

ON THE STATE OF ENDOTHELIAL DESQUAMATION IN CANCER PATIENTS

O. V. Lukyanchuk¹, A. M. Moskalenko¹, I. I. Bokal¹, A. I. Gozhenko²

¹Odessa Regional Oncology Center

²SE “Research Institute for Medicine of Transport of the Ministry of Health Care of Ukraine”, Odessa

Abstract

Introduction. Hypercoagulation is one of the most important general changes in the body of cancer patients, the presence of which is taken into account both in the surgical and conservative treatment of cancer patients and requires adequate correction due to the possibility of thrombotic complications. *The objective.* To study the number of circulating endotheliocytes (CE) and assess the extent of endothelial damage in cancer patients before and after treatment with dacarbazine. *Materials and research methods.* The content of CE in 20 cancer patients before and after treatment with dacarbazine was studied. Dacarbazine was administered intravenously once at a dosage of 60-75 mg / m² of a body surface. At 1-3 days after its introduction, a complete blood count, urinalysis, coagulogram were examined in the patients under observation. *Results.* A high content of CE at all the patients under observation was established. Chemotherapy is accompanied by an increase in CE content for more than twice. *Conclusion.* The tumor process increases desquamation of endothelium, which increases even more after chemotherapy.

Key words: endothelial desquamation, hypercoagulation, circulating endotheliocytes, cancer patients, dacarbazine.

О СОСТОЯНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДЕСКВАМАЦИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

О. В. Лукьянчук¹, А. М. Москаленко¹, И. И. Бокал¹, А. И. Гоженко²

¹Одесский областной онкологический диспансер

²ГП Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, г. Одесса

Введение. Гиперкоагуляция — одно из важных общих изменений в организме онкологических больных, наличие которого учитывается как при хирургическом, так и при консервативном лечении данной группы пациентов и требует адекватной коррекции в связи с возможностью возникновения тромботических осложнений. *Цель исследования.* Изучить количество циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭ) и оценить степени повреждения эндотелия у онкобольных до и после лечения дакарбазином. *Материал и методы исследования.* Изучали содержание ЦЭ у 20 онкобольных до и после лечения дакарбазином. Дакарбазин вводился внутривенно однократно в дозировке 60-75 мг/м² поверхности тела. На 1-3 день после его введения у пациентов исследовали общий анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмму. *Результаты.* Установлено повышенное содержание ЦЭ у ОБ. Химиотерапия сопровождается увеличением последних более, чем в два раза. *Выводы.* Опухолевый процесс увеличивает десквамацию эндотелия, которая возрастает еще больше после сеанса химиотерапии.

Ключевые слова: эндотелиальная десквамация, гиперкоагуляция, циркулирующие эндотелиоциты, онкологические больные, дакарбазин.

ПРО СТАН ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДЕСКВАМАЦІЇ У ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ

О. В. Лукьянчук, О. М. Москаленко, І. І. Бокал, А. І. Гоженко

¹Одеський обласний онкологічний диспансер

²ДП Український НДІ медицини транспорту МОЗ України, м Одеса

Вступ. Гіперкоагуляція — одне з важливих загальних змін в організмі онкологічних хворих, наявність якого враховується як при хірургічному, так і при конервативному лікуванні даної групи пацієнтів і вимагає адекватної корекції в зв'язку з можливістю виникнення тромботичних ускладнень. *Мета дослідження.* Вивчити кількість циркулюючих ендотеліоцитів (ЦЕ) і оцінити ступінь пошкодження ендотелія у онкохворих до і після лікування дакарбазіном. *Матеріал і методи дослідження.* Вивчали вміст ЦЕ у 20 онкохворих до і після лікування дакарбазіном. Дакарбазін вводився внутрішньовенно одноразово в дозі 60-75 мг/м² поверхні тіла. На 1-3 день після його введення у пацієнтів досліджували загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, коагулограму. *Результати.* Встановлено підвищений вміст ЦЕ у ОХ. Хіміотерапія супроводжується збільшенням останніх більш, ніж в два рази. *Висновки.* Пухлинний процес збільшує десквамацію ендотелію, яка зростає ще більше після сеансу хіміотерапії.

Ключові слова: ендотеліальна десквамація, гіперкоагуляція, циркулюючі ендотеліоцити, онкологічні хворі, дакарбазін.

Вступление. Известно, что одним из важных общих изменений в организме онкологических больных является гиперкоагуляция [1, 2, 3]. При этом, как правило, выявляются следующие изменения в показателях гемостаза: повышение содержания растворимого фибрина в плазме (как показателя повышенного содержания тромбина), повышение уровня D-димера, снижение уровня антитромбина III, плазминогена и тромбоцитоз, возрастающие по интенсивности по мере прогрессирования ракового процесса [4, 5].

Наличие феномена гиперкоагуляции учитывается как при хирургическом, так и при конервативном лечении онкобольных и требует адекватной коррекции в связи с возможностью возникновения тромботических осложнений [6, 7, 8, 9]. Вместе с тем известно, что формирование тромба, как правило, наблюдается на матрице поврежденной сосудистой стенки [10]. Одним из способов определения состояния эндотелия, повреждение

которого и есть инициацией формирования изменения сосуда, является определение количества десквамированных эндотелиоцитов, циркулирующих в плазме крови. В этой связи представляет интерес изучение функционального состояния эндотелия у онкологических больных, одним из показателей которого является определение содержания циркулирующих в крови эндотелиоцитов (ЦЭК).

Цель исследования. Изучение количества циркулирующих в крови эндотелиоцитов и оценка степени повреждения эндотелия у онкобольных до и после лечения дакарбазином.

Материал и методы исследования. При исследовании изучалось содержание ЦЭК у 20 больных (3 мужчин и 17 женщин), а также выполнялся ретроспективный анализ историй болезни, проходивших лечение дакарбазином в июне-июле 2018 года в Одесском областном онкологическом диспансере. Возраст пациенток от 35 до 69 лет, в среднем 58,8 лет. Лечились пациентки со следующей патологией: рак молочной железы (14), рак яичников (1), рак тела матки (1), неходжкинская лимфома (1). Гистологически опухоли были представлены: в 14 случаях инвазивным протоковым раком, цистаденокарцинома — 1 случай, железисто-солидная аденокарцинома — 1, диффузная В-клеточная лимфома — 1 случай. С I стадией опухолевого процесса лечение получили 2 женщины, со II — 7, с III — 6, с IV — 2 женщины. За 3 — 18 месяцев до проведения лечения дакарбазином хирургическое лечение в радикальном или циторедуктивном объёме было выполнено 9 пациенткам. Курсы химиотерапии, количеством от 1 до 6, предшествовавшие контрольному за 2 — 12 месяцев, были проведены 14 пациенткам.

Возраст пациентов от 28 до 69 лет, в среднем составил 44,3 года. По поводу лимфомы Ходжкина проводилось лечение 2 пациентам, по поводу неходжкинской лимфомы лечился 1 пациент. Гистологически — у 2 пациентов была лимфома Ходжкина, у 1 — В-клеточная неходжкинская лимфома. Со II стадией опухолевого процесса проходил лечение 1 пациент, с IV стадией — 2 пациента. Курсы химиотерапии, количеством от 2 до 12, предшествовавшие контрольному за 3 — 18 месяцев, были проведены 3 больным.

Также было исследовано содержание ЦЭК у 5 пациентов с впервые установленным диагнозом онкологического заболевания до начала проведения специального лечения (контрольная группа).

Дакарбазин вводился всем больным внутривенно однократно в дозировке 60-75 мг/м² поверхности тела. На 1-3 день после его введения, пациентам выполнялись следующие исследования: общий анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмма.

Содержание эндотелиоцитов в крови определялось по методике морфологической идентификации ЦЭК (по Hladovec J., 1978; Петрищев Н.Н., 2001 с модификацией авторов). Метод основан на изоляции десквамированных эндотелиоцитов вместе с тромбоцитами с

последующим осаждением тромбоцитов адреналином, подсчёт ЦЭК осуществляется с помощью светового микроскопа после предварительной окраски клеток красителем.

Забор крови производится утром натощак путём пункции локтевой вены. В пластиковую пробирку берём 5 мл крови, стабилизируем её 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9: 1. Для приготовления плазмы, содержащей ЦЭК, сразу после взятия кровь центрифугировалась 5 мин при 1500 об/мин. 2 мл полученной плазмы смешивали с 0,1 мл 0,1 % раствора адреналина. Для удаления агрегатов тромбоцитов полученную смесь механически перемешивали 10 мин путём аккуратного встряхивания пробирок и центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин. Переносили 1,6 мл супернатанта, свободного от тромбоцитов, в другую пробирку. Для концентрирования эндотелиоцитов супернатант центрифугировали 15 мин при 1000 об/мин. Удаляли надосадочную жидкость, получая 0,1 мл концентрированной (в 16 раз) суспензии ЦЭК. Для лучшей визуализации ЦЭК проводили их окрашивание. Для этого полученную суспензию ЦЭК в объёме 0,1 мл переносили в другую пробирку, куда при перемешивании стеклянной палочкой добавляли метиленовый синий (1 капля 0,1 % раствора) или аналогичное количество реактива Самсона. Подсчёт ЦЭК производили в камере Горяева.

Результаты и их обсуждение. У онкобольных контрольной группы количество ЦЭК было повышено в сравнении со здоровыми лицами от $83,28 \pm 10,3$ до $165,26 \pm 11,73$ в 100 мкл крови ($p < 0,05$).

Повышение уровня эндотелиоцитов отмечено у всех 15 пациенток с раком молочной железы. Отмечена некоторая зависимость повышения количества ЦЭК (у 11 из 15 пациенток с раком молочной железы) от морфологии опухоли — у всех пациенток гистологически установлен умеренно- и низкодифференцированный инвазивный протоковый рак

Вместе с тем, в нашем исследовании не отмечено прямой зависимости степени выраженности десквамации эндотелия от стадии опухолевого процесса. Кроме того, отмечено отсутствие прямой связи десквамации эндотелия с количеством лейкоцитов в крови и СОЭ — таким образом, вероятно, нет зависимости от генерализованной реакции воспаления.

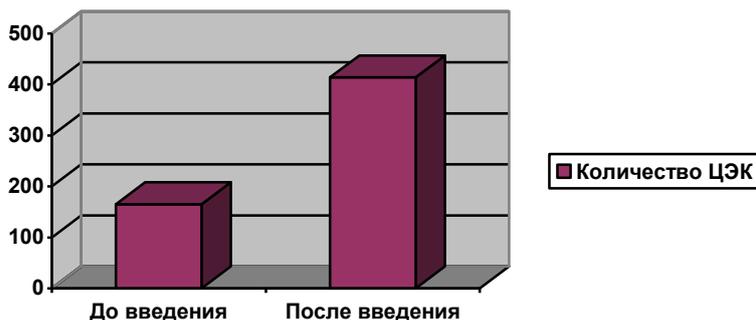


Рис. 1. Содержание ЦЭК в крови онкобольных до и после введения дакарбазина.

После проведения курса химиотерапии доксорубицином у пациентов было отмечено повышение уровня ЦЭК до 708 в 100 мкл крови (в среднем $413,7 \pm 1,73$), причём отмечена тенденция к большему повышению количества ЦЭК с возрастанием количества курсов химиотерапии дакарбазином у пациента, что свидетельствует о возможном нарастании степени выраженности повреждения эндотелия и возрастании эндотелиальной десквамации.

Таблица 1. Содержание форменных элементов и гемоглобина в крови у пациентов

Содержание	До введения дакарбазина	После введения дакарбазина
Эритроциты, Т/л	$4,09 \pm 1,73$	$3,74 \pm 0,73$
Гемоглобин, г/л	$120 \pm 1,73$	$101,3 \pm 1,83$ $p < 0,05$
Лейкоциты, Г/л	$5,58 \pm 1,73$	$7,64 \pm 1,83$
Тромбоциты, Г/л	$269,27 \pm 1,73$	$301,4 \pm 1,83$ $p < 0,05$

На фоне проведения химиотерапии дакарбазином наряду с повышением содержания ЦЭК, отмечена тенденция к повышению уровня лейкоцитов и достоверное увеличение тромбоцитов, а также к некоторому уменьшению содержания эритроцитов и гемоглобина. Некоторое повышение количества тромбоцитов вкупе с отмеченным нами повышением уровня ЦЭК в ответ на проведение химиотерапии дакарбазином подтверждает известный тезис о расстройстве гемостаза у пациентов с онкологическими заболеваниями в виде гиперкоагуляции, возрастающей при проведении системной лекарственной терапии.

Выводы

1. Онкологическое заболевание у пациента в подавляющем большинстве случаев ассоциируется с повышением степени десквамации эндотелия и проявляется повышением количества ЦЭК.
2. Степень выраженности десквамации эндотелия в большинстве случаев усугубляется после проведения больным химиотерапии.
3. Возможна зависимость выраженности десквамации эндотелия от морфологии опухоли, что требует дополнительных исследований.

Литература

1. Макацария А. Д. Проблемы тромбофилии и тромбозов у онкологических больных /А.Д. Макацария, А.В.Воробьев// Эффективная фармакотерапия. Онкология, Гематология и Радиология. — 2008. — № 1. — С 10-21.
2. Falanga A. Mechanisms and risk factors of thrombosis in cancer /Anna Falanga, Laura Russo, Viola Milesi, Alfonso Vignoli// Critical Reviews in Oncology. Hematology. — 2017. — № 118. — p.79-83.
3. Falanga A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects /Falanga A., Marchetti M., Vignoli A.// J. Thromb. Haemost. — 2013. — № 11 (2). — p. 223 — 233.
4. Falanga A. The coagulopathy of cancer /Falanga A., Russo L., Milesi V.// Curr. Opin. Hematol. — 2014. — № 21 (5). — p. 423–429.
5. Khorana, A.A. Risk stratification strategies for cancer-associated thrombosis: an update /Khorana, A.A., McCrae, K.R.//Thromb. Res. — 2014. — № 133 (Suppl. 2). — p.35–38.
6. Тарабрин О.А. Нарушение системы гемостаза у онкологических больных /О.А. Тарабрин, А.И. Мазуренко// Онкогинекология. — 2015. — № 3. — с. 48-56.
7. Шилова А.Н. Показатели коагуляционного гемостаза у онкологических больных /А.Н Шилова с соавт.// Сибирский онкологический журнал. — 2011. — Приложение № 1. — с. 124-125.
8. Сомонова О. В. Тромбозы и тромбоэмболии в онкологии. Современный взгляд на проблему /Сомонова О. В., Маджуга А. В., Елизарова А. Л.// Журнал «Злокачественные опухоли». — 2014. — № 3. — с. 172-176.
9. Тарабрін О.О. Питання тромбогеморагічних ускладнень у хворих на рак ендометрію: що нового? /Тарабрін О.О, Бобирь А.Л, Босенко К.В., Дузенко О.О.// Медицина неотложных состояний. — 2018. — № 4 (91). — с. 57-60.
10. Патологічна фізіологія: Підручник для студентів вищих фармацевтичних навчальних закладів і фармац. факультетів вищ. мед. навч. закладів. — Видання друге доп. та перероб. /за ред. М.С. Регеда, А.І. Березнякова// Львів, 2010. — с. 139-140.

Reference

1. Makatsaria A.D. Problems of thrombophilia and thrombosis in oncological patients / AD. Makatsaria, A.V. Vorobiev // Effective pharmacotherapy. Oncology, Hematology and Radiology. — 2008. — № 1. — С 10-21.
2. Falanga A. Mechanisms and risk factors of thrombosis in cancer /Anna Falanga, Laura Russo, Viola Milesi, Alfonso Vignoli// Critical Reviews in Oncology. Hematology. — 2017. — № 118. — p.79-83.
3. Falanga A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects /Falanga A., Marchetti M., Vignoli A.// J. Thromb. Haemost. — 2013. — № 11 (2). — p. 223 — 233.

4. Falanga A. The coagulopathy of cancer /Falanga A., Russo L., Milesi V.// *Curr. Opin. Hematol.* — 2014. — № 21 (5). — p. 423–429.
5. Khorana, A.A. Risk stratification strategies for cancer-associated thrombosis: an update /Khorana, A.A., McCrae, K.R.//*Thromb. Res.* — 2014. — № 133 (Suppl. 2). — p.35–38.
6. Tarabrin O.A. Disruption of the hemostatic system in cancer patients /O.A. Tarabrin, A.I. Mazurenko // *Oncogynecology.* — 2015. — № 3. — p. 48-56.
7. Shilova A.N. Indicators of coagulation hemostasis in cancer patients / AN Shilova et al. // *Siberian Oncological Journal.* — 2011. — Appendix No. 1. — p. 124-125.
8. Somonova O.V. Thrombosis and thromboembolism in oncology. A modern view on the problem / Somonova O.V., Majuga A.V., Elizarova A.L. // *Journal “Malignant Tumors”.* — 2014. — № 3. — p. 172-176.
9. Tarabrin O.O. Nutrition trombohogemorahnyh accelerated at the ailments of the cancer endometrium: what is new? / Tarabrin OO, Bobir AL, Bosenko KV, Duzenko OO. // *Medicine of emergency conditions.* — 2018. — № 4 (91). — with. 57-60.
10. Pathological physiology: A textbook for students of higher pharmaceutical schools and pharmacies. faculties of higher medical schools. — Second edition edition. and processing. / ed. Ms Regeada, AI Berezniakova // *Lviv, 2010.* — p. 139-140.