

---

DOI: <https://doi.org/10.15407/kvt199.01.085>

УДК 602.9:611.018

**АЗАРХОВ О.Ю.**<sup>1</sup>, д-р.мед.наук.

зав. кафедри біомедичної інженерії

e-mail: alexazarhov@gmail.com

**ЧЕРНИШОВА Т.А.**<sup>2</sup>, лікар

e-mail: tetyana.che@gmail.com

<sup>1</sup> Приазовський державний технічний

університет МОН України,

вул. Університетська, 7, м. Маріуполь, 87555, Україна

<sup>2</sup> Авіаційний медичний центр

Національного авіаційного університету,

пр. Комарова, 1, 03058, Київ, Україна

## **ЗАСТОСУВАННЯ ІНФОРМАЦІЙНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ ВИЗНАЧЕННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ДЛЯ ДІАГНОСТУВАННЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ**

---

***Вступ.** Дослідження можливості використання визначення циркулюючих пухлинних клітин в крові хворих за різної локалізації злоякісних новоутворень як діагностичного критерію та критерію ефективності конкретної тактики лікування є одним з актуальних питань сучасної онкології.*

***Метою** статті є аналіз результатів використання розробленої інформаційної технології визначення циркулюючих пухлинних клітин для дослідження зразків крові пацієнтів з метою підтвердження чи відхилення первинного діагнозу з онкологічного захворювання різної локалізації.*

***Результати.** Запропоновано інформаційну технологію, що базується на використанні удосконаленого методу виділення цілісних і неушкоджених циркулюючих клітин, відмінність якого полягає в доповненні структури базового методу ISET новими режимами: режимом 100 % герметизації камери з гемолізатом і забезпечення в ній необхідного і постійного тиску протягом всього процесу фільтрації шляхом введення манометра негативного тиску, а також режимом трирівневої фільтрації ЦПК на послідовно розміщених полікарбонатних мембранах з діаметрами мікропор 8 мкм, 5 мкм і 3 мкм.*

*Для оцінювання злоякісності виділених клітин у інформаційній технології використано метод визначення ЦПК за сформованим комплексом критеріїв, накопичено бази даних створених шаблон-масок ЦПК та контрольних шаблонів нормальних клітин у автоматизованому режимі. Проведено дослідження зразків крові пацієнтів з викори-*

станням розробленої ІТ. Аналіз результатів дослідження з урахуванням кожного кроку методики (з використанням різних фільтрів) показав, що з сумарна частка зразків, у яких додатково виявлено ЦПК із застосуванням не тільки фільтру 8 мкм, а й фільтрів 5 мкм та 3 мкм, склала 20,66 %.

**Висновки.** Використання розробленої інформаційної технології визначення циркулюючих пухлинних клітин підвищує ефективність визначення циркулюючих пухлинних клітин за рахунок скорочення часу тестування та розширення діапазону дослідження завдяки можливості виявлення клітин малих розмірів. Удосконалення ІТ за рахунок доповнення базою знань (комплекс шаблон-масок та відповідних експертних висновків) уможливує застосування її у скринінговому дослідженні крові пацієнтів, в тому числі на доклінічному етапі обстеження.

**Ключові слова:** інформаційна технологія, циркулюючі пухлинні клітини, метод ізоляції циркулюючих пухлинних клітин, автоматизована система, скринінгове дослідження крові пацієнтів.

## ВСТУП

Сучасна цифрова медицина потребує розвитку інформаційних технологій для використання у діагностичних та лікувальних процесах, особливо для онкозахворювань. У всьому світі високу смертність пацієнтів, хворих на рак, зумовлено тяжкістю захворювання та пізньою діагностикою, а саме пізніми термінами виявлення первинних пухлин, відсутністю високоточних методів контролю ефективності лікування на різних етапах лікування.

Сучасну діагностику раку здебільшого спрямовано на виявлення пухлин та їхніх ускладнень, тобто у періоди захворювання, коли пухлину можна побачити звичними способами візуалізації. Водночас, за результатами багатьох досліджень вважають доведеним, що у 20–70 % онкохворих в периферичній крові виявляють циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК) [1–3], кількість яких в крові у хворих на ранній рак молочної залози виділяють у 30–52,6 % випадків, у хворих на місцеворозповсюджений рак — у 36–52 %, у хворих на метастатичний рак — до 70 % випадків [4–6].

Дослідження можливості використання визначення циркулюючих пухлинних клітин в крові хворих за різної локалізації злоякісних новоутворень як діагностичного критерію та критерію ефективності конкретної тактики лікування є одним з актуальних питань сучасної онкології. Але відсутність чітких кількісних критеріїв оцінювання злоякісності виділених циркулюючих клітин, доступних інформаційних технологій виявлення ЦПК у крові пацієнтів з високою чутливістю та точністю аналізу та тлумачення зумовлює необхідність поглибленого дослідження та удосконалення методів виділення та оцінювання ЦПК [4, 7].

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

У 1869 р. австралійський патолог Т. Ashworth вперше висунув гіпотезу про те, що циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК) є основною передумовою метастазування [8]. Використання розроблених у 21-му столітті методів виявлення пухлинних клітин, які циркулюють у крові хворих на рак, дало змогу клініцистам дослідити їхню роль в канцерогенезі і поставити завдання їхнього використання як оцінювальних і прогностичних показників у клінічній практиці [7, 9–11]. Виявлені біологічні характеристики ЦПК, на відміну

від злоякісних клітин первинної пухлини, свідчать про набуття пухлиною нових якостей — інвазивності і здатності до метастазування та можуть бути новим прогностичним маркером, який відображає, зокрема, ефективність протипухлинного лікування.

На основі методів імуофлуоресценції, імуомагнітного поділу, проточної цитометрії та інших імуомагнітних методів створено низку інформаційних технологій та автоматизованих систем, які дають змогу виділити пухлинні клітини за допомогою магнітного поля, використовуючи властивість цих клітин взаємодіяти з антитілами проти маркерів ЦПК з кон'юктивними магнітними частинками [12–15]. Але досі немає методів та технологій аналізу ЦПК з метою раннього неінвазивного виявлення раку.

Багато дослідників для визначення ЦПК в крові пацієнтів з раком молочної залози використовували систему CellSearch компанії Veridex [12]. Цю технологію схвалено Управлінням з контролю за продуктами харчування та медичними виробами США (Food and Drug Administration, FDA, USA) для виявлення рівнів ЦПК у пацієнтів з метастазами. Система є напівавтоматичною і в її основі лежать методи імуофлуоресценції, імуомагнітного поділу і проточної цитометрії [13], однак без ухвалення можливості клінічного використання цієї системи. CellSearch дає змогу підрахувати ракові епітеліальні клітини, відокремлюючи лейкоцити, з точністю виявлення п'яти і більше ЦПК на 7,5 мл крові [12, 16]. Подібний до CellSearch принцип роботи реалізовано у системах Ariol. Перспективною є технологія CTC-chip [17], яка базується на мікропроточній системі з використанням розробленого чипу. Через цей чіп пропускають потік крові в умовах ламінарної течії. Чутливість методу висока (99 %), ця технологія дає змогу аналізувати невеликі об'єми крові (2–3 мл). У дослідженнях використовують поліуретановий фільтр Imugard III RC («Tegumo», Японія) з діаметром пор до 30 мкм [4], що обмежує можливості виділення ЦПК меншого розміру.

На сьогодні розроблено більше 40-ка методів і засобів, орієнтованих на розв'язання завдання визначення ЦПК, однак більшість з них є ще далекою до клінічної реалізації [18]. Серед цих методів та технологій найточнішими та допущеними FDA (Food and Drug Administration) до клінічного використання в США є CellSearch та ISET (Isolation by Size of Tumor cells). Беручи до уваги результати клінічних досліджень та технічної реалізації методів ізоляції ЦПК на ранніх стадіях інвазії пухлини, актуальним є розвиток таких методів для їхнього практичного впровадження [19]. Необхідність розширення можливостей технології виявлення ЦПК та забезпечення автоматизованого режиму дослідження зумовило розроблення інформаційної технології з удосконаленням базового методу ізоляції ЦК, формуванням комплексу критеріїв оцінювання злоякісності виділених ЦК і залученням методів одержання та аналізу мікроскопічних зображень цих клітин [20].

**Метою** статті є аналіз результатів використання розробленої інформаційної технології визначення циркулюючих пухлинних клітин для дослідження зразків крові пацієнтів з метою підтвердження чи відхилення первинного діагнозу з онкологічного захворювання різної локалізації.

## ІНФОРМАЦІЙНА ТЕХНОЛОГІЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Запропоновано нами інформаційну технологію, що базується на використанні удосконаленого методу виділення клітин, які циркулюють у крові людини (ЦК), на основі методу ISET [21–23]. Метод ISET, який дає змогу ізолювати неушкоджені ЦК, є єдиним клінічно перевіреним методом для цитопатологічної діагностики ЦПК за звичайними цитопатологічними критеріями, які застосовують лікарі-цитологи у оцінюванні мазка за Папаніколау або тонкоголкової біопсії. ISET має набагато більшу чутливість, ніж інші методи ізоляції пухлинних мікроемболів (ЦПМ) або кластерів, що складаються з декількох ЦПК. Вважають, що наявність ЦПМ корелює з поганим прогнозом. Саме спроможність методу ISET виділяти і кількісно оцінювати ЦПК і ЦПМ крові дала можливість ввести в практику термін «Циркулюючі пухлинні мікроемболи».

Технологія ISET на основі методу вакуумної фільтрації забезпечує фільтрацію крові пацієнтів через полікарбонатну мембрану порами 8 мкм, після оброблення лікар отримує зразок клітинного препарату. Виявлені ЦПК переважно більші за розміром, ніж звичайні клітини крові і експресують на своїй поверхні епітеліальні молекули клітинної адгезії (ErCAM), які є специфічними маркерами для ракових клітин, що найчастіше використовують для виявлення ЦПК. Необхідність модернізації етапу ізоляції ЦПК для одержання неушкоджених клітин меншого розміру, а також автоматизація всього процесу дослідження — від виділення клітин до оцінювання їхньої злоякісності та надання відповідного висновку слугувала мотиваційним чинником проведеного нами дослідження та розроблення інформаційної технології визначення ЦПК у крові людини [20].

Структурна схема запропонованої інформаційної технології об'єднує три етапи (Рис. 1). На *першому етапі* — *отримання клітинного препарату для виявлення ЦПК* із зразка венозної крові пацієнта використано удосконалений нами метод ізоляції (виділення) за розміром пухлинних клітин. Відмінність запропонованого методу виділення цілісних і неушкоджених ЦПК полягає в доповненні структури базового методу ISET новими етапами (режимами), а саме: режимом 100 % герметизації камери з гемолізатом і забезпечення в ній необхідного і постійного тиску протягом всього процесу фільтрації шляхом введення манометра негативного тиску, а також режимом тривірневої фільтрації ЦПК на послідовно розміщених полікарбонатних мембранах з діаметрами мікропор 8 мкм, 5 мкм і 3 мкм. Отже, внаслідок виконання першого етапу буде затримано і виділено клітини, розмір яких більший за 3 мкм (а не 8 мкм як у стандартному методі ISET).

На *другому етапі* здійснюється *формування мікроскопічних зображень* з виділеними клітинами. Для автоматизації запропонованого методу використано підходи до оброблення мікроскопічних біозображень [24, 25]. Методику удосконалено внесенням додаткових кроків, а саме: на першому кроці передбачено вибір розміру вікна сканування мікроскопа таким, що не перевищує діаметр його світлового поля, процес оброблення зображень ЦК набуває поступово-послідовного характеру завдяки автоматизації переміщення предметного столика мікроскопа — програмуванню переміщень предметного столика мікроскопа з розміщеними на його поверхні полікар-

бонатними мембранами трьох видів за розмірами фільтрувальних пор. На цьому етапі отримане мікроскопічне зображення клітинного препарату проходить систему алгоритмів попереднього оброблення (фільтрів), що дає змогу підготувати зображення для аналізу і виключити артефакти (Рис. 2). Зазначимо, що до подальшого критеріального оцінювання виділених клітин на кожній із зазначених мембран не допускались зображення, які не містять великих неушкоджених клітин.

Третій етап спрямовано на аналіз зображень ЦПК, визначення злоякісності виділених клітин з використанням сформованого комплексу критеріїв за запропонованим методом визначення циркулюючих пухлинних клітин та надання відповідного висновку.

### Інформаційна технологія визначення циркулюючих пухлинних клітин

Результат:

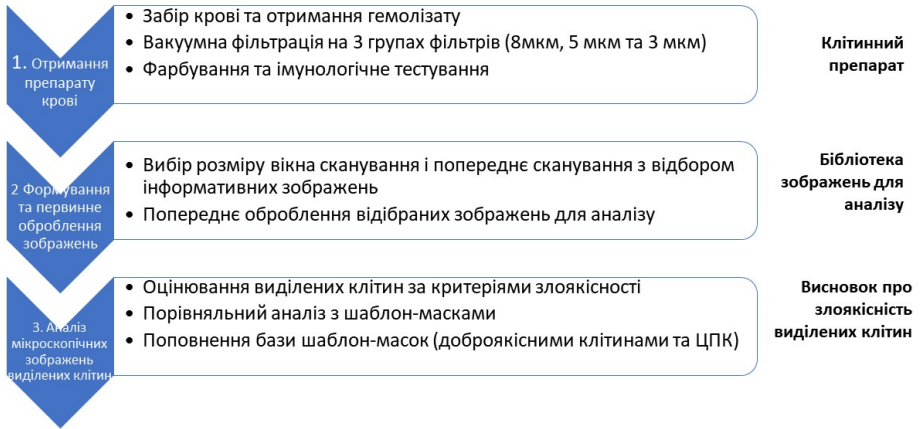


Рис. 1. Структура інформаційної технології визначення ЦПК у крові людини

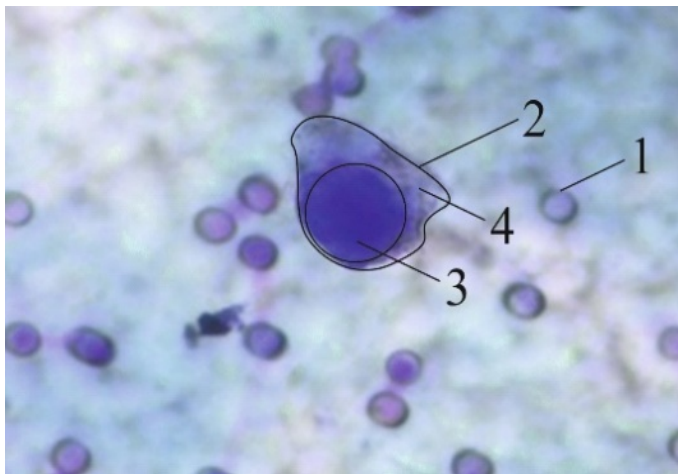


Рис 2. Збільшений виділений об'єкт мікроскопічного зображення:  
1 — пора мембрани; 2 — клітина ЦПК (меланома); 3 — ядро ЦПК;  
4 — цитоплазма

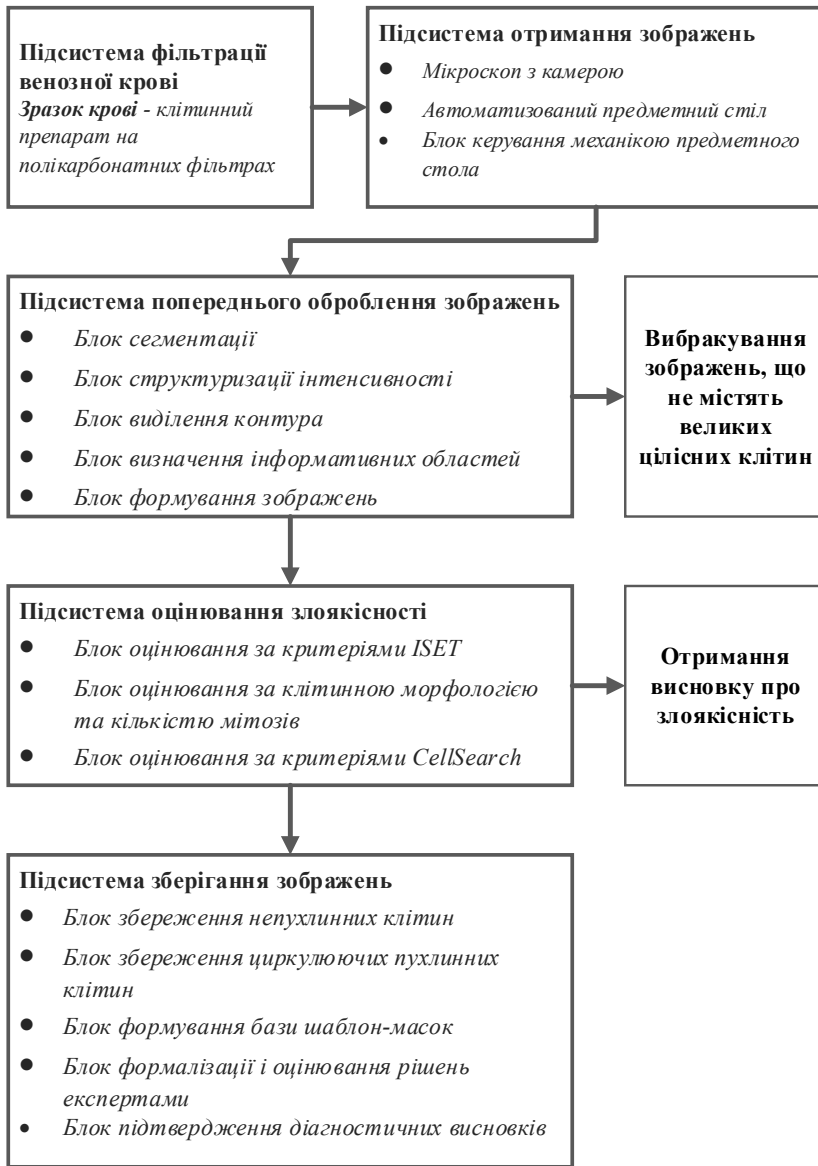


Рис. 3. Блок-схема автоматизованої системи для отримання та аналізу мікроскопічних зображень ЦПК

Для оцінювання зляжкості виділених клітин нами сформовано комплекс критеріїв [26], який об'єднує три групи критеріїв, перша з яких визначається за методом ISET, де клітина вважається зляжкною, якщо відповідає чотирьом із п'яти критеріїв з розширенням діапазону оцінювання на клітини розмірами від 9 мкм, а не 24 мкм, як в ISET (потрійний розмір пори найменшого фільтра). З метою уникнення гіпердіагностики за рахунок хибнопозитивних результатів ми вважали за потрібне доповнити цю групу критеріїв двома іншими, а саме: за модифікованою схемою P. Scarft, H. Bloom, W. Richardson та за прогностичним тестом медичного комплексу ім. Хаїма Шеба (Ізраїль).

На цьому етапі створюються шаблон-маски та формуються бази даних шаблон-масок ЦПК та контрольних шаблонів нормальних клітин.

Розроблену інформаційну технологію реалізовано з використанням автоматизованої системи для отримання та аналізу мікроскопічних зображень ЦПК, яка складається з чотирьох підсистем: фільтрації венозної крові; отримання і попереднього оброблення зображень ЦПК; формування зображень ЦПК та оброблення зображень ЦПК (Рис.3). Цю систему покладено в основу пристрою для виявлення циркулюючих пухлинних клітин в крові, розробленого разом з науковцями Вінницького технічного університету [27]. Накопичення бази шаблон-масок дозволить підключити аналіз з виділенням локалізації досліджуваних пухлин, розробити тканиноспецифічну класифікацію ЦПК та діагностування конкретних видів раку.

### **ОЦІНЮВАННЯ ЗЛОЯКІСНОСТІ ЦИРКУЛЮЮЧИХ КЛІТИН З ВИКОРИСТАННЯМ ІНФОРМАЦІЙНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ**

Для проведення апробації розробленого методу визначення ЦПК та його реалізації — інформаційної технології та автоматизованої системи, використано зразки крові, одержані з онкологічних центрів і клінічних установ м. Маріуполя та м. Вінниці. Метадани про надані зразки включали кодові позначення міста розташування клініки та порядковий номер. Зазначено також первинний чи верифікований раніше вид раку за кожним зразком.

Всі зразки відповідали стандартним вимогам: забір крові здійснено з периферичної вени — 10 мл в пробірці з антикоагулянтом EDTA; дотримання ліміту часу зберігання до початку аналізу — не більше 90 хвилин, та температури зберігання — 4 °С; розведення крові здійснено у співвідношенні 1:10 (до 100 мл) патентованим буферним розчином (санолін, параформальдегід, EDTA, бичачий альбумін), або дистильованою водою, який використовували для лізису еритроцитів.

Для оцінювання статистичної вірогідності результатів дослідження використано критерії чутливості, специфічності, точності, а також коефіцієнт асоціації Юла ( $r_Q$ ):

$$r_Q = \frac{(TP + TN) - (FP + FN)}{(TP + TN) + (FP + FN)},$$

де  $TP$  — істинно позитивні результати обстеження;  $TN$  — істинно негативні результати обстеження;  $FP$  — хибнопозитивні результати обстеження;  $FN$  — хибнонегативні результати обстеження.

Використання розробленої ІТ уможливує використання трьох різних фільтрів з мікропорами 8 мкм, 5 мкм та 3 мкм для виявлення та оцінювання можливого джерела походження пухлини. Розглянемо детально послідовні кроки здійснення дослідження за запропонованим методом.

На першому кроці здійснено виявлення ЦПК із застосуванням фільтру з мікропорами 8 мкм. З таблиці 1 видно, що із використанням фільтру 8 мкм середнє значення частки виявлених ЦПК за досліджуваними даними становить 76,037 %. Водночас, найбільша частка ЦПК виявлена у зразках з раком товстої кишки (81,82 %), найменша — у разі дрібноклітинного раку легенів. Це свідчить про наявність значної частки недіагностованих випадків за умови використання тільки фільтру 8 мкм.

**Таблиця 1. Розподіл кількості виявлених ЦПК за використання фільтру з мікропорами 8 мкм**

Локалізація злоякісних пухлин	Всього досліджених зразків	Виявлено ЦПК		Кількість зразків з різною часткою ЦПК			
		Кількість зразків	%	до 5	від 6 до 10	від 11 до 20	> 20
Товста кишка	33	27	81,82	4	10	8	5
Молочна залоза	24	19	79,17	1	6	7	5
Дрібноклітинний рак (рак легенів)	19	11	57,89	1	5	3	2
Простата	19	15	78,95	2	6	4	3
Шкіра	26	20	76,92	3	7	6	4
Всього, осіб	121	92	76,03	11	34	28	19

**Таблиця 2. Розподіл кількості виявлених ЦПК за використання фільтру з мікропорами 5 мкм**

Локалізація злоякісних пухлин	Всього досліджених зразків	Виявлено ЦПК		Кількість зразків з різною часткою ЦПК			
		Кількість зразків	%	до 5	від 6 до 10	від 11 до 20	> 20
Товста кишка	33	4	12,12	0	2	1	1
Молочна залоза	24	4	16,67	1	1	1	1
Дрібноклітинний рак (рак легенів)	19	4	21,05	1	2	1	0
Простата	19	2	10,53	0	1	1	0
Шкіра	26	3	11,54	1	1	0	1
Всього, осіб	121	17	14,05	3	7	4	3

Наступним кроком було виявлення ЦПК із застосуванням додаткового фільтру 5 мкм. Аналіз табл. 2 показав, що за використання цього фільтру найбільшу частку досліджених зразків з виявленими додатково ЦПК визначено у зразках у разі дрібноклітинного раку легенів (21,05 %), тоді як для раку простати (10,53 %) та шкіри (11,54 %) додано значно менші частки.

На завершальному кроці використано додатково фільтри 3 мкм (Табл. 3). Результати аналізу показали, що використання цього фільтру дало змогу виявити додатково ЦПК в середньому у 6,61 % досліджуваних зразків. Найбільшу частку зразків, у яких додатково виявлено ЦПК за допомогою фільтру 3 мкм, визначено, також, для дрібноклітинного раку легенів (15,79 %).



Таблиця 3. Розподіл кількості виявлених ЦПК за використання фільтру з мікропорами 3 мкм

Локалізація злоякісних пухлин	Всього зразків	Виявлено ЦПК		Кількість зразків з різною часткою ЦПК			
		Кількість зразків	%	до 5	від 6 до 10	від 11 до 20	> 20
Товста кишка	33	1	3,03	0	1	0	0
Молочна залоза	24	1	4,17	0	0	0	1
Дрібноклітинний рак (рак легенів)	19	3	15,79	1	1	0	1
Простата	19	1	5,26	0	0	1	0
Шкіра	26	2	7,69	1	0	0	1
Всього, зразків	121	8	6,61	2	2	1	3

Таблиця 4. Кількість зразків, у яких виявлено ЦПК за використання різних фільтрів

Досліджувані показники	Загальна кількість зразків	Розмір використаних фільтрів		
		8 мкм	5 мкм	3 мкм
Кількість зразків з виявленими ЦПК за використання різних фільтрів	117	92	17	8
Частка зразків з ЦПК (%)	96,69	76,03	14,05	6,61

Аналіз результатів дослідження з урахуванням кожного кроку методики (з використанням різних фільтрів) показав (Табл. 4), що з використанням фільтру 8 мкм виявлено ЦПК тільки у 76,03 % зразків, тоді як додаткове застосування фільтру 5 мкм дало змогу виявити ЦПК ще 14,05 % досліджуваних випадків, а додаткове застосування фільтру 3 мкм — 6,61 %. Сумарна частка зразків, у яких додатково виявлено ЦПК із застосуванням не тільки фільтру 8 мкм, а й фільтрів 5 мкм та 3 мкм, склала 20,66 %.

Отже, можна зробити висновок, що розроблений метод визначення ЦПК у крові людини, реалізований у запропонованій ІТ, дає змогу виявити додатково наявність злоякісних пухлин у 20,66 % випадків (коефіцієнт асоціації Юла  $r_Q = 0,98$ ,  $p < 0,001$ ). Тому вже під час початкових досліджень є можливість діагностувати наявність злоякісних пухлин і забезпечити своєчасне лікування кожному п'ятому пацієнту.

Отримані результати визначення ЦПК за допомогою інформаційної технології було передано в онкоцентри і клініки під тими ж кодами, під якими і отримано.

В процесі лікування для визначення ефективності операції, променевої та хіміотерапії, а також для визначення рецидиву пухлини і початку метастатичного процесу рекомендовано визначати наявність циркулюючих пухлинних клітин в крові пацієнта (з урахуванням виділених клітин малого діаметру). Використання третьої групи критеріїв у запропонованій технології рекомендовано для визначення можливого прогнозу перебігу захворювання.

## ВИСНОВКИ

Застосування розроблених методу та інформаційної технології виявлення та оцінювання злякисності виділених клітин малого розміру у зразках крові людини під час виконання досліджень у цитогістологічних лабораторіях, оснащених приладами світлової мікроскопії з відеозахопленням зображення, надає можливість одержати важливу та своєчасну додаткову діагностичну інформацію.

Накопичення бази даних продіагностованих зображень, які отримали експертні висновки щодо виду ЦПК, та подальше створення бази знань (шаблон-масок) забезпечить доповнення функціоналу запропонованої інформаційної технології визначення типу пухлинних клітин.

Використання розробленої інформаційної технології визначення циркулюючих пухлинних клітин підвищує ефективність визначення циркулюючих пухлинних клітин за рахунок скорочення часу тестування та розширення діапазону дослідження завдяки можливості виявлення клітин малих розмірів. Удосконалення ІТ за рахунок доповнення базою знань (комплекс шаблон-масок та відповідних експертних висновків) уможливує застосування її у скринінговому дослідженні крові пацієнтів, в тому числі на доклінічному етапі обстеження.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Goeminne JC, Guillaume T, Symann M. Pitfalls in the detection of disseminated non-hematological tumor cells. *Ann Oncol*, 2000; 11: 785–792.
2. Pantel K, Woelfle U. Detection and molecular characterisation of disseminated tumour cells: implications for anticancer therapy. *Biochim Biophys Acta*, 2005; 1756: 53–64.
3. Smerage JB, Hayes DF. The measurement and therapeutic implications of circulating tumour cells in breast cancer. *Br J Cancer*, 2006; 94: 8–12.
4. Грудинская Т.В., Ковалев А.А., Ковалев К.А., Кузнецова Т.П. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток. *Онкология*, 2012, т.14 № 2, С. 126–129.
5. Кит О.И., Новикова И.А., Селютина О.Н., Дурицкий М.Н., Донцов В.А., Черникова Е.Н., Саманева Н.Ю., Нистратова О.В. Исследование уровня ЦОК при эпителиальных опухолях различных локализаций. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, №12 (часть 5), 2015, С. 817–820.
6. Бжадуг О. Б., Гривцова Л. Ю., Тупицьш Н. Н., Тюляндин С. А. Циркулирующие опухолевые клетки в крови больных местнораспространенным и диссеминированным раком молочной железы. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*, 2007, Т. 18, №3, С. 19–22.
7. Balic M, Dandachi N, G. Hofmann G, et al. Comparison of two methods for enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients. *Clin Cytom* 2005; 68: 25–30.
8. Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *Aust Med J*, 1869, 14: 146–149.
9. Goeminne J.C., Guillaume T., Symann M. Pitfalls in the detection of disseminated non-hematological tumor cells. *Ann Oncol*, 2000; 11: 785–92.

10. Christiansen J.J., Rajasekaran A.K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res*, 2006; 66: 8319–26.
11. Ring I, Smith E, Dowsett M. Circulating tumour cells in breast cancer. *Lancet Oncol*. 2004; 5: 79–88.
12. Andreopoulou E., Yang L.-Y., Rangel K., Reuben J., Hsu L., Krishnamurthy S., Valero V. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Yeredix CellSearch™ system. *Int. journal of cancer*. 2012. V. 130, № 7. P. 1590–1597.
13. 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. V. 25, № 1. P. 104–110.
14. Nezos A., Pissimisis N., Lembessis P., Sourla A., Dimopoulos P., Dimopoulos T., Tzelepis K. Detection of circulating tumor cells in bladder cancer patients. *Cancer treatment reviews*. 2009. V. 35, № 3. P. 272–279.
15. Ignatiadis M., Kallergi G., Ntoulia M., Perraki M., Apostolaki S., Kafousi M., Chlouverakis G. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimarker reverse transcription-PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008. V. 14, № 9. P. 2593–2600.
16. Van der Auwera I., Peeters D., Benoy I., et al. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK-19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *British journal of cancer*. 2010. V. 102, № 2. P. 276–284.
17. Nagrath S., Sequist L., Maheswaran S., Bell D., Irimia D., Ulkus L., Smith M. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*. 2007. V. 450, № 7173. P. 1235–1239.
18. Chen L., Bode A. M., Dong Z. Circulating Tumor Cells: Moving Biological Insights into Detection. *Theranostics*. 2017. №7 (10) P. 2606–2619
19. Laget S., Broncy L., Hormigos K., Dhingra D.M., BenMohamed F., Capiod T., et al. Technical Insights into Highly Sensitive Isolation and Molecular Characterization of Fixed and Live Circulating Tumor Cells for Early Detection of Tumor Invasion. *PLOS ONE*, 2017, 12 (1): e0169427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169427>
20. Злепко С.М., Чернишова Т.А., Маєвський О.Е., Кривоносов В.С., Азархов О.Ю. Інформаційна технологія для визначення циркулюючих пухлинних клітин в крові людини. *Кибернетика и вычислительная техника*. 2018. №2 (192). С.84–98.
21. Vona G., Sabile A., Louha M., Sitruk V., Romana S., Schutze K., Capron F. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *The American journal of pathology*. 2000. V. 156, no 1, pp. 57–63.
22. Paterlini-Br chet P, Benali-Furet NL. Circulating tumor cells (CTC) detection : Clinical impact and future directions. *Cancer Letter*, 2007, 253: 180–204
23. Исмаилова Г., Laget S., Paterlini-Brechet P. Диагностика циркулирующих опухолевых клеток с помощью технологии ISET и их молекулярная характеристика для жидкостной биопсии. *Клиническая медицина Казахстана*. 2015. № 1 (35). С. 15–20.
24. Павлов С.В., Кожем'яко В.П., Бурденюк І.І., Рамі Ребхі Хамді. *Оптико-електронні технології аналізу біомедичних зображень*. Вінниця: ВНТУ, 2011. 166 с.
25. Злепко С. М., Павлов С. В., Коваль Л. Г., Тимчик І. С. *Основи біомедичного радіоелектронного апаратобудування*. Вінниця: ВНТУ, 2011. 133 с.
26. Chernyshova T. A. Criteria and Method for Detection of Circulating Tumor Cells. *Cybernetics and computer engineering*. 2019. №1 (195). С.85–98.
27. Пат. 127486 UA, МПК С12М 3/06, G01N 33/574, G01N 33/49. Пристрій для виявлення циркулюючих пухлинних клітин в крові [Текст] / С. М. Злепко, В. Є. Кривоносов, С. В. Тимчик, Т. А. Чернишова, О. С. Злепко, О. Ю. Азархов, В. С. Павлов, В. В. Кривоносов (Україна). – № и 2018 00060 ; заявл. 02.01.2018 ; опубл. 10.08.2018, Бюл. № 15. – 7 с.

Отримано 11.12.2018

REFERENCES

1. Goeminne J.C., Guillaume T., Symann M. Pitfalls in the detection of disseminated non-hematological tumor cells. *Ann Oncol.* 2000, no. 11, pp.785–792.
2. Pantel K., Woelfle U. Detection and molecular characterisation of disseminated tumour cells: implications for anticancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2005, no. 1756, pp. 53–64.
3. Smerage J.B., Hayes D.F. The measurement and therapeutic implications of circulating tumour cells in breast cancer. *Br J Cancer.* 2006, no. 94, pp. 8–12.
4. Grudinskaya T.V., Kovalev A.A., Kovalev K.A., Kuznetsova T.P. Heterogeneity of circulating tumor cells. *Oncology.* 2012, Vol. 14, no. 2, pp. 126–129. (in Russian).
5. Keith O.I., Novikova I.A., Selyutina O.N., Duritsky M.N., Dontsov V.A., Chernikova E.N., Samaneva N.Yu., Nistratova O.V. Research of the CTC level in epital tumors of different localizations. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2015, no.12 (Part 5), pp. 817–820. (in Russian).
6. Bzhadug O.B. Gritsova L.Y., Tupitsh N.N., Tyulandin S.A. Circulating tumor cells in the blood of patients with locally distributed and disseminated breast cancer. *RONC Newsletter.* 2007, Vol. 18, no. 3, pp. 19–22. (in Russian).
7. Balic M., Dandachi N., Hofmann G. Comparison of two methods for enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients. *Clin Cytom.* 2005, no. 68, pp. 25–30.
8. Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *Aust Med J.* 1869, no. 14, pp. 146–149.
9. Goeminne J.C., Guillaume T., Symann M. Pitfalls in the detection of disseminated non-hematological tumor cells. *Ann Oncol.* 2000, no. 11, pp. 785–92.
10. Christiansen J.J., Rajasekaran A.K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res.* 2006, no. 66, pp. 8319–26.
11. Ring I., Smith E., Dowsett M. Circulating tumour cells in breast cancer. *Lancet Oncol.* 2004, no. 5, pp. 79–88.
12. Andreopoulou E., Yang L.-Y., Rangel K., Reuben J., Hsu L., Krishnamurthy S., Valero V. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Yerdex CellSearch™ system. *Int. journal of cancer.* 2012, Vol. 130, no. 7, pp. 1590–1597.
13. 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, Vol. 25, no. 1, pp. 104–110.
14. Nezos A., Pissimisis N., Lembessis P., Sourla A., Dimopoulos P., Dimopoulos T., Tzelepis K. Detection of circulating tumor cells in bladder cancer patients. *Cancer treatment reviews.* 2009, Vol. 35, no. 3, pp. 272–279.
15. Ignatiadis M., Kallergi G., Ntoulia M., Perraki M., Apostolaki S., Kafousi M., Chlouverakis G. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimarker reverse transcription-PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2008, Vol. 14, no. 9, pp. 2593–2600.
16. Van der Auwera I., Peeters D., Benoy I. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK-19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *British journal of cancer.* 2010, Vol. 102, no. 2, pp. 276–284.
17. Nagrath S., Sequist L., Maheswaran S., Bell D., Irimia D., Ulkus L., Smith M. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature.* 2007, Vol. 450, no. 7173, pp. 1235–1239.
18. Chen L., Bode A. M., Dong Z. Circulating Tumor Cells: Moving Biological Insights into Detection. *Theranostics.* 2017.
19. Laget S., Broncy L., Hormigos K., Dhingra D.M., BenMohamed F., Capiod T. Technical Insights into Highly Sensitive Isolation and Molecular Characterization of Fixed and Live Circulating Tumor Cells for Early Detection of Tumor Invasion. *PLOS ONE.* 2017, 12 (1): e0169427. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169427>

20. Zlepko S.M., Chernyshova T.A., Mayevsky A.Ye., Krivonosov V.Ye., Azarkhov A.Yu. Information technology for the determination of circulating tumor cells in human blood. *Kibernetika i vyčislitel'naâ tehnika*. 2018, no. 2 (192), pp. 84–98. (in Ukrainian).
21. Vona G., Sabile A., Louha M., Sitruk V., Romana S., Schutze K., Capron F. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *The American journal of pathology*. 2000, Vol. 156, no. 1, pp. 57–63.
22. Paterlini-Bréchet P., Benali-Furet N.L. Circulating tumor cells (CTC) detection : Clinical impact and future directions. *Cancer Letter*. 2007, no. 253, pp. 180–204.
23. Ismailova G., Laget S., Paterlini-Brechot P. Diagnosis of circulating tumor cells using ISET technology and their molecular characteristics for fluid biopsy. *Clinical medicine of Kazakhstan*. 2015, no. 1 (35), pp. 15–20. (in Russian).
24. Pavlov S.V., Kozhemyako V.P., Burdenyuk I.I., Rami Rebhi Hamdi. Opto-electronic technologies of biomedical image analysis. Vinnitsa, 2011, 166 p. (in Ukrainian).
25. Zlepko S.M., Pavlov S.V., Koval L.G., Timchuk I.S. Fundamentals of biomedical radioelectronica apparatus. Vinnitsa, 2011, 133 p. (in Ukrainian).
26. Chernyshova T.A. Criteria and Method for Detection of Circulating Tumor Cells. *Cybernetics and computer engineering*. 2019, no.1 (195), pp.85–98.
27. Pat. 127486 UA, MPK C12M 3/06, G01N 33/574, G01N 33/49. Device for detecting circulating tumor cells in the blood /Zlepko S.M., Krivonosov V.E., Timchuk S.V., Chernyshova T.A., Zlepko O.S., Azarkhov O.Yu., Pavlov V.S., Krivonosov V.V. (Ukraine). 2018 00060; claimed 02.01.2018; publ. 08/10/2018, Bul. № 15. – 7 p. (in Ukrainian).

Recieved 11.12.2019

*Azarkhov O.Yu.*<sup>1</sup>, DSc (Medicine),  
Head of the Biomedical Engineering Department  
e-mail: alexazarhov@gmail.com  
*Chernyshova T.A.*<sup>2</sup>, physician,  
e-mail: tetyana.che@gmail.com

<sup>1</sup> Pryazovsky State Technical University  
of the Ministry of Education and Science of Ukraine,  
7, University st., Mariupol, 87555, Ukraine

<sup>2</sup> Aviation Medical Center of the National Aviation University,  
1, Komarova av., Kyiv, 03058, Ukraine

#### APPLICATION OF INFORMATION TECHNOLOGY FOR DETERMINATION OF CIRCULATING TUMOR CELLS TO DIAGNOSTICS OF MALIGNANT TUMOR DISEASES

**Introduction.** The study of the possibility of using the circulating tumor cells (CTC) definition in the patients' blood with different localization of malignant tumors as a diagnostic criterion and the criterion of the effectiveness of specific treatment tactics is one of the topical issues in modern oncology.

**The purpose of the paper** is to analyze the results of using the developed information technology for identification of circulating tumor cells for the study of blood samples of patients in order to confirm or reject the initial diagnosis of cancer of different localization.

**Results.** Our information technology is based on the use of an advanced method of isolation of intact circulating cells, the difference of which is to supplement the structure of the basic ISET method with new modes: 100% sealing chamber with hemolysate and providing it with the necessary and constant pressure during the filtration process by introducing a negative pressure gauge, as well as the mode of three-level filtering of the CTC on consecutive polycarbonate membranes with micropore diameters of 8 µm, 5 µm and 3 µm.

To assess the malignancy of selected cells, the information technology used the method of determining the CTC according to the set of criteria, formed databases with created template CTC masks and control templates in the automated mode. Blood samples from patients were tested using IT. Taking into account each step of the technique (using different filters), analysis of the results showed that of the total proportion of samples, which additionally detected the CTC using not only an 8  $\mu\text{m}$  filter, but also filters 5  $\mu\text{m}$  and 3  $\mu\text{m}$ , was 20.66 %.

**Conclusions.** The use of information technology to identify circulating tumor cells improves the efficiency of detecting these cells by reducing the testing time and expanding the range of research due to the ability to detect cells of small size. Improvement of IT by supplementing the knowledge base (complex of template mask masks and relevant expert findings) makes it possible to apply it in screening of patients' blood, including at the preclinical stage of the examination.

**Keywords:** *information technology, circulating tumor cells, method of isolation of circulating tumor cells, automated system, screening of patients' blood.*

Азархов А.Ю.<sup>1</sup>, д-р.мед.наук,  
Зав. кафедрой биомедицинской инженерии  
e-mail: alexazarhov@gmail.com

Чернышова Т.А.<sup>2</sup>, врач,  
e-mail: tetyana.che@gmail.com

<sup>1</sup> Приазовский государственный технический университет МОН Украины,  
ул. Университетская, 7, г. Мариуполь, 87555, Украина

<sup>2</sup> Авиационный медицинский центр Национального авиационного университета,  
пр. Комарова, 1, 03058, Киев, Украина

#### ПРИМЕНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Рассмотрены результаты использования разработанной информационной технологии определения циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) для исследования образцов крови пациентов с целью подтверждения или отклонения первичного диагноза онкологического заболевания различной локализации.

Для оценки злокачественности выделенных клеток в информационной технологии использованы: усовершенствованный метод выделения неповрежденных ЦОК, сформированный комплекс критериев, базы данных созданных шаблонов масок ЦОК и контрольных шаблонов доброкачественных клеток в автоматизированном режиме. Проведено исследование образцов крови пациентов с использованием разработанной ИТ. Анализ результатов исследования с учетом каждого шага метода (с использованием различных фильтров) показал, что суммарная доля образцов, в которых дополнительно обнаружено ЦОК с применением не только фильтра 8 мкм, но и фильтров 5 мкм и 3 мкм, составила 20,66 %.

**Ключевые слова:** *информационная технология, циркулирующие опухолевые клетки, метод изоляции циркулирующих опухолевых клеток, автоматизированная система, скрининговое исследование крови пациентов.*