

УДК 618.19-006.6-089-033.2-076-036.8

ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ХИМИОТЕРАПИИ

Сагакянц А.Б., Саманева Н.Ю., Златник Е.Ю., Шульгина О.Г., Новикова И.А., Владимирова Л.Ю., Сторожакова А.Э.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: asagak@rambler.ru

В работе представлены результаты исследования динамики уровня циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) 42 больных местнораспространенным раком молочной железы (РМЖ) различных биологических подтипов (люминального А, люминального В и тройного негативного) при проведении химиотерапии. До начала лечения и после 2 курсов в крови больных определяли уровень ЦОК; всего они получали 8 курсов химиотерапии, затем при длительном наблюдении определяли время до прогрессирования. Установлено, что у пациенток с тройным негативным РМЖ увеличение числа ЦОК после 2 курсов химиотерапии наблюдается при раннем прогрессировании (6-12 мес.) и говорит о риске летального исхода, тогда как снижение числа ЦОК отмечено при трехлетней бессобытийной выживаемости и может выступать в качестве положительного предиктивного фактора. При HER2⁻ люминальном В подтипе РМЖ, несмотря на снижение уровня ЦОК при лечении, наличие среди них HER2⁺ клеток указывает на риск раннего прогрессирования заболевания и его неблагоприятного исхода. При люминальном А подтипе прогностической значимости динамики уровня ЦОК не выявлено. Итак, использование динамики уровня ЦОК для прогноза эффективности химиотерапии местнораспространенного РМЖ представляется наиболее целесообразным при ТНРМЖ и люминальном В подтипах.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, рак молочной железы, подтипы, химиотерапия.

DYNAMICS OF THE LEVEL OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH LOCAL ADVANCED BREAST CANCER DURING CHEMOTHERAPY

Sagakyants A.B., Samaneva N.Yu., Zlatnik E.Yu., Shulgina O.G., Novikova I.A., Vladimirova L.Yu., Storozhakova A.E.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: asagak@rambler.ru

The paper presents the results of a study of the dynamics of the level of circulating tumor cells (CTC) of 42 patients with locally advanced breast cancer (BC) of various biological subtypes (luminal A, luminal B and triple negative) during chemotherapy. Before treatment and after 2 courses in the blood of patients determined the level of CTC; In total, they received 8 courses of chemotherapy, then, with prolonged observation, they determined the time until progression. It was found that in patients with triple negative breast cancer, an increase in the number of CTC after 2 courses of chemotherapy is observed with early progression (6-12 months) and indicates a risk of death, while a decrease in the number of CTC is noted with three-year uncontrolled survival and may appear in as a positive predictive factor. With HER2-luminal In the subtype of breast cancer, despite the decrease in the level of CTC during treatment, the presence of HER2 + cells among them indicates a risk of early progression of the disease and its unfavorable outcome. With luminal A subtype, no prognostic significance of the dynamics of the CTC level was revealed. So, the use of the dynamics of the CTC level to predict the effectiveness of chemotherapy for locally advanced breast cancer seems to be most appropriate for TNBC and luminal B subtypes.

Keywords: circulating tumor cells, breast cancer, subtypes, chemotherapy.

Поиск новых маркеров, позволяющих наиболее полно и в ранние сроки выявить особенности развития опухолевого процесса с возможностью в дальнейшем подобрать персонализированные подходы к терапии, является одной из актуальных задач современной онкологии. Метастазирование опухолей - многостадийный, мультифакторный, сложноорганизованный процесс. В реализации гематогенного и лимфогенного путей

метастазирования особую роль отводят циркулирующим опухолевым клеткам (ЦОК, CTCs). ЦОК - клетки эпителиального происхождения, происходящие из клеток первичной опухоли и определяющиеся в периферической крови больных [1]. Кроме того, в ходе ряда модельных исследований выявлено, что эти клетки могут покидать опухоль на ранних стадиях ее развития [2]. По мнению некоторых авторов, количество и характеристика ЦОК могут выступать в качестве своеобразного инструмента, позволяющего оценивать опухолевую гетерогенность [3]. На экспериментальных моделях было установлено, что ежедневно в кровоток из 1 г опухолевой ткани поступает порядка 1 млн клеток, при этом только 1 клетка из 40 может достигнуть преметастатической ниши и только 0,01% клеток реализуются в гематогенные метастазы [4].

Наиболее полно изучены количественные значения циркулирующих опухолевых клеток у больных раком молочной железы (РМЖ), где их в крови у больных ранним (N0) РМЖ обнаруживаются в 30% случаев, у больных местнораспространенным (N+) раком – в 36%, а у больных метастатическим раком – в 70% случаев [5]. Однако механизмы, регулирующие особенности биологических свойств ЦОК, позволяющие небольшому количеству из них выжить и дать рост метастатическому очагу, до настоящего времени мало изучены. Предполагается, что покидающие опухолевый очаг клетки подвергаются обратимому эпителиально-мезенхимальному переходу, что сопровождается закономерным изменением их биологических свойств и обуславливает возможность находиться в циркуляторном русле. При этом в выживании и сохранении способности ЦОК давать новые опухолевые очаги особую роль отводят их взаимодействию с клетками крови – нейтрофилами, моноцитами и тромбоцитами [6].

В ряде экспериментальных работ показано, что в крови часть ЦОК способны образовывать кластеры, которые обуславливают образование метастатических очагов с большей вероятностью, чем индивидуальные ЦОК [7; 8]; это свидетельствует в пользу представлений об общности между циркулирующими и стволовыми опухолевыми клетками (ОСК). На кластеризующихся ЦОК повышена экспрессия такого маркера ОСК, как CD44, опосредующего взаимодействие клетки с межклеточным матриксом и выполняющего целый ряд функций, в том числе и регуляцию активности генома. Есть сообщения о том, что CD44⁺ ЦОК РМЖ обладают повышенной способностью к образованию поликлональных агрегатов, метастатическим и опухоль-иницирующим потенциалом [9].

По данным некоторых исследований, установлена взаимосвязь между содержанием ЦОК и эффективностью проводимой терапии. Оценка наличия или отсутствия ЦОК может быть использована для мониторинга у больных, получающих системную химиотерапию, и индивидуализированного планирования тактики лечения [10; 11].

В последние годы появляется все больше данных, посвященных взаимодействию ЦОК с иммунной системой опухоленосителей [12; 13]. В ходе проведенных в ФГБУ РНИОИ исследований [14] и другими авторами [15] была показана не только связь уровня ЦОК с некоторыми биологическими свойствами опухолей у больных раком легкого, но и выявлен ряд корреляций уровня ЦОК с показателями иммунного статуса, в частности с активированными Т-лимфоцитами, Т-клетками памяти, функционально активными НК-клетками.

Вопрос о возможности использования показателя ЦОК для прогнозирования эффективности лечения РМЖ остается открытым. Поскольку различные подтипы РМЖ имеют разное клиническое течение, в том числе и ответ на химиотерапию, не исключена и различная прогностическая и предиктивная роль ЦОК у больных люминальными и ТНРМЖ. Последнее АСКО сообщает об отсутствии прогностической значимости ЦОК у больных генерализованным РМЖ, находящихся на ХТ первой линии.

Таким образом, изучение количества ЦОК, их биологических свойств, характера взаимодействия с различными факторами циркуляторного русла представляет несомненный интерес для выявления взаимосвязи между их содержанием, особенностями протекания опухолевого процесса, формирования индивидуальных подходов к проводимой терапии и оценке ее эффективности.

Целью данной работы являлось выявление возможной прогностической значимости уровня ЦОК и их динамики при проведении химиотерапии больным с различными биологическими подтипами местнораспространенного РМЖ.

Материалы и методы исследования

Обследовано 42 пациентки с местнораспространённым раком молочной железы, HER2-негативным подтипом опухоли, IIIA, IIIB, IIIC стадии, в возрасте от 30 до 65 лет, имеющих соматический статус по шкале ECOG-WHO от 0 до 2 баллов (по шкале Карновского от 100% до 80%). По биологическому подтипу больные распределились следующим образом: люминальный В подтип – 26 больных (62%), люминальный А подтип – у 5 больных (12% случаев). У 26% (11 пациенток) диагностирован тройной негативный вариант опухоли (ТНРМЖ). Все больные получали курсы ПХТ согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ. Прогрессирование заболевания в течение 6-12 мес. отмечено у 16 больных, через 3 года – у 5 больных, 21 больная находится в ремиссии более 3 лет.

Биологические подтипы РМЖ, включая пролиферативную активность опухолей по экспрессии Ki-67, определяли в рамках стандартного диагностического ИГХ-исследования. Уровни ЦОК оценивали до начала и после 2-го курса химиотерапии (ХТ) с использованием системы CellSearch™ Veridex, Johnson & Johnson (США), с учетом морфологических

характеристик и основанной на экспрессии маркеров адгезии эпителиальных клеток ЕрСАМ, CD45 и цитокератинов 8, 18, 19, а также HER2.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США).

Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводили с применением критерия Шапиро-Уилка. Описательная статистика количественных признаков представлена в виде средней арифметической и стандартной ошибки средней арифметической ($M \pm s$). Достоверность отличий между выборками оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (отличия считали достоверными при $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты определения уровня ЦОК до начала и после лечения у больных с РМЖ различных подтипов в связи с клиническим эффектом, оцениваемым по времени до прогрессирования, представлены в таблице 1.

Из представленных в таблице 1 результатов видно, что наименьшая пролиферативная активность (экспрессия ki-67) выявлена в опухолях с люминальным А подтипом РМЖ. В образцах опухоли РМЖ люминального В подтипа данный параметр был выше значений люминального А в 4 раза (на 290%) с колебанием от 10% до 95%.

Подтип ТНРМЖ характеризовался наиболее высоким уровнем пролиферативной активности, статистически значимо превышающей значения обоих люминальных подтипов. Напротив, время до прогрессирования опухоли было минимальным у больных с ТНРМЖ, достоверно отличаясь от показателя больных с люминальным А подтипом.

Наибольшее количество определяемых в крови ЦОК до лечения было характерно для пациенток с люминальными А и В подтипами РМЖ, причем интересной находкой, по-видимому, свидетельствующей о гетерогенности опухоли, оказалось выявление HER2⁺ статуса ЦОК в 19% случаев HER2⁻ люминального В подтипа. В группе пациенток с ТНРМЖ уровень ЦОК до проведения терапии был статистически достоверно ниже, чем в группах люминального А и В подтипов РМЖ на 30% и 38% соответственно, а после лечения статистически достоверно превышал их.

Таблица 1

Сравнительная характеристика динамики уровней ЦОК и времени до прогрессирования заболевания у больных РМЖ различных подтипов

(M ± s, min – max)

Подтипы РМЖ	Ki-67, %	Время до прогрессирования, мес.	ЦОК до лечения	ЦОК после лечения	HER2⁺ ЦОК, %

Люминальный А	13,2±3,2 (1-20)	25,2±2,9 (18-36)	5,4±2,2 (1-14)	3,0±1,5 (0-8)	-
Люминальный В	51,5±4,9 (10-95)*	21,2±2,5 (3-42)	6,1±2,6 (0-64)	1,8±0,5* (0-7)	19
<i>% от люм. А</i>	290	-16	13	-40	
Тройной негативный	74,8±6,3* ** (40-98)	18,2±4,3* (6-36)	3,8±1,4* ** (0-15)	5,7±3,6* ** (0-33)	-
<i>% от люм. А</i>	467	-28	-30	90	
<i>% от люм. В</i>	45	-14	-38	217	

$p \leq 0,05$;

* - по отношению к люминальному А РМЖ;

** - по отношению к люминальному В РМЖ.

После проведенного лечения количество ЦОК у больных люминальными А и В подтипами РМЖ имело тенденцию к снижению в первом случае и статистически достоверно уменьшалось во втором случае по сравнению с исходными значениями ($p \leq 0,05$). При этом средние значения ЦОК после лечения были выше в группе пациенток с люминальным А подтипом РМЖ, значение данного показателя в этой группе превышало количество ЦОК у пациентов с люминальным В подтипом опухоли на 40%. При ТНРМЖ проведение терапии не сопровождалось снижением количества ЦОК, а, напротив, отмечалось увеличение показателя на 50% по сравнению со значениями до начала терапии, что иллюстрирует известный факт наибольшей устойчивости данного подтипа к проводимой терапии.

Итак, несмотря на наименьший исходный уровень ЦОК при ТНРМЖ, пролиферативная активность в опухолях этого подтипа была максимальной. Отсутствие снижения количества ЦОК у больных данной группы при лечении ассоциировалось с уменьшением времени до прогрессирования заболевания. У больных с люминальным А и В подтипами РМЖ химиотерапия приводила к уменьшению числа ЦОК, что, наряду с более длительным бессобытийным периодом, чем при ТНРМЖ, может быть расценено как положительная динамика и свидетельствовать о благоприятном прогнозе. Интересно, что, несмотря на наиболее широкую индивидуальную вариабельность, отмеченную при люминальном В РМЖ, для показателей пролиферативной активности, исходного уровня ЦОК, бессобытийной продолжительности жизни больных, и объясняющуюся, по-видимому, его гетерогенностью, наиболее выраженное уменьшение числа ЦОК выявлено именно при этом подтипе.

В таблице 2 представлена динамика уровней ЦОК в зависимости от их исходного показателя при сравниваемых подтипах РМЖ.

Распределение больных исследуемых групп по уровню ЦОК до и после лечения, %

Подтипы РМЖ	Отсутствие ЦОК		Единичные ЦОК		2-3 ЦОК		Более 3-х ЦОК	
	До	После	До	После	До	После	До	После
Люминальный А	0	40	20	0	20	20	60	40
Люминальный В	15	46	15	12	38*	27*	31*	15*
<i>% от люм. А</i>		15	-25		90	35	-48	-63
Тройной негативный	27**	64* **	9*	9 **	27*	9* **	36*	18* **
<i>% от люм. А</i>		60	-55		35	-55	-40	-55
<i>% от люм. В</i>	80	39	-40	-25	-29	-67	16	20

$p \leq 0,05$;

* - по отношению к люминальному А РМЖ;

** - по отношению к люминальному В РМЖ.

Как видно из таблицы 2, у пациенток с люминальным А подтипом РМЖ до проведения терапии ЦОК были выявлены у всех больных, причем преобладали варианты с множественным количеством (>3) ЦОК – 60% больных, у 20% выявлены единичные ЦОК и еще у 20% - 2-3 ЦОК. Проведение 2 курсов химиотерапии у этих больных сопровождалось уменьшением количества случаев с множественными ЦОК до 40%, увеличением количества ЦОК-негативных больных также до 40%. В группе с люминальным В подтипом РМЖ до лечения в 15% случаев ЦОК не определялись, еще у 15% выявлены единичные опухолевые клетки, одновременно с этим у 38% пациенток количество ЦОК составило 2-3 клетки, а более 3 ЦОК выявлено у 31% больных. После 2 курсов химиотерапии увеличилось количество больных люминальным В подтипом, в крови которых опухолевые клетки не определялись (до 46%), а количество пациенток с единичными, 2-3 и более 3 ЦОК – снизилось соответственно до 12, 27 и 15%. При ТНРМЖ до проведения терапии у 27% больных ЦОК не определялись, что было выше соответствующего показателя в группах с люминальным А и В подтипами РМЖ, единичные опухолевые клетки определялись в 9% случаев, 2-3 ЦОК выявлялись в 27% случаев, что достоверно выше на 35% данного показателя в группе с люминальным А и ниже на 29% в группе пациенток с люминальным В РМЖ. Более 3 ЦОК в данной группе до проведения лечения определялось у 36% пациенток, что достоверно ниже (на 40%) значений данного показателя при люминальном А подтипе РМЖ и несколько выше значений при люминальном В подтипе. Проведение химиотерапии способствовало 2-кратному снижению больных ТНРМЖ с количеством ЦОК>3, 3-кратному снижению - с уровнем ЦОК 2-3, нарастанию ЦОК-негативных случаев.

Итак, хотя проведение 2 курсов химиотерапии и сопровождалось нарастанием ЦОК-негативных случаев при всех подтипах, у части больных их количество оставалось без изменения, а у некоторых отмечено увеличение числа ЦОК. Результаты соотношения

указанных типов реакции на лечение, а также число умерших представлены в таблице 3.

Таблица 3

Соотношение различных типов реакции на проводимое лечение у пациенток с различными подтипами РМЖ

Подтипы РМЖ	↓ ЦОК, %	Без Δ ЦОК, %	↑ ЦОК, %	Умерли, %
Люминальный А	60	-	40	-
Люминальный В	54	15	31*	15
<i>% от люм. А</i>	-10	-	-23	-
Тройной негативный	54	27*	18* **	36**
<i>% от люм. А</i>	-8	-	-55	-
<i>% от люм. В</i>		80	-42	140

$p \leq 0,05$;

* - по отношению к люминальному А РМЖ;

** - по отношению к люминальному В РМЖ.

Как видно из таблицы 3, у пациенток с люминальным А подтипом РМЖ превалировали всего два варианта реагирования – снижение уровня ЦОК либо его увеличение, что наблюдалось в 40% случаев (табл. 3). В группах с люминальным В и ТНРМЖ наблюдаются все варианты ответа на терапию: в 54% случаев отмечается снижение ЦОК, в 15% (люминальный В) и 27% (ТНРМЖ) случаев количество опухолевых клеток в крови не изменяется; в 31% и 18% случаев для люминального В и ТНРМЖ соответственно наблюдается рост количества ЦОК.

Летальный исход отмечался у больных из групп люминального В и ТНРМЖ и составил соответственно 15% и 36% от общего числа больных. В группе с люминальным В РМЖ связи между изменением числа ЦОК и гибелью пациентки не выявлено. У 75% умерших пациенток отмечено снижение ЦОК в крови, причем в большинстве случаев исходно высокие количества ЦОК (>5) резко снижались до единичных клеток либо исчезали из циркуляции. При ТНРМЖ отмечается аналогичная зависимость: у 75% умерших пациенток наблюдалось снижение количества ЦОК после терапии, тогда как исходные уровни ЦОК у них составляли от единичных до >5 клеток. В 25% летальных случаев наблюдали выраженное увеличение количества ЦОК – от исходных 9 до 26 клеток, при этом летальный исход наблюдался в 2 раза чаще, чем возрастание уровня ЦОК (36% и 18% соответственно).

Результаты динамики уровней ЦОК у больных с различными подтипами РМЖ с разными сроками развития прогрессирования (раннее - 6-12 мес. и позднее - 3 и более лет)

представлены в таблице 4.

Таблица 4

Динамика уровней ЦОК у больных раком молочной железы с последующим ранним и поздним прогрессированием

<i>Подтипы РМЖ</i>	<i>Ki-67, %</i>	<i>Возраст, лет</i>	<i>ЦОК до лечения</i>	<i>ЦОК после лечения</i>	<i>HER2⁺ ЦОК, %</i>	<i>Умерли, %</i>
<i>Прогрессия в течение 6-12 месяцев</i>						
<i>Люминальный А</i>	11,5±3,1 (1-15)	56,3±2,0 (51-60)	3,25±0,8 (1-5)	1,75±1,1* (0-5)	0	0
<i>Люминальный В</i>	53,5±4,7 (25-90)	47,6±2,1 (32-60)	12,3±3,9 (1-64)	3,2±0,6* (0-9)	30	30
<i>Тройной негативный</i>	64,7±6,9 (40-98)	53,3±3,2 (33-63)	3,2±0,9 (0-9)	9,8±4,6* (0-33)	0	67
<i>Ремиссия в течение 3 и более лет</i>						
<i>Люминальный А</i>	20±2,5 (15-25)	64±1,9 (56-65)	14±1,5 (0-15)	8±1,2* (0-9)	0	0
<i>Люминальный В</i>	42,1±5,2 (10-85)	49,0±1,4 (57-62)	3,4±0,5 (0-7)	0,6±0,2* (0-3)	0	0
<i>Тройной негативный</i>	91,7±0,9 (90-95)	49,3±1,7 (43-53)	7,7±1,9 (3-15)	1,3±0,5* (0-3)	0	0

*- $p \leq 0,05$, по сравнению с значением до лечения.

Как видно из таблицы 4, у больных с обоими люминальными подтипами РМЖ с последующим развитием прогрессирования в течение 1 года отмечено статистически значимое снижение уровня ЦОК после 2 курсов химиотерапии по сравнению с исходным. В отличие от них у больных ТНРМЖ при раннем прогрессировании происходило нарастание этого показателя. У 30% пациенток с люминальным В подтипом РМЖ выявлены HER2⁺ ЦОК, у 90% таких больных наблюдался летальный исход. При ТНРМЖ выявлен выраженный рост количества ЦОК – на 206% по сравнению с исходными значениями, в 67% случаев с ранним прогрессированием наблюдали летальный исход.

У больных РМЖ всех исследованных подтипов с развитием длительной ремиссии (3 и более лет) после 2 курсов химиотерапии наблюдалось статистически достоверное снижение количества ЦОК по сравнению с исходными показателями, наиболее выраженное при люминальном В и ТНРМЖ.

Если при раннем прогрессировании отмечается связь динамики уровня ЦОК с пролиферативной активностью опухоли, то при развитии длительной ремиссии прогностическая значимость этого несомненно важного и часто используемого для прогностических целей показателя утрачивается: так, экспрессия Ki-67 у больных без прогрессирования в течение 3 и более лет оказалась в группах ТНРМЖ и люминального А

подтипа выше, чем с прогрессированием в ранние сроки.

Заключение

При химиотерапии местнораспространенного РМЖ уровень ЦОК до лечения, по-видимому, не играет универсальной прогностической роли, т.к. при люминальном В подтипе он был выше у больных с ранним прогрессированием, а при люминальном А и при ТНРМЖ - у больных с поздним прогрессированием и развитием ремиссии свыше 3 лет. Однако при определении уровня ЦОК в динамике лечения были выявлены некоторые критерии, которые могут быть расценены как прогностические. Так, увеличение числа ЦОК у больных местнораспространенным ТНРМЖ после 2 курсов химиотерапии предполагает раннее прогрессирование и риск летального исхода в течение 1 года, а снижение уровня ЦОК говорит об эффективности проводимой химиотерапии и позволяет прогнозировать 3-летний и более длительный срок жизни. Для люминальных подтипов РМЖ динамика уровней ЦОК не показала прогностического значения. Тем не менее при люминальном В подтипе РМЖ даже при снижении общего уровня ЦОК наличие среди них HER2⁺ положительных при исходно HER2 опухоли может выступать в качестве прогностического фактора неэффективности лечения и риска раннего прогрессирования заболевания. Подобные наблюдения описаны в литературе [16]. По-видимому, в этих случаях целесообразно включать в лечение анти-HER2⁺-терапию, например герцептин.

Таким образом, прогностическая значимость динамики уровня ЦОК при химиотерапии местнораспространенного РМЖ зависит от подтипа опухоли и представляется наибольшей при ТНРМЖ и люминальном В подтипах.

Список литературы

1. Chiappini F. Circulating tumor cells measurements in hepatocellular carcinoma// International Journal of Hepatology. 2012. Article ID 684802. 16 p. DOI:10.1155/2012/684802.
2. Klein C.A. Selection and adaptation during metastatic cancer progression. Nature. 2013. vol. 501 no. 7467. P. 365–372. DOI: 10.1038/nature12628.
3. Tellez-Gabriel M., Heymann M.-F., Heymann D. Circulating tumor cells as a tool for assessing tumor heterogeneity. Theranostics. 2019. vol. 9. no. 16 p. 4580-4594. DOI: 10.7150/thno.34337.
4. Ковалев А.А., Грудинская Т.В., Кузнецова Т.П., Ковалев К.А. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток // Онкология. 2012. Т. 14, № 2. С.126-129.

5. Krebs M.G., Hou J.-M., Ward T.H., Blackhall F.H. Circulating tumour cells: their utility in cancer management and predicting outcomes. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2010. vol.2. no.6. P.351-365. DOI: 10.1177/1758834010378414.
6. Heeke S., Mograbi B., Alix-Panabières C., Hofman P. Never Travel Alone: The Crosstalk of Circulating Tumor Cells and the Blood Microenvironment. *Cells.* 2019. vol.8. no.7. pii: E714. DOI: 10.3390/cells8070714.
7. Aceto N., Bardia A., Miyamoto D.T., Donaldson M.C., Wittner B.S., Spencer J.A, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell.* 2014. vol.158. no.5. P.1110–22. DOI: 10.1016/j.cell.2014.07.013.
8. Cheung K.J., Padmanaban V., Silvestri V., Schipper K., Cohen J.D., Fairchild A.N. et al. Polyclonal breast cancer metastases arise from collective dissemination of keratin 14-expressing tumor cell clusters. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016. vol.113. no. 7. P. E854–63. DOI: 10.1073/pnas.1508541113.
9. Baccelli I., Schneeweiss A., Riethdorf S., Stenzinger A., Schillert A., Vogel V. et al. Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay. *Nat Biotechnol.* 2013. vol.31. no. 6. P.539–44. DOI: 10.1038/nbt.2576.
10. Бжадуг О.Б., Гривцова Л.Ю., Тупицын 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.
11. Кит О.И., Новикова И.А., Никипелова Е.А., Нистратова О.В., Бахтин А.В., Селютина О.В., Черникова Е.Н. Циркулирующие опухолевые клетки как высокоспецифичный прогностический фактор. Обзор литературы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. Т. 12. №2. С. 252-257.
12. Mego M., Gao H., Cohen E.N., Anfossi S., Giordano A., Sanda T., Fouad T.M., De Giorgi U., Giuliano M., Woodward W.A., Alvarez R.H., Valero V., Ueno N.T., Hortobagyi G.N., Cristofanilli M., Reuben J.M. Circulating Tumor Cells (CTC) Are Associated with Defects in Adaptive Immunity in Patients with Inflammatory Breast Cancer. *Journal of Cancer.* 2016. no. 7. P. 1095–1104. DOI: 10.7150/jca.13098.
13. Kevin L., Poggiana C., Zamarchi R. The Interplay between Circulating Tumor Cells and the Immune System: From Immune Escape to Cancer Immunotherapy. *Diagnostics.* 2018. vol. 8. no. 3. P. 59. DOI: 10.3390/diagnostics8030059.
14. Бахтин А.В., Кит О.И., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Исаева Р.Г., Селютина О.Н., Шульгина О.Г. Детекция циркулирующих в крови опухолевых клеток и их взаимоотношение с иммунокомпетентными клетками у больных генерализованными формами рака лёгкого //

Современные проблемы науки и образования. 2015. №3. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19734> (дата обращения 11.11.2019).

15. Ye L., Zhang F., Li H., Yang L., Lv T., Gu W., Song Y. Circulating tumor cells were associated with the number of T lymphocyte subsets and NK cells in peripheral blood in advanced non-small-cell lung cancer. *Disease Markers*. 2017. vol. 572. no. 7815. DOI: 10.1155/2017/5727815.

16. Wallwiener M., Hartkopf A.D., Riethdorf S., Nees J., Sprick M.R., Schönfisch B., Taran F.-A., Heil J., Sohn C., Pantel K., Trumpp A., Schneeweiss A. The impact of HER2 phenotype of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a retrospective study in 107 patients. *BMC Cancer*. 2015. vol. 15, article number 403.