

Информация для цитирования:

Чимитов А.А., Лхагва Л., Лазарев А.Ф., Дамбаев Г.Ц., Ханхашанова Т.Д. НОВЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ТРАДИЦИОННЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ В СОВРЕМЕННОЙ ОНКОЛОГИИ // Медицина в Кузбассе. 2021. №3. С. 98-106

Чимитов А.А., Лхагва Л., Лазарев А.Ф., Дамбаев Г.Ц., Ханхашанова Т.Д.

Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова, Бурятский республиканский клинический онкологический диспансер, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ,
Монгольский государственный медицинский университет, г. Улан-Батор, Монголия,
Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия,
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

НОВЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ТРАДИЦИОННЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ В СОВРЕМЕННОЙ ОНКОЛОГИИ

В статье приведены результаты собственных исследований обнаружения циркулирующих опухолевых клеток в венозной крови у 211 онкологических больных и 173 доноров, представлявших контрольную группу. Для проведения гемофилтритроцитологического исследования авторами использовалось созданное для этой цели специальное устройство, были разработаны методика и технология выделения циркулирующих опухолевых клеток. На устройство и способ определения циркулирующих опухолевых клеток получены патенты на изобретение, зарегистрированные в Государственном реестре. Результаты гемофилтритроцитологического определения циркулирующих опухолевых клеток были перепроверены иммунофлуоресцентным методом исследования у одних и тех же онкологических больных.

Ключевые слова: гемофилтритроцитологический метод исследования; циркулирующие опухолевые клетки; иммунофлуоресцентный метод исследования

Chimitov A.A., Lhagva L., Lazarev A.F., Dambaev G.Ts., Khankhashanova T.D.

Buryat State University D. Banzarova,
Buryat Republican Clinical Oncological Dispensary, Republic of Buryatia, Ulan-Ude,
Mongolian State Medical University, Ulan Bator, Mongolia,
Altai State Medical University, Barnaul, Russia,
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

NEW DIAGNOSTIC POSSIBILITIES AND TRADITIONAL POSITIONS IN MODERN ONCOLOGY

The article presents the results of our own research on the detection of circulating tumor cells in venous blood in 211 cancer patients and 173 donors from the control group. To carry out hemofiltracytological research, the authors used a special device created for this purpose, and developed a technique and technology for isolating circulating tumor cells. The device and method for determining circulating tumor cells received patents for invention, registered in the State Register. The results of hemofiltracytological determination of circulating tumor cells were rechecked by the immunofluorescence method in the same cancer patients.

Key words: hemofiltracytological research method; circulating tumor cells; immunofluorescent research method

Фундаментальным уроком научного мышления является осознание того, что та или иная общепринятая модель науки тормозит последующее развитие. Создается болезненная ситуация, когда еще нет сформированной новой модели, старая же конструкция, ставшая частью идеологии, отражает ригидность и консерватизм основной части научного сообщества и, по сути, способна существенно противодействовать ломке старой модели. Попытка нового осмысления раннего канцерогенеза и результаты проделанной работы существенным образом изменили наше представление о канцерогенезе [1].

Для того, чтобы опухоль достигла размеров 1 см^3 и ее масса составила 10^9 клеток (а именно такого объема опухоли в большинстве случаев диагностирует врач-онколог), составляющие ее опухолевые клетки должны сделать более 30 удвоений, согласно математической модели канцерогенеза. Это озна-

чает, что так называемая «доклиническая фаза роста» опухоли протекает бессимптомно и скрыта как от его носителя, так и от врача, в среднем 7-10 лет [1].

Последние данные исследований свидетельствуют, что сосудистая система опухоли (неоангиогенез), обеспечивающая ее рост, начинает формироваться уже вокруг микроопухолей размером 10^3 клеток, т.е. злокачественный процесс, даже на самом начальном этапе развития, может распространяться за пределы первичного опухолевого очага, а возможности современной диагностики, как правило, не позволяют выявлять опухоли подобного объема [1].

Попавшие в кровь клетки злокачественного новообразования, которые начинают мигрировать в крови, получили название циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) (circulating tumor cells, CTC).

ЦОК представляют собой популяцию гетерогенных клеток опухоли, попавших в кровяное русло. Проникнуть в кровяное русло опухолевые клетки могут при условии их эпителиально-мезенхимальной трансформации, когда они утрачивают межклеточную адгезию и приобретают способность аномальной подвижности и инвазивности [2-5]. Предполагается, что именно эти клетки являются основой для развития метастазов в различных органах [2-5]. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода встречается в физиологических условиях (эмбриональный морфогенез), при различных видах воспаления, формировании фиброза, а также является неотъемлемой частью канцерогенеза (3 тип по классификации R. Weinberg) [6].

Точное и эффективное обнаружение циркулирующих опухолевых клеток в крови остается сложной проблемой клинической онкологии [7, 8].

Существует множество различных методов обнаружения ЦОК в крови больных [9]. Однако даже в настоящее время клинические исследования в области изучения ЦОК ограничены неимением доступных технологий их обнаружения. Методологических стандартов выявления ЦОК не существует, а методики, доступные для применения в практической онкологии, не обладают надежной технологической платформой, высокой пропускной способностью, чувствительностью и специфичностью, а также сложны в воспроизведении и дороги, то есть не полностью отвечают задачам клиники [3, 10, 11].

Новая эффективная технология — жидкостная биопсия (Cancer Intercept) значительно отличается от методики определения самих ЦОК, в основе которой лежит анализ следовых количеств ДНК опухолевых клеток, свободно циркулирующих в крови. Технология автоматической цифровой микроскопии (ADM) позволяет оптическим методом оценивать количество ЦОК в образце крови [2]. Процесс занимает достаточно много времени при сканировании больших по площади цитологических препаратов, что непригодно для практического применения, поэтому технологию усовершенствовали и разработали массивное оптоволоконное сканирование (FAST). Новый подход позволяет просканировать за то же время в 500 раз большую площадь по сравнению с технологией ADM без потери чувствительности [2]. Использование FAST и ADM совместно позволяет выявить редкие опухолевые клетки после предварительной обработки флуоресцентно-мечеными антителами к цитокератинам [12].

Другой метод обнаружения ЦОК под названием MAINTRAC заключается в использовании сканирующей лазерной цитометрии образцов крови, прошедших процедуру окрашивания антителами против клеток, экспрессирующих эпителиальные молекулы клеточной адгезии (ЕrСAM) и против лейкоцитов (CD45) [2, 13]. Одним из наиболее популярных методов определения ЦОК в крови является система CellSearch [14]. Система является полуавтоматической, в ее основе лежат методы иммунофлуоресценции, иммуномагнитного разделения и проточной ци-

тометрии [15]. Данная технология прошла экспертизу и была одобрена для возможности выявления уровней ЦОК у пациентов с метастазами (Food and Drug Administration, FDA), однако разрешения для клинического использования система до сих пор не получила [14, 16]. Следует отметить, что исследование ЦОК на оборудовании CellSearch дорогое и трудозатратное, что ограничивает возможности его широкого использования.

Кроме описанных методов определения ЦОК, также в научных исследованиях используют иммуномагнитные методы, примером которых служат системы MACS, RossetteSep, OncoQuick+, AdnaGen [17, 18]. Обнаружение ЦОК напрямую зависит от технических характеристик метода, используемого для их выделения. В настоящее время технологии совершенствуются в сторону получения недеформированных, более сохранных клеток, поскольку часто при выделении ЦОК они деформируются и разрушаются [19]. Выделение ЦОК при гемофильтрации из-за их размера представляется эффективным методом, обеспечивающим высокую точность и чувствительность, а также, что немаловажно, сохранность клеток, простоту, быстроту и низкую стоимость исследования.

Необходимо точное определение характера циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), выделенных из крови. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода оказывает влияние на формирование гетерогенности циркулирующих опухолевых клеток, создает технические трудности их обнаружения и фенотипирования. Во время эпителиально-мезенхимального перехода происходят морфологические трансформации, проявляющиеся изменением размера и формы клеток, наблюдается полиморфизм клеток и ядер, гиперхроматоз и гиперплоидность, а также отмечается увеличение их митотической активности. Большая часть ЦОК теряет свои эпителиальные антигены и начинает экспрессировать мезенхимальные антигены [6, 20]. Однако, единогласия в распознавании ЦОК можно достичь за счет использования тех же цитологических критериев злокачественности, которые уже используются в традиционной цитологии; необходима микроскопическая характеристика всей клетки и ее компонентов (мембраны, цитоплазмы, ядра) [20, 21].

Цель работы — определение гемофильтроцитологическим методом исследования циркулирующих опухолевых клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На рисунке 1 представлено устройство для микропросеивания крови, с помощью которого проводится гемофильтроцитологическое исследование венозной крови пациентов. На данное устройство получен патент на изобретение № 24144710 Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ 20.03.2011 г.

Устройство содержит стеклянный цилиндр (1), который заключен в пластиковый кожух (2). На дне стеклянного цилиндра установлена пластмассовая решетка (3) с закрепленным на ней с помощью металлического кольца (4) калиброванным фильтром (5). Диаметр пор у калиброванного фильтра равен 6000 нм (6 мкм). Внутри стеклянного цилиндра установлен поршень (6) со штоком (7), который ввинчен не до упора. В поршне выполнены два разных по диаметру канала (8), на стыке которых расположен металлический шарик (9), выполняющий назначение выпускного клапана для воздуха.

Стеклянный цилиндр имеет верхнее входное отверстие (10) для подачи венозной крови и нижнее выходное отверстие (11) для оттока венозной крови. Последнее снабжено приспособлением (12) для осуществления положений «открыто» и «закрыто».

Способ определения опухолевых клеток в периферической венозной крови у больных с помощью вышеописанного устройства проводится следующим образом. Накануне из локтевой вены обследуемого берется в две пробирки типа вакутайнер с антикоагулянтом ЭДТА (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) по 6 мл венозной крови, независимо от приема им пищи. В день исследования осуществляем сборку устройства. На дно стеклянного цилиндра, заключенного в пластиковый кожух, помещаем пластмассовую решетку с закрепленным на ней с помощью металлического кольца калиброванным фильтром.

Для проведения гемофильтроцитологического исследования, при закрытом положении нижнего выходного отверстия, в стеклянный цилиндр через верхнее входное отверстие наливаем из пробирки венозную кровь обследуемого больного в количестве 12 мл. В стеклянный цилиндр вводим поршень со штоком, ввинченным не до упора.

Поршень продвигаем до уровня жидкости в стеклянном цилиндре, при этом воздух из цилиндра выпускаем через каналы в поршне с помощью металлического шарика, выполняющего назначение выпускного клапана.

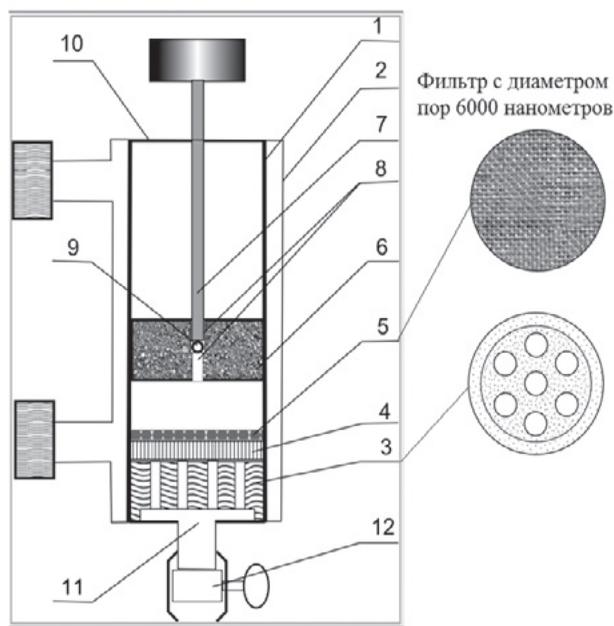
Затем шток завинчиваем до упора в поршне и, тем самым, зажимаем металлический шарик (выпускной клапан закрыт). Далее приспособление нижнего выходного отверстия стеклянного цилиндра ставим в положение «открыто» и пропускаем всю исследуемую венозную кровь через калиброванный фильтр, при этом происходит задержка опухолевых клеток в осадке на калиброванном фильтре.

Осадок наносим на предметные стекла, предварительно обезжиренные и охлажденные для лучшего прилипания клеток и высыхания. Фиксируем мазки-отпечатки 3 % спиртовым раствором Лейшмана 2-4 минуты. Затем смываем дистиллированной водой и красим азур-эозиновой смесью в соотношении 3 : 1 в течение 6-8 минут.

После покраски промываем дистиллированной водой, сушим на воздухе и приступаем к просмотру

Рисунок 1
Схема устройства для гемофильтроцитологического метода исследования
Picture 1

Diagram of a device for a hemofilteric research method



под микроскопом. Окрашенные мазки-отпечатки изучаем с помощью световой микроскопии, используя следующую методику: в начале скрининг при увеличении 200 для поиска циркулирующих клеток, а затем осмотр при увеличении 1000 с масляной иммерсией для детального цитоморфологического исследования.

Получен патент на изобретение № 2425385 Роспатента на способ определения раковых клеток в периферической крови больных с подозрением на злокачественные новообразования, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ 27 июля 2011 года.

С целью оценки диагностической значимости гемофильтроцитологического метода определения ЦОК в венозной крови проведено исследование образцов крови у 384 лиц. Из них 211 были пациентами с подозрением на наличие злокачественных новообразований, они составили основную группу. В контрольную группу вошли 173 донора без признаков каких-либо заболеваний.

В основной группе больных с подозрением на злокачественное новообразование преобладали женщины, в среднем на 25,2 %, по сравнению с мужчинами. В контрольной группе среди доноров женщин также было больше чем мужчин, на 14,0 %.

Основная и контрольная группы по возрастному составу между собой различались. В контрольной группе все лица были моложе 60 лет. В основной группе на этот возраст приходилось 44,1 % больных, удельный вес пациентов в возрасте от 60-69 лет составил 32,7 %, а от 70 лет и старше 23,2 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с целью исследования, были поставлены следующие задачи:

- оценка реальных возможностей гемофилтроцитологического метода исследования в выявлении циркулирующих опухолевых клеток у больных с подозрением на злокачественное новообразование (ЗНО);

- определение гемофилтроцитологическим методом исследования наличия или отсутствия ЦОК у доноров;

- сравнительная оценка результатов исследования на определение ЦОК в периферической венозной крови у больных гемофилтроцитологическим и иммунофлуоресцентным методами.

У 198 (93,8 %) больных из 211 пациентов с подозрением на ЗНО при проведении гемофилтроцитологического исследования в периферической крови были обнаружены циркулирующие опухолевые клетки (рис. 2 и 3).

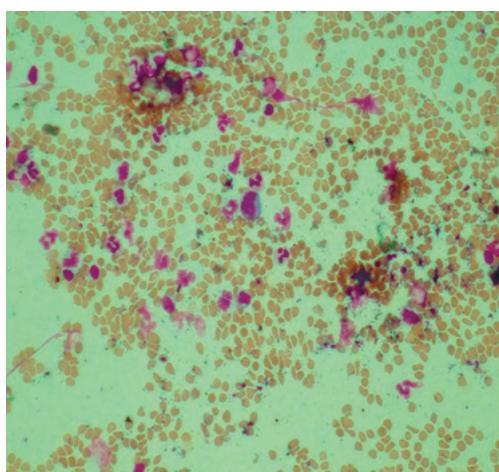
Следующим этапом диагностического процесса являлось определение локализации опухоли, степень ее распространенности в органе, морфологическое подтверждение диагноза. Проведенное в даль-

Рисунок 2

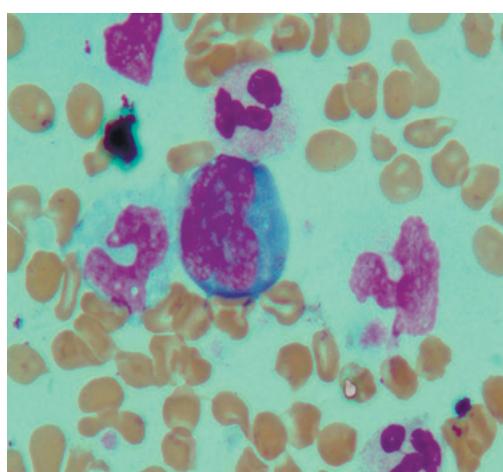
Больной, 75 лет. Диагноз: «Рак тела желудка. IIIa стадия»

Figure 2

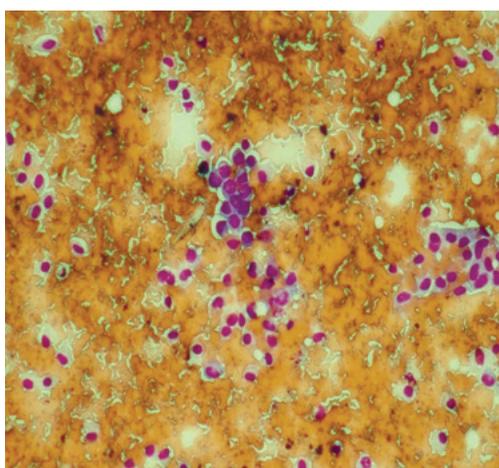
Patient, 75 years old. Diagnosis: "Cancer of the body of the stomach. Stage IIIa"



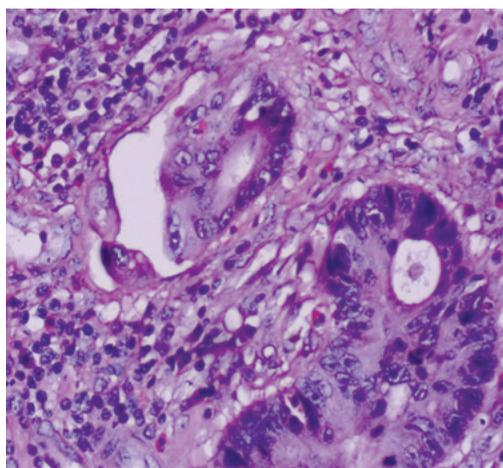
а. увеличение $\times 200$



а. увеличение $\times 1000$



б. увеличение $\times 200$



с. увеличение $\times 400$

Примечание: а. Гемофилтроцитологическое исследование: ЦОК в периферической венозной крови. Окраска азур-эозином; б. Цитологическое исследование: комплекс опухолевых клеток. Окраска азур-эозином; с. Патогистологическое исследование: «Умереннодифференцированная аденокарцинома желудка». Окрашивание гематоксилин-эозином.

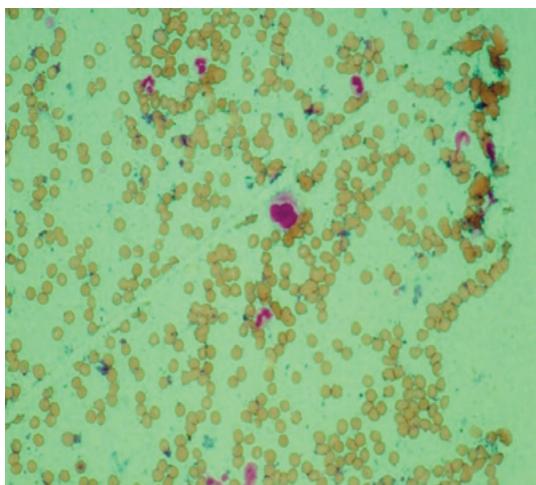
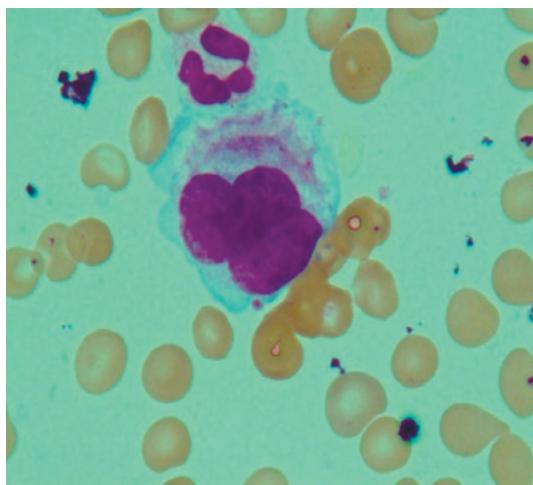
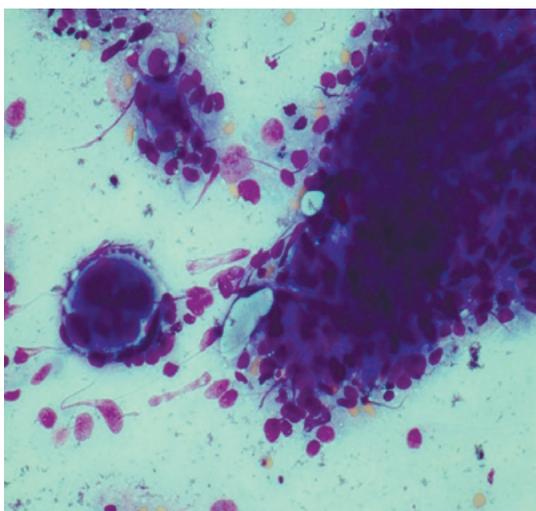
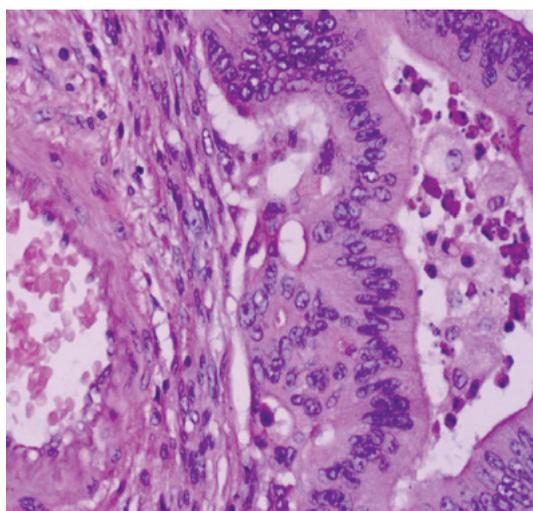
Note: a. Hemofiltration cytological study: CTCs in peripheral venous blood. Azur-eosin staining; b. Cytological examination: a complex of tumor cells. Azur-eosin staining; c. Histopathological study: «Moderately differentiated adenocarcinoma of the stomach». Hematoxylin-eosin staining.

Рисунок 3

Больной, 54 года. Диагноз: «Рак сигмовидной кишки. IV стадия»

Figure 3

Patient, 54 years old. Diagnosis: "Cancer of the sigmoid colon. Stage IV"

а. увеличение $\times 200$ а. увеличение $\times 1000$ b. увеличение $\times 200$ с. увеличение $\times 400$

Примечание: а. Гемофилтроцитологическое исследование: ЦОК в периферической венозной крови. Окраска азур-эозином; б. Цитологическое исследование: комплекс опухолевых клеток. Окраска азур-эозином; с. Патогистологическое исследование: «Умереннодифференцированная аденокарцинома толстой кишки». Окрашивание гемотоксилин-эозином.

Note: a. Hemofiltracytological study: CTCs in peripheral venous blood. Azur-eosin staining; b. Cytological examination: a complex of tumor cells. Azur-eosin staining; c. Histopathological study: "Moderately differentiated adenocarcinoma of the colon". Hemotoxylin-eosin staining.

нейшем у этих больных целенаправленное инструментальное дообследование с патогистологическим исследованием биопсийного или операционного материала подтвердило наличие у них злокачественной опухоли.

Таким образом, процент больных, у которых удалось обнаружить ЦОК в венозной крови, т.е. чувствительность метода и диагноз злокачественного новообразования впоследствии у них подтвердился, составил 93,8 %.

У 13 (6,2 %) больных со ЗНО I-II стадии гистологически верифицированными, ЦОК в периферической крови не были выявлены, хотя у достаточно большого количества больных с I-II стадией заболевания удалось выявить ЦОК с помощью гемофилтроцитологического исследования.

Среди 198 больных, у которых при гемофилтроцитологическом исследовании были установлены ЦОК, у 28 (14,1 %) пациентов имелся злокачественный процесс I-II стадии (табл. 1).

Частота выявления циркулирующих раковых клеток в крови при различных нозологических формах ЗНО колебалась от 75,0 % до 97,6 % (табл. 2).

Гемофилтритроцитологическим методом также исследована венозная кровь у 173 доноров на предмет наличия или отсутствия у них ЦОК. Проведенное гемофилтритроцитологическое исследование у доноров не выявило ни в одном случае циркулирующие опухолевые клетки. Соответственно, специфичность гемофилтритроцитологического исследования венозной крови обследованных лиц составила 100 %.

В таблице 3 представлены данные онкологических больных и нумерация мазков-отпечатков с результатами гемофилтритроцитологического исследования их венозной крови. Результат исследования считался положительным (+), если в мазке-отпечатке определялись ЦОК, и соответственно отрицательным (-), если ЦОК в нем не было. При проведении гемофилтритроцитологического метода исследования во всех мазках-отпечатках, за исключением шести, а именно: № 1-б, 2-а, 2-в, 6-б, 7-б и 8-в, не выявлены ЦОК.

Для подтверждения или опровержения полученных гемофилтритроцитологическим исследованием результатов вышеуказанные мазки-отпечатки фильтра венозной крови исследованы иммунофлуоресцентным методом.

С этой целью проведена оценка наличия EpCAM (CD326) — положительных клеток в 24 цитологических мазках-отпечатках, полученных с помощью устройства для гемофилтритроцитологического исследования венозной крови с нанополитром с диаметром пор 6000 нм.

Результат считался положительным при наличии клеток, имеющих ядерное красное окрашивание (PI) совместно с зеленой меткой (EpCAM-FITC), то есть в положительных случаях при образовании комплекса антиген-антитело по его периферии появляется светящийся сигнал (рис. 4 и 5). Во всех мазках-отпечатках (за исключением двух проб: № 2-б и № 8-б) проведенным контрольным исследованием, а именно методом иммунофлуоресценции, обнаружены EpCAM положительные клетки, следовательно, подтверждено наличие ЦОК (табл. 3).

Иммунофлуоресцентный метод является универсальным иммуногистохимическим методом, сочетающим в себе точный морфологический анализ со специфичностью и высокой разрешающей способностью иммунологических методов. Иммуногистохимические методики исследования хотя бы части материала на сегодняшний день являются обязательным условием любых исследований, так как только они обеспечивают специфическую визуализацию тех или иных веществ.

В двух пробах с мазками-отпечатками (№ 2-б и № 8-б с (+) результатами на присутствие ЦОК) наличие EpCAM положительных клеток при проведении исследования методом иммунофлуоресценции не установлено. Следовательно, степень достоверности как положительных, так и отрицательных данных выделения ЦОК гемофилтритроцитологическим

Таблица 1
Распределение злокачественных новообразований по стадиям

Table 1
Distribution of malignant neoplasms by stages

Стадия новообразования	Количество больных	
	абс. число	%
I стадия	2	1,0
II стадия	26	13,1
III стадия	123	62,1
IV стадия	47	23,7
Всего	198	100,0

Таблица 2
Впервые установленные злокачественные новообразования

Table 2
Newly established malignant neoplasms

Локализация злокачественного новообразования	Выявление ЗНО по результатам патогистологии			
	гемофилтритроцитодиагностики		гемофилтритроцитодиагностики	
	абс. число	%	абс. число	%
Легкие	47	100,0	45	95,8
Желудок	50	100,0	48	96,0
Поджелудочная железа	12	100,0	9	75,0
Ободочная и прямая кишка	41	100,0	40	97,6
Молочные железы	24	100,0	21	87,5
Яичники	37	100,0	35	94,6
Всего:	211	100,0	198	93,8

Рисунок 4
Больная 53 лет. Диагноз: «Рак тела желудка IIIб стадия». Иммунофлуоресценция EpCAM-положительной клетки в мазке-отпечатке показана стрелкой (ув. 200)

Picture 4
Patient 53 years old. Diagnosis: «Stomach body cancer stage IIIb». Immunofluorescence of an EpCAM-positive cell in a smear-print is shown by an arrow (magnification 200)

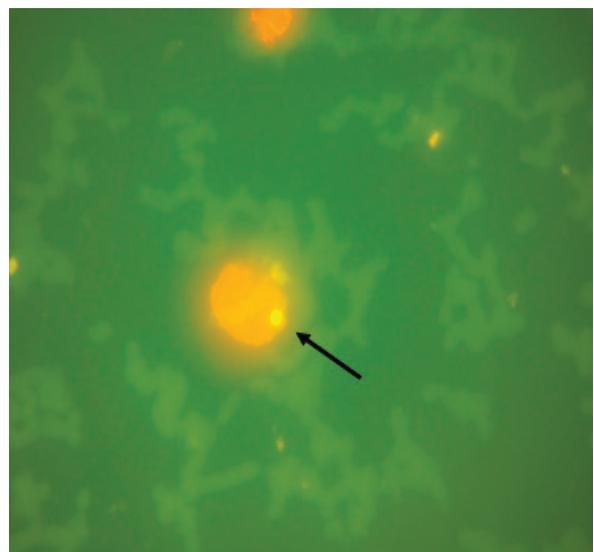


Таблица 3

Сравнительная оценка результатов обследования больных методами гемофилтритроцитологического исследования и иммунофлуоресценции

Table 3

Comparative evaluation of the results of examination of patients with the methods of hemofiltricytological research and immunofluorescence

Больные	Возраст	№ мазков-отпечатков	Результаты исследования на наличие	
			ЦОК	ЕpCAM клеток
1	64	1-а	+	+
		1-б	-	-
		1-в	+	+
2	40	2-а	-	-
		2-б	+	-
		2-в	-	-
3	75	3-а	+	+
		3-б	+	+
		3-в	+	+
4	40	4-а	+	+
		4-б	+	+
		4-в	+	+
5	53	5-а	+	+
		5-б	+	+
		5-в	+	+
6	46	6-а	+	+
		6-б	-	-
		6-в	+	+
7	43	7-а	+	+
		7-б	-	-
		7-в	+	+
8	76	8-а	+	+
		8-б	+	-
		8-в	-	-

методом исследования по результатам иммунофлуоресценции составляет 91,6 %.

Таким образом, результаты исследования методом иммунофлуоресценции подтверждают высокую эффективность выделения циркулирующих раковых клеток из венозной крови с помощью гемофилтритроцитологического метода исследования.

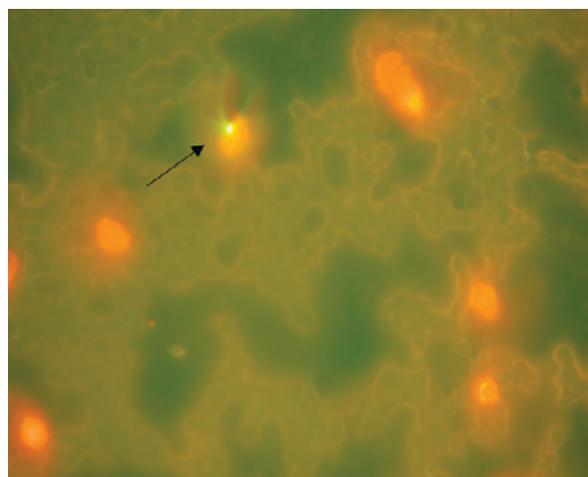
Проблема своевременного выявления злокачественных новообразований, несмотря на переоснащение лечебно-диагностических учреждений современным медицинским оборудованием, до сих пор остается актуальной. Причины кроются в следующем: во-первых, не каждое медицинское учреждение, особенно в сельской местности, имеет это дорогостоящее оборудование; во-вторых, если даже оно есть, не каждый пациент может платно пройти обследование, поскольку на бесплатное обследование существует очередь. Выход из данной ситуации — нужны простые, доступные и, в то же время, эффективные методы исследования. Гемофилтритроцитологическое исследование венозной крови пациентов на наличие ЦОК — один из этих методов. Авторами изобретено устройство и разработана методика определения ЦОК в венозной крови, которые позволяют выделять циркулирующие опухолевые клетки в неповрежденном виде, что дает возможность дальнейшей работы с ними. Сохранность

Рисунок 5

Больной 40 лет. Диагноз «Рак антрального отдела желудка Ib стадия». Иммунофлуоресценция ЕpCAM-положительной клетки в мазке-отпечатке показана стрелкой (ув. 200)

Picture 5

Patient 40 years old. Diagnosis «Cancer of the antrum of the stomach, stage Ib». Immunofluorescence of an EpCAM-positive cell in a fingerprint smear is shown by an arrow (magnification 200)



ЦОК позволяет провести их идентификацию, тем самым, возникает основание предполагать наличие у пациентов той или иной морфологической формы опухоли. В дальнейшем, учитывая возможный генез опухоли, можно проводить целенаправленное инструментальное обследование с гистологическим исследованием биопсийного материала именно того органа, где, с учетом результата гемофилтритроцитологического исследования, не исключается наличие опухоли.

Таким образом, с одной стороны избегаем проведения ряда сложных, утомительных для пациента, а для медицинского учреждения ресурсозатратных, трудоемких методов исследования, с другой, значительно сокращается время обследования, что способствует своевременному выявлению и лечению злокачественных новообразований.

Непомерно высокая стоимость иммунофлуоресцентного метода не позволила увеличить объем исследования мазков-отпечатков, полученных при гемофилтрации, тем не менее, его результаты подтвердили эффективность выделения ЦОК гемофилтритроцитологическим методом.

Резервы улучшения показателей лечения онкологических больных кроются в существующей, по мнению ученых [1], «доклинической фазе роста» опухоли, протекающей бессимптомно 7-10 лет и скрытой от врача, когда теряется так необходимое бесценное время. Соответственно, методы диагностики, направленные на выявление данной фазы ро-

ста опухоли, приобретают чрезвычайно актуальное значение, а гемофилтритроцитологический метод исследования относится именно к данным методам, следовательно он имеет большую перспективу.

ВЫВОДЫ:

1 Полученные нами данные, а именно выделение ЦОК у 198 онкологических больных из 211, свидетельствуют о высокой степени эффективности гемофилтритроцитологического метода исследования.

2 Процент совпадений, как положительных, так и отрицательных, результатов иммунофлуоресцентного и гемофилтритроцитологического методов исследований на ЦОК у одних и тех же больных составил 91,6 %.

3 Чувствительность гемофилтритроцитологического метода исследования, учитывая результаты обследования онкологических больных, составила 93,8 %, а применение его у доноров свидетельствовало о 100 % специфичности.

4 Гемофилтритроцитологический метод исследования прост в техническом исполнении, дает быстрый результат. Может быть освоен любым медицинским работником с высшим образованием.

5 Недорогостоящий гемофилтритроцитологический метод исследования, не требующий больших финансовых затрат, доступен практически каждому медицинскому учреждению, вплоть до участковой больницы.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Ashrafyan LA, Kiselev VI. Modern oncology, molecular biology and the prospects for effective therapy. M., 2015. 96 p. Russian (Ашрафян Л.А., Киселев В.И. Современная онкология, молекулярная биология и перспективы эффективной терапии. М., 2015. 96 с.)
2. Zibtsov DA, Zibtsova ZhI, Lavrov AV, Legchenko EV, Aladinskiy VA, Poteriakhina AV, Goldshtein DV. Circulating tumor cells in breast cancer: prognostic role and detection methods. *Proceedings of the Moscow Institute of Physics and Technology*. 2012; 4, №3: 18-26. Russian (Зубцов Д.А., Зубцова Ж.И., Лавров А.В., Легченко Е.В., Аладинский В.А., Потеряхина А.В., Гольдштейн Д.В. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) при раке молочной железы: прогностическая значимость и методы выделения //Труды МФТИ. 2012. Т. 4, № 3. С. 18-26.)
3. Kovalyov AA, Grudinskaya TA, Kusnezova TP, Kovalyov KA. Heterogeneity of circulating tumor cells. *Oncology*. 2012; 14, №2: 126-129. Russian (Ковалев А.А., Грудинская Т.В., Кузнецова Т.П., Ковалев К.А. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток //Онкология. 2012. Т. 14, № 2. С. 126-129.)
4. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res*. 2006; 66: 8319-8326. DOI: 10.1158/0008-5472. CAN-06-0410
5. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006; 7: 131-142. DOI: 10.1038/nrm 1835.
6. Weinberg RA. Twisted epithelial- mesenchymal transition blocks senescence. *Nat Cell Biol*. 2008; 10: 1021-1023. DOI: 10.1038/ncb0908-1021
7. Kaiser J. Medicine: cancer's circulation problem. *Science*. 2010; 327: 1072-1074. DOI: 10.1126/science.327.5969.1072
8. Kowalewska M, Chechlińska M, Markowicz S, Kober P, Nowak R. The relevance of RT-PCR detection of disseminated tumour cells is hampered by the expression of markers regarded as tumour-specific in activated lymphocytes. *Eur J Cancer*. 2006; 42: 2671-2674. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.05.036
9. Grech IF, Yakovleva MP. Methods for detecting tumor cells in the bloodstream. M., 1966. 159 p Russian (Грех И.Ф., Яковлева М.П. Методы обнаружения опухолевых клеток в кровяном русле. М., 1966. 159 с.)

10. Pantel K, Woelfle U. Detection and molecular characterisation of disseminated tumour cells: implications for anticancer therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1756: 53-64. DOI: 10.1016/j.bbcan.2005.07.002
11. Balic M, Dandachi N, Hofmann G, Samonigg H, Loibner H, Obwaller A, et al. Comparison of two methods for enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients. *Cytometry B Clin Cytom*. 2005; 68: 25-30. DOI: 10.1002/cyto.b.20065
12. Ntouroupi T, Ashraf S, McGregor S, Turney B, Seppo A, Kim Y, et al. Detection of circulating tumour cells in peripheral blood with an automated scanning fluorescence microscope. *British journal of cancer*. 2008; 99(5): 789-795. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604545
13. Monitoring circulating epithelial tumour cells (CETC) to gauge therapy: in patients with disease progression after trastuzumab persisting CETC can be eliminated by combined lapatinib treatment. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2009; 135(4): 643-647. DOI: 10.1007/s00432-008-0498-8
14. Andreopoulou E, Yang LY, Rangel K, Reuben J, Hsu L, Krishnamurthy S, et al. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: Adna Gen Adna Test Breast Cancer Select/Detect TM versus Veridex CellSearchTM system. *Int. J of Cancer*. 2012; 130(7): 1590-1597. DOI: 10.1002/ijc.26111
15. Kagan M, Howard D, Bendele T, Mayes J, Silvia J, Repollet M, Doyle J. A Sample Preparation and Analysis System for Identification of Circulating Tumor Cells. *Journal of Clinical Ligand Assay*. 2002; 25(1): 104-110.
16. Van der Auwera I, Peeters D, Benoy I, Elst H, Van Laere S, Prove A, et al. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *British journal of cancer*. 2010; 102(2): 276-284. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605472
17. Tewes M, Aktas B, Welt A, Mueller S, Hauch S, Kimmig R, Kasimir-Bauer S. Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. *Breast cancer research and treatment*. 2009; 115(3): 581-590. DOI: 10.1007/s10549-008-0143-x
18. Cristofanilli M. The biological information obtainable from circulating tumor cells. *Breast*. 2009; 18(3): 38-40. DOI: 10.1016/S0960-9776(09)70270-X
19. Tan S, Yobas L, Lee G, Ong C, Tim C. Microdevice for the isolation and enumeration of cancer cells from blood. *Biomedical microdevices*. 2009; 11(4): 883-892. DOI: 10.1007/s10544-009-9305-9
20. Hofman VJ, Ilie MI, Bonnetaud C, Selva E, Long E, Molina T, et al. Cytopathologic Detection Circulating Tumor Cells Using the Isolation by SITE OF Epithelial Tumor Cell Method. *Am J Clin Pathol*. 2011; 135: 145-156. DOI: 10.1309/AJCP9XBOZBEIQVVI
21. Grigoruk OG, Lazarev AF, Chimitov AA, Khankhashanova TD, Bazulina LM, Shoykhet YaN. Identification of cells obtained from blood of oncological patients with hemocytifiltration. *Russian Journal of Oncology*. 2018; 23(2): 84-89. Russian (Григорук О.Г., Лазарев А.Ф., Чимитов А.А., Ханхашанова Т.Д., Базулина Л.М., Шойхет Я.Н. Идентификация клеток, полученных из крови онкологических пациентов при гемофильтрации //Российский онкологический журнал. 2018. Т. 23, № 2. С. 84-89.)

Сведения об авторах:

ЧИМИТОВ Анатолий Агванович, кандидат медицинских наук, ассистент, кафедра анатомии и физиологии человека, Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова, г. Улан-Удэ, Россия.
E-mail: univer@bsu.ru

ЛХАГВА Лувсаням, доктор медицинских наук, профессор, академик, вице-президент Монгольская академия медицинских наук, г. Улан-Батор, Монголия.

ЛАЗАРЕВ Александр Федорович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул, Россия.

ДАМБАЕВ Георгий Цыренович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава РФ, г. Томск, Россия.

ХАНХАШАНОВА Тамара Дмитриевна, врач-цитолог, Бурятский республиканский клинический онкологический диспансер, г. Улан-Удэ, Россия.

Information about authors:

CHIMITOV Anatoly Agvanovich, candidate of medical sciences, assistant, department of human anatomy and physiology, Buryat State University named after D. Banzarova, Ulan-Ude, Russia.

E-mail: univer@bsu.ru

LHAGVA Luvsannyam, doctor of medical sciences, professor, academician, vice-president, Mongolian Academy of Medical Sciences, Ulan-Bator, Mongolia.

LAZAREV Alexander Fedorovich, doctor of medical sciences, professor, head of the department of oncology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

DAMBAEV Georgy Tsyrenovich, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the RAS, head of the department of hospital surgery with a course of cardiovascular surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

KHANKHASHANOVA Tamara Dmitrievna, cytologist, Buryat Republican Clinical Oncological Dispensary, Ulan-Ude, Russia.

Корреспонденцию адресовать: ЧИМИТОВ Анатолий Агванович, 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, д. 36а, ФГБОУ ВО БГУ им. Д. Банзарова. Тел: 8 (3012) 29-71-70 E-mail: univer@bsu.ru