

Оценка динамики циркулирующих опухолевых клеток в процессе неoadъювантной химиотерапии у больных с местно-распространенным раком молочной железы

Ю.Н.Ненахова[✉], В.К.Лядов, И.В.Поддубная

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

125993, Россия, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

[✉]lyullikalya@mail.ru

Актуальность. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) – биологический маркер нового поколения, позволяющий получить дополнительную информацию о биологических особенностях и прогнозе заболевания. Возможность применения ЦОК для ранней оценки эффективности лекарственного лечения рака молочной железы (РМЖ), в том числе неoadъювантной химиотерапии, является важным, но недостаточно изученным вопросом.

Цель – изучить динамику ЦОК в процессе предоперационной химиотерапии у больных РМЖ.

Материалы и методы. Работа проводилась на базе кафедры онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО. В период с 2015 по 2016 г. в исследовании были включены 59 женщин старше 18 лет с верифицированным РМЖ II и III стадии заболевания, которым было показано проведение предоперационного лекарственного лечения. ЦОК выделяли до начала лечения, после 2 курсов химиотерапии (для оценки раннего ответа опухоли) и перед оперативным лечением (по завершении лекарственного компонента терапии). Степень лекарственного патоморфоза оценивали по методу Лавниковой. Для выделения ЦОК использовали методику изоляции клеток по размеру (isolation by size of tumor cells – ISET), основанную на вакуумной фильтрации гемолизированной крови через мембрану с калиброванными порами размером 8 мкм. Наличие ЦОК устанавливали цитологическим способом.

Результаты. ЦОК исходно были обнаружены у 22 (37%) женщин, в том числе у 6 (10%) пациенток они сохранялись на всех этапах лечения. ЦОК исходно не были выявлены у 37 (63%) женщин, однако у 19 (32%) из них они появились в процессе лечения. При статистическом анализе было установлено, что ЦОК чаще выявляли при размере опухолевого узла более 2,5 см и при III клинической стадии заболевания. Также было отмечена тенденция к более частому выявлению ЦОК у пациенток, у которых в последующем была отмечена высокая степень (3–4-я) лекарственного патоморфоза. Прогрессирование заболевания отмечено у 3 пациенток, однако ЦОК исходно были выявлены лишь у одной из них.

Выводы. ЦОК – прогностический и предиктивный онкомаркер нового поколения, изучение значимости которого в оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии при РМЖ является перспективным направлением.

Ключевые слова: рак молочной железы, неoadъювантное лекарственное лечение, циркулирующие опухолевые клетки, изоляция клеток по размеру.

Для цитирования: Ненахова Ю.Н., Лядов В.К., Поддубная И.В. Оценка динамики циркулирующих опухолевых клеток в процессе неoadъювантной химиотерапии у больных с местно-распространенным раком молочной железы. Современная Онкология. 2017; 19 (3): 64–68.

Original article

Dynamics of circulating tumor cells during neoadjuvant chemotherapy in patients with locally-advanced breast cancer

Yu.N.Nenakhova[✉], V.K.Lyadov, I.V.Poddubnaya

Russian Medical Academy of Continuing Postgraduate Education of the Ministry of Health of the Russian Federation. 125993, Russian Federation, Moscow, ul. Barrikadnaia, d. 2/1

[✉]lyullikalya@mail.ru

Abstract

Relevance. Circulating tumor cells (CTC) are a biological marker of new generation, which provides additional information on the biological features and prognosis of the disease. The possibility of using CTC for early evaluation of the effectiveness of drug treatment of breast cancer (BC), including neoadjuvant chemotherapy, is an important but insufficiently studied issue.

Goal – to study the dynamics of CTCs in the process of preoperative chemotherapy in patients with locally-advanced BC.

Materials and methods. Between 2015 and 2016 59 women over the age of 18 with verified BC and signed informed consent were included in the study. Patients with stage II and III were included. CTCs were evaluated in the blood before the start of treatment, after 2 courses of chemotherapy and before surgical treatment. To detect CTCs we used the ISET (Isolation by Size of Tumor cells) technique, based on vacuum cell filtration through a membrane with a given pore size of 8 mcm.

Results. In 22 (37%) women CTCs were detected before treatment, including 6 (10%) patients with CTCs found on every stage of treatment. Among 37 (63%) patients without baseline CTCs 19 (32%) developed them in the process of chemotherapy. Baseline CTCs correlated with tumor size more than 25 mm and stage III disease. Also a tendency to increased CTC prevalence in patients with poor pathological response to chemotherapy was revealed.

Conclusions. CTCs represent a novel biomarker. Yet, methodology needs to be standardized and more structured studies are badly needed to reveal their true biological relevance.

Key words: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, circulating tumor cells, isolation by size of tumor cells.

For citation: Nenakhova Yu.N., Lyadov V.K., Poddubnaya I.V. Dynamics of circulating tumor cells during neoadjuvant chemotherapy in patients with locally-advanced breast cancer. Journal of Modern Oncology. 2017; 19 (3): 64–68.

Введение

Одно из первых систематических исследований циркулирующих в периферической крови онкологических больных опухолевых клеток (циркулирующих опухолевых клеток – ЦОК) было проведено J.Pool и соавт. в 1934 г. [1]. Авторы исследования выявили клетки, похожие по форме на клетки первичной опухоли, в крови 17 из 40 обследованных пациентов с распространенными формами рака. Однако до конца XX в. не было разработано технологий, позволяющих с достаточной точностью выделять из кровотока и анализировать свойства ЦОК. В последние годы в результате произошедшего технологического скачка проведен целый ряд исследований, посвященных методологии выделения ЦОК и их клиническому значению при разных формах злокачественных опухолей.

Показано, что ЦОК представляют собой гетерогенную популяцию: это эпителиальные, мезенхимальные и стволовые опухолевые клетки, клетки с гибридным эпителиально-мезенхимальным фенотипом, а также опухолевые микроэмболы [2]. Известно, что ЦОК в большинстве случаев несколько больше по размеру, чем обычные форменные элементы крови [3], и, кроме того, экспрессируют на своей поверхности различные молекулы, которые могут быть маркерами для выделения клеток. Эти особенности положены в основу разнообразных фильтрационных и иммуномагнитных методов изоляции ЦОК.

В 2004 г. M.Cristofanilli и соавт. провели основополагающее исследование ЦОК у больных раком молочной железы (РМЖ) с использованием иммуномагнитной методики выделения ЦОК CellSearch и показали, что циркулирующие эпителиальные клетки, обнаруженные с помощью CellSearch, практически не встречались у здоровых женщин и у пациенток с доброкачественными заболеваниями молочной железы. Был также установлен пороговый уровень ЦОК в крови, имеющий прогностическое значение при диссеминированном РМЖ. Больные диссеминированным РМЖ с количеством ЦОК <5 на 7,5 мл крови имели большую общую продолжительность жизни (18 и 10,1 мес) и более длительный безрецидивный интервал (7,0 и 2,7 мес) по сравнению с больными, у которых число ЦОК было больше [4]. В настоящее время считается, что наличие клеток опухоли в периферической крови больных РМЖ не зависит от возраста, менструальной функции, стадии, гистологического типа опухоли, уровня экспрессии рецепторов прогестерона, c-erbB2, p53 и Ki67, однако является фактором неблагоприятного прогноза [5]. Наличие ЦОК является прогностическим маркером раннего рецидива, а их содержание в крови может меняться в зависимости от эффективности проводимой лекарственной терапии. Нами с помощью фильтрационной технологии изоляции клеток по размеру (isolation by size of tumor cells – ISET) изучена динамика ЦОК, выделенных из крови 59 пациенток с местно-распространенным РМЖ, получавших предоперационное лекарственное лечение.

Материалы и методы

В наше исследование были включены 59 женщин с гистологически верифицированным РМЖ и наличием показаний к проведению предоперационной химиотерапии на первом этапе лечения, подписавших информированное согласие для участия в исследовании.

Возраст больных на момент постановки диагноза варьировал в пределах от 30 до 81 года (медиана возраста 54 года). Пациентки получали предоперационное лечение, включавшее агенты антрациклинового (37/62,7%) и таксанового (14/23,7%) ряда или их комбинацию (8/13,6%). У 3 пациенток с HER2-позитивным РМЖ химиотерапия дополнялась включением trastuzumab в неoadъювантном режиме.

Для оценки эффективности лечения использовались стандартные (физикальный осмотр, маммография, ультра-

звуковое исследование молочных желез и регионарных зон) и дополнительные методы: магнитно-резонансная маммография молочных желез с контрастированием, магнитно-резонансная спектроскопия, магнитно-резонансная диффузия, определение ЦОК по методике ISET, определение циркулирующей опухолевой ДНК. Исследования ЦОК проводились в 3 этапа: до начала лечения, после 2 курсов химиотерапии (для оценки раннего ответа) и по окончании лечения. Ответ опухоли на лечение определялся в соответствии с критериями RECIST и сравнивался со степенью патоморфологического ответа по Лавниковой.

Для выделения ЦОК всем женщинам производился забор 10 мл венозной крови в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой, после чего в течение 30–60 мин кровь доставлялась в лабораторию. Далее в соответствии с методологией ISET (рис. 1, 2) кровь разводили буферным гемолитическим раствором, после чего с помощью отрицательного давления проводили фильтрацию через поликарбонатную мембрану с калиброванными порами диаметром 8 мкм.

После промывки и окраски полученной мембраны препараты анализируются цитологически, проводятся идентификация клеток и их подсчет (рис. 3).

В нашей работе были использованы следующие цитологические критерии злокачественности выявленных клеток (не менее 4 из 5) [6]: анизонуклеоз, размер ядра более 16 мкм, нерегулярность ядерного контура, наличие клеточных комплексов, высокое нуклеарно-цитоплазматическое отношение. При наличии меньшего числа критериев клетка признается атипичной.

Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью программы SPSSv22. Использовали методы описательной статистики, для определения различий между группами применяли непараметрические критерии Манна–Уитни и хи-квадрат. Для проверки характера распределения применяли одновыборочный критерий Колмогорова–Смирнова. Учитывая непараметрический характер распределения, определяли наличие корреляционной зависимости между динамикой ЦОК и наличием выраженного опухолевого патоморфоза с помощью χ -критерия Спирмена. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Полный патоморфологический ответ на лечение (4-я степень лечебного патоморфоза по шкале Лавниковой) был достигнут у 9 (15%) пациенток, из них 7 имели тройной негативный фенотип опухоли; у 14 (24%) пациенток отмечена 3-я степень лечебного патоморфоза. Отсутствие ответа опухоли на лечение (0–1-я степень по Лавниковой) наблюдалось у 6 (10%) женщин и коррелировало с данными клинического обследования в процессе лечения.

Оценка динамики ЦОК: клетки не определялись исходно у 37 (63%) пациенток, в том числе у 18 (31%) они отсутствовали в ходе всего исследования, а у 19 (32%) появились в процессе терапии. ЦОК определялись исходно у 22 (37%) пациенток, у 16 (27%) из которых они исчезли в процессе лечения и у 6 (10%) определялись на всех этапах работы. Наличие ЦОК до начала лечения, по нашим данным, не зависело от подтипа опухоли, наличия отека кожи, индекса пролиферации, а также возраста и менопаузального статуса женщины. Было отмечено, что исходно ЦОК чаще выявлялись у пациенток со стабилизацией заболевания или частичным регрессом опухоли в процессе химиотерапии (по данным клинического обследования) и слабым патоморфологическим ответом опухоли на лечение (0–2-я степень): 15 из 37 (41%) против 7 из 22 (32%), хотя статистически значимых различий по этому показателю отмечено не было.

Была установлена прямая корреляционная зависимость между исходным наличием ЦОК и максимальным размером опухолевого узла по данным ультразвукового исследования (пороговое значение – 2,5 см), а также клинической стадии

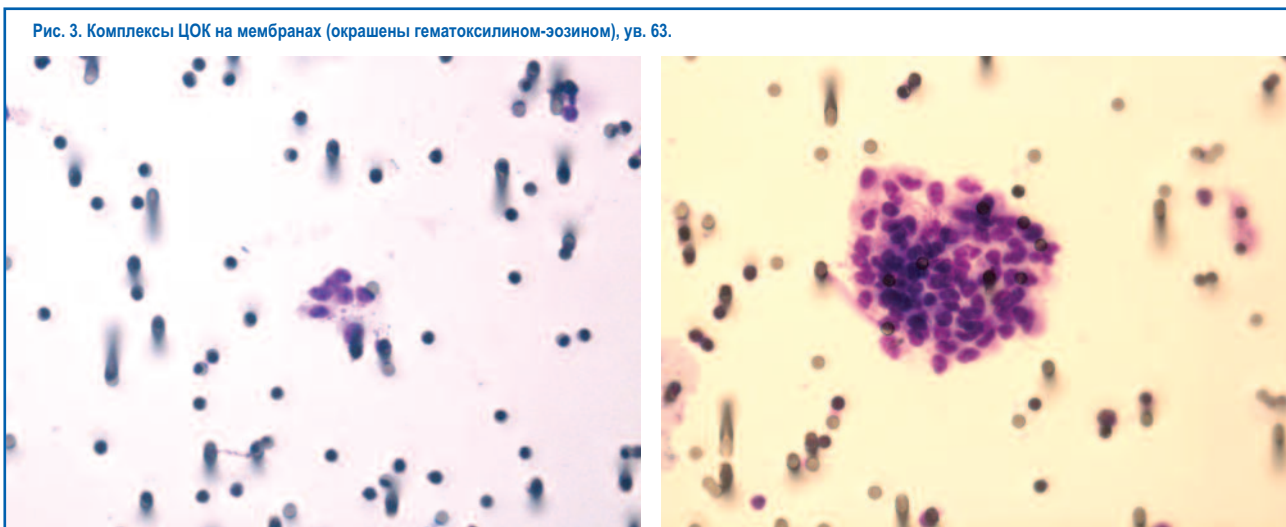
Рис. 1. Прибор для выделения клеток по методике ISET.



Рис. 2. Фильтрационный модуль.



Рис. 3. Комплексы ЦОК на мембранах (окрашены гематоксилином-эозином), ув. 63.



ей заболевания. Так, ЦОК были выявлены исходно у 15 из 29 пациенток с III стадией рака и лишь у 7 из 30 больных со II стадией заболевания ($p < 0,05$).

При анализе распределения больных по группам в зависимости от степени лечебного патоморфоза по шкале Лавниковой наблюдалась более частая элиминация клеток в процессе лечения у больных с более агрессивными подтипами РМЖ – тройным негативным и люминальным В-Her2-отрицательным (42% случаев исчезновения ЦОК в процессе неoadъювантной полихимиотерапии), что коррелировало с большей частотой полных регрессов по данным клинического обследования.

Проведен анализ корреляции между биологическими особенностями опухоли (экспрессия рецепторов эстрогенов, прогестерона, Her2, индекс Ki-67), динамикой ЦОК и патоморфологическим ответом. У пациенток с экспрессией Her2-рецептора независимо от степени экспрессии выявлена сильная корреляционная зависимость (коэффициент корреляции Спирмена более 0,79) между исчезновением ЦОК после 2 первых циклов и 3–4-й степенью патоморфологического ответа.

Медиана наблюдения в данной когорте пациенток составила 18,5 мес. Прогрессирование отмечено у 3 пациенток (у всех – 2-я степень лекарственного патоморфоза), исходно ЦОК выявлялись у одной из них.

Обсуждение

На сегодняшний день общепринятым является представление о том, что ЦОК – ведущий компонент метастатического каскада [7]. Установлено, что для осуществления процесса метастазирования опухолевые клетки последовательно претерпевают эпителиально-мезенхимальный переход,

приобретая в кровотоке мезенхимальные признаки, и затем обратную трансформацию для «укоренения» в метастатической нише [2]. Феномен эпителиально-мезенхимального перехода повышает необходимость выявления в кровотоке ЦОК с различными, в том числе мезенхимальными, маркерами. Кроме того, речь идет о выявлении единичных опухолевых клеток в среде, насчитывающей миллиарды обычных клеток крови [8]. Все это делает проблему обнаружения ЦОК чрезвычайно сложной с методологической точки зрения.

Одним из подходов, позволяющих подойти к решению трудной задачи выделения ЦОК, является фильтрационная технология. Известно, что по сравнению с клетками крови большинство ЦОК имеют больший размер (более 8 мкм, средний размер – 16 мкм). Это позволяет изолировать ЦОК, пропуская с помощью вакуума обработанную гемолитическим буферным раствором кровь через специальную мембрану с калиброванными порами размером 8 мкм – так называемая технология ISET [9, 10]. Методика показала высокую чувствительность, превосходящую показатели иммуноманнитной методики CellSearch, при изучении образцов крови пациентов с раком легкого, простаты, РМЖ [11–13]. С помощью данной технологии возможно изолировать большинство содержащихся в образце крови ЦОК и выполнить иммуно-молекулярную характеристику, включая определение экспрессии мезенхимальных маркеров (вimentина), а также провести анализ мутаций в генах EGFR, KRAS, ALK и HER2 [14].

Важнейшим достоинством этой методики, с нашей точки зрения, является то, что факт наличия ЦОК устанавливает врач-цитолог, а дальнейшие иммуноцитохимические и молекулярно-генетические исследования являются важными, но не обязательными элементами исследования. В то же время такой подход неизбежно снижает специфичность ме-

тогда, потенциально приводя к появлению ложноположительных результатов. Эта проблема не была решена в нашем исследовании: мы не можем исключить, что на мембранах могла содержаться примесь эпителиальных или эндотелиальных клеток неопухолевого происхождения.

В связи с большим разнообразием методов детекции ЦОК клинические работы, посвященные их изучению, практически невозможно систематизировать и обобщить. Тем не менее необходимо отметить, что число исследований, посвященных клиническому значению ЦОК при РМЖ, велико. Так, по данным V.Mikulová и соавт. [15], у больных ранним РМЖ ЦОК определялись в 31% случаев, у 7% этих больных ЦОК сохранялись после адьювантной терапии. Не выявлено корреляции между ЦОК и размером опухоли, гистологическим типом и рецепторным статусом.

Y.Lu и соавт. провели метаанализ выполненных исследований, включавших 642 пациентки с тройным негативным РМЖ, и сделали вывод о неблагоприятной прогностической роли детекции ЦОК в данной группе пациенток [16]. По данным P.Pinzanì и соавт., использовавших методику ISET, у больных с I–IV стадией РМЖ ЦОК в периферическом кровотоке определялись в 27%. Наличие клеток подтверждали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Чувствительность и специфичность метода, по результатам авторов, сравнима с результатами полимеразной цепной реакции в реальном времени [17].

J.Gafforio и соавт. также показали неблагоприятное влияние ЦОК на продолжительность жизни пациенток с РМЖ, получавших химиотерапию. Кроме того, ими было установлено наличие корреляции между наличием ЦОК, экспрессией рецепторов к эстрогенам и статусом регионарных лимфатических узлов [18].

Рядом исследователей было установлено, что содержание ЦОК в периферической крови изменяется в зависимости от эффективности проводимой химио- или гормонотерапии. Так, по данным B.Smith и соавт. [19], ЦОК в периферической крови определялись более чем у 1/2 больных распространенным РМЖ, а их количество изменялось в зависимости от эффективности проводимой химио- или гормонотерапии (были изучены схемы CMF, FEC, таксотер, тамоксифен, анастрозол). Обнаружение ЦОК после химиотерапии коррелировало с уменьшением безрецидивной выживаемости и служило независимым фактором неблагоприятного прогноза [20].

Интересны исследования по определению ЦОК в крови больных операбельным РМЖ в процессе неoadьювантной химиотерапии. Наиболее крупные из них: GEPARQUINTO, GeparQuattro, REMAGUS02, Gunma Hospital, BEVERLY01, NEOAVA, NEOZOTAC, NEOALLTO [21]. Например, в исследовании GeparQuattro получены данные, свидетельствующие о том, что современные схемы химиотерапии не могут обеспечить полную элиминацию ЦОК у больных операбельным раком. Было продемонстрировано, что частота определения ЦОК после проведения неoadьювантной химиотерапии снижается с 22 до 11%. Также отмечено уменьшение количества клеток в 7,5 мл крови на фоне проводимой химиотерапии [22]. Другие авторы отмечают, что наиболее значимую прогностическую роль играет выявление ЦОК до проведения неoadьювантной химиотерапии [23]. В то же время пока не удается выявить корреляцию между динамикой ЦОК в процессе неoadьювантной химиотерапии и степенью патоморфологического ответа [21].

Нам удалось выявить ЦОК у 37% пациенток с РМЖ II–III стадии, что соответствует данным большинства исследователей. Лишь у 6 из этих 22 пациенток ЦОК сохранялись в кровотоке, несмотря на проводимую терапию. В то же время у 19 из 37 пациенток без ЦОК до начала лечения они были выявлены позднее в процессе терапии. Одним из интересных результатов нашей работы представляется выявленная статистически значимая корреляционная зависимость между исчезновением ЦОК после 2 первых циклов химиотерапии и последующим хорошим клиническим и патоморфологическим ответом на нее у пациенток с экспрессией Her2-рецептора. Мы считаем, что в этой области необходимы дальнейшие исследования, которые позволят судить о клинической целесообразности, например, модификации терапии в данной группе пациенток при сохранении ЦОК в процессе лечения.

Безусловно, иммуноцитохимическая и молекулярно-генетическая характеристика ЦОК, выявленных с помощью технологии ISET, имеет важное значение для определения биологического и прогностического значения обнаруженных клеток. Мы планируем проведение этих исследований в дальнейшей работе. В целом мы полагаем, что оценка динамики ЦОК в процессе лекарственного лечения пациенток РМЖ является перспективным направлением и требует дальнейшего изучения, в том числе в контексте раннего прогнозирования ответа на предоперационную терапию у пациенток с местно-распространенными формами заболевания.

Литература/References

- Moore GE, Sandberg A, Schubarg JR. Clinical and experimental observations of the occurrence and fate of tumor cells in the blood stream. *Ann Surg* 1957; 146: 580–7.
- Ковалев АА, Грудинская ТА, Кузнецова ТП и др. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток. *Онкология*. 2012; 14 (2): 126–9. / Kovalev AA, Grudinskaya TA, Kuznetsova TP, et al. Geterogenost' tsirkuliruiushchikh opukholevykh kletok. *Onkologiya*. 2012; 14 (2): 126–9. [in Russian]
- Vona G, Sabile A, Louba M et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol* 2000; 156 (1): 57–63
- Cristofanilli M, Budd G, Ellis M et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast. *Cancer Semin Oncol* 2006; 33: 9–14.
- Ненахова ЮН, Лядов ВК, Поддубная ИВ. Циркулирующие опухолевые клетки: биология, методы выделения, клиническое значение при раке молочной железы. *Современная Онкология*. 2016; 18 (3): 76–82. / Nenakova Yu.N., Lyadov V.K., Poddubnaya I.V. Circulating tumor cell: biology, methods of isolation, clinical significance in breast cancer. *Journal of Modern Oncology*. 2016; 18 (3): 76–82. [in Russian]
- Febm T, Solomayer EF, Meng S. et al. Methods for isolating circulating epithelial cells and criteria for their classification as carcinoma cells. *Cytotherapy* 2005; 7 (2): 171–85.
- Пучинская МВ. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии. *Арх. патологии*. 2015; 1: 75–83. / Puchinskaya M.V. Epitelial'no-mezenkhimal'nyi perekhod v norme i patologii. *Arkh. patologii*. 2015; 1: 75–83. [in Russian]
- Febm T, Solomayer EF, Meng S. Methods for isolating circulating epithelial cells and criteria for their classification as carcinoma cells. *Cytotherapy* 2005; 7 (2): 171–85.
- Лядов ВК, Скряпкинова МА, Попова О.П. Выделение циркулирующих в крови опухолевых клеток методом «изоляции по размеру (ISET)» (обзор). *Вопр. онкологии*. 2014; 60 (5): 548–52. / Liadov V.K., Skrypnikova MA, Popova O.P. Vydelenie tsirkuliruiushchikh v krvi opukholevykh kletok metodom «izoliatsii po razmeru (ISET)» (obzor). *Vopr. onkologii*. 2014; 60 (5): 548–52. [in Russian]
- Paterlini-BrOchot P. Circulating tumor cells: who is the killer? *Cancer Microenvironment* 2014; 7 (3): 161–76.
- Krebs MG, Hou JM, Sloane R et al. Analysis of circulating tumor cells in patients with non-small cell lung cancer using epithelial marker-dependent and – independent approaches. *J Thorac Oncol* 2012; 7 (2): 306–15.
- Farace F, Massard C, Vimond N et al. A direct comparison of Cell Search and ISET for circulating tumour-cell detection in patients with metastatic carcinomas. *Br J Cancer* 2011; 105 (6): 847–53.
- Kallergi G, Politaki E, Alkabani S. Cell Physiol Biochem. Evaluation of Isolation Methods for Circulating Tumor Cells (CTCs). *Cell Physiol Biochem* 2016; 40 (3–4): 411–9.
- Исмаилова Г, Laget S, Paterlini-Bréchet P. Диагностика циркулирующих опухолевых клеток с помощью технологии ISET и их молекулярная характеристика для жидкостной биопсии. *Clin*

- Med Kazakhstan. 2015; 1 (35): 15–20. / Ismailova G., Laget S., Paterlini-Bréchol P. Diagnostika tsirkuliruiushchikh opukholevykh kletok s pomoshch'yu tekhnologii ISET i ikh molekuliarnaya kharakteristika dlia zhidkostnoi biopsii. Clin Med Kazakhstan. 2015; 1 (35): 15–20. [in Russian]*
15. Mikulová V, Cabiňáková M, Janatková I. Detection of circulating tumor cells during follow-up of patients with early breast cancer: Clinical utility for monitoring of therapy efficacy. *Scand J Clin Lab Invest* 2014; 74 (2): 132–42.
 16. Lu YJ, Wang P, Wang X. The significant prognostic value of circulating tumor cells in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget* 2016; 7 (24): 37361–9.
 17. Pinzani P, Salvadori B, Simi L et al. Isolation by size of epithelial tumor cells in peripheral blood of patients with breast cancer: correlation with real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction results and feasibility of molecular analysis by laser microdissection. *Hum Pathol* 2006; 37 (6): 711–8.
 18. Gafforio JJ, Serrano MJ, 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.
 19. Smith BM, Slade MJ, English J et al. Response of circulating tumor cells to systemic therapy in patients with metastatic breast cancer: comparison of quantitative polymerase chain reaction and immunocytochemical techniques. *J Clin Oncol* 2000; 7: 1432–9.
 20. Apostolaki S, Perraki M, Pallis A et al. Circulating HER2 mRNA-positive cells in the peripheral blood of patients with stage I and II breast cancer after the administration of adjuvant chemotherapy: evaluation of their clinical relevance. *Ann Oncol* 2007; 18 (5): 851–8.
 21. Bidard FC, Proudbona C, Pierga J. Circulating tumor cells in breast cancer. *Mol Oncol* 2016; 10: 418–30.
 22. Rietdorf S, Muller V, Zhang L et al. Detection and Her2 Expression of Circulating Tumor Cells: Prospective Monitoring of Breast Cancer Patient Treated in the Neoadjuvant GeparQuattro Trial. *Clin Cancer Res* 2010; 16 (9): 79–93.
 23. Bidard FC, Mattiot C, Delaloge S et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2010; 4 (2): 729–33.

Сведения об авторах

Ненахова Юлия Николаевна – аспирант каф. онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: lyullikalya@mail.ru

Лядов Владимир Константинович – канд. мед. наук, доц. каф. онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО

Поддубная Ирина Владимировна – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО