H8-1 Ventana
ER	clone SP-1 Ventana
GCDFP-15	clone EP1582Y Cell Marque
GFAP	clone EP672Y Cell Marque
HER2neu	clone 4B5 Ventana
Ki67	clone 30-9 Ventana
Mammaglobin	clone 31A5 Cell Marque
Melanosome+MART1 +Tyrosinase	clone HMB45+melanA (A103) +T311 Cell Marque
Melan-A/MART-1	clone A103 Ventana
Melanosome	clone HMB45 Ventana
MUC2	clone MUC2 Ventana
MUC6	clone MRQ-20 Cell Marque
Продолжение таблицы 9	
Список антител	Клон
Продолжение таблицы 7	
Sox-10	clone DA214 Dartmon
MUC5AC	clone MUC5AC Cell Marque
MUC1	clone H23 Cell Marque
P63	clone 4A4 Ventana
PAX-5	clone sp34 Cell Marque
PR	clone 1E2 Ventana
S100	clone 4C4.9 Ventana
Vimentin	clone V9 Ventana

2.8 Оценка полученных результатов при иммуноцитохимическом исследовании

При оценке ИЦХ реакции прежде всего проверялась адекватность реакции на контрольном материале, расположенном на этом же стекле и наличие не менее 200-300 опухолевых клеток в исследуемом материале. Если опухолевых клеток недостаточно, то материал расценивался как не репрезентативный. Для правильной оценки иммунореактивности учитывалась локализация интересующего антигена и соответствие ожидаемому результату в контрольном материале и в исследуемом материале. Факторы транскрипции (p63/p40), рецепторы стероидных гормонов

(ER, PR, AR) и индекс пролиферации функционируют в ядре и демонстрировали экспрессию в ядрах. Большинство антигенов, которые использовали, экспрессировались в цитоплазме, к ним относились белки цитоскелета, сократительные белки, меланосом-ассоциированные белки, продукты секреции и другие функциональные молекулы. На клеточных мембранах оценивали экспрессию рецепторов, молекул адгезии и практически всех CD-антигенов. В случаях с S100, p16 антигены экспрессировались и в ядре, и в цитоплазме, для *β-catenin* специфичной являлась экспрессия в ядрах. Способ оценки экспрессии качественный. Результаты цитологических и иммуноцитохимических исследований сопоставлялись с гистологическими диагнозами и иммуногистохимическими исследованиями, если таковые выполнялись [112-138].

2.9 Методика статистического анализа данных

Результаты цитологической и иммуноцитохимической диагностики оценивались с помощью стандартизованных тестов оценки метода (достоверности, чувствительности и специфичности) по следующим формулам:

- Чувствительность (Se) - доля истинно положительных результатов:

$Se = a/(a+c) \times 100\%$, где *a* – количество истинно положительных результатов, *c* - количество ложноотрицательных результатов.

- Специфичность (Sp) – доля истинно отрицательных результатов:

$Sp = d/(b+d) \times 100\%$, где *d* – количество истинно отрицательных результатов, *b* – количество ложноположительных результатов

- Достоверность (Ac) – доля правильных диагнозов:

$Ac = (a+d)/(a+d+b+c) \times 100\%$, где *a* – количество истинно положительных результатов, *b* – количество ложноположительных результатов, *c* - количество ложноотрицательных результатов, *d* – количество истинно отрицательных результатов.

- Прогностичность положительного результата (PPV- Positive Predictive Value– определяется отношением положительных результатов, полученных с помощью цитологического метода и подтвержденных гистологически к общему

числу положительных цитологических заключений (включая ложноположительные):

$PVP = a / (a + b) \times 100\%$, где a - истинно положительные результаты, b - количество ложноотрицательных результатов.

- Прогностичность отрицательного результата (NPV-Negative Predictive Value - определяется отношением отрицательных результатов, полученных с помощью цитологического метода и подтвержденных гистологически к общему числу отрицательных цитологических заключений (включая ложноотрицательные):

$PVN = d / (d + c) \times 100\%$, где d - истинно отрицательные результаты, c - количество ложноположительных результатов.

Для расчета этих показателей использовалась стандартная четырехпольная таблица сопряженности.

Критерием достоверности был результат гистологического исследования, проведенного на операционном или биопсийном материале.

Статистический учет проводился с использованием программы Microsoft Excel. Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel, Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 4.4.1 (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ

3.1 Традиционное цитологическое исследование опухолей слюнных желез с гистологической верификацией

Анализ 636 пациентов с заболеваниями слюнных желез показал, что в большинстве случаев опухоли оказались доброкачественными (66,8%), при этом наиболее часто выявлялась плеоморфная аденома (44,8%), второй по частоте была опухоль Уортина (15,7%). Злокачественные и метастатические опухоли составили 22,6% и 4,7% соответственно. Среди злокачественных опухолей преобладали аденокистозная карцинома – 5,2%, мукоэпидермоидная карцинома – 3,0% и ацинарноклеточная карцинома – 2,7%. Чаще наблюдались метастазы в слюнные железы плоскоклеточной карциномы – 2,7%, меланомы – 1,6%, карциномы молочной железы – 0,2%. Цитологический материал был категорирован в соответствии с МСЦСЖ, преобладающая категория доброкачественные опухоли слюнной железы (CIVA) – 47,0%.

В таблице 8 продемонстрировано морфологическое разнообразие опухолей слюнных желез, зафиксированное на резецированном материале 636 пациентов – 5 гистологических вариантов метастатических поражений и 34 гистологических вариантов опухолей.

Таблица 8 - Распределение гистологических диагнозов (n=636)

Показатель	Гистологический тип опухоли	Абс.	%
Гистологический диагноз (код по МКБ-О)	8000/1 Солитарная фиброзная опухоль	1	0,2
	8000/3 Эпителиоклеточная злокачественная опухоль	2	0,3
	8000/6 Метастаз меланомы	10	1,6
	8006/6 Метастаз карциномы мж	1	0,2
	8010/6 Метастаз недиф. карциномы	1	0,2
	8020/3 Недиф. карцинома	2	0,3
	8070/3 ПКР	5	0,8

Продолжение Таблицы 8			
	8070/6 Метастаз ПКР	17	2,7
	8071/3 ПКР с ороговением	1	0,2
	8074/3 Неорогов.ПКР	1	0,2
	8140/3 Аденокарцинома	14	2,2
	8147/0 Баз.клет. аденома	6	0,9
	8147/3 Баз.клет. карцинома	3	0,5
	8149/0 Мономорфная (канальцевая) аденома	9	1,4
	8200/3 Аденокистозная карцинома	33	5,2
	8290/0 Оксифильная аденома	13	2,0
	8430/3 Мукоэпидермоидный карцинома	19	3,0
	8440/0 Цистаденома	1	0,2
	8480/3 Муцинозная аденокарцинома	1	0,2
	8500/3 Инфильтрирующая протоковая карцинома, БДУ	11	1,7
	8525/3 Полиморфная аденокарцинома	2	0,3
	8550/3 Ацинарно-клеточная карцинома	17	2,7
	8561/0 Опухоль Уортина	100	15,7
	8562/3 Эпителиально-миоэпителиальная карцинома	5	0,8
	8811/3 Миксофибросаркома	2	0,3
	8832/6 Метастаз дерматофибросаркомы	1	0,2
	8890/0 Миолипома	1	0,2
	8940/0 Плеоморфная аденома	285	44,8
	8941/3 Карцинома из плеоморфной аденомы	6	0,9
	8980/3 Саркома	4	0,6
	8982/0 Миоэпителиома	7	1,1
	8982/3 Миоэпителиальная карцинома	4	0,6
	9251/1 Гигантоклеточная опухоль	1	0,2
	9560/0 Шваннома	3	0,5
	9590/3 Лимфома, БДУ	2	0,3
	9591/3 Крупноклеточная лимфома	2	0,3
	9650/3 Лимфома Ходжкина	1	0,2
	9680/3 В-клеточная лимфома	6	0,9
	9699/3 В-клеточная лимфома маргинальной зоны	1	0,2
	ND	1	0,2
	NN	34	5,3
	Итого	636	

ND– не диагностический материал; NN- неопухолевые заболевания

Анализ распределения гистологических вариантов опухолей слюнных желез по возрастным группам показал, что в первой возрастной группе (младше 30) преобладали доброкачественные опухоли и неопухолевые заболевания в 75,0% и 8,3% случаях соответственно, при этом фиксировались и злокачественные опухоли 16,7% случаях (Рисунок 4). Однако, в этой группе не были установлены статистически значимые различия - p превысила 0,05 и этот факт, позволяет объединить первую и вторую возрастные группы в одну, как это показано в таблице 9 и рисунке 4.

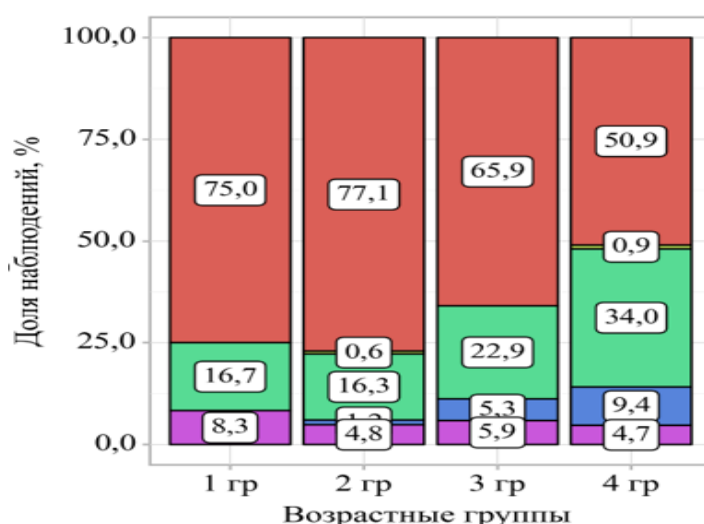
Таблица 9 - Анализ распределения по возрастным группам больных с разными гистологическими диагнозами (МКБ-О) (n=636)

Показатель	Категории	Возрастные группы			p
		Группа 1-2 (18-50)	Группа 3 (51-70)	Группа 4 (71-93)	
Гистологический диагноз (МКБ-О)	Доброкачественные опухоли	146 (76,8%)	224 (65,9%)	54 (50,9%)	0,002* Р группа (1-2) – группа 4 <
	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности	1 (0,52%)	0	1 (0,9%)	
	Злокачественные опухоли	31 (16,31%)	78 (22,9)	36 (34,0%)	0,001 Р группа 3 – группа 4 = 0,034
	Метастатические опухоли	2 (1,05%)	18 (5,3%)	10 (9,4%)	
	Неопухолевые образования	10 (5,26%)	20 (5,9%)	5 (4,7%)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Учитывая, что во второй возрастной группе (31-50 лет) также преобладали доброкачественные опухоли – 77,1%, в два раза меньше неопухолевых заболеваний – 4,8%, злокачественные опухоли фиксировались примерно в том же проценте – 16,3%, что и в первой группе, но отмечались метастатические поражения – 1,2% и опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности – 0,6%, первую и

вторую возрастную группу следует объединить и считать первой группой. Таким образом, во второй возрастной группе (51-70) так же преобладали доброкачественные опухоли, но уже в меньшем проценте – 65,9%, не опухолевые заболевания составили 5,9%, возросла заболеваемость злокачественными и метастатическими опухолями 22,9% и 5,3% соответственно. Третья возрастная группа (71-93 года) демонстрировала наименьшую по сравнению с первыми тремя группами заболеваемость доброкачественными опухолями – 50,9% и не опухолевыми заболеваниями - 4,7%, значительно возросла заболеваемость злокачественными и метастатическими опухолями 34,0% и 9,4% соответственно (Таблица 9, Рисунок 4). Поэтому, для понимания заболеваемости и маршрутизации пациентов, целесообразно рассматривать три возрастные группы – первая с 18 лет до 50 лет, вторая с 51 года до 70 лет и третья с 71 года.



Доброкачественные опухоли /0
 Опухоли с неопределенным потенциалом
 злокачественности /1
 Злокачественные опухоли /3
 Метастатические опухоли /6
 Неопухолевые образования К



Рисунок 4 - Анализ распределения по возрастным группам опухолей с разными гистологическими диагнозами (МКБ-О), %

При анализе частоты развития различных неопухолевых и опухолевых заболеваний в нашем исследовании выявлено, что доброкачественные опухоли чаще всего развивались в околоушных слюнных железах – в 85,1% случаях, в восемь раз реже в подчелюстных слюнных железах – 9,7% и еще реже в малых слюнных железах – 5,2% (Таблица 10, Рисунок 5).

Таблица 10 – Анализ распределения по локализациям опухолей с различными гистологическими диагнозами (n=636)

Показатель	Категории	Гистологический диагноз (МКБ-О)						p
		Доброкачественные опухоли (n)	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (n)	Злокачественные опухоли (n)	Метастатические опухоли (n)	ND (n)	NN неопухолевые образования (n)	
Локализация	Малая СЖ	22 (5,2%)		16 (11%)	1 (3,3%)		6 (17,6%)	0,003*
	ОУСЖ	361 (85,1%)	2 (100%)	100 (69%)	23 (76,6%)	1 (100%)	23 (67,6%)	
	Подчелюстная СЖ	41 (9,7%)		29 (20%)	6 (20%)		5 (14,6%)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Злокачественные опухоли так же определялись преимущественно в околоушных слюнных железах – 69,0%, в 20,0% случаев фиксировались в подчелюстных слюнных железах и в 11,0% описывались в малых слюнных

железах. Метастатическим поражениям так же, в большинстве случаев были подвержены околоушные слюнные железы – 76,7%, почти в четыре раза реже подчелюстные слюнные железы – 20,0%, малые слюнные железы – 3,3%. Чаще всего метастазировал плоскоклеточный рак, характерный для опухолей головы и шеи.

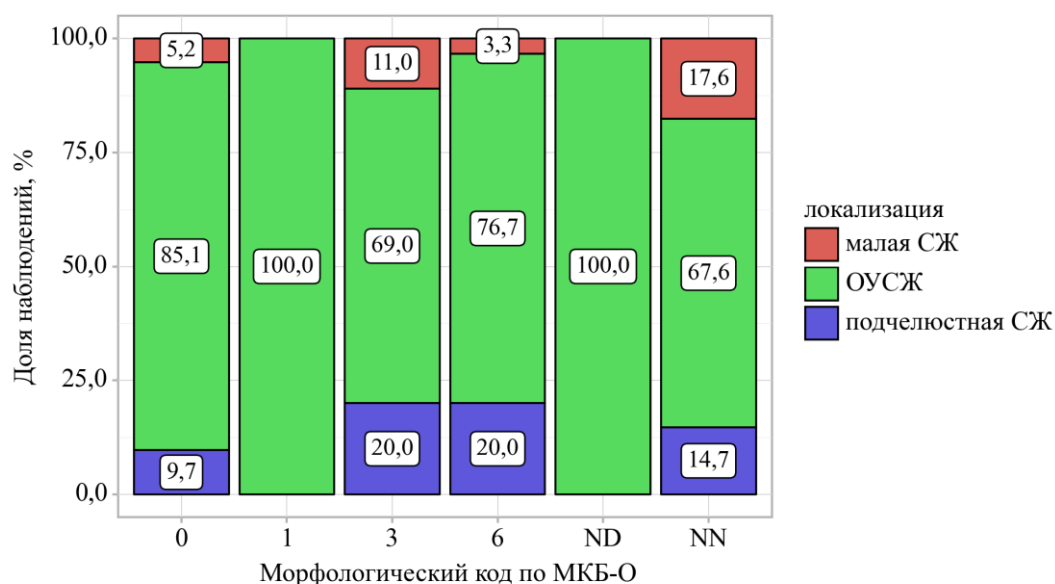


Рисунок 5 - Анализ распределения по локализациям опухолей с разными гистологическими диагнозами (МКБ-О), %

В таблице 11 показаны результаты сопоставления цитологических заключений (категории по МСЦСЖ) с гистологическим исследованием у 636 больных. Неопухоловые заболевания слюнных желез цитологически определены в 23 случаях при этом заключение было подтверждено гистологически в 19 (82,6%) случаях. В 3 случаях к категории атипия неясного значения цитологически отнесены доброкачественные опухоли. Доброкачественные опухоли в 296 (99,0%) случаях из 299, цитологически были отнесены верно к категории IVA МСЦСЖ. В 114 случаях цитологически определены опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности. К категориям CV (подозрение на злокачественные опухоли) и CVI (злокачественные опухоли) верно отнесены 26(65%) и 119(90,8%) случаев из 40 и 131 соответственно. В 1 случае для цитологической диагностики метастатической опухоли слюнных желез клеточного материала оказалось не

достаточно для диагностики, в остальных случаях метастатические опухоли категорированы как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности CIVB – 6 случаев, подозрение на злокачественные опухоли CV – 2 случая и злокачественные опухоли CVI – 21 случай, таким образом в 73,3% случаев верно определена злокачественная природа опухоли.

Таблица 11 - Сопоставление цитологических заключений (категории по МСЦСЖ) с гистологическим исследованием (МКБ-О) (n=636)

Цитологическое исследование		Гистологическое исследование (морфологический тип опухоли (МКБ-О))						Всего
Показатель	Категории	Доброкачественные опухоли /0 (n)	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности /1 (n)	Злокачественные опухоли /3 (n)	Метастатические опухоли /6 (n)	Неопухолевые образования К (n)	ND	
Категории по МСЦСЖ	CI	17		4	1	4		26
	CII	4				19		23
	CIII	3						3
	CIVA	296		1		2		299
	CIVB	86	1	17	6	4		114
	CV	9	1	24	2	4		40
	CVI	10		98	21	1	1	131
	Всего	425	2	144	30	34	1	636

В таблице 12 показаны результаты цито – гистологических сопоставлений опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности CIVB. В категории опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности в 86 (75,4%) случаях гистологическое исследование резецированного материала подтвердило доброкачественные опухоли, среди которых 51,7% составили плеоморфные аденомы и в 9,6% опухоли Уортина. В 23 (20.2%) случаях гистологически были подтверждены злокачественные опухоли. В 4 (3,5%) случаях - гистологически неопухолевые поражения. Это распределение указывает на необходимость

разработки более подробных дифференциально-диагностических критериев для опухолей с перекрывающимися цитоморфологическими признаками и определения возможностей иммуноцитохимического метода на клеточных блоках для более точной цитологической диагностики опухолей слюнных желез.

Таблица 12 – Сопоставление цитологического исследования (категории МСЦСЖ) с гистологическим диагнозом (код по МКБ-О) (n=636)

Гистологический диагноз (код по МКБ-О)	Цитологическое заключение (МСЦСЖ)						
	CI (n,)	CI (n,)	CI (n,)	CIVA (n)	CIVB (n)	CV (n)	CVI (n)
8000/1 Солитарная фиброзная опухоль						1	
8000/3 Эпителиокл. Зл.О.						1	1
8000/6 мтс меланомы					4		6
8006/6 мтс кар. мж							1
8010/6 Мтс недиф.кар.					1		
8020/3 Недиф. Кар.						1	1
8070/3 ПМК							5
8070/6 Метастаз ПМК	1				1	2	13
8071/3 ПМК с орог.							1
8074/3 Неорогов. ПМК							1
8140/3 Аденокарцинома						4	10
8147/0 Баз.клет. аденома			1	1	4		
8147/3 Баз.клет. кар.					3		
8149/0 Канальцевая аденома	1			5	1	2	
8200/3 Аденокист.кар.					5	5	23
8290/0 Оксифильная аденома				7	5		1
8430/3 Мукоэпид. кар.	2				1	5	11
8440/0 Цистаденома					1		
8480/3 Муцинозная аденокарцинома					1		
8500/3 Протоковый рак						1	10
8525/3 Полиморфная аденокарцинома							2
8550/3 Ацинарно-клеточная карцинома	1			1	1	1	13

Продолжение Таблицы 12							
8561/0 опухоль Уортина	8	3		76	11	2	
8562/3 Эпит.-миоэп. карцинома					1	1	3
8811/3 Миксофибросаркома					1		1
8832/6 мтс дерматофибросаркомы							1
8890/0 Миолипома				1			
8940/0 Плеоморфная аденома	8	1	2	206	59	3	6
8941/3 Карцинома из плеоморфной аденомы						3	3
8980/3 Саркома						1	3
8982/0 Миоэпителиома					4	2	1
8982/3 Миоэпителиальная карцинома					2	1	1
9251/1 Гигантоклеточная опухоль					1		
9560/0 Шваннома					1		2
9590/3 Лимфома, БДУ					1		1
9591/3 Крупноклеточная лимфома	1						1
9650/3 Лимфома Ходжкина							1
9680/3 В-клеточная лимфома					1		5
9699/3 В-клет. лимфома маргинальной зоны							1
ND							1
Неопухолевые образования, NN	4	19		2	4	4	1
Всего 636	26	23	3	299	114	40	131

Для оценки возможностей цитологической диагностики наличия опухоли слюнных желез были применены общепринятые в онкологии стандартизованные тесты оценки информативности метода: достоверность, чувствительность, специфичность, диагностическая достоверность/точность, положительная прогностическая ценность и отрицательная прогностическая ценность. Для расчета

этих показателей использовалась стандартная четырехпольная таблица сопряженности.

Таблица 13 - Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для оценки метода цитологической диагностики по МСЦСЖ наличия опухоли)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Наличие опухоли	Отсутствие опухоли
Наличие опухоли	A (576)	B (11)
Отсутствие опухоли	C (4)	D (19)

По результатам статистического анализа пункционного материала 636 пациентов (26 не диагностический материал), чувствительность, специфичность и достоверность цитологического метода в определении наличия опухоли следующие: Чувствительность 99,3%, Специфичность 63,3%, Достоверность/Точность 97,5%, Прогностичность положительного результата 98,1%, Прогностичность отрицательного результата 82,6%.

Для оценки результатов цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов были применены общепринятые в онкологии стандартизованные тесты оценки метода для категорий СII, CIVA, CV, CVI (493 больных) МСЦСЖ.

Таблица 14 - Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для оценки метода цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Злокачественная опухоль	Доброкачественный процесс
Злокачественная опухоль	A (146)	B (25)
Доброкачественный процесс	C (1)	D (321)

По результатам статистического анализа пункционного материала для

категорий CII, CIVA, CV, CVI, чувствительность, специфичность и достоверность цитологического метода в определении злокачественной опухоли относительно доброкачественного процесса следующие:

Чувствительность 99,3%, Специфичность 92,8%, Достоверность/Точность 94,7%, Прогностичность положительного результата 85,4%, Прогностичность отрицательного результата 99,7%.

Для оценки результатов цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей были применены общепринятые в онкологии стандартизованные тесты оценки метода для категорий CIVA, CV, CVI (461 больных) МСЦСЖ.

Таблица 15 - Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для оценки метода цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Злокачественная опухоль	Доброкачественная опухоль
Злокачественная опухоль	A (145)	B (19)
Доброкачественная опухоль	C (1)	D (296)

По результатам статистического анализа пункционного материала в категориях CIVA, CV, CVI пациентов, чувствительность, специфичность и достоверность цитологического метода в определении злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей следующие:

Чувствительность 99,3%, Специфичность 94,0%, Достоверность/Точность 95,7%, Прогностичность положительного результата 88,4%, Прогностичность отрицательного результата 99,7%.

По результатам статистического анализа 636 пациентов, рассчитан риск малигнизации для каждой категории по МСЦСЖ (Рисунок 6). На рисунке 6 представлены данные частоты встречаемости каждой из категорий МСЦСЖ в % и риск малигнизации в каждой категории на основании гистологического

исследования резецированного материала. В нашем исследовании 636 пациентов, 4,09% проб были расценены как не диагностические – СІ и риск малигнизации составил 19,23%. Не опухолевая категория СІІ составила 3,62% с нулевым риском малигнизации. Опухоли с атипией неопределенного значения СІІІ составили 0,47% и тоже с нулевым риском малигнизации. Самый высокий процент больных - 47% отмечен в категории СІVА - доброкачественные опухоли с риском малигнизации 0,33%, поскольку опухоли демонстрировали однозначную цитоморфологическую картину доброкачественности. В нашем исследовании, категория опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности СІVВ превысила рекомендованные МСЦСЖ на 7,92% и составила 17,92%, риск малигнизации составил 20,18%. Категория СV встретила в 6,29% случаев с риском малигнизации 67,5%, наконец категория СVІ составила 20,6% с риском малигнизации 90,84%.

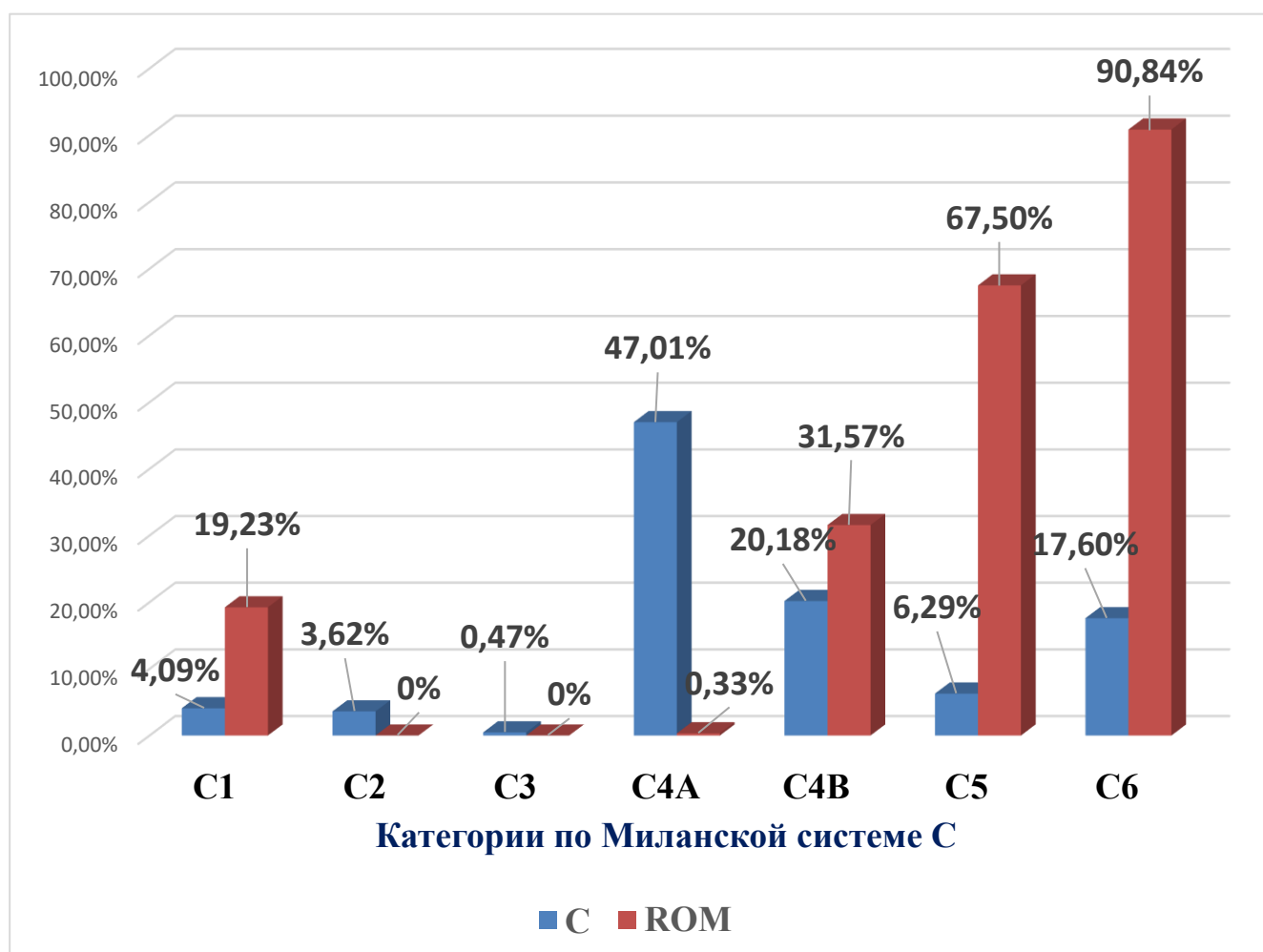


Рисунок 6 - ROM – риск малигнизации по категориям МСЦСЖ

3.2 Традиционное цитологическое и иммуноцитохимическое исследование опухолей слюнных желез на материале клеточных блоков с последующей гистологической верификацией на резецированном материале

Среди 636 случаев выделена группа из 133 случаев с неопределенными цитологическими заключениями. У 2 больных клеточные блоки не получились. 131 больному удалось выполнить иммуноцитохимические исследования на материале клеточных блоков на догоспитальном этапе. Исследуемый материал был разделен по цитологическому типу опухоли, в том числе 114 случаев с преимущественно базалоидной, онкоцитарной веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией. У остальных 17 больных по данным цитологии имелись злокачественные новообразования, для уточнения варианта которых, проводилось иммуноцитохимическое исследование на клеточных блоках. Исследуемый материал (131 больной) по цитологическому типу опухоли разделился следующим образом: злокачественная опухоль неясного происхождения - 6, злокачественная опухоль, нельзя исключить вторичное происхождение - 6, злокачественная опухоль, нельзя исключить ЛПЗ -5, опухоль с базалоидной морфологией -76, опухоль с онкоцитарной морфологией - 29, опухоль с веретенноклеточной морфологией -7 и опухоль со светлоклеточной морфологией -2 (Таблица 16).

Среди базалоидных опухолей гистологически верифицированы 82,9% доброкачественных опухолей, 14,5% злокачественных опухолей и 2,6% неопухолевых заболеваний. Среди онкоцитарных опухолей гистологически верифицированы 65,5% доброкачественных опухолей, 31,1% злокачественных опухолей и 3,4% неопухолевых заболеваний. Среди веретенноклеточных опухолей гистологически верифицированы 57,1% доброкачественных опухолей, 28,6% злокачественных опухолей и 14,3% неопухолевых заболеваний. Светлоклеточные опухоли оказались самыми редкими – два наблюдения, из них одна опухоль

гистологически определена как меланома и одна как гигантоклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (Таблица 16).

Таблица 16 – Сопоставление цитологического типа опухоли (131 случай) с гистологическими диагнозами (МКБ-О)

Показатель	Категории	Цитологический тип опухоли							p
		Злокачественная опухоль неясного происхождения (n, %)	Злокачественная опухоль, нельзя исключить вторичное происхождение (n, %)	Базалоидная опухоль (n, %)	Веретено клеточная опухоль (n, %)	Злокачественная опухоль, нельзя исключить ЛПЗ (n, %)	Онкоцитарная опухоль (n, %)	Светлоклеточная опухоль (n, %)	
Гистологический диагноз	8000/6 мтс меланомы		1 (16,7)				3 (10,3)	1 (50,0)	<0,001*
	8010/6 мтс недиф. кар.			1 (1,3)					
	8070/3 ПКР	2 (3,3)							
	8070/6 мтс ПКР	1 (16,7)	4 (66,7)				1 (3,4)		
	8071/6 ПКР с орогованием		1 (16,7)						
	8140/3 Аденокарц.	1 (16,7)							
	8149/0 Канальцевая аденома			1 (1,3)					
	8147/0 Баз.клет. аденома			4 (5,3)					
	8147/3 Баз.клет. кар.			3 (3,9)					
	8200/3 Аденокист.кар			5 (6,6)					
	8290/0 Оксиф. аденома						5 (17,2)		
	8430/3 Мукоэпид. рак						1 (3,4)		

Продолжение Таблицы 16								
8440/0 Цистаденома						1 (3,4)		
8480/3 Муциноз. кар.			1 (1,3)					
8500/3 проток. рак	2 (33,3)							
8550/3 Ацино- клет. кар.						1 (3,4)		
8561/0 опухоль Уортина						11 (37,9)		
8562/3 Эпит.- миоэп. кар.			1 (1,3)					
8811/3 Миксофиброс аркома				1 (14,3)				
8940/0 Плеоморфная аденома			57(7 5,0)			2 (6,9)		
8982/0 Миоэпителио ма			1 (1,3)	3 (42,9)				
8982/3 Миоэп. карцинома				1 (14,3)		1 (3,4)		
9251/1 Гигантоклеточ ная опухоль							1 (50,0)	
9560/0 Шваннома				1 (14,3)				
9590/3 Лимфома						1 (3,4)		
9650/3 Лимфома Ходжкина					1 (0,0)			
9680/3 В-клет. лимфома					3 (60,0)	1 (3,4)		
9699/3 В-клет. лимфома марг. зоны					1 (20,0)			
NN			2 (2,6)	1 (14,3)		1 (3,4)		
Всего 131	6	6	76	7	5	29	2	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$, где p – уровень значимости или вероятность ошибки). В результате сопоставления цитологического типа опухоли с гистологическим кодом МКБ-0 с, были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$)

Сопоставление цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом на резецированном материале показало совпадение в 69,5% случаев (91 случай из 131), в 10,7% случаев выявлено несовпадение (14 случаев) (Таблица 17), недиагностическим оказался материал клеточных блоков в 19,85% случаев (26 из 131). Данные, представленные в таблице 17, позволили изучить несовпадения результатов цитологии и ИЦХ с гистологическим диагнозом. Что касается цитологической и иммуноцитохимической диагностики 14-ти больных с не совпавшими заключениями, иммуноцитохимия требовала применения более широких панелей антител.

Таблица 17 Сопоставление результатов иммуноцитохимических исследований с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) (131 случай)

Показатель	Категории	Совпадение заключения цитологии и ИЦХ с гистологическим диагнозом			p
		ND (n, %)	Да (n, %)	Нет (n, %)	
Гистологический диагноз (код МКБ-0)	8000/6 мтс меланомы	1 (3,85)	4 (4,4)		0,020*
	8010/6 мтс недиф. карциномы		1 (1,1)		
	8070/3 ПКР		2 (2,2)		
	8070/6 мтс ПКР	1 (3,85)	4 (4,4)	1 (7,1)	
	8071/6 ПКР с орог.		1 (1,1)		
	8149/0 Канальцевая аденома		1 (1,1)		
	8140/3 Аденокарцинома			1 (7,1)	
	8147/0 Баз.клет. аденома		3 (3,3)	1 (7,1)	
	8147/3 Баз.клет. кар.		2 (2,2)	1 (7,1)	
	8200/3 Аденокист.кар.	2 (7,9)	1 (1,1)	2 (14,3)	
	8290/0 Оксифильная аденома	1 (3,85)	4 (4,4)		
	8430/3 Мукоэпидер. карцинома	1 (3,85)			
	8440/0 Цистаденома		1 (1,1)		
	8480/3 Муцинозная аденокарцинома	1 (3,85)			

Продолжение Таблицы 17				
	8500/3 Проток. Кар.	1 (3,85)	1 (1,1)	
	8550/3 Ацинарно-клет. карцинома			1 (7,1)
	8561/0 опухоль Уортина	1 (3,85)	10 (11,0)	
	8562/3 Эпител.-миоэп. карцинома			1 (7,1)
	8811/3 Миксофибросарк.	1 (3,85)		
	8940/0 Плеом. аденома	13 (50,0)	43 (47,3)	3 (21,4)
	8982/0 Миоэпителиома		4 (4,4)	
	8982/3 Миоэп. Кар.	1 (3,85)	1 (1,1)	
	9251/1 Гигантокл.опухоль		1 (1,1)	
	9560/0 Шваннома			1 (7,1)
	9590/3 Лимфома		1 (1,1)	
	9650/3 Лимфома Ходжкина		1 (1,1)	
	9680/3 В-клет. лимфома		4 (4,4)	
	9699/3 В-клет.лимфома марг. зоны		1 (1,1)	
	NN	2 (7,7)		2 (14,3)
	Всего из 131 случая	26(19,84)	91(69,46)	14(10,68)

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

При сопоставлении результатов иммуноцитохимических исследований с гистологическим диагнозом, были выявлены статистически значимые различия ($p = 0,020$).

В таблице 18 отмечено совпадение цитологических и ИЦХ заключений с гистологическими диагнозами (91 случай), выделены несовпадения (14 случаев) и отмечен не диагностический материал (26 случаев). В пяти случаях было высказано предположительное заключение цитологического и ИЦХ исследования о плеоморфной аденоме, гистологически были даны заключения о злокачественных опухолях в трех случаях и в двух случаях были даны заключения о доброкачественной опухоли, но другого типа.

В двух случаях цитологические и ИЦХ заключения предполагали лимфопролиферативное заболевание, однако, по результатам гистологического и ИГХ исследований диагноз был в одном случае низкодифференцированный ПКР и в другом случае – аденокистозный рак. В пяти случаях ИЦХ заключения были даны о доброкачественных опухолях, гистологические диагнозы подтвердили доброкачественные опухоли, но других морфологических типов (Таблица 17,18).

Продолжение Таблицы 18																						
8290/0 Оксифил . аденома									4													1
8430/3 Мукоэпи дерм. сг																						1
8440/0 Цистаде нома										1												
8480/3 Муциноз ная сг																						1
8500/3 Протоко вая сг											1											1
8550/3 Ацинокл сг									1													
8561/0 оп. Уорти на												1 0										1
8562/3 Эп.- миоэп.сг													1									
8811/3 Миксоф ибросарк ома																						1
8940/0 Плеомор фная аденома												1	4 3	1	1							1 3
8982/0 Миоэпит елиома															4							
8982/3 Миоэпит . сг																1						1
9251/1 Гиганток леточная опухоль																	1					

Продолжение Таблицы 18																							
9560/0 Шваннома																	1						
9590/3 Лимфома																			1				
9650/3 Лимфома Ходжкина																				1			
9680/3 В-кл. лимфома																					4		
9699/3 В-кл. лимфома марг. зоны																						1	
К							2																2
Всего 131	4	1	2	4	1	1	5	2	1	5	1	1	1	4	1	6	1	1	2	1	5	1	2

Анализ результатов в таблицах 16, 17 и 18 показал эффективность использования цитологических и иммуноцитохимических исследований на материале клеточных блоков в 114 случаях для сокращения цитологических заключений об опухолях с неопределенным потенциалом злокачественности на догоспитальном этапе.

Таблица 19 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной морфологией

Гистологический диагноз	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной морфологией		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8010/6 метастаз недиф. карциномы	1		
8140/3 Канальцевая аденома	1		
8147/0 Баз.клет. аденома	3	1 (плеоморфная аденома)	
8147/3 Баз.клет. карцинома	2	1 (плеоморфная аденома)	
8200/3 Аденокист. карцинома	1	2(плеоморфная аденома)	2
8480/3 Муцинозная аденокарцинома			1
8562/3 Эпител.- миоэп. карцинома		1 (плеоморфная аденома)	
8940/0 Плеоморфная аденома	43	1 (карцинома из плеоморфной аденомы) 1 (миоэпителиома)	12
8982/0 Миоэпителиома	1		
NN		2 (баз. клет. кар.)	
Всего 76	52	9	15

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной морфологией с гистологическими диагнозами, в 52 случаях было дано определенное цитологическое заключение, в 9 случаях результаты цитологии и

ИЦХ не совпали с гистологическим диагнозом и в 15 случаях материал клеточных блоков оказался не диагностическим (Таблица 18, 19).

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с онкоцитарной морфологией с гистологическим диагнозом, показало в 19 случаях совпадение цитологии и ИЦХ с гистологическим диагнозом, в 3 случаях результаты цитологического и ИЦХ исследования не совпали с гистологическим диагнозом и в 7 случаях материал клеточных блоков оказался не диагностическим (Таблица 16,17,18,20).

Таблица 20 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) среди опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с онкоцитарной морфологией

Гистологический диагноз	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности с онкоцитарной морфологией		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8000/6 Мтс меланомы	2		1
8070/6 Мтс ПКК		1 (лимфома)	
8290/0 Оксиф. аденома	4		1
8430/3 Мукоэпид. Кар.			1
8440/0 Цистаденома	1		
8550/3 Ацинарно- клет. кар.		1 (оксифильная аденома)	
8561/0 Опухоль Уортина	10		1
8940/0 Плеоморфная аденома		1 (опухоль Уортина)	1

Продолжение таблицы 20			
8982/3 Миоэпителиальная карцинома			1
9590/3 Лимфома	1		
9680/3 В-клет. лимфома	1		
NN			1
Всего 29	19	3	7

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с веретенноклеточной морфологией с гистологическим диагнозом показало в 4 случаях совпадение цитологических и ИЦХ заключений с гистологическим диагнозом: по миоэпителиоме в трех случаях и миоэпителиальной карциноме в одном случае. В 1 случае результат цитологического и ИЦХ исследования – миоэпителиома, не совпал с гистологическим диагнозом – шваннома. В 2 случаях материал клеточных блоков оказался не диагностическим (Таблица 21).

Таблица 21 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) среди опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с веретенноклеточной морфологией

Гистологический диагноз	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности с веретенноклеточной морфологией		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8811/3 Миксофибросаркома			1
8982/0 Миоэпителиома	3		
8982/3 Миоэп. карцинома	1		
9560/0 Шваннома		1 (миоэп-ома)	
NN			1
Всего 7	4	1	2

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом для опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности со светлоклеточной морфологией показало совпадение цитологии и ИЦХ с гистологией в 2 случаях совпали (Таблица 18,22).

Таблица 22 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) среди опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с светлоклеточной морфологией

Гистологический диагноз	Опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности с светлоклеточной морфологией		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8000/6 метастаз меланомы	1		
9251/1 Гигантоклеточная опухоль	1		
Всего 2	2	0	0

Таким образом, у 114 (17,9%) больных, с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной, онкоцитарной, веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией, провели цитологическое и иммуноцитохимическое исследование, что позволило снизить количество больных с цитологическим заключением об опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности до 24(3,8%) случаев.

У 17 больных со злокачественными опухолями, диагностированными цитологически, возникла необходимость проведения иммуноцитохимии для определения гистологической формы опухоли. Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим

диагнозом у 6 больных со злокачественными опухолями неясного генеза, в 3 случаях было дано определенное цитологическое заключение, в 1 случае результаты цитологии и ИЦХ не совпали с гистологическим диагнозом и в 2 случаях материал клеточных блоков оказался не диагностическим (Таблица 18,23).

Таблица 23 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) для злокачественных опухолей неясного генеза

Гистологический диагноз	Злокачественная опухоль неясного генеза		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8070/3 ПКР	2		
8070/6 метастаз ПКР			1
8140/3 Аденокарцинома		1 (В-кл. лимфома)	
8500/3 Инфильтрирующая протоковая карцинома	1		1
Всего 6	3	1	2

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования злокачественных опухолей, возможно вторичного генеза с гистологическим диагнозом в 6 случаях было дано определенное цитологическое заключение, т.е. результаты цитологического и ИЦХ исследования совпали с гистологическим диагнозом (Таблица 18,24).

Таблица 24 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) для злокачественных опухолей, возможно вторичного генеза

Гистологический диагноз	Злокачественная опухоль, нельзя исключить вторичное происхождение		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими
8000/6 метастаз меланомы	1		
8070/6 метастаз ПКР	4		
8071/6 ПКР с ороговением	1		
Всего 6	6	0	0

Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования злокачественных опухолей, подозрительных на ЛПЗ с гистологическим диагнозом, в 6 случаях было дано определенное цитологическое заключение, т.е. результаты цитологического и ИЦХ исследования совпали с гистологическим диагнозом (Таблица 18,25).

Таким образом, у 131 (20,6%) больных, с неопределенными цитологическими заключениями, провели цитологическое и иммуноцитохимическое исследование, что позволило определить гистологические варианты опухолей слюнных желез у 105 (16,5%) больных.

Таблица 25 Сопоставление результатов цитологического и иммуноцитохимического исследования с гистологическим диагнозом (код опухоли по МКБ-0) среди злокачественных опухолей, возможно ЛПЗ.

Гистологический диагноз	Злокачественная опухоль, нельзя исключить ЛПЗ		
	Цитологическое и ИЦХ исследование совпало с гистологическим диагнозом	Цитологическое и ИЦХ исследование не совпало с гистологическим диагнозом	Клеточные блоки оказались не диагностическими

9650/3 Лимфома Ходжкина	1		
9680/3 В-клет. лимфома	3		
9699/3 В-клет. лимфома маргинальной зоны	1		
Всего 5	5	0	0

Для оценки результатов цитологической и иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов в случаях с неопределенными цитологическими заключениями (131 случай) были применены следующие тесты оценки метода:

По результатам статистического анализа 131 пациента, чувствительность, специфичность и достоверность иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов следующие: Чувствительность - 83,9%, Специфичность - 98,9%,

Достоверность/Точность - 92,4%, Прогностичность положительного результата PPV - 89,7%, Прогностичность отрицательного результата NPV - 93,4%. Для оценки результатов цитологической и иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей в случаях с неопределенными цитологическими заключениями (131 случай) (Таблица 18) были применены следующие тесты оценки метода.

Таблица 26 Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для оценки метода цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Злокачественная опухоль	Доброкачественная опухоль
Злокачественная опухоль	A (26)	B (1)
Доброкачественная опухоль	C (5)	D (71)

По результатам статистического анализа 131 пациента, чувствительность, специфичность и достоверность результатов иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей следующие: Чувствительность - 83,9%, Специфичность - 98,6%, Достоверность/Точность - 94,2%, Прогностичность положительного результата PPV- 96,3%, Прогностичность отрицательного результата NPV - 93,4%.

Для оценки результатов цитологической и иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов в случаях с неопределенными цитологическими заключениями (114 случаев) (Таблица 19,20,21,22) были применены следующие тесты оценки метода.

Таблица 27 Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для оценки метода цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Злокачественная опухоль	Доброкачественная опухоль
Злокачественная опухоль	A (11)	B (3)
Доброкачественная опухоль	C (5)	D (71)

По результатам статистического анализа 114 пациента, чувствительность, специфичность и достоверность результатов иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных процессов следующие: Чувствительность - 68,8%, Специфичность -95,9%, Достоверность/Точность - 78,1%, Прогностичность положительного результата PPV - 78,6%, Прогностичность отрицательного результата NPV - 93,4%.

Для оценки результатов цитологической и иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей в случаях с неопределенными цитологическими заключениями (114 случаев) были применены следующие тесты оценки метода.

Таблица 28 Стандартная четырехпольная таблица сопряженности (для

оценки метода цитологической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных опухолей)

Результат цитологического исследования	Гистологическое исследование	
	Злокачественная опухоль	Доброкачественная опухоль
Злокачественная опухоль	A (11)	B (1)
Доброкачественная опухоль	C (5)	D (71)

По результатам статистического анализа 114 пациента, чувствительность, специфичность и достоверность результатов иммуноцитохимической диагностики злокачественных опухолей относительно доброкачественных следующие:

Чувствительность - 68,8%, Специфичность - 98,6%, Достоверность/Точность 79,6%, Прогностичность положительного PVP - 91,7%, Прогностичность отрицательного результата PVN - 93,4%.

Информативность цитологического и ИЦХ исследования не влияли на диагностику опухолевого процесса она оставалась такой же, как и при традиционной цитологии.

Целью цитологического и ИЦХ исследования материала клеточных блоков 131 случая было сокращение неопределенных цитологических заключений. Таким образом, анализ статистического материала 131 случая с цитологическим и ИЦХ исследованием и гистологической верификацией показал снижение неопределенных цитологических заключений на 16,5% (на 105 случаев из 131). Чувствительность - 83,9%, специфичность - 98,9%, достоверность/точность - 92,4% в определении злокачественной опухоли относительно доброкачественного процесса. Чувствительность - 83,9%, специфичность - 98,6%, достоверность/точность - 94,2% злокачественной опухоли относительно доброкачественной опухоли.

Анализ статистического материала 114 случая с ИЦХ и гистологической верификацией показал снижение цитологических заключений с неопределенным потенциалом злокачественности на 14,2% (на 90 случаев из 114). Чувствительность

- 68,8%, специфичность - 95,9%, достоверность/точность - 78,1% в определении злокачественной опухоли относительно доброкачественного процесса. Чувствительность - 68,8%, специфичность - 98,6%, достоверность/точность - 79,6% злокачественной опухоли относительно доброкачественной опухоли.

3.3. Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии базалоидных опухолей слюнной железы

В нашей работе у 114 больных цитологически на догоспитальном этапе были определены опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности. Всем 114 больным проведены цитологические и иммуноцитохимические исследования, при этом оптимизированы иммуноцитохимические панели для различных гистологических форм опухолей слюнных желез.

На основании цито-гистологических сопоставлений определены дифференциально-диагностические цитологические критерии опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с базалоидной, онкоцитарной, веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией, 76 (67%) случаев из 114 цитологически были расценены как базалоидная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB SUMP по МСЦСЖ) (Таблица 16). По результатам цитологического, ИЦХ и последующего гистологического исследования операционного материала наблюдалось совпадение в 52 (68,4%) случаях по гистологическому типу опухоли, по характеру процесса в 55 (72,4%) случаях, по наличию опухоли в 59 (77,6%) случаях.

Доброкачественные опухоли с базалоидной морфологией были определены гистологически в 64 (84,2%) из 76 случаев. Совпадение цитологических и ИЦХ заключений с гистологическим диагнозом наблюдались по плеоморфной аденоме в 43(56,6%), по базальноклеточной аденоме в 3 (3,9%), в 1 (1,3%) случае подтверждена цистаденома, в 1 (1,3%) случае подтверждена канальцевая аденома, в 1 (1,3%) случае подтверждена миоэпителиома. В 12 (15,8%) из 76 случаев гистологически определены злокачественные опухоли с базалоидной

морфологией. Цитологически и иммуноцитохимически в 1 (1,3%) случае метастаз недифференцированной карциномы, в 2 (2,6%) базальноклеточная карцинома, в 1 (1,3%) аденокистозная карцинома (Таблица 26,16,17,18). Указанные злокачественные опухоли имели низкую и промежуточную степень злокачественности, демонстрировали перекрывающиеся цитоморфологические признаки и трудны в диагностике, в том числе и на резецированном материале.

В работе на основе проведенных исследований предложен разработанный нами Алгоритм дифференциальной диагностики опухолей с базалоидной морфологией, классифицированных по Миланской классификации как категория CIVB (рис.7).

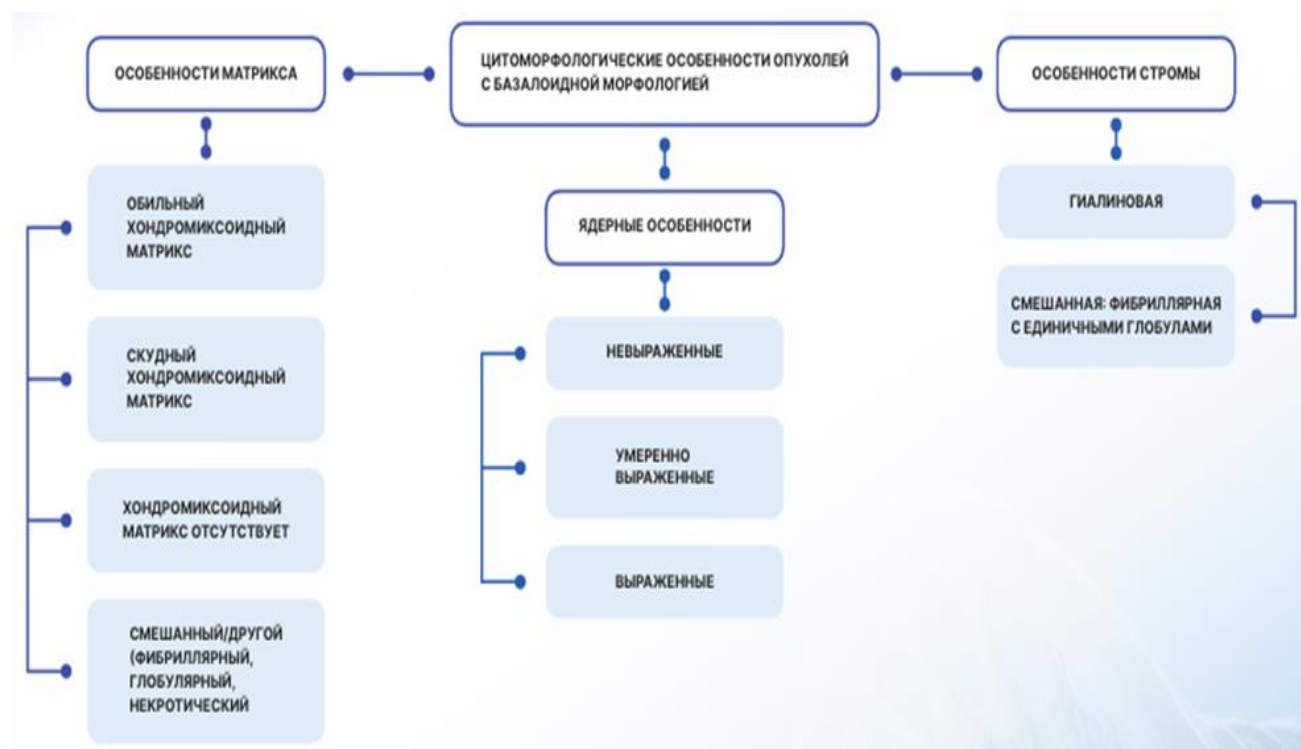


Рисунок 7 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей

На рисунке 7 представлен общий алгоритм, дифференцирующий базалоидные опухоли по особенностям матрикса и стромы.

Следующий предложенный нами Алгоритм, представленный на рисунке 8, дифференцирует базалоидные опухоли с обильным хондромиксоидным матриксом

с учетом возможных ядерных особенностей. из плеоморфной аденомы.



Рисунок 8 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей с обильным хондромиксоидным матриксом.

Дифференциальный ряд состоял из плеоморфной аденомы и карциномы.
Плеоморфная аденома (8940/0)



Рисунок 9 - УЗИ ОУСЖ, плеоморфная аденома

На УЗИ ПА выглядели как гипэхогенные образования, с четко очерченными гладкими или дольчатыми границами, реже, с участками кистозной дегенерации в виде анэхогенных участков. Ультразвуковая доплерография демонстрировала умеренную периферическую васкуляризацию в ПА с относительно

гиповаскулярным центром (Рисунок 9). Нами определены цитологические критерии для плеоморфной аденомы:

характерный хондромиксоидный матрикс ярко-пурпурного цвета с отчетливой фибриллярной / перистой структурой;

миоэпителиальные клетки: разнообразной формы (многоугольные, плазмочитоидные, круглые, веретенообразные и прозрачные), невыраженные ядерные особенности, часто миоэпителий преобладал;

эпителиальные клетки протоков: невыраженные ядерные особенности, небольшие группы, повторяющиеся структуры протоков.

Цитограмма классической ПА была представлена умеренной клеточностью с обильным фибриллярным матриксом, нежными протоковыми эпителиальными и миоэпителиальными клетками.

Из 636 случаев гистологически на резецированном материале диагностировано 285 случаев ПА (Таблица 10). В 206 (72,3%) случаях традиционное цитологическое заключение о плеоморфной аденоме совпало с гистологическим диагнозом и в 9 (3,2%) случаях отмечена гипердиагностика по цитологическому материалу (Таблица 14). В нашем исследовании для цитологически диагностированных очевидных плеоморфных аденом иммуноцитохимические исследования на материале клеточных блоков не проводились, однако, при дифференциальной диагностике опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB) с базалоидной и онкоцитарной морфологией (59 больных), использовались оптимизированные панели антител в том числе характерные для плеоморфных аденом (Таблица 26). Информативными ИЦХ маркерами для диагностики плеоморфной аденомы являлись PLAG1 и HMGA2. Наблюдалась выраженная диффузная экспрессия панцитокератина, и CK7, которая усиливалась в протоковых или просветных клетках. Также наблюдалась положительная экспрессия мышечных, миоэпителиальных и базальных маркеров, включая кальпонин (наиболее чувствительный), SMA, S100, SOX10, p40 (либо p63) и CK5/6. Экспрессия GFAP была более выражена в миксоидных и миоэпителиальных областях.

Иммуноэкспрессия S100 и SOX10 применялась, чтобы отличить онкоцитарную ПА от других онкоцитарных опухолей. Для дифференциальной диагностики с аденокистозным раком мы использовали c-kit (CD117): ПА – отрицательная экспрессия, аденокистозный рак – положительная экспрессия

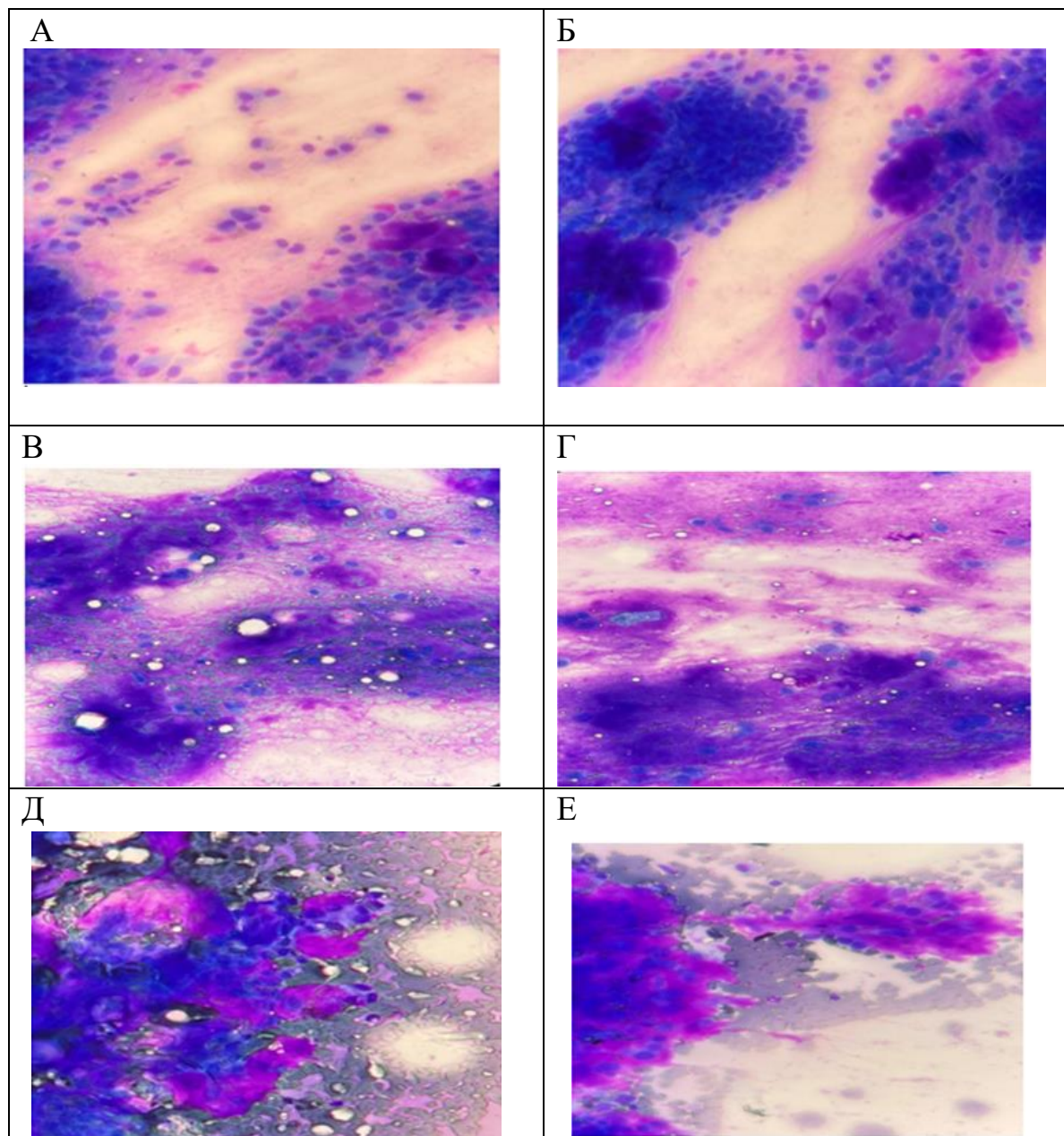


Рисунок 10 - Плеоморфная аденома - а-миоэпителий, б - нежный протоковый эпителий, в, г - обильный хондромиксоидный матрикс, д, е - фибриллярная строма, Цитологический препарат; а,б,в,г,д - Окр. по Лейшману x20,0

Карцинома из плеоморфной аденомы (Ка из ПА) (8941/3)

Ка из ПА было трудно отличить при визуализации от ПА и других доброкачественных опухолей при отсутствии явной ядерной атипии и лучевых признаков инвазии за пределы капсулы опухоли. Инвазивная Ка из ПА демонстрировала неровность контуров, неправильную форму и местами плохо выраженную границу. Железа увеличена в размерах, в структуре располагалось неоднородное образование с не четкими и не ровными контурами, с локусами кровотока и размерами до 4,2*2,3 см.

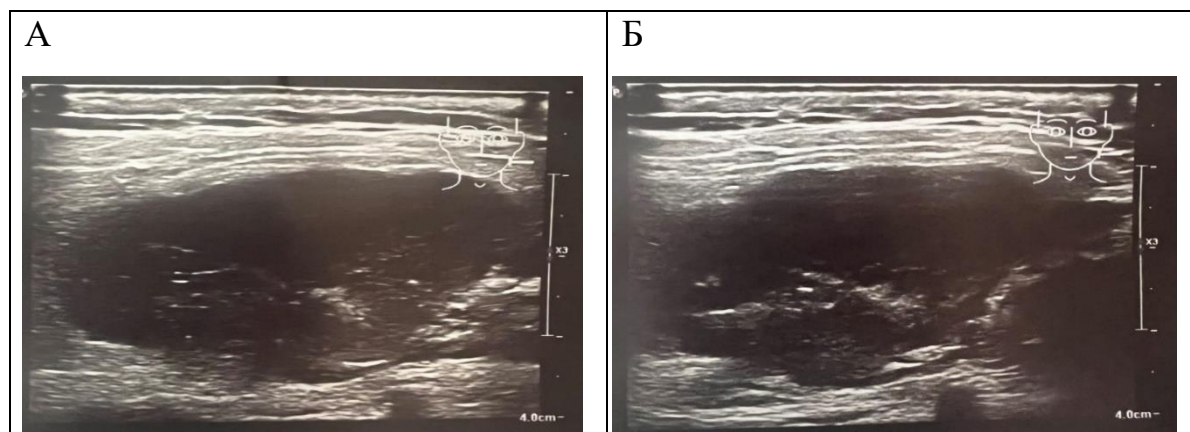


Рисунок 11 - УЗИ Карцинома из плеоморфной аденомы (а,б).

Цитологические критерии карциномы из плеоморфной аденомы включали как плеоморфный компонент, так и карциноматозный компонент, который был представлен карциномой слюнных протоков, миоэпителиальной карциномой, эпителиально - миоэпителиальной карциномой или смесью подтипов. Плеоморфный компонент аденомы наблюдался в виде фокальной составляющей со скоплениями из плотных групп протоковых клеток, изолированных или в рыхлых скоплениях миоэпителиальных клеток и мелкими участками плотного фибриллярного метахроматического матрикса. Карциноматозный компонент состоял из полиморфных гиперхромных клеток с грубым хроматином и высоким я/ц соотношением. Поскольку идентификация обоих компонентов в цитологических препаратах не всегда была возможна, некроз и длительный анамнез опухоли были в некоторых случаях подсказкой наличия карциномы. Из 636 случаев с ТИАБ и гистологической верификацией на резецированном материале диагностировано 6 карцином из ПА: трое мужчин 32, 47 и 81 года с опухолями в малой, подчелюстной и околоушной слюнных железах

соответственно и три женщины 57, 64 и 64 лет с опухолями в ОУСЖ. В 3 случаях цитологическое заключение совпало с гистологическим диагнозом и в 3 случаях цитологически сделано заключение о подозрении по наличию злокачественной опухоли (Таблица 16). В нашем исследовании при цитологическом и ИЦХ исследовании на клеточном блоке при плеоморфной аденоме ошибочно высказано предположение о наличии карциномы из плеоморфной аденомы. Панель ИЦХ исследования включала PLAG1 и HMGA2, наличие или отсутствие экспрессии которых помогало в идентификации компонента ПА.

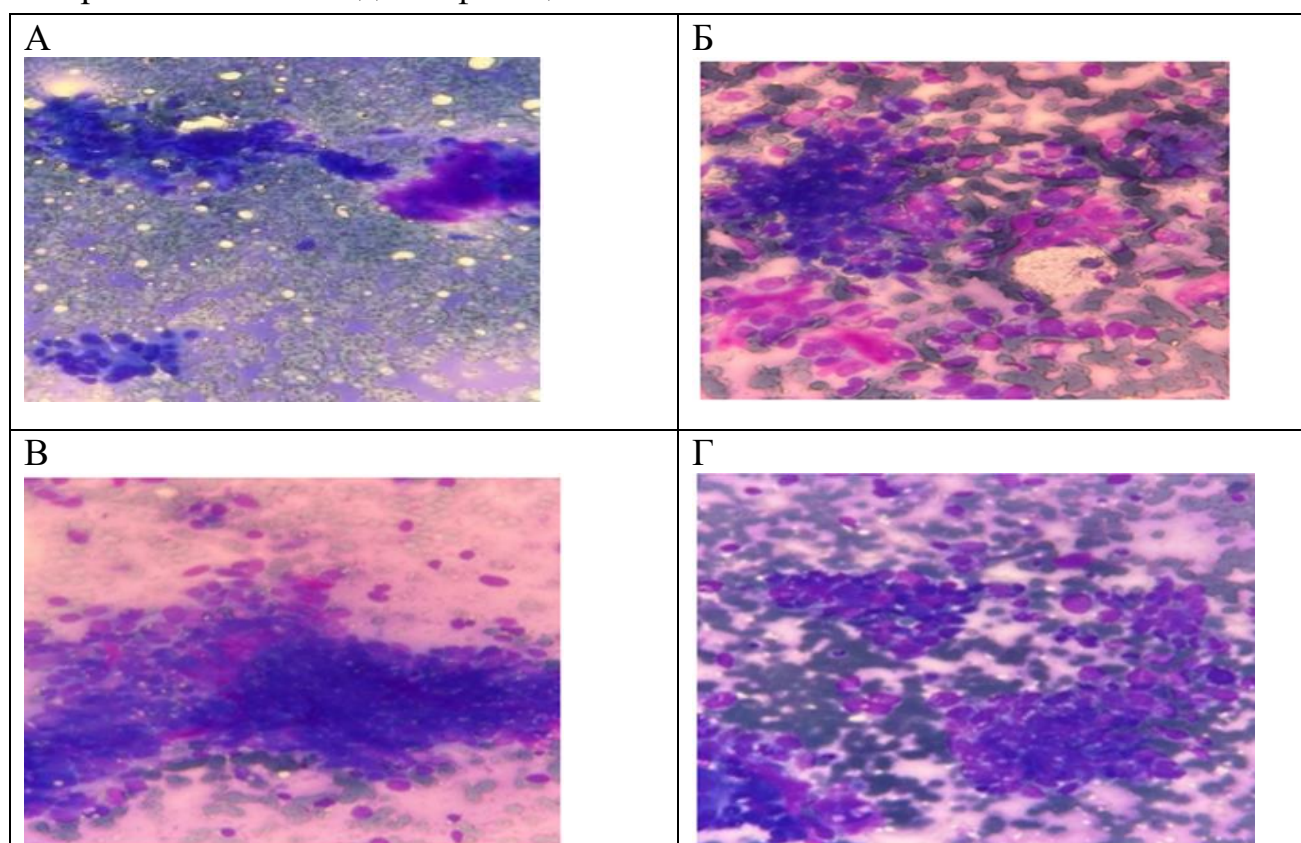


Рисунок 12 - Плеоморфный компонент с обильным матриксом (а, б), карциноматозный компонент с обильным матриксом, полиморфными опухолевыми клетками и атипичными ядрами (в, г). Цитологический препарат; а,б,в,г - Окр. по Лейшману x20; б - Окр. по Лейшману x40

Разработанный нами алгоритм на рисунке 13 помог дифференцировать базалоидные опухоли со скудным матриксом и ядерными особенностями. Дифференциальный ряд состоял из плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента, карциномы из плеоморфной аденомы, эпителиально-

миоэпителиальной карциномы, базальноклеточной аденомы/карциномы и миоэпителиальной карциномы.

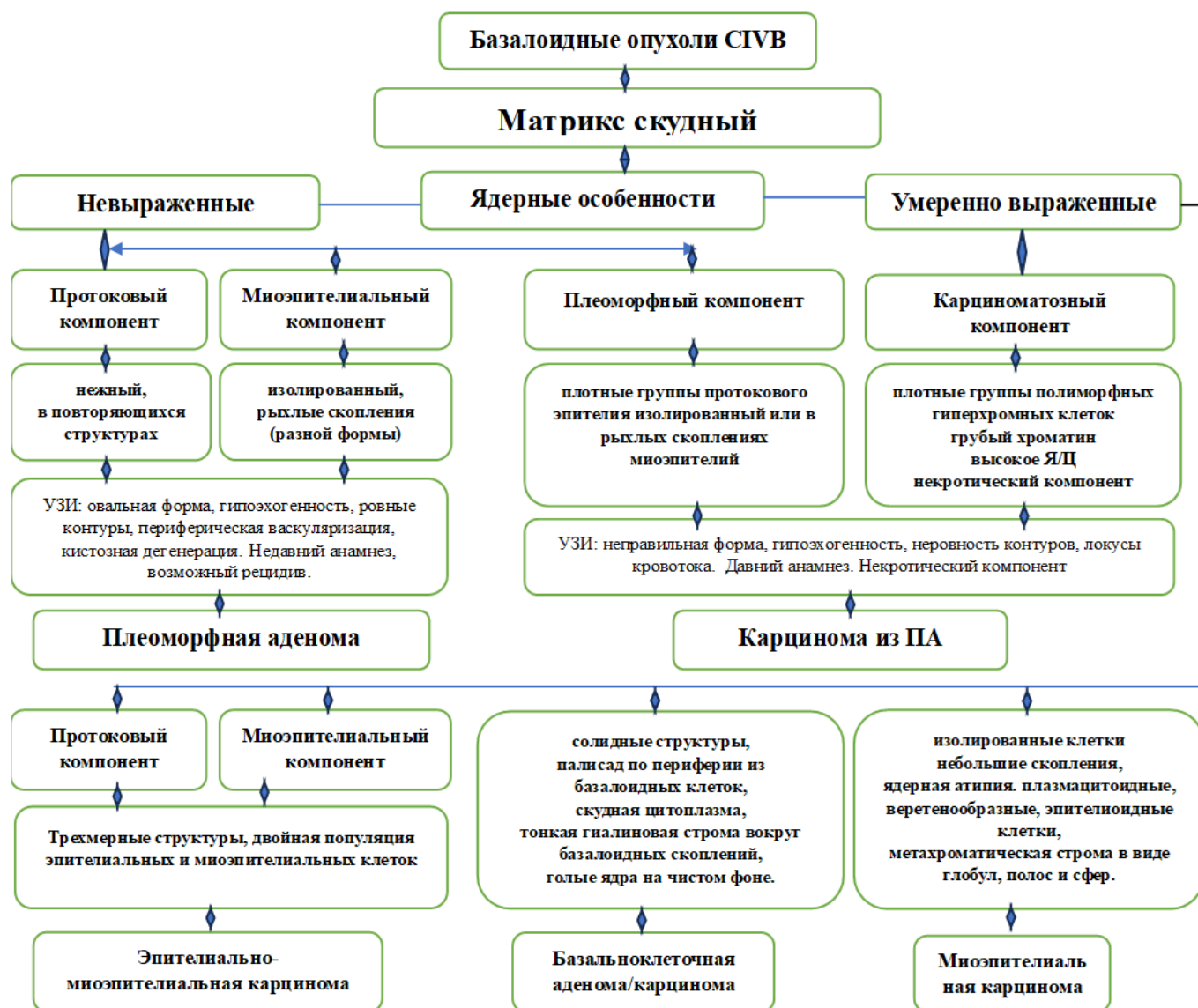
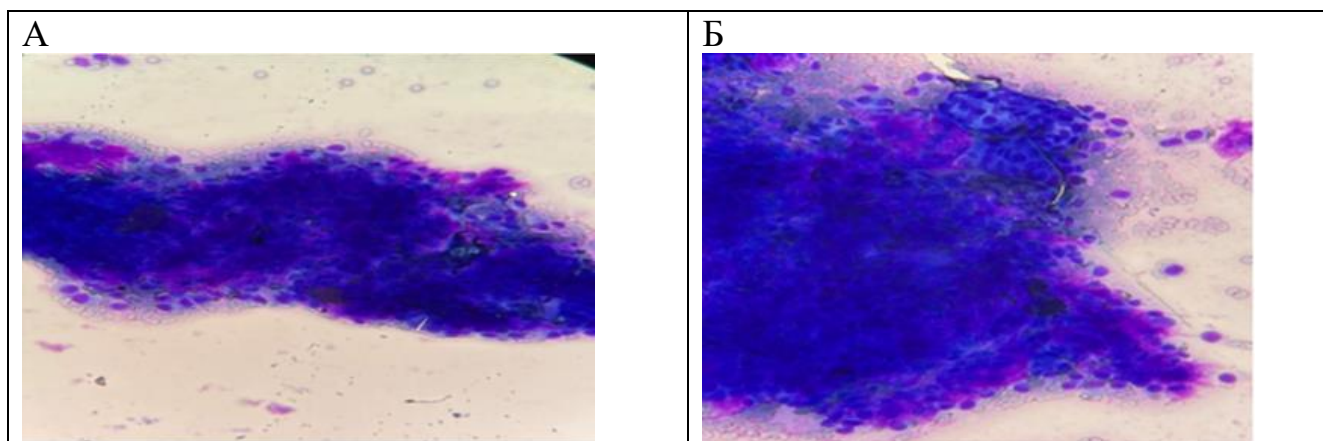


Рисунок 13 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей со скудным матриксом

Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента, матрикс скудный (8940/0)

Цитологические критерии плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента и скудным матриксом включали: плотные группы протоковых клеток, немного изолированных или рыхлых скоплений

миоэпителиальных клеток, визуализировалась фибриллярная строма с единичными глобулами. Из 131 случая опухолей с неопределенными цитологическими заключениями гистологически на резецированном материале диагностировано 59 случаев ПА (Таблица 16,17,18). Из 114 случаев опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности заключения цитологии и ИЦХ в 43 случаях ТИАБ совпадали с гистологией (Таблица 19). В одном случае по результатам ИЦХ дано ошибочно заключение о карциноме из ПА, а гистологически подтверждена ПА, в одном случае цитологическое и ИЦХ исследование предположило миоэпителиому, а гистологически подтверждена ПА. И в 12 случаях материал ИЦХ признан не диагностическим (Таблица 19). В литературе для иммуногистохимических /иммуноцитохимических исследований опухолей слюнных желез рекомендуются панели с большим набором антител. Учитывая ограниченность ресурса клеточных блоков, мы предлагаем оптимизированные панели антител для дифференциальной диагностики опухолей с базалоидной морфологией. Для плеоморфной аденомы/карциномы из плеоморфной аденомы рекомендуется панель из: PLAG1, HMGA2; для протокового эпителия- СКPan, СК7; миоэпителиальные и базальные маркеры- calponin (наиболее чувствительный), SMA, p40 (лучше, чем p63), S100 и SOX10 (отличает ПА от онкоцитарных опухолей); индекс пролиферации ki-67 выше 2% для карциномы из плеоморфной аденомы. В нашем исследовании наблюдалась диффузная положительная экспрессия панцитокератина, СК7 в протоковых клетках, в мышечном и миоэпителиальном компоненте SMA, S100, p40. (Таблица 26). CD117 показал отрицательную экспрессию.



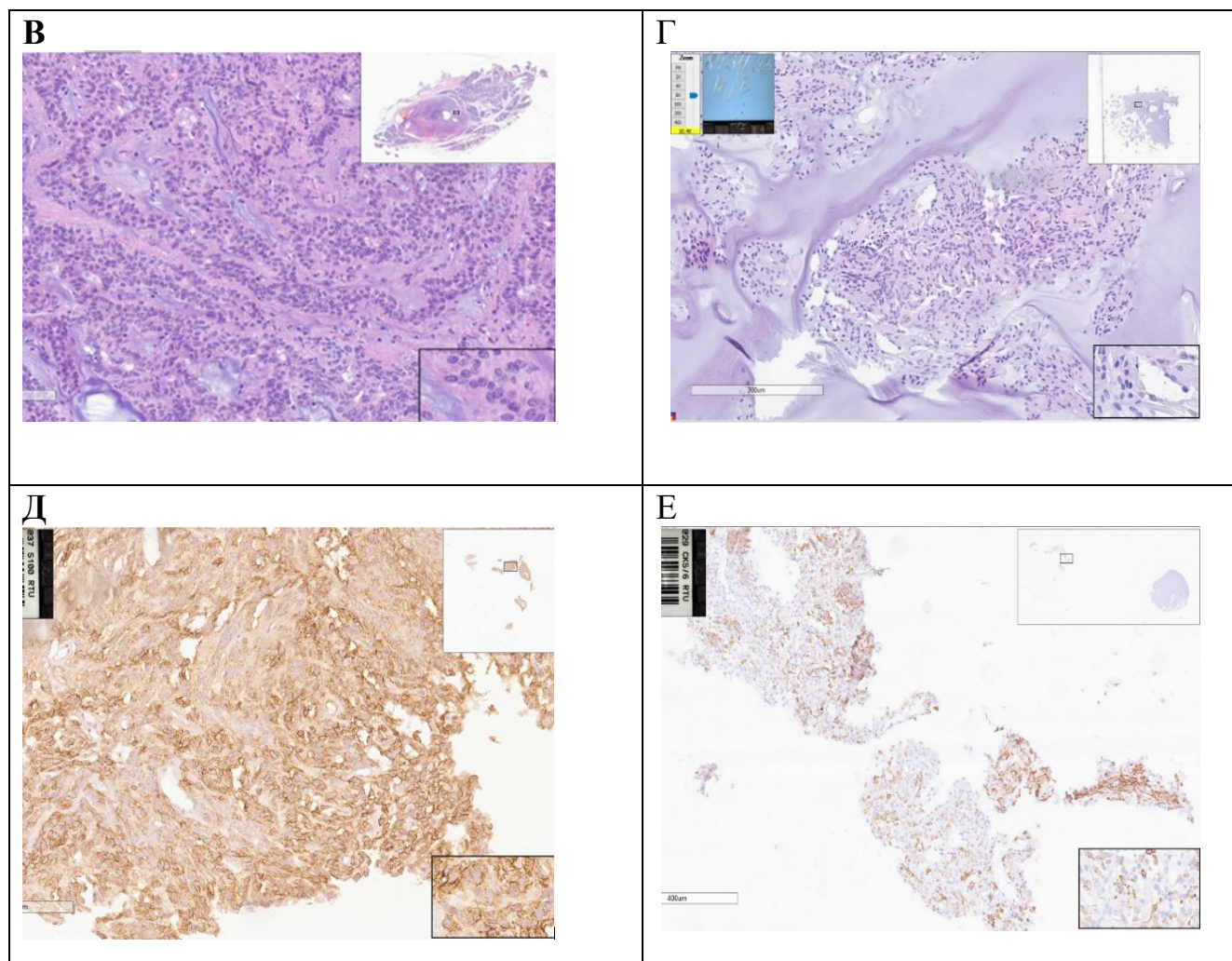


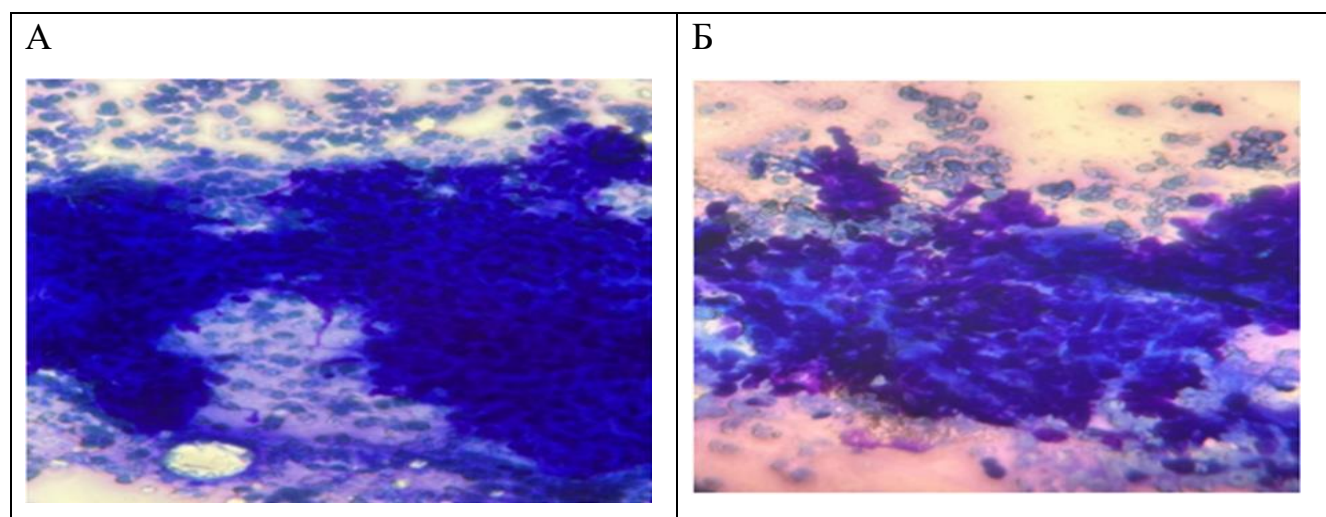
Рисунок 14 - Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента со скудным матриксом: а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; в – гистологические препараты, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; г - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; д - клеточный блок, Окр. S100 x10,0; е - клеточный блок, Окр. СК 5/6 x10,0.

В гистологическом препарате плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента со скудным матриксом визуализировалось сочетание двухслойных протоков, миоэпителиальных клеток и стромы. Просветы протоков и миоэпителиальные клетки находились в двухслойных трубчатых структурах, при этом миоэпителиальные клетки сливались со стромой. Строма больше миксоидная. В материале клеточного блока эти особенности были сглажены и невозможно было оценить капсулу, однако, было достаточно клеточного материала для постановки иммуноцитохимии (Рисунок 14).

Эпителиально-миоэпителиальная карцинома со скудным матриксом (8562/3)

Цитограмма эпителиально-миоэпителиальной карциномы со скудным матриксом была представлена трехмерными структурами с двухклеточной популяцией, состоящей из более крупных бледных миоэпителиальных клеток и более мелких эозинофильных протоковых клеток. Строма гладкая, с редкими гиалиновыми глобулами. Мазки, как правило, клеточные, без определенного архитектурного рисунка. Во всех случаях встречались единичные изолированные клетки и голые ядра. Двухфазный эпителиальный (мелкоклеточный) и миоэпителиальный (крупноклеточный / светлоклеточный) компоненты были едва заметны или отсутствовали, поскольку прозрачные клетки имели хрупкую цитоплазму и часто выглядели как голые ядра. В нашем исследовании из 636 пациентов с ТИАБ и гистологической верификацией на резецированном материале диагностированы 5 случаев ЭМК (Таблица 10,11,12,13,14).

Цитологическое заключение о злокачественной опухоли Милан VI совпало с гистологическим диагнозом: у мужчин 63,73 и 88 лет и у 1 женщины 50 лет, у всех пациентов опухоль локализовалась в ОУСЖ (Таблица 10,11,12,13,14). Рекомендуемая нами иммуноцитохимическая панель: PLAG1; протоковый эпителий: CK7; миоэпителий: SMA, calponin, p63/p40; индекс пролиферации ki-67 - >10%; отрицательное окрашивание – GFAP.



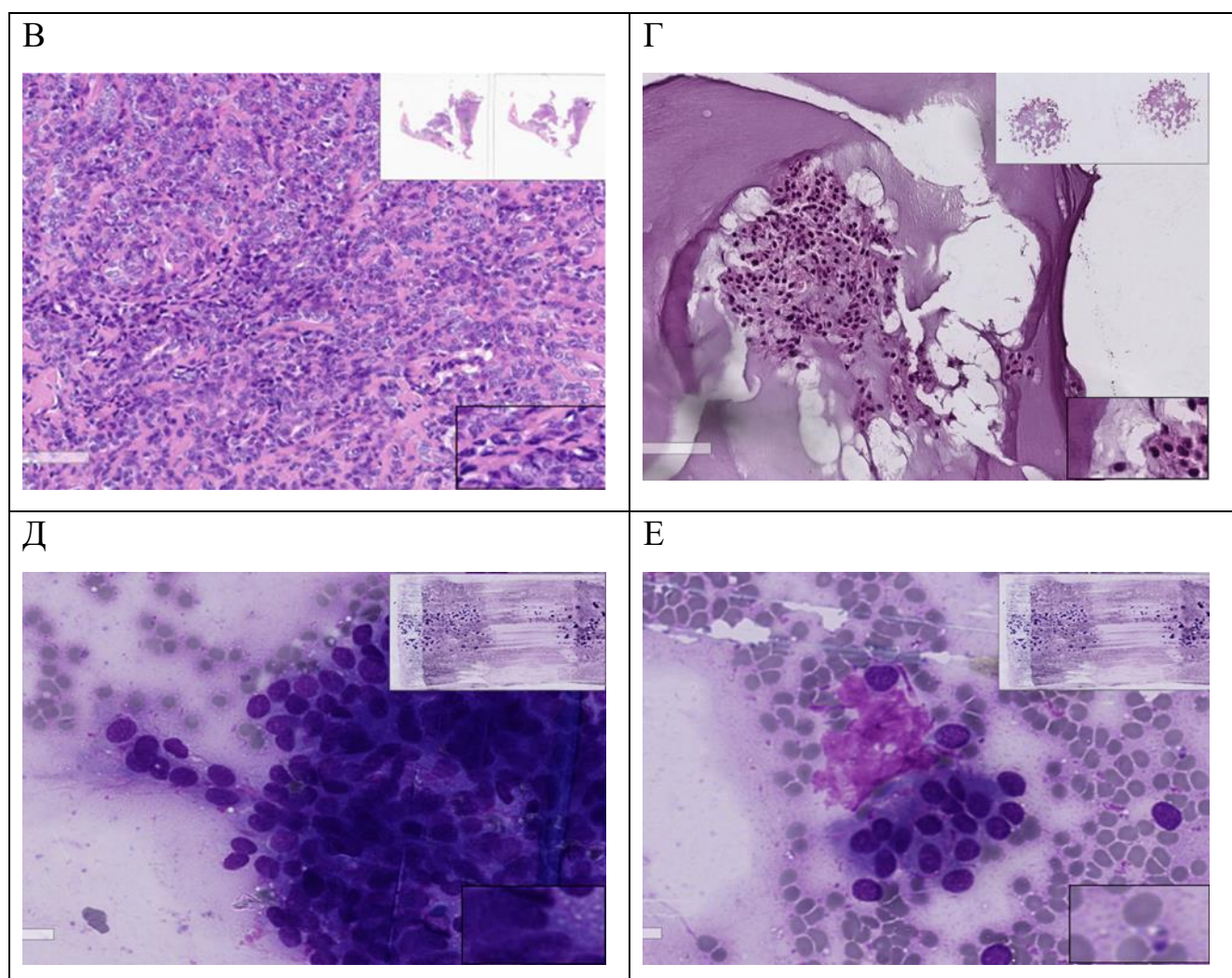


Рисунок 15 - ЭМК со скудным матриксом: а, б, - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20; в – гистологический препарат, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; г - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10; д, е - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x40.

Базальноклеточная аденома - БКА (8147/0)/аденокарцинома - БКАдк со скудным матриксом (8147/3)

Цитологически различить базальноклеточную аденому и аденокарциному сложно, т.к. не визуализировались капсула и диагноз определялся гистологически. В мазках аспиратов обнаружались скопления в виде солидных структур с палисадом по периферии из однородных базалоидных клеток с округлыми или овальными ядрами и скудной цитоплазмой. Наблюдался скудный фоновый фибриллярный матрикс и гиалиновая строма в отдельных скоплениях. На УЗИ

отмечались гипоехогенные образования с ровными, не очень четкими краями и с наличием кровотока.

В нашем исследовании из 636 случаев по материалу ТИАБ (базалоидная опухоль IVB) и гистологической верификацией на резецированном материале диагностированы 6 случаев базальноклеточной аденомы и 3 случая базальноклеточной аденокарциномы – 3 женщины 56, 72 и 56 лет с поражением ОУСЖ (Таблица 10,11,12,13,14). Среди 636 пациентов цитологически были расценены как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB) семь случаев, один случай базальноклеточной аденомы был расценен как доброкачественная опухоль (CIVA) и в одном случае базальноклеточной аденомы диагностирована атипия неясного значения СШ (табл.18,19,20). При иммуноцитохимическом исследовании, три цитологических и ИЦХ заключения о базальноклеточной аденоме совпали с гистологическим диагнозом и одно заключение не совпало – было расценено как плеоморфная аденома. В случае с базальноклеточной карциномой два заключения о карциноме совпали с гистологическим диагнозом и одно не совпало - было расценено как плеоморфная аденома (Таблица 16,17,18). Рекомендуемая нами оптимизированная иммуноцитохимическая панель антител для БКА/ БКАдк: sm-actin, calponin, p63, p40, SOX10; совместная экспрессия ядерного β -катенина и LEF1; индекс пролиферации ki-67 <10%; отрицательное окрашивание GFAP.

Клинический пример

При иммуноцитохимическом исследовании, проведенном на клеточном блоке, у пациентки 67 лет, считающей себя больной в течении 7 лет, опухолевые клетки демонстрировали цитоплазматическую экспрессию S100, слабую цитоплазматическую экспрессию actin smooth muscles; не определялась экспрессия p40, CD117 c-kit; в ~2% опухолевых клеток определялась ядерная экспрессия Ki67 (Таблица 26). Результаты были расценены, как наиболее вероятно соответствующие иммунофенотипу базальноклеточной аденомы. При гистологическом исследовании морфологическая картина соответствует базальноклеточной аденоме правой околоушной слюнной железы (M8147/0)

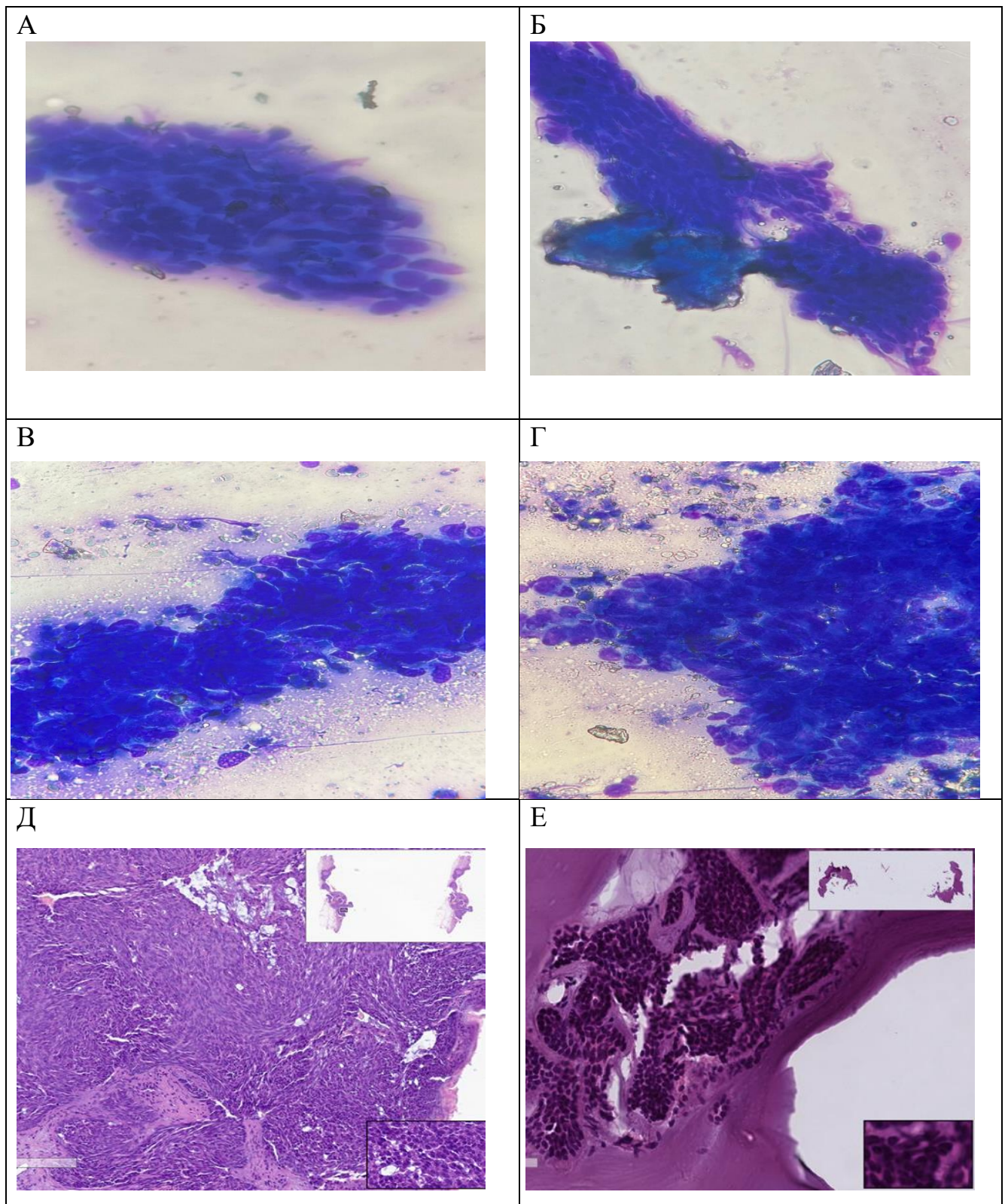


Рисунок 16 - Базальноклеточная аденома/аденокарцинома со скудным матриксом
а, б - цитологические препараты базальноклеточной аденомы; в, г - цитологические
препараты базальноклеточной карциномы, Окр. по Лейшману x40,0; д -
гистологический препарат базальноклеточной карциномы, Окр. гематоксилин-

эозином $\times 10,0$; е - клеточный блок базальноклеточной карциномы, Окр. гематоксилин-эозином $\times 10,0$.

Карцинома из плеоморфной аденомы (8941/3)

Карцинома из плеоморфной аденомы присутствует во всех разработанных нами цитологических дифференциально-диагностических алгоритмах опухолей слюнной железы с базалоидной морфологией.

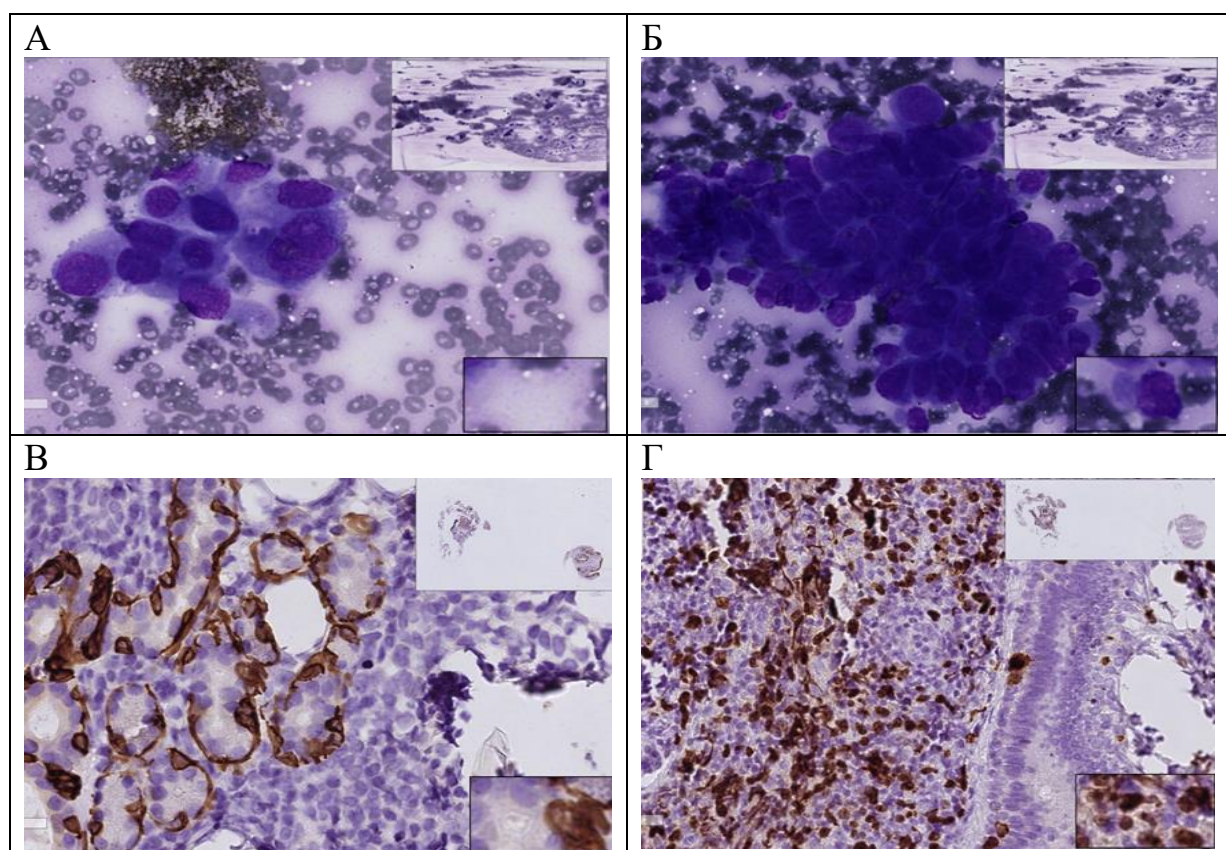


Рисунок 17 - Карцинома из плеоморфной аденомы со скудным матриксом и атипией ядер; а, б - Цитологические препараты, Окр. по Лейшману $\times 40$; в – клеточный блок, Окр. CK5/6 100 $\times 10$; г - клеточный блок, Окр. Ki67 100 $\times 10$

На рисунке 26 представлены микрофотографии карциноматозного компонента карциномы из плеоморфной аденомы, который был представлен полиморфными гиперхромными клетками с грубым хроматином и высоким я/ц соотношением на фоне скудного матрикса. Отчетливо визуализируется атипия и полиморфизм ядер, с нарушением целостности ядерной мембраны и наличием ядрышек, высокое значение Ki67 $>50\%$ окрашенных ядер.

Нами предложен алгоритм, позволяющий дифференцировать базалоидные опухоли с отсутствием матрикса и ядерными особенностями (рисунок 18). Дифференциальный ряд состоял из плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента, карциномы из плеоморфной аденомы, канальцевой аденомы, миоэпителиомы и миоэпителиальной карциномы.

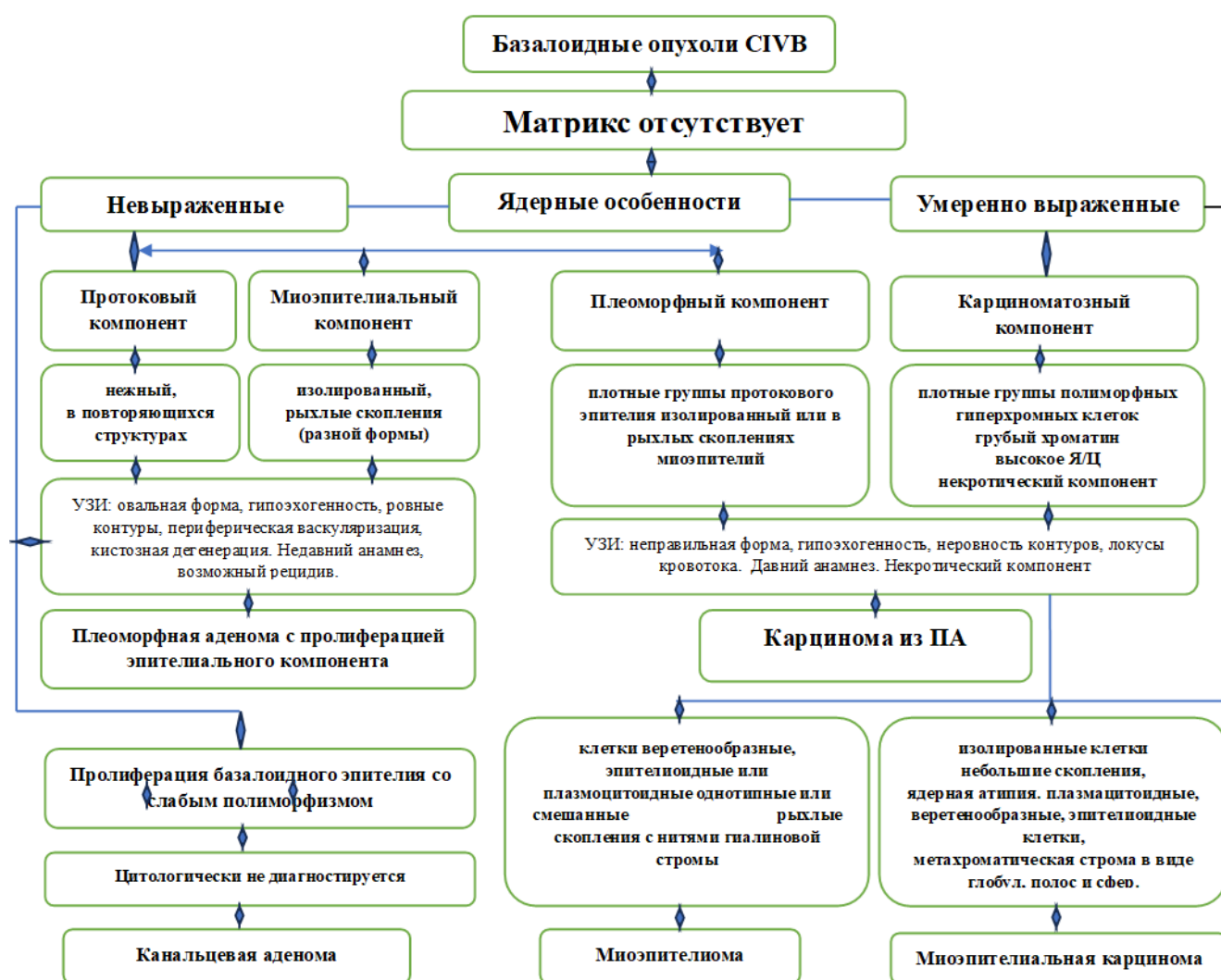


Рисунок 18 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей с отсутствием матрикса.

Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента и с отсутствием матрикса (8940/0)

Цитологические особенности плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента и с отсутствием матрикса представлены скоплениями базалоидного эпителия на фоне элементов крови и бесструктурного вещества, со скудной фибриллярной стромой и слабым клеточным полиморфизмом (рисунок 19 а, б).

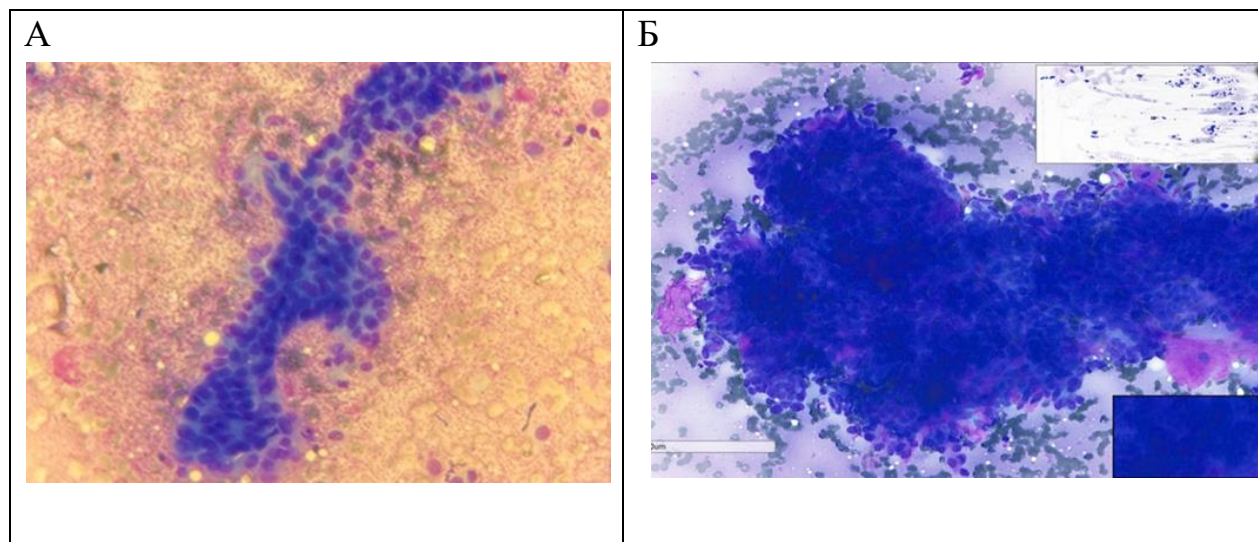


Рисунок 19 - Плеоморфная аденома с пролиферацией эпителиального компонента и отсутствием матрикса; а,б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x40,0)

Канальцевая аденома с отсутствием матрикса (8149/0)

В нашем исследовании гистологический диагноз канальцевой аденомы установлен в 9 случаях, у женщин во второй и третьей возрастных группах. Цитологически отмечалось отсутствие матрикса и пролиферация базалоидного эпителия со слабым полиморфизмом, цитологически материал был расценен в двух случаях как кистозное содержимое CI, в 6 случаях как ПА с пролиферацией эпителиального компонента CIVA, и в 1 случае как опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности CIVB по Миланской классификации.

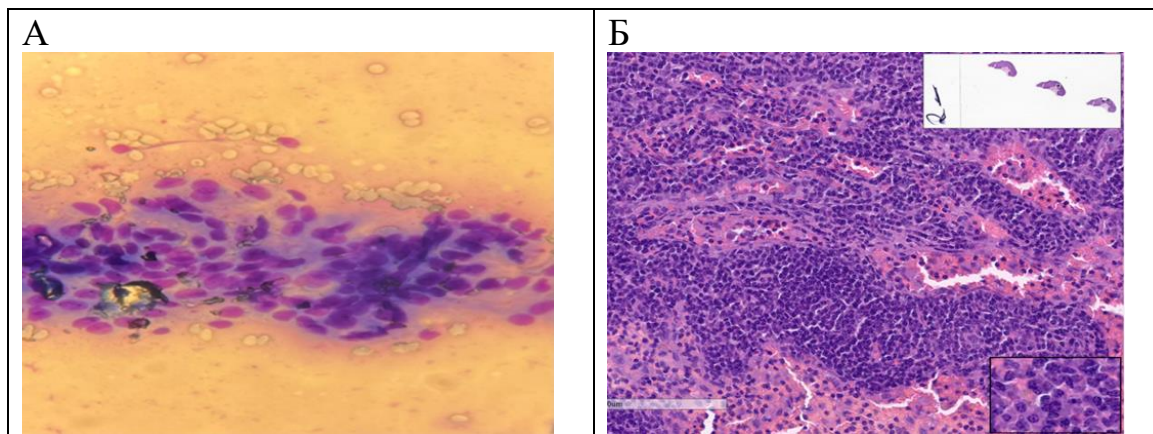


Рисунок 20 - Канальцевая аденома, матрикс не визуализируется (а- Цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40,0; б - гистологический препарат, Окр. гематоксилин-эозином x10,0).

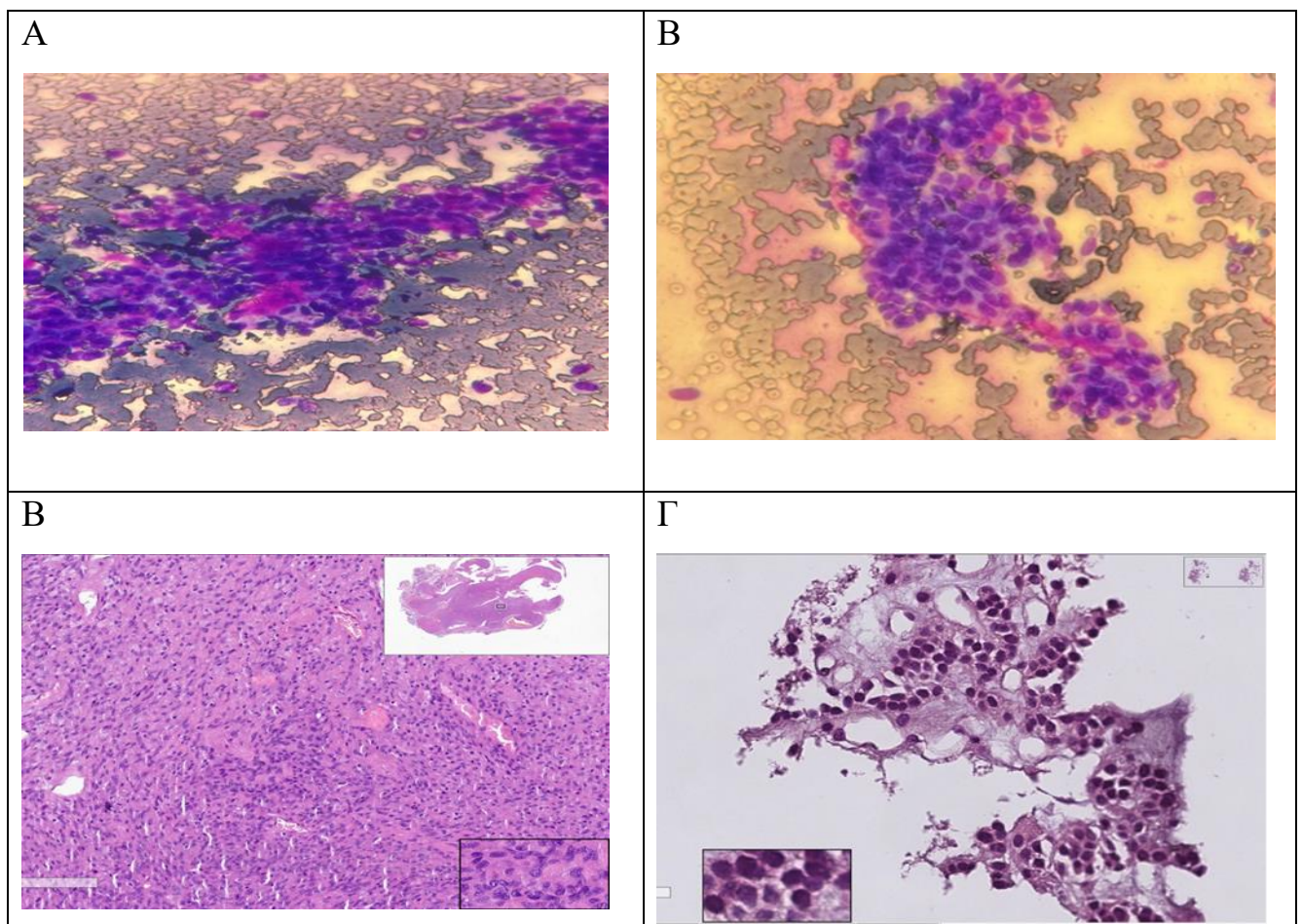
Цитограмма канальцевой аденомы была представлена рыхлыми скоплениями базалоидного эпителия на фоне элементов крови и бесструктурного вещества со слабым клеточным полиморфизмом (рисунок 20а). При проведении иммуноцитохимии опухолевые клетки экспрессировали панцитокератины, СК 7, S100, SOX10, GFAP и KIT (CD117), но не экспрессировали DOG1, десмин и SMA. На основании цитологии и ИЦХ установлено заключение о мономорфной аденоме слюнной железы без указания подтипа. Рисунок 20б демонстрирует гистологический препарат.

Миоэпителиома с отсутствием матрикса (8982/0)

В мазках обнаруживались единичные клетки и скопления клеток с вариабельной стромой. Опухолевые клетки обычно светлые и выглядели веретенообразными, эпителиоидными или плазмоцитоподобными. Из 636 случаев с цитологическим и гистологическим исследованием Миоэпителиома гистологически была диагностирована у 7 пациентов: 3 женщин от 45, 51 и 81 год, локализации – 2 ОУСЖ, 1 подчелюстная; 4 мужчин от 34 до 72 лет, локализации – ОУСЖ (Таблица 10,11,12,13,14). Цитологически в 3 случаях при проведении традиционной цитологии было сделано заключение о подозрении или наличии злокачественной опухоли, а у 4 больных материал был категорирован как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности CIVB по Миланской системе и отнесены к базалоидным опухолям. Во всех 4 случаях изготовлены клеточные

блоки, на которых проведены иммуноцитохимические исследования на догоспитальном этапе: опухолевые клетки экспрессировали S-100, SMA; не экспрессировали p63, EMA, CK5/6, GCDFP-15, CD 117 c-kit. Индекс Ki-67 составил около 2% (Таблица 26). Цитологическая и ИЦХ картины соответствовали миоэпителиоме. Заключение цитологического исследования и ИЦХ совпали с гистологическим диагнозом (Таблица 17,18). При МЭ обнаруживалась экспрессия цитокератинов, S100, SOX10 и миоэпителиальных маркеров, таких как p63, кальпонин и SMA. Предложенная нами оптимизированная иммуноцитохимическая панель для миоэпителиомы/миоэпителиальной карциномы представлена: PLAG1; миоэпителиальные маркеры: p63, calponin, SMA, S100, SOX10; индекс пролиферации ki-67<10% для аденомы и >10% для карциномы.

На рисунке 21 (а, в) скопления миоэпителиальных клеток с фибриллярной стромой на фоне элементов крови. Опухолевые клетки слабо полиморфные, светлые, веретенообразные и эпителиоподобные.



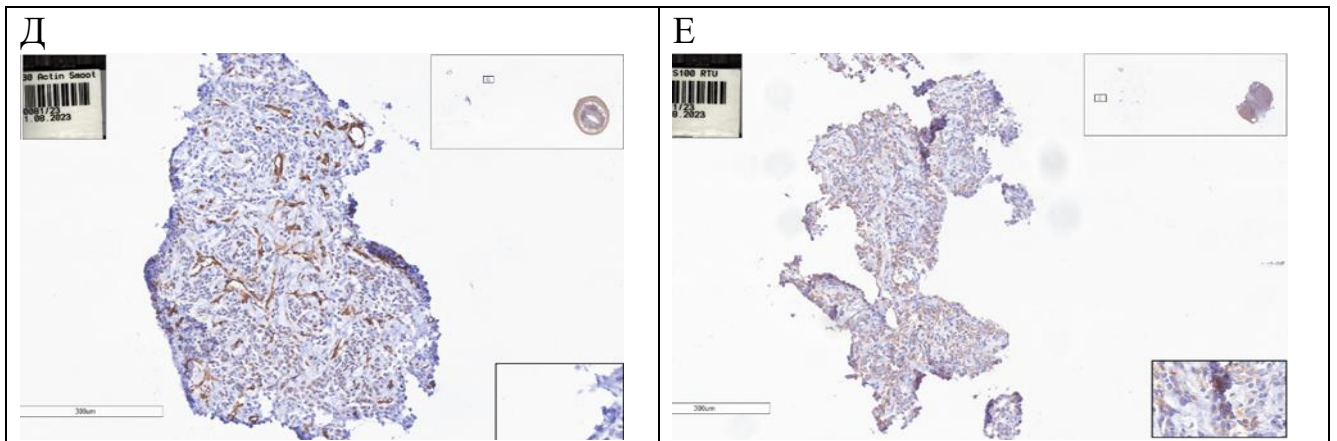


Рисунок 21 - Миоэпителиома, матрикс отсутствует (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; в - гистологический препарат, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; г - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; д - материал клеточного блока, Окр. S100 x10,0; е - материал клеточного блока, Окр. SMA x10,0).

Карцинома из плеоморфной аденомы с отсутствием матрикса (8941/3)

Карцинома из плеоморфной аденомы с отсутствием матрикса характеризовалась наличием карциноматозного компонента из умеренно полиморфных гиперхромных клеток с грубоватым хроматином и неровной ядерной мембраной, наличием ядрышек, высоким я/ц соотношением, на фоне отсутствия фибриллярного матрикса (рис. 22). ИЦХ исследования материала клеточных блоков при карциноме из плеоморфной аденомы с отсутствием матрикса не выполнялись.

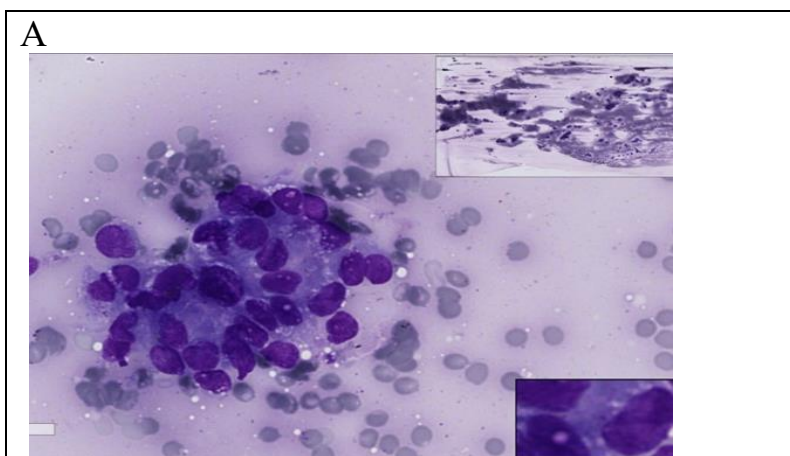


Рисунок 22 - Карцинома из плеоморфной аденомы, матрикс отсутствует, полиморфные атипичные ядра (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману

x40,0).

Миоэпителиальная карцинома с отсутствием матрикса (8982/3)

В нашем исследовании из 636 случаев с цитологическим и гистологическим исследованием, гистологически миоэпителиальная карцинома была диагностирована у 2 мужчин 62 и 67 лет, локализация - ОУСЖ и у 2 женщин 51 и 72 года, с локализацией опухолей в подчелюстной железе и в ОУСЖ. Цитологически материал был расценен в двух случаях как подозрение на злокачественную опухоль (CV) и злокачественная опухоль (CVI) по Миланской системе отчетности, а в остальных двух случаях как опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB) (Таблица 10, 11, 12, 13, 14).

Опухолевые клетки при миоэпителиальной карциноме экспрессировали цитokerатины, SOX10, S100 и миоэпителиальные маркеры, такие как SMA, кальпонин и p63/p40.

На рисунке 23 (а, в) представлена цитограмма миоэпителиальной карциномы: визуализировалась выраженная ядерная атипия, клеточный полиморфизм и миоэпителиальная дифференцировка. Определялась однозначная цитологическая картина злокачественной опухоли.

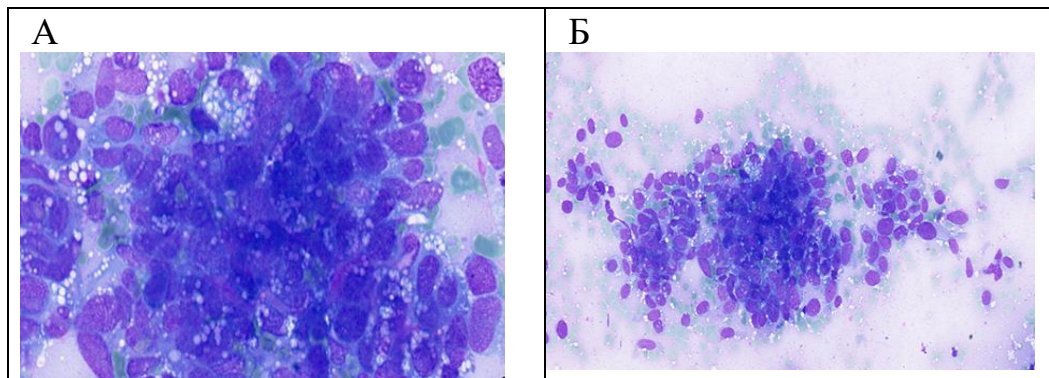


Рисунок 23 - Миоэпителиальная карцинома, матрикс отсутствует. (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40; б- цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20)

Предложенный нами алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей со смешанным/другим матриксом и ядерными особенностями представлен на рисунке 24.

Дифференциальный ряд состоял из плеоморфной аденомы с пролиферацией эпителиального компонента, карциномы из плеоморфной аденомы, аденокистозной карциномы и полиморфной карциномы.

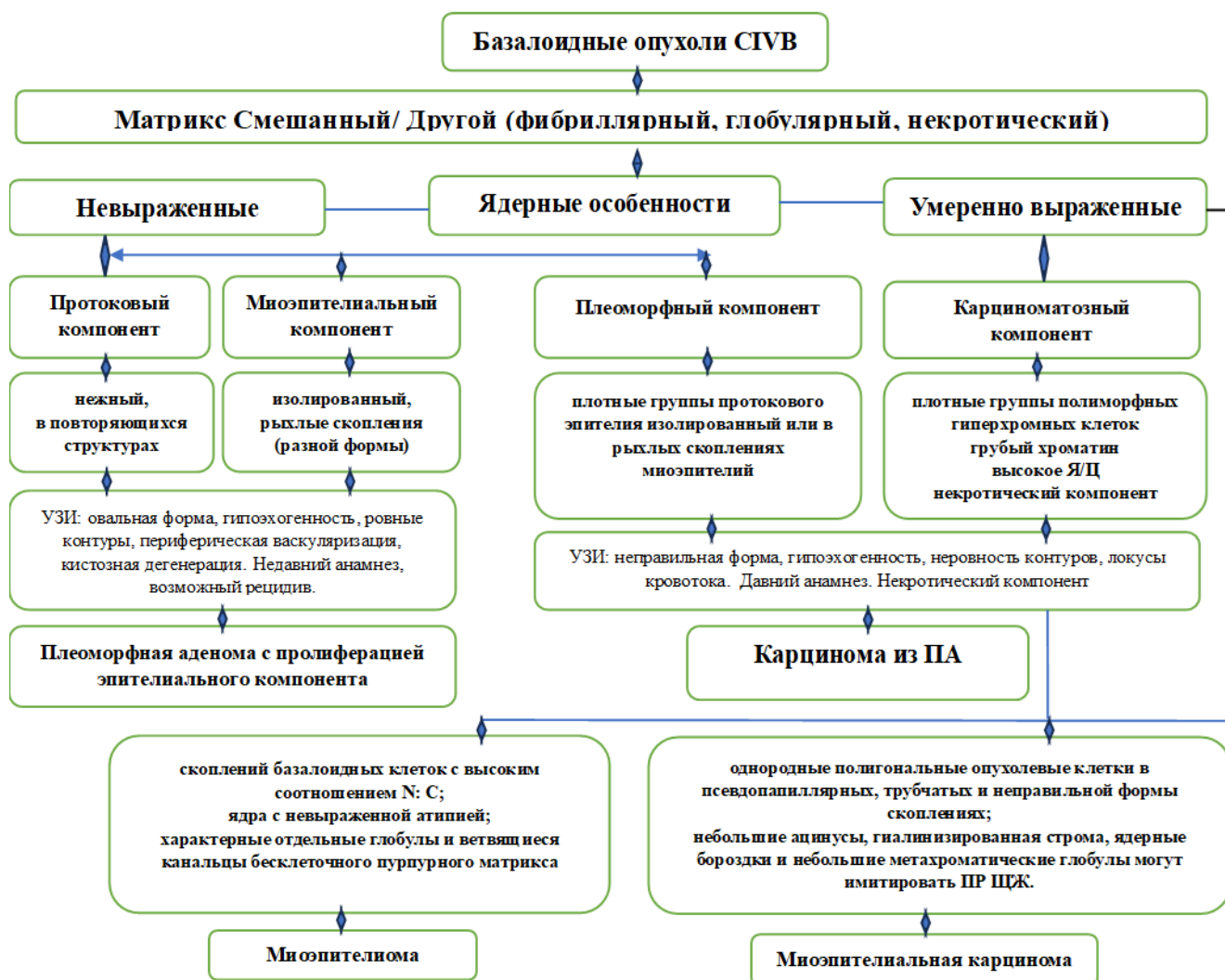
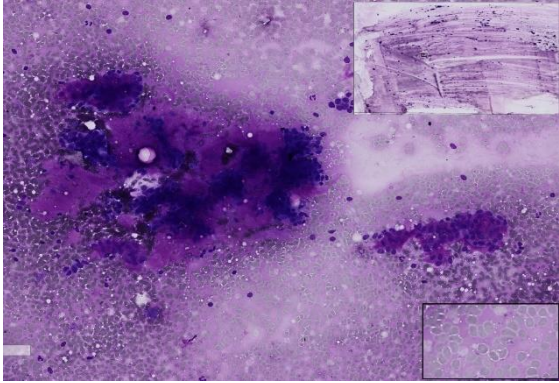
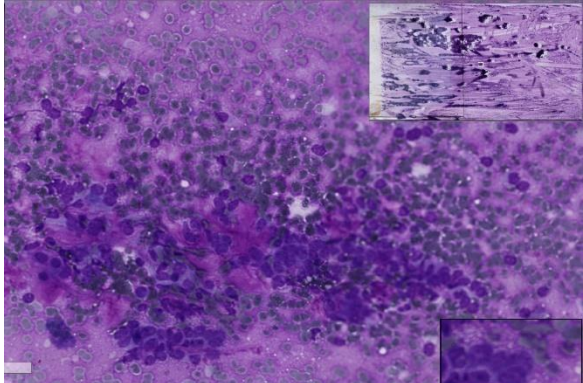


Рисунок 24 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей со смешанным/другим матриксом

Аденокистозная карцинома со смешанным матриксом (8200/3)

В нашем исследовании аденокистозная карцинома была установлена гистологически у 33 больных из 636, при этом цитологически у 23 больных установлен верно диагноз АдКК, в 5 случаях – подозрение на АдКК, а в 5 случаях – опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности. В цитограмме аденокистозной карциномы определялись протоковый

эпителий и миоэпителий.

А 	А 
Рисунок 25 - Аденокистозная карцинома со смешанным матриксом (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0).	Рисунок 26 - Аденокистозная карцинома со смешанным матриксом и элементами некроза (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0).

При этом цитограмма зависела от типа гистологического строения: крибриформный, тубулярный, солидный. Наиболее понятным для цитологической диагностики являлся крибриформный вариант. Цитологическая картина аденокистозной карциномы напоминала швейцарский сыр, с наличием гиалиновых малиновых глобул (шаров) с очень гладким ровным краем, окруженные базалоидным эпителием с клеточным полиморфизмом и атипией ядер (рис. 25 и 26). При тубулярном варианте глобул не было видно, обнаруживались небольшие скопления опухолевых клеток, разделенные гиалиновой стромой, опухолевые клетки были фиксированы к тяжам стромы, что напоминало трубочки. Солидный вариант цитологически не отличался от базалоидной опухоли слюнной железы, но характерным являлся больший полиморфизм ядер, некроз и даже наличие митозов. При аденокистозной карциноме со смешанным матриксом цитологическая картина сглаженная, имитирующая цитоморфологию ПА со скудным фибриллярным матриксом, пролиферацией эпителиального компонента и наличием редких глобул. В таких ситуациях нами выполнялись иммуноцитохимические исследования на дооперационном этапе (Таблица 26). При иммуноцитохимическом исследовании обнаруживалась выраженная экспрессия панцитокератинов в клетках протоков и слабо выраженная их экспрессия в миоэпителиальных клетках. Наблюдалась

выраженная экспрессия CK7 и с-KIT (CD117) в клетках протоков, тогда как выраженная экспрессия p63, p40, кальпонин и α -SMA - в миоэпителиальных клетках. В целом иммуноцитохимическая картина не отличалась от ПА, что в двух случаях, где не использовался маркер с-KIT (CD117) не позволило верно установить АдКК и было ошибочно сделано заключение о ПА. В 1 случае АдКК при использовании полной иммуноцитохимической панели с включением в нее с-KIT (CD117), заключения цитологии и ИЦХ совпали с гистологическим заключением. Маркер с-KIT (CD117) имел важное значение в дифференциальной диагностике АдКК и ПА, поскольку он экспрессировался опухолевыми клетками при АдКК и его экспрессия отсутствовала при ПА. В двух случаях клеточного материала оказалось недостаточно для проведения ИЦХ.

Полиморфная аденокарцинома со смешанным матриксом (8525/3)

В нашем исследовании гистологически диагноз полиморфной аденокарциномы поставлен в двух случаях у женщин 51 года в ОУСЖ и 79 лет в малой слюнной железе твердого неба. В обоих случаях при цитологическом исследовании были верно определены злокачественные опухоли (категория CVI) по Миланской классификации (Таблица 10, 11,12,13,14).

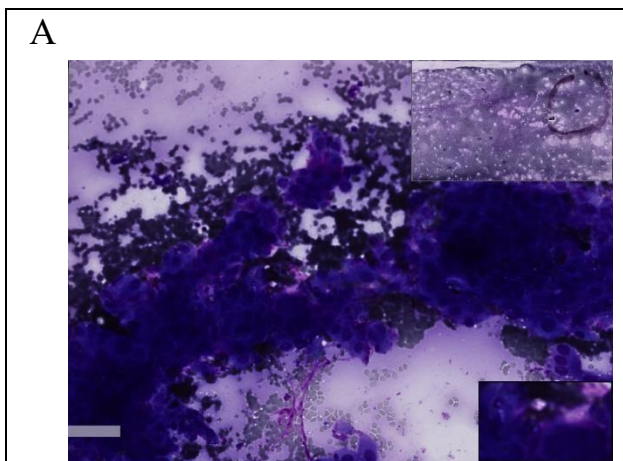


Рисунок 27 - Полиморфная аденокарцинома со смешанным матриксом (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0).

Цитологическая картина полиморфной аденокарциномы со смешанным матриксом была представлена достаточно плотными скоплениями базалоидного эпителия со смешанным матриксом и элементами некроза, с клеточным полиморфизмом и атипией ядер (рис. 27). Опухолевые клетки гиперхромные с

грубым хроматином и высоким я/ц соотношением, целостность ядерной мембраны нарушена, визуализируются ядрышки. При проведении иммуноцитохимического исследования опухолевые клетки полиморфной аденокарциномы экспрессировали цитокератины в 100% случаев. Наблюдалась положительная экспрессия p63, в то время как отсутствовала экспрессия p40, что помогало в дифференциальной диагностике. Наблюдалась положительная экспрессия опухолевыми клетками маммоглобина и c-KIT (CD117). Рекомендуемая нами оптимизированная иммуноцитохимическая панель включает следующие антитела: PLAG; протоковый эпителий: CK7, mammaglobin, KIT (CD117), CEA; миоэпителий: S100, p63; индекс пролиферации ki-67 - 1–7%; отрицательное окрашивание - p40.

Предложенный нами алгоритм дифференциальной диагностики для базалоидных опухолей с особенностями стромы представлен на рисунке 28. Дифференциальный ряд состоял из аденокистозной карциномы, эпителиально-миоэпителиальной карциномы, базальноклеточной карциномы и карциномы из плеоморфной аденомы.

Базальноклеточная аденома (8147/0) /аденокарцинома (8147/3) с особенностями стромы

Цитограмма базальноклеточной аденомы с особенностями стромы была представлена скоплениями в виде солидных структур с палисадом по периферии из слабо полиморфных базалоидных клеток с округлыми или овальными ядрами и скудной цитоплазмой и гиалиновой стромой (рисунок 29а). Такую цитоморфологическую картину интерпретировали как базальноклеточную опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (категория CIVB) по Миланской системе и только гистологическое исследование резецированного материала позволяло провести дифференциальную диагностику между базальноклеточной аденомой и карциномой.

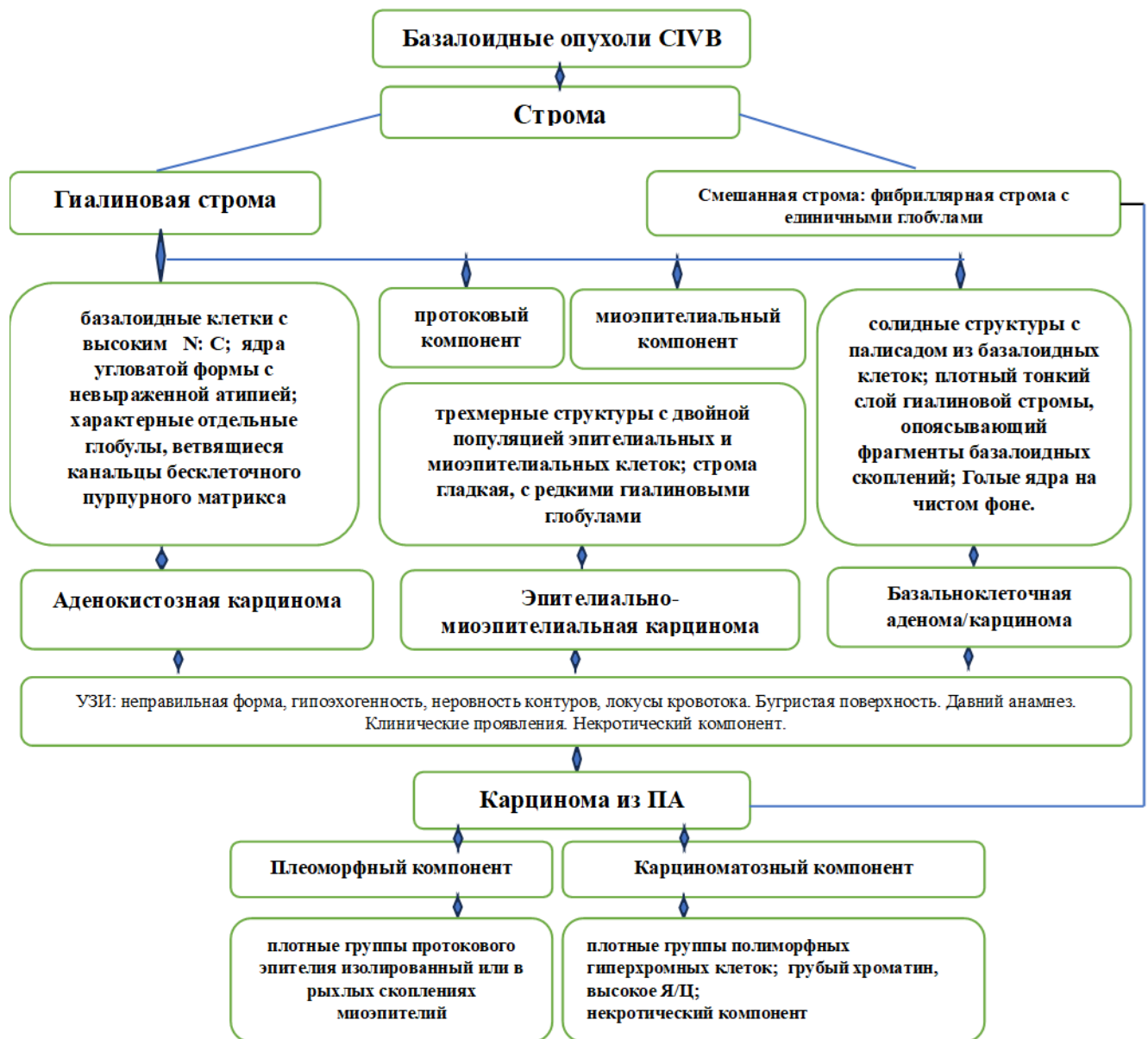


Рисунок 28 - Алгоритм дифференциальной диагностики базалоидных опухолей с особенностями стромы.

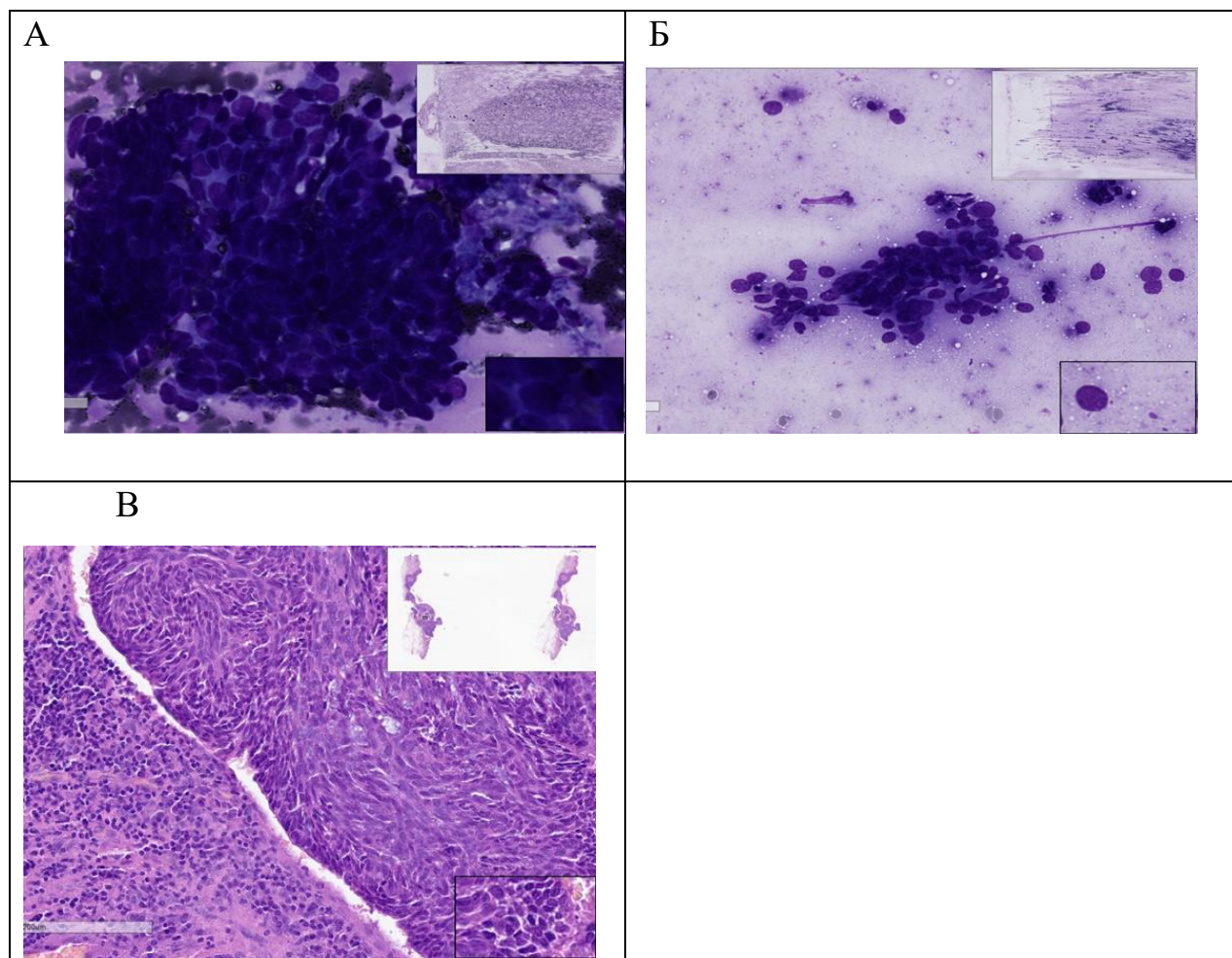


Рисунок 29 - Базальноклеточная аденома (8147/0) /аденокарцинома с гиалиновой и скудной стромой (а. БКА, б. БКАК - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; в - БКАК гистологический препарат, Окр. гематоксилин-эозином x10,0)

В нашем исследовании цитоморфологическая картина базальноклеточной аденокарциномы не всегда демонстрировала признаки злокачественной опухоли. Определялись базалоидные клетки в скудной гиалиновой строме в отдельных скоплениях на фоне скудного фибриллярного матрикса (рисунок 29б). Гистологическая картина базальноклеточной аденокарциномы представлена на рисунке 29в.

Аденокистозная карцинома с особенностями стромы (8200/3)

Цитограммы аденокистозной карциномы с особенностями стромы были представлены плотными группами базалоидных клеток, с микрокистозными

сетчатыми скоплениями, цилиндрами и канальцами; разрозненно расположенными небольшими базалоидными опухолевыми клетками с высоким я/ц соотношением; бесклеточным гомогенным матриксом с резкими границами (Рис. 30 а, б). Гистологическая картина АдКК представлена на рисунке 30в. Цитологическая картина крибриформного (классического) цитологического варианта АдКК выглядела следующим образом, наблюдались многочисленные гомогенные глобулы и цилиндры, некоторые из которых были окружены базалоидными опухолевыми клетками, формируя розетковидные скопления. В некоторых случаях, цитологическая картина была сглаженной, имитирующая цитоморфологию ПА со скудным фибриллярным матриксом, пролиферацией эпителиального компонента и наличием редких глобул, что требовало проведения ИЦХ исследования с применением маркера c-KIT (CD117).

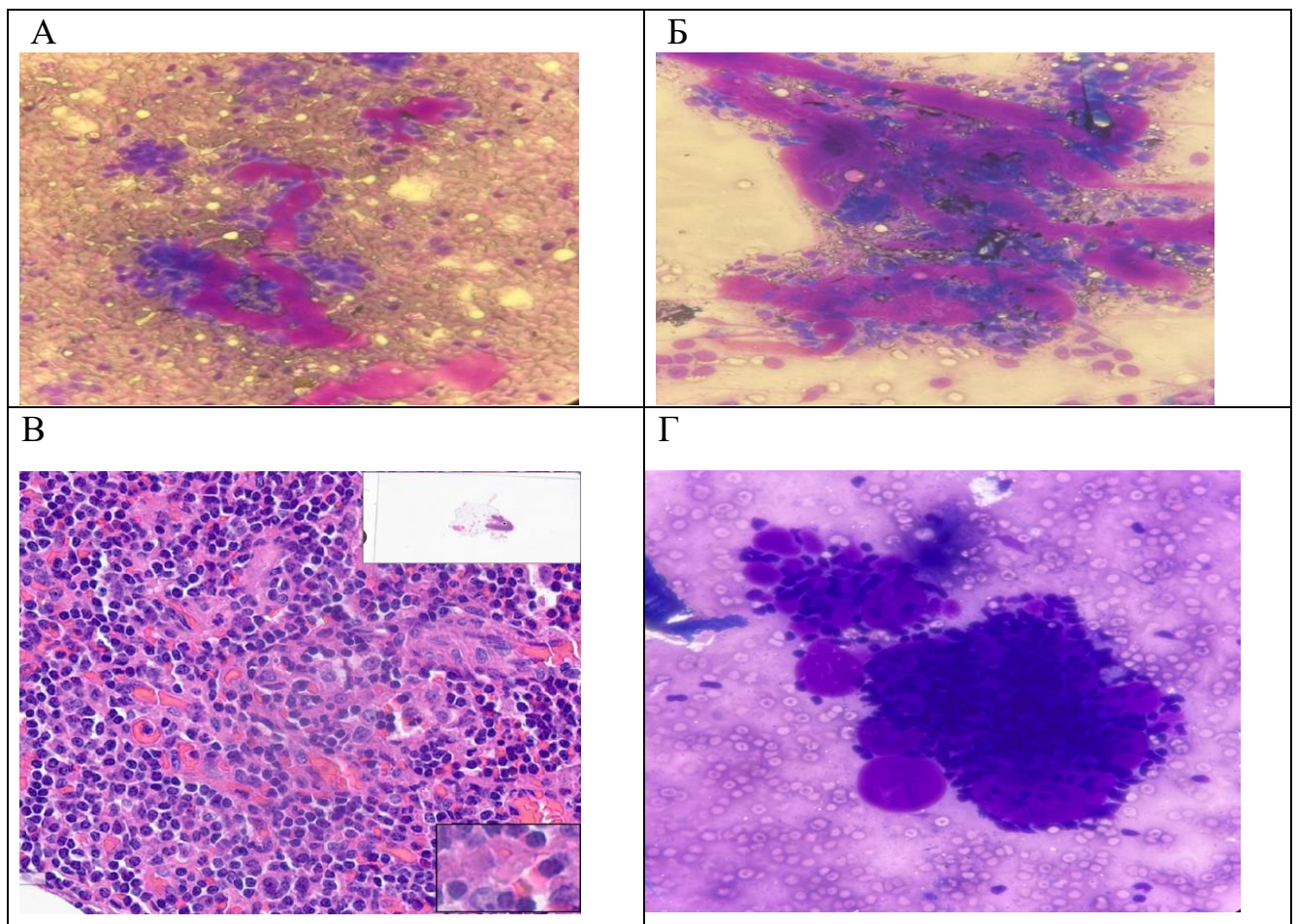


Рисунок 30 - Аденокистозная карцинома с особенностями стромы (а, б- трубчатый разветвляющийся матрикс, цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; в-

гистологический препарат, Окр. гематоксилин-эозином $\times 10,0$; г-гиалиновая глобулярная строма; г - цитологический препарат, Окр. по Лейшману $\times 20,0$)

Эпителиально-миоэпителиальная карцинома с особенностями стромы (8562/3).

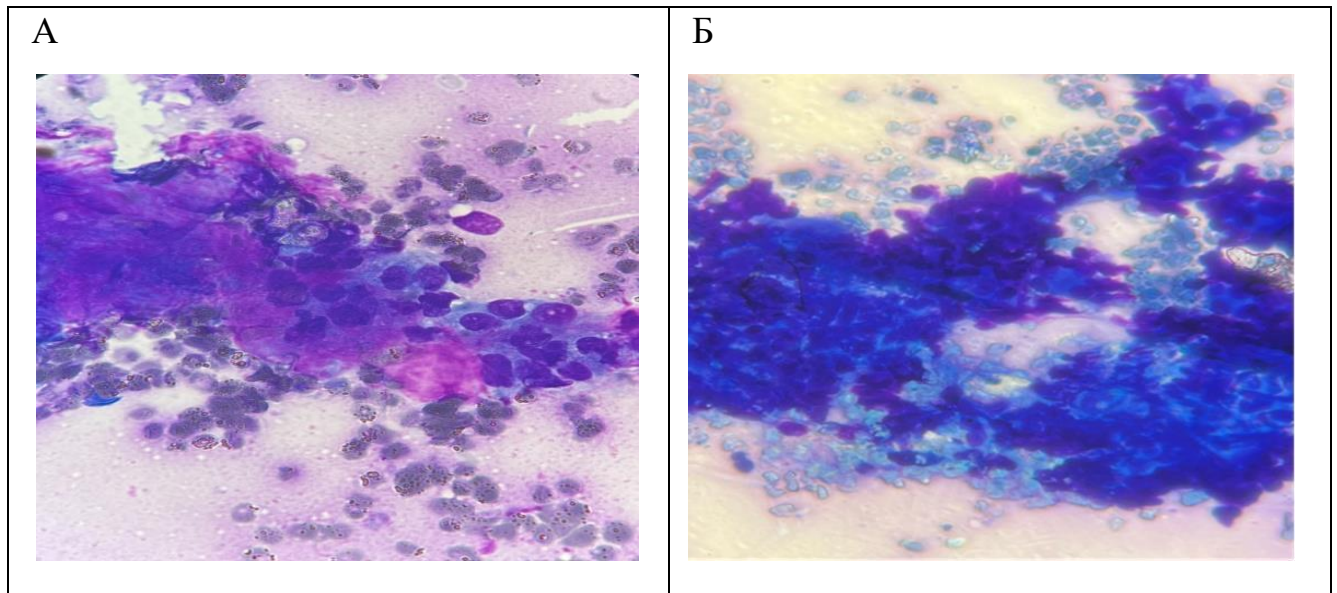


Рисунок 31 Эпителиально-миоэпителиальная карцинома, структуры с гиалиновой стромой (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману $\times 20,0$).

Цитологическая картина эпителиально-миоэпителиальной карциномы с особенностями стромы была представлена солидными, папиллярными структурами из базалоидных умеренно полиморфных клеток с атипией, с гиалиновой стромой, либо скоплениями типа ацинусов из миоэпителиальных клеток, редкими гиалиновыми глобулами (рисунок 31а, б).

Карцинома из плеоморфной аденомы с особенностями стромы (8940/3)

Цитологическая картина карциномы из плеоморфной аденомы с особенностями стромы представлена карциноматозным компонентом на фоне плеоморфной аденомы - достаточно плотные скопления базалоидного эпителия с гиалиновой и фибриллярной стромой, с выраженным клеточным полиморфизмом и атипией ядер (рис. 32а,б). Опухолевые клетки гиперхромные с грубым хроматином и высоким я/ц соотношением, ядерная мембрана неровная, прерывистая, визуализировались ядрышки.

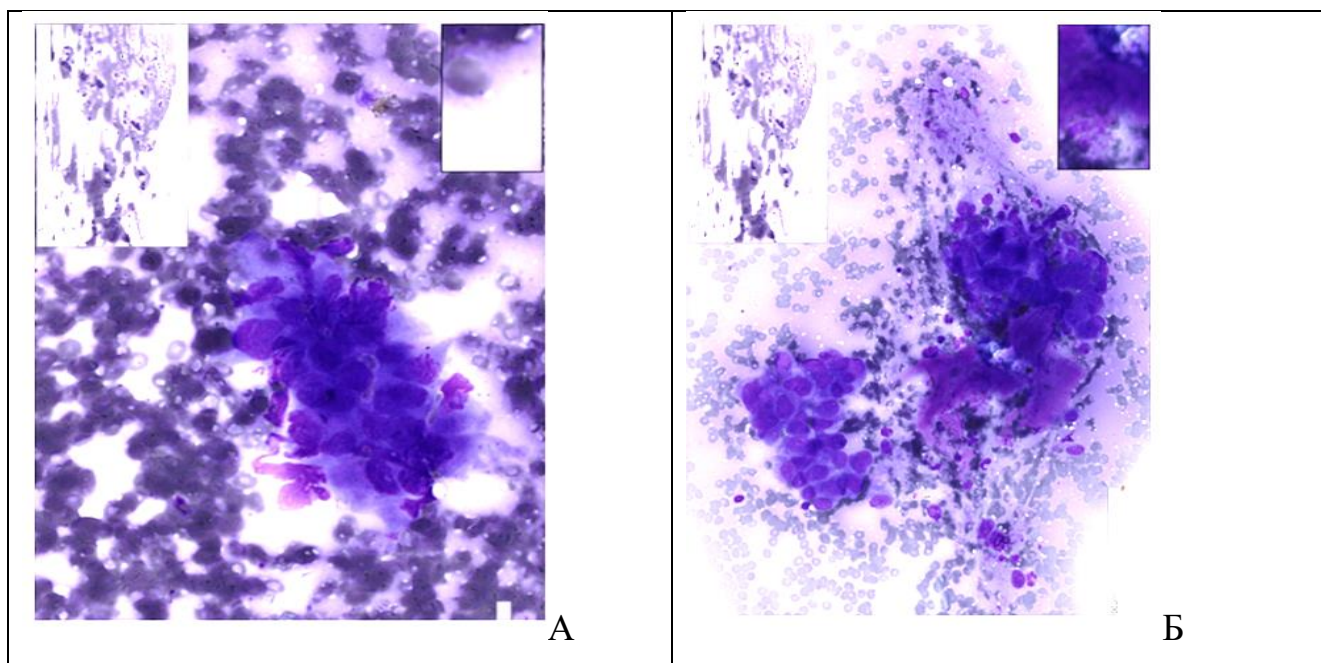


Рисунок 32 - Карцинома из плеоморфной аденомы со смешанной фибриллярной стромой и единичными глобулами (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0).

В таблице 26 суммированы предложенные нами оптимизированные иммуноцитохимические панели для дифференциальной диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности и базалоидной морфологией.

Таблица 29 - Иммунопрофиль базалоидных опухолей слюнной железы

Базалоидные опухоли	Эпителиальный компонент Миоэпителиальный компонент	Индекс пролиферации ki-67	Отрицательное окрашивание
Плеоморфная аденома/ карцинома из плеоморфной аденомы	PLAG1, HMGA2 Протоковый эпителий: CKPan, CK7 миоэпителиальные и базальные маркеры: calponin (наиболее чувствительный), SMA, p40 (лучше, чем p63), S100 и SOX10 (отличает ПА от онкоцитарных опухолей)	>2%	C-KIT (CD117) (люминальный эпителий)

Продолжение Таблицы 29			
Базальноклеточная аденома/ Базальноклеточная карцинома	sm-actin, calponin, p63, p40, SOX10; совместная экспрессия ядерного β -катенина и LEF1	<10%	GFAP
Аденокистозная карцинома	Протоковый эпителий: CKPan, CK7 и C-kit (CD117) Миоэпителий: p63, p40, calponin, sm-actin, S100 MYB в ядрах базальных/ миоэпителиальных клеток	>20%	PLAG1
Эпителиально-миоэпителиальная карцинома	PLAG1 Протоковый эпителий: CK7 Миоэпителий: SMA, calponin, p63/p40	>10%	GFAP
Полиморфная карцинома	PLAG1 Протоковый эпителий: CK7, mammaglobin, KIT (CD117), CEA; Миоэпителий: S100, p63	1–7%	p40
Миоэпителиома/ Миоэпителиальная карцинома	PLAG1 Миоэпителиальные маркеры: p63, calponin, SMA, S100, SOX10	<10% >10%	C-KIT (CD117) (миоэпителий)

3.4. Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии онкоцитарных/онкоцитоидных опухолей

Подкатегория новообразований слюнной железы с неопределенным злокачественным потенциалом с онкоцитарными/онкоцитоидными признаками включала как доброкачественные онкоцитарные опухоли слюнных желез, так и карциномы низкой степени злокачественности, с преобладающим онкоцитарным типом клеток и характерными фоновыми изменениями.

Из 114 случаев в 29 случаях материал ТИАБ был расценен как онкоцитарная/онкоцитоидная опухоль (категория CIVB SUMP) по МСЦСЖ, что составило 25% от общего числа случаев опухолей с неопределенным злокачественным потенциалом (4,6% случаев из 636). Среди онкоцитарных

опухолей гистологически верифицированы 65,5% доброкачественных опухолей, 31,0% злокачественных опухолей и 3,5% неопухолевых заболеваний. В 55,2% случаев, цитологически материал ТИАБ был расценен как CIVB (SUMP) – онкоцитарная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (Таблица 16,17,18). По результатам цитологического и ИЦХ исследований и последующего гистологического исследования операционного материала наблюдалось совпадение по доброкачественным опухолям (опухоль Уортина, оксифильная аденома (онкоцитомы), цистаденома) в 51,7% (15 случаев из 29), в 13,8% случаев (4случая из 29) совпали диагнозы злокачественных опухолей (метастаз меланомы, лимфомы), в 10,3% выявлены несовпадения заключений цитологических и ИЦХ исследований и гистологических диагнозов (метастаз ПКК, ацинарно-клеточная карцинома и плеоморфная аденома), в 24,1% случаев материал клеточных блоков был признан недиагностическим (Таблица 16,17,18,23,24,25). В нашей работе оценивая цитограммы опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности с онкоцитарной/онкоцитойдной морфологией мы использовали установки МСЦСЖ (второй пересмотр от 2023 года) в оценке особенностей фона мазков и выраженности ядерной атипии. Нами предложены более подробные Алгоритмы дифференциальной диагностики онкоцитарных/онкоцитойдных опухолей, классифицированных по МСЦСЖ как CIVB.

Общий алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных/онкоцитойдных опухолей слюнных желез предлагает дифференцировать материал по особенностям фона, особенностям цитоплазмы и ядерным особенностям (рис. 33).

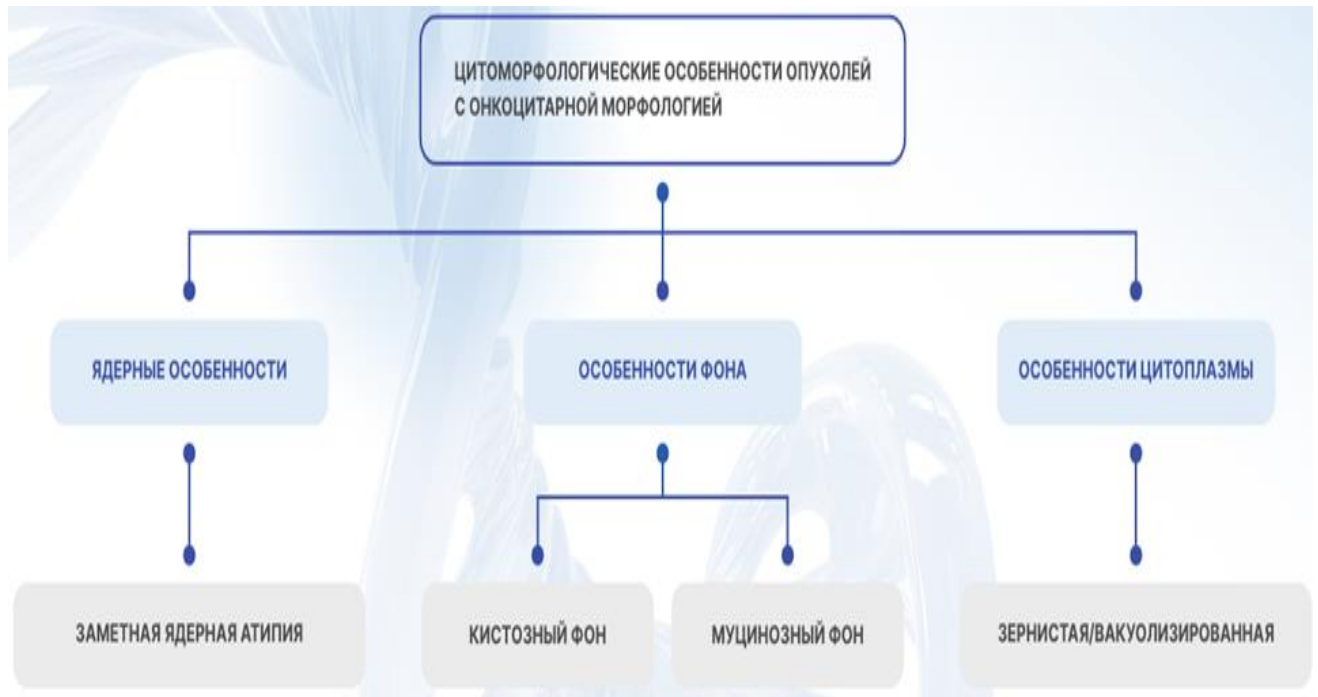


Рисунок 33. Общий алгоритм дифференциальной диагностики опухолей слюнных желез с онкоцитарной/онкоцитойдной морфологией

Разработан алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с кистозным фоном (рис.34). Дифференциальный ряд состоял из опухоли Уортина, склерозирующей поликистозной аденомы, цистаденомы, ацинарно-клеточной карциномы и мукоэпидермоидной карциномы.

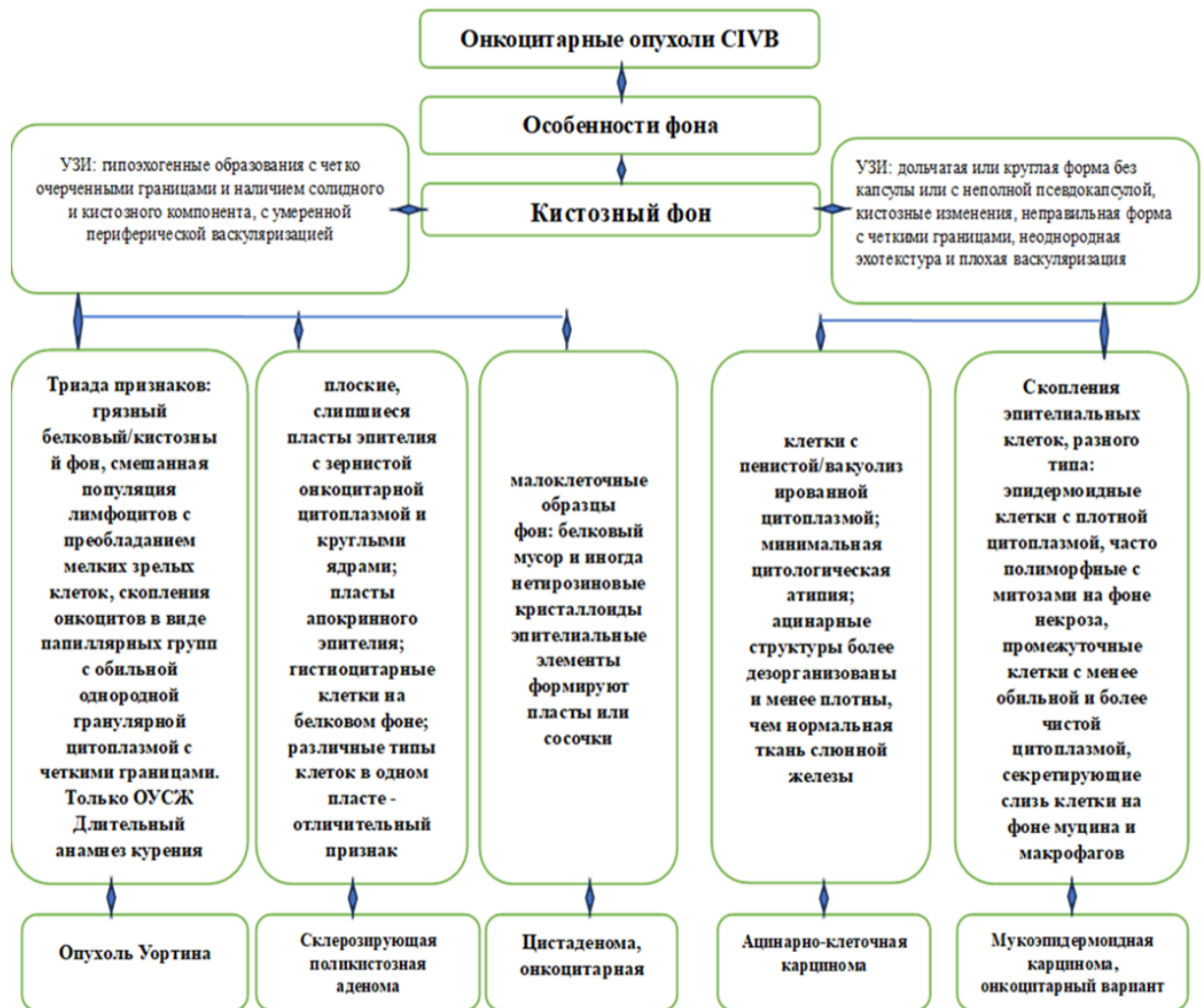


Рисунок 34 - Алгоритм дифференциальной диагностики онкотитарных опухолей с кистозным фоном.

Опухоль Уртина, кистозный фон (8561/0)

Опухоль Уртина (ОУ) вторая после плеоморфной аденомы по частоте встречаемости, в нашем исследовании среди 636 случаев составила 100 случаев (15,7%) (Таблица 10). При исследовании материала ТИАБ, ОУ характеризовалась наличием трех компонентов: онкоцитов, полиморфной популяцией лимфоцитов с преобладанием зрелых лимфоцитов и «грязным» белковым кистозным зернистым фоном (Рисунок 34). По материалу 11 клеточных блоков были выполнены иммуноцитохимические исследования для исключения злокачественных опухолей.

В 10 случаях подтверждена ОУ гистологически и в 1 случае предположили ОУ, но гистологический диагноз показал плеоморфную аденому (Таблица 16,17,18). Дифференциальная цитологическая диагностика ОУ включала ацинарноклеточную карциному, мукоэпидермоидную карциному высокой степени злокачественности, секреторную карциному и плоскоклеточную карциному. Опухолевые клетки демонстрировали цитоплазматическую экспрессию CK7, CK5/6 и CK19, фокальную цитоплазматическую экспрессию СКPan, не экспрессировали Mammaglobin, Androgen receptor, CD117 c-kit, S100; не экспрессировали p16, p63; в ~1% определялась ядерная экспрессия Ki67 (Таблица 26,27). Опухолевые клетки не экспрессировали SOX10, что отличало их от большинства ацинарноклеточных карцином и секреторных карцином.

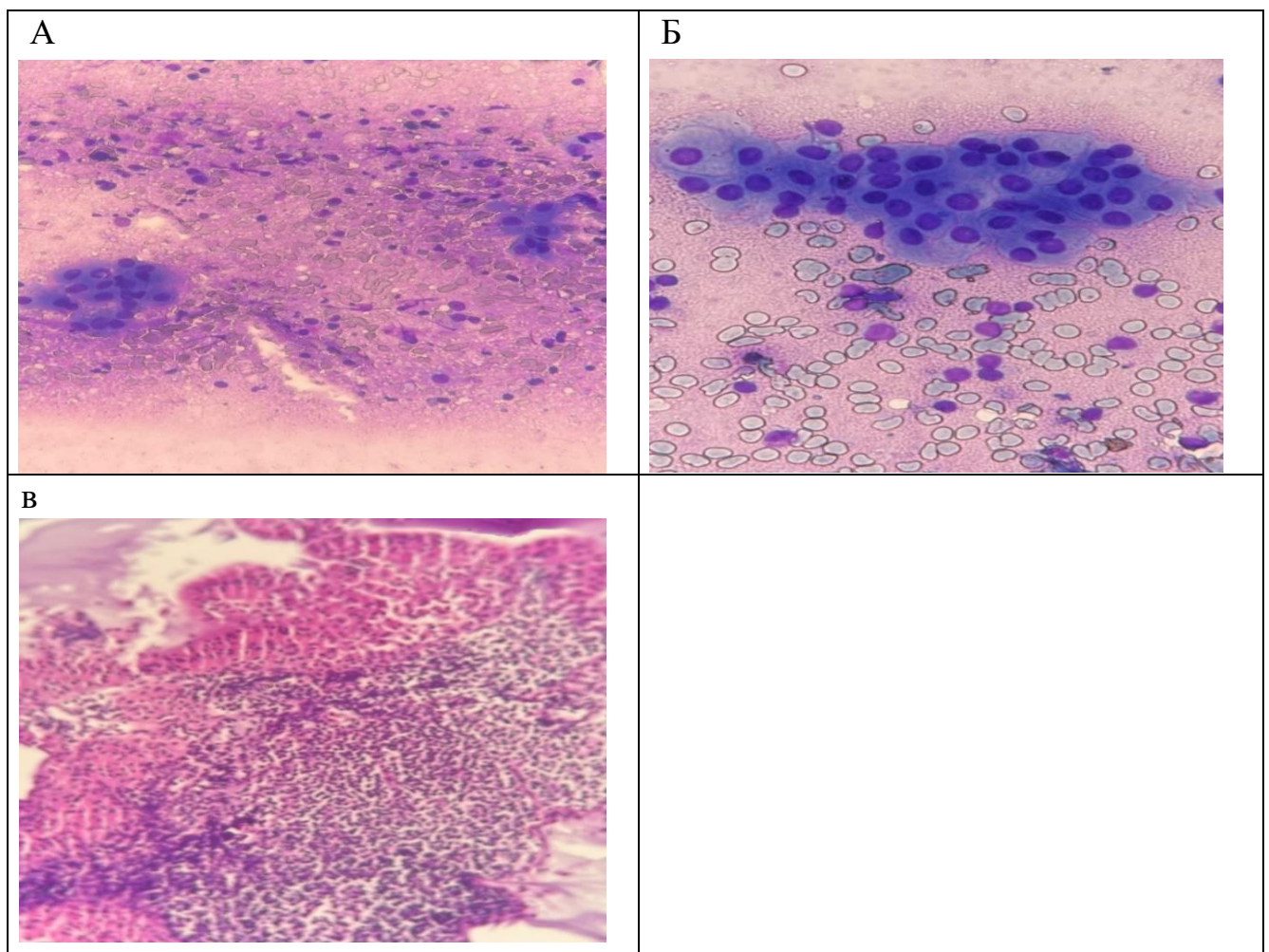


Рисунок 35 - Опухоль Уортина (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; в – клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0).

Цитологическая картина при опухоли Уортина имела тройственный вид: "грязный" белковый кистозный фон, лимфоциты разной степени зрелости с преобладанием зрелых форм и скопления онкоцитов (рис. 35а). На рисунке 35б показаны скопления онкоцитарного эпителия и смешанная популяция с преобладанием зрелых лимфоцитов. На рисунке 35в пример клеточного блока, где визуализировались базальные клетки, столбчатые онкоцитарные клетки, гистологически ориентированные в просвет, и лимфоидная инфильтрация. Рекомендуемая нами оптимизированная иммуноцитохимическая панель антител для опухоли Уортина: эпителиальный компонент p63+, p40-, CK7, CK19; отрицательное окрашивание -SOX10, sm-actin.

Цистаденома, онкоцитарная, кистозный фон (8440/0)

Среди материала 636 пациентов, исследованного цитологически и гистологически, встретился один случай цистаденомы. Было дано цитологическое заключение об онкоцитарной опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности и иммуноцитохимическое исследование проводилось с учетом наличия у пациента в анамнезе папиллярного рака щитовидной железы, гистологическое исследование на резецированном материале дало онкоцитарную цистаденому (Таблица 10,14). При иммуноцитохимическом исследовании опухолевые клетки демонстрировали гетерогенную цитоплазматическую экспрессию CK7; протоковый эпителий экспрессировал CK8/18, в базальном эпителии отмечалась ядерная, слабая фокальная экспрессия p63; не определялась экспрессия S100 и SOX10. Отмечалось отсутствие экспрессии TTF-1, Thyroglobulin, PAX-8 позволило исключить метастаз папиллярного рака щитовидной железы. В итоге было дано цитологическое и ИЦХ заключение: Цитологическая картина и иммунофенотип вероятнее соответствуют онкоцитоме. (Рис. 36).

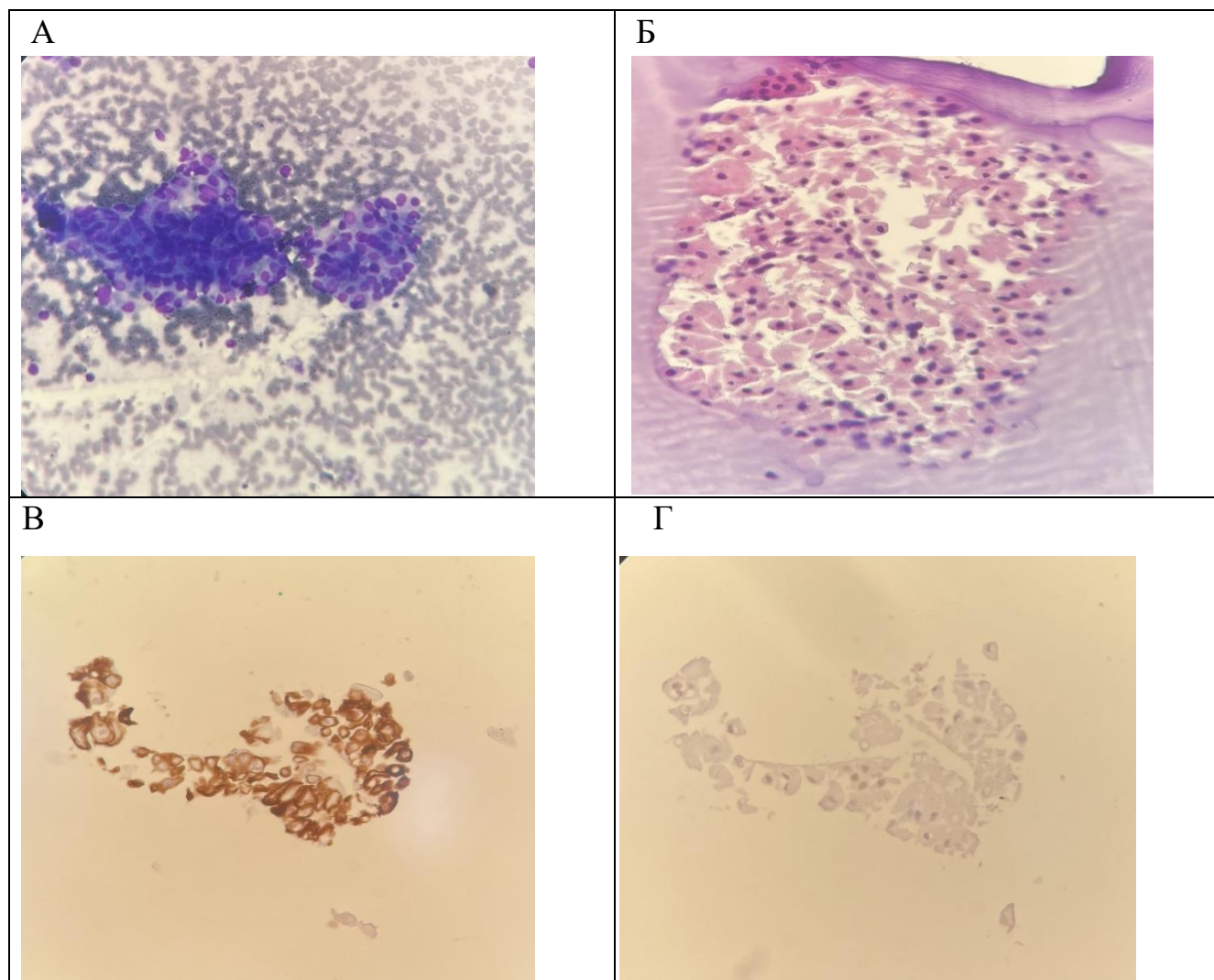


Рисунок 36 - Цистаденома, онкоцитарная, кистозный фон (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; б – клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x40,0; в - материал клеточного блока, Окр. СК7x40,0; г - материал клеточного блока, Окр. Р63x40,0).

Рекомендуемая нами оптимизированная иммуноцитохимическая панель антител для цистаденомы/онкоцитомы и онкоцитарная карциномы: эпителиальный компонент - р63/р40 (экспрессия в базальных клетках), СК5/6, GATA-3; отрицательное окрашивание - SOX10, S100, DOG1; индекс пролиферации ki-67 - carcinoma >10%.

Ацинарно-клеточная карцинома, кистозный фон (8550/3)

Из 636 случаев с ТИАБ и гистологической верификацией на резецированном

материале диагностировано 17 (2,7%) ацинарно-клеточных карцином (Рисунок 37). 13 случаев диагностировано у женщин от 41 до 77 лет, у 10 пациенток опухоли развились в околоушной слюнной железе, 2 случая в подчелюстной слюнной железе и 1 случай в малой слюнной железе. 4 случая диагностированы у мужчин от 36 до 69 лет в околоушных слюнных железах. В 13 случаях было дано заключение об ацинарно-клеточной карциноме (CVI), в одном случае было высказано подозрение на ацинарно-клеточную карциному, в одном случае - опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности с онкоцитарной морфологией (CIVB) и в одном случае было дано неверное заключение о доброкачественной опухоли (CIVA), в одном случае – (CI) не диагностический материал (Таблица 10, 11,12,13,14). В случае неверного заключения о доброкачественной опухоли (CIVA) цитологически и ИЦХ нами было дано заключение о плеоморфной аденоме, поскольку была использована не полная панель иммуноцитохимических маркеров из-за невозможности получить нужное для всей панели количество срезов. Диагноз ацинарно-клеточной карциномы был установлен на основании гистологического и иммуногистохимического исследования. При проведении иммуногистохимического исследования клетки ацинарно-клеточной карциномы не экспрессировали p40/p63, маммаглобин и S100, при этом наблюдалась положительная экспрессия с SOX10 и DOG1 (Таблица 26,27).

Цитограмма ацинарно-клеточной карциномы была представлена высококлеточными мазками, где наблюдались ацинарные скопления из клеток со слегка увеличенными, эксцентрично расположенными ядрами, равномерно распределенным хроматином, и иногда заметными ядрышками, с обильной цитоплазмой (рис. 37 а, б).

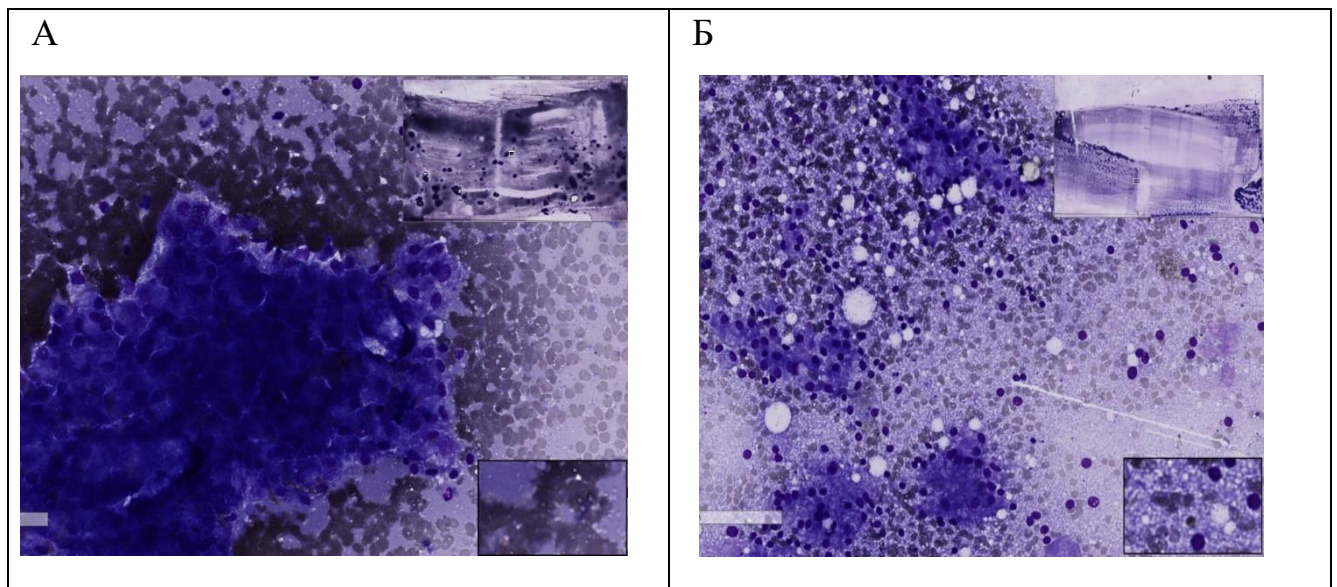


Рисунок 37 - Ацинарно-клеточная карцинома (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0).

В большинстве случаев встречались клетки с пенистой/вакуолизированной цитоплазмой и минимальной цитологической атипией. Оптимизированная иммуноцитохимическая панель антител для ацинарно-клеточной карциномы представлена следующим образом: эпителиальный компонент - DOG-1, SOX10 GCDFP15; миоэпителиальный компонент – негативный; отрицательное окрашивание - p40/p63, mammaglobin, S100, PLAG1; индекс пролиферации ki-67 - >10%.

Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант, кистозный фон (8430/3)

В нашем исследовании из 636 случаев с ТИАБ и гистологической верификацией на резецированном материале диагностировано 19 (3%) случаев мукоэпидермоидной карциномы (Рисунок 37). У 10 женщин с МЭК в возрасте от 44 до 76 лет: в 9 случаях опухоли определялись в околоушных слюнных железах и в одном случае в подчелюстной слюнной железе (Таблица 10). У 9 мужчин с МЭК в возрасте от 33 до 75 лет: у пятерых из них опухоли обнаружены в околоушных слюнных железах, у двоих - в подчелюстных слюнных железах и у двоих - в малых слюнных железах. При цитологическом исследовании материала ТИАБ было дано

11 заключений о злокачественной опухоли МЭК, в пяти случаях была заподозрена злокачественная опухоль (CV), в одном случае было дано заключение об опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (CIV4B), и в двух случаях цитограмма была признана недиагностической (CI) (Таблица 14). В случаях мукоэпидермоидной карциномы отмечался высокий процент истинно положительных цитологических заключений. В одном случае был получен клеточный блок, но материал оказался не репрезентативным для проведения иммуноцитохимического исследования. Диагноз был подтвержден гистологически и ИГХ с использованием антител p63, p40, MUC2, MUC6, S100, SOX10, CK5/6, которые имели положительную экспрессию, в отсутствие экспрессии S100, SOX10, к рецепторам андрогенов (AR) и HER2, что помогло в дифференциальной диагностике с протоковой карциномой слюнных желез (Таблица 26,27).

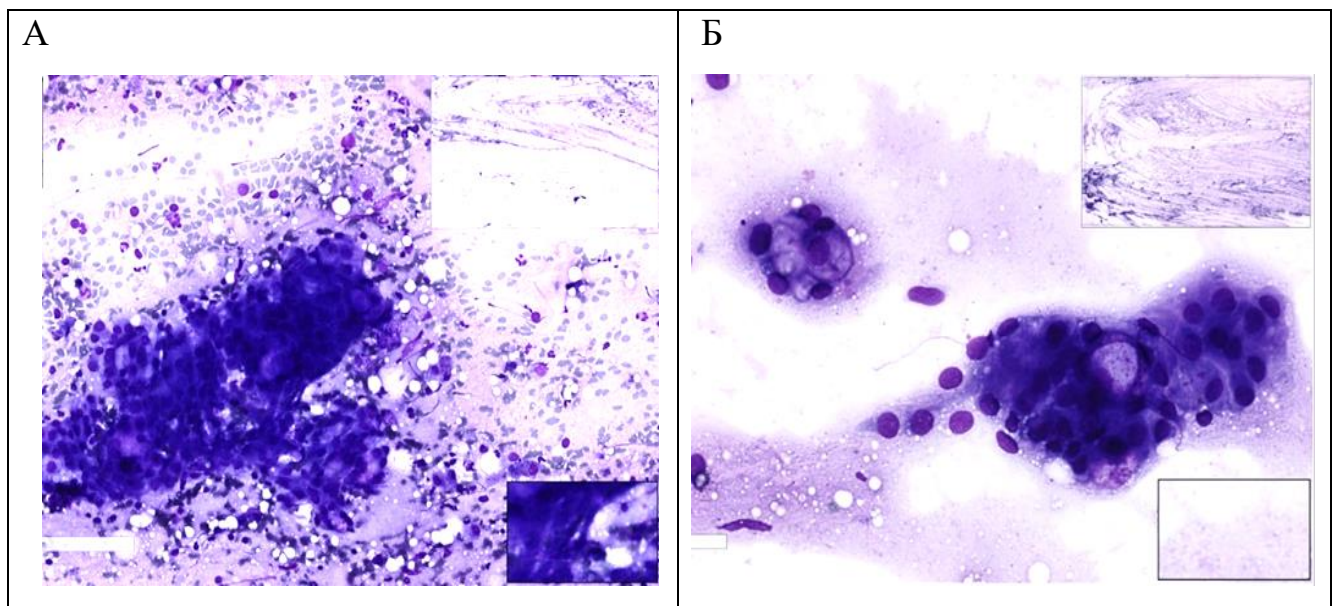


Рисунок 38 - Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0).

Цитологическая картина онкоцитарного варианта мукоэпидермоидной карциномы была представлена в основном муцинозными клетками, секретирующими слизь, на фоне муцина, небольшим количеством лимфоидных элементов и макрофагов (Рис. 38 (а,б)). Для мукоэпидермоидной карциномы мы также предложили оптимизированную иммуноцитохимическую панель антител: эпителиальный компонент -

мембраносвязанные муцины: MUC2, MUC6; эпидермоидные клетки: Pan-CK, CK5/6, CK7, p63, p40; отрицательное окрашивание - SOX10, S100, AR, PLAG1, HER2.

Нами предложен алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с муцинозным фоном. Дифференциальный ряд состоял из опухоли Уортина с очаговыми муцинозными метапластическими изменениями и мукоэпидермоидной карциномы.

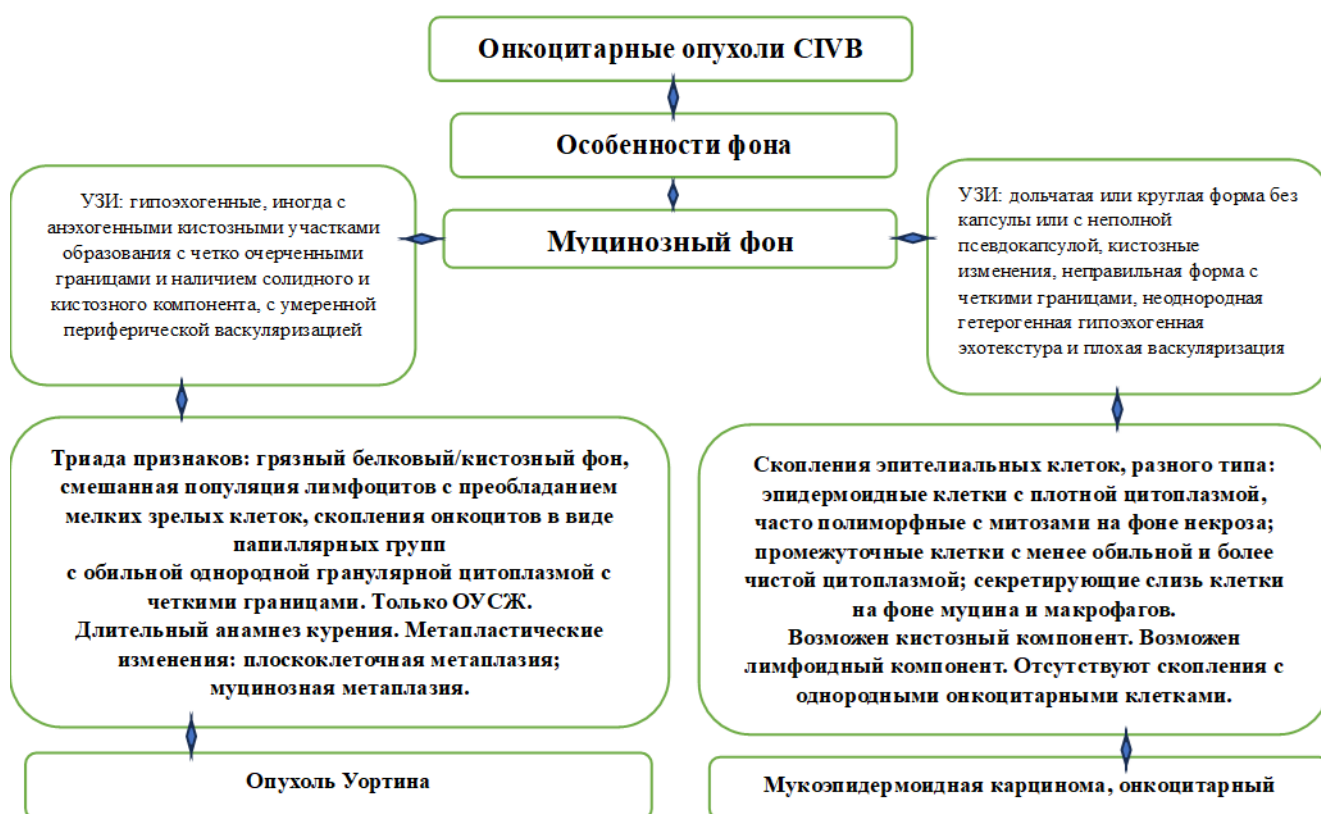


Рисунок 39 - Алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с муцинозным фоном.

Опухоль Уортина с очаговыми муцинозными метапластическими изменениями (8561/0)

Цитологически опухоль Уортина с очаговыми муцинозными метапластическими изменениями была представлена слабо полиморфными онкоцитарными клетками в солидных скоплениях на муцинозном фоне с

лимфоидным компонентом (рис. 40 а, б). Опухоль Уортина с участками плоскоклеточной метаплазии представлена на рисунке 40 в, г.

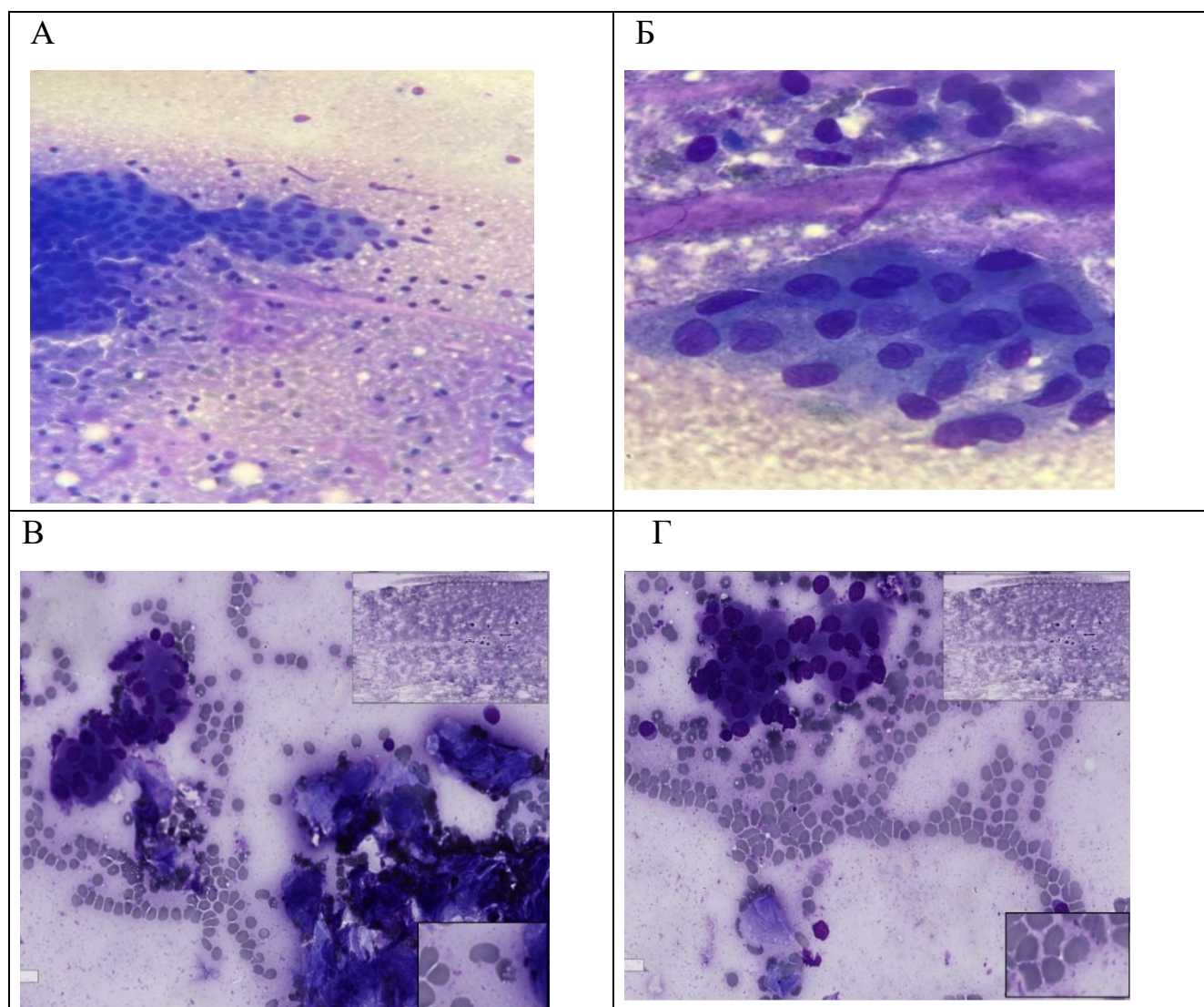


Рисунок 40 - Опухоль Уортина с очаговыми муцинозными (а, б) и метапластическими изменениями (в, г), (а,в,г - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; б - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40,0).

Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант, с муцинозным фоном (8430/3)

Цитологически онкоцитарный вариант мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы представлен полиморфными эпидермоидными клетками с плотной цитоплазмой, кистозным компонентом, лимфоидным компонентом (рис. 41а). Отсутствовали скопления с однородными онкоцитарными клетками. На рисунке 41б представлена микрофотография клеточного блока онкоцитарного

варианта мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы.

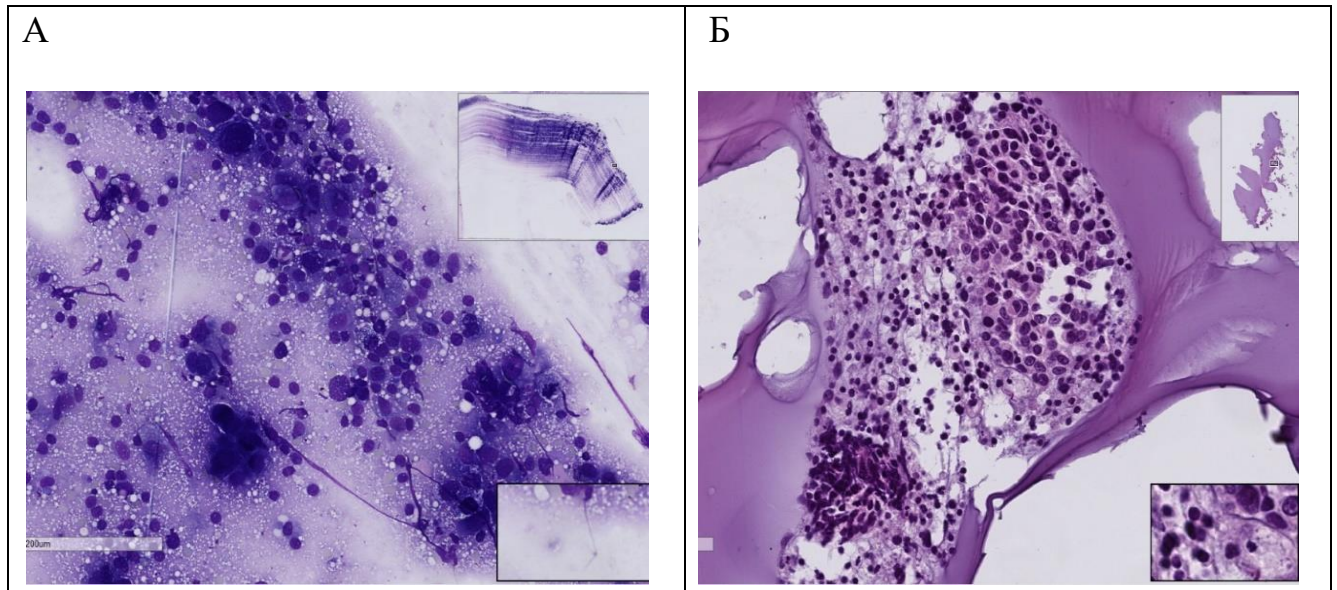


Рисунок 41 - Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; б - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0).

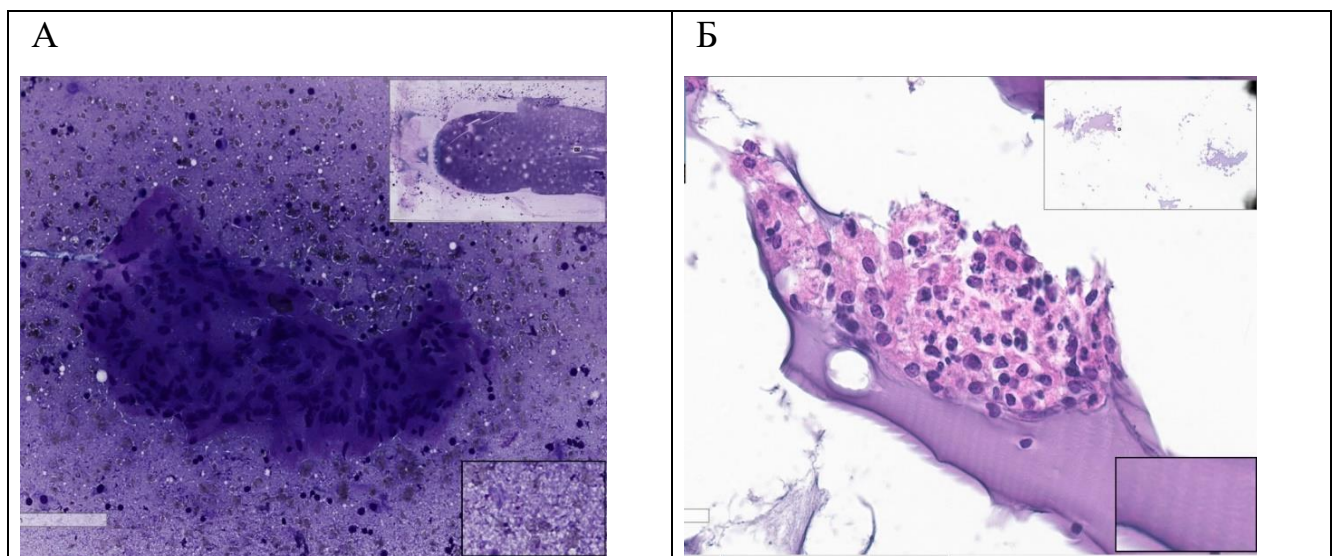
Нами предложен алгоритм на рисунке 42 дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с гранулярным фоном. Дифференциальный ряд в нашем исследовании состоял из ацинарно-клеточной карциномы, секреторной карциномы и метастатической почечно-клеточной карциномы.

Ацинарно-клеточная карцинома с мелкозернистой вакуолизированной цитоплазмой (8550/3)

Цитограмма ацинарно-клеточной карциномы с мелкозернистой вакуолизированной цитоплазмой была представлена скоплениями из монотонных клеток полигональной формы с овальными ядрами и обильной эксцентричной, мелкозернистой вакуолизированной цитоплазмой; в опухолевых клетках отмечается минимальная цитологическая атипия; вакуолизированная цитоплазма; фон был представлен лимфоидной инфильтрацией (рис.43). При проведении иммуноцитохимического исследования клетки ацинарно-клеточной карциномы экспрессировали CK7, CK8/18, но этих маркеров было недостаточно для определения ацинарно-клеточной карциномы.



Рисунок 42 - Алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с зернистой/вакуолизированной цитоплазмой



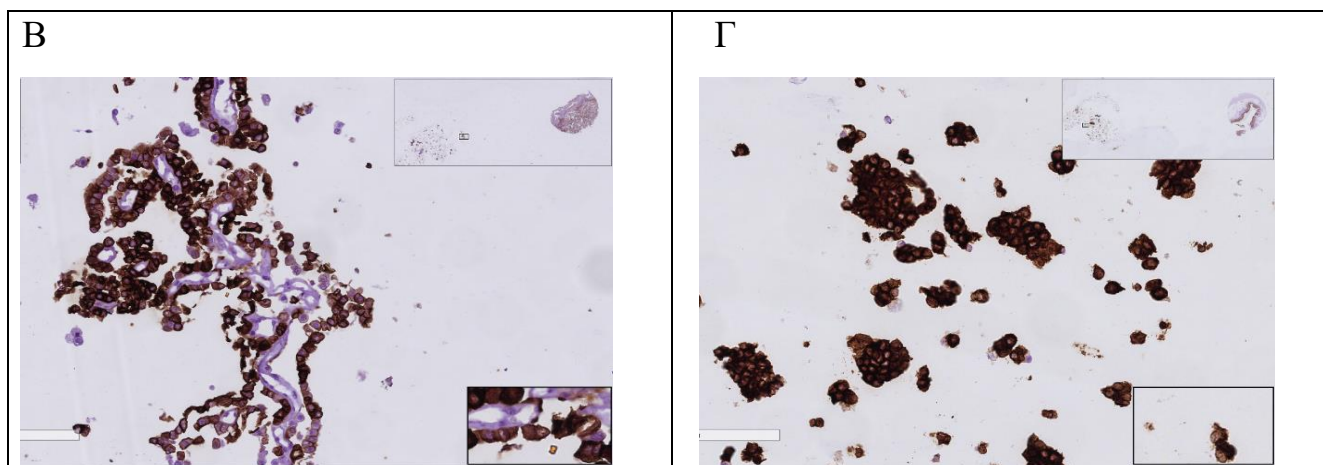


Рисунок 43 - Ацинарно-клеточная карцинома, мелкозернистая вакуолизированная цитоплазма (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; б - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; в - материал клеточного блока, Окр. CK7x10,0; г - материал клеточного блока, Окр. CK8/18x10,0).

Метастатическая почечно-клеточная карцинома с вакуализированной цитоплазмой.

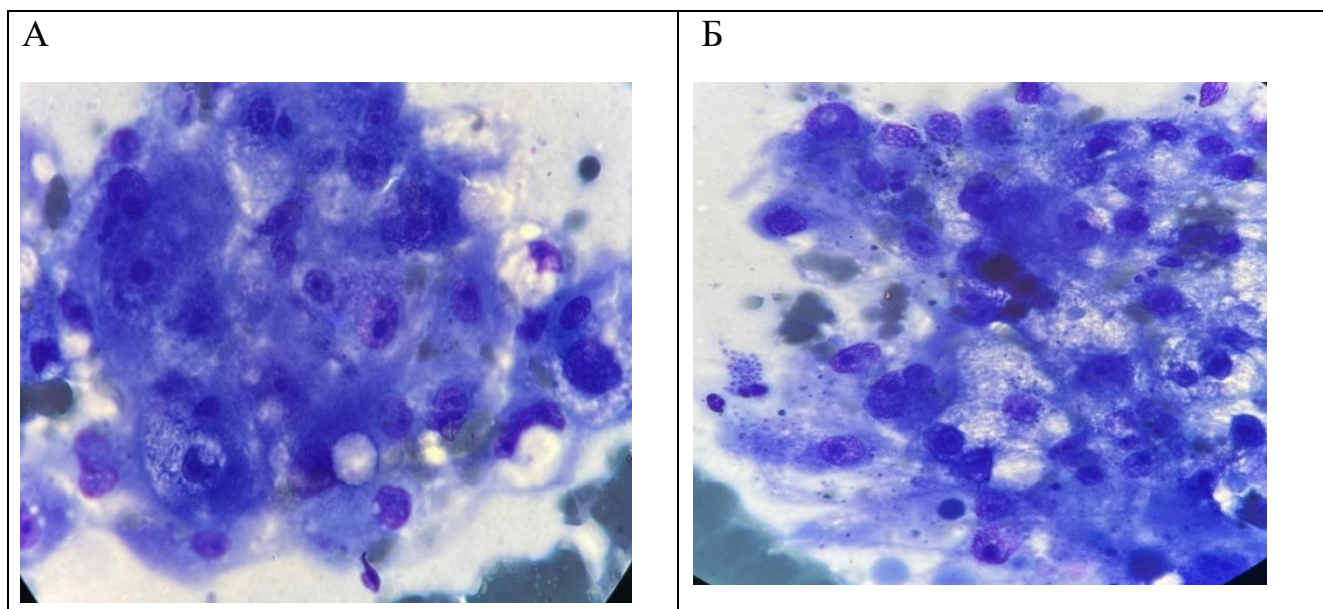


Рисунок 44 - Метастатическая почечно-клеточная карцинома (а,б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0).

Клинический пример

В нашей работе отмечен один случай метастатической почечно-клеточной карцинома околоушной слюнной железы у мужчины 72 лет, но не было

гистологической верификации на резецированном материале СЖ, т.к. по результатам цитологического и иммуноцитохимического исследований больному изменили тактику ведения и отменили хирургическое лечение. У пациента в анамнезе почечно-клеточная карцинома. С помощью иммуноцитохимического исследования выявлен положительный результат на PAX8. В сочетании с характерной цитоморфологической картиной, клиническими и анамнестическими данными и результатами ИЦХ было сделано заключение о почечно-канальцевом происхождении опухоли.

Нами предложен алгоритм дифференцированной диагностики онкоцитарных опухолей с заметными очаговыми ядерными особенностями (Рисунок 45). Дифференциальный ряд состоял из карциномы слюнного протока, мукоэпидермоидной карциномы, онкоцитарной карциномы и эпителиально-миоэпителиальной карциномы.

Карцинома слюнного протока (8500/3) с ядерной атипией.

В нашем исследовании материала ТИАБ 636 случаев карцинома слюнного протока встретились в 11 случаях (Таблица 10). В 10 случаях материал был оценен по Миланской классификации как злокачественные опухоли (CVI) и в одном случае, как подозрительная на злокачественную опухоль (CV).

Цитограмма карциномы слюнного протока (8500/3) с ядерной атипией была представлена скоплениями из крупных полиморфных многоугольных клеток с хорошо выраженной цитоплазмой, полиморфными ядрами, заметными ядрышками и петлистым хроматином, с выраженной атипией (рис. 46 а, б).

В выборке из 131 случая на материале клеточного блока ИЦХ была проведена в одном случае злокачественной опухоли с неопределенным гистогенезом и результаты ИЦХ исследования совпали с гистологическим диагнозом (Таблица 16,17,18) (Рис. 46 в,г,д,е). В карциноме слюнного протока в опухолевых клетках отмечалась ядерная экспрессия AR, цитоплазматическая экспрессия CK5/6, CK14, Actin muscles Specific (гетерогенная яркая и мелкогранулярная реакция в миоэпителиальных клетках протоков).

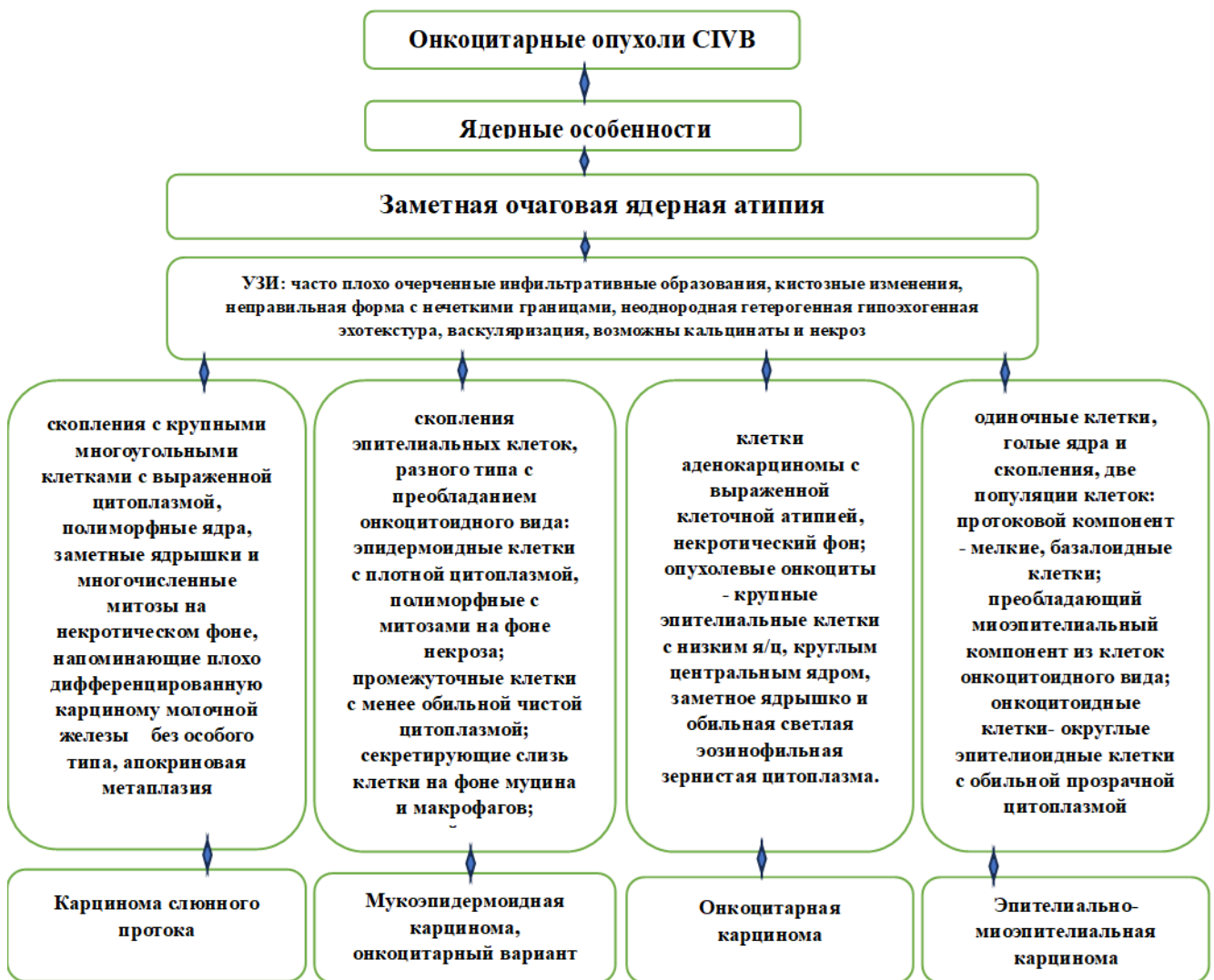


Рисунок 45 - Алгоритм дифференциальной диагностики онкоцитарных опухолей с ядерной атипией.

В опухолевых клетках отсутствовала экспрессия с антителами к Vimentin, PR, CD117 c-kit (Таблица 26,27). Экспрессия AR опухолевыми клетками КСП указывала на апокриновый иммунофенотип. Наблюдалась диффузная и сильная экспрессия опухолевыми клетками КСП с HER2(ERBB2), CK7, в то время как S100 и SOX10 — не экспрессировались. Экспрессия с p63 помогла выявить внутрипротоковый компонент, выделяя базальные/мезэпителиальные клетки, окружающие опухолевые клетки.

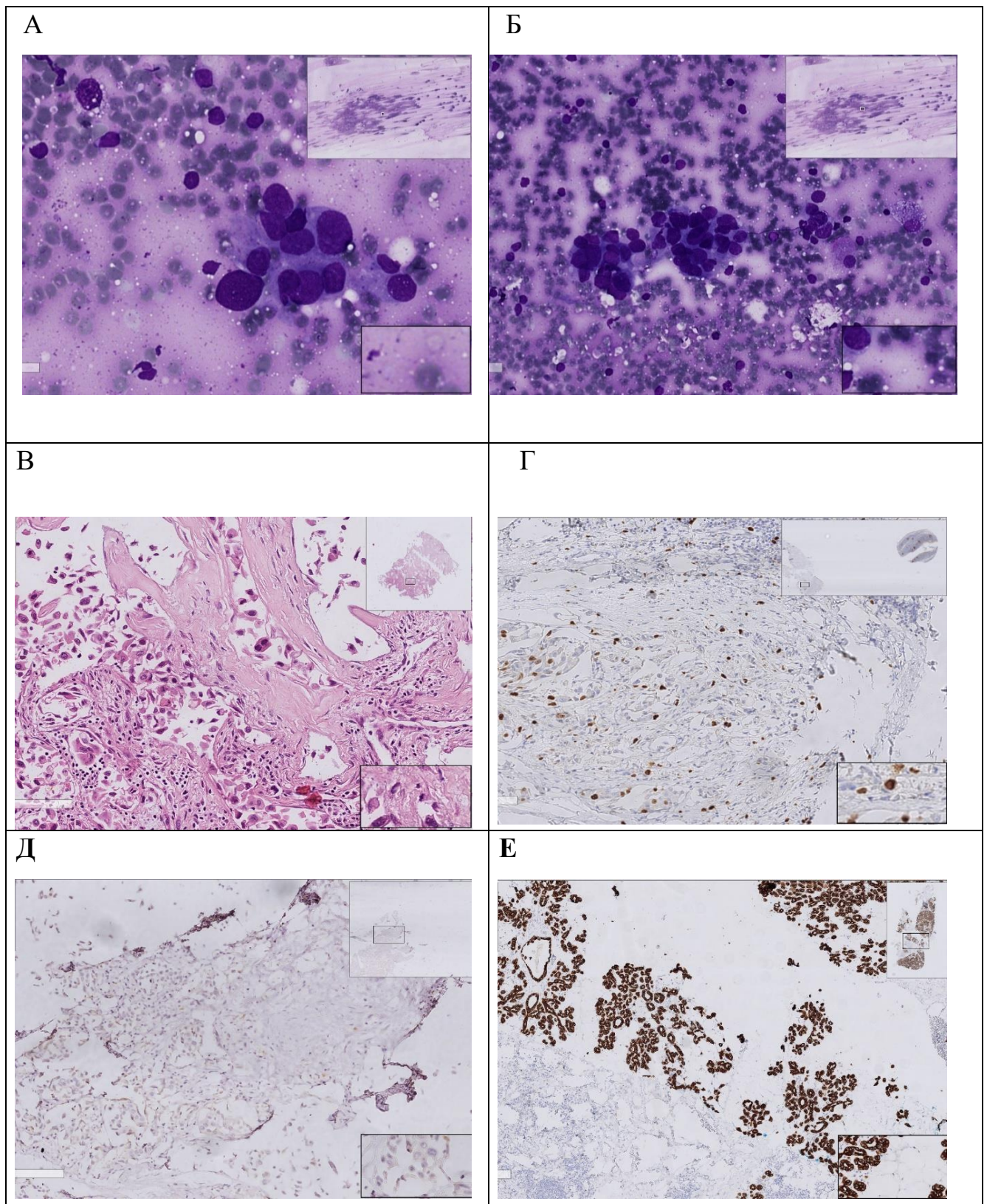


Рисунок 46 - Карцинома слюнного протока (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40,0; б - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; в - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; г- клеточный блок, Окр. Ki67x10,0; д - клеточный блок, Окр. CD117x10,0; е - клеточный блок, Окр. CK7Ax10,0)

На рисунке 46 а, б скопления из крупных полиморфных многоугольных клеток с хорошо выраженной цитоплазмой, полиморфных ядер, заметных ядрышек и петлистым хроматином, выраженной атипией. Для карцинома слюнного протока оптимизированная иммуноцитохимическая панель антител выглядит следующим образом: эпителиальный компонент - Androgen receptor (90%), GATA-3, GCDFP15, AE1/AE3, CK7; отрицательное окрашивание - p63/40, SOX10, CK 5-6.

Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант с ядерной атипией (8430/3)

Цитограмма мукоэпидермоидной карциномы (онкоцитарный вариант с ядерной атипией) была представлена полиморфными муцинозными и эпидермоидными клетками с атипией и митозами на муцинозном фоне с элементами некроза (рис.47 а, б).

В нашей работе на материале клеточного блока, исследовался один случай мукоэпидермоидной карциномы, отнесенной цитологически к онкоцитарной опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности (Таблица 16,17,18). Материал клеточного блока был признан не репрезентативным. Однако, при ИГХ исследовании была сформирована панель антител для дифференциальной диагностики с плоскоклеточной карциномой и карциномой слюнного протока: MUC2 (clone MUC2 Ventana), MUC6 (clone MUC6 Ventana) на мукоциты, p63 на промежуточные и эпидермоидные клетки, CK5/6 на эпидермоидные клетки. Опухолевые клетки МЭК не экспрессировали рецепторы андрогенов (AR) и HER2(ERBB2), что помогло в дифференциальной диагностике с протоковой карциномой слюнных желез (Таблица 26,27).

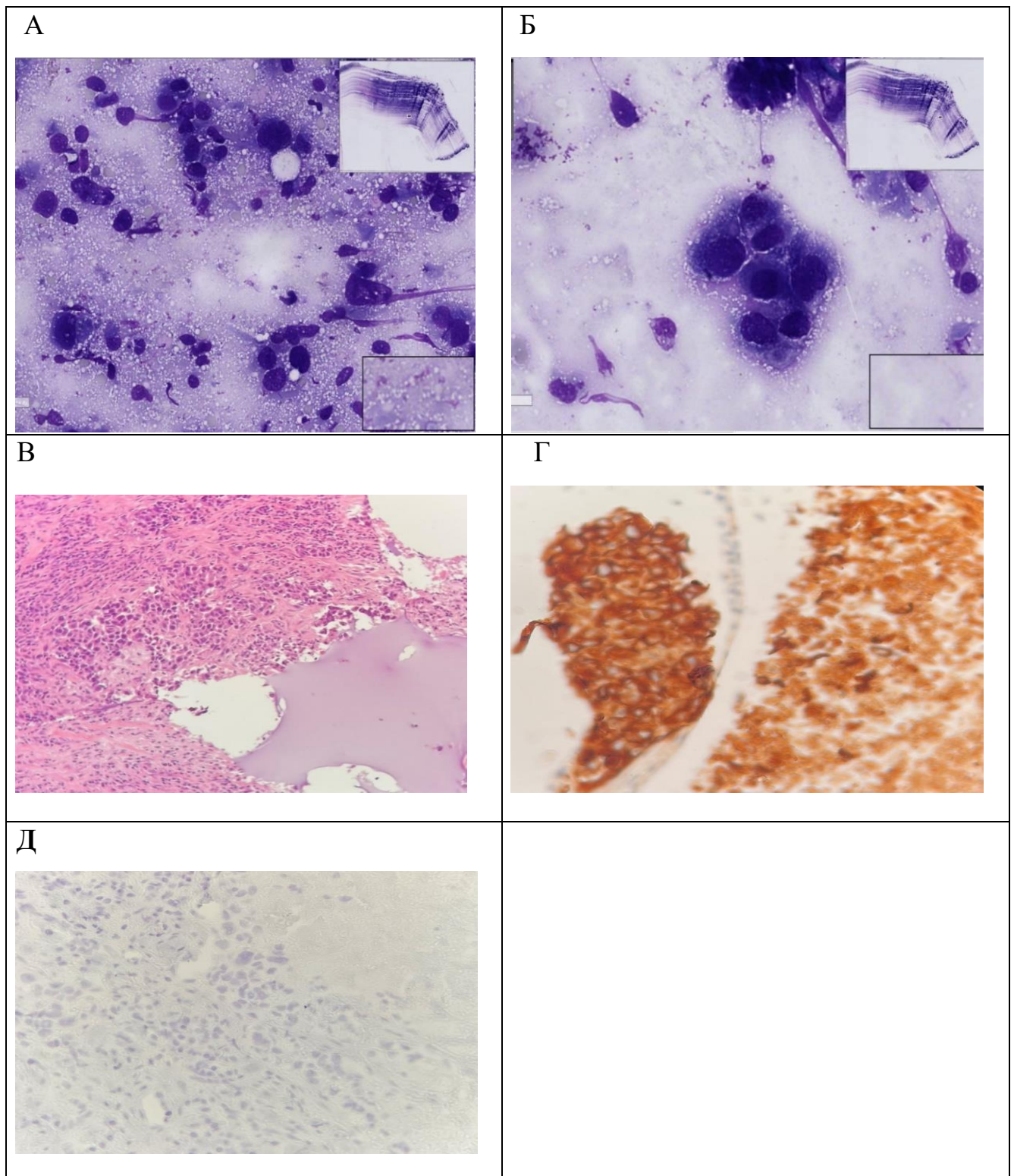


Рисунок 47 - Мукоэпидермоидная карцинома, онкоцитарный вариант (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40,0; б - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; клеточный блок, в - Окр. гематоксилин-эозином x10,0; клеточный блок, г - Окр. СКPan x10,0; клеточный блок, д - Окр. Androgen x10,0).

На рисунке 47 а, б представлена цитограмма мукоэпидермоидной карциномы (онкоцитарный вариант), демонстрирующая полиморфные муцинозные и

эпидермоидные клетки с атипией и митозами на муцинозном фоне с элементами некроза.

Эпителиально-миоэпителиальная карцинома (8562/3) с ядерной атипией

По ТИАБ 636 случаев 3 случая были диагностированы как эпителиально-миоэпителиальная карцинома CVI, один случай как подозрительный на ЭМК (CV) и один случай оценен как базалоидная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB) по Миланской классификации. В нашей рутинной работе встретился один случай эпителиально-миоэпителиальной карциномы с онкоцитарной морфологией и заметной атипией ядер, оцененный цитологически как эпителиально-миоэпителиальная карцинома CVI и подтвержденный гистологически (рис.48).

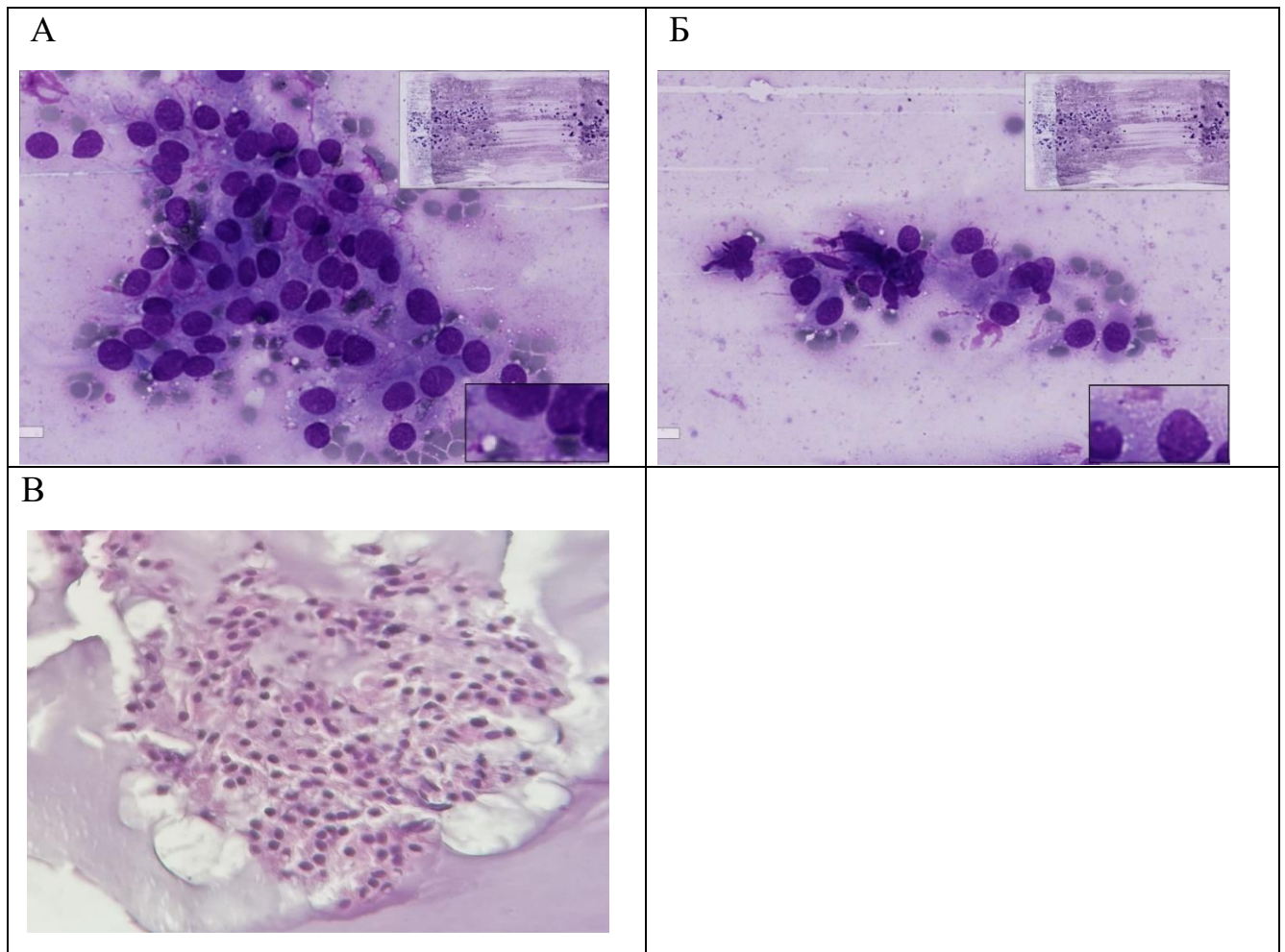


Рисунок 48 - Эпителиально-миоэпителиальная карцинома с онкоцитарной морфологией: полиморфные муцинозные и эпидермоидные клетки с атипией и митозами на муцинозном фоне с элементами некроза (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x40,0; клеточный блок, в - Окр. гематоксилин-эозином x10,0)

Цитограмма эпителиально-миоэпителиальной карциномы с онкоцитарной морфологией и заметной атипией ядер была представлена полиморфными округлыми эпителиоидными клетками с обильной прозрачной цитоплазмой и атипией, на фоне скудного фибриллярного матрикса (На рисунке 48 а, б, в). На рисунке 48 а, б полиморфные округлые эпителиоидные клетки с обильной прозрачной цитоплазмой и атипией, скудным фибриллярным матриксом.

Аденокарцинома, NOS (8140/3).

Среди материала 636 случаев, исследованного цитологически и гистологически аденокарцинома слюнной железы неуточнённая встретилаcь в 14 случаях. Во всех 14 случаях опухоли были цитологически диагностированы как злокачественные или подозрительные на злокачественные. Аденокарцинома слюнной железы неуточнённая представляла собой гетерогенный спектр карцином, формирующих эпителиальные, протоковые и/или железистые структуры, и являлась диагнозом исключения, в частности, других видов карцином слюнной железы. Средний возраст пациентов составлял 58 лет: у 8 больных опухоли определялись в ОУСЖ, у 6 больных в малых слюнных железах, расположенных в твёрдом нёбе, слизистой оболочке щёк и губах.

Применение иммуноцитохимии и иммуногистохимии помогло дифференциальной диагностике ацинарно-клеточной карциномы (опухолевые клетки экспрессировали NR4A3, DOG1), опухолей с миоэпителиальным/базальным клеточным составом (опухолевые клетки экспрессировали кальпонин, CK5/6, p63) и метастатической аденокарциномой (экспрессия маркеров, специфичных для конкретного органа) (Таблица 26,27).

В таблице 27 суммированы предложенные нами оптимизированные иммуноцитохимические панели для дифференциальной диагностики опухолей слюнных желез с неопределённым потенциалом злокачественности и онкоцитарной морфологией.

Таблица - 30 Иммунопрофиль онкоцитарных опухолей слюнной железы

Онкоцитарные опухоли	Эпителиальный компонент	Миоэпителиальный компонент	Отрицательное окрашивание	Индекс пролиферации ki-67
Опухоль Уортина	p63+, p40-, CK7		SOX10, sm-actin	
Мукоэпидермоидная карцинома	Мембраносвязанные муцины: MUC2, MUC6; эпидермоидные клетки: Pan-CK, CK5/6, CK7, p63, p40		SOX10, S100, AR	
Миоэпителиома, миоэпителиальная карцинома	CK5/6/14	p63/p40, calponin, SMA, S100, SOX10		Мyoep. adenoma <10%; myoep. carcinoma >10%
Онкоцитома, онкоцитарная карцинома	p63/p40 (экспрессия в базальных клетках), CK5/6, GATA-3;		SOX10, S100, DOG1	carcinoma >10%
Ацинарно-клеточная карцинома	DOG-1, SOX10, GCDFP15	негативные	p40/p63, mammaglobin, S100	>10%
Секреторная карцинома	CK7, S100, SOX10, vimentin, mammaglobin		p63, p40, NR4A3, DOG1	
Протоковая карцинома СЖ	Androgen receptor (90%), GATA-3, GCDFP15, AE1/AE3, CK7	p63		>25%
Внутрипрот. карцинома низкой степени злокачественности	AE1/AE3, CAM5.2, CK7, EMA	p63, p40, calponin, sm-actin- на клетках, окруж-х опух. гнезда	mammaglobin, S100	
Светлоклеточная карцинома	CK7, CK19, CK14, CAM5.2 и EMA		S100, MSA, SMA, calponin	

3.5. Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии опухолей с веретеночлеточными элементами.

Подкатегория новообразования слюнной железы неопределенного злокачественного потенциала с веретеночлеточными признаками включала как доброкачественные веретеночлеточные опухоли слюнных желез, так и дифференцируемые с ними злокачественные опухоли с веретеночлеточной морфологией, в том числе, с саркоматоидным компонентом. Из 114 случаев у 7 пациентов материал ТИАБ цитологически был расценен как веретеночлеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (категория CIVB (SUMP)) по МСЦСЖ (Таблица 20), что составило 6,1% (1,1% от 636 случаев). Анализ таблиц 16,17,18 показал, что среди веретеночлеточных опухолей гистологически верифицированы 51,1% доброкачественных опухолей, злокачественных опухолей верифицировано 28,6% и неопухолевых заболеваний – 14,3%. Веретеночлеточную морфологию продемонстрировали доброкачественные опухоли - миоэпителиома и шваннома и злокачественные опухоли - миоэпителиальная карцинома и карциносаркома. Заключение ИЦХ и гистологические диагнозы об миоэпителиоме и миоэпителиальной карциноме совпали. В одном случае материал клеточного блока веретеночлеточной опухоли (CIVB) оказался не диагностическим, при этом, гистологическое исследование выявило миксофибросаркому 8811/3. Материал клеточного блока, расцененный с помощью ИЦХ как доброкачественная опухоль миоэпителиома, на резецированном материале гистологически был определен как доброкачественная опухоль, но не миоэпителиома, а шваннома (Таблица 26,27, 16,17,18).

Нами предложен алгоритм дифференциальной диагностики опухолей с веретеночлеточной морфологией (рис. 49). Дифференциальный ряд состоял из шванномы, миоэпителиомы, миоэпителиальной карциномы и карциносаркомы.

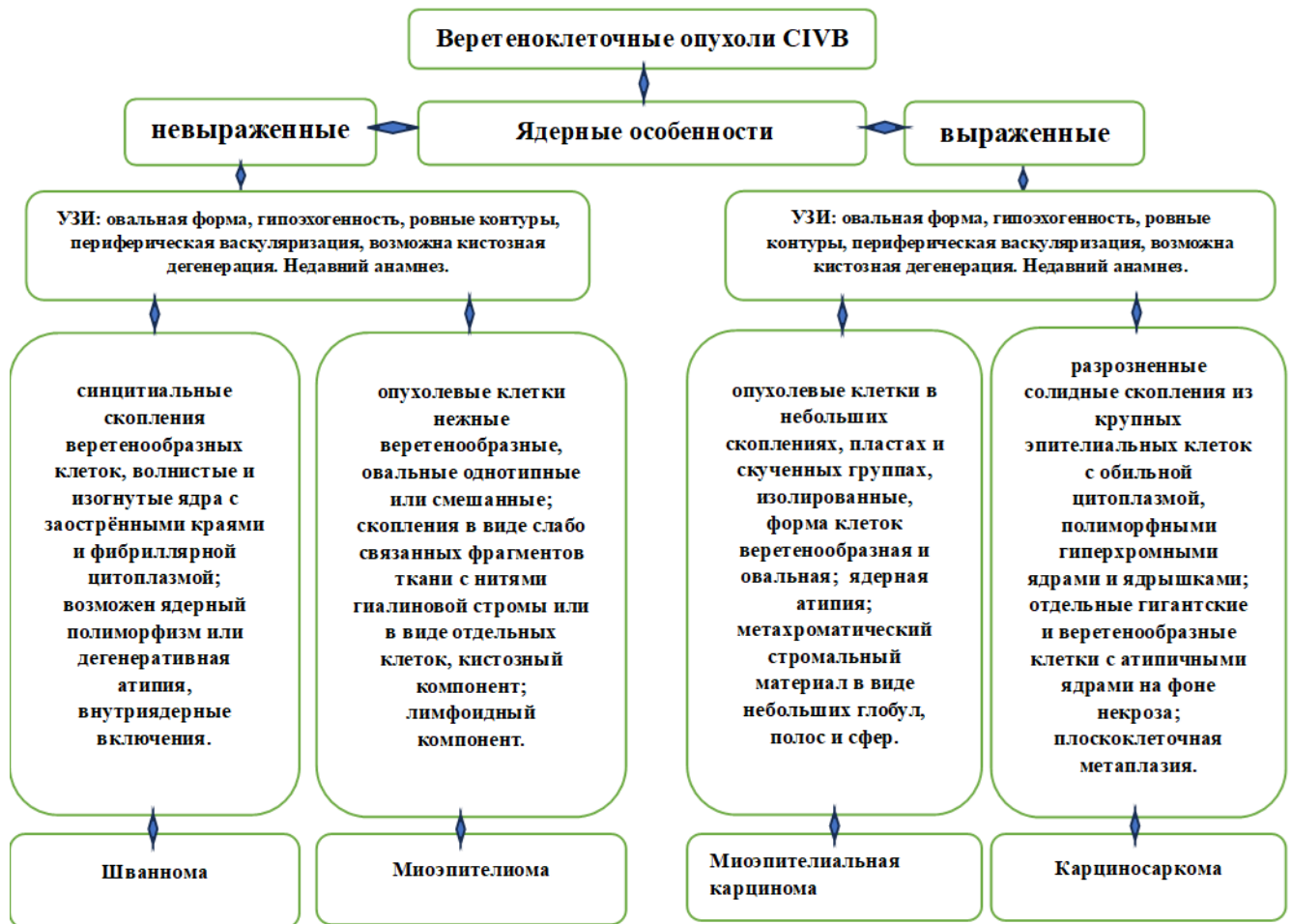


Рисунок 49 - Алгоритм дифференциальной диагностики веретенноклеточных опухолей

Шваннома (9560/0)

Из материала ТИАБ 636 случаев цитологически 2 шванномы были ошибочно диагностированы как злокачественные опухоли (CVI) и одна опухоль как веретенноклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (CIVB). Гистологическое исследование этих трех случаев подтвердило диагноз шваннома. Заболели две женщины 48 и 61 года и один мужчина 57 лет, у всех опухоль локализовалась в околоушной слюнной железе (Таблица 14,16,17,18).

Цитограмма шванномы была представлена синцитиальными скоплениями овальных, веретенообразных клеток, наблюдался ядерный полиморфизм, дегенеративная атипия, а также внутриядерные включения (ВЦВ) (рис.50 а,б). На рисунке 49в демонстрируется срез с клеточного блока. Шванномы было сложно

отличить от других новообразований из веретенообразных клеток только по цитологическому препарату, и для их диагностики требовалось сопоставление с результатами пункционной биопсии и иммуногистохимического исследования.

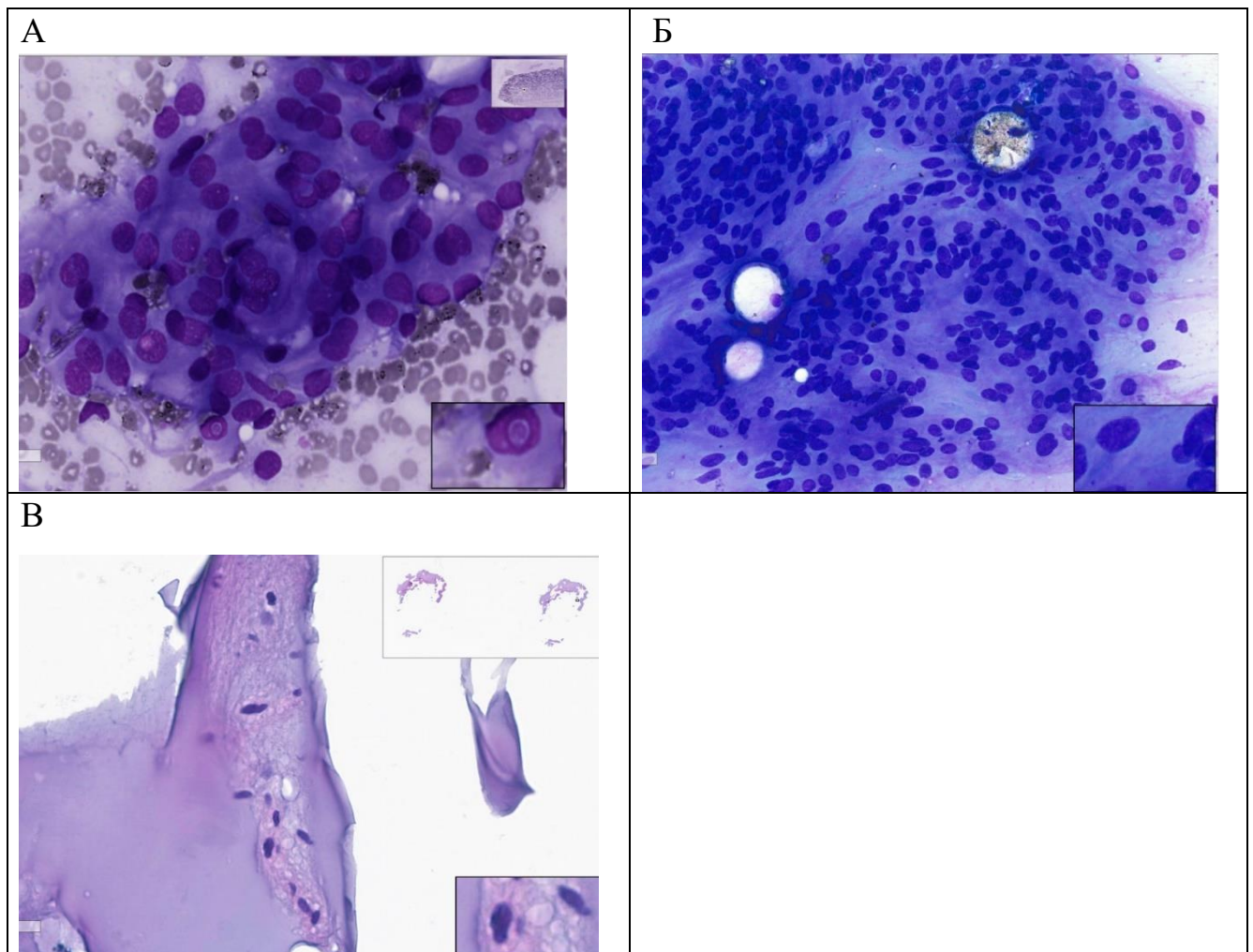


Рисунок 50 - Шваннома (а, б - цитологический препарат, Окр. по Лейшману х40,0). Клеточный блок (в - Окр. гематоксилин-эозином х10,0).

Клинический пример

Больной, 57 лет обратился с опухолью околоушной слюнной железы, рост которой отметил семь лет назад. По данным МРТ челюстно-лицевой области с контрастированием – МР-картина образования околоушной слюнной железы 1,5 на 2 сантиметра с четкими ровными контурами, вероятнее плеоморфная аденома. Цитологически опухоль демонстрировала смешанную эпителиоклеточную и веретенклеточную морфологию в синцитиальных скоплениях с миксоподобной стромой. На материале клеточного блока было проведено ИЦХ исследование с использованием моноклональных антител: actin smooth muscles, CD117 c-kit, CK14,

Desmin, ki67. В результате опухолевые клетки демонстрировали слабую цитоплазматическую экспрессию actin smooth muscles; не определялась экспрессия CD117, CK14, Desmin, c-kit; в ~1% опухолевых клеток определялась ядерная экспрессия ki67. Цитологическая картина и иммунофенотип были расценены как доброкачественная опухоль, вероятнее миоэпителиома. Гистологическое исследование резецированного материала соответствовало шванному. В описанном случае следовало добавить в диагностическую панель S100 и SOX10. Положительная ядерная и цитоплазматическая экспрессия опухолевыми клетками шванномы S100 наблюдалась во всех шванномах и подтипах, экспрессия SOX10 также была выражена в значительной степени (Таблица 26,27).

Миоэпителиома (8982/0)

Цитограмма миоэпителиомы представлена веретенообразными и эпителиоподобными клетками в слабо связанных скоплениях с нитями гиалиновой стромы (рис. 51a). Клеточный блок миоэпителиомы представлен на рисунке 50б. На ультразвуковом снимке 50в видны четкие границы опухоли и отсутствие инвазивного роста, что отличало МЭ от миоэпителиальной карциномы. ИЦХ исследование материала клеточных блоков опухолей с веретенноклеточной морфологией (CIVB) было проведено в четырех случаях, в трех случаях заключение ИЦХ и гистологический диагноз миоэпителиомы совпали, в одном случае заключение ИЦХ исследования предположило плеоморфную аденому с пролиферацией миоэпителиального компонента (Таблица 26,27,16,17,18). Были использованы в различных сочетаниях следующие антитела: S-100, Beta-Catenin, SMA, GCDFP-15, CD117 c-kit, CK5/6, CK7, Mammaglobin, Ki-67. Опухолевые клетки демонстрировали диффузную положительную экспрессию S-100, диффузно-очаговую экспрессией Beta-Catenin, SMA; не экспрессировали GCDFP-15, CD 117 c-kit, CK5/6, CK7, Mammaglobin. Индекс Ki-67 не превысил 2%.

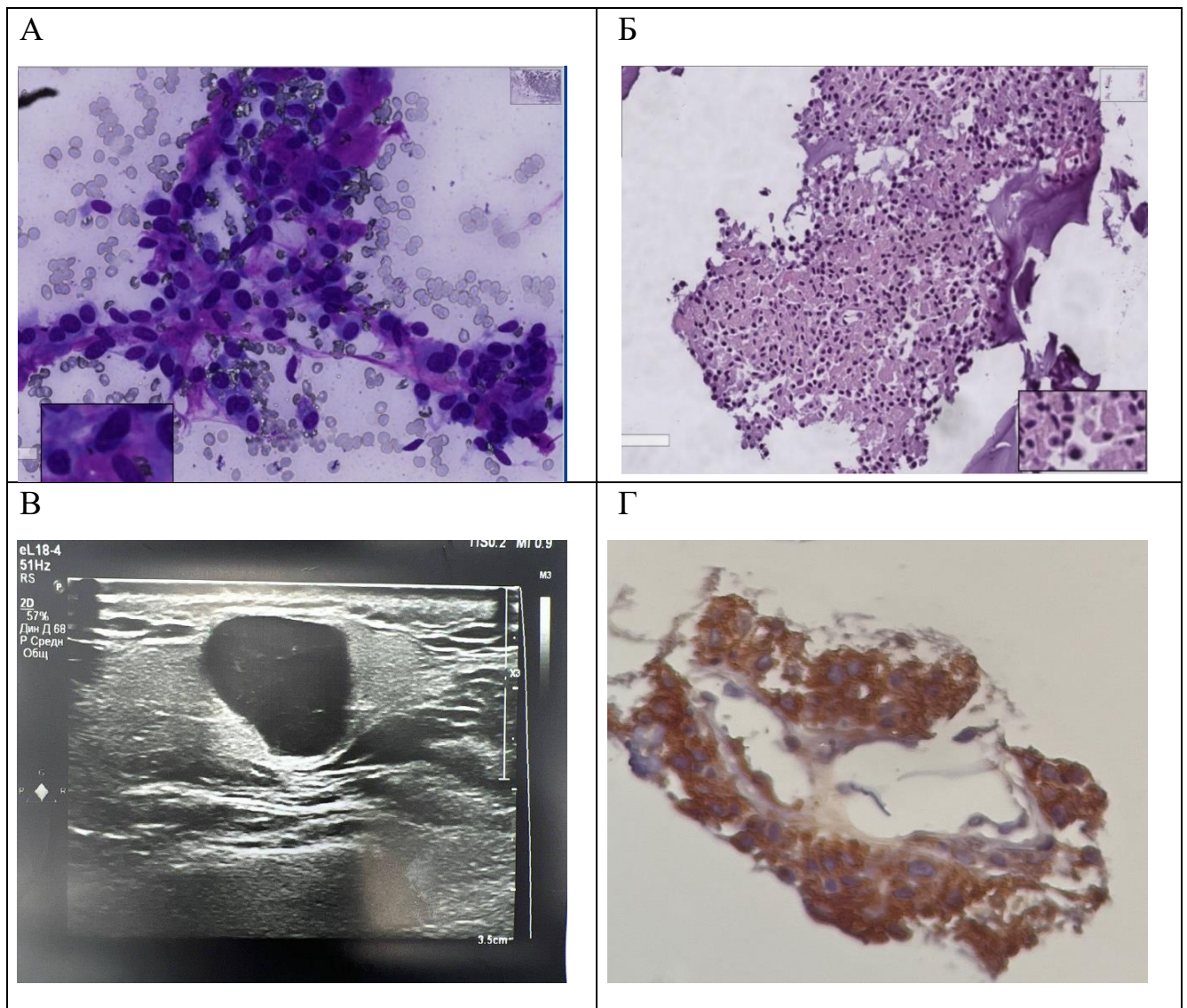


Рисунок 51– Миоэпителиома (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0). Клеточный блок (б - Окр. гематоксилин-эозином x10,0). Ультразвуковой снимок (в), Клеточный блок (г - Окр. S100 x10,0).

Миоэпителиальная карцинома (8982/3)

Цитограмма миоэпителиальной карциномы представлено слабо полиморфными веретенообразными и эпителиоподобными клетками миоэпителиальной карциномы в рыхлых скоплениях с нитями гиалиновой стромы (рис.52а). Клеточный блок представлен на рисунке 51 б.

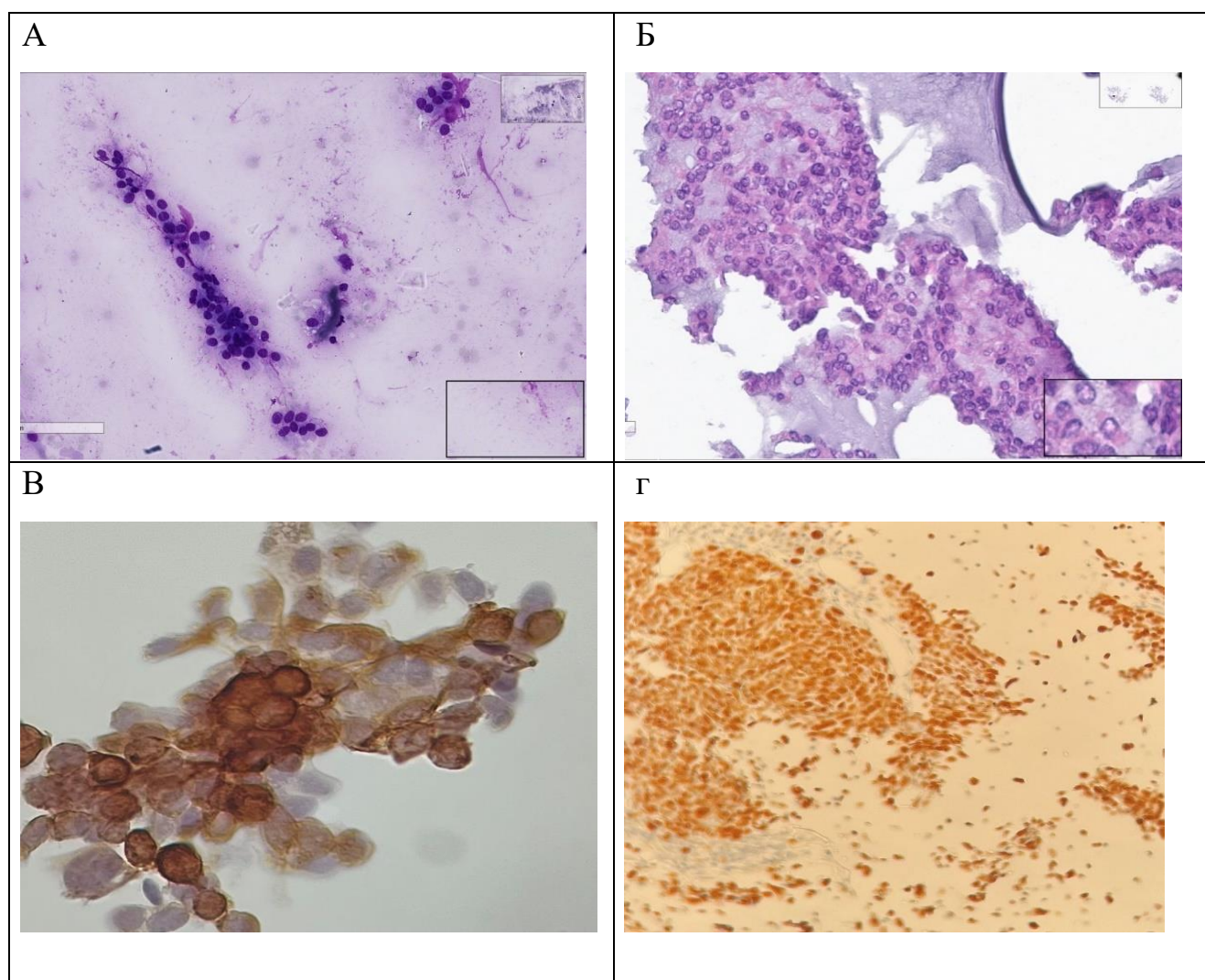


Рисунок 52 - Миоэпителиальная карцинома (а - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0). Клеточный блок (б - Окр. гематоксилин-эозином x10,0; в - Окр. S100 x20,0; г - Окр. Ki67 x10,0).

Клинический пример

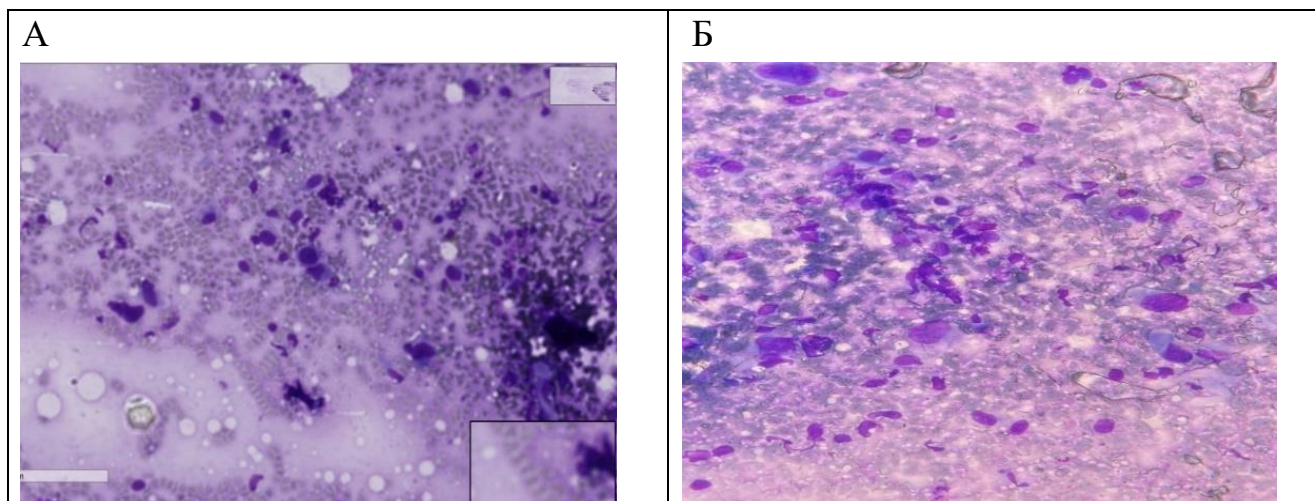
Больной 67 лет, в анамнезе безболезненная, постепенно увеличивающаяся в размерах опухоль в правой околоушной области, которую впервые обнаружил год назад. Выполнена тонкоигольная аспирационная биопсия опухоли слюнной железы. При цитологическом исследовании клеточная картина расценена как опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности и веретенноклеточной морфологией по Миланской классификации. Было выполнено ИЦХ исследование, где использовалась широкая панель антител, в том числе, для исключения

метастаза меланомы: S100, Myosin, Smooth Muscle, Melanosome, P40, CD56, Chromogranin A, ki67. В опухолевых клетках определялась диффузная экспрессия SMA, S100. Отсутствовала экспрессия Melan-A/MART-1, CD56, Chromogranin A, P40, Melanosome. Индекс пролиферативной активности Ki-67 ~ 96% (Таблица 26,27,16,17,18). Таким образом, окончательное заключение после ИЦХ исследования –миоэпителиальная карцинома. На резецированном материале гистологически подтверждена миоэпителиальная карцинома.

Миксофибросаркома/саркома (8980/3, 8811/3)

В нашей работе было шесть наблюдений с миксофибросаркомой/саркомой из 636 случаев с заболеваниями слюнных желез. В 4 случаях цитологически опухоли были верно отнесены к саркоме, в одном случае высказано подозрение на саркому и в 1 случае установлена веретеноклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности.

Цитограмма карциносаркомы/саркомы слюнной железы представлена полиморфными изолированными вытянутыми и овальными опухолевыми клетками с карциноматозным компонентом (рис.53).



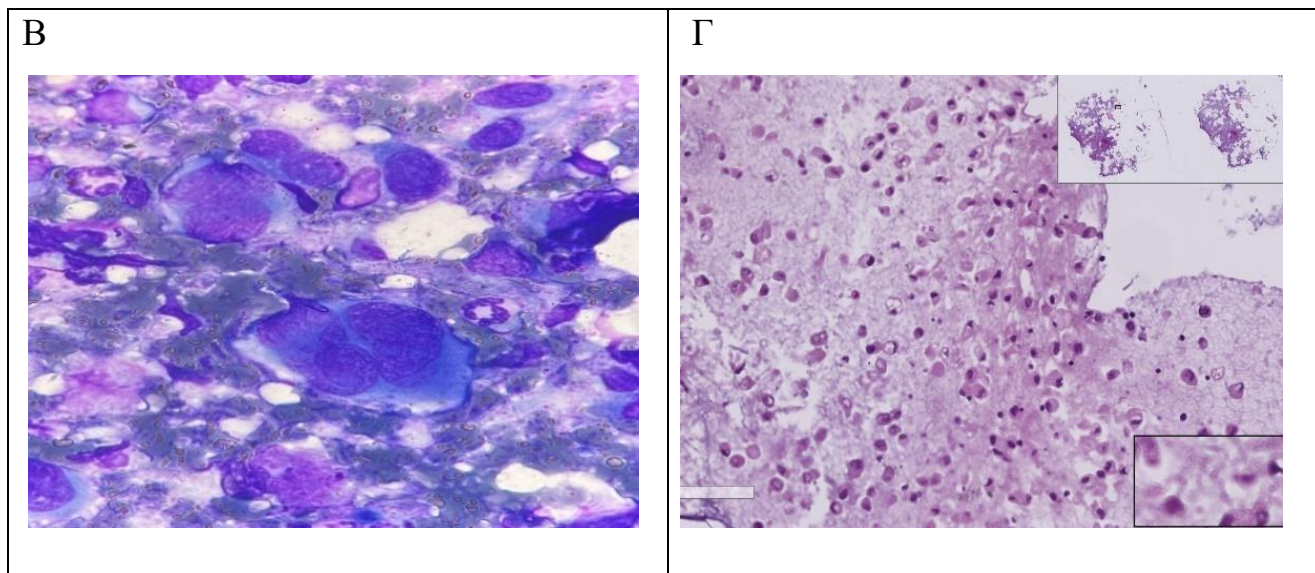


Рисунок 53 - Карциносаркома/саркома (а, б - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; в - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x40,0; г – клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0).

Клинический пример

Больная 85 лет, обратилась с опухолью околоушной слюнной железы. КТ ОГШ с контрастным усилением - в структуре левой околоушной слюнной железы образование до 28x18 мм, не исключено вовлечение жевательных мышц (на части срезов нет жировой прослойки). В анамнезе гормонопозитивный Her2 негативный рак молочной железы, состояние после хирургического лечения (радикальная мастэктомия слева), pT2N2aM0, стадия IIIA, состояние в процессе адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы, прогрессирование (июль 2020 года) метастазы в надключичные узлы слева. Проведена тонкоигольная аспирационная биопсия. Цитологически опухоль демонстрировала полиморфную веретенноклеточную морфологию, при этом, злокачественный характер опухоли был очевиден – CVI по МСЦСЖ. При ИЦХ исследовании использовались следующие антитела: Desmin, CK7, CD34, S100, Vimentin, p40, Her2, ER, PR. Однако, блок оказался мало клеточным и не пригодным для исследования (Таблица 26,27,16,17,18). Для верификации гистотипа опухоли выполнили иммуногистохимическое исследование на резецированном материале. ИГХ (ГКОБ

№ 1) - В объеме исследованного материала морфологическая и иммуногистохимическая картина наиболее соответствует миксофибросаркоме, high grade по системе FNCLCC.

3.6. Дифференциально-диагностические цитологические и иммуноцитохимические критерии опухолей со светлоклеточными элементами

Опухоли слюнной железы со светлоклеточной морфологией встречались редко и были представлены как доброкачественными, так и злокачественными новообразованиями с перекрывающимися цитоморфологическими признаками. Опухолевые клетки с прозрачной или вакуолизированной цитоплазмой являлись ключевым диагностическим признаком. Светлоклеточные новообразования представляли собой небольшую подгруппу категории SUMP и в основном являлись опухолями низкой степени злокачественности 2 (0,3% случаев из 636).

Нами разработаны цитологические критерии опухолей слюнных желез со светлоклеточной морфологией.

- В клеточном аспирате диагностировали опухоль, но характерные цитоморфологические признаки конкретной опухоли отсутствовали.
- Опухолевые клетки имели четкие клеточные признаки: прозрачная, пенистая, зернистая или вакуолизированная цитоплазма, или любая их комбинация, но признаки не характерны для истинных светлоклеточных опухолей.
- Присутствовал ядерный полиморфизм — от слабого до умеренного.
- Отмечалось отсутствие признаков злокачественности высокой степени (например, некроз, выраженная ядерная атипия, митотическая активность).

Нами разработан алгоритм дифференциальной диагностики опухолей со светлоклеточной морфологией (рис. 54). Дифференциальный ряд состоял из секреторной карциномы, ацинарноклеточной карциномы, мукоэпидермоидной карциномы, меланомы и метастатических опухолей.

Из 114 случаев у 2 пациентов материал ТИАБ был расценен как светлоклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности

(категория CIVB (SUMP) по МСЦСЖ), что составило 1,8% от общего числа пациентов с опухолями слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности. Светлоклеточные опухоли оказались самыми редкими – два наблюдения, из них одна опухоль гистологически определена как меланома и одна как гигантоклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности (Таблица 16,17,18).

Меланома (8000/6)

На рисунке 54 слабо полиморфные клетки опухоли с прозрачной и мелковакуализированной цитоплазмой. Клеточный блок представлен на рисунке 54г.

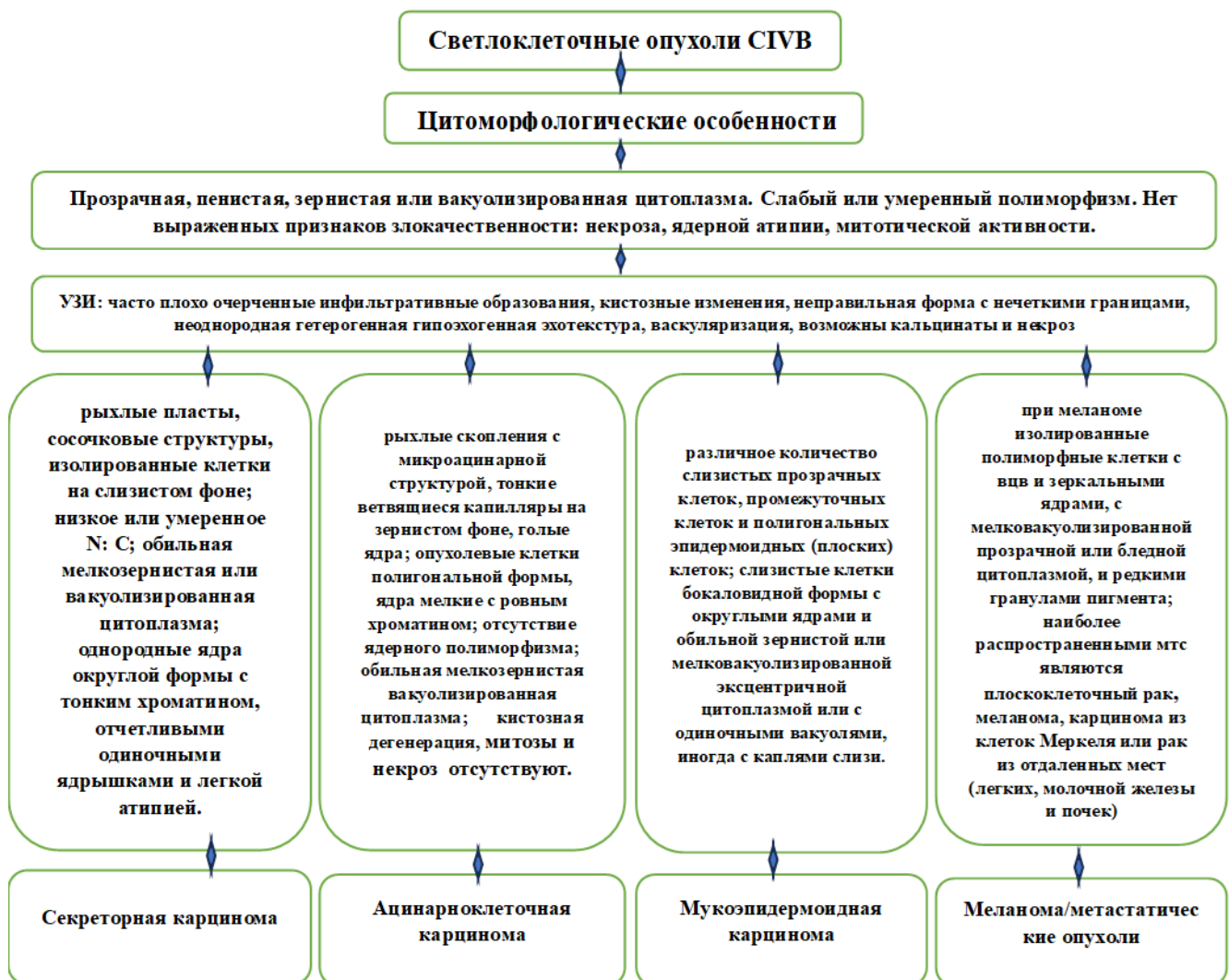


Рисунок 54 - Алгоритм дифференциальной диагностики светлоклеточных опухолей

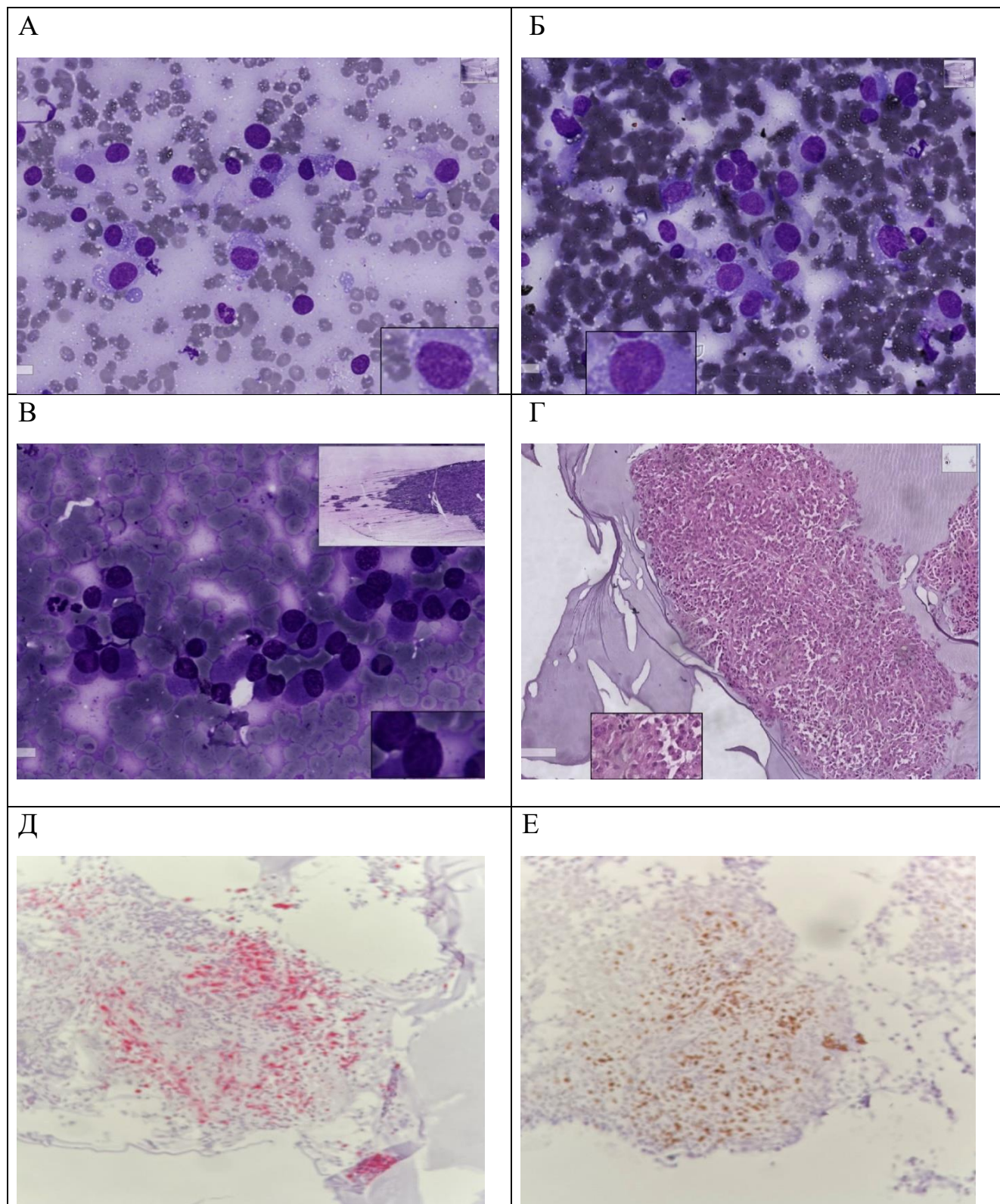


Рисунок 55 - Метастаз меланомы (а, б, в - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x20,0; г - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; д - клеточный блок, Окр. Melanosome x10,0; е - клеточный блок, Окр. Ki67 x10,0)

Клинический пример

Больной 60 лет обратился с опухолью в околоушной слюнной железе, которую заметил шесть месяцев назад. Клинически в области угла нижней челюсти пальпируется округлой формы, плотное образование до 2,5 см в диаметре, неподвижное, безболезненное. Проведена тонкоигольная аспирационная биопсия опухоли. Цитологическая картина расценена как светлоклеточная опухоль из злокачественных полиморфных опухолевых клеток с широкой нежной цитоплазмой. Было выполнено ИЦХ исследование, где использовалась широкая панель антител, actin smooth muscles, CD117 c-kit, EMA, CKPan, Melanosome, S100, CD3, CD20. Опухолевые клетки демонстрировали диффузную положительную цитоплазматическую экспрессию Melanosome, диффузную экспрессию S100; не определялась экспрессия CKPan, EMA, CD117 c-kit. (Таблица 26,27,16,17,18). Заключение - цитологическая картина и иммунофенотип вероятнее соответствуют меланоме.

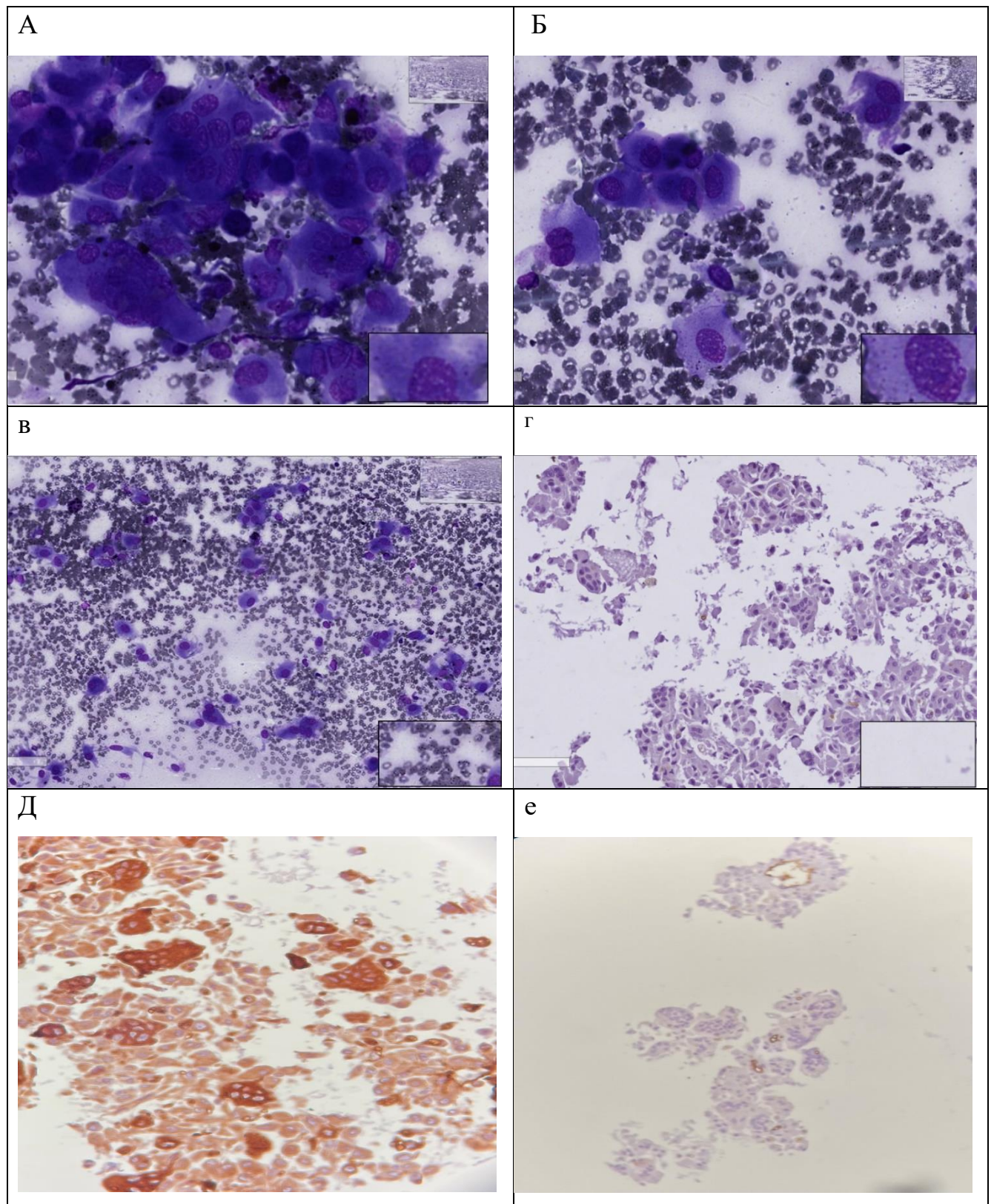
На момент ПЭТ/КТ исследования с 18F ФДГ отмечалось наличие патологической метаболически активной специфической ткани в объемном образовании по задней поверхности левой околоушной слюнной железы – неопластического генеза. Очаги гиперметаболизма РФП в ребрах с двух сторон – вероятно вторичного генеза. Очаговые образования с повышенной метаболической активностью РФП в паренхиме печени, очаги повышенного метаболизма РФП в печени без структурных изменений по КТ – вероятно метастазы. Консилиумом рекомендовано хирургическое лечение.

При иммуногистохимическом исследовании резецированного материала в опухолевых клетках определяется выраженная цитоплазматическая экспрессия Melanosome, диффузная экспрессия S100. Гистологический диагноз - морфологическая картина и иммунофенотип соответствуют метастазу беспигментной эпителиоклеточной меланомы.

Гигантоклеточная опухоль (9251/1)

Клинический пример

В августе 2023г. пациент 32 лет, обнаружил образование в проекции ОУСЖ слева, в течение двух месяцев активного роста не отмечал. УЗИ мягких тканей: у верхнего полюса левой околоушной железы визуализировалось гипоэхогенное образование с четкими и ровными контурами размерами 27* 16* 24мм с признаками внутреннего кровотока. МРТ мягких тканей шеи с к/у: в области верхнего полюса с распространением на околоушную область, образование с бугристыми контурами, размерами 20x26x28мм с неоднородной структурой. Заключение: образование мягких тканей левой височной области, вероятно, исходящее из левой ОУСЖ. Под контролем УЗИ выполнена пункция образования левой ОУСЖ. Цитологически клеточная картина расценена как светлоклеточная опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности и было выполнено ИЦХ исследование с использованием моноклональных антител: CD34, Melanosome, S100, EMA, CKPan, CD99, CD34, CD68, NSE, Neurofilament. Опухолевые клетки демонстрировали диффузную мембранно-цитоплазматическую экспрессию CD68, фокальную слабую мембранную экспрессию CD34, фокальную ядерно-цитоплазматическую экспрессию S100; не определялась экспрессия Melanosome, EMA, CKPan, CD99, NSE, Neurofilament. Заключение - цитологическая картина и иммунофенотип вероятнее соответствуют продуктивному воспалению с интенсивной гигантоклеточной реакцией. Гистологическое исследование: морфологическая картина наиболее соответствует гигантоклеточной. Гистологический диагноз - гигантоклеточная опухоль 9251/1. Цитограмма гигантоклеточной опухоли представлена умеренно полиморфными клетками опухоли с прозрачной обильной цитоплазмой (рис. 56 а, б, в). Клеточный блок гигантоклеточной опухоли и иммуноцитохимия с CD68 и CD34 продемонстрированы на рисунке 56 г, д, е, ж, з.



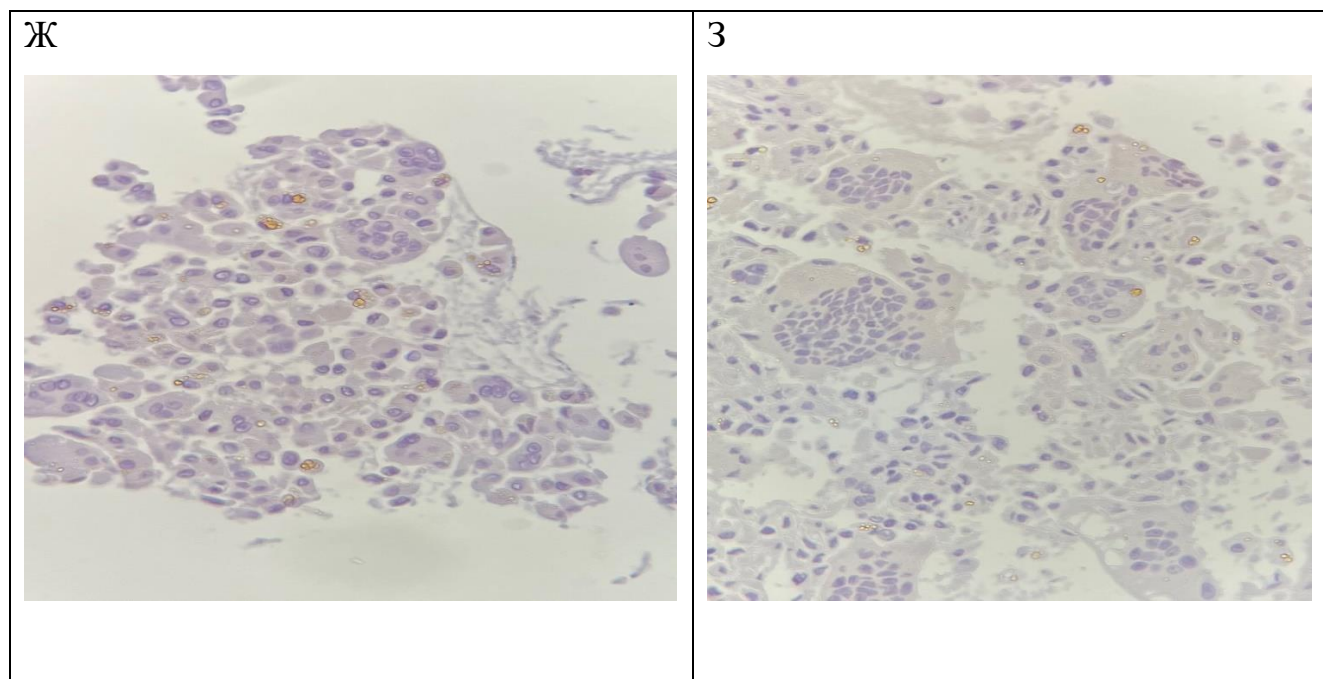


Рисунок 56 - Гигантоклеточная опухоль (а, б - цитологические препараты, Окр. по Лейшману x40,0; в - цитологический препарат, Окр. по Лейшману x20,0; г - клеточный блок, Окр. гематоксилин-эозином x10,0; д - клеточный блок, Окр. CD68 x10,0; е - клеточный блок, Окр. CD34 x10,0; ж - клеточный блок, Окр. СКРап x10,0; з - клеточный блок, Окр. ЕМА x10,0)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трудно переоценить значение цитоморфологической оценки материала тонкоигольной биопсии слюнных желез, которая, даже с ее диагностическими ограничениями, по-прежнему остается наиболее эффективной и малоинвазивной процедурой. Выполнение ТИАБ слюнных желез с последующим цитологическим исследованием показывает широкий спектр чувствительности и специфичности в зависимости от целого ряда факторов, включая: технический опыт врача ультразвуковой диагностики, выполняющего ТИАБ, качество цитологических препаратов, опыт оценивающего цитолога, морфологическую гетерогенность поражения и наличие кистозного компонента.

В нашем исследовании по результатам статистического анализа традиционного цитологического исследования пункционного материала 636 случаев в установлении наличия опухоли слюнных желез чувствительность составила 99,3%, специфичность - 63,3% и точность - 97,5%, при этом достаточно низкая специфичность свидетельствует о немалом количестве ложноположительных результатов в определении наличия опухоли ; в дифференциальной диагностике злокачественной опухоли слюнных желез от доброкачественных процессов чувствительность составила 99,3%, специфичность - 92,8% и точность - 94,7%, что подтвердило высокие диагностические результаты. В расчет не брались опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности и с атипией неясного значения. По результатам статистического анализа традиционного цитологического исследования пункционного материала 636 случаев в дифференциальной диагностике злокачественных опухолей и доброкачественных опухолей слюнных желез чувствительность составила 99,3%, специфичность - 94,0% и точность - 95,7%, что также подтвердило высокие диагностические результаты. В расчет не брались опухоли с неопределенным потенциалом злокачественности, с атипией неясного значения и доброкачественными процессами. Результаты сопоставимы с данными литературы

и МСЦСЖ.

Также нами представлены данные частоты встречаемости каждой из категорий МСЦСЖ в % и риск малигнизации в каждой категории на основании гистологического исследования резецированного материала. Самый высокий процент встречаемости - 47,01% отмечен в категории CIVА - доброкачественные опухоли с риском малигнизации 0,33%, поскольку опухоли демонстрировали однозначную цитоморфологическую картину доброкачественности. Категория опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности CIVВ составила 17,9%, риск малигнизации – 20,18%. МСЦСЖ установила частоту встречаемости CIVВ не выше 10%, в нашем случае превышение этого процента свидетельствует о недостаточном опыте цитологов в диагностике опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности и актуальности создания дифференциально-диагностических цитоморфологических алгоритмов. Категория CV встретила в 6,29% случаев с риском малигнизации 67,5%, наконец категория CVI составила 20,6% с риском малигнизации 90,84%. Анализ встречаемости категорий по МСЦСЖ и рисков малигнизации показал, что цитологически было дано 72,5% однозначных заключений о доброкачественных и злокачественных опухолях в категориях CIVА, CV и CVI. В категории CIVВ, в 75,4% случаев гистологическое исследование резецированного материала подтвердило доброкачественные опухоли, среди которых 51,7% составили плеоморфные аденомы и в 9,5% опухоли Уортина; в 20,2% случаев, гистологически были подтверждены злокачественные опухоли (Таблица 13,14). Поскольку, категория CIVВ (опухоль с неопределенным потенциалом злокачественности) не удовлетворяла клиницистов при планировании объема оперативного лечения и требовала определенного цитологического заключения, нами были созданы цитоморфологические дифференциально-диагностические алгоритмы и предложены оптимизированные иммуноцитохимические панели для уточняющей диагностики на материале клеточных блоков.

Важно отметить, что опубликованный опыт работы с применением КБ и иммуноокрашиванием в догоспитальной диагностике ограничен коротким

периодом, так как МСЦСЖ была введена только в 2018 году. В зарубежной литературе описывают чувствительность 71-75,9%, специфичность 97,9% и точность 92,9% результатов иммуноцитохимического метода в соответствии с МСЦСЖ. При этом, результаты иммуноцитохимии следует интерпретировать с осторожностью и в контексте цитоморфологических особенностей, лучевых исследований и клинических данных, то есть используя «тройной» тест. Знание характера окрашивания каждого ИЦХ-маркера как в неопухолевых, так и в опухолевых тканях необходимо для обеспечения правильной интерпретации положительной или отрицательной экспрессии.

В нашем исследовании по результатам статистического анализа цитологического исследования и иммуноцитохимии на клеточных блоках 131 случая с неопределенными цитологическими заключениями в дифференциальной диагностике злокачественных опухолей слюнных желез и доброкачественных процессов, определены чувствительность - 83,9%, специфичность - 98,9% и точность 92,4% результатов цитологического и иммуноцитохимического метода; в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных опухолей слюнных желез, определены чувствительность - 83,9%, специфичность - 98,6% и точность - 94,2% результатов цитологического и иммуноцитохимического метода. По результатам статистического анализа цитологического исследования и иммуноцитохимии на клеточных блоках 114 случаев опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности в дифференциальной диагностике злокачественных опухолей слюнных желез и доброкачественных процессов, определены чувствительность - 68,8%, специфичность - 95,9% и точность - 78,1% результатов цитологического и иммуноцитохимического метода; в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных опухолей слюнных желез, определены чувствительность - 68,8%, специфичность - 98,6% и точность - 79,6% результатов цитологического и иммуноцитохимического метода. Результаты сопоставимы с данными литературы и МСЦСЖ.

Целью ИЦХ исследования материала клеточных блоков 131 случая было сокращение неопределенных цитологических заключений, в том числе и у 114

больных опухолями с неопределенным потенциалом злокачественности (категория С4В по МСЦСЖ).

Аспираты базалоидных новообразований представляли собой широкую и сложную морфологическую дифференциальную диагностику, для которой в нашей работе были разработаны дифференциально-диагностические алгоритмы (Рисунок 7,8,13,18,24,28). Иммуноцитохимия в соответствии с предложенными нами оптимизированными панелями, была полезна для сужения неопределенных цитологических заключений и позволяла поставить конкретный диагноз в ряде случаев.

В таблице 29 суммированы оптимизированные профили ИЦХ для отдельных базалоидных опухолей слюнной железы. Знание дифференциальных цитоморфологических и иммуноцитохимических признаков плеоморфной аденомы и аденокистозной карциномы, являлось важным, учитывая различия в протоколах лечения и прогнозе для каждой из этих опухолей. При этом дифференциальные цитоморфологические и иммуноцитохимические признаки между плеоморфной аденомой и опухолями с низкой степенью злокачественности (базальноклеточная аденокарцинома и эпителиально-миоэпителиальная карцинома) были менее актуальны, поскольку лечение этих опухолей в целом одинаково (хирургическое лечение, в большинстве случаев резекция без лимфодиссекции). Большинство опухолей с базалоидной морфологией являлись двухкомпонентными с соответствующей картиной экспрессии иммуногистохимических/иммуноцитохимических маркеров. Для демонстрации двухфазного окрашивания (смешанный рисунок протоковых/миоэпителиальных клеток) двухкомпонентных доброкачественных и злокачественных опухолей слюнных желез нами использовались эпителиальные просветные/протоковые маркеры СК, ЕМА, СЕА и, для подтверждения миоэпителиальной дифференцировки, применялись следующие маркеры: р63, р40, СК5/6, GFAP, SOX-10, S-100, СМА и кальпонин. При дифференциальной диагностике базалоидных опухолей нами оптимизирована следующая иммуноцитохимическая панель, состоящая из MYB, CD117 (с-KIT), PLAG1, HMGA2, β -катенина и LEF-1.

Отрицательная экспрессия некоторых маркеров также давала дополнительную информацию для дифференциальной диагностики, например, SOX10 отрицателен в светлоклеточной карциноме, плоскоклеточной карциноме, карциноме слюнного протока, онкоцитарных опухолях и мукоэпидермоидной карциноме. В нашем исследовании PLAG1 был отрицателен в аденокистозной карциноме, мукоэпидермоидной карциноме и ацинарноклеточной карциноме и положителен в плеоморфной аденоме, миоэпителиоме, полиморфной аденокарциноме, карциноме из плеоморфной аденомы, миоэпителиальной карциноме и эпителиально-миоэпителиальной карциноме. В большинстве случаев опухолевые клетки аденокистозной карциномы демонстрировали положительную экспрессию CD117 (с-KIT) и MYB в ядрах базальных/миоэпителиальных клеток. Иммуногистохимические/иммуноцитохимические фенотипы ВСА и ВСАdc были относительно схожи и только на гистологическом исследовании при наличии или отсутствии инвазии мы смогли определить с какой опухолью мы встретились.

Аспираты онкоцитарных/онкоцитоподобных опухолей слюнных желез также имели широкую дифференциальную диагностику, для которой в нашей работе были разработаны дифференциально - диагностические алгоритмы (Рисунок 33, 34, 39, 42, 45). ИЦХ исследование было полезно для снижения количества неопределенных цитологических заключений и позволило поставить конкретный диагноз в ряде случаев. В таблице 30 суммированы оптимизированные панели ИЦХ для отдельных онкоцитарных опухолей слюнной железы. Нами было установлено, что ограниченной ИЦХ панели, состоящей из DOG-1, SOX10 и p63, было достаточно для дифференциальной диагностики ацинарноклеточной карциномы и опухоли Уортина, мукоэпидермоидной карциномы и онкоцитомы (оксифильной аденомы).

Дифференциальная цитологическая диагностика опухоли Уортина включала ацинарноклеточную карциному, мукоэпидермоидную карциному высокой степени злокачественности и плоскоклеточную карциному. С помощью иммуноцитохимии с маркерами CK5/6, p63 и p40 нами было выделено подмножество базальных клеток, тогда как CK7 и CK19 экспрессировали столбчатые онкоцитарные клетки,

гистологически ориентированные в просвет. Опухолевые клетки при ОУ не экспрессировали SOX10, что отличало их от большинства ацинарноклеточных карцином и секреторных карцином.

В онкоцитомах отмечалось положительная экспрессия опухолевыми клетками p63 и отсутствовала экспрессия DOG1, которая определялась как цитоплазматическая или мембранная положительная реакция в большинстве случаев ацинарноклеточных карцином. Онкоцитомы всегда были S100 - отрицательны, в отличие от секреторных карцином. Маркер SOX10 был положителен как в ацинарноклеточных карциномах, так и в секреторных карциномах, а онкоцитомы всегда были отрицательны по этому маркеру. К сожалению, окончательный диагноз онкоцитомы невозможно было определить только с помощью цитологии, так как онкоцитарная карцинома цитологически также характеризовалась наличием онкоцитов и таким образом, окончательный диагноз был установлен только на основании гистологического исследования.

Различные популяции клеток МЭК нами выделялись разными иммуноцитохимическими маркерами. Промежуточные и эпидермоидные клетки экспрессировали p63. CK5/6 окрашивали эпидермоидные клетки. С помощью муцикармина определялись редкие мукоциты в сложных случаях. Опухолевые клетки при МЭК не экспрессировали рецепторы андрогенов (AR) и HER2, что помогало в дифференциальной диагностике с протоковой карциномой слюнных желез. Ацинарноклеточные карциномы не экспрессировали p63, что помогало отличать их от множества других опухолей (мукоэпидермоидной карциномы, опухоли Уортина, онкоцитомы/онкоцитарной карциномы и миоэпителиальных новообразований). Ацинарноклеточные карциномы экспрессировали SOX10 и не экспрессировали миоэпителиальные маркеры, включая S100, DOG1 и маммоглобин.

Опухолевые клетки при протоковой карциноме слюнной железы экспрессировала рецепторы андрогенов (AR). В большинстве случаев протоковой карциномы слюнной железы экспрессировался общий жидкий белок при кистозной болезни-15 (GCDFP-15). В протоковой карциноме слюнной железы отмечалась

отрицательная экспрессия p63 и SOX10, что позволяло дифференцировать протоковую карциному слюнной железы от некоторых других онкоцитарных опухолей слюнной железы. Отсутствие экспрессии p63 также позволяло нам отличить протоковую карциному слюнной железы от метастатического плоскоклеточного рака.

Созданные нами алгоритмы дифференциальной диагностики опухолей с преимущественной веретенноклеточной и светлоклеточной морфологией представлены на рисунках 49, 54 соответственно. Как правило, это были доброкачественные, злокачественные и метастатические опухоли слюнных желез в которых преобладала популяция веретенообразных клеток или популяция светлых клеток при различных подтипах опухолей. Демонстрировали различные подтипы плеоморфная аденома, МЭК, миоэпителиома, миоэпителиальная карцинома, секреторная карцинома, ацинарноклеточная карцинома, карцинома слюнных протоков, меланома, шваннома, низкодифференцированная плоскоклеточная карцинома, вторичные карциномы из отдаленных локализаций. Ограниченная панель иммунных окрасок была полезна для отличия первичного злокачественного новообразования слюнной железы от метастаза (Таблица 29,30). Маркеры AR, GATA-3 и p63/p40/CK5–6 помогали отличить карциному слюнных протоков от ее цитоморфологических имитаторов, особенно метастатической неороговевающей плоскоклеточной карциномы. Карцинома слюнных протоков была положительна по AR и GATA-3, но отрицательна по p63/p40/CK5–6 (Таблица 29,30). Таким образом, опухоли, лишенные классических цитоморфологических признаков конкретной опухоли, нами классифицировались цитологически как опухоли слюнной железы неопределенного злокачественного потенциала (SUMP) с соответствующей преобладающей морфологией. В дальнейшем нами была продолжена диагностика на догоспитальном этапе с помощью иммуноцитохимического исследования на клеточных блоках. Но, несмотря на применение всех методов исследования, в том числе и вспомогательных до лечения, на цитологическом материале не всегда удается дать точное заключение неопухолевого, доброкачественного, либо злокачественного новообразования и

пришлось оставлять заключение: опухоль слюнной железы неопределенного злокачественного потенциала (SUMP) с соответствующей преобладающей морфологией.

Таким образом, анализ цитологического и гистологического материала 636 случаев и анализ цитологического, гистологического и иммуноцитохимического материала 131 случая с неопределенными цитологическими заключениями (114 случаев опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности из 131) показал целесообразность использования этих методов в сочетании с предложенными нами цитоморфологическими дифференциально-диагностическими алгоритмами и оптимизированными иммуноцитохимическими панелями. Результаты проведенной работы подтверждают, что иммуноцитохимические исследования на материале клеточных блоков в части опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности дают возможность максимально приблизить цитологическую диагностику к "золотому стандарту" - гистологическому исследованию, позволяют сократить сроки обследования и предоставить клиницистам наиболее полную цитоморфологическую информацию на догоспитальном этапе для планирования объема и характера лечения. Соответственно, эта новая история «цитогистологии» требует от практикующих цитологов более пристального знакомства с гистопатологией. Также следует отметить, что сложности диагностики опухолей слюнной железы на догоспитальном этапе требуют усилий мультидисциплинарной команды – онколога, цитолога, врачей лучевой диагностики и обязательного цитогистологического сопоставления на резецированном материале. Учитывая важность цитологической диагностики опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности необходимо дальнейшее изучение возможностей иммуноцитохимии в плане использования новых, более специфичных маркеров, а также изучение и внедрение молекулярно-генетических исследований на материале клеточных блоков.

ВЫВОДЫ

1. Цитоморфологический и статистический анализ пунктатов опухолей слюнных желез и последующее сопоставление с гистологическим исследованием на резецированном материале позволили подтвердить высокую диагностическую значимость цитологического исследования, категоризованного по МСЦСЖ на догоспитальном этапе, однако, в части опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности требуются дополнительные методы исследования. Таких опухолей может быть диагностировано от 10 до 17%.

2. Цитоморфологический и статистический анализ иммуноцитохимии на материале клеточных блоков для опухолей с неопределенными цитологическими заключениями и сопоставление с гистологическим исследованием на резецированном материале показали, что иммуноцитохимические исследования дают возможность максимально приблизить цитологическую диагностику к «золотому стандарту» - гистологическому исследованию, сократить сроки обследования и предоставить клиницистам наиболее полную цитоморфологическую информацию на догоспитальном этапе для планирования объема и характера лечения.

3. Для опухолей слюнных желез с базалоидной морфологией характерными являются особенности хондромиксоидного матрикса в части его обильности, скудности или отсутствия при наличии базалоидного эпителия, особенности стромы и невыраженные или умеренно выраженные ядерные особенности. Используя предложенные дифференциально-диагностические цитологические алгоритмы у 76 (12%) больных диагностированы опухоли слюнных желез с базалоидной морфологией.

4. Для опухолей слюнных желез с онкоцитарной/онкоцитоидной морфологией характерными являются особенности фона в части кистозной и муцинозной составляющих, особенности цитоплазмы в части вакуализации и ядерные особенности в виде очаговой ядерной атипии. Используя предложенные дифференциально-диагностические алгоритмы у 29 (4,6%) больных

диагностированы опухоли слюнных желез с онкоцитарной/онкоцитоидной морфологией.

5. Для опухолей слюнных желез с веретеночлечной морфологией характерными являются ядерные особенности разной степени выраженности и эпителиальный или не эпителиальный генез опухоли. Используя предложенные дифференциально-диагностические цитологические алгоритмы у 7 больных диагностированы опухоли слюнных желез с веретеночлечной морфологией. Определены иммуноцитохимические панели для опухолей слюнных желез с веретеночлечной морфологией, позволившие уменьшить на 5 случаев количество неопределенных цитологических заключений.

6. Основными дифференциально-диагностическими цитологическими критериями для опухолей слюнных желез со светлоклеточной морфологией характерными являются прозрачная, пенистая, зернистая или вакуолизированная цитоплазма, слабый или умеренный полиморфизм, отсутствие выраженных признаков злокачественности: некроза, ядерной атипичности, митотической активности. Используя предложенные дифференциально-диагностические цитологические алгоритмы у 2 больных диагностированы опухоли слюнных желез со светлоклеточной морфологией.

7. Определены иммуноцитохимические панели для опухолей слюнных желез с базалоидной морфологией, позволившие уменьшить на 61 (9,5%) случай количество неопределенных цитологических заключений, для опухолей слюнных желез с онкоцитарной/онкоцитоидной морфологией, позволившие уменьшить на 22 (3,5%) случая количество неопределенных цитологических заключений, для опухолей слюнных желез с веретеночлечной морфологией, позволившие уменьшить на 5 случаев количество неопределенных цитологических заключений и для опухолей слюнных желез со светлоклеточной морфологией, позволившие диагностировать все случаи неопределенных цитологических заключений.

8. По результатам статистического анализа цитологических и иммуноцитохимических исследований материала клеточных блоков опухолей слюнных желез с неопределенными потенциалом злокачественности

чувствительность составила 68,8%, специфичность составила 98,6%, достоверность/точность составила 79,6%. Иммуноцитохимическое исследование позволило снизить неопределенные цитологические заключения на 14%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам клинической лабораторной диагностики - цитологам рекомендуется:

- применять в цитологических заключениях по материалу тонкоигольной аспирационной биопсии слюнных желез Миланскую классификацию для стандартизации заключений и взаимопонимания с клиницистами;

- применять в цитологической диагностике опухолей слюнных желез с неопределенным потенциалом злокачественности, предложенные нами дифференциально-диагностические алгоритмы и оптимизированные иммуноцитохимические панели для материала клеточных блоков;

- работать в мультидисциплинарной команде, которая должна состоять из онколога и врача лучевой диагностики (УЗИ, МРТ, КТ) на догоспитальном этапе и патологоанатома для обязательного цито-гистологического сопоставления на резецированном материале;

- рассмотреть возможность включения врачей КЛД цитологов в состав центров патологоанатомической диагностики и молекулярной генетики по примеру ведущих онкологических клиник и научно-исследовательских институтов для большей эффективности работы и возможности выполнения дополнительных цитологических методов исследования на догоспитальном этапе.

Врачам онкологам рекомендуется:

- назначать иммуноцитохимическое исследование для материала ТИАБ, оцененного цитологически по Миланской классификации как опухоль слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности;

- назначать одновременно с цитологическим исследованием иммуноцитохимическое исследование для материала ТИАБ солидных и кистозно-солидных опухолей слюнных желез для сокращения времени на дополнительную диагностику и дальнейшей маршрутизации пациентов.

Руководителям образовательных организаций высшего медицинского образования целесообразно:

- рекомендовать результаты проведенного исследования для включения в программы циклов дополнительного профессионального образования (повышения квалификации, профессиональной переподготовки) для врачей клинической лабораторной диагностики.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ –Всемирная Организация Здравоохранения

ЖЦ – жидкостная цитология

ЗНО –злокачественные новообразования

ИГХ –иммуногистохимическое исследование

ИЦХ –иммуоцитохимическое исследование

КБ – клеточный блок

КТ – компьютерная томография

мкАТ –моноклональные антитела

МРТ –магнитно-резонансная томография

ПК – плоскоклеточная карцинома

ПКП –первичная карцинома печени

СК – цитокератины

ТИАБ –тонкоигольная аспирационная биопсия

УЗИ –ультразвуковое исследование

АСС Ацинарноклеточная карцинома

AdCC Аденокистозная карцинома

AUS (Atypia of Undetermined Significance) Атипия неопределенного значения

BCA Базальноклеточная аденома

AdCC Базальноклеточная карцинома

CA-ex-PA Карцинома из плеоморфной карциномы

CAMSG Крибриформная карцинома малых слюнных желез

ССС Светлоклеточная карцинома

ECD Экстракапсулярная диссекция

ЕМС Эпителиально-миоэпителиальная карцинома

FISH Флюоресцентная ин ситу гибридизация

FNA Тонкоигольная аспирационная биопсия

ИС Иммуногистохимия

IDC Интрадуктальная карцинома

МЕС Мукоэпидермоидная карцинома
МСЦСЖ Миланская система оценки цитопатологии слюнных желез
NPP Нервосберегающая паротидэктомия
РА Плеоморфная аденома
РАС Полиморфная аденокарцинома
ROM Риск малигнизации
ROSE (Rapid on-site evaluation) Срочная на месте оценка
SC Секреторная карцинома
SCC Плоскоклеточная карцинома
SDC Карцинома слюнного протока
SUMP (Salivary Gland Neoplasm of Uncertain Malignant Potential) Опухоль
слюнной железы с неопределенным потенциалом злокачественности
WT Опухоль Уортина

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Faquin, W. C. The Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology Second Edition / W. C. Faquin, E. D. Rossi, Z. Baloch [et al.] // American Society of Cytopathology. – 2023. – P.71-103. DOI 10.1007/978-3-031-26662-1
2. Lee, J. J. L. The Milan system for reporting salivary gland cytology: A retrospective analysis of 1384 cases in a tertiary Southeast Asian institution / J. J. L. Lee, H. M. Tan, D. Y. S. Chua [et al.]. // Cancer Cytopathology. – 2020. – № 5 (128). – P. 348–358. DOI 10.1002/cncy.22245
3. Aksoy Altinboga A. The effectiveness of the Milan system for risk stratification of salivary gland lesions: The 10-year cytohistopathological correlation results of salivary gland FNA cytology at a tertiary center/ Aksoy Altinboga A, Yildirim F, Ahsen H, Kiran MM [et al.] // Cytopathol. –2021 –49(8). – P. 928-937. DOI 10.1002/dc.24768
4. Mullen D. A retrospective comparison of salivary gland fine needle aspiration reporting with the Milan system for reporting salivary cytology/ Mullen D, Gibbons D. // Cytopathology. –2020–31(3). P.208-214. DOI 10.1111/cyt.12811
5. Gaikwad VP. Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology- An Experience from Western Indian Population/ Gaikwad VP, Anupriya C, Naik LP.J //Cytol. –2020–37(2). P. 93-98. DOI 10.4103/JOC.JOC_156_19
6. Wang Z. Application of the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: A systematic review and meta-analysis/ Wang Z, Zhao H, Guo H, An C. // Cancer Cytopathol. – 2022 –130(11). P. 849-859. DOI 10.1002/cncy.22604
7. Jalaly, J. B. The Milan system for reporting salivary gland cytopathology: a comprehensive review of the literature / J. B. Jalaly, S. J. Farahani, Z. W. Baloch // Diagn. Cytopathol. – 2020. – № 10 (48). – P. 880–889.
8. Rossi, E. D. The Milan system for reporting salivary gland cytopathology: the clinical impact so far. Considerations from theory to practice / E. D. Rossi, W. C. Faquin // Cytopathology. – 2020. – № 3 (31).
9. Rakesh Kumar. Fine-Needle Aspiration Cytology: A Reliable Tool in the

Diagnosis of Salivary Gland Lesions Indian/ Rakesh Kumar, Manit M Mandal [et al.]// Otolaryngol Head Neck Surg - 2022 -74(Suppl 3). P. 5511-5514. DOI 10.1007/s12070-021-02845-w.

10. Ndotori F. R. Concordance of fine needle aspiration cytology and final histology of salivary gland tumours / F R Ndotori 1, B S Jackson 2. // S Afr J Surg. -2023 -61(3). P. 35-38. PMID: 37791712

11. Rossi, E. D. Experience from the world: the accuracy of salivary gland fna and reliability of the Milan system for reporting salivary gland cytopathology in a large study from the Netherlands / E. D. Rossi, W. C. Faquin// Cancer. Cytopathol. – 2021.– № 9 (129). – P. 675–676. DOI 10.1002/cncy.22437

12. Nguyen KA. Milan system for reporting salivary gland cytology in diagnosis and surgery of parotid gland lesions/ Nguyen KA, Giang CT.Am J.// Otolaryngol. – 2023– 44(6):103988. DOI 10.1016

13. Rossi, E. D. The Milan system for reporting salivary gland cytopathology: the clinical impact so far. Considerations from theory to practice / E. D. Rossi, W. C. Faquin // Cytopathology. – 2020. – № 3 (31).

14. Aksoy Altinboga A. Effectiveness Milan system for risk stratification of salivary gland lesions: The 10-year cytohistopathological correlation results of salivary gland FNA cytology at a tertiary center/Aksoy Altinboga A, Yildirim F, Ahsen H [et al.]. // Cytopathol. -2021-49(8).P.928-937. DOI 0.1002/dc.24768

15. Esther Diana Rossi MD. Second edition of the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: Refining the role of salivary gland FNA/ Esther Diana Rossi MD, Zubair Baloch MD [et al.]. // Cancer Cytopathology -2023- P. 10-21. DOI 10.1002/cncy.22753

16. Grégoire B Morand. Application of the Milan system for reporting salivary gland cytopathology using cell blocks / Grégoire B Morand 1, Raihanah Alsayegh 1, Alex M Mlynarek [et al.]. // Virchows Arch.- 2022 - 481(4). P.575-583. DOI 10.1007/s00428-022-03364-x.

17. Behaeghe M. The Milan system for reporting salivary gland cytopathology: Single center experience with cell blocks/ Behaeghe M, Vander Poorten V, Hermans R

[et al.]. // Cytopathol.- 2020 -48(11). P. 972-978. DOI 10.1002/dc.24515

18. "Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность)" Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой, И.В. Лисичниковой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. – илл. – 275 с. ISBN 978-5-85502-290-2.

19. Auclair PL. Salivary gland neoplasms: general considerations/ Auclair PL, Ellis GL, Gnepp DR [et al.]// Surgical Pathology of the Salivary Glands. Philadelphia: WB Saunders, 1991.

20. Pinkston JA, Cole P. Incidence rates of salivary gland tumors: results from a population-based study. Otolaryngol Head Neck Surg 1999;

21. Sun EC, Curtis R, Melbye M, et al. Salivary gland cancer in the United States. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;

22. Mifsud M. Evolving trends in head and neck cancer epidemiology: Ontario, Canada 1993-2010/ Mifsud M, Eskander A, Irish J [et al.]. // Head Neck. -2017 -39(9). P.1770-1778. DOI 10.1002/hed.24829

23. Rees LAG, Hankey BF, Miller BA, et al. Cancer statistics review 1973–88. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 1991.

24. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available.

25. WHO Classification of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press, 2022.

26. Pires FR. Intra-oral minor salivary gland tumors: a clinicopathological study of 546 cases/ Pires FR, Pringle GA, de Almeida OP [et al.]// Oral Oncol 2007.

27. Pires FR. Differences on clinicopathological profile from intraoral minor salivary gland tumors around the world/ Pires FR, de Almeida OP, Pringle G [et al.]// Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008.

28. Auclair PL. Salivary gland neoplasms: general considerations/ Ellis GL, Auclair PL, Gnepp DR [et al.]// Surgical Pathology of the Salivary Glands. Philadelphia: WB Saunders, 1991.

29. Bray F. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence

and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries/ Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J. [et al.]. // *CA Cancer J Clin.* - 2024-74(3). P.229-263. DOI 10.3322/caac.21834

30. Kushwaha M. Differentiation of various salivary gland tumours using diffusion-weighted MRI and dynamic contrast-enhanced MRI/ Kushwaha M, Kumar J, Garg A [et al.]. // *Radiol.* - 2023 -14;88. P.e203-e215. DOI 10.5114/pjr.2023.127058

31. Abdalla-Aslan R. Standardization of terminology, imaging features, and interpretation of CBCT sialography of major salivary glands: a clinical review/ Abdalla-Aslan R, Keshet N [et al.]. // *Quintessence Int.* - 2021- 20;52(8). P. 728-740. DOI 10.3290/j.qi.b1492217

32. Friedman E. Imaging of Major Salivary Gland Lesions and Disease/
Friedman E, Cai Y, Chen B. // *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* - 2023 - 35(3) P. 435-449. DOI 10.1016/j.coms.2023.02.007

33. Zouhair N. Correlation between magnetic resonance imaging and extemporaneous and definitive histological examination of parotid tumors: a case series/ Zouhair N, Mallouk S, Oukessou Y [et al.]. // *Pan Afr Med J.* – 2020 – 22. P. 37:80. DOI 10.11604/pamj.2020.37.80.21192

34. Huellner MW. PET/MR in Head and Neck Cancer - An Update/ Huellner MW. // *Semin Nucl Med.* -2021-51(1). P. 26-38. DOI 10.1053/j.semnuclmed.2020.07.006

35. Varoquaux A. Diagnostic imaging of salivary gland cancers: REFCOR recommendations by the formal consensus method /Varoquaux A, Fakhry N, Baujat B [et al.]. // *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* - 2024 -141(1). P. 27-31. DOI 10.1016/j.anorl.2023.11.007

36. Garg K. Sonographic and Cytological Evaluation of Salivary Gland Tumors/ Garg K, Kapila S, Gulati A. [et al.]. // *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* -2023 - 75(4). P. 3427-3431. DOI 10.1007/s12070-023-04020-9

37. Johnson F. Sonography of Salivary Gland Tumors and Disorders/
Johnson F, Bozzato A, Mansour N [et al.]. // *Ultraschall Med.* – 2025. Online ahead of print. DOI 10.1055/a-2481-7248

38. Aksoy Altinboga A. The effectiveness of the Milan system for risk stratification of salivary gland lesions: The 10-year cytohistopathological correlation

results of salivary gland FNA cytology at a tertiary center/ Aksoy Altinboga A, Yildirim F, Ahsen H [et al.]. // Diagn Cytopathol. -2021 -49(8). P. 928-937. DOI 10.1002/dc.24768

39. Honings J. Prioritizing parotid gland surgery: A call for the implementation of the MSRSGC classification.Reerds STH/ Honings J, van Engen ACH, Marres HAM [et al.]. // Cancer Cytopathol. -2023 -131(11). P. 701-707. DOI 10.1002/cncy.22747

40. Chirmade J. Utility of the Milan system for reporting salivary gland cytopathology: A retrospective 5 years study/ Chirmade J, Kothari K, Naik L [et al.]. // Diagn Cytopathol. -2021 -49(4). P. 500-508. DOI 10.1002/dc.24697

41. Gaikwad VP. Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology - An Experience from Western Indian Population/ Gaikwad VP, Anupriya C, Naik LP.J. // Cytol. -2020 - 37(2). P. 93-98. DOI 10.4103/JOC.JOC_156_19

42. Hamour AF. Clinical diagnostic utility of ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy in parotid masses/ Hamour AF, O'Connell D, Biron VL [et al.]. // Ear Nose Throat J – 2024 -103(6). P.340-344. DOI 10.1177/01455613211058922

43. Pellegrini M. Current Salivary Glands Biopsy Techniques: A Comprehensive Review/ Pellegrini M, Pulicari F, Zampetti P[et al.]. // Healthcare (Basel). -2022 -10(8). P. 1537. DOI 10.3390/healthcare10081537

44: Trivedi A. Employing immunohistochemical staining to labial minor salivary gland biopsies from patients with Sjogren's syndrome increases diagnostic certainty/ Trivedi A, Cornejo KM, O'Donnell P L [et al.]. // J Oral Pathol Med. – 2021-50(1).P 98-102. DOI 10.1111/jop.13119

45. Lee DY. Prediction of Malignancy Salivary Gland Tumors by a New Cytology Reporting System/ Lee DY, Song S, Yang SK. [et al.]. // Ear Nose Throat J. -2021-100(10). P. 432-437. DOI 10.1177/0145561320927912

46. Shahi AK. Assessment of Risk of Malignancy of Fine-needle Aspiration Cytology in Salivary Gland Lesions Using the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology Categorization: A Systematic Review and Meta-analysis/ Shahi AK, Sharma S, Singh B. [et al.]. // Contemp Dent Pract. – 2022 - 23(10). P. 1039-1056. DOI 10.5005/jp-journals-10024-3424

47. Rossi ED. Second edition of the Milan System for Reporting Salivary Gland

Cytopathology: Refining the role of salivary gland FNA/ Rossi ED, Baloch Z, Barkan G. [et al.]. // Am Soc Cytopathol.- 2024 -13(1). P. 67-77.

48. Saoud C. Atypia of undetermined significance in the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: Cystic versus non-cystic masses/ Saoud C, Wangsiricharoen S, Kahler J. [et al.]. – DOI 10.1002/dc.24913// Diagn Cytopathol. -2022 - 50(4). P. 154-161. DOI 10.1016/j.jasc.2023.08.004

49. Tas ZA. Effectiveness of Milan Classification in Salivary Gland Aspirations/ Tas ZA, Kulahci O.J. // Coll Physicians Surg Pak. -2022 -32(2). P. 166-170. DOI 10.29271/jcpsp.2022.02.166

50. Manucha V. Analysis of the risk of malignancy associated with the basaloid and oncocytic subtypes of the salivary gland neoplasm of unknown malignant potential (SUMP) category in the Milan system/ Manucha V, Gonzalez MF, Akhtar I.// Cancer Cytopathol. – 2021- 129(8). P. 603-611. DOI 10.1002/cncy.22427

51. Layfield LJ. Salivary gland neoplasms with basaloid features in the era of the Milan system for reporting salivary gland cytology: Classification and interobserver agreement/ Layfield LJ, Esebua M, Pantanowitz L, Maleki Z [et al.]. // Diagn Cytopathol. -2022 - 50(7). P. 341-349. DOI 10.1002/dc.24962

52. Arisi MF. How important are the cytomorphologic subtypes of the salivary gland neoplasm of uncertain malignant potential (SUMP) category in the Milan system for reporting salivary gland cytology? An institutional experience 2018-2024/ Arisi MF, Jin X, Ravish NA [et al.]. // Diagn Cytopathol. -2024 - 52(11). P. 662-670. DOI 10.1002/dc.25380

53. Cormier CM. Utility of the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytology, with focus on the incidence and histologic correlates of atypia of undetermined significance (AUS) and salivary gland neoplasm of uncertain malignant potential (SUMP): A 3-year institutional experience/ Cormier CM, Agarwal S.// Cancer Cytopathol. – 2022 - 130(4). P. 303-312. DOI 10.1002/cncy.22538

54. Hang JF. Multi-institutional validation of a modified scheme for subcategorizing salivary gland neoplasm of uncertain malignant potential (SUMP)/ Hang JF, Lee JLL, Nga ME. [et al.]. // Cancer Cytopathol. - 2022 -130(7). P. 511-522. DOI

10.1002/cncy.22593

55. Xia R. Salivary Gland Neoplasm of Uncertain Malignant Potential (SUMP) (Milan IVB) and Its Subgroups: A Multi-Institutional Analysis of Risk of Neoplasm and Malignancy/ Xia R, Hindi I, Savant D. [et al.]. // Diagn Cytopathol. - 2024 - 52(12). P. 756-762. DOI 10.1002/dc.25394

56. Santos L.R. Minor Salivary Gland Polymorphous Adenocarcinoma With Local Recurrence After Seven Years: A Case Report/ Santos L.R., Brito M.V. // Cureus. – 2023 - 15(6). P. e40112. DOI 10.7759/cureus.40112

57. Saito D. Ultrasonography for the differential diagnosis of pleomorphic adenomas and Warthin tumors in salivary glands/ Saito D, Shiga K, Katagiri K. [et al.]. // Laryngoscope Investig Otolaryngol. - 2021 -6(3). P. 425-431. DOI 10.1002/lio2.565

58. Wang, C. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of major salivary glands: CT and MR imaging findings / C. Wang, Q. Yu, S. Li [et al.] // Dento Maxillo Facial Radiol. – 2021. – № 7 (50). – P. 20200485. DOI 10.1259/dmfr.20200485

59. Asiry, S. Mucoepidermoid carcinoma / S. Asiry, R. A. Rao // Pathology Outlines. – 2021. – P. 53–775.

60. Rahman M. Salivary Duct Carcinoma: An Aggressive Salivary Gland Carcinoma with Morphologic Variants, Newly Identified Molecular Characteristics, and Emerging Treatment Modalities/ M. Rahman, C. C. Griffith. // Surg Pathol Clin. – 2021 Mar. – № 1 (14). – P. 111–126. DOI 10.1016/j.path.2020.09.010

61. Nakaguro M. Salivary duct carcinoma: Updates in histology, cytology, molecular biology, and treatment / M. Nakaguro, Y. Tada, W. C. Faquin [et al.]. // Cancer Cytopathol. – 2020 Oct. – № 10 (128). – P. 693–703. DOI: 10.1002/cncy.22288

62. Kelly, G. A. Secretory Carcinoma of the Salivary Gland: A Rarity in Children /G.A. Kelly, R. Venkatramani, N.M. Quintanilla [et al.]. // J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 2022 May 1. – № 4 (44). – P. 167–172. DOI 10.1097/MPH.0000000000002304

63. Shukla, S. Secretory Carcinoma of Salivary Glands: A Case Series and Review of Literature / S. Shukla, P. V. Rathod, S. Pandya [et al.].// Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2023 Sep. – № 3 (75). – P. 2645–2649. DOI 10.1007/s12070-023-03560-4

64. Kaur, R. Epithelial myoepithelial carcinoma: A case report / R. Kaur, W.

Melgandi, A. K. Rathi [et al.]. // J. Cancer Res Ther. – 2024 - 21(1). P. 182-185. DOI 10.4103/jcrt.jcrt_2721_22

65. Carvalho Kimura T. Clinicopathological profile of sclerosing polycystic adenoma/adenosis: A systematic review/ de Carvalho Kimura T, de Lima-Souza RA, Scarini JF. [et al.]. // Head Neck. - 2023 -Sep;45(9). P.2449-2457. DOI 10.1002/hed.27435

66. Malik V. Papillary cystadenoma of the major salivary gland: A case report and review of literature/ Malik V, Dixit M, Sharma S. [et al.]. // Pathol Res Pract. – 2023 - Nov;251:154884. DOI 10.1016/j.prp.2023.154884

67. Singh J. Oncocytoma of the parotid gland: A rare benign tumour/ Singh J, Chandra A, Srilatha T. [et al.]. // Oral Maxillofac Pathol. - 2023 -Feb;27(Suppl 1):S41-S44. DOI 10.4103/jomfp.jomfp_437_21

68. Gökçe E. Multiparametric Magnetic Resonance Imaging for the Diagnosis and Differential Diagnosis of Parotid Gland Tumors/ Gökçe E. // J Magn Reson Imaging. - 2020- Jul;52(1). P.11-32. DOI 10.1002/jmri.27061

69. Basak K. Warthin-Like Mucoepidermoid Carcinoma: A Morphological Spectrum - A Report of 3 Cases with Histological and Cytological Findings and Review of the Literature/ Basak K, Mericoz CA, Firat P. // Acta Cytol. – 2022-66(3). P. 244-252. DOI 10.1159/000521134

70. Alena Skalova Clear Cell Neoplasms of Salivary Glands: A Diagnostic Challenge / Alena Skalova, Ilmo Leivo, Henrik Hellquist [et al.]. // Adv Anat Pathol. - 2022- Jul 1;29(4). P. 217-226. DOI 10.1097/PAP.0000000000000339

71. Alena Skálová Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Salivary Glands Head/ Alena Skálová, Martin D Hycza, Ilmo Leivo // Neck Pathol. – 2022 - 16(1). P. 40-53. DOI 10.1007/s12105-022-01420-1

72. Afrooz Arashloo Effectiveness of The Milan System for Reporting Salivary Gland Cytology: A 5-Year Retrospective Review/ Afrooz Arashloo, Hana Saffar, Maryam Lotfi. [et al.]. // Iran J Pathol.- 2025 - 20(1). P. 76-83. DOI 10.30699/ijp.2024.2021304.3249

73. Manucha V. Impact of the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytology on risk assessment when used in routine practice in a real-time setting/ Manucha V, Gonzalez MF, Akhtar I.//J Am Soc Cytopathol.- 2021- 10(2). P. 208-215. DOI 10.1016/j.jasc.2020.08.005

74. Johnson DN. Histopathologic and clinical outcomes of Milan System categories "non-diagnostic" and "non-neoplastic" of salivary gland fine needle aspirations/ Johnson DN, Antic T, Reeves W. [et al.]. // J Am Soc Cytopathol. -2021- - 10(4). P. 349-356. DOI 10.1016/j.jasc.2021.03.001

75. Karuna MSRSGC: A prospective study of heterogenous group atypia of undetermined significance / Karuna, Vir Vivek, Ravinder Singh. [et al.]. //Indian J Pathol Microbiol. - 2022 -65(3). P. 630-636. DOI 10.4103/ijpm.ijpm_676_21

76. Christopher M. Utility of the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytology, with focus on the incidence and histologic correlates of atypia of undetermined significance (AUS) and salivary gland neoplasm of uncertain malignant potential (SUMP): A 3-year institutional experience/ Christopher M Cormier, Shweta Agarwal. // Cancer Cytopathol. – 2022 -130(4). P. 303-312. DOI 10.1002/cncy.22538

77. Коцюрбий, Е. А. Практическое использование метода клеточных блоков для диагностики новообразований поджелудочной железы и опухолевых процессов других локализаций / Е. А. Коцюрбий, Я. Н. Тихонов, И. В. Назарова [и др.]. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2020. – № 4. – С. 90–92. DOI 10.34215/1609-1175-2020-4-90-92

78. Савостикова, М. В. Клеточные блоки на основе желатина: опыт применения в цитологической лаборатории / М. В. Савостикова, Е. С. Федосеева, Е. Ю. Фурминская, Н. А. Горбань // Онкопатология. – 2021. – № 4 (1–2). – С. 10–17.;

79. Волченко, Н. Н. Технология «Клеточный блок» в цитологической практике / Н. Н. Волченко, О. В. Борисова, И. Б. Баранова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 8. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/tehnologiya-kletochnyy-blok-v-tsitologicheskoy-praktike> (дата обращения: 04.03.2025). – Текст : электронный.

80. Tommola E. The Contributory Role of Cell Blocks in Salivary Gland Neoplasms Fine Needle Aspirations Classified by the Milan System for Reporting Salivary Gland Cytology / E. Tommola, D. Kalfert, H. Hakso-Mäkinen, I. Kholová. // *Diagnostics (Basel)*. – 2021– № 10 (11). – P. 1778. DOI 10.3390/diagnostics11101778.

81. Morand GB. Application of the Milan system for reporting salivary gland cytopathology using cell blocks/ Morand GB, Alsayegh R, Mlynarek AM. [et al.].// *Virchows Arch.* - 2022 - 481(4). P. 575-583. DOI 10.1007/s00428-022-03364-x

82. Behaeghe M. The Milan system for reporting salivary gland cytopathology: Single center experience with cell blocks/ Behaeghe M, Vander Poorten V, Hermans R. [et al.]. // *Diagn Cytopathol.*- 2020 - 48(11). P. 972-978. DOI 10.1002/dc.24515

83. Rossi ED. The Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: analysis and suggestions of initial survey/ Rossi ED, Faquin WC, Baloch Z[et al.].//*Cancer Cytopathol.* - 2017- 125(10). P. 757–66. DOI 10.1002/cncy.21898

84. Nakaguro M. Salivary duct carcinoma: Updates in histology, cytology, molecular biology, and treatment/ Nakaguro M, Tada Y, Faquin WC, Sadow PM. [et al.]. //*Cancer Cytopathol.*- 2020- 128(10). P. 693-703. DOI 10.1002/cncy.22288

85. Tommola E. Diagnostic accuracy of pleomorphic adenoma in fine needle aspiration: Features leading to false positive and false negative diagnoses and the utility of cell blocks/ Tommola E, Tommola S, Kholová I. // *Diagn Cytopathol.* - 2023 - 51(5). P. 283-293. DOI 10.1002/dc.25109

86. Kumar M. Application of the Milan System for Reporting Salivary Gland Lesions and Its Cytohistological Correlation for Risk Stratification: A Single-Institution Experience/ Kumar M, Dwivedi P, Maurya MK. [et al.].// *Cureus.* - 2023 - 15(10):e47383. DOI 10.7759/cureus.47383

87. Lozano MD. Quality Assurance in Immunocytochemistry: A Review and Practical Considerations/ Lozano MD, Robledano R, Argueta A.// *Acta Cytol.* 2025;69(1):60-68. doi: 10.1159/000540532. Epub 2024 Jul 24. PMID: 39047693. DOI 10.1159/000540532

88. Krogerus L. Cell block in cytological diagnostics: Review of preparatory techniques/ Krogerus L., Kholová I. // *Acta Cytol.* -2018 -62. P. 237–243. DOI

10.1159/000489769

89. Nambirajan A. Cell blocks in cytopathology: An update. / Nambirajan A., Jain D. // *Cytopathology* – 2018 - 29. P. 505–524. DOI 10.1111/cyt.12627

90. Shidham V.B. CellBlockistry: Chemistry and art of cell-block making—A detailed review of various historical options with recent advances/ Shidham V.B. // *CytoJournal*. – 2019 -16:12.

91. Hakso-Mäkinen H. New cell block method to enhance the cellular yield in mucous and/or bloody samples/ Hakso-Mäkinen H., Kholová I. // *Acta Cytol.* -2020 – 64. P. 265–269. DOI 10.1159/000501817

92. Melo G. Cell-block as ancillary tool for the diagnosis of cystic and cyst-like jaw lesions/ Melo G., Mello F.W., Mesquita R.A. [et al.]. // *Diagn. Cytopathol.* - 2020 - 48. P. 717–723. DOI 10.1002/dc.24400

93. Song S.J. The utility of the Milan System as a risk stratification tool for salivary gland fine needle aspiration cytology specimens/ Song S.J., Shafique K., Wong L.Q. [et al.]. // *Cytopathology*. – 2019 -30. P. 91–98. DOI 10.1111/cyt.12642

94. Point du Jour K. The role of ancillary techniques in salivary gland cytopathology specimens/ Point du Jour K., Griffith C.C. // *Acta Cytol.* – 2020 - 64. P. 92–102. DOI 10.1159/000497109

95. Srebotnik Kirbiš I. Immunocytochemistry practices in European cytopathology laboratories-Review of European Federation of Cytology Societies (EFCS) online survey results with best practice recommendations/ Srebotnik Kirbiš I., Rodrigues Roque R., Bongiovanni M. [et al.]. // *Cancer Cytopathol.* – 2020 -128. P. 757–766. DOI 10.1002/cncy.22311

96. Lubin D. The Milan System at Memorial Sloan Kettering: Utility of the categorization system for in-house salivary gland fine-needle aspiration cytology at a comprehensive cancer center/ Lubin D., Buonocore D., Wei X.J., Cohen J.M., Lin O. // *Diagn. Cytopathol.* – 2020 – 48. P. 183–190. DOI 10.1002/dc.24350

97. Swid MA. Updated Salivary Gland Immunohistochemistry: A Review/ Swid MA, Li L, Drahnak EM, Idom H, Quinones W. // *Arch Pathol Lab Med.* – 2023 - 147(12). P. 1383-1389. DOI 10.5858/arpa.2022-0461-RA

98. Nonaka T. Immunohistochemical Profile of Polymorphous Adenocarcinoma of Minor Salivary Gland: A Systematic Review and Meta-Analysis/ Nonaka T, Takei H. // Head Neck Pathol. - 2022 - 16(4). P. 980-990. DOI 10.1007/s12105-022-01453-6
99. Fatima S. Utility of MUC4 in the diagnosis of secretory carcinoma of salivary glands/ Fatima S, Ahmed A, Suleman S, Din NU. // Ann Diagn Pathol. – 2023 – 67. P. 152220. DOI 10.1016/j.anndiagpath.2023.152220
100. Barca I. Expression of PLAG1, HMGA1 and HMGA2 in minor salivary glands tumours/ Barca I, Mignogna C, Donato G, Cristofaro MG.// Gland Surg. – 2021 - 10(5). P. 1609-1617. DOI 10.21037/gs-20-667
101. Moura JMBO. Immunohistochemical expression of OCT4 and CD44 in major and minor salivary gland neoplasms/ Moura JMBO, Gonzaga AKG, Queiroz SIML. [et al.].// Braz Oral Res. – 2021 - Jun 16; 35: e073. DOI 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0073
102. Saeed Z. Immunohistochemical Expression Of Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (Her-2) In Common Salivary Gland Carcinomas/ Saeed Z, Zafar N, Ara N. [et al.]. // J Ayub Med Coll Abbottabad. – 2023 -35(2). P. 280-284. DOI 10.55519/JAMC-02-11647
103. Wang T. Clinicopathological analysis of 18 cases of secretory carcinoma of the salivary glands/ Wang T, Yang X, Yao L. [et al.]. // J Dent Sci. - 2024 -19(1). P. 109-117. DOI 10.1016/j.jds.2023.05.023
104. Johnson F. Novel Discovery of the Somatostatin Receptor (SSTR2) in Pleomorphic Adenomas via Immunohistochemical Analysis of Tumors of the Salivary Glands/ Johnson F, Hofauer B, Wirth M. [et al.]. // Cancers (Basel). - 2023 -15(15). P. 3917. DOI 10.3390/cancers15153917
105. Differential-diagnostic informativeness of the morphological and Immunohistochemical study of parotid salivary gland cysts/ Tkachenko PI, Rezvina KY, Bilokon SO. [et al.]. // Wiad Lek. -2023 - 76(9). P. 2068-2075. DOI 10.36740/WLek202309124
106. Alves LDB. Secretory carcinoma of salivary glands at the National Cancer Institute: A 20-year retrospective clinical, pathological, immunohistochemical and

molecular study/ Alves LDB, de Melo AC, de Lima Araujo LH. [et al.]. // Oral Oncol. - 2021 -117. P.105198. DOI 10.1016/j.oraloncology.2021.105198

107. Brodetskyi IS. Tumors and tumor-like lesions of the salivary glands: morphological characteristics of the surgical material/ Brodetskyi IS, Malanchuk VA, Sorokin BV. [et al.]. // Wiad Lek. – 2021 - 74(4). P. 929-933.

108. Santos AAD. Immunohistochemical comparative analysis of tumor stem cell biomarkers in pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands/ Santos AAD, Mafra RP, da Silva LP. [et al.]. // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. – 2023 -135(3). P. 396-409. DOI 10.1016/j.oooo.2022.09.038

109. Taverna C. MUC4 is a valuable marker for distinguishing secretory carcinoma of the salivary glands from its mimics/ Taverna C, Baněčková M, Lorenzon M. [et al.]. // Histopathology. - 2021 - 79(3). P. 315-324. DOI 10.1111/his.14251

110. Laohavisudhi F. Evaluation of CD44s, CD44v6, CXCR2, CXCL1, and IL-1 β in Benign and Malignant Tumors of Salivary Glands/ Laohavisudhi F, Chunchai T, Ketchaikosol N. [et al.]. // Diagnostics (Basel). - 2022 -12(5). P. 1275. DOI 10.3390/diagnostics12051275

111. Brodetskyi IS. Immunohistochemical features of the expression of human papilloma virus type 16 in pleomorphic adenomas of salivary gland/ Brodetskyi IS, Dyadyk OO, Malanchuk VA. [et al.]. // Wiad Lek. – 2021 - 74(1). P. 7-10. PMID:33851578

112. Jo U. Primary squamous cell carcinoma of the salivary gland: immunohistochemical analysis and comparison with metastatic squamous cell carcinoma/ Jo U, Song JS, Choi SH. [et al.]. // J Pathol Transl Med. - 2020 - 54(6). P. 489-496. DOI 10.4132/jptm.2020.07.19

113. Telugu RB. Myoepithelial Tumors of Salivary Gland: A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 15 Patients with MIB-1 Correlation/ Telugu RB, Gaikwad P, Baitule A. [et al.]. // Head Neck Pathol. - 2021 - 15(2). P. 479-490. DOI 10.1007/s12105-020-01225-0

114. Owosho AA. Clinicopathologic Study of Sialadenoma Papilliferum of the

Minor Salivary Glands: A Series of 8 New Cases With BRAF V600E Mutation-specific Immunohistochemical Analysis/ Owosho AA, Shasteen AM, Aguirre SE. [et al.].//Int J Surg Pathol. - 2023 - 31(7). P. 1265-1272. DOI 10.1177/10668969221147170

115. Kusafuka K. Salivary Duct Carcinoma with Rhabdoid Features-No or Aberrant Expression of E-cadherin and Genetic Changes in CDH1: Immunohistochemical and Genetic Analyses of 17 Cases/ Kusafuka K, Yamada H, Ishino K. [et al.]. // Am J Surg Pathol. - 2021 -45(4). P. 439-449. DOI 10.1097/PAS.0000000000001672

116. Liu X. Salivary gland papillary adenocarcinoma with intestinal-like features: Clinicopathologic, immunohistochemical, and genetic study of six cases/ Liu X, Zhang Y, Zhou CX, Li TJ. // J Oral Pathol Med. - 2022 - 51(2). P. 172-179. DOI 10.1111/jop.13271

117. Baněčková M. Salivary Gland Secretory Carcinoma: Clinicopathologic and Genetic Characteristics of 215 Cases and Proposal for a Grading System/ Baněčková M, Thompson LDR, Hycza MD [et al.]. // Am J Surg Pathol. - 2023 -47(6). P. 661-677. DOI 10.1097/PAS.0000000000002043

118. Фамилья Фриас Д.Р. Молекулярно-генетические исследования полиморфной аденокарциномы слюнной железы: обзор литературы и описание клинического случая/ Фамилья Фриас Д.Р., Большаков М.Н., Бабиченко И.И. //Стоматология. – 2023 - 102(4). P. 59-63. DOI 10.17116/stomat202310204159

Familia Frias DR. Molecular and genetic studies of polymorphic adenocarcinoma of the salivary gland: literature review and description of a clinical case/. Familia Frias DR, Bolshakov MN, Babichenko II. // Stomatology. -2023 -102(4). P. 59-63. (In Russ.) DOI 10.17116/stomat202310204159

119. Suleman S. Assessing Morphological Diversity of Acinic Cell Carcinoma of Salivary Glands at a Tertiary Care Hospital in Pakistan/ Suleman S, Fatima S, Ud Din N. // Cureus. – 2024 - 16(6). P. e63134. DOI 10.7759/cureus.63134

120. Hiss S. Tumour-Infiltrating Lymphocytes (TILs) and PD-L1 Expression Correlate with Lymph Node Metastasis, High-Grade Transformation and Shorter Metastasis-Free Survival in Patients with Acinic Cell Carcinoma (AciCC) of the Salivary

Glands/ Hiss S, Eckstein M, Segschneider P. [et al.]. // *Cancers (Basel)*. - 2021 - 13(5). P. 965. DOI 10.3390/cancers13050965

121. Desai A. Clear cell carcinoma: a comprehensive literature review of 254 cases/ Desai A, Faquin WC, Iafrate AJ. [et al.].// *Int J Oral Maxillofac Surg*. – 2022 - 51(6). P. 705-712. DOI 10.1016/j.ijom.2021.03.018

122. Alramadhan SA. Retrospective Study of Buccal Mucosal Salivary Neoplasms/ Alramadhan SA, Fitzpatrick SG, Cohen DM. [et al.].// *Head Neck Pathol*. - 2020 - 14(4). P. 1013-1020. .]. DOI 10.1007/s12105-020-01190-8

123. Acinic Cell Carcinoma of the Breast: Report of a Case With Immunohistochemical and Next-Generation Sequencing Studies/ Weaver KD, Isom J, Esnakula A. [et al.]. // *Int J Surg Pathol*. - 2021 -29(8). P. 882-886. DOI 10.1177/10668969211008508

124. Wiles AB. Secretory carcinoma of the salivary gland, a rare entity: An international multi-institutional study/ Wiles AB, Gabrielson M, Baloch ZW, Faquin WC. [et al.]. // *Cancer Cytopathol*. – 2022 - 130(9). P. 684-694. DOI 10.1002/cncy.22574

125. Agarwal S. Pitfalls in Diagnosis of Myoepithelial Carcinoma of Salivary Glands: A Study of 3 Cases with Cytologic-histologic Correlation and Molecular Analysis/ Agarwal S.// *Head Neck Pathol*. – 2024 - 18(1). P. 96. DOI 10.1007/s12105-024-01698-3

126. Sheereen S. "Pleomorphic adenoma in salivary glands: Insights from a 100-patient analysis"/ Sheereen S, Manva MZ, Patil NN. [et al.]. // *J Oral Maxillofac Pathol*. - 2024 - 28(1). P. 42-48. DOI 10.4103/jomfp.jomfp_452_23

127. Alsugair Z. Beneath HMGA2 alterations in pleomorphic adenomas: Pathological, immunohistochemical, and molecular insights/ Alsugair Z, Lépine C, Descotes F. [et al.]. // *Hum Pathol*. – 2024 - 152:105633. DOI 10.1016/j.humpath.2024.105633

128. Vial L. Reappraisal of Oncocytic Adenocarcinoma: Unveiling Its Connection to Oncocytic Variants of Salivary Duct Carcinoma and Mucoepidermoid Carcinoma Through ImmunoHisto-Molecular Perspectives/ Vial L, Descotes F, Lopez J. [et al.]. // *Am J Surg Pathol*. - 2025 -1;49(1). P. 73-82. DOI 10.1097/PAS.0000000000002324

129. Mayer M. The extent of androgen receptor and HER2 expression allows for targeted therapy in most cases of salivary duct carcinoma: analysis of clinical and histopathological data in a tertiary care center/ Mayer M, Wolber P, Prinz J. [et al.] // *Eur Arch Otorhinolaryngol.* - 2024 - 281(7). P. 3779-3789. DOI 10.1007/s00405-024-08627-8

130. De Rosa F. Proliferation in pleomorphic adenoma: Lights and shadow on this parameter, in a neoplasm showing unpredictable behavior-An immunohistochemical study and review of the literature/ De Rosa F, Pignatiello S, Sibillo MC, Guadagno E. // *Pathol Res Pract.* - 2022 -232. P. 53748. DOI 10.1016/j.prp.2021.153748

131. Wolber P. Expression of Mucins in Different Entities of Salivary Gland Cancer: Highest Expression of Mucin-1 in Salivary Duct Carcinoma : Mucin-1 - highest expression in Salivary Duct Carcinoma/ Wolber P, Mayer M, Nachtsheim L. [et al.]. // *Head Neck Pathol.* - 2022 - 16(3). P. 792-801. DOI 10.1007/s12105-022-01448-3

132. Weissferdt A. Salivary gland-like low-grade clear cell carcinomas of the thoracic cavity: A clinical, immunohistochemical, and molecular analysis of three cases/ Weissferdt A, Wenig B, Moran CA. // *Ann Diagn Pathol.* - 2025 - 75:152446. DOI 10.1016/j.anndiagpath.2025.152446

133. Araújo GR. Lymphomas affecting the submandibular glands/ Araújo GR, Morais-Perdigão AL, Lopez-de-Cáceres CV. [et al.]. // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* - 2024 - 29(1). P. e78-e86. DOI 10.4317/medoral.26065

134. Raja R. MCM3 proliferative index is worthier over Ki-67 in the characterization of salivary gland tumors/ Raja R, Shetty DC, Chandrakanta [et al.]. // *Indian J Pathol Microbiol.* - 2021 - 64(1). P. 22-27. DOI 10.4103/IJPM.IJPM_63_20

135. Omer A. Saeed The cytology of salivary gland neoplasms with globules of extracellular matrix: Case-based review of adenoid cystic carcinoma and its potential mimics/Omer A Saeed1, Rumeal D Whaley, Sheila Segura [et al.]. // *Diagn Cytopathol.* - 2021 - 49(6). P. 195-202. DOI 10.1002/dc.24672

136. Park S. Clinicopathologic implications of Myb and Beta-catenin expression in adenoid cystic carcinoma/ Park S, Vora M, van Zante A. [et al.]. // *J Otolaryngol Head Neck Surg.* - 2020 - 49(1). P. 48. DOI 10.1186/s40463-020-00446-1

137. Praveen Paul T R. A Study on Myloblastosis Gene (MYB) in Adenoid Cystic Carcinoma Using the New IHC Marker MYB (SZ04-81)/ Praveen Paul T R, Susruthan M, Gokul Kripesh // Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. - 2023 - 75(3). P. 1414-1420. DOI 10.1007/s12070-023-03471-4

138. Alam M. Epithelial Myoepithelial Carcinoma Masquerading as Simple Parotid Cyst in a Middle Aged Male/ Alam M, Beig S, Shamim H. [et al.]. // Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. - 2023 - 75(2). P. 1186-1189. DOI 10.1007/s12070-022-03388-4

139. Lu H. Esophageal myoepithelial carcinoma: Four case reports/ Lu H, Zhao HP, Liu YY. [et al.]. //World J Clin Cases. - 2022 -10(9). P. 2938-2947. DOI 10.12998/wjcc.v10.i9.2938

140. Trivedi A. Employing immunohistochemical staining to labial minor salivary gland biopsies from patients with Sjogren's syndrome increases diagnostic certainty/ Trivedi A, Cornejo KM, O'Donnell P. [et al.]. // J Oral Pathol Med. - 2021 - 50(1). P. 98-102. DOI 10.1111/jop.13119

141. Capodiferro S. Metastatic Tumors of the Oro-Facial Tissues: Clear Cell Renal Cell Carcinoma. A Clinico-Pathological and Immunohistochemical Study of Seven Cases./ Capodiferro S, Limongelli L, Mastropasqua MG. [et al.]. // J Clin Med. - 2020 - 9(4). P. 1151. DOI 10.3390/jcm9041151

142. Soares AB. Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm: New Insights Into Its Origin and Nomenclatures/ Soares AB, Teixeira LN, Melo JVBC. [et al.]. // J Oral Pathol Med. - 2025 - 54(1). P. 70-75. DOI 10.1111/jop.13588

143. Stokov S. A Salivary Clear Cell Tumor With an Unclear Diagnosis: A Report of a Rare Case/ Stokov S, Helène R, Cardot-Leccia N [et al.]. // Cureus - 2024 - 16(11). P. e73656. DOI 10.7759/cureus.73656

144. de Paiva JPG. Intraoral Salivary Gland Cystadenomas: A Case Series Study and Literature Review/ de Paiva JPG, Roldán DG, Bezerra HKF. [et al.]. // Head Neck Pathol. - 2024 - 18(1). P. 45. DOI 10.1007/s12105-024-01661-2

145. Soliman S. Podoplanin expression in salivary gland carcinomas and its clinical significance. An immunohistochemical study/ Soliman S, Elsherbeny MF, Sheta

H [et al.]. // Pol J Pathol. – 2022 - 73(4). P. 320-329. DOI 320-329. doi: 10.5114/pjp.2022.125820

146. Markkanen A. Increased MIB-1 expression in salivary gland pleomorphic adenoma that recurs and undergoes malignant transformation/ Markkanen A, Aro K, Laury AR. [et al.]. // Sci Rep. - 2022 - 12(1). P. 9029. DOI 10.1038/s41598-022-15267-7

147. Wakely PE Jr. Classic polymorphous adenocarcinoma: Fine needle aspiration cytopathology of eight cases/ Wakely PE Jr, Lott-Limbach AA. // Cytopathology. - 2021 - 32(6). P.789-794. DOI 10.1111/cyt.13046

148. Aruna Nambirajan, Cell blocks in cytopathology: An update/ Aruna Nambirajan, Deepali Jain// Cytopathology, 2018 Dec;29(6):505-524. DOI 10.1111/cyt.12627.

149. Srebotnik Kirbis I Cell block practices in European cytopathology laboratories/ Srebotnik Kirbis I, Kholova I, Huhtala H, Bongiovanni M, Strojan Flezar M, Hodgson C, Cochand-Priollet B.//Cancer Cytopathol. 2024 Apr;132(4):250-259. DOI 10.1002/cncy.22793.,PMID: 38324231.

150. D Jain 1, Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies/ D Jain 1, S R Mathur, V K Iyer// Cytopathology, 2014 Dec;25(6):356-71. DOI10.1111/cyt.12174.

151. Alexandra Kang Manufactured Cell Blocks: Turning Smears into Sections/ Alexandra Kang 1, Alina Miranda 1 2, Bastiaan de Boer 3 4// Acta Cytol. 2019;63(1):28-34., DOI 10.1159/000493907.

152. Vanda F. Torous MD, Cell blocks in cytology: review of preparation methods, advantages, and limitations/ Vanda F. Torous MDa, Jacqueline M. Cuda BS, SCT (ASCP) b, Varsha Manucha MD c, Melissa L. Randolph BS, SCT (ASCP) d, Qiuying Shi MS, MD e, Christopher J. VandenBussche MD, PhD f// American Society of Cytopathology Clinical [https:// DOI.org/10.1016/j.jasc.2022.11.003](https://doi.org/10.1016/j.jasc.2022.11.003).

153. Efrain A Ribeiro, p16 immunostaining in cytology specimens: its application, expression, interpretation, and challenges/ Efrain A Ribeiro 1, Zahra Maleki 2// PMID: 33422456., DOI10.1016/j.jasc.2020.12.003.

154. Vickie Y Jo, Ancillary testing in salivary gland cytology: A practical guide/ Vickie Y Jo 1, Jeffrey F Krane 1// Cancer Cytopathol. 2018 Aug;126 Suppl 8:627-642. DOI10.1002/cncy.22010.

155. He Wang, Fine-Needle Aspiration Biopsy of Salivary Gland Lesions/ He Wang 1, Christopher Fundakowski, Jasvir S Khurana, Nirag Jhala// Arch Pathol Lab Med. 2015 Dec;139(12):1491-7. DOI 10.5858/arpa.2015-0222-RA.

156. Kimberly Point du Jour, The Role of Ancillary Techniques in Salivary Gland Cytopathology Specimens/ Kimberly Point du Jour 1, Christopher C Griffith 2 3// Acta Cytol. 2020;64(1-2):92-102. DOI 10.1159/000497109.

157. Christopher C Griffith, Ancillary testing strategies in salivary gland aspiration cytology: A practical pattern-based approach/ Christopher C Griffith 1, Momin T Siddiqui 1, Alessandra C Schmitt// Diagn Cytopathol. 2017 Sep;45(9):808-819. DOI 10.1002/dc.23715.

158. Syed Z. Ali. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: definitions, criteria and explanatory notes/ Syed Z. Ali, Cibas ED, editors. // New York: Springer; 2010. DOI 10.1007/978-0-387-87666-5

159. Seena Tabibi Ancillary studies on cell blocks from fine needle aspiration specimens of salivary gland lesions: A multi-institutional study/ Seena Tabibi 1, Matthew Gabrielson 1, Carla Saoud 1, Katelynn Davis 1, Sintawat Wangsiricharoen 1, Ryan Lu 1, Isabella Tondi Resta 2, Kartik Viswanathan 3, William C Faquin 4, Zubair Baloch 2, Zahra Maleki 1//Diagn Cytopathol. 2022 May;50(5):235-252. - DOI 10.1007/978-0-387-87666-510.1002/dc.24939.