

Н. Н. Волченко, О. В. Борисова

РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО АНТИГЕНА BER-EP4 В ИССЛЕДОВАНИИ ЭКССУДАТА ИЗ СЕРОЗНЫХ ПОЛОСТЕЙ

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» (дир. — акад. РАМН В. И. Чиссов) Минздравсоцразвития России

Проведено исследование экссудата из серозных полостей с эпителиальным маркером Ber-EP4 иммунопероксидазным и иммунофлюоресцентным иммуноцитохимическим методом, а также методом лазерной проточной цитофлюориметрии. Применение современных высокотехнологичных методов позволяет обнаруживать немногочисленные опухолевые комплексы в экссудате на ранних этапах метастазирования, не выявляемые с помощью рутинного цитологического исследования, а также снизить частоту гипердиагностики опухолевого процесса. Показана высокая эффективность и быстрота иммунофлюоресцентного исследования экссудата при срочных интраоперационных исследованиях с целью установления распространенности опухолевого процесса.

Ключевые слова: экссудат, серозные полости, иммуноцитохимическое исследование, антиген Ber-EP4

ROLE OF EPITHELIAL ANTIGEN BER-EP4 IN THE STUDY OF EXUDATES FROM SEROUS SACS

N. N. Volchenko, O. V. Borisova

Herzen Moscow Oncology Research Institute, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation

Serous exudates with epithelial antigen BER-EP4 were studied using immunoperoxidase, immunofluorescence, and immunocytochemical methods and by a laser flow cytometric technique. Up-to-date high-technologies make it possible to detect few tumor complexes in the exudate at early metastatic stages, which are undetectable by the routine cytological assay and to decrease the rate of hyperdiagnosis of a tumor process. The high efficiency and rapidity of immunofluorescence study of exudates are shown to establish the extent of the tumor process during urgent intraoperative studies.

Key words: serous exudates, immunocytochemical assay, antigen BER-EP4

Единственным методом диагностики злокачественных опухолей в экссудате является цитологический. Несмотря на большую историю развития метода и успехи диагностической цитологии в трактовке клеточного состава жидкостей из серозных полостей, имеется много нерешенных проблем. Большинство авторов указывают на трудность в цитологическом распознавании природы выпота в серозные полости и возможность ошибочных заключений в сторону как гипердиагностики, так и в сторону гиподиагностики опухолевого процесса [1—3, 7].

Клеточный покров серозных оболочек называют мезотелием, так как происходит он из мезодермы. Своеобразие мезотелия обусловлено тем, что, с одной стороны, он вырабатывает серозную жидкость, с другой — может вести себя как клетки соединительной ткани. Основной трудностью остается правильная интерпретация мезотелиальных клеток, находящихся в состоянии пролиферации. При различных патологических процессах и при регенерации мезотелия наблюдается нарушение непрерывности клеточного пласта вследствие обособления клеток, последние при этом могут принимать округлую или отростчатую форму. Мезотелиальные пласты так компактны, что имеют вид сплошных островков эпителиальной ткани, при наличии в них просветов бросается в глаза сходство с железами. При этом отмечается выраженная пролиферация мезотелиальных клеток с образованием железистоподобных структур, а также структур из удлинённых клеток, напоминающих фибробласты. При раздражении отмечается чрезвычайная изменчи-

вость мезотелиальных клеток. В краевой зоне раздражения резко выражен полиморфизм клеточных элементов с различными размерами ядер и весьма разнообразными формами их (округлой, бобовидной, причудливой) и крупными ядрышками. Клетки мезотелия различных участков брюшины отличаются по форме, величине и интенсивности окраски ядер и цитоплазмы. Вышеперечисленное обуславливает разнообразие морфологических признаков мезотелия при различных процессах.

Таким образом, трудности интерпретации результатов цитологического исследования жидкости, полученной из серозных полостей, зависят от присутствия в них разнообразных клеточных элементов и усугубляются изменениями морфологии клеток, связанными с нахождением в жидкой среде, состоянием пролиферации, репаративными и дистрофическими процессами.

Сложно обнаружить клетки рака в экссудате на ранних этапах метастазирования, а установление распространенности опухолевого процесса до появления его клинических признаков имеет большое значение для правильного выбора тактики лечения. Наличие единичных изолированных опухолевых клеток в экссудате существенно ограничивает перспективу дальнейшего увеличения показателей выживаемости. До последнего времени поиск клеток опухоли осуществляли только традиционными методами световой микроскопии.

С целью выявления опухолевых клеток в экссудате использовали эпителиальный антиген Ber-EP4 (Er-SAM). Данный антиген представляет собой молекулу адгезии эпителиальных клеток и состоит из двух гликопротеинов молекулярной массой 34 и 39 кД, которые находятся преимущественно на поверхности клеточной мембраны почти всех эпителиальных клеток, за исклю-

Для корреспонденции: Волченко Надежда Николаевна — д-р мед. наук, проф., рук. отд-ния онкоцитологии; 125284, Москва, 2-й Боткинский пр., 3, e-mail: mnioi@mail.ru

чением большинства видов плоского эпителия, гепатоцитов, проксимальных отделов эпителия почечных канальцев, желудочных париетальных и мезотелиальных клеток. Неизменные мезотелиальные клетки Her-EP4-отрицательны, но могут давать очаговую реакцию при реактивных изменениях [1, 4, 8].

Her-EP4 продуцируется в подавляющем большинстве аденокарцином — в 50—100% наблюдений [4—6, 9], а также в нейроэндокринных опухолях, включая мелкоклеточную карциному [1, 8]. Эпителиоидная и бифазная мезотелиома Her-EP4-положительна в 4—26% наблюдений [8, 10]. При оценке результатов иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования имеет значение строго мембранная локализация маркера. Таким образом, антитела к эпителиальному антигену Her-EP4 выявляют в экссудате, в основном в клетках эпителиального происхождения. Обнаружение положительно реагирующих клеток при правильно проведенной ИЦХ-реакции и соответствующих контрольных исследованиях, а также при изучении морфологии клеточных элементов свидетельствует о наличии аденогенного рака.

Цель исследования — совершенствование цитологического исследования экссудата из серозных полостей с использованием ИЦХ-исследования и проточной цитофлуориметрии (ПЦФ) с моноклональным антителом к Her-EP4 для установления характера экссудата.

Сложности при исследовании экссудатов в нашем исследовании возникли в 136 наблюдениях при различной локализации первичного опухолевого процесса, когда при рутинном цитологическом исследовании однозначно высказаться о характере экссудата было сложно. В исследовании применяли эпителиальное антитело к Her-EP4 (клон Her-EP4) фирмы «ДАКО». Реакции проводили на рутинных и жидкостных цитологических препаратах. ИЦХ-исследование применяли в двух вариантах — иммунопероксидазном и иммунофлюоресцентном. Для визуализации иммунопероксидазной реакции использовали систему Ultra Vision LP (США), выявление пероксидазной активности проводили с помощью 3,3-диаминобензидина (DAB). Цитопрепараты докрашивали гематоксилином Майера. ИЦХ иммунопероксидазным методом выполнена у 75 пациентов. Флюоресцентную иммуноцитохимию (ФИЦХ) осуществляли на флюоресцентном микроскопе ImerM1 фирмы «Karl Zeiss». Использовали также эпителиальное антитело к Her-EP4 с флюоресцентной меткой FITS (клон Her-EP4). Для визуализации ядер клеток препараты окрашивали DAPI. Методом ФИЦХ исследовано 35 экссудатов. Измерения методом ПЦФ проводили на проточном цитофлуориметре FASC Callibur фирмы «Bacton Dickinson». Использовали эпителиальное антитело к Her-EP4 с флюоресцентной меткой FITS (клон Her-EP4). С помощью ПЦФ проведено 26 исследований.

Наибольшие сложности при цитологическом исследовании экссудатов возникают при диссеминации перстневидно-клеточного рака желудка из мелких клеток (рис. 1), что соответствует гистиоцитарному, эозинофильному, мелкоклеточному и анапластическим вариантам рака. Опухолевые клетки мелкие с пенистой цитоплазмой, некрупными ядрами, отнесенными к периферии цитоплазмы, или небольшими серповидными ядрами весьма трудно или подчас невозможно отличить от дистрофичного мезотелия или даже макрофагов. В нашем исследовании в 25 наблюдениях у пациентов, страдающих раком желудка, при цитологическом исследовании возникли сложности в оценке характера экссудата. При ИЦХ-исследовании клетки перстневидно-

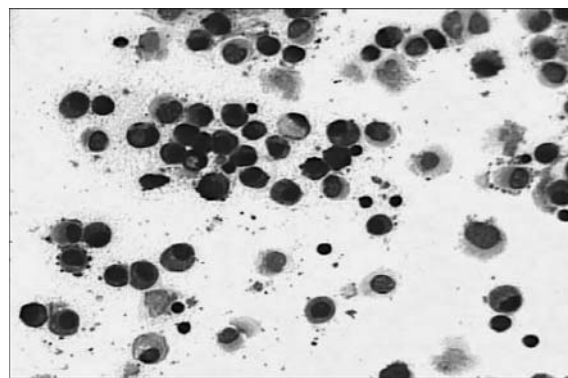


Рис. 1. Специфический экссудат с наличием клеток перстневидно-клеточного рака (гистиоцитарный вариант). Окраска по Паппенгейму. $\times 200$.

клеточного рака в экссудате выявлены в 8 наблюдениях, из них в 3 при цитологическом исследовании не высказывалось даже подозрение на наличие клеток опухоли, а в 2 — выявленные клетки рака были немногочисленными и терялись среди мезотелия и макрофагальных элементов. При диссеминации аденокарциномы желудка кишечного типа по брюшине опухолевые клетки в экссудате обнаруживаются в подавляющем большинстве наблюдений, и достаточно редко возникают затруднения при исследовании экссудатов. При цитологическом исследовании асцитической жидкости в 4 наблюдениях отмечалось обилие клеточных элементов: пролиферирующие мезотелиальные клетки, клетки макрофагально-гистиоцитарной природы, поэтому высказаться за метастатическое поражение серозных оболочек было трудно. При ИЦХ-исследовании выявлены немногочисленные комплексы клеток аденокарциномы, из них в 1 наблюдении опухолевые комплексы были единичными.

Таким образом, из исследованных 25 экссудатов при раке желудка в 12 метастатический характер экссудата подтвержден ИЦХ, причем в 4 наблюдениях экссудаты изначально были расценены как реактивные. В 2 наблюдениях с помощью ИЦХ-исследования удалось избежать гипердиагностики опухолевого процесса. В 16% случаев рака желудка удалось выявить немногочисленные опухолевые комплексы, пропущенные при рутинном цитологическом исследовании.

Из всех исследованных экссудатов у пациентов с диссеминацией протокового рака молочной железы для уточнения его характера ИЦХ исследование потребовалось провести в 5 наблюдениях: 2 асцитические жидкости и 3 плевральные. В 2 наблюдениях обнаружены опухолевые клетки протокового рака молочной железы: при цитологическом исследовании препаратов клеточный состав представлен преимущественно клетками мезотелия с выраженной пролиферацией, присутствовало значительное количество макрофагально-гистиоцитарных элементов. На этом фоне выявлены немногочисленные клетки, сходные с пролиферирующими мезотелиальными клетками, но более крупные, с гиперхромными ядрами. Ядрышки четко выраженные, в некоторых клетках имелось несколько ядрышек. Однозначно высказаться о природе этих немногочисленных клеток на фоне большого числа лимфогистиоцитарных элементов было сложно. При ИЦХ-исследовании выявлена продукция эпителиального антигена Her-Ep4 этими клетками, что подтвердило их опухолевую природу.

ИЦХ исследовано 10 плевральных экссудатов у пациентов с аденокарциномой легкого, при рутинном ци-

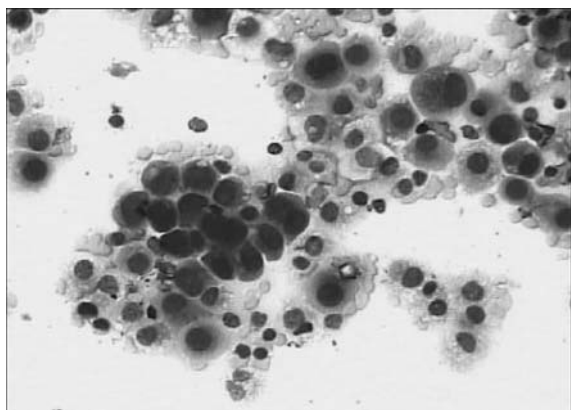


Рис. 2. Реактивный экссудат с резко выраженными реактивными изменениями мезотелиальных клеток. Окраска по Паппенгейму. $\times 200$.

тологическом исследовании которых возникли сложности в диагностике. Необходимо отметить, что экссудат при раке легкого не всегда является результатом обсеменения плевры опухолью. Он может возникнуть в результате обтурации бронха опухолью и воспалительных процессов в легочной ткани, окружающих опухоль. Пневмония является одним из ведущих симптомов заболевания. В 8 наблюдениях экссудат имел реактивный характер. Цитологическая картина характеризовалась наличием большого количества клеточных элементов, отмечалась резко выраженная пролиферация клеток мезотелия с укрупнением ядер, гипертрофией ядрышек, мезотелиальные клетки образовывали железистоподобные структуры. Клетки пролиферирующего мезотелия очень сходны с клетками рака (рис. 2). При ИЦХ-исследовании эпителиальный антиген Ber-EP4 не выявлен.

При диссеминации рака яичников по серозному покрову его клеточные элементы в экссудате обнаруживаются в подавляющем большинстве наблюдений, и диагноз рака, как правило, не вызывает затруднений. Только в единичных наблюдениях при малом количестве опухолевых клеток в жидкости могут возникнуть трудности в их обнаружении. В нашем исследовании таких экссудатов было 5. В 4 наблюдениях отмечалась продукция опухолевыми клетками эпителиального антигена Ber-EP4, причем в 1 наблюдении изначально экссудат был неверно расценен как реактивный. При рутинном цитологическом исследовании асцитической жидкости у пациентки с серозным раком яичников складывалось впечатление о прогрессировании процесса. Однако при ИЦХ-исследовании эпителиальный антиген Ber-EP4 не выявлен, но отмечалось наличие виментина и CD68, что позволило расценить экссудат как реактивно-воспалительный с выраженной пролиферацией клеток мезотелия и макрофагально-гистиоцитарных элементов.

Особую группу при исследовании экссудатов составляют пограничные опухоли яичников. Верификация опухолевых клеток в асцитической жидкости представляет значительные сложности, так как признаки атипичности клеток, как правило, не выражены. Наиболее достоверным, обращаящим на себя внимание признаком, является наличие в жидкости достаточно плотных сосочковых структур из довольно мелких мноморфных клеток с равномерным нежным рисунком хроматина (рис. 3). Клетки характеризуются склонностью прилипать друг к другу, благодаря чему разрозненно расположенных эпителиальных клеток в мазках практически нет. Это является отражением гистологической структуры пограничной опухоли — сосочки с поверхности опухоли

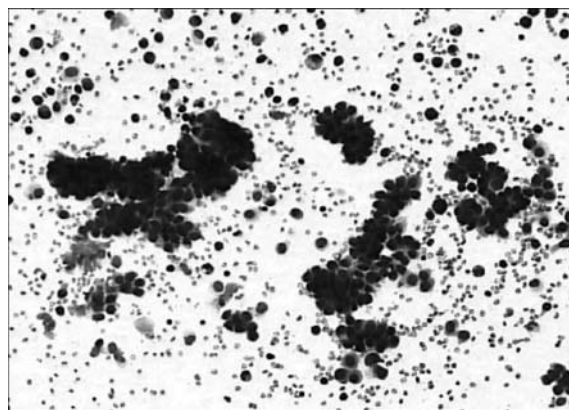


Рис. 3. Специфический экссудат с наличием опухолевых комплексов при пограничной опухоли яичника. Окраска по Паппенгейму. $\times 100$.

яичника отрываются и свободно плавают в жидкости. Исследование асцитической жидкости при пограничных опухолях яичников является сложным разделом цитологической диагностики и должно быть обязательно дополнено ИЦХ-исследованием. Из исследованных 17 экссудатов в 7 специфический характер экссудата подтвержден ИЦХ (рис. 4), причем в 4 наблюдениях экссудат изначально был расценен как реактивный. Оценку результатов ИЦХ-реакции при исследовании экссудата в послеоперационном периоде следует проводить очень осторожно, так как неопухолевые эпителиальные клетки яичника, попавшие в экссудат во время операции, могут сохраняться до 3 мес и дифференцировать их цитологически и ИЦХ от клеток опухоли крайне сложно.

При колоректальной аденокарциноме исследовано 13 экссудатов. Отсутствие эпителиального антигена Ber-EP4 в 9 наблюдениях подтвердило реактивный характер экссудата. В 1 наблюдении при раке прямой кишки специфический характер экссудата заподозрен при рутинном цитологическом исследовании и подтвержден ИЦХ-методом. В двух других при раке поперечной ободочной кишки при цитологическом исследовании диагностирован реактивный характер экссудата, но при ИЦХ-исследовании выявлены единичные опухолевые клетки с наличием эпителиального антигена Ber-EP4, что позволило расценить экссудат как специфический. У 1 пациента при цитологическом исследовании дано заключение о специфическом характере экссудата, однако при ИЦХ-исследовании антиген Ber-EP4 отсутствовал, но были выявлены виментин и CD68, т. е. экссудат являлся реактивно-воспалительным с выра-

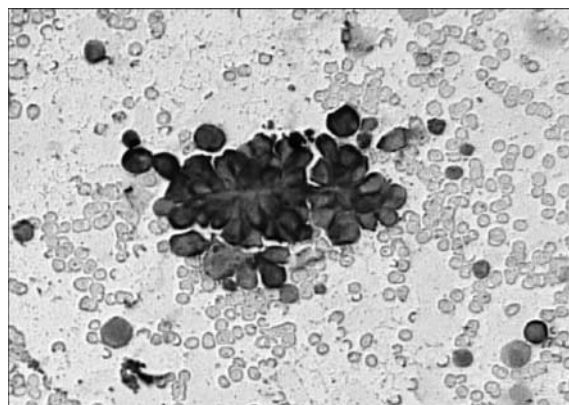


Рис. 4. Иммуноцитохимическое исследование. Асцитическая жидкость. Наличие эпителиального антигена Ber-EP4 в пограничной опухоли яичника. $\times 100$.

женной пролиферацией клеток мезотелия и наличием макрофагально-гистиоцитарных элементов. В этом случае с помощью ИЦХ-исследования удалось избежать гипердиагностики опухолевого процесса.

Таким образом, ИЦХ-исследование с применением моноклонального антитела к Her-EP4 повышает чувствительность цитологического исследования с 62 до 96%, а специфичность с 95 до 99%. Рутинное цитологическое исследование является в большинстве наблюдений надежным методом выявления опухолевых клеток в экссудате, но в ряде случаев возникают определенные трудности для цитологической диагностики. Эпителиальный антиген Her-EP4 является надежным и чувствительным маркером обнаружения клеток аденогенного рака в экссудате. Опухолевые клетки выявлены в 28 (37,3%) наблюдениях из 75. В 59 (78,7%) наблюдениях диссеминация опухоли, заподозренная по результатам рутинного цитологического исследования, подтверждена ИЦХ, в 11 (14,7%) наблюдениях выявлены немногочисленные опухолевые комплексы, пропущенные при рутинном цитологическом исследовании, а в 5 (6,7%) наблюдениях удалось избежать гипердиагностики опухолевого процесса (см. таблицу).

Данные ИЦХ-исследования в основном согласуются со стадией заболевания и данными гистологического исследования. В 8 (9,6%) наблюдениях при распространенном опухолевом процессе с поражением серозной оболочки клетки рака не выявлены. В 5 наблюдениях имела инвазия за пределы серозной оболочки лишь на ограниченном участке, и опухолевые клетки в исследуемом материале, по всей вероятности, отсутствовали. В 3 (3,6%) наблюдениях отсутствие эпителиального маркера связано, вероятно, с низкой дифференцировкой опухоли и потерей молекулы адгезии Her-EP4. Необходимо отметить, что опухолевые клетки не всегда попадают в экссудат, так как диссеминаты образуются тогда, когда происходит имплантация опухолевых клеток в брюшину с их последующей пролиферацией, что сопровождается соответствующей реакцией стромальных элементов. Опухолевые клетки находятся в фиброзной основе, что затрудняет их отрыв и попадание в экссудат. При некрозе на поверхности диссемината повышается вероятность попадания опухолевых клеток в серозную жидкость.

Методом ФИЦХ исследовано 35 экссудатов. В 16 реактивных экссудатах флюоресцентное свечение отмечено не было. В 19 специфических экссудатах с наличием клеток аденогенного рака в зеленом спектре четко видна мембранная локализация эпителиального антигена Her-EP4 (рис. 5). При плановом гистологическом исследовании подтверждена диссеминация опухоли по серозным

оболочкам. Макрофагальные элементы, присутствующие в экссудате в большом количестве, захватывают частицы красителя и выглядят как светящиеся включения в цитоплазме.

Кроме того, наше исследование показало, что ФИЦХ является новым надежным и быстрым методом диагностики характера экссудата. Особенно перспективно ее применение при срочном интраоперационном исследовании экссудата, так как она не требует сложной подготовки и значительных временных затрат (20 мин). Это стало возможным благодаря тому, что клеточные элементы в жидкости находятся в благоприятной для них среде, жидкость доставляется в лабораторию сразу после взятия, поэтому высушивания, переохлаждения, а следовательно, и изменения конформации белков не происходит. Эпителиальный антиген Her-EP4 является гликопротеином и находится на поверхности клеточной мембраны. ИЦХ-реакция прямая, так как флюорохром непосредственно конъюгирован с антителом. Все это способствует сокращению времени инкубации антитела с антигеном и применению эпителиального антигена Her-EP4 в срочной интраоперационной диагностике опухолевого процесса в экссудате.

Методом лазерной ПЦФ исследовано 26 экссудатов, из них 17 реактивных экссудатов и 9 специфических. Изучали цитологические препараты, приготовленные рутинным способом, и параллельно проводили ИЦХ-исследование иммунопероксидазным методом с использованием моноклонального антитела к Her-EP4.

В 9 наблюдениях при цитологическом исследовании высказывалось подозрение на наличие комплексов аденогенного рака, подтвержденное ИЦХ-исследованием (продукция эпителиального антигена Her-EP4 опухолевыми клетками), методом ПЦФ также выявлен клон опухолевых клеток с высоким уровнем содержания данного антигена. В 15 наблюдениях реактивный характер экссудата подтвержден ИЦХ-методом и методом ПЦФ — наличие эпителиального антигена Her-EP4 не отмечено. В 2 наблюдениях при исследовании реактивных экссудатов методом ПЦФ выявлены немногочисленные клетки, продуцирующие Her-EP4, при ИЦХ-исследовании выявлены единичные клетки с неяркой цитоплазматической окраской. Данная реакция не является истинной, так как уже указывалось, что необходимо учитывать четкое мембранное окрашивание. По-видимому, некоторые клетки макрофагальной природы способны поглощать частицы красителя. При исследовании методом ПЦФ оценить морфологию клеточных элементов, в которых прошла ИЦХ-реакция невозможно, что является существенным ограничением этого метода. В 1 наблюдении при цито-

Сравнительный анализ цитологического и иммуноцитохимического исследования в установлении характера экссудата

Локализация первичного опухолевого процесса	Цитологическое исследование			Иммуноцитохимическое исследование		Итого
	гиподиагностика	гипердиагностика	неуверенное заключение	специфический экссудат	реактивный экссудат	
Молочная железа	—	—	5	2 (2)	3	5
Легкие	—	1	8	—	9	9
Желудок	4	2	19	12 (3)	13	25
Яичники, рак	1	1	4	4	2	6
Пограничные опухоли яичников	4	—	13	7	10	17
Колоректальный рак	2	1	10	3 (2)	10	13
Всего	11	5	59	28 (7)	47	75

Примечание. В скобках указано количество исследований, в которых выявлены единичные опухолевые комплексы.

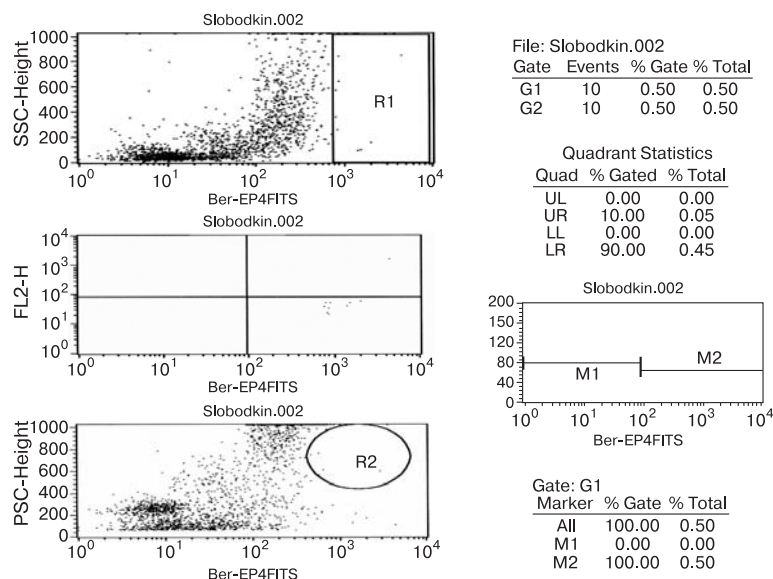


Рис. 5. Флюоресцентное ИЦХ-исследование специфического экссудата при серозном раке яичников.

Окраска мембраны опухолевых клеток — Ber-EP4 FITC (зеленый цвет). $\times 200$.

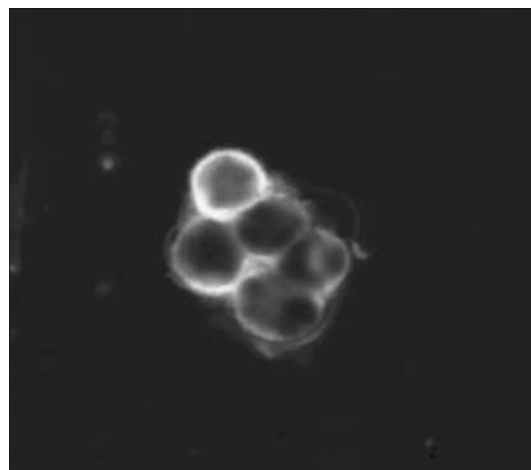


Рис. 6. Гистограмма исследования асцитической жидкости пациентки с диссеминацией дольчатого рака молочной железы. Выделение гейта опухолевых клеток.

логическом исследовании небольшого количества жидкости из малого таза у пациентки, получавшей лечение по поводу диссеминации дольчатого рака молочной железы, высказывалось подозрение на наличие единичных опухолевых комплексов. Методами ПЦФ (рис. 6) и ИЦХ были выявлены единичные опухолевые комплексы.

Таким образом, лазерную ПЦФ можно использовать для дифференциальной диагностики реактивного и метастатического экссудата. Однако при обнаружении методом ПЦФ единичных клеток, продуцирующих эпителиальный антиген Ber-EP4, необходимо тщательное комплексное изучение цитологических препаратов и гистограмм, а также дополнительное проведение ИЦХ-исследования иммунопероксидазным методом с целью избежать гипердиагностики опухолевого процесса.

Применение таких новых методов, как ИЦХ-исследование иммунопероксидазным и флюоресцентным методами и ПЦФ значительно повышают достоверность цитологического метода и позволяют определять опухолевые клетки в экссудате, в том числе на ранних этапах диссеминации.

Выводы

1. Эпителиальный антиген Ber-EP4 является надежным и чувствительным маркером для дифференциальной диагностики реактивных и метастатических экссудатов при аденогенном раке: чувствительность его составляет 96%, специфичность — 99%.

2. ИЦХ-метод позволяет объективно охарактеризовать клеточный состав экссудата. Опухолевые клетки с помощью этого метода выявлены в 37,3% наблюдений: в 78,7% наблюдений подтверждена диссеминация опухоли, лишь заподозренная при рутинном цитологическом исследовании, в 14,7% обнаружены немногочисленные опухолевые комплексы, не выявленные при рутинном

цитологическом исследовании, а в 6,7% удалось избежать гипердиагностики опухолевого процесса.

3. При срочном интраоперационном исследовании экссудата для исключения диссеминации опухолевого процесса по серозным оболочкам эффективным методом, не требующим больших временных затрат является флюоресцентная ИЦХ с использованием моноклонального антитела к Ber-EP4.

4. Метод лазерной ПЦФ эффективен для диагностики аденогенного рака в экссудатах. Однако для корректной оценки результатов необходимо сочетать его применение с рутинным цитологическим и ИЦХ-методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выпотные жидкости / Долгов В. В., Шабалова И. П., Мирнова И. И. и др. — Тверь: Триада, 2006.
2. Глузман Д. Ф., Склярченко Л. М., Надгорная В. А., Крячок И. А. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. — Киев, 2003.
3. Климанова З. Ф. Цитоморфологическая характеристика экссудатов при новообразованиях брюшины и плевры: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1965.
4. Петров С. В., Райхлин Н. Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. — Казань, 2004.
5. Angelis M. D., Buley I. D., Heryet A., Gray W. / Cytopathology. — 2007. — Vol. 3, N 2. — P. 111—127.
6. Bjorn R., Ben D., Hiep D. // J. Clin. Pathol. — 2000. — Vol. 53, N 7. — P. 513—517.
7. Cardozo L. L. Atlas of clinical cytology. — Amsterdam, 1975.
8. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry. — Edinburgh, 2006.
9. Risberg B., Davidson B., Dong H. et al. // J. Clin. Pathol. — 2000. — Vol. 53, N 7. — P. 513—517.
10. Shidham V. B., Atkinson B. F. Cytopathologic diagnosis of serous fluids. — Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007.

Поступила 09.03.10