

© ЯКУНИНА Е. Ю., МОШЕВ А. В., СЕМЕНОВ Э. В., МАЗАЕВ А. В.

УДК 616-003.361-076.5:616-091.8

## ПРОТОЧНАЯ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЯ КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА КЛЕТОЧНОГО ОСАДКА МОЧИ

Е. Ю. Якунина, А. В. Мошев, Э. В. Семенов, А. В. Мазаев

КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского»

**Резюме.** Изучение клеточного осадка мочи с использованием метода проточной цитофлуориметрии можно рассматривать как перспективный метод ранней диагностики уротелиального рака. В настоящей работе представлены данные по изучению ploидности ДНК в клеточном осадке мочи, что позволяет дифференцировать клетки с диплоидным и анеуплоидным набором ДНК. Кроме того, помимо определения перерожденных клеток результаты исследования несут информацию об интенсивности восстановления уротелиального эпителия.

**Ключевые слова:** уротелиальный рак, проточная цитофлуориметрия, ДНК, пропидия иодид, ki-67.

## FLOW CYTOMETRY – MODERN METHODS OF ANALYSIS OF URINE CELLULAR SEDIMENT

E. Yu. Yakunina, A. V. Moshev, E. V. Semenov, A. V. Mazaev

**Abstract.** The study of urine sediment cell using the method of flow cytometry is promising method for early diagnosis of urothelial cancer. This paper presents the results of analysis of DNA ploidy in cellular urine sediment. This makes it possible to differentiate the cells with aneuploid and diploid amount of DNA. In addition to determining, the results of the study of degenerative cells provide information about recovery urothelial epithelium intensity.

**Key words:** urothelial cell carcinoma, flow cytometry, DNA, propidium iodide, ki-67.

Онкоурологические заболевания составляют около 25% всех злокачественных опухолей у мужчин [1, 3]. В качестве одного из перспективных методов ранней диагностики онкоурологической патологии можно рассматривать изучение клеточного осадка мочи с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Общий анализ мочи является одним из наиболее востребованных анализов в клинике и у здоровых людей для скрининга на патологию мочевого пузыря. Традиционное исследование мочи представляет собой двухступенчатую процедуру. На первом этапе мочу тестируют полуколичественно. На втором этапе осадок мочи исследуют под микроскопом. Микроскопия мочи для исследования клеточных элементов является длительной по времени и требует участия эксперта. Множество факторов влияет на конечный результат. Эти факторы можно подразделить на преаналитические, такие как центрифугирование, и аналитические, например, вариабельность интерпретации структур мочевого осадка разными врачами-цитологами. Эти ограничения приводят к неточностям и погрешностям [4]. В современной практике существует возможность расширить спектр выполняемых исследований, дополнив общий анализ мочи новыми важными клиническими показателями.

Анализ клеточного осадка мочи с использованием методов проточной цитофлуориметрии способен предоставить для клинициста объективные данные по состоянию пациента. Кроме того, помимо возможностей

для дифференцировки типов клеток, данная технология открывает широкие возможности для поиска новых ранних маркеров различных заболеваний. Так, описан и зарегистрирован метод диагностики уротелиального рака на основании клеточного цикла осадка мочи методом проточной цитофлуориметрии [2]. Описанная технология позволяет на основании анализа показателей клеточного цикла осадка мочи (ploидность эпителиальных клеток, величина индекса пролиферации, количество гиперploидных клеток) проводить неинвазивную, многопараметрическую диагностику рака мочевого пузыря. Методика обладает большими показателями чувствительности, нежели рутинно используемый классический метод цитологического исследования осадка мочи. Метод может применяться в диагностике, как первичных опухолей, так и при мониторинге органосохраняющего лечения. Кроме того, показатели проточной цитофлуориметрии могут являться независимыми факторами прогноза течения уротелиального рака. Аналоги подобного анализа в последнее время активно применяются за рубежом. Так, определяется количественно содержание ДНК в клетках, на основании различной флуоресценции гаплоидных (содержание ДНК 1n), диплоидных (содержание ДНК 2n) и анеуплоидных (содержание ДНК больше 2n) клеток.

На сегодняшний день на базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского» начато исследование клеточного

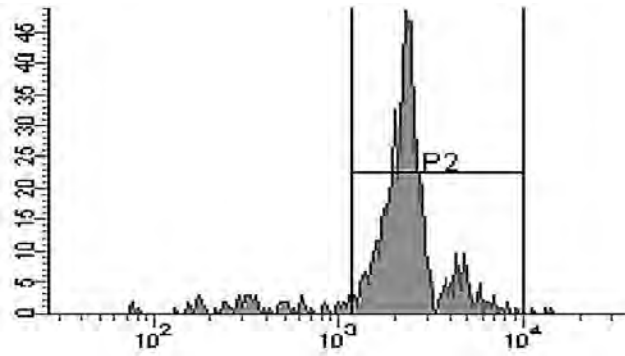


Рис. 1. Гистограмма связывания пропидия иодида с ДНК клеток осадка мочи.

осадка мочи с использованием технологии проточной цитофлуориметрии. Проведено обследование первых порций утренней мочи здоровых доноров, а также моча пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций (уротелиальный рак, почечно-клеточный рак, рак предстательной железы).

Полученные данные по изучению пloidности ДНК в клеточном осадке мочи (рис.1) с использованием иодида пропидия позволяют четко дифференцировать клетки с диплоидным и анеуплоидным набором ДНК. Помимо определения перерожденных клеток подобные данные несут информацию об интенсивности восстановления эпителия мочевыделительной системы.

Кроме того, проводится исследование клеточного цикла в осадке мочи здоровых доноров. В клинической практике используется анализ клеточного осадка на основании окрашивания его пропидием иодидом и мечеными флуорохромом антителами к ki-67.

Данные, полученные в результате проведенной работы можно использовать в качестве контрольных показателей при дальнейших исследованиях. Кроме того, результаты клеточного анализа может быть использованы для поиска ранних маркеров диагностики опухолей мочеполовой системы, а также при изучении закономерностей развития и прогрессирования патологий, затрагивающих мочевой пузырь и почки. Кроме того, предполагается актуальным использование описанных данных при исследовании эффективности терапии рака мочевого пузыря.

#### Литература

1. Модестов А.А., Сафонцев И.П., Зуков Р.А., Слепов Е.В., Клименок М.П., Гаас Е.Н. Онкологическая заболеваемость в Красноярском крае // Российский онкологический журнал. – 2016. – Т. 21, № 1-2. – С. 76-80.
2. Разрешение на применение новой медицинской технологии ФСН№2009/114 от 27.05.2009г. Диагностика рака мочевого пузыря на основании клеточного цикла осадка мочи методом проточной цитофлуориметрии. (медицинская технология) выдано ФГУ «Российский научный центр рентгенодиагностики федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи» Росмедтехнологий.
3. Семёнов Э.В., Мазаев А.В., Зуков Р.А., Куртасова Л.М. Факторы прогноза у больных раком мочевого пузыря // Сибирское медицинское обозрение. – 2015. – № 5. – С. 13-22.
4. Chien T., Kao J. T., Lin P. C. et al. Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy // Clin. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 384. – p. 28-34.

©ЯКУНИНА Е. Ю., МОШЕВ А. В., МОДЕСТОВ А. А.

УДК 616.24-006.04:575.224.234

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ ГЕНА EGFR У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Е. Ю. Якунина<sup>1</sup>, А. В. Мошев<sup>1</sup>, А. А. Модестов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского»;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого,

**Резюме.** Рак легкого является одной из самых распространенных онкологических патологий. Определение молекулярно-биологических маркеров в опухоли предоставляет информацию о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам и т. п. Кроме того, в настоящее время отбор больных немелкоклеточным раком легкого для терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназ проводится на основании наличия или отсутствия мутаций гена EGFR. В исследовании показано, что из общего числа пациентов с аденокарциномой легкого 25% несут изученные активирующие мутации гена.

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома легкого, EGFR, мутация, пролиферация.