

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА – ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616-006.04-018.1-076.5

Григорук О.Г.¹⁻³, Лазарев А.Ф.¹⁻³, Чимитов А.А.⁴, Ханхашанова Т.Д.⁴, Базулина Л.М.², Шойхет Я.Н.³

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КРОВИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ГЕМОЦИТОФИЛЬТРАЦИИ

¹Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 656049, г. Барнаул, Россия;

²КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», 656043, г. Барнаул, Россия;

³ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г. Барнаул, Россия;

⁴ГБУЗ «Бурятский республиканский клинический онкологический диспансер», 670047, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

В статье приведены результаты собственных исследований обнаружения циркулирующих клеток в крови у 48 онкологических больных с использованием гемоцитифльтрации. Обнаруженные циркулирующие клетки (21 наблюдение, 43,8%) представлены тремя вариантами: чаще всего в виде «голых» атипизированных ядер (76,2% наблюдений), а также одиночными сохранными опухолевыми клетками (14,3%) и крупными бесформенными одиночными клетками, вероятно, неэпителиальной природы (9,5%). Обсуждаются трудности идентификации полученных клеток при световой микроскопии и технические аспекты использования иммуноцитохимических методик.

Ключевые слова: циркулирующие клетки в периферической крови; опухолевые клетки; гемоцитифiltrация; цитологические исследования; онкологические больные.

Для цитирования: Григорук О.Г., Лазарев А.Ф., Чимитов А.А., Ханхашанова Т.Д., Базулина Л.М., Шойхет Я.Н. Идентификация клеток, полученных из крови онкологических пациентов при гемоцитифiltrации. *Российский онкологический журнал*. 2018; 23 (2): 84–89. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-84-89>

Для корреспонденции: Григорук Ольга Григорьевна, д-р биол. наук, зав. отделением клинической лабораторной диагностики (для проведения цитологических методов исследования) КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер». E-mail: cytolakod@rambler.ru.

Grigoruk O.G.¹⁻³, Lazarev A.F.¹⁻³, Chimitov A.A.⁴, Khankhashanova T.D.⁴, Bazulina L.M.², Shoykhet Ya.N.³

IDENTIFICATION OF CELLS OBTAINED FROM BLOOD OF ONCOLOGICAL PATIENTS WITH HEMOCYTOFILTRATION

¹Altai branch of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Barnaul, 656049, Russian Federation;

²Altai Regional Oncology Dispensary, Barnaul, 656043, Russian Federation;

³The Altai State Medical University, Barnaul, 656038, Russian Federation;

⁴Buryat Regional Clinical Oncology Dispensary, Ulan-Ude, 670047, Russian Federation

This article presents the outcomes of our own research of the detection of circulating cells in the peripheral blood of 48 patients with oncological diseases, using hemocytifiltration. The observed circulating cells (21 cases, 43.8%) have been represented by three variants: more often in the form of “bare” atypical nuclei (76.2% cases), also single conserved tumor cells (14.3%) and large shapeless single cells, probably of non-epithelial nature (9.5%). The difficulties of identifying the obtained cells in light microscopy and technical aspects of the usage of immunocytochemical techniques have been discussed.

Key words: circulating cells in the peripheral blood; tumor cells; hemocytifiltration; cytological research; oncological patients.

For citation: Grigoruk O.G., Lazarev A.F., Chimitov A.A., Khankhashanova T.D., Bazulina L.M., Shoykhet Ya.N. Identification of cells obtained from blood of oncological patients with hemocytifiltration. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*. (Russian Journal of Oncology). 2018; 23 (2): 84–89. (In Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-84-89>.

For correspondence: Olga G. Grigoruk, MD, Ph.D., DSci., Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics (implementation of cytological research methods), Altai Regional Oncology Dispensary, Barnaul, 656043, Russian Federation. E-mail: cytolakod@rambler.ru.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 13 March 2018

Accepted 19 April 2018

Попавшие в кровь клетки злокачественного новообразования, которые начинают мигрировать в крови, получили название циркулирующих опухолевых клеток – ЦОК (circulating tumor cells, CTC). Факт обнаружения опухолевых клеток в кровяном русле известен давно. Учёные-онкологи и медицинские лабораторные работники неоднократно в мировой и отечественной практике возвращались к научным исследованиям по обнаружению и оценке опухолевых клеток в кровяном русле. ЦОК представляют собой популяцию гетерогенных клеток опухоли, попавших в кровяное русло. Проникнуть в кровяное русло опухолевые клетки могут при условии их эпителиально-мезенхимальной трансформации, когда они утрачивают межклеточную адгезию и приобретают способность аномальной подвижности и инвазивности [1–4]. Предполагается, что именно эти клетки являются основой для развития метастазов в различных органах [1–4]. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода встречается в физиологических условиях (эмбриональный морфогенез), при различных видах воспаления, формировании фиброза, а также является неотъемлемой частью канцерогенеза (3-й тип по классификации R. Weinberg). ЦОК в периферической крови изучаются в клинических исследованиях для определения их роли в канцерогенезе, как прогностические и предиктивные показатели в клинической практике, а также как потенциальный маркер, позволяющий оценивать эффективность системного лечения [5–7].

В научной литературе имеется множество работ, посвящённых изучению и оценке ЦОК в крови онкологических больных. Наибольшее число исследований оценки ЦОК отмечено при раке молочной железы [1, 8–10]. Исследователи пришли к выводу, что динамика ЦОК в процессе лекарственного лечения пациенток с диагнозом «рак молочной железы» является перспективным направлением в контексте раннего прогнозирования ответа на предоперационную терапию у пациенток с местно-распространёнными формами заболевания, что является дополнительным объективным критерием оценки эффективности лечения [8–10]. Имеются работы по исследованию ЦОК при раке лёгких, желудка, прямой кишки, яичника, мочевого пузыря, меланоме и других опухолях [2, 11–13]. Практически во всех клинических исследованиях указывается, что наличие ЦОК в крови коррелирует с неблагоприятными патологическими особенностями и является ценным прогностическим и предиктивным маркером, позволяющим прогнозировать выживаемость пациентов. Изменение количества ЦОК, рассчитанное до и после лечения, является показателем ответа на терапию и прогноз, мощным инструментом для мониторинга прогрессирования заболевания и выживаемости [2, 11–14].

Существует множество различных методов обнаружения ЦОК в крови больных [15]. Однако даже в настоящее время клинические исследования, посвящённые изучению ЦОК, ограничены отсутствием доступных технологий их обнаружения. Методологических стандартов выявления ЦОК не существует, а методики, доступные для применения в практической онкологии, не обладают надёжной технологической платформой, высокой пропускной способностью, чувствительностью и специфичностью, а

также сложны в воспроизведении и дороги, т. е. не полностью отвечают задачам клиники [2, 16, 17]. Чувствительное и точное обнаружение ЦОК остаётся сложной проблемой в клинической онкологии [18, 19].

Новая эффективная технология – жидкостная биопсия (CancerIntercept) значительно отличается от методики определения самих ЦОК, в основе которой лежит анализ следовых количеств ДНК опухолевых клеток, свободно циркулирующих в крови. Технология автоматической цифровой микроскопии (ADM) позволяет оптическим методом оценивать количество ЦОК в образце [1]. Процесс занимает достаточно много времени при сканировании больших по площади цитологических препаратов, что для практического применения не пригодно, поэтому технологию усовершенствовали и разработали массивное оптоволоконное сканирование (FAST). Новый подход позволяет просканировать за то же время в 500 раз большую площадь по сравнению с технологией ADM без потери чувствительности [1]. Использование FAST и ADM совместно позволяет выявить редкие опухолевые клетки после предварительной обработки флуоресцентно-мечеными антителами к цитокератинам [20]. Другой метод обнаружения ЦОК под названием MAINTRAC заключается в использовании сканирующей лазерной цитометрии образцов крови, прошедших процедуру окрашивания антителами против клеток, экспрессирующих эпителиальные молекулы клеточной адгезии (EPCAM), и против лейкоцитов (CD45) [1, 21]. Одним из наиболее популярных методов определения ЦОК в крови является система CellSearch компании Veridex [22]. Система является полуавтоматической, в её основе лежат методы иммунофлуоресценции, иммуномагнитного разделения и проточной цитометрии [23]. Данная технология прошла экспертизу и была одобрена для выявления уровня ЦОК у пациентов с метастазами (Food and Drug Administration, FDA, США), однако разрешения для клинического использования система до сих пор не получила. Система CellSearch позволяет не только отделить лейкоциты от эпителиальных опухолевых клеток, но и подсчитать последние. Предел чувствительности прибора составил 5 ЦОК и более на 7,5 мл крови [22, 24]. Следует отметить, что исследование ЦОК на оборудовании CellSearch дорогостоящее и трудоёмкое, что ограничивает возможности более широкого его использования.

Кроме описанных методов определения ЦОК, также в научных исследованиях используют иммуномагнитные методы, примером которых служат системы MACS, RosetteSep, OncoQuick+, AdnaGen [25, 26]. Обнаружение ЦОК напрямую зависит от технических характеристик метода, используемого для их выделения. В настоящее время технологии совершенствуются в сторону получения недеформированных, более сохранных клеток, поскольку часто при выделении ЦОК они деформируются и разрушаются [27].

Одной из самых сложных задач является точное определение характера циркулирующих клеток (ЦК), выделенных из крови. Необходим немалый опыт исследователя, изучающего ЦК. Также необходимо использование дополнительных методик для подтверждения злокачественной природы и типа

выделенных клеток [28, 29]. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода оказывает влияние на формирование гетерогенности ЦОК, создаёт технические трудности их обнаружения и фенотипирования. Во время эпителиально-мезенхимального перехода происходят морфологические трансформации, проявляющиеся изменением размера и формы клеток, наблюдаются полиморфизм клеток и ядер, гиперхроматоз и гиперплоидность, а также отмечается увеличение их митотической активности. Большая часть ЦОК теряет свои эпителиальные антигены и начинает экспрессировать мезенхимальные антигены [30–32]. Цитологическое обнаружение ЦОК в зависимости от размера (выделение по размеру эпителиальных опухолевых клеток [ISET]) представляется очень эффективной процедурой, обеспечивающей высокую точность и чувствительность в дополнение к её простоте, скорости и низкой стоимости. Хотя цитологический анализ предсказуемо более точен, чем антиген-опосредованный ЦОК-захват, основанный на отсутствии специфичности антител для опухолевых клеток, всё же необходимо уточнение возможности распознавания ЦОК с помощью цитологических критериев злокачественности, которые уже используются в традиционной цитологии. При выделении крупных клеток из крови возможно выделение редких гематологических (таких как мегакариоциты или крупные моноциты) или мезенхимальных (как эндотелиальные) клеток, которые невозможно определить с помощью существующих гематологических анализов и трудно отличить от эпителиальных опухолевых клеток [30].

Исходя из вышесказанного, мы запланировали провести сравнительное цитологическое исследование образцов крови пациентов, обратившихся в онкологический диспансер, у которых цитологическим или гистологическим методом диагностирована злокачественная опухоль.

Цель работы – оценить возможность цитологической идентификации клеток, полученных из крови онкологических пациентов при гемоцитифльтрации.

Материал и методы

Материалом для исследования служила кровь 48 пациентов с установленным онкологическим заболеванием (38 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 34 до 84 лет. У всех пациентов было морфологическое подтверждение злокачественной опухоли. Для проведения гемофилтратоцитологического исследования использовали устройство для микропросеивания венозной крови (патент на изобретение № 2414710, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ 20.03.2011 года). Для выделения циркулирующих клеток всем пациентам производился забор не менее 7,5 мл венозной крови в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой, после чего в течение 30–60 мин кровь доставлялась в лабораторию. При пропускании цельной крови через фильтр с порами 6000 нм в диаметре выделяются циркулирующие клетки, которые задерживаются на фильтре. В результате микропросеивания крови на фильтре остаются клетки (или фрагменты клеток), отличимые от клеточных компонентов крови по размеру. Из осадка на фильтре готовили цитологические препараты в количестве 4–5 мазков-отпечатков, которые

окрашивали по методу Паппенгейма. В некоторых случаях проводили иммуноцитохимические исследования с применением стандартных методик проведения иммуноцитохимических реакций. В этих случаях были приготовлены 5 препаратов после микрофилтрации венозной крови для стандартной микроскопии и 4 препарата с применением цитоцентрифуги Cytospin-4. Для визуализации реакции антиген/антитело использовали тест-систему REAL™ EnVision™ («ДАКО»). В качестве хромогена применяли DAB (3,3-diaminobenzidine), после проведения реакции мазки докрашивали гематоксилином.

Для оценки возможностей цитологической идентификации клеток, выделенных из крови онкологических пациентов при гемоцитифльтрации, о каждом пациенте были получены необходимые клинические данные из канцер-регистра, амбулаторных карт и историй болезни.

Результаты и обсуждение

Гемофилтратоцитологические исследования проведены у пациентов с верифицированными эпителиальными опухолями. Морфологические варианты рака лёгкого были представлены в 18 наблюдениях аденогенным раком, в восьми – плоскоклеточным и в восьми – мелкоклеточным. Рак желудка диагностирован у семи пациентов, из которых у трёх определён перстневидно-клеточный рак и у четырёх – аденокарцинома. В исследование вошли три женщины с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа, два пациента с плоскоклеточным раком пищевода, по одному пациенту с аденокарциномой кишечника и аденокарциномой поджелудочной железы, у которых были проведены гемофилтратоцитологические исследования (см. таблицу). 12 человек были пролечены по поводу онкологического заболевания, в остальных случаях гемоцитифiltrацию проводили у пациентов, впервые обратившихся в поликлинику онкологического диспансера.

ЦК в результате микропросеивания крови на фильтре обнаружены у 21 (43,8%) пациента: у десяти из них аденогенный рак лёгкого, у двух – плоскоклеточный и у четырёх – мелкоклеточный рак, у двух – перстневидно-клеточный рак желудка, по одному наблюдению – инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа, аденокарцинома кишечника и поджелудочной железы (см. таблицу).

При цитологическом исследовании на препаратах с наличием ЦК отмечали повышенное количество нейтрофильных гранулоцитов, которое составляло 12–15 в поле зрения, и большое число скоплений тромбоцитов. Количественный анализ на данном этапе исследования не проводили. Количество обнаруженных ЦК в препаратах было различным, максимальное значение 50–70 клеток. Репрезентативными считали препараты, в которых обнаруживали 5 ЦК и более. Обнаруженные ЦК в количестве более 5 клеток на препарате были представлены тремя вариантами клеток: циркулирующие фрагменты клеток в виде «голых» агипизированных ядер – у 16 (76,2%) пациентов (рис. 1, см. 2-ю полосу вклейки); одиночные сохранные опухолевые клетки наблюдали у трёх больных (14,3%) (рис. 2, см. 2-ю полосу вклейки); крупные бесформенные одиночные ЦК, вероятно, неэпителиальной природы – у двух (9,5%). Идентичными по форме и по размеру были циркулирующие

Количество пациентов, у которых проводили определение ЦК в периферической крови

Заболевание	Морфологический тип опухоли – количество пациентов	Количество пациентов, у которых обнаружены ЦК в периферической крови	Количество пациентов, у которых проведены иммуноцитохимические реакции
Рак лёгкого	Аденогенный –	18	10
	Плоскоклеточный –	8	2
	Мелкоклеточный –	8	4
Рак желудка	Аденогенный –	4	-
	Перстневидно-клеточный –	3	2
Рак молочной железы	Неспецифический тип –	3	1
Рак пищевода	Плоскоклеточный –	2	-
Рак кишечника	Аденогенный –	1	1
Рак поджелудочной железы	Аденогенный –	1	1
Всего		48	21
			5

фрагменты клеток в виде «голых» атипизированных ядер, специфических признаков принадлежности их к морфологическому типу клеток обнаружить не удалось. По одиночным сохранным опухолевым клеткам при тщательном исследовании можно было предполагать принадлежность клеток к типу опухоли: были отмечены признаки плоскоклеточной дифференцировки (рис. 3, см. 3-ю полосу вклейки) и специфический признак «притёртости» клеток друг к другу при мелкоклеточном раке лёгкого (рис. 4, см. 3-ю полосу вклейки). Проведено сравнение ЦОК с опухолевыми клетками первичного образования. ЦОК были идентичны первичному образованию, диагностированному при цитологическом исследовании опухоли по материалу, полученному при бронхоскопии.

Крупные бесформенные одиночные ЦК, вероятно неэпителиальной природы, предположительно являются тромбоцитами (инволютивные формы мегакариоцитов) (рис. 5, см. 3-ю полосу вклейки). Также на препаратах были отмечены многочисленные мезенхимальные клетки среди тромбоцитов, вероятно мезенхимального происхождения, которые весьма напоминают эндотелиальные клетки (рис. 6, см. 3-ю полосу вклейки).

Визуализация ЦК представляет собой сложную задачу. Все обнаруженные ЦК в периферической крови имели общие черты, при цитологическом исследовании невозможно исключить, что на мембранах могла оседать примесь эпителиальных и эндотелиальных клеток. Феномен эпителиально-мезенхимальной трансформации оказывает влияние на формирование гетерогенности ЦК, тем самым обуславливает трудности их идентификации при световой микроскопии. В связи с этим фактом были проведены иммуноцитохимические исследования.

Иммуноцитохимические исследования проводили с использованием моноклональных антител к эпителиальным антигенам (Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 и Cytokeratin Clone C MNF116), а также поликлонального антитела к раково-эмбриональному антигену (Carcinoembryonic Antigen, poly). В каждом случае были приготовлены 4 препарата с примене-

нием цитоцентрифуги Cytospin-4. В результате проведённой световой микроскопии препаратов данных пациентов установлено, что единичных клеток и единичных комплексов, наблюдаемых при микроскопии, оказалось недостаточно для проведения иммуноцитохимических исследований. В связи с этим фактом удалось провести иммуноцитохимические исследования только у пяти пациентов с наличием ЦК при гемоцитотрифиляции (см. таблицу). При иммуноцитохимических исследованиях фильтратов периферической крови в трёх случаях отмечен немногочисленный клеточный состав, имеющий позитивное цитоплазматическое окрашивание на эпителиальные антитела и раково-эмбриональный антиген, подтверждающий принадлежность клеток к числу эпителиальных (рис. 7, см. 3-ю полосу вклейки). В двух наблюдениях проведения иммуноцитохимической реакции клеточного состава для интерпретации было недостаточно, а у одиночных голо-ядерных ЦК реакция с эпителиальными антителами отсутствовала. Во всех случаях для окончательного заключения была необходима микроскопическая характеристика всей клетки и её компонентов (мембраны, цитоплазма, ядра), оценка голоядерных элементов была некорректной. Иммуноцитохимические исследования ЦК для выделения не только эпителиальных клеток, но также эндотелиальных клеток и мегакариоцитов. В связи с этим обязательным является и дополнительное окрашивание на общелейкоцитарный антиген CD45 (Leucocyte Common Antigen) Clones 2B11+PD7/26.CD45 для исключения тромбоцитов, циркулирующих в периферической крови, и виментина (Vimentin Clone V9), позволяющего исключить примесь эндотелиальных клеток.

Выводы

- 1) Полученные нами данные показывают, что цитологическое исследование, используемое в качестве диагностического метода в клинической онкологии, также актуально в области обнаружения ЦК в периферической крови.
- 2) Идентификация ЦК остаётся сложной задачей и

до сих пор ещё недоступна в практическом здравоохранении для рутинного использования.

- 3) При идентификации ЦК с использованием иммуноцитохимических исследований необходимо достаточное количество (не менее 50–100) ЦК.
- 4) При идентификации ЦК следует учитывать присутствие в крови клеток, утративших эпителиальные и приобретших мезенхимальные антигены (феномен эпителиально-мезенхимальной трансформации).
- 5) При иммуноцитохимическом исследовании необходимо использовать кроме эпителиальных антигенов также общелейкоцитарный антиген и виментин.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубцов Д.А., Зубцова Ж.И., Лавров А.В., Легченко Е.В., Аладинский В.А., Потеряхина А.В., Гольдштейн Д.В. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) при раке молочной железы: прогностическая значимость и методы выделения. *Труды МФТИ*. 2012; 4(3): 18–26.
2. Ковалев А.А., Грудинская Т.В., Кузнецова Т.П., Ковалев К.А. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток. *Онкология*. 2012; 14(2): 126–9.
3. 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. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0410
4. Thiery J.P., Sleeman J.P. Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006; 7(2): 131–42. DOI: 10.1038/nrm1835
5. Hayes D.F., Cristofanilli M., Budd G.T. et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin. Cancer Res*. 2006; 12(14 Pt 1): 4218–24. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2821
6. Gaforio J.J., Serrano M.J., Sanchez-Rovira P. et al. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen-receptor status and predicts for poor prognosis. *Int. J. Cancer*. 2003; 107(6): 984–90. DOI: 10.1002/ijc.11479
7. Giatromanolaki A., Koukourakis M.I., Kakolyris S. et al. Assessment of highly angiogenic and disseminated in the peripheral blood disease in breast cancer patients predicts for resistance to adjuvant chemotherapy and early relapse. *Int. J. Cancer*. 2004; 108(4): 62–7. DOI: 10.1002/ijc.11593
8. Serrano M.J., Sánchez-Rovira P., Delgado-Rodríguez M., Gaforio J.J. Detection of circulating tumor cells in the context of treatment: prognostic value in breast cancer. *Cancer Biol. Ther*. 2009; 8(8): 671–5.
9. Бжадут О.Б., Гривцова А.Ю., Тупицын Н.Н., Тюлядин С.А. Циркулирующие опухолевые клетки в крови больных местно-распространённым и диссеминированным раком молочной железы. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2007; 18(3): 19–22.
10. Ненахова Ю.Н., Лядов В.К., Поддубная И.В. Оценка динамики циркулирующих опухолевых клеток в процессе неoadъювантной химиотерапии у больных с местно-распространённым раком молочной железы. *Современная онкология*. 2017; 19(3): 64–8.
11. Григорьева В.Л. Циркулирующие опухолевые клетки как маркёры прогноза выживаемости больных раком лёгких. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016; 5: 84–6.
12. Непомнящая Е.М., Никипелова Е.А., Нистратова О.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Ульянова Е.П. Параллели между циркулирующими опухолевыми клетками и некоторыми морфо-генетическими показателями при колоректальном раке. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2016; 2: 64–9.
13. Riethdorf S., Soave A., Rink M. The current status and clinical value of circulating tumor cells and circulating cell-free tumor DNA in bladder cancer. *Transl. Androl. Urol.* 2017; 6(6): 1090–110. DOI: 10.21037/tau.2017.09.16
14. Li J., Fu W., Zhang W., Li P. High Number of Circulating Tumor Cells Predicts Poor Survival of Cutaneous Melanoma Patients in China. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 324–31.
15. Грех И.Ф., Яковлева М.П. *Методы обнаружения опухолевых клеток в кровяном русле*. Ленинград : Медицина. Ленингр. отд-ние; 1966.
16. Pantel K., Woelfle U. Detection and molecular characterisation of disseminated tumour cells: implications for anticancer therapy. *Biochim. Biophys. Acta*. 2005; 1756(1): 53–64. DOI: 10.1016/j.bbcan.2005.07.002
17. Balic M., Dandachi N., Hofmann G., Samonigg H., Loibner H. et al. Comparison of two methods for enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients. *Cytometry B. Clin. Cytom.* 2005; 68(1): 25–30. DOI: 10.1002/cyto.b.20065
18. Kaiser J. Cancer's circulation problem. *Science*. 2010; 327(5969): 1072–4. DOI: 10.1126/science.327.5969.1072
19. Kowalewska M., Chechlinska M., Markowicz S., Kober P., Nowak R. The relevance of RT-PCR detection of disseminated tumour cells is hampered by the expression of markers regarded as tumour-specific in activated lymphocytes. *Eur. J. Cancer*. 2006; 42: 2671–4. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.05.036
20. Ntouroupi T., Ashraf S., McGregor S. et al. Detection of circulating tumour cells in peripheral blood with an automated scanning fluorescence microscope. *Br. J. Cancer*. 2008; 99(5): 789–95. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604545
21. Camara O., Jorke C., Hammer U. et al. Monitoring circulating epithelial tumour cells (CETC) to gauge therapy: in patients with disease progression after trastuzumab persisting CETC can be eliminated by combined lapatinib treatment. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2009; 135(4): 643–7. DOI: 10.1007/s00432-008-0498-8
22. Andreopoulou E., Yang L.-Y., Rangel K. et al. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Veridex CellSearch™ system. *Int. J. Cancer*. 2011; 130(7): 1590–7. DOI: 10.1002/ijc.26111
23. Kagan M., Howard D., Bendele T. et al. A Sample Preparation and Analysis System for Identification of Circulating Tumor Cells. *J. Clin. Ligand Assay*. 2002; 25(1): 104–10.
24. Van der Auwera I., Peeters D., Benoy I. et al. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *Br. J. Cancer*. 2010; 102(2): 276–84. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605472
25. Tewes M., Aktas B., Welt A. et al. Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115(3): 581–90. DOI: 10.1007/s10549-008-0143-x
26. Cristofanilli M. The biological information obtainable from circulating tumor cells. *Breast*. 2009; 18(3): 38–40. DOI: 10.1016/S0960-9776(09)70270-X
27. Tan S., Yobas L., Lee G., Ong C., Lim C. Microdevice for the isolation and enumeration of cancer cells from blood. *Biomed. Microdevices*. 2009; 11(4): 883–92. DOI: 10.1007/s10544-009-9305-9
28. Sun Y.-F., Yang X.-R., Zhou J., Qiu S.-J., Fan J., Xu Y. Circulating tumor cells: advances in detection methods, biological issues, and clinical relevance. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011; 137(8): 1151–73. DOI: 10.1007/s00432-011-0988-y
29. Hayashi N., Yamauchi H. Role of circulating tumor cells and dis-

seminated tumor cells in primary breast cancer. *Breast Cancer*. 2012; 19(2): 110–7. DOI: 10.1007/s12282-011-0282-5

30. Hofman V.J., Ilie M.I., Bonnetaud C. et al. Cytopathologic Detection of Circulating Tumor Cells Using the Isolation by Size of Epithelial Tumor Cell Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 2011; 135(1): 146–56. DOI: 10.1309/AJCP9X8OZBEIQVVI

31. Paterlini-Bréchet P., Benali N.L. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett.* 2007; 253(2): 180–204. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.014

32. Weinberg R.A. Twisted epithelial–mesenchymal transition blocks senescence. *Nat. Cell. Biol.* 2008; 10: 1021–3. DOI: 10.1038/ncb0908-1021

REFERENCES

1. Zubtsov D.A., Zubtsova J.I., Lavrov A.V., Legchenko E.V., Aladinskiy V.A., Poteriakhina A.V., Goldshtein D.V. Circulating tumor cells in breast cancer: prognostic significance and extraction technique. *Trudy MFTI*; 2012; 4(3): 18–26. (in Russian)

2. Kovalev A.A., Grudinskaia T.V., Kusnetzova T.P., Kovalev K.A. Heterogeneity of circulating tumour cells. *Onkologiya*. 2012; 14(2): 126–9. (in Russian)

3. 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. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0410

4. Thiery J.P., Sleeman J.P. Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006; 7(2): 131–42. DOI: 10.1038/nrm1835

5. Hayes D.F., Cristofanilli M., Budd G.T. et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12(14 Pt 1): 4218–24. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2821

6. Gaforio J.J., Serrano M.J., Sanchez-Rovira P. et al. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen-receptor status and predicts for poor prognosis. *Int. J. Cancer*. 2003; 107(6): 984–90. DOI: 10.1002/ijc.11479

7. Giatromanolaki A., Koukourakis M.I., Kakolyris S. et al. Assessment of highly angiogenic and disseminated in the peripheral blood disease in breast cancer patients predicts for resistance to adjuvant chemotherapy and early relapse. *Int. J. Cancer*. 2004; 108(4): 62–7. DOI: 10.1002/ijc.11593

8. Serrano M.J., Sánchez-Rovira P., Delgado-Rodríguez M., Gaforio J.J. Detection of circulating tumor cells in the context of treatment: prognostic value in breast cancer. *Cancer Biol. Ther.* 2009; 8(8): 671–5.

9. Bzhadut O.B., Grivtsova A.Yu., Tupitzyn N.N., Tuylyandin S.A. Circulating tumour cells in blood of patients with local spread and disseminating breast cancer. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN*. 2007; 18(3): 19–22. (in Russian)

10. Nenakhova Iu.N., Liadov V.K., Poddubnaia I.V. Evaluation of dynamics of circulating tumour cells during neoadjuvant chemotherapy of patients with local spread breast cancer. *Sovremennaya onkologiya*. 2017; 19(3): 64–8. (in Russian)

11. Grigorieva V.L. Circulating tumour cells as markers of prognosis of survival rates of patients with lung cancer. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2016;(5): 84–6. (in Russian)

12. Nepomnyschaya E.M., Nikipelova E.A., Nistratova O.V., Novikova I.A., Vodolazhsky D.I., Ulianova E.P. Parallels between circulating tumor cells and some morphological and genetic indicators in colorectal cancer. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii*. 2016; (2): 64–9. (in Russian)

13. Riethdorf S., Soave A., Rink M. The current status and clinical value of circulating tumor cells and circulating cell-free tumor DNA in bladder cancer. *Transl. Androl. Urol.* 2017; 6(6): 1090–110. DOI: 10.21037/tau.2017.09.16

14. Li J., Fu W., Zhang W., Li P. High Number of Circulating Tumor Cells Predicts Poor Survival of Cutaneous Melanoma Patients in China. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 324–31.

15. Grekh I.F., Iakovleva M.P. *Methods of detection of tumour cells in bloodstream*. Leningrad : Meditsina. Leningr. otd-nie; 1966. (in Russian)

16. Pantel K., Woelfle U. Detection and molecular characterisation of disseminated tumour cells: implications for anticancer therapy. *Biochim. Biophys. Acta*. 2005; 1756(1): 53–64. DOI: 10.1016/j.bbcan.2005.07.002

17. Balic M., Dandachi N., Hofmann G., Samonigg H., Loibner H. et al. Comparison of two methods for enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients. *Cytometry B. Clin. Cytom.* 2005; 68(1): 25–30. DOI: 10.1002/cyto.b.20065

18. Kaiser J. Cancer's circulation problem. *Science*. 2010; 327(5969): 1072–4. DOI: 10.1126/science.327.5969.1072

19. Kowalewska M., Chechlinska M., Markowicz S., Kober P., Nowak R. The relevance of RT-PCR detection of disseminated tumour cells is hampered by the expression of markers regarded as tumour-specific in activated lymphocytes. *Eur. J. Cancer*. 2006; 42: 2671–4. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.05.036

20. Ntouroupi T., Ashraf S., McGregor S. et al. Detection of circulating tumour cells in peripheral blood with an automated scanning fluorescence microscope. *Br. J. Cancer*. 2008; 99 (5): 789–95. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604545

21. Camara O., Jorke C., Hammer U. et al. Monitoring circulating epithelial tumour cells (CETC) to gauge therapy: in patients with disease progression after trastuzumab persisting CETC can be eliminated by combined lapatinib treatment. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2009; 135(4): 643–7. DOI: 10.1007/s00432-008-0498-8

22. Andreopoulou E., Yang L.-Y., Rangel K. et al. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Veridex CellSearch™ system. *Int. J. Cancer*. 2011; 130(7): 1590–7. DOI: 10.1002/ijc.26111

23. Kagan M., Howard D., Bendele T. et al. A Sample Preparation and Analysis System for Identification of Circulating Tumor Cells. *J. Clin. Ligand Assay*. 2002; 25(1): 104–10.

24. Van der Auwera I., Peeters D., Benoy I. et al. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *Br. J. Cancer*. 2010; 102(2): 276–84. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605472

25. Tewes M., Aktas B., Welt A. et al. Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115(3): 581–90. DOI: 10.1007/s10549-008-0143-x

26. Cristofanilli M. The biological information obtainable from circulating tumor cells. *Breast*. 2009; 18(3): 38–40. DOI: 10.1016/S0960-9776(09)70270-X

27. Tan S., Yobas L., Lee G., Ong C., Lim C. Microdevice for the isolation and enumeration of cancer cells from blood. *Biomed. Microdevices*. 2009; 11(4): 883–92. DOI: 10.1007/s10544-009-9305-9

28. Sun Y.-F., Yang X.-R., Zhou J., Qiu S.-J., Fan J., Xu Y. Circulating tumor cells: advances in detection methods, biological issues, and clinical relevance. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011; 137(8): 1151–73. DOI: 10.1007/s00432-011-0988-y

29. Hayashi N., Yamauchi H. Role of circulating tumor cells and disseminated tumor cells in primary breast cancer. *Breast Cancer*. 2012; 19 (2): 110–7. DOI: 10.1007/s12282-011-0282-5

30. Hofman V.J., Ilie M.I., Bonnetaud C. et al. Cytopathologic Detection of Circulating Tumor Cells Using the Isolation by Size of Epithelial Tumor Cell Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 2011; 135(1): 146–56. DOI: 10.1309/AJCP9X8OZBEIQVVI

31. Paterlini-Bréchet P., Benali N.L. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett.* 2007; 253(2): 180–204. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.014

32. Weinberg R.A. Twisted epithelial–mesenchymal transition blocks senescence. *Nat. Cell. Biol.* 2008; 10: 1021–3. DOI: 10.1038/ncb0908-1021

К ст. М.И. Трещалина и соавт.

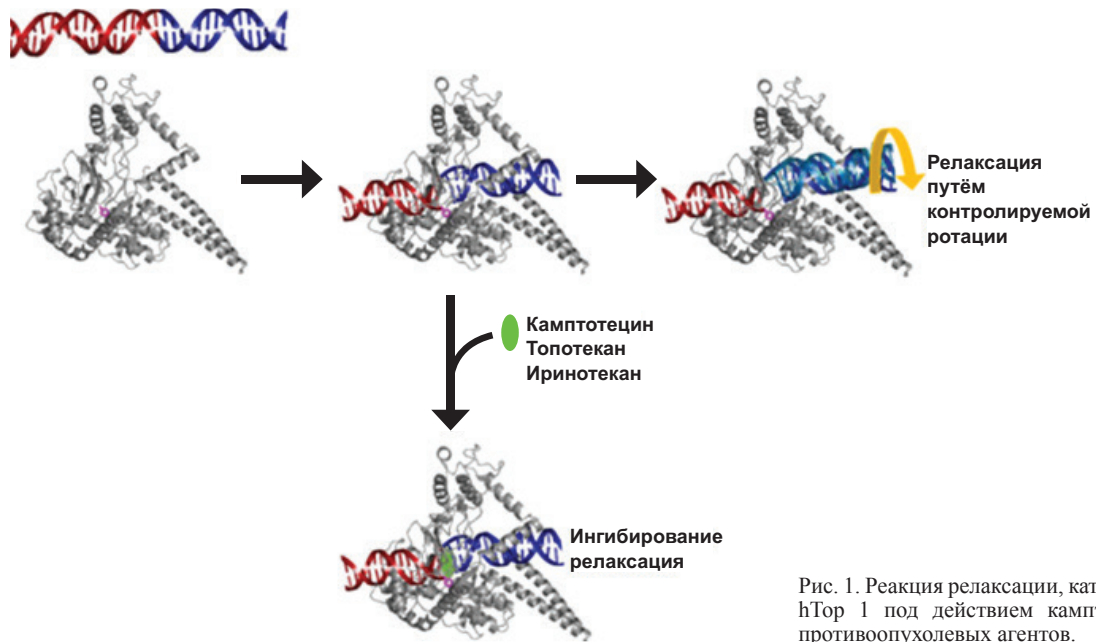


Рис. 1. Реакция релаксации, катализируемая hTop 1 под действием камптотециновых противоопухолевых агентов.

К ст. Т.Н. Борисовой и соавт.

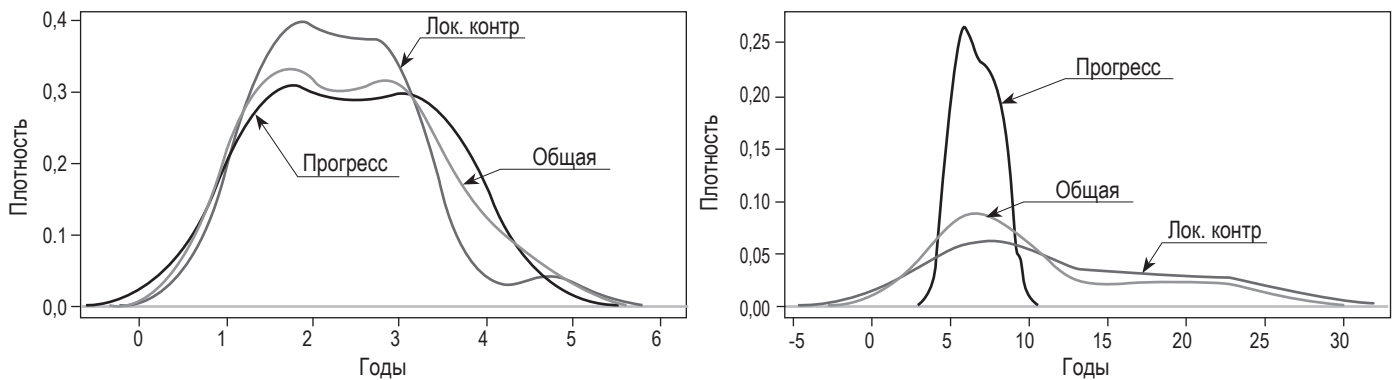


Рис. 2. Параметрическая оценка плотности распределения параметров: размер опухоли и SUV_{max} . Гистограмма 1 – размер опухоли. Гистограмма 2 – SUV_{max} .

К ст. О.Г. Григорук и соавт.



Рис. 1. Циркулирующие клетки в периферической крови в виде голоядерных атипизированных элементов у пациента 63 лет с аденогенным раком лёгкого.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

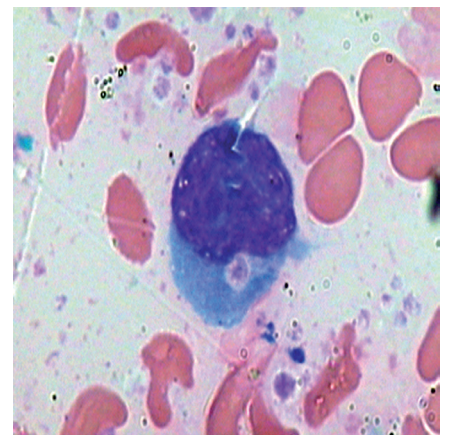


Рис. 2. Циркулирующие опухолевые клетки в периферической крови у пациентки 57 лет с перстневидноклеточным раком желудка.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

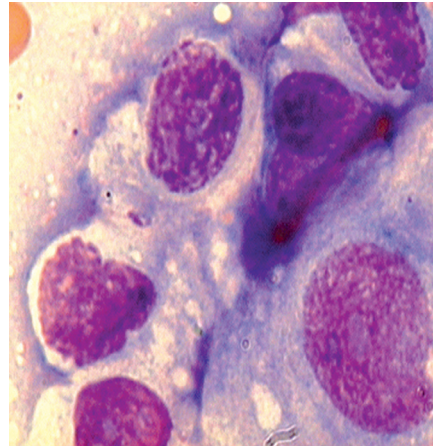
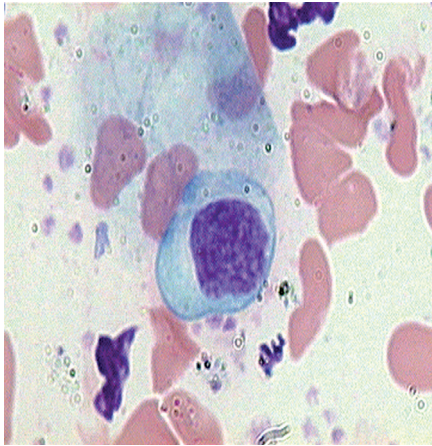


Рис. 3. Образцы, взятые у пациента 68 лет с плоскоклеточным раком лёгкого. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

а – циркулирующие опухолевые клетки в периферической крови. Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации.

б – цитологический препарат первичного образования в лёгком, полученный с материала при бронхоскопии. Комплекс клеток плоскоклеточного рака лёгкого.

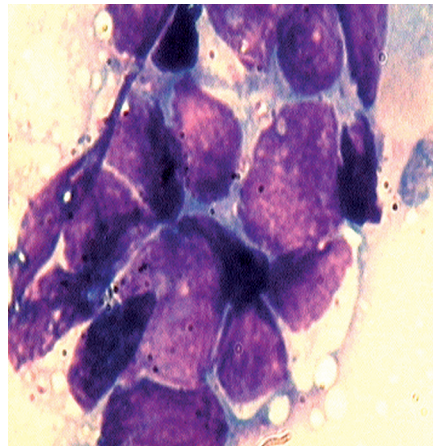
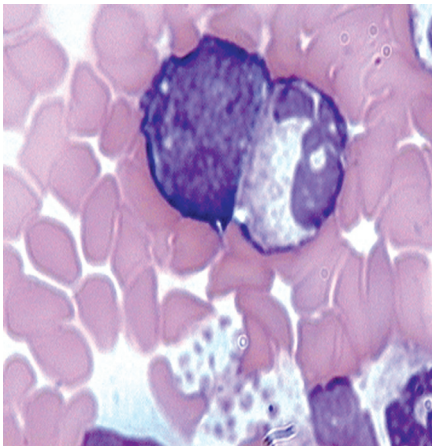


Рис. 4. Образцы, взятые у пациента 48 лет с мелкоклеточным раком лёгкого. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

а – циркулирующие опухолевые клетки в периферической крови. Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации.

б – цитологический препарат первичного образования в лёгком, полученный с материала при бронхоскопии. Комплекс клеток мелкоклеточного рака лёгкого.

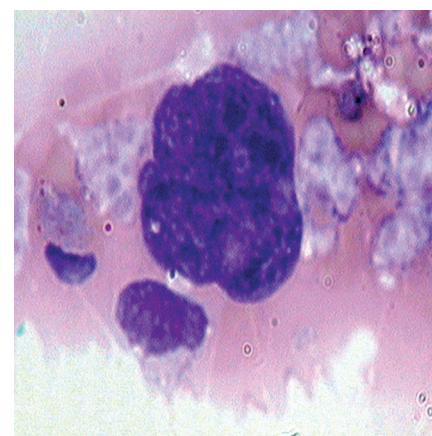


Рис. 5. Циркулирующие бесформенные клетки в периферической крови у пациента 72 лет с аденогенным раком лёгкого, предположительно являются тромбоцитами.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

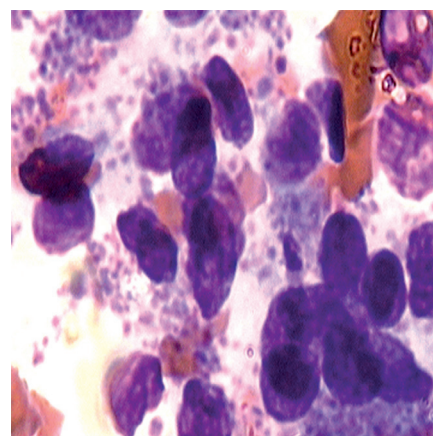


Рис. 6. Многочисленные циркулирующие мономорфные клетки среди тромбоцитов у пациента 68 лет с плоскоклеточным раком лёгкого, предположительно эндотелиальные клетки.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

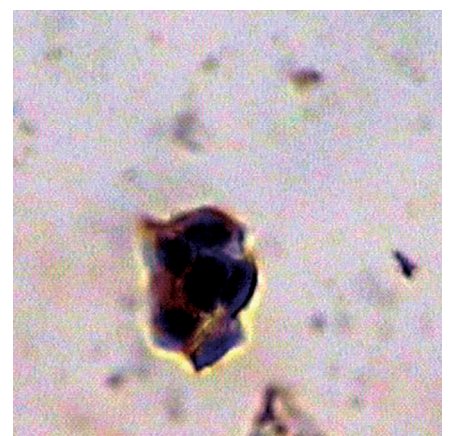


Рис. 7. Комплекс циркулирующих клеток в периферической крови у пациентки 56 лет с аденокарциномой поджелудочной железы. Слабая иммунопозитивная цитоплазматическая реакция (1+) на Epithelial Antigen Clone Ber-EP4.

Использование полимерной системы иммунодетекции. Ув. 200.