

Е.А. ШЛЯХТУНОВ

**МИНИМАЛЬНАЯ ОСТАТОЧНАЯ БОЛЕЗНЬ ПРИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ –
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ**УО «Витебский государственный медицинский университет»,
Республика Беларусь

В статье представлен обзор современной литературы по вопросам диагностики минимальной остаточной болезни (МОБ) при солидных опухолях. Отдаленные метастазы остаются главной причиной смерти пациентов со злокачественными новообразованиями. МОБ определяется как присутствие опухолевых клеток, которые не могут быть обнаружены на основе использования сегодняшних рутинных диагностических методов, применяющихся для определения стадии опухолевого процесса. Установлено, что у 20-45% онкологических пациентов с категорией M0 в периферической крови обнаруживаются циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), а у 25–60% пациентов диссеминированные опухолевые клетки (ДОК) обнаруживаются в костном мозге. В настоящее время ЦОК и ДОК предложено отнести к категории МОБ. Установлен порог количества ЦОК, который составляет 5 ЦОК в 7,5 мл крови. Наличие ≥ 5 опухолевых клеток в 7,5 мл периферической крови ассоциируется с плохим прогнозом. В настоящее время для поиска ЦОК применяется один коммерчески доступный прибор одобренный FDA – CellSearch (Veridex LLC) для мониторинга лечения пациенток, страдающих раком молочной железы, колоректальным раком и раком предстательной железы. Кроме того, используя различные модификации ПЦР-анализа, возможна идентификация опухолеассоциированных генов, таких как ген тирозиназы (TYR), ген сурвивина (BIRC5), ген рецептора эпидермального фактора роста (ErbB-2/HER2-Neu), а также генов «домашнего хозяйства» (GAPDH, 18S rRNA). Данные гены рассматриваются в настоящее время также, как маркеры МОБ.

Ключевые слова: минимальная остаточная болезнь, метастазирование, солидная опухоль, диагностика

The paper presents a review of the current literature concerning some aspects of on the diagnosis of minimal residual disease (MRD) at solid tumors. Distant metastases are considered to be the main cause of death in patients with malignant tumors. MRD is defined as the presence of tumor cells which can not be detected by current routine diagnostic methods used to determine the tumor stage. It is found that in 20–45% of oncological patients (category M0) the circulating tumor cells (CTCs) have been revealed in the peripheral blood, and in 25-60% of patients the disseminated tumor cells (MLC) are found in the bone marrow. Currently, CSC and MLC are proposed to be classified as MRD. A threshold number of CTCs is determined, which makes up 5 CTCs in 7.5 ml of blood. Availability of ≥ 5 tumor cells in 7.5 ml of peripheral blood is associated with poor prognosis.

Currently, CSC is used to search for a commercially available device approved by the FDA - CellSearch (Veridex LLC) for monitoring the treatment of patients suffering from breast cancer, colorectal cancer and prostate cancer. In addition, using various modifications of PCR analysis can identify tumor-associated genes such as the tyrosinase gene (TYR), gene survivin (BIRC5), gene of epidermal growth factor receptor (ErbB-2/HER2-Neu), as well as "household" genes (GAPDH, 18S rRNA). These genes are now being considered as markers of MRD.

Keywords: minimal residual disease, metastasis, malignant solid tumor, diagnostics

Novosti Khirurgii. 2014 Nov-Dec; Vol 22 (6): 735-742

Minimal residual disease at solid tumors – a contemporary state of the problem

E.A. Shlyakhtunov

Введение

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении пациентов, страдающих солидными опухолями, отдаленные метастазы остаются главной причиной смерти пациентов со злокачественными новообразованиями. Раннее распространение опухолевых клеток из первичной опухоли определить обычно не представляется возможным даже с помощью современных методов визуализации (МРТ, ПЭТ), что препятствует началу своевременного и потенциально эффективного лечения. Известно также, что при обнаружении метастазов шансы значительного увеличения про-

должительности жизни снижаются в среднем с 90% до 5% на фоне ограничения вариантов лечения [1, 2].

У немалого количества пациентов (20–30%), главным образом с опухолями молочной железы, желудка, предстательной железы, которые подвергаются хирургическому лечению в ранней стадии заболевания и у которых не диагностируются отдаленные метастазы, после удаления первичной опухоли, в течение последующих 5-10 лет развиваются метастазы [3, 4, 5, 6, 7].

Поздний метастатический рецидив обусловлен, главным образом, феноменом ранней диссеминации опухолевых клеток, которая ча-

сто имеет место еще до выполнения хирургической операции [2, 8]. Важным, с точки зрения практики, остается вопрос о взаимосвязи между частотой появления раковых клеток вне опухоли, особенно в периферической крови и в операционной ране, и возникновением рецидивов и метастазов [1, 2, 8, 9].

Еще в 1929 г. Я.В. Зильберберг, допуская возможность гематогенного распространения клеток рака молочной железы, придавал операции значение фактора, содействующего массивному поступлению опухолевых клеток в кровь, а Б.Т. Билынский в 1963 г. опубликовал данные о том, что местные рецидивы развиваются у 13,3% женщин оперированных по поводу рака молочной железы, причем большинство рецидивов возникает на протяжении первых 2 лет после операции [3, 4]. Специально проведенное исследование позволило выявить раковые клетки в операционной ране у 41,5% пациентов, что может являться причиной развития рецидивов [9].

Общеизвестно, что «массаж» опухоли приводит по меньшей мере к 10-кратному увеличению количества опухолевых клеток, покидающих первичный опухолевый узел, а хирургические манипуляции при опухолях молочной железы могут индуцировать ангиогенез и пролиферацию клеток отдаленных «дремлющих» микрометастазов, особенно у молодых пациентов с наличием положительных лимфатических узлов [3, 4, 10, 11, 12, 13].

Следует учитывать и феномен «сбрасывания» опухолевых клеток из первичного узла, который связывают с ангиогенезом в опухоли, сосудистой инвазией, размерами опухоли и ее пролиферативным потенциалом [14]. Установлено, что опухолевые клетки могут выходить из растущего опухолевого узла со скоростью, составляющей от нескольких тысяч до нескольких миллионов клеток в день на 1 г ткани [8].

Таким образом, в настоящее время весьма актуальным является изучение и исследование принципов своевременной диагностики раннего метастазирования либо сохранения болезни в организме человека после лечения.

Опухолевые клетки вне первичной опухоли

В онкогематологии прочно укоренилось понятие «минимальная остаточная болезнь (МОБ)». В настоящее время данное направление и в онкологии получили распространение и в онкологии солидных опухолей. МОБ (MRD-minimal residual disease, англ.). МОБ определяется как присутствие опухолевых клеток в организме, которые не могут быть обнаружены на основе

использования современных рутинных диагностических методов, применяющихся для определения стадии опухолевого процесса у онкологических пациентов после хирургического удаления первичной опухоли.

Опухолевые клетки после выхода из первичной опухоли остаются, главным образом, в костном мозге и сохраняют потенциал превращения в настоящие метастазы. Хорошее кровоснабжение костного мозга, развитая сеть капилляров и синусов, насыщенность клеточными элементами и особенности микроокружения являются оптимальными условиями для оседания в данном органе опухолевых клеток и последующего развития метастазов [15].

Имеются данные о том, что у многих людей может возникать микроскопическая опухоль, которая никогда не развивается до клинически определяемого новообразования [16]. Эти неагрессивные микроопухоли могут оставаться «дремлющими» на протяжении всей жизни пациента. Установлено, что примерно у 39% женщин в возрасте 40-49 лет имеет место клинически скрытый рак молочной железы, и только у 1,8% представительниц той же возрастной группы диагностируют данную патологию [11].

Карцинома *in situ* предстательной железы выявляется у 31% мужчин в возрасте 60-70 лет, погибших в результате травмы, но клинически рак предстательной железы диагностируется только у 8% мужчин этой возрастной группы [17].

Микроскопическая карцинома (часто менее 1 мм в диаметре) обнаруживается в щитовидной железе более чем у 38% людей в возрасте 41-60 лет, погибших вследствие травмы, но рак диагностируется только у 0,5% лиц этого возраста [18].

Дополнительные клинические доказательства в поддержку состояния «дремоты» опухоли получены в исследовании рецидивов рака после первичной хирургии [19]. Установлено, что у пациенток, страдающих раком молочной железы, ранний пик появления рецидива приходится на 18-й месяц после хирургического вмешательства с последующим вторым пиком приблизительно через 60 мес. и уменьшающимся платоподобным «хвостом», превышающим 15 лет [20].

Опухолевые клетки в периферической крови

Впервые о выявлении атипических клеток в крови пациента с множественным раком кожи сообщил в 1869 г. Т.Р. Ashworth [2]. Первое систематическое исследование раковых

Таблица 1

**Наличие ЦОК в периферической крови пациентов, страдающих солидными
опухолями различной локализации с категорией М0***

Опухоль	Количество пациентов с ЦОК, %
Рак молочной железы [3, 4, 10, 11, 12, 13, 19, 20]	28,9 (8,3-56,6)
Рак пищевода [17]	28,3
Рак печени [1, 9]	41,8 (27-56,6)
Колоректальный рак [1, 3, 7, 15]	32,5 (5,8-77)
Рак желудка [1, 14, 15]	25,6 (9-62)
Рак поджелудочной железы [14]	50,0
Рак предстательной железы [3, 5, 16]	31,7 (9,6-71)
Немелкоклеточный рак легкого [6, 17]	36,8 (8-62)
Мелкоклеточный рак легкого [6]	38,0
Рак почки [15]	27,0
Рак мочевого пузыря [15]	37,9
Рак носоглотки [9]	33,0
Меланома кожи [9, 17]	42,9 (15-68)

Примечание.* приведено среднее число положительных случаев и разброс данных (в скобках); отсутствие разброса данных означает, что исследования единичные; имеются исследования (без категории М) о наличии опухолевых клеток в крови пациентов, страдающих раком шейки матки, раком яичников, раком щитовидной железы, мезотелиомой плевры.

клеток, обнаруживаемых в периферической крови, приведено в 1934 г. в работе J. Pool et al. [9], которые установили наличие опухолевых клеток в венозной крови у 42,5% пациентов.

В настоящее время считается установленным, что у 20-45% онкологических пациентов с категорией М0 в периферической крови обнаруживаются циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) [21]. Обобщенные результаты подобных исследований представлены в таблице 1.

Следует отметить, что менее 2% опухолевых клеток, находящихся в крови, способны формировать микрометастазы, и только около 0,2% (примерно 4600 циркулирующих опухолевых клеток в организме больного) сохраня-

ют способность запускать механизмы, приводящие к появлению истинного метастатического узла [21].

Опухолевые клетки в костном мозге

Современные исследователи отмечают, что у 25-60% пациентов с категорией М0 в костном мозге обнаруживаются диссеминированные опухолевые клетки (ДОК) [22]. Обобщенные результаты исследований представлены в таблице 2.

Следует обратить внимание, что именно описанные выше ЦОК и ДОК предложено отнести к категории, так называемой минимальной остаточной болезни (МОБ) [21].

Таблица 2

**Наличие ДОК в костном мозге пациентов, страдающих солидными
опухолями различной локализации с категорией М0 ***

Опухоль	Количество пациентов с ДОК, %
Рак молочной железы [3, 4, 11, 19, 20]	33,9 (8-57), рак in situ – 23
Рак яичников [22]	25,0
Рак шейки матки [22]	29,0
Рак пищевода [17]	35,0
Колоректальный рак [3, 7, 15]	31,1 (12,5-65)
Рак желудка [14, 15, 22]	40,5 (11-71)
Рак поджелудочной железы [14]	44,7
Рак предстательной железы [3, 5, 16]	30,4 (18-56)
Немелкоклеточный рак легкого [6, 17]	42,7 (18-70)
Мелкоклеточный рак легкого [6]	38,0
Рак мочевого пузыря [15]	66,0
Опухоли головы и шеи [9]	30,0
Остеосаркома [22]	54,0

Примечание.* приведено среднее число положительных случаев и разброс данных (в скобках); отсутствие разброса данных означает, что исследования единичные; имеются исследования (без категории М) о наличии опухолевых клеток в костном мозге пациентов, страдающих рабдомиосаркомой, раком печени, глиобластомой и астроцитомой.

Концепция определения микрометастазов в костном мозге пациентов с солидными опухолями была введена в клиническую онкологию более 25 лет назад. Установлено, что, несмотря на полную резекцию первичной опухоли, у женщин, страдающих раком молочной железы, сохраняется риск появления метастазов, обусловленных наличием скрытых опухолевых клеток в костном мозге [21]. Необходимо подчеркнуть, что костный мозг играет наиболее значительную роль среди отдаленных органов как орган-индикатор развития МОБ. Кроме того, костный мозг является общим «homing»-органом для ДОК, выходящих из различных типов эпителиальных опухолей, прежде всего таких, как новообразования молочной железы, легкого, предстательной железы, толстого кишечника [3].

В этом плане интересны данные D. Xiao et al. [23], исследовавших 10112 трепанобиоптатов костного мозга у пациентов с неизвестными первичными негематологическими опухолями. Оказалось, что в 1% биоптатов костного мозга обнаруживались метастазы, при этом у пациентов с метастатическими опухолями метастазы в костном мозге были выявлены в 3,7% случаев. Первичная опухоль была диагностирована во время аутопсии у 49,5% пациентов с подтвержденным метастатическим поражением костного мозга. Первичные опухоли локализовались как правило в легком, в органах желудочно-кишечного тракта и молочной железе [23].

Анализ периферической крови все же более привычен для пациентов, чем анализ костного мозга. В настоящее время оценивается клиническое значение ЦОК, как индикатора МОБ, с целью прогноза и мониторинга системной терапии. Установлено также, что ДОК и ЦОК способны переживать химиотерапию путем персистирования в «дремлющем» непролиферирующем состоянии в течение многих лет. В настоящее время ведется дискуссия о том, что имеет большее прогностическое значение иммуноцитохимический метод изучения клеток, выделенных из костного мозга или определение ЦОК в крови на ранних стадиях опухолевого процесса [21].

Клиническое значение определения ЦОК и ДОК

Несмотря на то, что большинство опухолей может быть подвергнуто радикальному хирургическому вмешательству, так называемой резекции R0, у значительного количества пациентов через определенное время появляются отдаленные метастазы. Причиной этого является пред- или послеоперационная диссеминация

опухолевых клеток, которые не были выявлены ко времени выполнения хирургической операции [24]. Свыше 20 лет назад такие клетки, или их кластеры, получили название микрометастазов и были включены в систему TNM 6-й редакции (2002) и оставлены в 7-й (2009), получив следующие обозначения по категории pM: изолированные опухолевые клетки, найденные в костном мозге с помощью гистологических методов, — M0(i+); с помощью негистологических (иными словами, молекулярных) методов — M0(mol+) [25]. Фактически эти клетки называются изолированными или диссеминированными в зависимости от нахождения их в крови или костном мозге; присутствие же таких клеток в организме онкологического больного расценивается как МОБ.

Хотя клиническое значение микрометастазов при ряде форм опухолей еще окончательно не установлено, наличие ДОК в целом ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. Метастатические клетки могут оставаться «дремлющими» неопределенное время и приобретать способность к пролиферации после различного по продолжительности периода покоя благодаря факторам, природа которых пока полностью не раскрыта [26].

Адювантная химиотерапия, назначаемая с целью элиминации микрометастазов, часто неэффективна в плане подавления их роста. Клетки микрометастазов резистентны в силу того, что нередко они не являются активно пролиферирующими или же защищены благодаря взаимодействию с факторами микроокружения в очаге метастазирования.

Большое влияние на повышение интереса к проблеме МОБ при солидных опухолях сыграли решения 22-го Международного симпозиума по раку молочной железы, проходившего в декабре 1999 года в г. Сан-Антонио (США). Было сделано заключение, что идентификация клеток микрометастазов в костном мозге больных с различными формами новообразований может рассматриваться в качестве нового поколения методов скрининга и мониторинга злокачественных опухолей. Было установлено, что для пациенток с негативными лимфатическими узлами, у которых в костном мозге были обнаружены опухолевые клетки, характерен более высокий риск неблагоприятного исхода заболевания, чем у пациентов с негативными лимфатическими узлами, у которых в костном мозге опухолевые клетки не были обнаружены [27].

Присутствие ДОК в костном мозге способно предсказать не только развитие метастазов в костях скелета, но и появление метастазов в других тканях и органах [27].

В 2007 г. ЦОК и ДОК были впервые упомянуты в рекомендациях ASCO как потенциальные опухолевые маркеры для рака молочной железы [28]. Было сделано заключение, что наличие опухолевых клеток в костном мозге у пациентов, которые не получали адьювантную системную терапию, предсказывает статистически значимый больший риск рецидива заболевания. Было также сделано заключение, что наличие опухолевых клеток в костном мозге у пациентов с небольшими по размерам опухолями молочной железы степени дифференцировки G1 и негативными лимфатическими узлами не является существенным фактором неблагоприятного прогноза, который мог бы влиять на рекомендации по адьювантной терапии.

Интересны результаты исследования W. Janni [29]. Опираясь на анализ наблюдения за 676 пациентками с первично диагностированным раком молочной железы в стадии I–III, был сделан вывод, что даже через 4 года после установления диагноза и соответствующего стандартного лечения у 14,2% больных в костном мозге обнаруживаются опухолевые клетки. Тщательный статистический анализ позволил установить, что наличие ДОК является независимым индикатором плохого прогноза по показателям безрецидивной, безметастатической и общей выживаемости в течение первых 5 лет после установления диагноза рака. Было сделано заключение, что персистирующие ДОК способны предсказывать повышенный риск рецидива и плохого исхода заболевания, анализ же ДОК может быть клинически полезным для мониторинга и назначения вторичной адьювантной терапии.

В настоящее время установлен порог количества опухолевых клеток в периферической крови, который позволяет оценивать течение опухолевого процесса и определять степень риска развития рецидива и метастазов. Данный порог составляет 5 ЦОК в 7,5 мл крови [30]. Показано, что наличие 5 опухолевых клеток в 7,5 мл периферической крови ассоциируется с плохим прогнозом. Полученные данные позволяют считать, что определение ЦОК в крови может быть быстрым и более аккуратным показателем для предсказания эффективности терапии, чем сегодняшний золотой стандарт — МРТ (или ПЭТ), которая выполняется обычно через 10–12 недель после лечения для контроля состояния опухоли.

Весьма важным является вывод о том, что определение ЦОК будет более информативным и полезным при опухолях, которые ассоциированы с вовлечением в опухолевый процесс костного мозга. M. Cristofanilli et al. [31],

много работающий по проблеме ЦОК, предположил, что последние могут изменить клиническую практику и стать основой для разделения опухолей на 2 различных типа: более агрессивные и менее агрессивные, что должно повлиять на выбор соответствующего лечения.

Следует отметить, что роль первичной опухоли и самих опухолевых клеток, ее «покидающих» и направляющихся в костный мозг и другие ткани и органы, в развитии рецидивов и метастазов все еще не выяснена. Установлена корреляция между уровнем ангиогенеза в опухоли и появлением опухолевых клеток в костном мозге при раке молочной железы и раке желудка [11, 13]. Примечательно, что обнаружено усиление ангиогенеза в новом для опухолевых клеток месте, в частности в костном мозге у больных раком молочной железы [32]. Интересно наблюдение о том, что костномозговые клетки-предшественники в ответ на факторы роста, продуцируемые первичной опухолью, экспрессируют рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1 (Flt-1), направляются в отдаленные органы и изменяют локальное микроокружение, формируя так называемую предметастатическую нишу, являющуюся базой для принятия опухолевых клеток и формирования истинных метастазов [33].

Важным является наблюдение, что ДОК характеризуются дефицитом экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I класса, которые участвуют в опосредованном T-лимфоцитами узнавании опухолевых клеток, что и объясняет, почему они на протяжении многих лет игнорируются иммунной системой [21].

Интересны работы, посвященные возможной связи ДОК и ЦОК со стволовыми клетками опухоли, которая имеет как теоретическое, так и практическое значение [21]. Известно, что опухолевые стволовые клетки, наличие которых в опухолях человека показано рядом исследований [34], являются редкой самообновляющейся популяцией, которая необходима для инициации и поддержания роста новообразования. Опухолевые стволовые клетки могут выходить из первичной опухоли и диссеминировать в отдаленные органы и ткани, в частности в костный мозг [35]. В соответствии с гипотезой J.A. Aguirre-Ghiso [36] только ДОК со свойствами стволовых клеток и микрометастазы, сформированные этими ДОК, могут выйти из состояния «спячки» и образовать истинные метастазы. ДОК без свойств стволовых клеток не могут осуществить такой важный переход.

Таким образом, становится правомочным вопрос: есть ли среди ДОК стволовые ме-

тастатические клетки? К. Pantel [21] приводит ряд доказательств в поддержку такой возможности: наличие ДОК в костном мозге коррелирует с появлением метастазов; большинство ДОК и ЦОК являются непролиферирующими клетками и резистентны к химиотерапии, что характерно для опухолевых стволовых клеток, и они могут существовать в костном мозге больных с опухолями многие годы после операции; ДОК и ЦОК рака молочной железы имеют фенотип стволовых клеток первичной опухоли; два фактора стволовых клеток – EGF и FGF2 – были необходимы для роста *in vitro* ДОК, полученных из костного мозга пациентов [37, 38].

Методы диагностики минимальной остаточной болезни

В настоящее время для поиска ЦОК применяются несколько приборов, но только один коммерчески доступный – CellSearch (Veridex LLC) – одобрен в 2004 г. Управлением по продуктам питания и лекарственным средствам США (Food and Drug Administration – FDA) для мониторинга лечения пациенток, страдающих раком молочной железы, колоректальным раком и раком предстательной железы [39].

Вместе с тем существуют и другие методы выявления ЦОК, в частности проточная флуориметрия, лазерная сканирующая цитометрия, ЦОК-микрочипы и EPISPOT [15, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46].

Отдельно следует остановиться на ПЦР-анализе [47]. В настоящее время данный метод приобретает все большую популярность из-за своей доступности и достаточной низкой стоимости (в сравнении с иммуногистохимическим методом, FISH и др.). Используя различные модификации ПЦР-анализа возможно определение экспрессии опухоль-ассоциированных генов, таких как ген тирозиназы (TYR), ген сурвивина (BIRC5), ген рецептора эпидермального фактора роста (ErbB-2/HER2-Neu), а также гены «домашнего хозяйства» или как их еще называют “housekeeping genes” (GAPDH, 18S rRNA). Данные гены рассматриваются в настоящее время как маркеры МОБ [48].

Заключение

Выявление ЦОК, ДОК, или опухоль-ассоциированных генов еще не стало частью рутинного определения стадии заболевания, однако их выявление представляется крайне необходимым, так как при этом могут быть

определены больные с высоким риском развития рецидивов и метастазов, к лечению которых должны быть применены соответствующие подходы.

Для успешного применения методов выявления опухолевых клеток в крови и костном мозге необходимы усовершенствование методов идентификации ДОК и ЦОК, их молекулярная характеристика, поиск связи особенностей биологии первичной опухоли с появлением ДОК и ЦОК, исследование взаимодействия «клетки опухоли – клетки стромы» с особым акцентом на изучении факторов микроокружения опухолевых клеток как метаболического, так и стромального, которое во многом предопределяет выход опухолевых клеток из первичного очага; исследование реакции организма на это взаимодействие и поиск методов управления последним, а также создание методов контроля баланса «опухоль–организм» и регистрации его нарушения с целью коррекции.

В заключение необходимо еще раз подчеркнуть, что для решения вопроса о месте диагностики МОБ в онкологической клинике, как метода выявления опухолевых клеток в крови и костном мозге, которые, являясь частью опухолевой прогрессии, оказывают существенное влияние на течение заболевания, необходимы активизация соответствующих исследований и объединение усилий ученых различных клиник и стран в рамках унифицированных протокольных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gupta G. P. Cancer metastasis: building a framework / G. P. Gupta, J. Massagué // *Cell*. – 2006 Nov 17. – Vol. 127, N 4. – P. 679–95.
2. Ashworth T. R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death / T. R. Ashworth // *Aust. Med. J.* – 1869. – Vol. 14. – P. 146–47.
3. Miller M. C. Significance of circulating tumor cells detected by the cellsearch system in patients with metastatic breast colorectal and prostate cancer / M. C. Miller, G. V. Doyle, L. W. Terstappen // *J Oncol [Electronic resource]*. – 2010. – Mode of access : <http://www.hindawi.com/journals/jo/2010/617421>.
4. Swaby R. F. Circulating tumor cells in breast cancer: a tool whose time has come of age / R. F. Swaby, M. Cristofanilli // *BMC Med.* – 2011 Apr 21. – N 9. – P. 43.
5. Danila D. C. Circulating tumor cells as biomarkers in prostate cancer / D. C. Danila, M. Fleisher, H. I. Scher // *Clin Cancer Res.* – 2011 Jun 15. – Vol. 17, N 12. – P. 3903–12.
6. Circulating tumor cell as a diagnostic marker in primary lung cancer / F. Tanaka [et al.] // *Clin Cancer*

- Res. – 2009 Nov 15. – Vol. 15, N 22. – P. 6980–86.
7. Negin B. P. Circulating tumor cells in colorectal cancer: past, present, and future challenges / B. P. Negin, S. J. Cohen // *Curr Treat Options Oncol.* – 2010 Jun. – Vol. 11, N 1-2. – P. 1–13.
8. Fidler I. J. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited / I. J. Fidler // *Nat Rev Cancer.* – 2003 Jun. – Vol. 3, N 6. – P. 453–58.
9. Cytogenetic evidence that circulating epithelial cells in patients with carcinoma are malignant / T. Fehm [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2002 Jul. – Vol. 8, N 7. – P. 2073–84.
10. Hayes D. F. Is There a role for circulating tumor cells in the management of breast cancer / D. F. Hayes, J. Smerage // *Clin Cancer Res.* – 2008 Jun 15. – Vol. 14, N 12. – P. 3646–50.
11. Circulating tumor cells, disease progression and survival in metastatic breast cancer / M. Cristofanilli [et al.] // *NEJM.* – 2004 Aug 19. – Vol. 351, N 8. – P. 781–91.
12. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with metastatic breast cancer: a validation study of the cellsearch system / H. Fritsche [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2007 Feb 1. – Vol. 13, N 3. – P. 920–28.
13. Quantification of the response of circulating epithelial cells to neoadjuvant treatment for breast cancer: a new tool for therapy monitoring / K. Pachmann [et al.] // *Breast Cancer Res.* – 2005. – Vol. 7, N 6. – P. 975–79.
14. Pantel K. Cancer micrometastases / K. Pantel, C. Alix-Panabières, S. Riethdorf // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2009 Jun. – Vol. 6, N 6. – P. 339–51.
15. Ghossein R. A. Molecular detection of micrometastases and circulating tumor cells in solid tumors / R. A. Ghossein, S. Bhattacharya, J. Rosai // *Clin Cancer Res.* – 1999 Aug. – Vol. 5, N 8. – P. 1950–60.
16. Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer / G. Attard [et al.] // *Cancer Res.* – 2009 Apr 1. – Vol. 69, N 7. – P. 2912–18.
17. Paterlini-Brechot P. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions / P. Paterlini-Brechot, N. L. Benali // *Cancer Lett.* – 2007 Aug 18. – Vol. 253, N 2. – P. 180–204.
18. Harach H. R. Occult papillary carcinoma of the thyroid. A "normal" finding in Finland. A systematic autopsy study / H. R. Harach, K. O. Franssila, V. M. Wasenius // *Cancer.* – 1985 Aug 1. – Vol. 56, N 3. – P. 531–38.
19. Menopausal status dependence of early mortality reduction due to diagnosis of smaller breast cancers (T1 vs T2–T3): Relevance to screening / R. Demicheli [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2004 Jan 1. – Vol. 22, N 1. – P. 102–107.
20. Seeding of epithelial cells into circulation during surgery for breast cancer: the fate of malignant and benign mobilized cells / C. Oumar [et al.] // *World J Surg Oncol.* – 2006. – Vol. 4. – P. 67.
21. Pantel K. Cancer micrometastases / K. Pantel, C. Alix-Panabières, S. Riethdorf // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2009 Jun. – Vol. 6, N 6. – P. 339–51.
22. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA / C. Alix-Panabières, H. Schwarzenbach, K. Pantel // *Annu Rev Med.* – 2012. – Vol. 63. – P. 199–15.
23. Xiao D. Diallyl trisulfide-induced apoptosis in human cancer cells is linked to checkpoint kinase 1-mediated mitotic arrest / D. Xiao, Y. Zeng, S. V. Singh // *Mol Carcinog.* – 2009 Nov. – Vol. 48, N 11. – P. 1018–29.
24. Clonal origin bladder cancer / D. Sidransky [et al.] // *N Engl J Med.* – 1992 Mar 12. – Vol. 326, N 11. – P. 737–40.
25. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / под ред. О. Г. Суконого, С. А. Красного. – Минск, 2012. – 508 с.
26. Circulating tumour cell detection on its way to routine diagnostic implementation? / S. Sleijfer [et al.] // *Eur J Cancer.* – 2007 Dec. – Vol. 43, N 18. – P. 2645–50.
27. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer / S. Braun [et al.] // *N Engl J Med.* – 2000 Feb 24. – Vol. 342, N 8. – P. 525–33.
28. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer / L. Harris [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2007 Nov 20. – Vol. 25, N 33. – P. 5287–12.
29. Janni W. Circulating tumor cells as predictors of recurrence in primary breast cancer / W. Janni // *Breast Cancer Res.* – 2007 Jun. – Vol. 9. – Suppl. 1. – P. S2.
30. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer / S. J. Cohen [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2008 Jul 1. – Vol. 26, N 19. – P. 3213–21.
31. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: biologic staging beyond tumor burden / M. Cristofanilli [et al.] // *Clin Breast Cancer.* – 2007 Feb. – Vol. 7, N 6. – P. 471–79.
32. Efficacy control of therapy using circulating epithelial tumor cells (CETC) as "Liquid Biopsy": trastuzumab in HER2/neu-positive breast carcinoma / K. Pachmann [et al.] // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2007 Sep. – Vol. 137, N 9. – P. 1317–27.
33. Potential Applications for Circulating Tumor Cells expressing the Insulin Growth Factor-I Receptor / J. S. De Bono [et al.] // *Clin Can Res.* – 2007 Jun 15. – Vol. 13, N 12. – P. 3611–16.
34. Clarke M. F. Stem cells and cancer: two faces of eve / M. F. Clarke, M. Fuller // *Cell.* – 2006 Mar 24. – Vol. 124, N 6. – P. 1111–15.
35. Time-Dependent prognostic impact of circulating tumor cells detection in non-metastatic breast cancer: 70-month analysis of the remagus02 study francois / C. Bidard [et al.] // *Int J Breast Cancer [Electronic resource].* – 2013. – Mode of access : <http://www.hindawi.com/journals/ijbc/2013/130470>.
36. Aguirre-Ghiso J. A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy / J. A. Aguirre-Ghiso // *Nat Rev Cancer.* – 2007 Nov. – Vol. 7, N 11. – P. 834–46.
37. HER-2 Gene Amplification can be acquired as breast cancer progresses / S. Meng [et al.] // *PNAS.* – 2004 Jun 22. – Vol. 101, N 25. – P. 9393–98.

38. Monitoring Expression of HER-2 on Circulating Epithelial Cells in Patients with advanced Breast Cancer / D. F. Hayes [et al.] // *Int J Oncol.* – 2002 Nov. – Vol. 21, N 5. – P. 1111–18.
39. Laboratory Information System (LIS) Guide – CellSearch [Electronic resource]. – Mode of access : <https://www.cellsearchctc.com>.
40. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology / S. Nagrath [et al.] // *Nature.* – 2007 Dec 20. – Vol. 450, N 7173. – P. 1235–39.
41. Microchip-based immunomagnetic detection of circulating tumor cells / H. Kazunori [et al.] // *Lab Chip.* – 2011 Oct 21. – Vol. 11, N 20. – P. 3449–57.
42. Optical detection and virotherapy of live metastatic tumor cells in body fluids with vaccinia strains / H. W. Wang [et al.] // *PLoS ONE* [Electronic resource]. – 2013 Sep 3. – Vol. 8, N 9. – Mode of access : <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0071105e71105>.
43. Membrane microfilter device for selective capture, electrolysis and genomic analysis of human circulating tumor cells / S. Zheng [et al.] // *J Chromatogr.* – 2007. – Vol. 1162, N 2. – P. 154–61.
44. Desitter I. A new device for rapid isolation by size and characterization of rare circulating tumor cells / I. Desitter // *Anticancer Res.* – 2011 Feb. – Vol. 31, N 2. – P. 427–41.
45. Characterization of circulating tumor cells by fluorescence in-situ hybridization / J. F. Swennenhuis [et al.] // *Cytometry A.* – 2009 Jun. – Vol. 75, N 6. – P. 520–27.
46. Tibbe A. G. J. Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells. *Cytometry* / A. G. J. Tibbe, M. C. Miller, L. W. Terstappen. – *Cytometry A.* – 2007 Mar. – Vol. 71. – P. 132–42.
47. Mutational Analysis of Circulating Tumor Cells Using a Novel Microfluidic Collection Device and qPCR Assay / W. Harb [et al.] // *Transl Oncol.* – 2013 Oct 1. – Vol. 6, N 5. – P. 528–38.
48. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes / J. Vandesompele [et al.] // *Genome Biol.* – 2002 Jun 18. – Vol. 3, N 7 [Electronic Resource]. – Mode of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC126239>. – P. 1–11.

Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27,
УО «Витебский государственный
медицинский университет»,
кафедра онкологии с курсами ЛД, ЛТ, ФПК и ПК,
тел. раб.: +375 212 57-64-16,
e-mail: Evgenij-shlyakhtunov@yandex.ru,
Шляхтунов Евгений Александрович

Сведения об авторах

Шляхтунов Е.А., к.м.н., доцент кафедры онкологии

с курсами ЛД, ЛТ, ФПК и ПК УО «Витебский государственный медицинский университет».

Поступила 19.08.2014 г.