

УДК: 618.198-006.6.616-07.616-08.

Виявлення пухлинних клітин та їх комплексів у кістковому мозку хворих на рак грудної залози

О.О. ЛИТВИНЕНКО, С.О. СІВКОВИЧ,
О.М. КАЛЮТА, К.В. КРАВЧЕНКО

Наведені результати власного дослідження кісткового мозку хворих на рак грудної залози (РГЗ) на наявність в ньому пухлинних клітин та їх комплексів із застосуванням цитологічного та імуноцитологічного методів діагностики. Отримані результати порівнюються з роботами закордонних вчених в даному напрямку онкології. Досить великий процент виявлення пухлинних клітин у кістковому мозку навіть при I-II та III стадіях хвороби та явний зв'язок з клінічним перебігом захворювання: місцеві рецидиви, кісткове та вісцеральне метастазування, вказують на те, що ці дані можуть бути використані в комплексному обстеженні хворого на РГЗ та враховуватись при плануванні тактики лікування та моніторингу при проведенні системної полі хіміотерапії та гормонотерапії.

Ключові слова: рак грудної залози, кістковий мозок, пухлинні клітини, мікрометастази.

Відповідно до сучасної концепції розвитку захворювання рак грудної залози є системним захворюванням [5]. Близько 30% хворих під час виявлення первинної пухлини мають клінічно обумовлені метастази. Із 70%, що залишилися, біля половини можуть бути успішно вилікувані тільки локальними методами. Інші хворі (30–35%) мають уже мікрометастази, які надалі клінічно маніфестують. Таким чином, понад 60% хворих мають або клінічно обумовлені, або доклінічні мікрометастази вже на початку первинного лікування й мають потребу в системній терапії [1, 5].

Виявлення метастатичних клітин у кістковому мозку хворих на РГЗ є показником гематогенної дисемінації процесу. Виявлення окремих пухлинних клітин можливо на етапі метастазування, коли сцинтиграфічне, рентгенологічне дослідження, комп'ютерна томографія не виявляють змін у кістках.

Знання механізмів пухлинної прогресії й метастазування, точне визначення стадії захворювання необхідно для вибору тактики ведення хворого. Головною перешкодою для успішного лікування метастатичного процесу, є біологічна гетерогенність пухлин. Відомо, що первинний РГЗ складається з біологічно різних субпопуляцій клітин. Ці субпопуляції відрізняються за біологічними, генетичними, біохімічними, імунологічними характеристиками, такими як швидкість росту, каріотип, рецептори на поверхні клітини, клітинна морфологія, рухливість клітин, здатність до інвазії й мета-

стазування, чутливість до цитостатиків. Важливим завданням є раннє виявлення метастазів пухлини, до досягнення ними значних розмірів і гетерогенності клітинних субпопуляцій. За даними літератури [11] пухлина розміром 1 см³ містить приблизно 1 мільярд пухлинних клітин. Навіть якщо 99,9% цих клітин будуть знищені під час проведення системної терапії, залишиться 1 мільйон пухлинних клітин, здатних проліферувати, інвазувати і продукувати подальші метастази [4, 6, 8, 11].

Основними й найбільш широко розповсюдженими методиками виявлення пухлинних клітин або мікрометастазів у кістковому мозку у хворих на РГЗ залишалися цитологічний і гістологічний методи дослідження [12]. Дослідження мазків кісткового мозку на світлооптичному рівні дозволяє виявити ракові клітини лише при їх досить великій кількості або при наявності яких-небудь специфічних проявів (вміст у мазках кластерів щодо великих клітин, наявність рясно вакуолізованої цитоплазми, множинних нуклеол) [7, 12].

Підвищення чутливості виявлення мікрометастазів у кістковий мозок досягається при використанні наступних методів дослідження: проточна цитометрія, метод тканинних культур, полімеразна ланцюгова реакція, імуноцитологічний метод з використанням моноклональних антитіл. Було виявлено, що препарати цитоскелету епітеліальних тканин високо збагачені філаментами, що містять білки, які специфічно реагують із антитілами до справжнього епідермального кератину. Дані поліпептиди були названі цитокератинами й розділені на підгрупи по відносній молекулярній масі й значенню ізоелектричної рН [3, 10].

При багатофакторному аналізі [2] наявність пухлинних клітин у кістковому мозку було незалежною прогностичною ознакою, що знижує загальну виживаність, на відміну від статусу HER-2/Neu і ангиогенезу, які не корелювали з виживаністю. Виявлення мікрометастазів також вважають незалежним фактором прогнозу [9, 13]. За їх даними, присутність у кістковому мозку пухлинних клітин є більше прогностичною ознакою, чим статус регіонарних лімфовузлів, розміри й ступінь злоякісності пухлини [13].

Метою даної роботи було дослідження кісткового мозку хворих на РГЗ на наявність в ньому пухлинних клітин та їх комплексів, щоб в подальшому провести кореляцію з клінічним перебігом захворювання, виконати корекцію схем поліхіміотерапії, здійснити моніторинг перебігу захворювання.

Матеріали і методи дослідження

Матеріалом для даного дослідження послужили дані клінічного, морфологічного, імуноцитологічного обстеження та лікування 120 хворих на РГЗ. За критерій відбору хворих було обрано діагноз РГЗ I-IV стадій, який верифіковано клінічно, рентгенологічно (мамографічно) та гістоцитомор-

фологічно. Хворі розподілялись на групи – основна (94 хворих) та контрольна (26 хворих), яким не проводили дослідження кісткового мозку. Основна група розподілена на 2 підгрупи. В першу підгрупу увійшло 49 хворих на РГЗ, в кістковому мозку яких були виявлені поодинокі атипівні клітини або їх комплекси. В другій підгрупі (45 пацієток) кістковий мозок не був уражений злоякісними клітинами.

У досліджувану групу увійшли жінки у віці від 25 до 80 років. Середній вік хворих склав 49,0 роки. Розподіл пацієток по вікових категоріях представлено в таблиці 1. Як видно з наведених даних, найбільшу групу склали хворі у віці 40–59 років (73,6%).

Таблиця 1

Розподіл хворих на РГЗ за віком

Вік	Кількість хворих	Частота, %
До 29 років	4	3.3
30–39 років	20	16.7
40–49 років	39	32.5
50–59 років	34	28.3
60–69 років	19	15.8
Старше 70 років	4	3.3
Всього	120	100

Розподіл хворих на РГЗ по стадіях проілюстровано в таблиці 2.

Таблиця 2

Розподіл хворих на РГЗ по стадіях

Стадія	Кількість хворих, абс. число	Частота, %
I стадія: (T1N0M0)	9	8,3
II а стадія: (T1N1M0, T2N0M0)	28	25,7
II б стадія: (T2N1M0, T3N0M0)	23	21,1
III а стадія: (T2N2M0, T3N1M0)	15	13,8
III б стадія: (T4N0-2M0)	12	11,0
IV стадія: (T0-4N0-2M1)	22	20,2
Всього	120	100

Проводили стерильні пункції в області нижньої третини груднини для отримання пунктату кісткового мозку з подальшим цитологічним та імуноцитологічним його дослідженням. В окремих випадках проводили пункцію гребеня здухвинної кістки. Брали невеликий обсяг аспірата кісткового

мозку (0,5–1,0 мл) для того, щоб уникнути розведення кісткового мозку за рахунок підсмоктування периферичної крові.

Частину отриманого матеріалу одразу поміщали на предметне скло, іншу – в пробірку з додаванням гепарину як антикоагулянту (50 од/мл). З кісткового мозку, що перебував на предметному склі, готували мазки (3–5) проводили фарбування мазків по Паппенгейму, після фарбування проводився підрахунок клітин мієлограмми, виявлення атипівих клітин та їх комплексів на світловому мікроскопі Axioscop 40 (Carl Zeiss).

Результати та їх обговорення

При дослідженні кісткового мозку хворих на РГЗ у 49 пацієнток (52,1%) виявили атипіві клітини та їх комплекси. У 45 пацієнток (47,9%) в кістковому мозку були відсутні пухлинні клітини. Розглядаючи розподіл хворих на РГЗ з наявністю та без атипівих клітин у кістковому мозку в кожній із стадій захворювання, слід відмітити, що при I стадії атипіві клітини виявляються в 6.1% хворих, при ІА стадії – у 20,4%, при ІВ стадії – у 20,4%, при ІІА стадії – у 20,4%, при ІІВ стадії – у 8,2%, при ІV стадії – у 20,4% хворих на РГЗ (див. табл. 3).

Таблиця 3

Частота виявлення атипівих клітин в кістковому мозку в залежності від стадії РГЗ

Стадія	Кількість хворих з атипівими клітинами у КМ		Кількість хворих без атипівих клітин в КМ		Всього, абс. число
	абс. число	%	абс. число	%	
I	3	6,1	5	11,1	8
II	2	4,1	5	11,1	7
IIA	10	20,4	11	24,4	21
IIB	10	20,4	7	15,6	17
IIIA	10	20,4	4	8,9	14
IIIB	4	8,2	6	13,3	10
IV	10	20,4	7	15,6	17
Всього	49	52,1	45	47,9	94

На рис. 1 графічно представлений розподіл за стадіями РГЗ у хворих з атипівими клітинами в кістковому мозку.

Частота виявлення пухлинних клітин в кістковому мозку РГЗ корелює з даними відомих закордонних вчених. Не було встановлено статистично достовірного взаємозв'язку між частотою виявлення мікрометастазів у кістковому мозку й розмірами первинної пухлини ($p=0,31$).

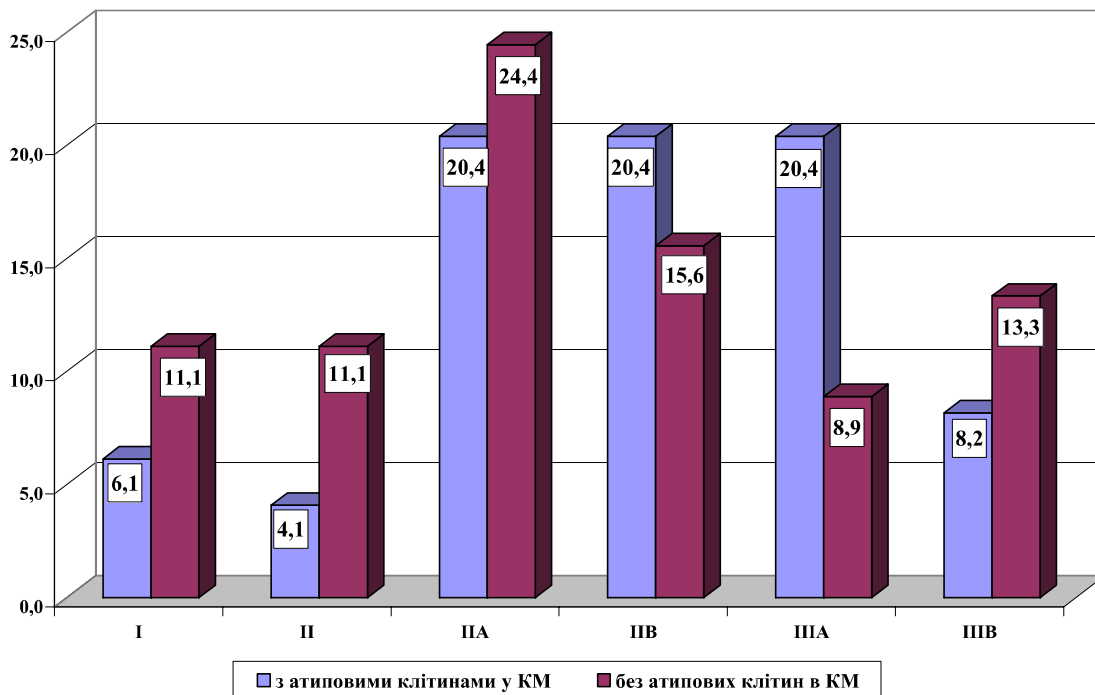


Рис. 1. Розподіл за стадіями РГЗ у хворих з атиповими клітинами в кістковому мозку.

Висновки

Результати проведених досліджень показали високу частоту виявлення пухлинних клітин та їх комплексів у кістковому мозку хворих на РГЗ при різних стадіях онкозахворювання, що вказує на системність хвороби при первинному обстеженні.

Ми вважаємо наявність пухлинних клітин в кістковому мозку незалежним і важливим фактором прогнозу раку грудної залози, який також потрібно використовувати для моніторингу перебігу захворювання та вибору індивідуальної тактики лікування.

Література

1. Моисеенко В.М. Современное лекарственное лечение местно-распространенного и метастатического рака молочной железы / В.М. Моисеенко, В.Ф. Семиглазов, С.А. Тюляндин // Санкт-Петербург. – 1997. – С. 176-182.
2. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II or III breast cancer / S. Braun, K. Pantel, P. Muller et al // N. Engl. J. Med. – 2000. – № 342. – P. 525-533.
3. Differences polypeptide composition of cytokeratin filaments, including tonofilamer from different epithelial tissues and cells / S. Winter, E.D. Jarasch, E. Schmid at all // Eur. J. Cell Biol. – 1980. – № 22. – P. 371.
4. Fidler I.J. The cellular heterogeneity of malignant neoplasms: Implications for adjuvant chemotherapy / I.J. Fidler, G. Poste // Semin. In Oncol. – 1985. – Vol. 12. – P. 207–221.

5. Fisher B. Biological and clinical considerations regarding the use of surgery and chemotherapy in the treatment of primary breast cancer / B. Fisher // *Cancer*. – 1977. – Vol. 40. – P. 574–587.
6. Heppner G. Tumor heterogeneity / G. Heppner // *Cancer*. – 1984. – № 214. – P. 2259.
7. Ingle J.N. The bone marrow examination in breast cancer / J.N. Ingle, D.C. Tormey, H.K. Tan // *Cancer*. – 1978. – Vol. 41. – № 2 – P. 670–674.
8. Liotta L.A. Principles of molecular cell biology cancer: cancer metastases / L.A. Liotta, W.G. Stetler-Stevenson // In De Vita et al. (eds): *Cancer: Principles ar practice of oncology* – Philadelphia. – 1993. – P. 134-147.
9. Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: prognostic value in comparison with nodal status / I.J. Diel, M. Kaufmann, S.D. Costa et all // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1996. – Vol. 88. – P. 1652-1658.
10. Moll R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells / R. Moll, W.W. Franke, D.L. Schiller // *Cell*. – 1982. – Nov. – Vol. 31. – P. 11–24.
11. Nicolson G.L. Tumor cell instability, diversification, progression to the metastatic phenotype: from oncogene to oncofetal expression / G.L. Nicolson // *Cancer Res.* – 1987. – № 47. – P. 1473–1487.
12. The malignant cells in sternal bone marrow of breast cancer patients and staging. A prospective study / E. Unal, M. Camlibel, F. Coskun at al // *Journal Of Experimental and Clinical Cancer Research*. – 1994. – Vol. 13. – № 2. – P. 165–168.
13. Tumour cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: results of a 3-year median follow-up / N. Harbeck, M. Untche, L. Pache, W. Eiermann // *Br. J. Cancer*. – 1994. – Vol. 69. – P. 566–571.

**Выявление опухолевых клеток и их комплексов
в костном мозге больных раком грудной железы**

**А.А. ЛИТВИНЕНКО, С.А. СИВКОВИЧ,
О.М. КАЛЮТА, К.В. КРАВЧЕНКО**

Приведены результаты собственного исследования костного мозга больных раком грудной железы (РГЗ) на наличие в нем опухолевых клеток и их комплексов с применением цитологического и иммуноцитологического методов диагностики. Полученные результаты сравниваются с работами зарубежных ученых в данном направлении онкологии. Достаточно большой процент выявления опухолевых клеток в костном мозге даже при I – II и III стадиях болезни и явная связь с клиническим течением заболевания: местные рецидивы, костное и висцеральное метастазирования, указывают на то, что эти данные могут быть использованы в комплексном обследовании больного с РГЗ и учитываться при планировании тактики лечения и мониторинга при проведении системной полихимиотерапии и гормонотерапии.

Ключевые слова: *рак грудной железы, костный мозг, опухолевые клетки, микрометастазы.*

**Detection of tumor cells and their complexes
in the bone marrow of patients with breast cancer**

**O.O. LITVINENKO, S.O. SIVKOVYCH,
O.M. KALYUTA, K.V. KRAVCHENKO**

The results of the research of bone marrow of patients with breast cancer (BC) for the presence therein of tumor cells and their complexes using cytological and immunocytological methods of diagnosis. The results are compared with the works of foreign scientists to this area of oncology. Quite a large percentage of detection of tumor cells in bone marrow even when I-II and stage III disease and a clear relationship with clinical disease course: local recurrence, bone and visceral metastasis indicate that these data can be used in complex patients with BC and taken into account when planning the tactics of treatment and monitoring during systemic chemotherapy and hormonotherapy.

Key words: *breast cancer, bone marrow, tumor cells, mikrometastasis.*

УДК 616-001.36-08-577.112.384.2.

**Современные аспекты метаболитно-дезинтоксикационной
терапии в комплексном лечении механической желтухи**

**И.А.ЛУРИН, В.П.СЛОБОДЯНИК, Б.А.ПЛИШ,
А.А.БУГАЙ, А.М.ВОЙЦЕХОВСКИЙ**

В статье освещены современные аспекты метаболитно-дезинтоксикационной терапии в комплексном лечении механической желтухи. Показана высокая эффективность комплексного подхода в лечении механической желтухи.

Ключевые слова: *механическая желтуха, эндоскопическое разрешение, метаболитно-дезинтоксикационная терапия.*

Высокая заболеваемость среди населения больных с желчекаменной болезнью (далее – ЖКБ), увеличение среди них пациентов с осложненными формами, отсутствие современной технической оснащённости, все еще неудовлетворенность результатами лечения привлекают пристальное внимание врачей-хирургов и реаниматологов к проблеме ранней диагностики и комплексного лечения этого сложного контингента больных.

По-прежнему одним из наиболее важных направлений научно-практического поиска остается дальнейшее глубокое изучение этиологических факторов, раскрытие новых звеньев патогенеза, постоянное совершенствование диагностических методов и комплекса лечебных мероприятий у больных с механической