

Rastlinske celice v urinu pri bolnikih z Brickerjevim mehurjem

Tanja Planinšek, Aleš Kladnik, Živa Pohar Marinšek, Margareta Strojjan Fležar

Izvleček

V citoloških vzorcih občasno opazimo različne kontaminante, kot so smukec, kristali in nitke bombažne vate. Pri rutinskem pregledovanju citoloških vzorcev urina za malignost smo občasno opazili kontaminacijo preparatov z rastlinskimi celicami. Ugotovili smo, da so bile prisotne samo pri bolnikih, ki so imeli narejen obvod urina po Brickerju. Preparate urina za rutinsko citopatološko preiskavo smo pripravili z membransko filtracijo, jih fiksirali v Delaunayu in jih pobarvali po Papanicolaouu. Pregledali smo jih s svetlobnim mikroskopom. Pripravili smo tudi preparate iz kožnih podlog podjetij Coloplast in ConvaTec, ki jih stomisti uporabljajo za pritrditev vrečke na urostomo. Samo v Coloplastovih kožnih podlogah smo našli rastlinske celice, ki so bile morfološko enake rastlinskim celicam v urinu bolnikov z Brickerjevim mehurjem. Pripravili smo tudi preparate iz različnih snovi, ki so sestavni del kožnih podlog. Rastlinske celice so bile prisotne samo v preparatih guar gumija, ki ga pridobivajo iz semen rastline *Cyamopsis tetragonoloba*. Rastlinske celice so se po velikosti, obliki in barvi močno razlikovale od epiteljskih črevesnih celic, ki so prisotne v urinu bolnikov z Brickerjevim mehurjem, zato bi jih tudi neizkušeni presejalec težko zamenjal z displastičnimi človeškimi celicami. Pomembno pa je, da vse elemente, ki jih najdemo v celičnih vzorcih, prepoznamo in da pri neobičajnih najdbah, kot so rastlinske celice, tudi razložimo, kako je prišlo do kontaminacije vzorca.

OZADJE

V citoloških vzorcih občasno opazimo različne kontaminante, ki so lahko intrinzičnega ali ekstrinzičnega izvora.

Pri citološkem pregledu vzorcev urina, barvanega po Papanicolaouu, so v literaturi poročali o prisotnosti smukca, kristalov, nitk bombažne vate in hif gliv iz rodu *Alternaria*, nismo pa našli poročil o prisotnosti rastlinskih celic (1). Nedavno je bil objavljen članek Cimino-Mathews s sod. (2), v katerem so analizirali celično atipijo v vzorcih urina iz neovezike v povezavi s kliničnopatološkimi značilnostmi bolnikov. V članku ne omenjajo rastlinskih celic, vendar je primerek rastlinske celice posnet na eni izmed objavljenih fotografij.

V sputumu so kot kontaminacija najpogosteje prisotni delci hrane, predvsem rastlinskega izvora. Spomladi in poleti lahko v citoloških vzorcih najdemo pelod (3). Pelod in rastlinske celice najdemo tudi v brisih materničnega vratu (4).

Pri rutinskem pregledovanju citoloških vzorcev urina za malignost smo poleti leta 2010 občasno opazili kontaminacijo preparatov z rastlinskimi celicami. Iz kliničnih podatkov, ki so bili navedeni na napotnicah za citopatološko preiskavo, smo ugotovili, da so bile prisotne samo pri bolnikih, ki so imeli

narejen obvod urina po Brickerju. Pri tej operaciji odvzamejo približno 15 cm dolg del tankega črevesa, v katerega nato vpeljejo oba sečevoda. Tanko črevo vsijejo v odprtino na koži, skozi katero izteka urin (urostoma) in se nato zbira v vrečki, ki je prek kožne podloge pritrjena ob odprtino.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti način in izvor kontaminacije citoloških preparatov urina ter potrditi predpostavko, da so elementi, ki jih opazimo v vzorcih, rastlinskega izvora.

CITOLOŠKI VZORCI URINA PRI BOLNIKI Z BRICKERJEVIM MEHURJEM IN SESTAVINE KOŽNIH PODLOG

Preparate urina za rutinsko citopatološko preiskavo smo pripravili z membransko filtracijo (polikarbonatni membranski filtri Nucleopor s premerom 47 mm in 5-mikrometrskimi porami, Whatman Ltd, Maidstone, Velika Britanija), jih fiksirali v Delaunayu (fiksativ Delaunay: aceton in 96-odstotni etanol mešamo v razmerju 1 : 1, mešanici dodamo 1M-triklorocetno kislino) in pobarvali po Papanicolaouu. Preparate smo pregledali s svetlobnim mikroskopom.

Iz popisov bolezni smo zbrali podatke o času operacije in času odvzema urina za citopatološko preiskavo za maligne celice. Znova smo pregledali 14 vzorcev 12 različnih bolnikov, ki so imeli narejeno radikalno cistektomijo ali cistoprostatektomijo in obvod urina po Brickerju, saj smo v preteklosti pri bolnikih z obvodom urina po Brickerju našli rastlinske celice.

Ker smo predpostavili, da lahko pride do kontaminacije urina z rastlinskimi celicami pri stiku urina s kožno podlogo urostome, smo naredili brise kožnih podlog, ki se v Sloveniji najpogosteje uporabljajo: ConvaTec (kožna podloga Stomahesive, Skillman, NJ, ZDA) in Coloplast (kožni podlogi Sensura in Sensura Xpro, Humlebaek, Danska).

Najprej smo pri bolniku, ki je uporabljal kožno podlogo Sensura (Coloplast), s krtačko Cytobrush, ki se sicer uporablja za odvzem brisa materničnega vratu, vzeli vzorec na 2 mestih: na mestu, kjer se kožna podloga stika z bolnikovo kožo, ter na strani, kjer na kožno podlogo pritrjemo vrečko za urostomo, v katero se izteka urin. Vzorce smo razmazali neposredno na objektna stekelca in jih takoj fiksirali v Delaunayu ter pobarvali po Papanicolaouu.

Od podjetja Coloplast smo dobili vzorec najnovejše kožne podloge Sensura Xpro, ki je namenjena stomam za agresivne izločke (npr. iz urostome, ileostome).

Ker z neposrednim odvzemom vzorcev s krtačko na objektnih stekelcih nismo dobili rastlinskih celic, smo košček kožne podloge za približno 15 ur namočili v urin. Nato smo s

krtačko Cytobrush obrisali kožno podlogo, vzorec razmazali na objektno steklo, ga fiksirali v Delaunayu in nato pobarvali po Papanicolaouu.

bila prisotna le neka snov, ki po videzu spominja na polisaharidni matriks.

Pripravili smo tudi vzorce karboksimetilceluloze (Hercules, Wilmington, DE, ZDA) in guar gumija (Cargill, Minneapolis, MN, ZDA), ki smo ju dobili od podjetja Etol (Škofja vas, Slovenija), ter vzorce iz karaja gumija (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, ZDA) in iz pektina (Podravka, d. d., Koprivnica, Hrvaška). Omenjene snovi se v živilski industriji sicer uporabljajo kot aditivi, a jih zaradi kemijskih lastnosti uporabljajo tudi za izdelavo kožnih podlog. Zato smo želeli ugotoviti, ali vsebujejo rastlinske celice, saj jih pridobivajo iz rastlin. Vzorce smo raztopili v prilagojenem celičnem mediju, počakali 5 minut in naredili citospine v citocentrifugi. Potem smo jih fiksirali v Delaunayu in pobarvali po Papanicolaouu.

Vzorce brisov kožnih podlog omenjenih proizvajalcev in vzorce iz posameznih sestavin kožnih podlog smo pregledali s svetlobnim mikroskopom.

Rastlinske celice vsebujejo različne sekundarne metabolite, ki fluorescirajo (primarna ali avto fluorescenca) (5). Zato smo izbrali vzorec urina z najbolj ohranjenimi rastlinskimi celicami in izbrane vzorce preparatov iz kožnih podlog ter jih pogledali z epifluorescentnim mikroskopom AxioImager Z1 (Carl Zeiss, Nemčija). Slike fluorescenca so bile posnete z ekscitacijo 450 do 490 nm, z objektivom EC Plan-NEOFLUAR 40x/0,75 ter z barvno kamero AxioCam HRc (Carl Zeiss Vision, Nemčija).

RASTLINSKE CELICE V URINU PRI BOLNIKI Z BRICKERJEVIM MEHURJEM

Ugotovili smo, da je od operacije, pri kateri je bil narejen obvod urina po Brickerju, do odvzema urina iz urostome za citopatološko preiskavo za malignost minilo od 3 mesece do 7 let (tabela 1). Pri ponovnem pregledu smo v 7 vzorcih poleg črevesnih epitelijskih celic našli tudi rastlinske celice, pri 5 vzorcih pa rastlinskih celic ni bilo (slika 1).

Rastlinske celice so bile v vzorcih prisotne v večjih oz. manjših skupinah ali pa posamezno (sliki 1, 2). Po velikosti in morfoloških značilnostih so se močno razlikovale od človeških celic, ki jih sicer najdemo v urinu bolnikov z Brickerjevim mehurjem. Rastlinske celice so bile večje (v premeru merijo približno 40 µm), ovalne ali poligonarne oblike, s tanko celično steno in včasih s podolgovatim protoplastom, v središču katerega je hiperkromno jedro.

Z epifluorescentnim mikroskopom smo dokazali avtofluorescenca, ki je značilna samo za rastlinske celice (slika 3). Pri pregledu vzorcev, ki smo jih vzeli iz kožnih podlog, smo ugotovili, da so rastlinske celice prisotne le pri kožnih podlogah, ki jih izdeluje Coloplast (slika 4). Pri ConvaTecovih kožnih podlogah rastlinskih celic nismo našli. V preparatih je

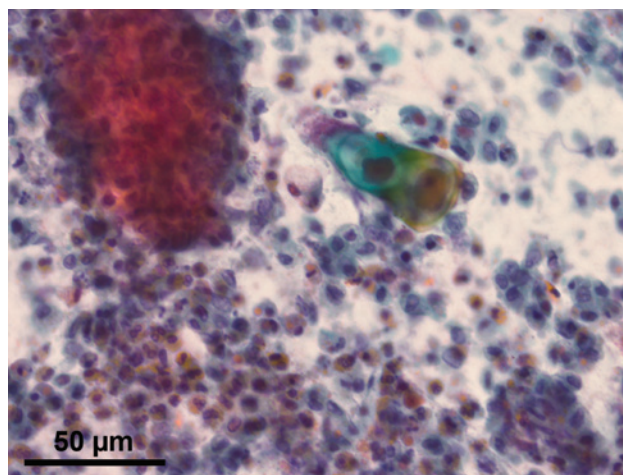
Tabela 1. Rastlinske celice v urinu pri bolnikih z Brickerjevim mehurjem glede na različne kožne podloge.

Številka primera	Spol	Čas od operacije do odvzema vzorca za citološko preiskavo	Kontaminacija z rastlinskimi celicami	Kožna podloga Proizvajalec (vrsta podloge)
1	M	3 mesece	+	ni podatka
2	M	3 mesece	+	ni podatka
3	Ž	7 mesecev	+	Coloplast (Sensura Xpro)
4	M	6 mesecev	+	ni podatka
5*	M	7 let	+	Coloplast (Sensura)
5*	M	7 let	+	Coloplast (Sensura)
5*	M	4 leta	+	Coloplast (Sensura)
6	M	1 leto	+	ni podatka
7	Ž	1 leto	+	ni podatka
8	Ž	6 mesecev	-	ni podatka
9	M	3 leta	-	ni podatka
10	M	1 leto	-	ni podatka
11	M	5 let	-	ConvaTec (ni podatka)
12	M	3 leta	-	ConvaTec (ni podatka)
Skupaj bolnikov	12	3 mesece do 7 let	7 (+), 5 (-)	

* 3 različni vzorci pri istem bolniku

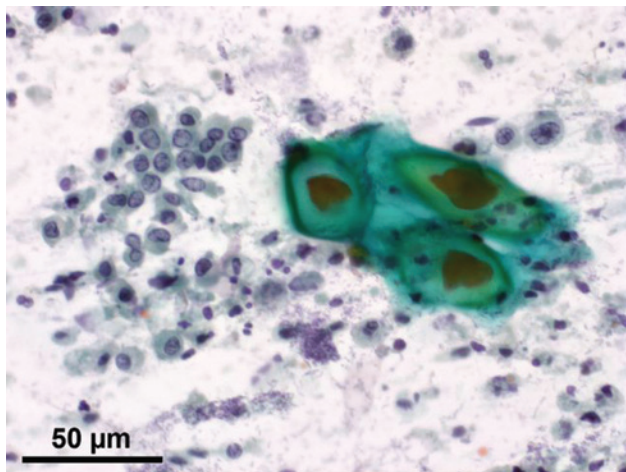
Legenda: M – moški, Ž – ženske; – ni kontaminacije, + prisotne rastlinske celice

Slika 1. Črevesne epitelijske celice in posamezne rastlinske celice v urinu pri bolniku z Brickerjevim mehurjem. (Papanicolaou, x400)

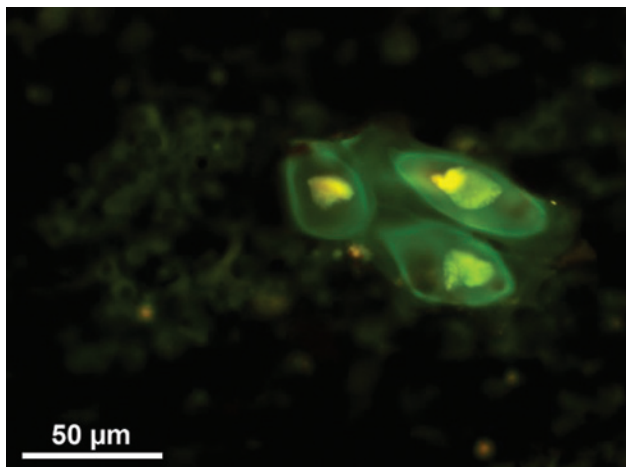


V vzorcih, ki smo jih vzeli iz posameznih sestavin kožnih podlog, so bile rastlinske celice le v guar gumiju (sliki 5, 6). V karaja gumiju in karboksimetilcelulozi smo videli samo sivkast precipitat, v pektinu pa zelenega.

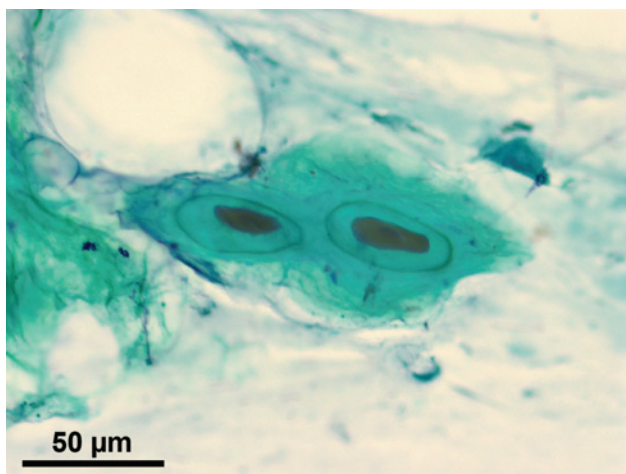
Slika 2. Črevesne epiteljske celice in skupina rastlinskih celic v urinu pri bolniku z Brickerjevim mehurjem. (Papanicolau, x400)



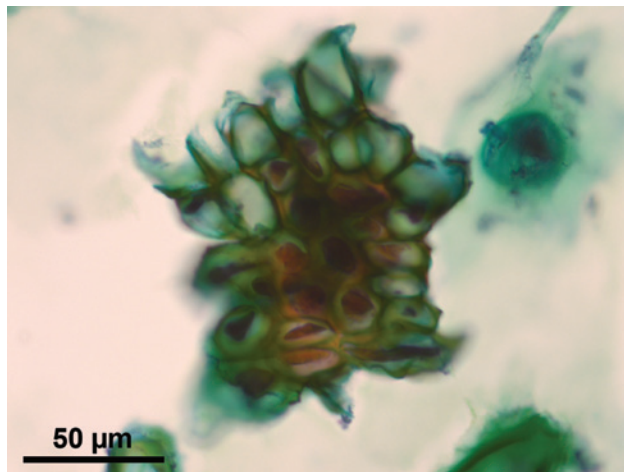
Slika 3. Epifluoresca - iste celice kot na sliki 2 (Papanicolau, x400)



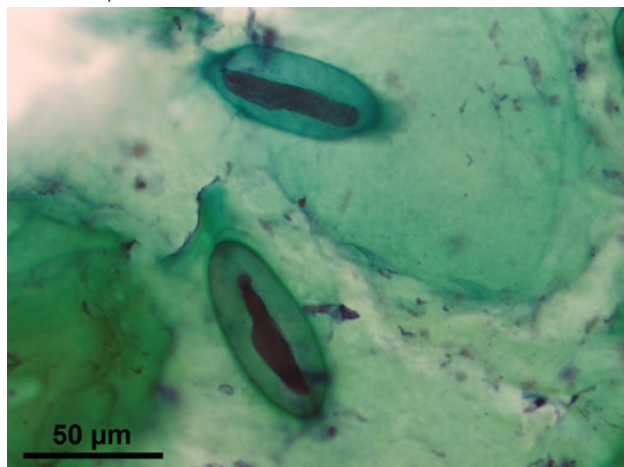
Slika 4. Rastlinske celice v kožni podlogi Sensura.



Slika 5. Skupina rastlinskih celic v guar gumiju. (Papanicolau, x400)



Slika 6. Posamezne rastlinske celice v guar gumiju. (Papanicolau, x400)



RAZPRAVA

V citoloških preparatih urina zelo redko najdemo rastlinske celice. Pri vsakdanjem citopatološkem pregledovanju urina smo ugotovili, da se rastlinske celice pojavljajo pri bolnikih, ki so imeli zaradi maligne bolezni sečnega mehurja narejen obvod urina po Brickerju.

Postavili smo 2 hipotezi, ki bi lahko pojasnili, kako pride do kontaminacije urina z rastlinskimi celicami. Možna bi bila kontaminacija iz zraka, vendar rastlinskih celic nismo našli v drugih vzorcih, ki so jih v našem laboratoriju pregledovali v istem obdobju.

Po drugi hipotezi je vir kontaminacije blato. Predpostavili smo, da se krajši čas po operaciji urin kontaminira z ostanki blata v delu tankega črevesa, ki opravlja naloge mehurja. Vendar smo na podlagi svojih izsledkov spoznali, da hipoteza ni pravilna, saj so bile pri nekaterih bolnikih rastlinske celice v urinu še 3 mesece po operaciji, pri drugih bolnikih pa celo 7 let po operaciji.

Zato smo razmišljali o drugih možnostih kontaminacije in se osredotočili na pot iztekanja urina iz obvoda tankega črevesa do zbiralne vrečke, iz katere se odvzame vzorec urina za citopatološko preiskavo. Urin teče čez kožno podlogo, ki si jo bolnik pritrdi okoli urostome, nanjo pa pritrdi zbiralno vrečko, v katero se izteka urin. Kožne podloge so sestavljene iz hidrokolooidov, ki vpijajo urin in vlago, ki jo proizvaja koža, ter tako preprečujejo maceracijo kože.

Za bolnike je pomembno, da kožna podloga zagotavlja dobro pritrditev in lepljenje, prožnost, vpojnost, odpornost proti eroziji in preprosto odstranjevanje. Te lastnosti dosežejo z uporabo hidrokolooidov, med katerimi so najpogosteje uporabljeni karboksimetilceluloza, karaja gumi in guar gumi. V guar gumiju smo našli številne rastlinske celice, ki so bile morfološko enake rastlinskim celicam v urinu bolnikov z Brickerjevim mehurjem in rastlinskim celicam, ki smo jih našli v kožni podlogi Sensura in Sensura Xpro podjetja Coloplast.

Coloplast je na svoji uradni spletni strani objavil brošuro z angleškim naslovom *Your guide to ostomy adhesives*, kjer v eni izmed tabel našteje hidrokoloide, ki jih uporabljajo za izdelavo kožnih podlog (6). Našteli so pektin, želatino, karboksimetilcelulozo, karaja gumi in guar gumi. V našem laboratoriju smo iz teh snovi naredili preparate. Guar gumi pridobivajo iz semen rastline *Cyamopsis tetragonoloba*. Kemijsko je polisaharid galaktomanan, ki je sestavljen iz sladkorjev manoze in galaktoze. Rastlinske celice smo našli le v vzorcih, narejenih iz guar gumija, kar se ujema s podatki o tem, da so vsi bolniki s kontaminacijo urina z rastlinskimi celicami uporabljali Coloplastove kožne podloge.

Nasprotno pa proizvajalec ConvaTec uporablja t. i. »stomahe-sive« želatino, ki je hidrokolooid, sestavljen iz karboksimetilceluloze, pektina in želatine v poliizobutilenski osnovi. Znana je kot hipoalergična snov, saj ne povzroča alergičnih reakcij. Kožo ščiti in neguje (7). V ConvaTecovih kožnih podlogah nismo našli rastlinskih celic in tudi pri bolnikih, ki uporabljajo njihove kožne podloge, urin ni bil kontaminiran z rastlinskimi celicami.

Z raziskavo smo uspeli ugotoviti, kako pride do kontaminacije urina z rastlinskimi celicami in kje je izvor kontaminacije. Rastlinske celice smo dokazali v kožnih podlogah Sensura in Sensura Xpro proizvajalca Coloplast, katerih sestavni del je guar gumi, ki je rastlinskega izvora. Ker je urin agresiven izloček, ki sčasoma poškoduje kožno podlogo, se z uporabo začnejo iz nje sproščati rastlinske celice. Opazili smo tudi, da so se vzorci urina med seboj razlikovali po številu rastlinskih celic. Domnevamo, da je več rastlinskih celic takrat, ko je kožna podloga dlje časa izpostavljena delovanju agresivnega izločka.

Rastlinske celice se po velikosti, obliki in barvi močno razlikujejo od epitelijskih črevesnih celic, ki so v urinu bolnikov z Brickerjevim mehurjem, zato bi jih tudi neizkušen presejalček težko zamenjal z displastičnimi človeškimi celicami. Pomembno pa je, da vse elemente, ki jih najdemo v celičnih vzorcih, prepoznamo in pri neobičajnih najdbah, kot so rastlinske celice, tudi razložimo, kako je prišlo do kontaminacije vzorca.

Viri

1. The Lower Urinary Tract in the Absence of Cancer. In: Koss LG, Melamed MR, eds. *Koss' Diagnostic Cytology and its histopathologic bases*. 5th ed. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: 738–776.
2. Cimino-Mathews A, Ali ZS: The Clinicopathologic Correlates of Cellular Atypia in Urinary Cytology of Ileal Neobladders. *Acta Cytologica* 2011; 55: 449–454.
3. Melamed MR. The Lower Respiratory Tract in the Absence of Cancer: Convencional and Aspiration Cytology. In Koss LG, Melamed MR, eds. *Koss' Diagnostic Cytology and its histopathologic bases*. 5th ed. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: 568–642.
4. Rivasi F, Tosi G, Ruozzi B, Curatola C: Vegetable Cells in Papanicolaou-Stained Cervical Smears. *Diag Cytopathol* 2005; 34: 45–49.
5. Lichtenthaler HK, Schweiger J: Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *J Plant Physiol* 1998; 152: 272–282.
6. Coloplast Dialogue Education. *Your guide to ostomy adhesives* [internet]. Dosegljivo na: http://www.coloplast.com/SiteCollectionDocuments/pdf/Guide_to_Ostomy_Adhesives.pdf
7. Valencia Stoma-Medical, d. o. o. [internet]. Dosegljivo na: <http://www.vsm.si/negastome/index.html>