



А. А. Чимитов

**Применение гемофилтритроцитологического
метода исследования венозной крови
для оценки циркулирующих опухолевых
клеток у больных злокачественными
новообразованиями**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова

А. А. Чимитов, А. О. Занданов, Г. Ц. Дамбаев

**ПРИМЕНЕНИЕ ГЕМОФИЛЬТРОЦИТОЛОГИЧЕСКОГО
МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

*Рекомендовано УМС БГУ в качестве
учебно-методического пособия для обучающихся
по специальности 31.05.01 Лечебное дело*

Улан-Удэ
Издательство Бурятского госуниверситета
2022

УДК 616-006.04(075.8)
ББК 55.621я73
Ч 625

Утверждено к печати
редакционно-издательским советом
Бурятского госуниверситета
Протокол № 7 от 24 ноября 2021 г.

Рецензенты

С. М. Николаев, д-р мед. наук, проф., ст. науч. сотр. лаборатории
эксперимент. фармакологии ИОЭБ СО РАН

В. П. Саганов, д-р мед. наук, доц., зам. директора по учебной
части Медицинского института БГУ

Чимитов А. А.

Ч 625 **Применение гемофилтритроцитологического метода исследования венозной крови для оценки циркулирующих опухолевых клеток у больных злокачественными новообразованиями : учебно-методическое пособие / А. А. Чимитов, А. О. Занданов, Г. Ц. Дамбаев. — Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2022. — 56 с.**

ISBN 978-5-9793-1687-1

Учебно-методическое пособие включает в себя результаты клинического исследования оценки циркулирующих опухолевых клеток в венозной крови у онкологических больных.

Рекомендовано к использованию в учебном процессе для студентов специальности 31.05.01 Лечебное дело.

УДК 616-006.04(075.8)
ББК 55.621я73

ISBN 978-5-9793-1687-1

© Бурятский госуниверситет
им. Д. Банзарова, 2022

ВВЕДЕНИЕ

Попавшие в кровь клетки злокачественного новообразования, которые начинают мигрировать в крови, получили название «циркулирующие опухолевые клетки» (ЦОК) (circulating tumor cells, CTC). ЦОК представляют собой популяцию гетерогенных клеток опухоли, попавших в кровяное русло. Проникнуть туда опухолевые клетки могут при условии их эпителиально-мезенхимальной трансформации, когда они утрачивают межклеточную адгезию и приобретают способность аномальной подвижности и инвазивности [1; 4; 8; 16]. Предполагается, что именно эти клетки являются основой развития метастазов в различных органах [1; 4; 8; 16]. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода встречается в физиологических условиях (эмбриональный морфогенез), при различных видах воспаления, формировании фиброза, а также является неотъемлемой частью канцерогенеза (3-й тип по классификации R. Weinberg) [20].

Точное и эффективное обнаружение циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в крови остается сложной проблемой в клинической онкологии [12; 13].

Существует множество различных методов обнаружения ЦОК в крови больных [2]. Однако даже в настоящее время клинические исследования в области изучения ЦОК ограничены отсутствием 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 [1; 6; 15].

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 [4]. Процесс занимает достаточно много времени при сканировании больших по площади цитологических препаратов, что для практического применения не пригодно, 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 [4]. Использование FAST и ADM совместно позволяет выявить редкие опухолевые клетки после предварительной обработки флуоресцентно-мечеными антителами к цитокератинам [14]. 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 (EpcAM), и против лейкоцитов (CD45) [4; 7]. Одним из наиболее популярных методов определения ЦОК в крови является система CellSearch компании Veridex [5]. Система является полуавтоматической, в ее основе лежат методы иммунофлуоресценции, иммуномагнитного разделения и проточной цитометрии [11]. Данная технология прошла экспертизу и была одобрена для возможности выявления уровней ЦОК у пациентов с метастазами (Food and Drug Administration, FDA, USA), однако разрешения для клинического использования система до сих пор не получила [5; 19]. Следует отметить, что исследование ЦОК на оборудовании CellSearch дорогое и трудозатратное, что ограничивает возможности более широкого его использования.

Кроме описанных методов определения ЦОК также в научных исследованиях используют иммуномагнитные методы, примером которых служат системы MACS, RosetteSep, OncoQuick+, AdnaGen [9; 17]. 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 [18]. Выделение из-за их размера ЦОК при

гемофилтрации 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 [10; 20].

Единогласия в распознавании ЦОК можно достичь за счет использования тех же цитологических критериев злокачественности, которые уже применяются в традиционной цитологии [3; 10].