

Совершенствование цитологической диагностики рака мочевого пузыря

М.Г. Леонов¹, Т.В. Шелякина², А.А. Тхагапсо¹, Я.Х.-Б. Ершова¹, С.А. Беляева¹

¹ ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3»;

Россия, 353915 Краснодарский край, Новороссийск, ул. Лейтенанта Шмидта, 7;

² ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;
344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Контакты: Михаил Генрихович Леонов povonko@yandex.ru

В работе представлены сравнительные результаты цитологического исследования методом жидкостной цитологии и традиционного цитологического исследования спиртовых смывов мочевого пузыря 323 пациентов, 150 из которых были с подозрением на рак мочевого пузыря (РМП) и 173 пациента — после проведенного комплексного или комбинированного 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 метода.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, жидкостная цитология, традиционное цитологическое исследование, питательная среда 199, цитологическая диагностика

Improvement of the cytological diagnosis of bladder cancer

M.G. Leonov¹, T.V. Shelyakina², A.A. Tkhangapso¹, Ya.Kh.-B. Ershova¹, S.A. Belyaeva¹

¹Oncology Dispensary Three; 7, Lieutenant Schmidt St., Novorossiysk, Krasnodar Territory 353915, Russia

²Rostov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63, Fourteenth Line, Rostov-on-Don 344037, Russia

The paper gives the comparative results of cytological examination of alcohol-induced bladder washouts by liquid-based cytology and conventional cytology in 323 patients, including 150 with suspected bladder cancer (BC) and 173 patients after performed combination or combined treatment for BC.

The performed investigation has established that the diagnostic value of liquid-based cytology in diagnosing BC and its local recurrences is 1.3-fold higher than that of conventional cytology.

Key words: bladder cancer, liquid-based cytology, conventional cytological examination, nutrient medium 199, cytological diagnosis

Известные традиционные способы цитологической диагностики рака мочевого пузыря (РМП) по осадку мочи или по смыву мочевого пузыря (МП) 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 создает невозможность быстрого обзора препарата. Диагностическая ценность традиционного цитологического исследования в диагностике РМП невелика и составляет не более 40–54 % [1–3].

В доступной научной литературе мы не нашли работ, связанных с использованием метода жидкостной цитологии в диагностике РМП. В связи с имеющимся собственным опытом применения метода жидкостной цитологии в диагностике рака и предраковой патологии шейки матки, значительно повышающего

диагностическую ценность цитологического метода исследования (рака шейки матки в 2,5 раза, дисплазии шейки матки в 1,4 раза), чувствительность метода составила 91,3 %, специфичность — 93,5 % [4]. Нами была предпринята попытка повышения диагностических возможностей цитологической диагностики РМП и его рецидивов с помощью метода жидкостной цитологии.

В исследовании в качестве жидкой среды была использована питательная среда 199, апробированная с 2008 г. в условиях цитологической лаборатории ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3 (Новороссийск)» для жидкостной цитологии в диагностике патологии шейки матки. Клеточный образец в питательной среде 199 может храниться до 72 ч при температуре +4 °С.

Питательная среда 199 содержит соли Хенкса с глютамином и представляет собой смесь в очищенной воде неорганических солей, аминокислот, витаминов, глюкозы, которая благодаря сохранению по-

стоянства рН, осмотического давления и обеспечения клеток необходимыми питательными веществами предназначена для консервирования образцов клеток в промежутке между отбором материала и его анализом. В питательной среде 199 содержится достаточное количество энергетического материала для поддержания жизнеспособности клеток, обеспечивающего длительное сохранение исследуемых клеток без изменения их морфологической структуры [5, 6].

Особенность используемой среды для жидкостной цитологии в диагностике опухолей состоит в том, что она используется для транспортировки, накопления, сохранения и промывания образцов клеток, изъятых у пациентов для последующего цитологического и/или иммуноцитохимического анализа и максимально приближена к естественным физиологическим условиям их существования.

Цель исследования — повышение диагностических возможностей цитологической диагностики РМП и его рецидивов.

Материалы и методы

За период с 2011 по 2013 г. в исследование было включено 323 пациента, из них 150 пациентов с подозрением на РМП, проходившие диагностическое обследование в ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3» (Новороссийск), и 173 больных РМП после проведенного лечения (комбинированного или комплексного). Этим больным были выполнены различные варианты органосохраняющих операций.

Всем обследуемым проводили цистоскопию гибким фиброуретероцистоскопом. Использование гибкого цистоскопа значительно повышает диагностические возможности метода и способствует уменьшению травматичности исследования. Перед проведением цистоскопии выполняли общие клинические обследования, позволяющие определить противопоказания к проведению внутривезикулярного инвазивного вмешательства, и необходимые мероприятия по подготовке пациента к фиброуретероцистоскопии. После окончания фиброуретероцистоскопии получали спиртовый смыв по методу В.Т. Кузьмина (1963), делили его на 2 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 4 мл питательной среды 199 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 — по методу Романовского—Гимзы автоматизированным методом на универсальном настольном роботе «Shandon Varistain Gemini ES», обеспечивающим быстрое и одновременное окрашивание большого количества цитологических препаратов. Микроскопирование цитологических препаратов проводили под иммерсионной системой с использованием видеомикроскопа «Micros» MC 1000 (LCD), Австрия. Видеомикроскоп MC (LCD) (окуляр 10х, объектив 100х, увеличение 1000) со встроенной электронной системой, жидкокристаллическим сенсорным дисплеем, позволяющий проводить просмотр изображения в реальном времени. Результаты микроскопирования фотографировались и сохранялись на CD Cart, которые позволяют составить фотоархив микропрепаратов.

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

Результаты и обсуждение

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

Из 150 обследуемых 1-й группы традиционным методом цитологической диагностики РМП диагностирован у 89 (59,3 %) больных, а методом жидкостной цитологии — у 118 (76,9 %). Выявляемость РМП при использовании метода жидкостной цитологии больше на 32,6 %, чем при традиционном цитологическом исследовании ($p < 0,05$).

Во 2-й группе из 173 больных, находящихся на диспансерном наблюдении после проведенного лечения по поводу РМП, рецидив заболевания диагностирован в 54 (31,2 %) случаях, а при использовании метода жидкостной цитологии — в 70 (40,4 %). Диагности-

Сравнительная оценка эффективности цитологических методов

Группа	Число исследуемых	Метод жидкостной цитологии, n (%)	Традиционное цитологическое исследование, n (%)	p
Подозрение на РМП	150	118 (76,6)	89 (59,3)	0,05
Диспансерные больные РМП	173	70 (40,4)	54 (31,2)	0,05



Рис. 1. Внешний вид препаратов на предметном стекле, приготовленных традиционным цитологическим методом и методом жидкостной цитологии

ческая ценность жидкостной цитологии на 29,6 % 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.

На рис. 1 представлен внешний вид цитологических препаратов, полученных традиционным цитологическим исследованием и методом жидкостной цитологии.

На рис. 2 представлена микроскопическая картина цитологических препаратов, полученных традиционным способом, и на рис. 3 — методом жидкостной цитологии.

Приводим клинические наблюдения использования метода жидкостной цитологии в диагностике РМП и его местных рецидивов.

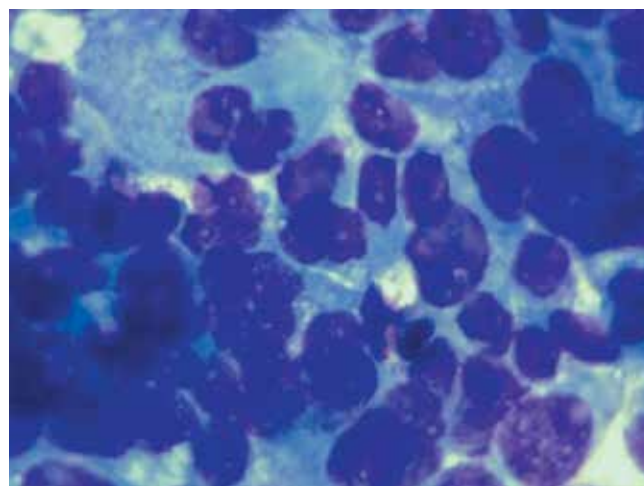
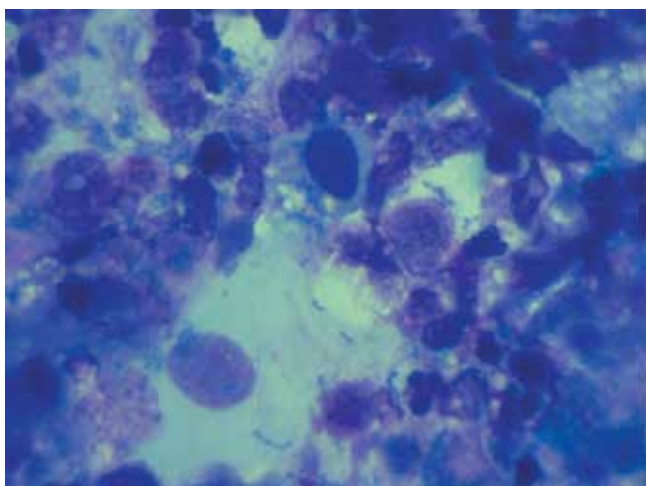


Рис. 2. Микрофотографии цитологических препаратов, приготовленных традиционным методом. Окраска по Романовскому–Гимзе, $\times 1000$

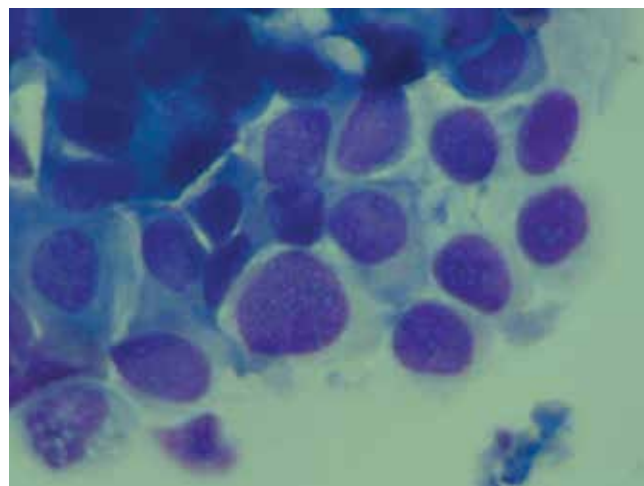
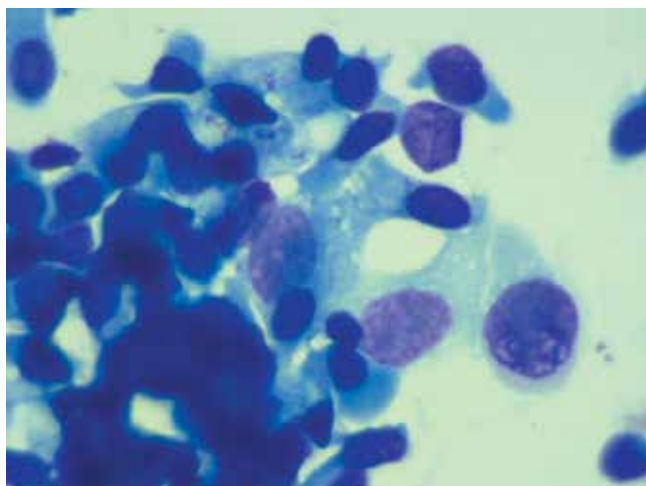


Рис. 3. Микрофотографии цитологических препаратов, приготовленных методом жидкостной цитологии. Окраска по Романовскому–Гимзе, $\times 1000$

Клинический случай 1

Больной М., 67 лет, мужского пола. Обратился в ГБУЗ «Онкологический диспансер №3» (Новороссийск) 18.04.2013 г. по направлению врача-уролога участковой поликлиники с жалобами на рези при мочеиспускании, примесь крови в моче.

Первые признаки заболевания почувствовал 2 месяца назад, когда появились рези при мочеиспускании и примесь крови в моче. Обратился к урологу в поликлинику, где ему было проведено клиничко-лабораторное и инструментальное обследование. Ультразвуковое исследование МП: признаки объемного образования задней стенки МП с неровными контурами размером 25 × 20 мм. В общем анализе мочи признаки микрогематурии (эритроциты 15–20 в поле зрения). Цитологическое исследование мочи традиционным методом опухолевых клеток не выявило.

В онкологическом диспансере больному проведено обследование (фиброуретероцистоскопия с получением спиртового смыва МП и его цитологическое исследование). В результате цитологического исследования, выполненного методом жидкостной цитологии с использованием питательной среды 199, был диагностирован РМП (клетки переходно-клеточного рака) (рис. 4).

Больному 02.05.2013 г. выполнена трансуретральная резекция (ТУР) стенки МП. Патогистологическое заключение: переходно-клеточный рак. При этом было зафиксировано полное совпадение метода жидкостной цитологии с гистологическим диагнозом.

Заключительный клинический диагноз: РМП, I стадия pT1NxM0.

Клинический случай 2

Больной П., 62 лет, мужского пола. 04.06.2013 г. выполнена ТУР стенки МП. Патогистологическое заключение: переходно-клеточный рак. В послеоперационном периоде получил 7 курсов внутривезикулярной химиотерапии (доксорубицин 50 мг еженедельно). Больной находился под диспансерным наблюдением.

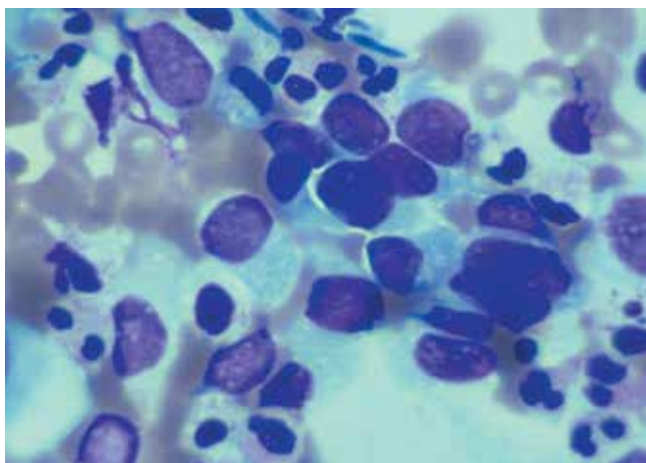


Рис. 4. Микрофотография цитологического препарата от пациента М.: переходно-клеточный РМП. Окраска по Романовскому–Гимзе, × 1000

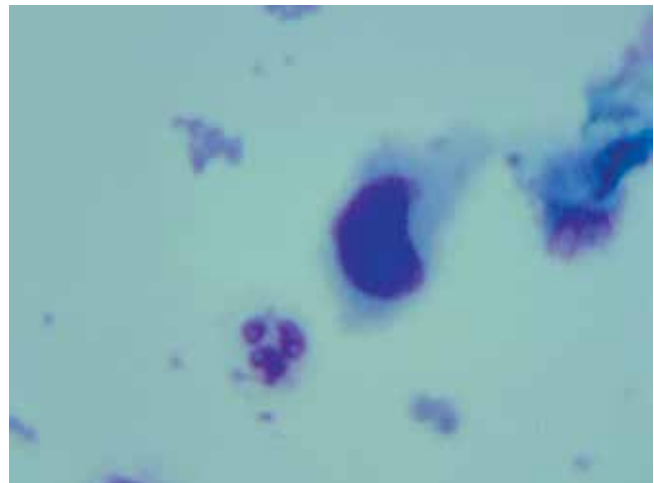


Рис. 5. Микрофотография цитологического препарата от больного П.: переходно-клеточный РМП. Окраска по Романовскому–Гимзе, × 1000

При контрольном обследовании 02.09.2013 г. проведена фиброуретероцистоскопия. При эндоскопическом исследовании обнаружен подозрительный участок в области послеоперационного рубца. Полученный спиртовый смыв МП был разделен на 2 порции. Цитологическое исследование первой порции было проведено традиционным методом. В результате традиционного цитологического исследования опухолевых клеток не обнаружено. Вторая порция смыва МП была исследована методом жидкостной цитологии с использованием питательной среды 199.

В результате использования метода жидкостной цитологии были обнаружены клетки переходно-клеточного рака (рис. 5). По результатам выполненного обследования у больного диагностирован рецидив РМП.

Заключение

Таким образом, жидкостная цитология с использованием питательной среды 199, в отличие от традиционного цитологического исследования осадка мочи или смыва МП, 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, сокращением времени и повышением производительности исследования.

Качественный и количественный состав питательной среды 199 при использовании в диагностике РМП является адекватным для нормального метаболизма клеток, способен поддерживать их нормальное осмотическое давление и необходимый уровень кислотно-щелочного равновесия. Использование пита-

тельной среды 199 значительно повышает возможности сохранения и транспортировки клеток (до 72 ч) и их дальнейшего использования для морфологических и иммуноцитохимических исследований.

Питательная среда 199 выпускается отечественной промышленностью, что обуславливает невысокую себестоимость, а также обеспечивает соответствие ис-

пользования метода жидкостной цитологии критерию промышленной применимости.

Использование метода жидкостной цитологии в онкологии, урологии, клинической лабораторной диагностике значительно повышает чувствительность метода цитологического исследования в диагностике опухолей МП.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Клиническая онкоурология. Под ред. Б.П. Матвеева. М., 2011. 934 с.
2. Переверзев А.С., Петров С.Б. Опухоли мочевого пузыря. Харьков: Факт, 2002. 303 с.
3. Руководство по цитологической диагностике опухолей человека. Под ред. А.С. Петрова. М.: Медицина, 1976. 301 с.
4. Леонов М.Г., Шелякина Т. В. Современные возможности профилактики и ранней диагностики рака шейки матки. М.: Вузовская книга, 2012. 288 с.
5. 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.
6. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. М.О. Биргера. М.: Медицина, 1982. 464 с.