

Информация для цитирования:

Чимитов А.А., Дамбаев Г.Ц., Лазарев А.Ф., Лхагва Л., Степанов А.С. ПРИМЕНЕНИЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛЬТРОЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ПРИ НАЗНАЧЕНИИ И ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ // Медицина в Кузбассе. 2022. №1. С. 20-24.

Чимитов А.А., Дамбаев Г.Ц., Лазарев А.Ф., Лхагва Л., Степанов А.С.

Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ, Россия,
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия,
Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия,
Мирнинская центральная районная больница, Республика Саха-Якутия, Россия,
Монгольская академия медицинских наук, г. Улан-Батор, Монголия

ПРИМЕНЕНИЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛЬТРОЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ПРИ НАЗНАЧЕНИИ И ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Гемофилтритроцитологическое исследование периферической венозной крови больных, перенесших радикальное оперативное вмешательство по поводу рака ободочной кишки, выявляет у них в раннем послеоперационном периоде циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК). Данное обстоятельство служит показанием к назначению послеоперационным больным адьювантной полихимиотерапии (АХТ). В последующем выполненное повторно гемофилтритроцитологическое исследование по степени выраженности полученных повреждений ЦОК и уменьшению их количества в результате проведенной АХТ, дает возможность оценить ее качество и завершенность.

Ключевые слова: гемофилтритроцитологическое исследование; адьювантная полихимиотерапия; циркулирующие опухолевые клетки

Chimitov A.A., Dambaev G.Ts., Lazarev A.F., Lhagva L., Stepanov A.S.

Buryat State University, Ulan-Ude, Russia,
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia,
Altai State Medical University, Barnaul, Russia,
Mirny Central Regional Hospital, Republic of Sakha Yakutia, Russia,
Mongolian Academy of Medical Sciences, Ulan-Bator, Mongolia

APPLICATION OF HEMOFILTERCYTOLOGICAL TESTS FOR ASSIGNING ADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY TO CANCER PATIENTS AND EVALUATING ITS EFFICACY

Hemofiltercytological venous blood tests for patients radically operated on for colon cancer reveals circulating tumor cells (CTCs) in the early postoperative period. Their results serve as an indication for assigning adjuvant polychemotherapy to post-operative patients. The repeated hemofiltercytological test on the intensity of CTCs damages and decrease in their number makes it possible to assess the quality and completeness of adjuvant polychemotherapy.

Key words: hemofiltercytological test; adjuvant polychemotherapy; circulating cancer cells

Основным методом лечения рака толстой кишки до настоящего времени остается хирургический метод. Тем не менее, для обеспечения удовлетворительных отдаленных результатов лечения возможностей одного хирургического метода недостаточно, поскольку этому мешают возникающие в отдаленном периоде локорегионарные рецидивы и отдаленные метастазы. В связи с чем, в лечении больных раком ободочной кишки дополнительно применяют полихимиотерапию [1, 2]. Так, по данным ВОЗ, проведение современных схем адьювантной полихимиотерапии (XELOX, FOLFOX) у больных раком толстой кишки с регионарными метастазами позволяет улучшить безрецидивную выживаемость по сравнению с одним хирургическим лечением на 10-20 % [2].

В качестве одного из ведущих факторов, определяющих исход заболевания у больных с злокачественными новообразованиями, все большее внимание онкологов привлекают так называемые циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК). Существует мнение, что они никогда не обнаруживаются в крови и органах людей, у которых отсутствует злокачественное новообразование [1]. В настоящее время установлено, что определение ЦОК в периферической крови имеет важную прогностическую значимость и позволяет проводить мониторинг эффективности противоопухолевого лечения [1]. При этом важно не только исходное количество ЦОК, но и динамическое изменение их количества в процессе лечения. При отсутствии снижения ЦОК в крови больного в результате проводимой химиотерапии

время до наступления прогрессирования заболевания было достоверно более коротким [3]. Показано, что динамика количества ЦОК в ходе лечения коррелирует с эффективностью терапии распространенного рака молочной железы, простаты, толстой кишки [4-6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для улучшения выживаемости онкологических больных после радикального хирургического лечения требуется проведение в необходимых случаях адьювантной полихимиотерапии (АХТ). Традиционно показаниями к проведению АХТ служили местно распространенные формы опухолей, а также вторая более ранняя стадия заболевания у молодых лиц при наличии неблагоприятных факторов прогноза (низкая дифференцировка, сосудистая опухолевая инвазия). Однако безрецидивная и общая выживаемость оперированных больных, которым АХТ проводилось согласно вышеуказанным показаниям, оставляет желать лучшего. В связи с этим, не прекращается поиск новых подходов к назначению АХТ.

Кроме того, до настоящего времени отсутствует метод контроля качества проведенной адьювантной полихимиотерапии, следовательно, в случае лекарственной устойчивости своевременно распознать это также не представляется возможным. Не исключено, что все это служит причиной неудовлетворительных результатов комбинированного лечения онкологических больных. Соответственно, нужен метод контроля АХТ, позволяющий на любом этапе ее проведения провести данный контроль.

Для определения показаний к АХТ и проведения контроля ее качества нами использован гемофилтритроцитологический метод исследования (патент № 2425385) периферической венозной крови радикально оперированных больных по поводу рака ободочной кишки. С этой целью у 145 больных, перенесших радикальное оперативное вмешательство, дважды, на 15-й и 21-й дни послеоперационного периода, проведено микропросеивание венозной крови с помощью разработанного нами специального устройства с калиброванным фильтром, диаметр пор которого составляет 6000 нанометров (патент № 2414710).

Гемофилтритроцитологический метод исследования периферической венозной крови у онкологических больных с помощью данного прибора проводился следующим образом. Накануне из локтевой вены обследуемого берется в две пробирки типа вакутайнер с антикоагулянтом ЭДТА (динатриевая соль этилен-диаминтетрауксусной кислоты) по 6 мл венозной крови, независимо от приема им пищи. В день исследования осуществляли сборку устройства. На дно стеклянной камеры, заключенной в пластиковый кожух, помещали пластмассовую решетку с закрепленным на ней с помощью металлического кольца калиброванным фильтром.

Для проведения гемофилтритроцитологического исследования, при закрытом положении нижнего

выходного отверстия, в стеклянную камеру через верхнее входное отверстие наливали из пробирки венозную кровь обследуемого больного в количестве 12 мл. В стеклянную камеру вводили поршень со штоком, ввинченным не до упора.

Поршень продвигали до уровня жидкости в стеклянной камере, вследствие чего воздух из нее выходил через каналы в поршне при помощи металлического шарика, выполняющего назначение выпускного клапана.

Затем шток завинчивали до упора в поршне и, тем самым, зажимали металлический шарик (выпускной клапан закрыт). Далее приспособление нижнего выходного отверстия стеклянной камеры ставилось в положение «открыто» и пропускали всю исследуемую венозную кровь через калиброванный фильтр, при этом происходила задержка раковых клеток в осадке на калиброванном фильтре.

Осадок наносили на предметные стекла, предварительно обезжиренные и охлажденные для лучшей обработки клеток и высыхания. Фиксировали мазки-отпечатки 3 % спиртовым раствором Лейшмана 2-4 минуты. Затем смывали дистиллированной водой и красили азур-эозиновой смесью в соотношении 3 : 1 в течение 6-8 минут. После покраски промывали дистиллированной водой, сушили на воздухе и приступали к просмотру под микроскопом.

По результатам исследования со всеми 108 больными с выявленными ЦОК состоялось собеседование, на котором им было предложено проведение адьювантной полихимиотерапии. Из них, 80 пациентов дали письменное согласие на АХТ, а 28 больных отказались от ее проведения. Для определения возможных различий в выживаемости данных пациентов были образованы две группы. В основную группу вошли 80 (74 %) больных, а 28 (26 %) пациентов составили группу сравнения (табл. 1). В исследуемых группах рак ободочной кишки в 1,5 раза и более превышает рак сигмовидной кишки. По локализации новообразования анализируемые группы больных были сопоставимы. Статистический анализ достоверных различий в обеих группах больных по полу, возрасту, гистологической форме опухоли и стадии заболевания не обнаружил.

Принимая во внимание наличие ЦОК в периферической венозной крови онкологических больных на 15-й и 21-й дни после радикального оперативного вмешательства, заключавшегося в полном удалении опухоли вместе с регионарными лимфатическими узлами, представилось важным проведение у них адьювантной полихимиотерапии.

Таким образом, показанием к назначению адьювантной полихимиотерапии у оперированных больных была карцинемия, т.е. обнаружение в венозной крови ЦОК после двукратного гемофилтритроцитологического исследования, а также их согласие на ее проведение.

С целью изучения результата на проводимую лекарственную противоопухолевую терапию, помимо двукратного определения ЦОК перед началом АХТ, гемофилтритроцитологическое исследование выполня-

ли больным еще перед каждым очередным курсом химиотерапии и по его завершению. Результат гемофильтрационного исследования после 2-го курса химиотерапии использовался для оценки раннего ответа.

Перед началом адъювантной полихимиотерапии, при проведении гемофильтрационного исследования венозной крови радикально оперированных больных, концентрация ЦОК в 12,0 мл периферической крови была в основной группе следующей: 5 и более ЦОК у 57,5 %; 4 и менее – у 42,5 % пациентов (табл. 2).

При раке толстой кишки использовались следующие схемы АХТ:

1) FOLFOX-4:

- Оксалиплатин 85 мг/м² в/в в 250-500 мл 5 % раствора глюкозы, 2-х часовая инфузия в 1-й день;
- Лейковорин 200 мг/м² в/в 2-х часовая инфузия в 1-й и 2-й дни;
- 5-ФУ 400 мг/м² в/в струйно в 1-й и 2-й дни;
- 5-ФУ 600 мг/м² в/в 22-х часовая инфузия в 1-й и 2-й дни, 6 курсов каждые 2 недели.

2) 5-ФУ/ЛВ (режим Мейо):

- Лейковорин 20 мг/м² в/в струйно в 1-5 дни;
- 5-ФУ 425 мг/м² в/в струйно после введения лейковорина в 1-5 дни.

Повторение через 3 недели.

Необходимо отметить, что адъювантную полихимиотерапию начинали проводить онкологическим больным на 30-40 дни после выполненного им радикального оперативного вмешательства.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Цитологическое исследование мазков-отпечатков, полученных из фильтрата у 108 (74,4 %) больных, оперированных по поводу рака толстой кишки, выявило наличие в них ЦОК. Отрицательный результат (отсутствие ЦОК) отмечен у 37 (25,5 %) послеоперационных больных (табл. 3).

Высокий процент обследованных больных, у которых в послеоперационном периоде определялись в периферической венозной крови ЦОК, на наш взгляд, связан с наличием у большинства из них местнораспространенных стадий заболевания.

Полученные в результате АХТ повреждения ЦОК по своей выраженности разделены на I-IV уровни, соответственно I-IV степеням лекарственного патоморфоза (ЛП). По уровню повреждений ЦОК, сравнимом с определенной степенью ле-

Таблица 1
Определение значимости различий по локализации опухоли в исследуемых группах радикально оперированных больных раком толстой кишки
Table 1
Determining the Significance of Differences in Tumor Localization in the Studied Groups of Radically Operated Patients with Colon Cancer

Локализация опухоли	Группа больных				2	f	P
	Основная		Сравнения				
	абс. число	%	абс. число	%			
Ободочная кишка	49	61,2	18	64,2	0,08	1	0,05
Сигмовидная кишка	31	38,8	10	35,7			
Всего	80	100,0	28	100,0			

Таблица 2
Концентрация ЦОК в венозной крови радикально оперированных больных перед началом АХТ
Table 2
The concentration of CTC in the venous blood of radically operated patients before the start of ACT

Локализация злокачественного новообразования	Всего		ЦОК 5 и более				ЦОК 4 и меньше			
			Основная группа		Группа сравнения		Основная группа		Группа сравнения	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Рак толстой кишки	108	41,7	46	57,5	11	39,3	34	42,5	17	60,7

Таблица 3
Частота выявления ЦОК у радикально оперированных онкологических больных в периферической венозной крови
Table 3
Frequency of detection of CTCs in radically operated oncological patients in peripheral venous blood

Всего больных		ЦОК (+)		ЦОК (-)	
абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
145	100,0	108	74,4	37	25,5

карственного патоморфоза, оценивались качество и завершенность АХТ, а также наличие лекарственной устойчивости к тому или иному химиопрепарату.

Статистически значимое преобладание наиболее выраженных III и IV уровней повреждений ЦОК (III-IV степени ЛП) над наименее выраженными I и II уровнями повреждений (I-II степени ЛП) отмечены после 2-го курса адьювантной полихимиотерапии, в среднем на 30,0 % ($p < 0,001$) (табл. 4).

Первый уровень повреждений ЦОК (I степень ЛП) у больных раком толстой кишки после проведенной химиотерапии не наблюдался. Второй и третий уровни повреждений циркулирующих раковых клеток (II-III степени ЛП) после химиотерапии достаточно часто отмечены при злокачественных новообразованиях толстой кишки. Преобладает третий уровень повреждений. Четвертый уровень повреждений раковых клеток (IV степень ЛП) после химиотерапии наблюдался при раке толстой кишки в 20,0 % случаев.

После проведенного 2-го курса АХТ у радикально оперированных больных по поводу рака толстой кишки число ЦОК в 12,0 мл снизилось до трех и более у 7 пациентов, до двух и менее – у 57, а у 16 пациентов исчезли полностью.

В результате завершения адьювантной ПХТ у всех оперированных больных раком толстой кишки основной группы, при гемофильтроцитологическом исследовании ЦОК в крови не определялись.

При проведении химиотерапевтического лечения целесообразно оценивать даже опосредовано лечебный патоморфоз. Поскольку гемофильтроцитологическое исследование позволяет в полной мере провести морфологическую оценку выделенных из кро-

ви ЦОК с определением их уровней повреждений после АХТ, оно подходит для этой цели. Тем более, что кровь больного является наиболее доступным объектом для исследования.

Для оценки эффективности комплексного лечения радикально оперированных больных с выявленными в периферической крови ЦОК проведена сравнительная оценка общей выживаемости в зависимости от проведения после операции химиотерапии.

Общая трехлетняя выживаемость у больных основной группы, получивших адьювантную химиотерапию, превышала данные группы сравнения со статистической значимостью ($p = 0,0048$) (табл. 5).

ВЫВОДЫ:

1. Проведение гемофильтроцитологического исследования периферической венозной крови у радикально оперированных больных раком толстой кишки на 15-й и 21-й дни после операции позволяет выявить у них циркулирующие опухолевые клетки.

2. Выявленные в периферической венозной крови ЦОК у послеоперационных больных являются показанием к назначению им АХТ.

3. Гемофильтроцитологическое исследование периферической венозной крови позволяет оценить качество и полноту проведенной АХТ.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

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

Таблица 4
Уровни полученных повреждений ЦОК (лекарственный патоморфоз) после химиотерапии
Table 4
Levels of resulting damage to the CTC (drug pathomorphosis) after chemotherapy

Локализация новообразований	Количество больных		Уровни повреждений ЦОК (степени ЛП)							
	абс. число	%	I		II		III		IV	
			абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Толстая кишка	80	100,0	-	-	28	35,0	36	45,0	16	20,0

Таблица 5
Сравнительный анализ трехлетней общей выживаемости у больных раком толстой кишки
Table 5
Comparative analysis of three-year overall survival in patients with colon cancer

Показатель	n	Группы больных								P
		Основная				Сравнения				
		абс. число	%	Показатель выживаемости	±f	абс. число	%	Показатель выживаемости	±f	
Общая трехлетняя выживаемость	108	80	74,0	1,00	-	28	26,0	0,86	0,12	0,005

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Prophets VV, Vlasov OA, Tupitsyn NN. The current state of the problem of treatment and prognosis of colorectal cancer. *Oncology issues*. 2014; 60: 28-33. Russian (Пророков В.В., Власов О.А., Тупицын Н.Н. Современное состояние проблемы лечения и прогноза колоректального рака // Вопросы онкологии. 2014. Т. 60. С. 28-33.)
2. Garin AM, Bazin IS. Reference guide to drug therapy of solid tumors. М.: MAX Press, 2010. 368 p. Russian (Гарин А.М., Базин И.С. Справочное руководство по лекарственной терапии солидных опухолей. М.: МАКС Пресс. 2010. 368 с.)
3. Bzhadug OB, Tjulandin SA, Gritsova LYu, et al. The prognostic value of circulating tumor cells in blood of patients with advanced breast cancer. *Haematopoiesis Immunology*. 2007; 4: 73-101.
4. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Eng. J Med*. 2004; 351(8): 781-791.
5. Cohen SJ, Punt CJ, Lannotti N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol*. 2008; 26(19): 3213-3221.
6. De Bono JS, Tolcher AW, Rowinsky EK. Farnesyltransferase inhibitors and their potential in the treatment of breast carcinoma. *Semin Oncol*. 2003; 30(Suppl. 16): 79-92.

Сведения об авторах:

ЧИМИТОВ Анатолий Агванович, кандидат медицинских наук, преподаватель, кафедра анатомии и физиологии, ФГБОУ ВО БГУ, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия. E-mail: chimitova-l@mail.ru
ДАМБАЕВ Георгий Цыренович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия.

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

ЛХАГВА Лувсаньям, доктор медицинских наук, профессор, академик, вице-президент Монгольской академии медицинских наук, г. Улан-Батор, Монголия.

СТЕПАНОВ Александр Сергеевич, врач-онколог, ГБУ Мирнинская ЦРБ, г. Мирный, Республики Саха-Якутия, Россия.

Information about authors:

CHIMITOV Anatoly Agvanovich, candidate of medical sciences, assistant, department of human anatomy and physiology, Buryat State University, Ulan-Ude, Republic of Buryatia, Russia. E-mail: chimitova-l@mail.ru
DAMBAEV Georgy Tsyrenovich, doctor of medical sciences, professor, head of the department of hospital surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

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

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

STEPANOV Alexander Sergeevich, oncologist, Mirny Central Regional Hospital, Republic of Sakha Yakutia, Russia.

Корреспонденцию адресовать: ЧИМИТОВ Анатолий Агванович, 670042, г. Улан-Удэ, ул. Тобольская, д. 151, кв. 5.

Тел: 8 (9244) 52-79-18 E-mail: chimitova-l@mail.ru