

УДК 616-006.6-033.2-076-036.8

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ КАК ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫЙ ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**Кит О.И., Новикова И.А., Никипелова Е.А., Нистратова О.В.,
Бахтин А.В., Селютина О.В., Черникова Е.Н.**

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: nistratova.o.v@mail.ru*

Проведен анализ доступной отечественной и зарубежной литературы, касающейся определения циркулирующих в крови опухолевых клеток. Их роль в развитии отдаленных метастазов, а также влияние на прогноз заболевания, общую и безрецидивную выживаемость. Оценена роль ЦОК при различных онкологических заболеваниях: раке молочной железы, предстательной железы, колоректальном раке, и некоторых других локализациях. Рассмотрена роль эпителиально – мезенхимального перехода.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), рак молочной железы, рак предстательной железы, колоректальный рак, эпителиально – мезенхимальный переход

CIRCULATING TUMOR CELL AS A HIGHLY SPECIFIC PROGNOSTIC FACTORS. REVIEW OF THE LITERATURE.

**Kit O.I., Novikova I.A., Nikipelova E.A., Nistratova O.V.,
Bachtin A.V., Selutina O.V., Chernikova E.N.**

*Rostov Research Oncologic Institute of Ministry of Health the Russian Federation, Rostov-on-Don,
e-mail: nistratova.o.v@mail.ru*

The analysis of the available domestic and foreign literature on the definition of circulating tumor cells. Their role in the development of distant metastases, as well as the impact on the prognosis of the disease, and the overall disease-free survival. The role of CSCs in various cancer: breast cancer, prostate cancer, colorectal cancer, and some other sites. We consider the role of epithelial – mesenchymal transition.

Keywords: circulating tumor cells (CTCs), breast cancer, prostate cancer, colorectal cancer, epithelial – mesenchymal transition

Процесс метастазирования опухоли известен уже более ста лет, многочисленные исследования доказали природу возникновения «опухоле-клеточной лейкемии», как раньше называли метастатическую болезнь [1–5]. В последнее десятилетие для определения ЦОК опробовано множество методик: ПЦР с обратной транскрипцией, центрифугирование на градиенте плотности, лизис цельной крови, проточная цитометрия, иммуномагнитная сепарация, метод микрочипов, и некоторые другие [6]. Первой системой для непосредственного определения ЦОК в крови пациентов, одобренной FDA для клинического использования, стала система CellSearch™ (Janssen Diagnostics, Inc.), принцип работы которой основан на подсчёте количества эпителиальных опухолевых клеток, выделяемых из крови. Идентификация клеток осуществляется с помощью флюоресцентно меченых антител к цитокератинам (8, 18, 19), обще-лейкоцитарному антигену CD45 и ядерного красителя DAPI. В настоящее время данная система утверждена FDA для клинического применения при трёх локализациях злокачественных опухолей: раке молочной железы, простаты и толстого отдела кишечни-

ка, референсными значениями считаются менее 5-ти ЦОК в образце при раке груди, менее 3х при колоректальном раке и менее 5-ти при раке простаты. При превышении референсных значений образец считается положительным на наличие ЦОК [2, 7].

Целью нашей работы являлся анализ данных из доступной отечественной и зарубежной литературы по прогностическому значению выявленных в крови ЦОК, а также перспективы использования данного исследования с помощью системы CellSearch™ при опухолях других локализаций.

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в определении прогноза при опухолях молочной железы

В 2004 году М. Cristofanilli с соавторами опубликовали результаты исследования 83 больных метастатическим раком молочной железы. Метастазы в висцеральные органы выявлены у 70 больных (84%), метастазы в молочную железу, лимфатические узлы, кости, грудную стенку, кожу у 13 (16%). При гистологическом исследовании инфильтрирующий протоковый рак выявлен у 61 больной (73%), дольковый – у 11(13%), смешанная форма – у 2 больных

(3%), рак *in situ* – у 2 (3%). У 7 больных (8%) гистологическая форма рака неизвестна. Позитивный гормональный статус опухоли выявлен у 53 больных (64%), негативный – у 30 (36%), Her2+ – у 12 больных (15%). Неоадьювантная терапия проведена у 51 больной (61%). Для выяснения прогностического значения выявленных в крови ЦОК забор крови на исследование проводили перед началом терапии, через 3–4 недели после инициации терапии, и далее через каждые 9–12 недель. Оценка выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости по Каплану-Мейеру была выполнена для всех точек забора крови больным, имеющим до начала терапии < 5 или ≥ 5 ЦОК. Результаты исследования показали, что у больных, имевших до лечения 5 и более ЦОК, выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость составили 2,7 и 10,1 месяца, соответственно, против 7 и 18 месяцев и более у больных, в крови которых до начала терапии отмечено менее 5 ЦОК ($p < 0.001$). При повторном исследовании после инициации терапии тенденция сохранялась в отношении выживаемости без прогрессирования (2,1 месяца против 7 месяцев, $p < 0.001$) и общей выживаемости (8,2 месяца против > 18 месяцев, $p < 0.001$) [10, 3].

Roy Beveridge сравнил сопоставимость как прогностического фактора уровня ЦОК и СА 27-29 [8]. Результаты показали, что у 54% больных (29 из 53) метастатическим РМЖ определяются ЦОК (от 5 до 1,341 клетки). Уровень ЦОК продемонстрировал высокую специфичность (89%) и корреляцию с клиническим статусом больной. Тем не менее, уровень ЦОК оказался менее чувствительным методом (70%), в связи с тем, что не у всех больных при прогрессировании заболевания отмечалось повышение его уровня, тогда как СА 27-29 продемонстрировал более высокую чувствительность (85%), но меньшую специфичность (31%). Автором также сделан вывод о том, что уровень ЦОК не отражает ни опухолевую нагрузку, ни активность роста, хотя и является ранним прогностическим фактором прогноза эффективности лечения.

Ivan der Auwera и соавт. определяли содержание ЦОК с помощью трёх методов: CellSearch™ системы, с помощью готового кита AdnaTest Breast Cancer Select/Detect, и RT-PCR методикой (ОТ-ПЦР, ПЦР с обратной транскрипцией) в крови 76 больных РМЖ и 20 здоровых доноров [9, 29, 30]. По результатам исследования с использованием системы CellSearch™, 59% пациентов РМЖ и 10% здоровых доноров имело хотя бы 1 ЦОК. У 36% больных выявлено 2

и более ЦОК, тогда как в контрольной группе ни один из образцов не содержал 2 или более ЦОК, что соответствует специфичности 100%. С помощью методики AdnaTest Breast Cancer Select/Detect определялись опухолеассоциированные последовательности ДНК (Muc-1, GA733-2 или HER2). Положительный результат обнаружен у 22% в группе больных РМЖ и ни у одной в контрольной группе. Однако, положительный результат был связан с высоким уровнем у больных СА15,3 и не ассоциировался с прогрессией опухоли. С помощью метода ОТ-ПЦР выявлено, что 26% больных РМЖ были позитивны по СК-19 и ни одна из контрольной группы; 54% больных РМЖ были позитивны по маммоглобину и 18% и по СК-19, и по маммоглобину. Но не обнаружение СК-19, ни маммоглобина не коррелировало с прогрессией опухоли. В целом, соответствие между методами колебалось от 53% (для AdnaTest и определения маммоглобина, методом *real time* ПЦР) и до 81% (для AdnaTest и Cell Search) [29, 30, 31, 32, 33, 34, 48, 49].

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в определении прогноза при опухолях предстательной железы

В 2004 году крупное исследование провели Allard W.J., Matera J., Miller M.C и соавт.. Была исследована кровь 123 больных раком предстательной железы, где ЦОК определялись в количестве от 0 до 23,618 в 7.5 мл крови: 2 и более ЦОК обнаружены у 57%, 5 и более у 41%, 10 и более у 32% и 50 и более ЦОК определили у 14% пациентов. Воспроизводимость полученных результатов была подтверждена в парных пробах крови. Авторы отметили, что система CellSearch™ позволяет довольно надёжно, точно и воспроизводимо определять ЦОК независимо от того, насколько гетерогенны и малочисленны сами ЦОК. [13].

Danila D.C. с соавторами при помощи системы CellSearch™ определяли ЦОК у 120 больных РПЖ [14, 36]. Метастазы в мягкие ткани были выявлены у 10% больных, костные метастазы – 34%, метастазы в кости и мягкие ткани у 56%. В результате ЦОК не определялись у 7% больных, у 25% больных отмечено до 2 ЦОК, у 11% от 3 до 4 ЦОК, в крови 12% больных выявлено от 5 до 9 ЦОК, у 21% от 10 до 50 ЦОК и у 24% обследованных ЦОК обнаружались в количестве более 51. Таким образом, в крови 57% больных РПЖ выявлялось 5 и более ЦОК. Больше число ЦОК выявлялось у больных с костными метастазами, меньшее – у тех, кто имел метастазы только в мягкие ткани и получил первичную хими-

отерапию. У больных, не получавших ХТ, при наличии в крови 5 и более ЦОК общая выживаемость составила 10,4 месяца против 18,4 месяца у больных, в крови которых выявлено менее 5 ЦОК. Аналогичная тенденция наблюдалась и у больных, получавших цитотоксическую терапию, где общая выживаемость составила 9 и 22,7 месяца, соответственно.

В работе De Bono J.S., Sher H.I., Montgomery R.V. и соавт. 2007 года исследование проведено у 120 больных метастатическим раком предстательной железы. Радикальная простатэктомия до исследования выполнена у 28% больных, 29% проведено лучевое лечение. Первую линию химиотерапии прошли 27% больных, вторую и последующие 54%. Метастазы только в мягкие ткани выявлены у 10% больных, костные метастазы у 34%, метастазы в кости и мягкие ткани у 56% больных. ЦОК не определялись у 7% больных, у 25% выявлено до 2 ЦОК, 11% имели 3–4 ЦОК, 12% 5–9 ЦОК, у 21% больных выявлено от 10 до 50 ЦОК и у 24% обследованных ЦОК обнаружилось в количестве более 51. Таким образом, 57% пациентов имели 5 и более ЦОК. Больше число ЦОК обнаружилось у тех пациентов, которые имели костные метастазы, меньшее – у тех, кто имел метастазы только в мягкие ткани и получил первичную химиотерапию. Повышенное базовое число ЦОК строго ассоциировалось с меньшей выживаемостью [15].

Прогноз общей выживаемости для пациентов с исходным неблагоприятным уровнем ЦОК при последующем снижении уровня ЦОК улучшался с 6,8 до 21,3 месяцев; прогноз для пациентов, имевших исходный благоприятный уровень ЦОК менее 5 клеток, при последующем повышении уровня ЦОК ухудшался с более чем 26 месяцев до 9,3 месяца. Авторами сделан вывод, что уровень ЦОК – наиболее точный и независимый фактор прогноза общей выживаемости.

Resel F.L. и соавт. исследовали кровь 30 больных локализованным РПЖ, 30 больных метастатическим РПЖ и 30 здоровых добровольцев [16]. В контрольной группе у 3 пациентов было обнаружено по 1 ЦОК; в группе локализованным РПЖ 27% имели ЦОК, ни у одного число ЦОК не превысило 2; у 80% пациентов метастатическим РПЖ обнаружены ЦОК, медиана содержания которых составила 18 клеток. Авторами выбрана точка cutoff в 4 ЦОК в 7,5 мл крови, для определения группы больных с плохим прогнозом. При превышении этого значения отмечено снижение общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования

(24 месяца против 45, и 7 против 44) в сравнении с больными, уровень ЦОК у которых был меньше 4 ($p < 0,001$). Риск смертности и прогрессирования у больных с ≥ 4 ЦОК был выше в 4,1 ($P = 0,029$) и 8,5 ($P < 0,001$) раза.

В исследовании Amato R.J. и соавт. определены ЦОК у 202 пациентов РПЖ [17]. Метастатическая болезнь была подтверждена у 87 пациентов (43%), из них 40 (20%) имели метастазы только в кости, 15 (7%) имели метастазы в лимфоузлах и 24 (12%) имели метастазы как в кости, так и в лимфоузлы. ЦОК в количестве 1 и более были обнаружены у 46 пациентов (22,7%). Пациенты были разделены на 4 группы: группа 1 – 0 ЦОК/7,5 мл, группа 2 – меньше 5 ЦОК/7,5 мл, группа 3 – 5–100 ЦОК/7,5 мл, группа 4 – более 100 ЦОК/7,5 мл крови. Общая выживаемость для 1 группы установлена не была, для 2, 3 и 4 группы составила 78,54; 73,33, и 70,71 месяца. Больше число ЦОК обнаружилось у пациентов с костными метастазами (mean 41,12 ЦОК) или имевших метастазы и в костную и в лимфоидную ткань (mean 57,04 ЦОК), чем у пациентов с метастазами в лимфоузлы (mean 2,53 ЦОК).

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в определении прогноза при колоректальном раке

Колоректальный рак, также как рак молочной и предстательной желез, является одним из самых частых злокачественных новообразований в структуре заболеваемости и смертности. В исследовании Cohen S.J., Punt C.J., и соавт. в 2008 году установлен порог позитивности в 3 ЦОК для метастатических форм колоректального рака, в котором их определяли методом CellSearch™ у 430 больных метастатическим раком толстой кишки до лечения, после 1, 2 и 3 курса терапии [15, 37, 38]. При сравнении групп больных с благоприятным (менее 3 ЦОК в 7,5 мл крови) и неблагоприятным исходным уровнем ЦОК (более 3 ЦОК в 7,5 мл крови) прогноз безрецидивной выживаемости составил 4,5 против 7,9 месяцев; общей выживаемости 9,4 против 18,5 месяцев.

Katsuno и соавт. в исследовании 2008 года отмечают, что уровень ЦОК имеет прямую связь с поражением лимфоузлов и стадией заболевания, где значительно выше частота обнаружения ЦОК в группе больных с наличием лимфогенных метастазов (50% против 21%) [16].

В работе Tol J., Koopman M. с соавторами в 2009 году обследовано 467 больных колоректальным раком, где уровень ЦОК определяли с помощью CellSearch™ до начала химиотерапии и через равные про-

межутки после начала терапии [17]. 29% пациентов имели изначально высокий уровень ЦОК. До начала терапии выявлено ЦОК в диапазоне от 0 до 312 (среднее 6,96), после 1–2 недель лечения в диапазоне от 0 до 192 ЦОК (среднее 1,39). Средняя выживаемость без прогрессирования составила 8,1 месяца для пациентов с высоким базовым числом ЦОК и 10,5 месяца для пациентов с низким базовым содержанием ЦОК; средняя общая выживаемость для этих групп составила 13,7 и 22 месяца соответственно ($P < 0,0001$). Во все временные точки в ходе лечения средняя выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость были значительно ниже у пациентов с базовым высоким содержанием ЦОК, чем у пациентов с низким количеством ЦОК. В группе пациентов с низким содержанием ЦОК до лечения и через 1–2 недели после начала терапии прогноз выживаемости без прогрессирования составил 10,5 месяцев; в группе пациентов, у которых изначально высокое содержание ЦОК снижалось через 1–2 недели после начала терапии, прогноз выживаемости без прогрессирования составил 7,9 месяцев; тогда как в группе пациентов, у которых высокий уровень ЦОК сохранялся во время терапии, прогноз выживаемости без прогрессирования составил 3,9 месяцев.

ЦОК при опухолях других локализаций

В работе Nicola Normanno и соавт. 2014 года определена прогностическая значимость ЦОК у 60 больных распространённым мелкоклеточным раком лёгкого с использованием системы CellSearch™ [20]. Подсчёт ЦОК производили до начала химиотерапии и после завершения первого или всех курсов терапии. ЦОК были обнаружены у 90% пациентов до начала лечения. Авторами показано, что лишь изменение уровня ЦОК после завершения 1 цикла ХТ является ценным прогностическим фактором, а приводимые ранее уровни позитивности для других локализаций злокачественных опухолей оказались неприменимы при данной патологии. Похожие выводы были сделаны и в более раннем исследовании Nou et al в 2012 году [19, 39]. Кровь 97 пациентов мелкоклеточным раком лёгкого была забрана за 7 дней до начала химиотерапии и после проведения 1 цикла. Подсчёт ЦОК осуществлялся с помощью системы CellSearch™. До начала терапии ЦОК обнаружили у 85% пациентов (среднее \pm стандартное отклонение = 1589 ± 5565 ЦОК). Пациенты были разделены на 2 группы: с благоприятным (< 50) и неблагоприятным (≥ 50) содержанием ЦОК до лечения;

в 1 группе выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость составили 8,8 и 11,5 месяцев, во 2 группе 4,6 и 5,4 месяцев соответственно ($p < 0,0001$). Уровень ЦОК, по мнению авторов, является независимым прогностическим фактором для пациентов с мелкоклеточным раком лёгкого, а сохранение уровня ЦОК выше 50 после окончания курса терапии свидетельствует о неадекватном подборе схемы лечения и ассоциируется с плохим прогнозом.

Krebs и соавт. в исследовании 2011 года 101 больного III–IV стадией немелкоклеточного рака лёгких до и после первого цикла стандартной ХТ методом CellSearch™ выявили, что уровень ЦОК был выше у пациентов IV стадии заболевания, где в 32% обнаружены 2 и более ЦОК, тогда как у больных IIIВ стадией только у 7%, а у пациентов IIIА стадии не было обнаружено ни одной ЦОК [21, 40, 41, 42, 43]. Выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость составили 6,8 и 8,4 месяца у пациентов с числом ЦОК < 5 , против 2,4 и 4,3 месяца у больных с уровнем ЦОК ≥ 5 до лечения. Несмотря на безусловную достоверность полученных данных, авторы отмечают, что для клинического использования при немелкоклеточном раке лёгкого системы CellSearch™ необходимы дальнейшие исследования.

При гепатоцеллюлярной карциноме уровень ЦОК в крови коррелировал с вероятностью рецидива после гепатэктомии и снижением безрецидивной выживаемости [21]. Даже при радикальном удалении первичной опухоли и отсутствии метастазов в регионарных ЛУ при уровне ЦОК $> 0,01\%$ у 50% больных безрецидивный период составлял от 1,3 до 57,1 месяца. Больные с содержанием ЦОК $> 0,01\%$ имели сниженный показатель двухлетней безрецидивной выживаемости (22,7% против 64,2%) и общей выживаемости (58,5% против 94,1%), в сравнении с больными с изначально низким содержанием ЦОК ($\leq 0,01\%$).

Poveda и соавт. в мультицентровом рандомизированном исследовании протестировали 216 больных раком яичников с помощью системы CellSearch™ [23]. Больные, имевшие 2 и более ЦОК, показали меньшую выживаемость без прогрессирования (3,2 месяца против 6,6 месяца) и общую выживаемость (12,4 месяца против 20,6 месяца), чем те, в крови которых обнаружена 1 ЦОК или не имеющие ЦОК. Однако, общее число пациентов, позитивных на наличие ЦОК было невелико, что может быть объяснено предпочтительным при раке яичника негематогенным путём метастази-

рования, а также сниженной экспрессией ЕрСАМ, либо потерей его в результате эпителиально-мезенхимального перехода.

Начат поиск ЦОК при меланоме (СМС – circulating melanoma cells). В проспективном исследовании Khoja L. и соавт. на платформе CellSearch™ установили, что у пациентов с уровнем ЦОК 2 и более достоверно снижалась общая выживаемость в сравнении с больными, у которых число ЦОК было меньше 2 (7 месяцев против 10) [24, 44, 45, 46].

Заключение

Таким образом, проведенный анализ литературы демонстрирует, что ЦОК являются независимым прогностическим фактором эффективности проводимой терапии и течения заболевания, а также ЦОК – точный и независимый фактора прогноза общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования. Кроме того, уровень ЦОК – высокоспецифичный и высокочувствительный показатель опухолевой гематогенной диссеминации.

Перспективными представляются исследования, направленные на выделение и исследование ЦОК для определения их биологических особенностей. Ценными данными представляется определение жизнеспособности ЦОК, экспрессии ими маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, что имеет особое значение в связи с тем, что система CellSearch™, как и другие системы, использует для определения ЦОК молекулу ЕрСАМ, изучение ЦОК *in vivo* на моделях лабораторных животных [24]. Крайне важно сравнение ЦОК с клетками первичной опухоли, особенно их мембранного профиля, различие мембранных антигенов ЦОК и раковых стволовых клеток.

Список литературы

1. Тупицын Н.Н. Циркулирующие и диссеминированные раковые клетки при раке молочной железы и раке яичников. *Фундаментальная онкология. Онкогинекология.* – 2013. – № 1. – С. 12–18.
2. Кит О.И., Новикова И.А., Бахтин А.В., Никипелова Е.А., Шагова Ю.С., Габараева В.М., Нистратова О.В. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови. *Журнал «Международный журнал экспериментального образования».* – 2013. – № 11(часть 2). – С. 37–40.
3. Кит О.И., Никипелова Е.А., Шагова Ю.С., Новикова И.А., Бахтин А.В., Габараева В.М. Опыт определения циркулирующих опухолевых клеток на аппарате Veridex II CellSearch при раке молочной железы без отдаленных метастазов. *Журнал «Фундаментальные исследования».* – 2014. – № 3(часть 4). – С. 747–749.
4. Engell H.C. Cancer cells in the circulating blood: a clinical study on the occurrence of cancer cells in the peripheral blood and in venous blood draining the tumour area at operation. *Acta Chir Scand Suppl* 1955;201: 1-70.
5. Myerowitz R.L., Edwards P.A., Sartiano G.P. Carcinocythemia (carcinoma cell leukemia) due to metastatic carcinoma of the breast: report of a case. *Cancer* 1977;40:3107-11.
6. Yam L.T., Janckila A.J. Immunocytodiagnosis of carcinocythemia in disseminated breast cancer. *Acta Cytol* 1987;31:68-72.
7. Rodriguez-Salas N., Jimenez-Gordo A.M., Gonzalez E., et al. Circulating cancer cells in peripheral blood: a case report. *Acta Cytol* 2000;44:237-41.
8. Ellis M., Hayes D.F., Lippman M.E. Treatment of metastatic disease. In: Harris J, Lippman M, Morrow M, et al., eds. *Diseases of the breast*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2004:1101-59.
9. I Van der Auwera, D Peeters, I.H. Benoy, H.J. Elst, S.J. Van Laere, A Prove', H Maes, P Huget, P van Dam, P.B. Vermeulen and LY Dirix. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch™ System, the AdnaTest and CK-19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *British Journal of Cancer* (2009), 1–9.
10. Massimo Cristofanilli M.D., G. Thomas Budd, M.D., Matthew J. Ellis, et al. Circulating Tumor Cells, Disease Progression, and Survival in Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med* 2004;351:781-91.
11. Roy Beveridge M.D. Circulating tumor cells in the management of metastatic breast cancer patients. *Community oncology*, Feb. 2007, Volume 4/Number 2, p.79.
12. I Van der Auwera, D. Peeters, I.H. Benoy, H.J. Elst, S.J. Van Laere, A. Prove', H. Maes, P. Huget, P van Dam, P.B. Vermeulen and L.Y. Dirix. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch™ System, the AdnaTest and CK-19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer. *British Journal of Cancer* (2009), 1–9.
13. Allard W.J., Matera J., Miller M.C., Repollet M., Connelly M.C., Rao C., Tibbe A.G., Uhr J.W., Terstappen L.W. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin. Cancer Res.* 2004, 10, 6897–6904.
14. Danila D.C., Heller G., Gignac G.A., Gonzalez-Espinosa R., Anand A., Tanaka E., Lilja H., Schwartz L., Larson S., Fleisher M., et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2007, 13, 7053–7058.
15. De Bono J.S., Sher H.I., Montgomery R.B. et al: Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer, *Clin Cancer Res* October 1, 2008. 14: 6302.
16. Resel F.L., San J.M.L., Galante R.I., Moreno S.J., Olivier G.C. Prognostic significance of circulating tumor cell count in patients with metastatic hormone-sensitive prostate cancer. *Urology* 2012, 80, 1328–1332.
17. Amato R.J., Melnikova V., Zhang Y., Liu W., Saxena S., Shah P.K., Jensen B.T., Torres K.E., Davis D.W. Epithelial cell adhesion molecule-positive circulating tumor cells as predictive biomarker in patients with prostate cancer. *Urology* 2013, 81, 1303–1307.
18. Cohen S.J., Punt C.J., Iannotti N. et al: Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin Oncol* 2008 Jul 1;26(19).
19. Tol J., Koopman M., Miller M.C., et al. Circulating tumor cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol.* 2009;21:1006–1012.
20. Nicola Normanno, Antonio Rossi, Alessandro Morabito, Simona Signoriello, Simona Bevilacqua, Massimo Di Maio, Raffaele Costanzo, Antonella De Luca, Agnese Montanino, Cesare Gridelli, Gaetano Rocco, Francesco Perrone, Ciro Gallo. Prognostic value of circulating tumor cells' reduction in patients with extensive small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 01/2014.
21. Hou, Krebs M.G., Lancashire L., Sloane R., Backen A., Swain R.K., et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2012;30(5):525–32.
22. Matthew G. Krebs, Robert Sloane, Lynsey Priest, Lee Lancashire, Jian-Mei Hou, Alastair Greystoke, Tim H. Ward,

- Roberta Ferraldeschi, Andrew Hughes, Glen Clack, Malcolm Ranson, Caroline Dive and Fiona H. Blackhall. Evaluation and Prognostic Significance of Circulating Tumor Cells in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2011 Apr 20;29(12):1556-63.
23. Fan S.T., Yang Z.F., Ho D.W., Ng M.N., Yu W.C., Wong J. Prediction of posthepatectomy recurrence of hepatocellular carcinoma by circulating cancer stem cells: a prospective study. *Ann. Surg.* 254 (2011) 569–576.
24. Poveda, Kaye S.B., McCormack R., Wang S., Parekh T., Ricci D., et al. Circulating tumor cells predict progression free survival and overall survival in patients with relapsed/recurrent advanced ovarian cancer. *Gynecologic Oncology* 2011;122(3):567–72.
25. Khoja L., Lorigan P., Zhou C., Lancashire M., Booth J., Cummings J., Califano R., Clack G., Hughes A., Dive C. Biomarker utility of circulating tumor cells in metastatic cutaneous melanoma. *J. Invest. Dermatol.* – Jun 2013; 133(6); 1582-90.
26. Thiery J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003;15:740-6.
27. Carey R.W., Taft P.D., Bennett J.M., Kaufman S. Carcinocythemia (carcinoma cell leukemia): an acute leukemia-like picture due to metastatic carcinoma cells. *Am J Med* 1976;60:273-8.
28. Gallivan M.V., Lokich J.J. Carcinocythemia (carcinoma cell leukemia): report of two cases with English literature review. *Cancer* 1984;53:1100-2.
29. Sile C.C., Perry D.J., Nam L. Small cell carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123:426.
30. Ignatiadis M., Xenidis N., Perraki M., Apostolaki S., Politaki E., Kafousi M., Stathopoulos E. Different prognostic value of cytokeratin-19 mRNA positive circulating tumor cells according to estrogen receptor and HER2 status in early-stage breast cancer // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* – 2007. – V. 25, № 16. – P. 5194–5202.
31. Ignatiadis M., Kalergi G., Ntoulia M., Perraki M., Apostolaki S., Kafousi M., Chlouverakis G. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimer reverse transcription-PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research.* – 2008. – V. 14, № 9. – P. 2593–2600.
32. Xenidis N., Ignatiadis M., Apostolaki S., Perraki M., Kalbakis K., Agelaki S., Stathopoulos E. Cytokeratin-19 mRNA-positive circulating tumor cells after adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* – 2009. – V. 27, № 13. – P. 2177–2184.
33. Massimo Cristofanilli et al. Circulating tumor cells, Disease Progression and Survival in Metastatic Breast Cancer. *Semin Oncol.* 2006.
34. G. Thomas Budd, Massimo Cristofanilli, Mathew J.Ellis, Allison Stopeck, Ernest Borden, M. Craig Miller, Jeri Matera, Madeline Repollet, Gerald V.Doyle, Leon W.M.M. Terstappen, and Daniel F. Hayes. Circulating Tumor Cells versus Imaging – Predicting Overall Survival in Metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(21) November 1, 2006. – P. 6403.
35. Liu M.C., Mego M., Nakamura S., et al. Clinical validity of circulating tumor cell (CTC) enumeration in 841 subjects with metastatic breast cancer (MBC). *J. Clin Oncol* 2011;29:abstr 10592.
36. Danila D.C., Anand A., Sung C.C., Heller G., Leversha M.A., Cao L., Lilja H., Molina A., Sawyers C.L., Fleisher M., et al. TMRSS2-ERG status in circulating tumor cells as a predictive biomarker of sensitivity in castration-resistant prostate cancer patients treated with abiraterone acetate. *Eur. Urol.* 2011, 60, 897–904.
37. Davis J.W.; Nakanishi H.; Kumar V.S.; Bhadkarkar V.A., McCormack R., Fritsche H.A.; Handy B., Gornet T., Babaian R.J. Circulating tumor cells in peripheral blood samples from patients with increased serum prostate specific antigen: Initial results in early prostate cancer. *J. Urol.* 2008, 179, 2187–2191.
38. Tralhão J.G., Hoti E., Seródio M., et al. Perioperative tumor cell dissemination in patients with primary or metastatic colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol (EJSO)* 2010;36:125–129.
39. Uen YH, Lu CY, Tsai HL, et al. Persistent presence of postoperative circulating tumor cells is a poor prognostic factor for patients with stage I–III colorectal cancer after curative resection. *Ann Surg Oncol.* 2008;15:2120–2128.
40. Hofman V, Bonnetaud C, Ilie MI, Viel P, Vignaud JM, Fléjou JF, Lantuejoul S, Piaton E, Mourad N, Butori C, Selva E, Poudoux M, Sibon S, Kelhef S, Vénissac N, Jais JP, Mouroux J, Molina TJ, Hofman P. Preoperative circulating tumor cell detection using the isolation by size of epithelial tumor cell method for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. *Clin Cancer Res.* 2011 Feb 15;17(4):827-35.
40. M.Y. Kim, T. Oskarsson, S. Acharyya, D.X. Nguyen, X.H. Zhang, L. Norton, J. Massague, Tumor self-seeding by circulating cancer cells, *Cell* 139 (2009) 1315–1326.
42. L. Norton, J. Massague, Is cancer a disease of self-seeding, *Nat Med.* 12 (2006) 875–878.
43. K. Pantel, R.H. Brakenhoff, B. Brandt, Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells, *Nat. Rev. Cancer* 8 (2008) 329–340.
44. Aktas, Kasimir-Bauer S, Heubner M, Kimmig R, Wimberger P. Molecular profiling and prognostic relevance of circulating tumor cells in the blood of ovarian cancer patients at primary diagnosis and after platinum-based CHT. *International Journal of Gynecological Cancer* 2011;21(5):822–30.
45. Khoja L, Lorigan P, Zhou C, Lancashire M, Booth J, Cummings J, Califano R, Clack G, Hughes A, Dive C. Biomarker utility of circulating tumor cells in metastatic cutaneous melanoma. *J. Invest. Dermatol.* – Jun 2013; 133(6); 1582-90
46. Koyanagi K, O'Day SJ, Gonzalez R, Lewis K, Robinson WA, Amatruda TT, Wang HJ, Elashoff RM, Takeuchi H, Umetani N, Hoon DS. Serial monitoring of circulating melanoma cells during neoadjuvant biochemotherapy for stage III melanoma: outcome prediction in a multicenter trial. *J. Clin. Oncol.* – Nov 2005; 23(31); 8057-64
47. Mellado B, Colomer D, Castel T, et al. Detection of circulating neoplastic cells by reverse-transcriptase polymerase chain reaction in malignant melanoma: association with clinical stage and prognosis. *J Clin Oncol* 1996;14:2091–7.
48. Le Rhun E, Tu Q, De Carvalho Bittencourt M, Farre I, Mortier L, Cai H, Kohler C, Faure GC. Detection and quantification of CSF malignant cells by the CellSearch™ technology in patients with melanoma leptomeningeal metastasis. *Med. Oncol.* – Jun 2013; 30(2); 538.
49. Ferro P, Franceschini M., Bacigalupo B., Dessanti P., Falco E., Fontana V., Gianquinto D. Detection of circulating tumor cells in breast cancer patients using human mammaglobin RT-PCR: association with clinical prognostic factors // *Anticancer research.* – 2010. – V. 30, N 6. – P. 2377–2382.
50. Mikhitarian K., Martin R., Ruppel M., Gilanders W., Hoda R., Schutte D., Calahan K. Detection of mammaglobin mRNA in peripheral blood is associated with high grade breast cancer: interim results of a prospective cohort study // *BMC cancer.* – 2008. – V. 8. – P. 55.
51. Hay ED. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta Anat (Basel)* 1995;154:8-20.