

*И.А. Круглова<sup>1</sup>, С.В. Зиновьев<sup>2</sup>, А.Е. Пурсанова<sup>2</sup>, О.В. Уткин<sup>3</sup>, А.Н. Денисенко<sup>1</sup>*

### **Влияние способа забора материала на результаты цитоморфологического исследования в диагностике новообразований слизистой оболочки рта**

<sup>1</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница №35»,

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации,

<sup>3</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора»,  
г. Нижний Новгород

Слизистая оболочка полости рта и подлежащие ткани имеют сложную анатомическую структуру, обуславливающую специфику клинического течения и лечения развивающихся здесь опухолей. Злокачественные опухоли, возникающие в полости рта, в большинстве случаев имеют строение плоскоклеточного ороговевающего рака. В условиях стоматологической клиники диагностика предопухолевых и опухолевых изменений представляет серьезные трудности основной причиной которых является малая онкологическая настороженность врачей-стоматологов, а также отсутствие необходимого оборудования и современных малоинвазивных способов раннего выявления рака. Гистологическое исследование достаточно редко применяется в стоматологии, так как предполагает прижизненный забор патологической ткани (биопсию) и имеет ряд недостатков, связанных с работой острым инструментом, возможностью кровотечения, ошибками при заборе материала, длительностью ожидания результата от врача-патолога. Учитывая наружную локализацию новообразований СОР и ККГ, процедура забора материала для цитологического исследования является простой и высоко чувствительной (чувствительность метода 90-95%).

**Цель:** оценка возможности цитологической диагностики в практической деятельности стоматолога и влияния различных способов забора материала на результаты морфологического анализа.

**Материалы и методы исследования.** Проанализировано 114 образцов от 38 пациентов, обратившихся за стоматологической помощью с жалобами на новообразования в ротовой полости. Материал от каждого пациента забирался тремя способами с последующим цитологическим исследованием.

**Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что наименьший процент выявления злокачественных изменений в клетках пациентов наблюдался при самостоятельном смыве с СОР, а наибольший процент патологически измененных клеток детектировался при заборе материала методом мазка отпечатка. Полученные результаты цитологического исследования сопоставлены с данными гистологии, где выявлены различные процентные совпадения в зависимости от способа забора материала.

**Заключение:** применение цитологического метода исследования в стоматологической практике при адекватном заборе материала позволяет выявить злокачественные изменения клеток более чем в 80% случаев.

**Ключевые слова:** цитологическое исследование, новообразования слизистой оболочки рта, преаналитический этап цитологического исследования

#### **Введение**

Слизистая оболочка полости рта и подлежащие ткани имеют сложную анатомическую структуру, обуславливающую специфику клинического течения и лечения развивающихся здесь опухолей. Злокачественные опухоли, возникающие в полости рта, в большинстве случаев (90-95%) имеют строение плоскоклеточного ороговевающего рака. Среди злокачественных опухолей области головы и шеи рак органов полости рта по частоте занимает второе место после рака гортани [6].

Предраковые заболевания слизистой оболочки рта (СОР) и красной каймы губ (ККГ) являются важной проблемой современной онкологии и стоматологии. Различают предраки с высокой (облигатной) и малой (факультативной) частотой озлокачествления. По данным Д. Ла-

скарис (2006) вероятность малигнизации веррукозной лейкоплакии составляет 20-40%, эрозивной 20-30%, плоской 4,2%, красного плоского лишая 1%. Абразивный преинвазивный хейлит Манганотти относят к облигатным предракам с высокой потенциальной злокачественностью в 9-42% случаев, болезнь Боуэна в 100% трансформируется в рак (Машкиллейсон А.Л., 1970). Хронические трещины, язвы СОР и ККГ также относят к факультативным предракам (Машкиллейсон А.Л., 1977) [1-4].

Возникновению предраковых процессов СОР способствуют хронически действующие факторы экзо- и эндогенного характера. Их длительное воздействие приводит к развитию хронического воспаления, изменению метаболических процессов, нарушению пролиферативной активности и процессов ороговения в эпителии СОР и ККГ с образованием трещин, эрозий и язв. Данная картина усугубляется на фоне снижения общей реактивности организма, обусловленной влиянием различных вирусов. Так вирус Эпштейна-Барр и вируса папилломы человека участвуют в развитии рака СОР [5, 7, 8, 10].

Актуальность ранней диагностики, выбора методики лечения и тактики ведения стоматологических больных с предопухолевыми процессами тесным образом связаны с профилактикой малигнизации патологического процесса. В условиях стоматологической клиники диагностика предопухолевых и опухолевых изменений представляет серьезные трудности. Основной причиной несвоевременной диагностики является малая онкологическая настороженность врачей-стоматологов вследствие недостаточной осведомленности в вопросах этиологии и патогенеза предраковых заболеваний, признаках малигнизации новообразований, методов их диагностики, а также отсутствие необходимого оборудования и современных малоинвазивных способов раннего выявления рака. Отсутствие лабораторий для цито- и гистологического исследования биоматериала или их удаленность, незнание схемы организации онкологической службы, сложности во взаимодействии с врачами-онкологами, неадекватная тактика и лечение при появлении первых симптомов озлокачествления приводят к «запущенной» диагностике рака чаще всего в 3-4 стадии развития [9]. По мнению большинства исследователей, заболевания слизистой оболочки рта, сопровождающиеся гиперпластическим процессом, не поддающиеся консервативному лечению в течение 2-3 недель, нуждаются в морфологическом исследовании и консультации врача-онколога.

В связи с этим профилактика, раннее минимально инвазивное выявление новообразований, своевременное лечение являются важной задачей современной медицины.

Учитывая наружную локализацию новообразований СОР и ККГ, процедура забора материала для цитологического исследования является простой. Наиболее распространено цитологическое исследование эпителия СОР с целью выявления нарушений в дифференцировке эпителиальных клеток на фоне различных патологических процессов. Чувствительность цитологического исследования составляет 90-95% [3].

Гистологическое исследование достаточно редко применяется в стоматологии, так как предполагает прижизненный забор патологической ткани (биопсию) и имеет ряд недостатков, связанных с работой острым инструментом, возможностью кровотечения, ошибками при заборе материала, длительностью ожидания результата от врача-патолога.

Целью исследования была оценка возможности цитологической диагностики в практической деятельности стоматолога и влияния различных способов забора материала на результаты морфологического анализа.

### Материалы и методы исследования

Проанализировано 114 цитологических препаратов от 38 пациентов, обратившихся за стоматологической помощью с жалобами на язвы и новообразования в ротовой полости. Материал от каждого пациента забирался тремя способами:

- мазок-отпечаток с пораженного очага, полученный путем прикладывания кусочка канцелярской резинки к патологическому очагу с последующим отпечатком его на предметном стекле;
- соскоб очага поражения, для получения которого были использованы цитологические щетки типа «А» (универсальная), которые после забора материала помещались в пробирку с транспортной питательной средой;
- самостоятельный смыв из ротовой полости, выполняемый пациентом с использованием 10,0 мл стерильного 5% раствора глюкозы после очистки ротовой полости дистиллированной водой.

С целью получения адекватных (достоверных) результатов забор материала начинался с самостоятельного смыва с ротовой полости, после которого были выполнены мазки-отпечатки и соскобы с патологического очага. После забора биоматериала цитологические препараты готовились традиционным способом с окрашиванием по Романовскому. Визуализация цитологических препаратов осуществлялась с помощью микроскопа Zeiss Primo Star (Carl Zeiss, Германия).

### Результаты и обсуждения

Средний возраст пациентов в исследовании составил  $57 \pm 3,4$  года, соотношение мужчин и женщин 2,17/1,0. Давность заболевания варьировала от 6 до 24 мес.

Цитологическое исследование материала пациентов в случае мазков-отпечатков показало следующую картину: заключение карцинома дано 16 пациентам, подозрение на рак — 7,

воспалительный процесс, включая *Trichomonas elongate* — 9, гиперкератоз — 2, без патологии — 4 пациента. При просмотре материала с соскобов СОР заключение о наличии карциномы дано 9 пациентам, подозрение на рак — 3, гиперкератоз — 1, воспалительный процесс, включая *Trichomonas elongate* — 5, патологии не выявлено у 20 пациентов. Результаты цитологического исследования материала самостоятельных смывов из ротовой полости распределились следующим образом: карцинома — 3, воспаление — 9, гиперкератоз — 1, не выявлено патологии — 25 пациентов (табл. 1).

Во всех случаях карциномы тканевая принадлежность определена как плоскоклеточный рак с различной степенью выраженности патологического ороговения или без него. При этом в цитологической картине на светооптическом уровне наблюдались раздельно лежащие клетки многослойного плоского эпителия (МПЭ) с выраженными признаками клеточной и ядерной атипичности, а также наличием в цитоплазме патологического ороговения (рис. 1).

При микроскопии цитологических препаратов без патологии ротовой полости в цитологической картине отмечалось наличие не измененных клеток МПЭ преимущественно поверхностного слоя, фоновые элементы в виде нейтрофильных лейкоцитов единичные в поле зрения (рис. 2).

Цитологическая картина воспалительного процесса наблюдаемого в исследуемых препаратах характеризуется на микроскопическом уровне наличием пластов МПЭ различного размера, а также раздельно лежащих эпителиальных клеток, в части эпителиального компонента отмечались признаки паракератоза и реактивных изменений, фоновый компонент представлен

обильным количеством дегенеративно измененных нейтрофильных лейкоцитов и разнообразной микрофлорой (бактерии, элементы гриба рода *Candida*, простейшие — *Trichomonas elongate*, а также косвенные признаки вирусного поражения) (рис. 3). Сочетания различных вариантов микрофлоры и патологических процессов в СОР представлены в табл. 2.

Сопоставление результатов цитологического анализа с таковыми в рамках гистологического исследования осуществлялось у 37 из 38 пациентов (97,3%). У одного пациента в рамках амбулаторного звена возможность проведения гистологического исследования отсутствовала. Результаты цитологического исследования были сопоставлены с гистологическими отдельно в зависимости от способа забора материала. В результате сопоставления получены следующие результаты:

- при взятии мазка отпечатка с пораженного очага у 30 пациентов (в 81,1% случаев) ложноположительных/ложноотрицательных результатов не отмечалось;

- при соскобе с патологического очага у 22 пациентов (в 59,4% случаев) ложноположительных результатов не обнаружено, ложноотрицательные — 8.

- при смыве из ротовой полости у 9 пациентов (в 24,3% случаев) ложноположительных результатов не выявлено, ложноотрицательные — 13.

Следует отметить, что у 6 пациентов (15,8%) забору цитологического материала предшествовало инвазивное вмешательство (биопсия) по месту жительства в сроке от 1 до 4 недель. Примеры цито-гистологических заключений представлены в табл. 3.

**Таблица 1. Результаты цитологического исследования материала СОР**

	Самостоятельный смыв		Мазок -отпечаток		Соскоб	
	абс	%	абс	%	абс	%
Карцинома	3	7,89	16	42,1	9	23,6
Подозрение на рак	-	-	7	18,42	3	7,89
Воспалительный процесс, включая <i>Trichomonas elongate</i>	9	23,6	9	23,6	5	13,16
Гиперкератоз	1	2,63	2	5,26	1	2,63
Без патологии	25	65,88	4	10,5	20	52,6

**Таблица 2. Сочетание микрофлоры полости рта с патологическими процессами СОР**

	Карцинома СОР	Подозрение на рак	Воспаление	Гиперкератоз	Без патологии
<i>T. elongate</i>	3	1	5	-	1
<i>Candida</i>	-	-	4	-	-
Вирусное поражение (косвенные признаки)	4	2	1	-	3
Сочетание <i>T.elongate</i> + вирусное поражение	1	2	1	-	-

**Таблица 3. Результаты сопоставления цито-гистологических диагнозов**

Цитологический диагноз	Гистологический диагноз	Причина расхождения
В препарате единичные клетки эпителия с признаками атипии, относящиеся к плоскоклеточной ороговевающей карциноме. Отмечаются <i>Trichomonas elongate</i>	Плоскоклеточный рак с тенденцией к орогованию	Низкая клеточность цитологического материала
Цитологическая картина лечебного патоморфоза	В пределах материала опухолевого роста нет	Более четко просматриваются изменения отдельных клеток на цитологическом уровне
Цитологическая картина не позволяет исключить наличие ПКР	Плоскоклеточный неороговевающий рак с изъязвлением	Не резко выраженные клеточные изменения
На фоне гнойно-некротических масс отмечается небольшое количество клеток МПЭ с признаками атипии, относящиеся к ПКР	Пласты некроза с комплексами ороговевающего рака	Низкая клеточность цитологического материала, преобладание фоновых элементов
Скудный клеточный состав: на фоне гнойно-некротических масс отмечается небольшое количество клеток МПЭ с признаками дискарриоза и дисплазии 2 степени	Плоскоклеточный рак с тенденцией к орогованию	Преобладание фоновых элементов. Не резко выраженные клеточные изменения, забор цитологического материала через 2 недели после биопсии
В препарате клетки МПЭ, без атипии, небольшое количество клеток с признаками метаплазии, единичны клетки с признаками гиперкератоза	Плоскоклеточный рак с тенденцией к орогованию	Забор цитологического материала через 1,5 недели после биопсии
В препарате гнойно-некротические массы, на фоне которых небольшое количество клеток МПЭ без атипии, отмечаются единичные клетки с признаками гиперкератоза	Верукозная лейкоплакия с дисплазией 1 степени и прилегающими бесструктурными массами белка, пропитанные лейкоцитами. Возможно, материал взят вблизи опухолевого роста	Преобладание фоновых элементов
Цитологические признаки карциномы с базальноклеточной дифференцировкой	Плоскоклеточный рак с орогованием	
Цитограмма дисплазии 2-3 степени	Высоко дифференцированный плоскоклеточный рак	Не резко выраженные клеточные изменения
На фоне нейтрофильных лейкоцитов и клеток гистиоцитарного ряда отмечаются единичные клетки МПЭ с признаками атипии, относящиеся к ПКР	Высоко дифференцированный плоскоклеточный рак	Малое количество эпителиальных клеток в цитологическом материале

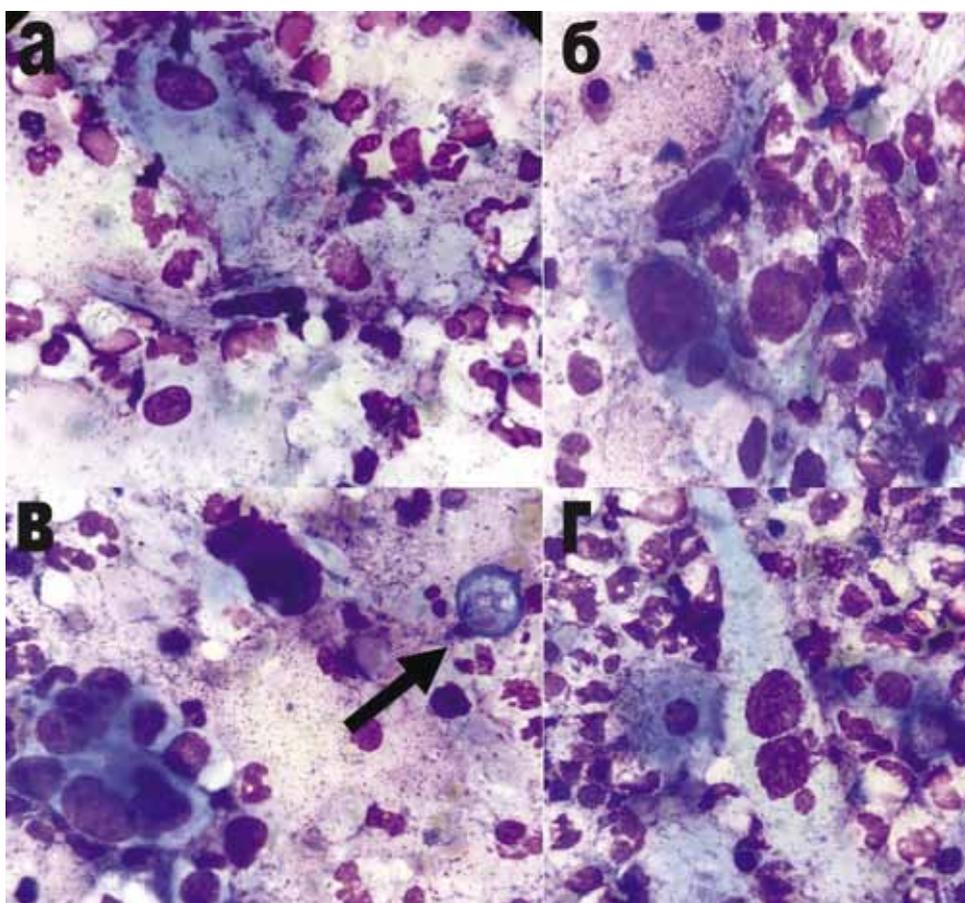


Рис. 1. Материал со слизистой оболочки рта. Цитологическая картина плоскоклеточной карциномы с орогованием. Окраска по Романовскому, увеличение x1000

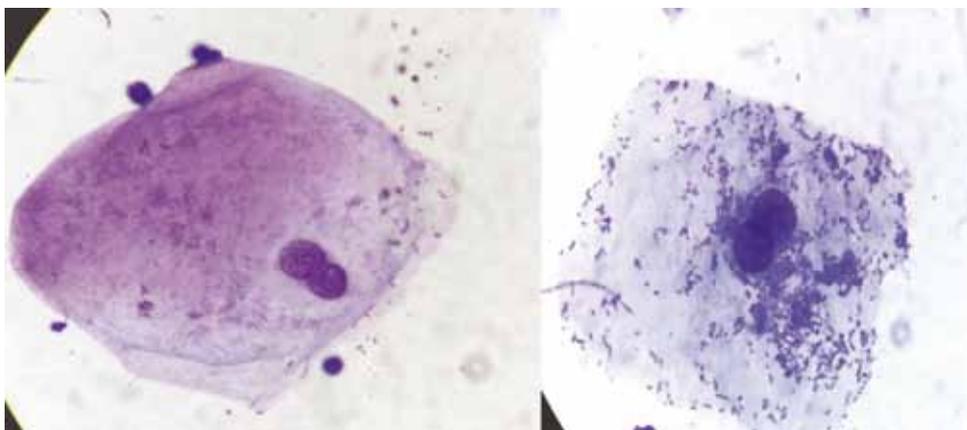


Рис. 2. Материал со слизистой оболочки рта. Цитологическая картина без особенностей. Окраска по Романовскому, увеличение x1000

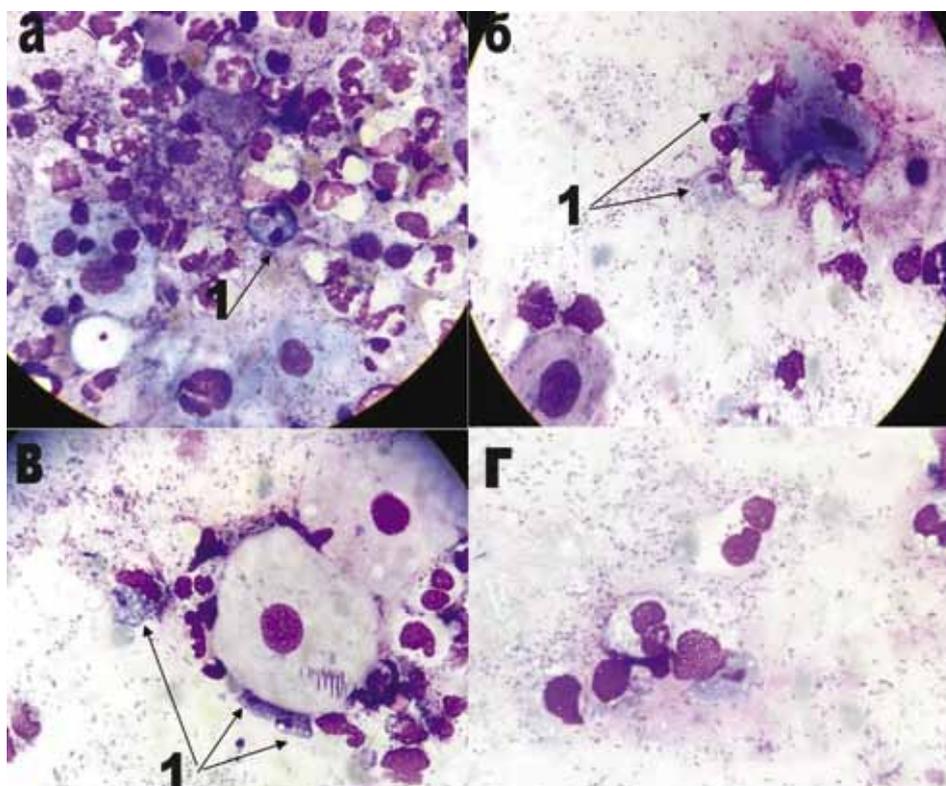


Рис. 3. Материал со слизистой оболочки рта. Цитологическая картина воспалительного процесса, в том числе *Trichomonas elongata*. Окраска по Романовскому, увеличение x1000

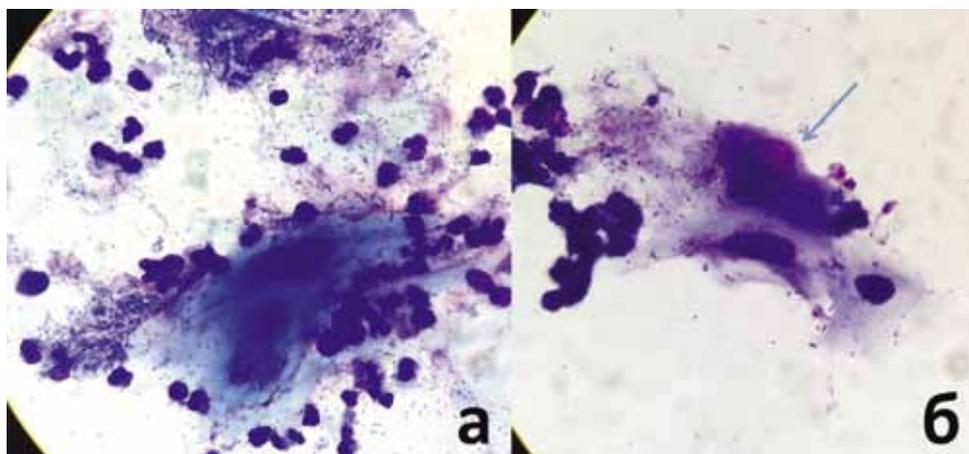


Рис. 4. Цитологический препарат со слизистой оболочки рта со скудным клеточным составом. Окраска по Романовскому, увеличение x1000

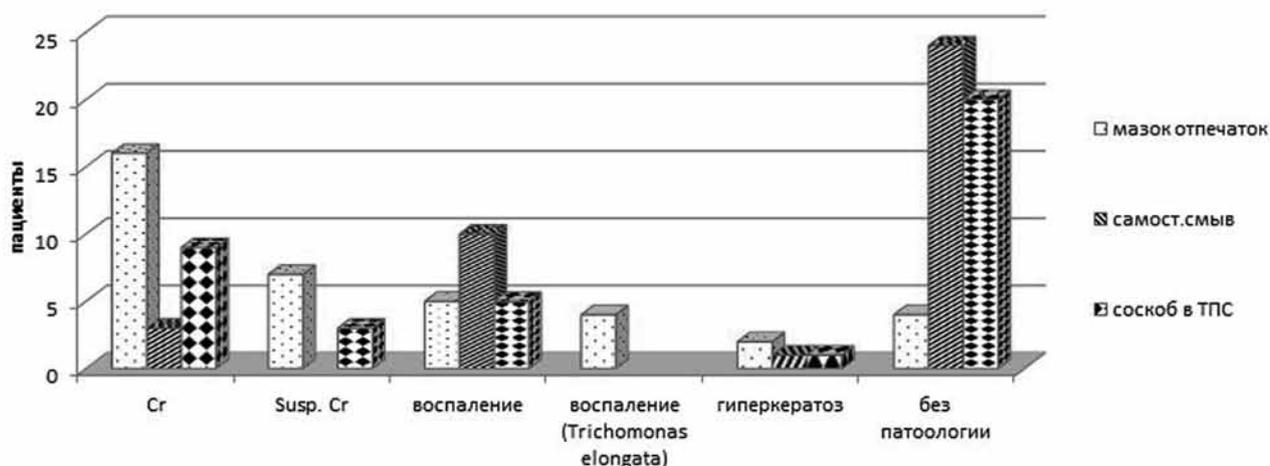


Рис. 5. Процент выявления злокачественно трансформированных клеток в зависимости от способа забора материала

Анализ полученных результатов позволил установить, что при заборе материала методом отпечатка с патологического очага в цитологических препаратах детектировалась максимальная концентрация патологически измененных клеток и их относительно равномерное распределение по площади препарата. Отметим, что в части цитологических препаратов фоновые элементы преобладали над патологически измененными. В образцах, полученных после забора материала методом соскоба с места поражения, наблюдалась низкая клеточность, но четко прослеживались признаки озлокачествления клеток на фоне отсутствия патогенной микрофлоры (рис. 4).

Цитологические препараты, приготовленные на основе материала, полученного в результате самостоятельного смыва с ротовой полости, характеризовались обильным клеточным составом, преобладающим звеном которого являлся неизменный плоский эпителий при наличии фоновых элементов и относительно низкого количества патологически измененных клеток.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что наименьший процент выявления злокачественных изменений в клетках пациентов наблюдался при самостоятельном смыве с СОР, а наибольший процент патологически измененных клеток детектировался при заборе материала методом мазка отпечатка (рис. 5).

Анализируя причины такого различия при сопоставлении цитологического и гистологического исследования, выделяется несколько аспектов, которые можно разделить на общие для всех способов забора и частные, встречающиеся в каждом из упомянутых способов. Основной и общей причиной расхождения в результатах исследований явился забор материала для цитологического исследования после однократного, а в ряде случаев и многократного взятия биопсии в течение малого периода времени, что приво-

дит к отсутствию патологически измененных клеточных элементов вследствие предшествующего изъятия тканевого фрагмента в очаге поражения. Следует отметить, что процент случаев предшествующего инвазивного вмешательства, повлекших несоответствие результатов гистологического и цитологического исследований, составил 15,7%.

Говоря о причинах, влияющих на результаты исследования при каждом из способов забора, можно выделить следующие: 1) в ходе мазка отпечатка снижение качества цитологического материала обусловлено затрудненным доступом к нему в процессе забора, а также отсутствием унифицированных инструментов, позволяющих качественно осуществить процедуру забора (использовались цитологические щетки, шпатели, зонды); 2) в ходе соскоба ухудшение качества получаемого материала связано с адсорбцией его части на поверхности цитологических щеток и, соответственно, невозможностью совокупной оценки; 3) низкое качество материала, полученного в результате самостоятельного смыва из ротовой полости, напрямую зависит от нарушения пациентом поэтапной технологии забора. Вместе с тем, смыв с СОР характеризуется высокой клеточностью получаемых цитологических препаратов.

### Заключение

Применение цитологического метода исследования в стоматологической практике позволяет выявить злокачественные изменения клеток более чем в 80% случаев. Наибольшая эффективность выявления патологических изменений отмечалась при заборе материала методом мазка-отпечатка непосредственно с места поражения, что объясняется максимальной концентрацией патологически измененных клеток

и исключением влияния пациента на методику забора материала. Предшествующее инвазивное вмешательство снижает вероятность выявления патологических клеточных изменений в цитологическом материале на 15,8%.

*Финансирование.* Исследование не имело спонсорской поддержки.

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Банченко Г.В., Молочков В.А., Кряжева С.С., Балиун Д.Г. Лейкоплакия и близкие к ней поражения слизистой оболочки полости рта // Российский журнал кожных и венерических болезней. — 2001. — № 5. — С. 4-8.
2. Блохин Н.Н., Петерсон Б.Е. Клиническая онкология. Т. 1. — М, 1979.
3. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека: Учебное пособие. Издание второе, исправленное. — СПб «Специальная литература», 1998. — 248 с.
4. Гилеева О.С., Либик Т.В., Позднякова А.А., Сатюкова Л.Я. Предраковые заболевания в структуре патологии слизистой оболочки полости рта (по данным лечебно консультативного приема) // Проблемы стоматологии. — 2012. — №2. — С. 3-9.
5. Гутковская Е.А., Смолякова Р.М., Жуковец А.Г., Францевич Т.В.. Папилломовирусы человека и вирус Эпштейна-Барр при раке полости рта, ротоглотки и гортани: генетическая характеристика и частота выявления // Онкологический журнал. — 2012. — Т. 6. — № 1 (21). — С. 71-74.
6. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. — М.: МНИОИ им. П.А. Герцена-филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. — илл. — 236 с.
7. Нистратов Г.П., Светицкий П.В., Зыкова Т.А. и др. Влияние вирусов Эпштейна-Барр и папилломы человека на течение рака органов полости рта // Современные проблемы науки и образования. — 2014. — № 6.
8. Позднякова Т.И., Волков Е.А., Смирнова Ю.А. и др. Тенденции распространенности предраковых заболеваний слизистой оболочки полости рта // Образование, наука и практика в стоматологии по объединенной тематике: Стоматология и социально-значимые заболевания: Сб. тр. 10-й Всерос. Науч.-практ. конф. — СПб: «Человек», 2013. — С. 186-187.
9. Ганцев Ш.Х. Г 19 Онкология: Учебник для студентов медицинских вузов. 2-е изд., испр. и доп. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. — С. 38-54.
10. Ang K.K., Harris J., Wheeler R. et al. Human Papillomavirus and Survival of Patients with Oropharyngeal Cancer // New England Journal of Medicine. — 2010. — Vol. 363. — № 1. — P. 24-35.

I.A. Kruglova<sup>1</sup>, S.V. Zinoviev<sup>2</sup>, A.E. Pursanova<sup>2</sup>,  
O.V. Utkin<sup>3</sup>, A.N. Denisenko<sup>1</sup>

#### Influence of the method of sampling on the results of cytomorphological studies in the diagnosis of tumors of the oral mucosa

<sup>1</sup> State budgetary institution of health care «City hospital No. 35»,

<sup>2</sup> Federal state budgetary educational institution of higher professional education «Privolzhskiy Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federatsii,

<sup>3</sup> Federal budgetary institution of science «Nizhny Novgorod research Institute of epidemiology and microbiology. academician I. N. Blokhina Rospotrebnadzor», Nizhny Novgorod

The mucous membrane of the oral cavity (MMOC) and the underlying tissues have a complex anatomical structure that determines the specifics of the clinical course and treatment of tumors developing here. Malignant tumors that occur in the oral cavity, in most cases have the structure of squamous cell keratinizing cancer. In the conditions of a dental clinic, the diagnosis of precancerous and tumor changes presents serious difficulties, the main cause of which is the low oncological alertness of dentists, as well as the lack of necessary equipment and modern minimally invasive methods of early detection of cancer. Histological examination rarely is used in dentistry, as it implies a lifetime fence of the abnormal tissue (a biopsy) and has a number of disadvantages associated with the work sharp tool, the possibility of bleeding, mistakes in material sampling, waiting times result from a doctor-a pathologist. Taking into account the external localization of COR and CCG neoplasms, the procedure for collecting material for cytological research is simple and highly sensitive (the sensitivity of the method is 90-95%).

Objective: to assess the possibility of cytological diagnosis in the practice of the dentist and the impact of different methods of sampling on the results of morphological analysis.

Materials and methods of research. 114 samples were analyzed from 38 patients who sought dental care with complaints of tumors in the oral cavity. Material from each patient was collected in three ways, followed by cytological examination.

Results and discussions. The obtained results indicate that the lowest percentage of detection of malignant changes in the cells of patients was observed when self-flushing with MMOC, and the highest percentage of pathologically altered cells was detected when sampling material by smear. The obtained results of cytological examination were compared with histological data, where different percentage matches were obtained depending on the method of material sampling.

Conclusion: the use of cytological research method in dental practice with adequate sampling of the material allows to identify malignant cell changes in more than 80% of cases.

Key words: cytological examination, neoplasms of the oral mucosa, pre-analytical stage of cytological examination

Поступила в редакцию 28.11.2019 г.