

УДК 616.62-006.616.62-072.1

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ****¹Кит О.И., ²Леонов М.Г., ¹Шелякина Т.В., ²Тхагапсо А.А., ²Ершова Я.Х.-Б.,
²Беляева С.А., ¹Алавердян И.А.***¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
Ростов-на-Дону, e-mail: rnioi@list.ru;**²ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3», Новороссийск, e-mail: novonko@yandex.ru*

В работе представлены сравнительные результаты цитологического исследования традиционного метода и метода жидкостной цитологии спиртовых смывов мочевого пузыря 323 пациентов, 150 из которых были с подозрением на рак мочевого пузыря (РМП) и 173 больных после проведенного комбинированного или комплексного лечения по поводу РМП. В результате проведенного исследования установлено, что диагностическая ценность метода жидкостной цитологии в диагностике РМП и его местных рецидивов в 1,3 раза выше традиционного цитологического исследования. Экспериментально отработана методика приготовления из клеточного осадка смыва мочевого пузыря клеточных блоков и получения гистологических препаратов для гистологического и иммуногистохимического исследований с моноклональными антителами. Такой подход позволяет улучшить дифференциальную и уточняющую диагностику опухолей мочевого пузыря.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, жидкостная цитология, традиционное цитологическое исследование, питательная среда 199, клеточные блоки

IMPROVEMENT OF CYTOLOGICAL DIAGNOSTICS OF BLADDER CANCER**¹Kit O.I., ²Leonov M.G., ¹Shelyakina T.V., ²Thagapso A.A., ²Ershova J.H.-B.,
²Belyaeva S.A., ¹Alaverdyan I.A.***¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: rnioi@list.ru;**²GBUZ «Oncological clinic № 3», Novorossiysk, e-mail: novonko@yandex.ru*

The paper presents comparative results of cytological research by traditional method and by method of liquid cytology of alcoholic washings of bladder of 323 patients, 150 of whom were suspected bladder cancer (BC) and 173 patients after combined or complex treatment of RMP. The study shows that the diagnostic value of the method of liquid cytology in the diagnosis of RMP and its local recurrences was 1.3 times higher than conventional cytological examination. The method of preparation of cell sediment flushing of bladder cell blocks and histologic specimen for histological and immunohistochemical studies with monoclonal antibodies has been experimentally developed. This approach allows to improve differential and clarifying diagnostics of bladder tumors.

Keywords: bladder cancer, liquid cytology, conventional cytology, medium 199, cellular blocks

Известные традиционные способы цитологической диагностики рака мочевого пузыря (РМП) по осадку мочи или по смыву мочевого пузыря имеют ряд недостатков: загрязнение фона исследуемого препарата воспалительными элементами, кристаллами мочевых солей, слизью, эритроцитами, бактериями; плохая сохранность и повреждение клеток; клеточный материал на предметном стекле располагается неравномерно; имеются участки многослойности, что затрудняет невозможность быстроту обзора препарата. Диагностическая ценность традиционного цитологического исследования в диагностике РМП невелика и составляет не более 40–54% [2; 4; 5; 7].

Цель исследования – повышение достоверности морфологической диагностики РМП и его рецидивов.

Материалы и методы исследования

За период 2011–2013 гг. в исследование было включено 323 человека, из них 150 пациентов с подозрением на РМП, проходивших диагностическое

обследование в ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3» (г. Новороссийск), и 173 больных РМП после проведенного лечения (комбинированного или комплексного). Этим больным были выполнены различные варианты органосохраняющих операций.

Всем обследуемым выполняли цистоскопию гибким фиброцистоскопом «KarlStorz». После окончания которой получали спиртовой смыв по методу В.Т. Кузьмина (1963), делили его на две порции, одну из которых исследовали традиционным цитологическим методом, другую – методом жидкостной цитологии. При выполнении жидкостной цитологии полученный смыв центрифугировали на центрифуге «Эликон ЦЛМН-Р10-01» при скорости 1500 об/мин в течение 10 мин. К полученному осадку в объеме 100–400 мкл добавляли питательную среду 199 в объеме 4 мл для получения клеточной суспензии. Клеточную суспензию центрифугировали в «CytoFuge 2» при скорости 1000 об/мин в течение 8 мин. Полученные монослойные tospin-препараты высушивали на воздухе. Фиксацию цитологического препарата проводили фиксатором Май-Грюнвальда. Окраску препарата выполняли по методу Романовского-Гимза.

Для оценки эффективности метода жидкостной цитологии проводили сопоставление результатов исследования и традиционного метода цитологического исследования.

Кроме того была проведена экспериментальная отработка методики получения клеточных блоков из смывов мочевого пузыря (12 больных раком мочевого пузыря и 9 у больных рецидивом заболевания) и получения гистологических препаратов для морфологической диагностики первичного РМП и его местных рецидивов. Все обследуемые имели верифицированный морфологический (цитологический и/или гистологический) диагноз.

Клеточные блоки для гистологического исследования получали путем центрифугирования экссудата брюшной полости, затем сливали надосадочную жидкость и, используя метод накопления, получали клеточный осадок не менее 0,3 см³ в центрифужной пробирке. К клеточному осадку в пробирку добавляли раствор ренампластина и к образовавшемуся сгустку добавляли 10% нейтральный забуференный раствор формалина. Затем полученный фибрин, содержащий клеточный осадок, переносили в гистологический мешочек и помещали его в кассету для гистологической проводки, последовательно обрабатывали его в растворах дегидротантов и в промежуточных смесях. Полученный клеточный блок помещали в парафин, затем производили нарезку гистологического блока санным микротомом, срезы переносили на предметное стекло и производили окраску гистологического препарата гематоксилин-эозином с последующей дегидратацией и депарафинизацией. Полученный гистологический препарат покрывали клеом и покровным стеклом, который использовали для гистологического исследования.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования обнаружена существенная разница в диагностике РМП и его рецидивов после проведенного лечения среди сравниваемых групп (таблица).

Сравнительная оценка эффективности цитологических методов

Исследуемая группа	Количество исследуемых	Метод жидкостной цитологии N (%)	Традиционное цитологическое исследование N (%)	P
Подозрение на РМП	150	118 (76,6)	89 (59,3)	p < 0,05
Диспансерные больные РМП	173	70 (40,4)	54 (31,2)	p < 0,05

Из 150 обследуемых первой групп традиционным цитологическим методом РМП диагностирован в 89 (59,3%) случаях, а методом жидкостной цитологии – в 118 (76,9%). Выявляемость РМП при использовании метода жидкостной цитологии оказалась больше на 17,3%, чем при традиционном цитологическом исследовании (p < 0,05).

Во второй группе из 173 больных, находящихся на диспансерном наблюдении после проведенного лечения по поводу РМП, рецидив заболевания традиционным методом диагностирован в 54 (31,2%) случаев,

а при использовании метода жидкостной цитологии в 70 (40,4%). В этой группе диагностическая ценность жидкостной цитологии на 2,9% выше (p < 0,05), чем при обычном цитологическом методе.

В результате применения метода жидкостной цитологии снизилось количество неудовлетворительных микроскопических препаратов на 24,6%. Диагностическая ценность метода жидкостной цитологии в диагностике РМП и его рецидивов в целом выше в 1,3 раза.

При проведении экспериментальной отработки методики получения клеточных блоков из смывов мочевого пузыря для изготовления гистологических препаратов у 12 больных РМП и 9 у больных с рецидивом заболевания. Во всех случаях был диагностирован переходо-клеточный РМП или его рецидивы.

Выводы

Таким образом, жидкостная цитология с использованием питательной среды 199, в отличие от традиционного цитологического исследования осадка мочи или смыва мочевого пузыря, значительно повышает чувствительность цитологического метода исследования за счет получения монослойных tospin-препаратов. Tospin-препараты характеризуются равномерным, тонкослойным (монослойным) распределением клеточного материала на небольшом участке предметного стекла, хорошей визуализацией деталей ядра и цитоплазмы, значительным снижением числа элементов

воспаления, эритроцитов, слизи, бактерий, кристаллов мочевых солей, артефактов, сокращает время и повышает производительность исследования.

Качественный и количественный состав питательной среды 199 при использовании в диагностике рака мочевого пузыря является адекватным для нормального метаболизма клеток, способен поддерживать их нормальное осмотическое давление и необходимый уровень кислотно-щелочного равновесия. Использование питательной среды 199 значительно повышает возможности сохранения и транспортировки клеток (до 72 ч) и их дальнейшего использования для

морфологических и иммуноцитохимических исследований [1; 5].

Используемая питательная среда 199 для получения tosrin-препаратов методом жидкостной цитологии, а также все расходные материалы для получения клеточных блоков и изготовления гистологических препаратов выпускается отечественной промышленностью. Это обуславливает невысокую себестоимость и обеспечивает соответствие заявляемого способа критерию промышленной применимости.

Совокупное применение традиционного цитологического исследования смывов мочевого пузыря, жидкостной цитологии, иммуноцитохимических исследований, получение клеточных блоков для дальнейшего гистологического и иммуногистохимических исследований с использованием моноклональными антителами (СК7, СК20, САМ5.2, СК5/6, СК14, СК17, уроплакин III, тромбомодулин и др.) позволяют повысить чувствительность морфологической диагностики и дает возможность проводить дифференциальную и уточняющую диагностику опухолей мочевого пузыря [3; 7].

Заключение

Широкое использование методов цитологической (традиционное цитологическое исследование, жидкостная цитология, им-

муноцитохимическое исследование) и гистологической диагностики (получение гистологических препаратов из клеточных блоков и иммуногистохимическое исследование) в онкологии, урологии, клинической лабораторной диагностике и патологической анатомии значительно повышает чувствительность метода цитологического исследования в диагностике опухолей мочевого пузыря.

Список литературы

1. Инструкция по применению изделия медицинского назначения набора реагентов «Питательная среда 199 с индикатором или без индикатора для культуры клеток» «Питательная среда 199». – М., 2011. – 6 с.
2. Клиническая онкоурология / под ред. Б.П. Матвеева. – М., 2011. – 934 с.
3. Опухоли мочевыделительной системы и мужских половых органов. Морфологическая диагностика и генетика: Руководство для врачей / под ред. Ю.Ю. Андреевой, Г.А. Франка. – М.: Практическая медицина, 2012. – 218 с.
4. Переверзев А.С., Петров С.Б. Опухоли мочевого пузыря. – Харьков: Факт, 2002. – 303 с.
5. Руководство по цитологической диагностике опухолей человека / под ред. А.С. Петрова. – М.: Медицина, 1976. – 301 с.
6. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / под ред. М.О. Биргера. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
7. Шапиро Н.А., Батороев Ю.К., Бакланова О.В. И соавт. Цитологическая диагностика заболеваний органов мочевой системы: Цветной атлас. – Москва-Иркутск, 2014. – 244 с.