

[Перейти в содержание Вестника РНЦРР МЗ РФ N8.](#)

Текущий раздел: **Урология**

Результаты анализа клеточного цикла осадка мочи больных раком мочевого пузыря.

Боженко В.К., Кулинич Т.М., Нестеров П.В. ФГУ “РНЦРР Росмедтехнологий” г. Москва.

Адрес документа для ссылки:

http://vestnik.rncrr.ru/vestnik/v8/papers/bozh_v8.htm

Резюме

Рак мочевого пузыря (РМП) является достаточно частой патологией: его встречаемость составляет примерно 2–5% от всех новообразований и 30–40% опухолей мочеполовой системы; занимает второе место после рака предстательной железы. С появлением метода проточной цитометрии появилась возможность быстро и объективно определять особенности пролиферации и достоверно выявлять аномальное содержание ДНК в ядрах опухолевых клеток и провести изучение коррелятивных связей с классическими параметрами характеризующими течение опухолевого процесса. Были проанализированы результаты проточной цитометрии осадка мочи 50 больных РМП (10 женщин и 40 мужчин). Было выявлено преобладание высокой степени злокачественности в анеуплоидных опухолях: Т3-Т4 уровень инвазии и III степень опухолевой анаплазии (G3) отмечались в 83,33% наблюдений; при диплоидных опухолях Т3-Т4 уровень инвазии и G3-степень злокачественности встречались в 16,67% случаев. Пролиферативная активность переходно-клеточного эпителия мочевого пузыря при злокачественном поражении превышает нормальное значение в 7–8 раз.

Summary

Results of cell cycle analysis in bladder cancer.

Federal State Enterprise Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (Russian Medical Technologies Department)

Bojenko V.K, Kulinich T.M., Nesterov P.V.

Bladder Cancer (BC) is a fairly frequent pathology: its occurrence is about 2–5% of all neoplasms, and 30–40% of tumors of the urinary system; ranks second after prostate cancer. With the advent of flow cytometry method has been possible to quickly and objectively identify particular proliferation and reliably identify abnormal content of DNA in the nuclei of tumor cells and to study the correlation ties with the classical parameters characterizing the tumor during the process. Results were analyzed urine flow cytometry sludge RMP 50 patients (10 women and 40 men). It

identified the dominance of the high degree of malignancy in combination tumors: T3-T4 level invasion and the high grade neoplasms (G3) were noted in 83.33% of cases, with diploid tumors T3-T4 level of invasion and G3 BC malignancy met in 16.67% cases. Proliferative activity of transitional cell bladder epithelium in malignant lesions greater than normal value in 7-8 times.

Оглавление:

Введение.

Материалы и методы.

Результаты.

Список литературы.

Введение.

Рак мочевого пузыря (РМП) является достаточно частой патологией: его встречаемость составляет примерно 2–5% от всех новообразований и 30-40% опухолей мочеполовой системы; занимает второе место после рака предстательной железы. Ежегодно в мире диагностируется до 200 000 новых случаев РМП, 66 тысяч из которых приходится на европейский континент [1,2]. В структуре онкологической заболеваемости в России частота РМП достигает ориентировочно 15,1 случаев на 100 000 человек в год у мужчин и 3,5 у женщин [3].

В биологии РМП очень многие вопросы требуют объяснения. К примеру, почему в одних случаях РМП остается локальным, а иногда, будучи морфологически идентичным, прогрессирует и дает метастазы? Своеобразие клинического течения и трудности в определении прогноза этого заболевания подталкивают нас к поиску новых биологических маркеров, с одной стороны определяющих теоретические аспекты развития опухоли, с другой стороны имеющих практическое значение в прогнозировании и выборе тактики лечения.

С появлением метода проточной цитометрии появилась возможность быстро и объективно определять особенности пролиферации и достоверно выявлять аномальное содержание ДНК в ядрах опухолевых клеток и провести изучение коррелятивных связей с классическими параметрами характеризующими течение опухолевого процесса [4]. В ходе ряда исследований [5,6] было установлено, что анеуплоидия, выявленная

методом проточной цитометрии, является прогностически неблагоприятным фактором и показателем высокостепенности потенциала опухоли.

Нами был проведен анализ показателей проточной цитометрии осадка мочи у больных РМП. Следует отметить, что публикаций в отечественной литературе по данной тематике мы не встретили.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Материалы и методы.

Были проанализированы результаты проточной цитометрии осадка мочи 50 больных РМП (10 женщин и 40 мужчин). У 26 пациентов (52%) были выявлены поверхностные опухоли мочевого пузыря и у 24 (48%) – инвазивные формы РМП. В 22 случаях (44%) опухоли были высокодифференцированы (G1), в 16 случаях (32%) – умереннодифференцированы (G2) и в 12 случаях (24%) опухоли были представлены низкодифференцированным РМП. Материалом для исследования являлся осадок утренней порции мочи. Исследование проводилось на аппарате DAKO, (Дания). Выполнялась фиксация осадка мочи раствором 70% этанола, затем производилась окраска материала с помощью антител к цитокератину (моноклональные антитела к цитокератину IMMUNOTECH, Франция, № 2356). В качестве флуорохрома для метки ДНК эпителиальных клеток использовался пропидия йодид (CALBIOCHEM, № 537059).

Исходя из того, что все клетки переходного эпителия мочевого пузыря, в норме (находящиеся в G0/1 фазе клеточного цикла) обладают диплоидным набором хромосом (2n), в своем исследовании мы придерживались мнения о том, что обнаружение анеуплоидных клеток в осадке мочи является абсолютным показателем наличия злокачественной опухоли мочевого пузыря [7]. Анеуплоидными считали образцы в случае наличия более одного G1 пика на ДНК-гистограмме.

Для характеристики степени анеуплоидии применяли индекс ДНК (ИДНК), который вычисляли как соотношение интенсивности флуоресценции пика анеуплоидных клеток к пику диплоидных. ИДНК диплоидных клеток (2c) принимали за 1, анеуплоидных клеток – более 1,1 или менее 1, ИДНК тетраплоидных клеток был равен соответственно 2.

Помимо ploидности эпителиальных клеток с помощью проточной цитометрии также изучалось количественное распределение клеток по фазам клеточного цикла - определение индекса пролиферации (ИП) - S-фаза+G2M.

Результаты проточной цитометрии во всех случаях были соотнесены с данными гистологического исследования (материал, полученный во время цистоскопии либо послеоперационный материал).

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Результаты.

Необходимо отметить то, что анализ показателей проточной цитометрии был возможен в 90% случаях (45 образцов мочи), в виду того, что в 5 случаях на момент забора мочи для анализа у пациентов была выраженная макрогематурия.

По результатам исследования в 16 случаях (35,36%) распределение ДНК в клетках осадка мочи было диплоидным, анеуплоидия наблюдалась в 29 (64,45%) случаях (в 9 случаях (31,03%) ИДНК был менее 1, в 19 случаях (65,51%) – более 1,1, и в 1 случае (3,45%) была получена гипертетраплоидия – ИДНК составил 2,3). Среднее значение ИДНК для анеуплоидной линии клеток составило $1,30 \pm 0,38$. При анализе значений ИДНК была выявлена следующая закономерность: гипердиплоидные образцы, в процентном соотношении преобладали, в случае T3-T4 уровня инвазии – 80% и при низкодифференцированных опухолях (G3) – 90%.

Мы проанализировали взаимосвязь содержания ДНК в клетках осадка мочи с морфологическими характеристиками опухолевого процесса – уровень инвазии опухоли (T) и степень клеточной анаплазии опухоли (G). Было выявлено преобладание высокой степени злокачественности в анеуплоидных опухолях: T3-T4 уровень инвазии и III степень опухолевой анаплазии (G3) отмечались в 83,33% наблюдений; при диплоидных опухолях T3-T4 уровень инвазии и G3-степень злокачественности встречались в 16,67% случаев. И наоборот – в случае поверхностных Ta-T1 и высокодифференцированных (G1) наиболее часто встречались диплоидные – 47,83% и 50% соответственно (см. таб. 1 и 2).

Таблица 1.

Показатели проточной цитометрии в зависимости от степени опухолевой инвазии (Т) (n=45).

КатегорияТ	z	Кол-во диплоидных опухолей(%)	Кол-во анеуплоидных опухолей (%)
Та-Т1	23	11(47,83%)	12(52,17%)
Т2	10	3(30,00%)	7(70,00%)
Т3-Т4	12	2(16,67%)	10(83,33%)
Всего	45	16(35,56%)	29(64,44%)

Примечание: z – количество информативных образцов мочи

Таблица 2.

Показатели проточной

цитометрии в

зависимости от степени опухолевой анаплазии (G) (n=45).

СтепеньG	z	Кол-во диплоидных опухолей(%)	Кол-во анеуплоидных опухолей (%)
G1	18	9(50%)	9(50%)
G2	15	5(33,33)	10(67,67%)
G3	12	2(16,67%)	10(83,33)
Всего	45	16(35,56%)	29(64,44%)

Примечание: z – количество информативных образцов мочи;

Необходимо также отметить то, что и в целом анеуплоидные

опухоли преобладали над диплоидными - 64,44% и 35,56% соответственно. Величина пролиферативной активности опухолевой ткани является одним из важнейших прогностических критериев развития опухоли. Так рядом исследователей установлено, что величина S-фазы обладает большим прогностическим значением прогрессии и рецидивирования поверхностных опухолей мочевого пузыря [8,9]. В норме всего лишь 4-6% эпителиальных клеток мочевого пузыря находятся в фазе пролиферации (S+G2M) [10]. При позиционировании проточной цитометрии осадка мочи в качестве метода диагностики РМП величина ИП, превышающая 20%, является диагностическим критерием РМП [11]. В нашем исследовании средняя величина индекса пролиферации превышала 20%-й уровень как в случае поверхностных, так и инвазивных форм рака мочевого пузыря, вне зависимости от плоидности. Так среднее значение ИП для поверхностных диплоидных опухолей составило $27,92 \pm 23,35$, для анеуплоидных - $28,11 \pm 21,86$; при Т2 уровне инвазии ИП диплоидных образцов был $30,76 \pm 20,37$, анеуплоидных - $35,44 \pm 28,17$; при Т3-Т4 уровне инвазии ИП

анеуплоидных опухолей составил $37,64 \pm 27,9$, информативных диплоидных образцов мочи при T3-T4 уровне инвазии опухоли получено не было. В зависимости от степени клеточной анаплазии (G) результаты распределились были во многом аналогичны: среднее значение ИП диплоидных образцов при G1 составило $33,32 \pm 22,56$, анеуплоидных - $37,50 \pm 28,82$; диплоидных при G2- $41,85 \pm 30,93$, анеуплоидных - $38,03 \pm 23,30$; анеуплоидных при G3 - $49,18 \pm 28,69$, информативных диплоидных образцов мочи при G3 степени клеточной анаплазии получено не было. Как видно во всех случаях среднее значение ИП анеуплоидных опухолей превышает таковой показатель для диплоидных, за исключением группы при T2 уровне инвазии, где ИП диплоидных образцов был выше анеуплоидных. Но различия во всех группах недостоверны ($p < 0,05$). Это обусловлено большим разбросом значений ИП внутри групп.

Следовательно, пролиферативная активность переходно-клеточного эпителия мочевого пузыря при злокачественном поражении превышает нормальное значение в 7-8 раз.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Выводы.

Таким образом, у больных с анеуплоидными опухолями значительно чаще встречается низкая дифференцировка опухоли, инвазия в мышечный слой стенки мочевого пузыря, что свидетельствует об анеуплоидии как о показателе высокозлокачественного потенциала опухоли. Самым неблагоприятным вариантом РМП, с точки зрения содержания ДНК в клетке, является анеуплоидный гипердиплоидный рак. Очевидно, что содержание ДНК при РМП является ценным прогностическим критерием. Изучение данного биологического маркера заслуживает пристального внимания.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Список литературы.

1. Якубович Г.Л., Ковалев Б.Н., Алексеев Б.Я. и др., Сравнительная экономическая оценка хирургических методов лечения рака мочевого пузыря//Материалы V Всероссийского съезда онкологов.- Казань.-2000.- с.124-125.

2. Borden L S Jr, Clark P E, Hall M C, Bladder Cancer // Curr . Opin. Oncol.-2003.-V.15.-P.227-233.
3. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2005г. Под редакцией академика РАН и РАМН М.И.Давыдова и доктора биологических наук Е.М.Аксель// Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина.-2007.-т.18.-прилож.1.-с.58-59.
4. Blasco E., Gutierrez-Hoyos A., Garrido C., Arozena F. Prognostic markers in transitional cell carcinoma of the bladder.// Arch. Esp. Urol.-1991.-V.44(1).-P.47-52.
5. Blomjous C., Schipper N., Vos W. et al. Comparison of quantitative and classic prognosticators in urinary bladder carcinoma.// Vichows Arch. A.- 1989.-V.415(5).-P.421-428.
6. Miao T., Wang Z., Sang N. et al. Clinical significance of flow cytometric deoxyribonucleic acid measurements of deparaffinized specimens in bladder tumors.//Eur.Urology.-1992.-V.21(2).-P.98-102.
7. Hadjissotiriou G. G., Green D. K., McIntyre M. A. et al. DNA/RNA ratio in bladder cancer: a factor indicating the recurrence rate? // Brit. J. Urol.-1985.-Vol. 57.-P.668-675.
8. de Vere White R.W., Deitch A.D., Daneshmand S. et al. The prognostic significance of S-phase analysis in stage Ta/T1 bladder cancer. A Southwest Oncology Group Study. // Eur. Urol.- 2000- V.37.-P.595-600.
9. Falkman K., Tribukait B., Nyman R., Larsson P., Norming U. S-phase fraction in superficial urothelial carcinoma of the bladder--a prospective, long-term, follow-up study.// Scand. J. Urol. Nephrol.- 2004.- V.38.-I.4.-P.278-284.
10. Melamed MR, Klein FA. Flow cytometry of urinary bladder irrigation specimens// Hum. Pathol.- 1984.- V.5.-P.302-305.
11. Slaton J.W., Dinney C.P.N., Veltri R.W. et al. Deoxyribonucleic acid ploidy enhances the cytological prediction of recurrent transitional cell carcinoma of the bladder// J. Urol. -1997.- V.158.-P. 806-811.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

[© Вестник РНЦПР Минздрава России](#)

[© Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава России](#)