

С.П. Осинский
Д.Ф. Глузман

Институт экспериментальной
патологии, онкологии
и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев, Украина

ДИССЕМИНИРОВАННЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ (МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПРОГНОЗ В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ)

Ключевые слова:

диссеминированные опухолевые клетки, микрометастазы, методы определения, периферическая кровь, костный мозг, прогноз, индивидуализация лечения.

Резюме. Конечный результат лечения больных онкологического профиля остается неудовлетворительным. Несмотря на прогресс в хирургической технике и адъювантной системной терапии, отмечают высокую смертность, обусловленную ранним метастазированием, которое часто имеет место уже при первичном диагнозе, но не обнаруживается традиционными методами. Ранняя гематогенная диссеминация опухолевых клеток часто ответственна за плохой прогноз после радикальной резекции солидных опухолей. Выявление скрытых диссеминированных опухолевых клеток (ДОК) — один из важнейших подходов для раннего выявления метастазов и улучшения результатов лечения. С помощью высокочувствительных молекулярно-биологических и иммуноцитохимических методов с применением моноклональных антител в периферической крови и костном мозге больных онкологического профиля, у которых традиционными методами диагностирована категория М0, опухолевые клетки выявляют в 28,3 и 33,1% случаев соответственно. Чувствительность иммуноцитохимического (ИЦХ) и ОТ-ПЦР-методов соответствуют идентификации одной опухолевой клетки среди 10^5 – 10^7 ядросодержащих кровяных клеток. Продемонстрировано прогностическое значение ДОК для ряда злокачественных опухолей. Показано наличие проблем, требующих разрешения, в частности оптимизация и стандартизация методов ИЦХ и ОТ-ПЦР для чувствительного и специфического поиска опухолевых клеток, а также оценка клинического значения ДОК для диагностики и прогноза.

Смертность от злокачественных опухолей продолжает оставаться на высоком уровне практически во всех странах мира, причем для ряда локализаций эти показатели возрастают, что является одной из серьезнейших проблем медицинской науки и практического здравоохранения. Хирургия по праву считается основным методом лечения большинства больных онкологического профиля. Концепция оперативного вмешательства базируется на мнении о том, что рак — локальная болезнь, о чем еще в 1963 г. писал проф. К.Н. Вауег (руководивший в те годы хирургическим отделом Университета г. Гейдельберга и основавший Немецкий центр раковых исследований) в книге «The Cancer Problem»: «Первичный рак — почти всегда болезнь локальная, поэтому хирургическая резекция, в принципе, — наилучший рациональный вид лечения» (цит. по [1]). Целью хирургической операции является радикальное удаление опухоли. О хирургическом радикализме проф. К.Н. Вауег писал: «С точки зрения хирурга операция по поводу рака может быть названа радикальной лишь в том случае, если даже единичные раковые клетки удалены из организма».

Известно, что очень часто ко времени выполнения хирургической операции у больного имеются диссеминированные опухолевые клетки (ДОК),

которые хотя и не являются обязательной причиной развития метастатической болезни (МБ) из-за быстрого разрушения большинства из них, но могут со временем привести к образованию метастазов. Поэтому удаление (теоретически) всех опухолевых клеток (ОК) в идеале продолжает оставаться основной, но пока еще недостижимой целью лечения больного онкологического профиля.

Хирургический радикализм и конечный результат радикального оперативного вмешательства предложено рассматривать с учетом наличия ДОК в организме больного онкологического профиля (табл. 1) [1]. Сделанное авторами обобщение позволяет заключить, что ДОК являются одной из серьезных проблем онкологии. Их выявление может помочь эффективно видоизменить и приспособить всю стратегию лечения для каждого конкретного пациента.

Таблица 1
Радикальность хирургического вмешательства
и степень диссеминации ОК [1]

Радикальность операции	Диссеминация ОК	
	Гематогенная/перитонеальная	лимфогенная
+	–	–
(+)	–	+
–	+	–
–	+	+

Следует заметить, что резекция первичной опухоли (ПОп) при видимом отсутствии метастазов, несмотря на то, что она является частью стандартного лечения больных, может привести к усилению роста микрометастазов (ММ) вследствие элиминации ингибиторов ангиогенеза или других факторов — супрессоров опухолевого роста, продуцируемых ПОп. Необходимо также учитывать способность самого оперативного вмешательства стимулировать гематогенное распространение ОК, что показано у больных с различными типами опухолей [2–4].

Клиническое значение ММ при ряде форм опухолей еще не определено, но наличие ДОК в целом ассоциируется с плохим прогнозом. Метастатические клетки могут оставаться дремлющими неопределенное время и приобретать способность к пролиферации после различного по продолжительности периода покоя благодаря факторам, природа которых пока полностью не раскрыта. Аджьювантная химиотерапия (ХТ), назначаемая с целью элиминации ММ, часто неэффективна относительно подавления их роста. Клетки ММ резистентны в силу того, что нередко они не являются активно пролиферирующими или же защищены благодаря взаимодействию с факторами микроокружения (МО) в очаге метастазирования. Учитывая сказанное выше, *можно с определенностью говорить о том, что проблема микрометастазов является одной из важнейших в современной онкологии. Разрешение ее, несомненно, будет способствовать существенному повышению эффективности противоопухолевой терапии.*

В настоящее время индивидуальный прогноз у больных онкологического профиля основывается на использовании клинических или патогистологических критериев в соответствии с рекомендациями Международного противоракового союза (система TNM). Это позволяет подразделить больных на прогностические группы, для каждой из которых выбирают ту или иную стратегию терапии, которую постоянно оптимизируют. Однако точность определения клинической стадии заболевания лимитирована. Современное диагностическое оборудование, даже такое как магнитный резонанс-имиджинг и компьютерная томография, позволяют установить наличие опухолевого узла диаметром ≥ 3 –5 мм, что соответствует наличию примерно 10^8 раковых клеток [5]. Это приводит к тому, что в клинической практике определение малых скоплений раковых клеток или метастатических узелков все еще невозможно. Поэтому минимальные по размеру опухолевые узлы не могут быть учтены при отборе больных с высоким риском рецидивирования или метастазирования, которые нуждаются в дальнейшей системной терапии. Во многих работах показано, что раковые клетки остаются после оперативного вмешательства на границе участка резекции, в регионарных лимфатических узлах (ЛУ), в периферической крови (ПК) и костном мозге (КМ), создавая тем самым значительный риск для больных относитель-

но развития метастатической болезни. Известно, что метастазирование — комплексный процесс и только очень малый процент циркулирующих ОК (около 0,05%) выживают и инициируют развитие метастазов [6]. Содержание подобных ОК может значительно варьировать в зависимости от генотипа индивидуальных ДОК, что и определяет во многом их дальнейшую судьбу.

Неудачи радикальной операции могут быть, таким образом, вызваны пред- или послеоперационной диссеминацией ОК. Метастазы рака могут развиваться очень рано, когда в еще совсем маленьких по размеру опухолях начинают образовываться новые, «негерметичные», дефектные кровеносные сосуды, по которым ОК попадают в циркуляцию и затем в различные органы, где образуют микроскопические метастазы. Для обозначения таких клеток, которые не выявляют с помощью обычных методов светооптической микроскопии, J.P. Sloane и соавторы [7] предложили применять термин «микрометастазы». Скрытые или циркулирующие ОК, названные ММ, были включены в классификацию TNM и обозначены как M1(i).

Несмотря на то что этот термин используют весьма широко, существуют предложения относительно его коррекции и даже исключения из обихода [8]. Относительно этого заслуживают внимания рекомендации Р. Негманек и соавторов [9], предлагающих отличать одиночные ОК от ММ (табл. 2). Авторы считают, что ММ — это образования из ОК, диаметр которых не превышает 0,2 см. ДОК, не формирующие таких скоплений, рекомендуют называть одиночными (изолированными) ОК, а их скопления — малыми кластерами. Одиночные ОК не контактируют со стенками сосудов или лимфатических синусов и не пенетрируют их. При наличии одиночных ОК не выявляют внесосудистую (внесинусную) реакцию элементов стромы. ММ образуются тогда, когда происходит имплантация ОК в том или ином органе или ткани с их последующей пролиферацией, что часто сопровождается соответствующей реакцией стромальных элементов.

Таблица 2
Сравнительная характеристика изолированных ОК и ММ [9]

Изученные параметры	Изолированные (диссеминированные или циркулирующие) ОК	ММ (скрытые метастазы)
Размер очага поражения	Одиночные ОК или малые кластеры	< 0,2 см в диаметре
Контакт со стенками сосудов или синусов ЛУ	Отсутствует	Имеется
Экстравазация (инвазия и пенетрация стенки сосудов или лимфатических синусов)	Отсутствует	Имеется
Экстравакулярная (экстрасинусная) стромальная реакция	Отсутствует	Обычно имеется
Экстравакулярная (экстрасинусная) пролиферация клеток	Отсутствует	Имеется

Предложено также относить изолированные диссеминированные или циркулирующие ОК к категории так называемой минимальной остаточной (рези-

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

дуальной) болезни (МОБ). МОБ в настоящее время рассматривают как сложный комплекс клинических признаков, ответственных за развитие рецидивов и метастазов, очень часто нераспознаваемых и оказывающих доминирующее влияние на течение заболевания [9–12]. ДОК могли бы стать мишенью при адъювантной терапии для минимизации возникновения рецидивов и улучшенного прогноза. Определение изолированных клеток еще не стало частью рутинного определения стадии заболевания, больных не лечат с учетом факторов индивидуального риска. Во внимание принимают лишь статистически полученные прогностические параметры, такие как размер первичной опухоли, наличие локальных инфильтратов и поражение ЛУ. Выявление ДОК жизненно необходимо, так как при этом могут быть выделены больные с высоким риском развития рецидивов, к лечению которых должны быть применены соответствующие подходы. В дополнение к оценке прогностического значения МОБ и потенциального значения адъювантной терапии могут быть определены следующие цели исследований в этой области [10]: 1) мониторинг процесса и выработка стратегии адъювантной терапии; 2) изучение биологии опухолей (характеристика изолированных ОК), исследование важности интраоперативной диссеминации ОК и выяснение роли их гематогенного и лимфогенного распространения.

В процессе метастазирования клетки выходят из первичной опухоли во вновь образованные кровеносные сосуды со скоростью несколько тысяч клеток в день [13]. Они могут оказаться в любом месте, выбор которого определяется многими факторами, такими как анатомия венозной сети, дренирующей орган, действие хемокинов, особенности экспрессии белков на клеточной мембране эндотелиальных клеток сосудов, характерной для органа или ткани, к которым тот или иной тип ОК имеет сродство. Хотя в количественном плане выход клеток из первичной опухоли является довольно значительным, частота их выживания и скорость пролиферации в очаге метастазирования в новом «чуждом» тканевом МО крайне низкая [14]. Показано также, что клетки первичной опухоли могут обладать способностью к метастазированию благодаря некоторым генам, которые определяют реализацию метастатического потенциала данной опухоли. Нужно учитывать также влияние МО первичной опухоли на ее метастатический потенциал [15, 16].

В очаге потенциального метастазирования осевшие раковые клетки могут погибнуть, перейти в состояние «дремлющих» или начать пролиферировать [17, 18]. Большинство ОК погибает, а из числа «дремлющих» часть клеток приобретает способность к пролиферации позднее, после того как произойдут изменения в неизвестных еще механизмах, ранее оказывавших ингибирующее действие на пролиферативную активность клеток. Высказано предположение, что изначально перед образованием

новых кровеносных сосудов клетки, которые выживают в метастатическом МО, могут оставаться в состоянии покоя благодаря сигналам, которые они получают при взаимодействии с компонентами МО или от циркулирующих факторов. Другие сигнальные механизмы, которые представлены в «дремлющих» клетках, опосредованы «отрицательной» регуляцией рецептора активатора плазминогена урокиназы (uPAR) и активацией MAP-киназы p38, а также ряда так называемых генов-супрессоров метастазов, в том числе *IL-11*, *NM23*, *MKK4*, *BRMS1*, *KiSS1*, *KAI1*, *RHOGLD2*, *CRSP3* и *VDUP1*. Некоторые потенциальные механизмы подавления роста дремлющих клеток опосредованы факторами, которые продуцируются ПОп. Они ингибируют пролиферацию ОК или тормозят ангиогенез, необходимый для роста опухоли. При удалении источников этих факторов или при ингибировании функции клеток из-за стресса, возникающего при хирургическом вмешательстве, резекция первичной опухоли в ряде случаев может индуцировать пролиферацию и рост метастазов [3].

Следует еще раз отметить, что одной из важнейших проблем онкологии, от решения которой зависит выбор адекватного лечения больного и положительный исход заболевания, является проблема выявления метастазов до их клинического проявления. Применяющиеся в настоящее время диагностические методы и приемы, даже с учетом самых современных технологий, не дают возможности выявить одиночные ОК, циркулирующие в кровеносном русле или осевшие в КМ. В последние два десятилетия было отмечено увеличение количества исследований, в которых описана новая более чувствительная техника определения изолированных ОК. Получило распространение применение специфических МкАТ для окрашивания или препаративного выявления этих клеток с помощью клеточных сортеров типа FACScan, а также иммуномагнитная разделительная (сепаративная) техника. Достижения молекулярной биологии сделали возможным распознавание отдельных ОК в биологических образцах, в частности в ПК. Эти так называемые «циркулирующие» ОК могут быть выявлены в крови с помощью чрезвычайно чувствительного метода, который базируется на обратнo-транскриптной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Недавно апробирована методика для идентификации биомаркеров, основанная на определении компонентов нуклеиновых кислот. Различные способы применения ПЦР для амплификации геномной ДНК или кДНК позволяют определить 1–10 раковых клеток среди 10^8 нормальных ядросодержащих клеток крови. Результаты исследований, в которых были предприняты попытки идентифицировать ОК в ПК с помощью современных молекулярных методов [19–29], представлены в табл. 3.

Таблица 3
ОК в ПК больных онкологического профиля (стадия М0) [19–29]

Локализация и тип опухоли	Частота выявления ОК, %*
Рак поджелудочной железы	39,6 (33,3–50)
Рак желудка	26,0 (15,8–40)
Рак прямой кишки	14,9 (5,8–26,7)
Рак печени	27,0
Рак молочной железы	25,4 (7,5–38)
Рак шейки матки	25,0
Рак предстательной железы	14,6 (2,4–32)
Рак легкого (мелкоклеточный)	34,5 (31–38)
Рак легкого (немелкоклеточный)	33,0 (22–44)
Назофарингеальный рак	33,0
Рак мочевого пузыря	37,9

* В табл. 3, 4 в скобках приведены колебания показателя по данным разных авторов.

Известно, что ОК можно выявлять в КМ больных онкологического профиля. Этот факт нельзя считать неожиданным, так как хорошее кровоснабжение КМ, развитая сеть синусов и капилляров, насыщенность клеточными элементами, особенности МО являются оптимальными условиями для оседания ОК в КМ и последующего развития метастазов. При применении иммуноцитохимических методов с использованием МкАТ ОК были идентифицированы [19, 30–39] в КМ больных с различными формами злокачественных новообразований (табл. 4). В последнее время установлено, что наличие цитокератин-положительных клеток в КМ больных раком молочной железы (РМЖ) является независимым критерием прогноза течения заболевания у отдельных больных.

Таблица 4
ОК в КМ онкологических больных (стадия М0) [19, 30–39]

Локализация и тип опухоли	Частота выявления ОК, %
Рак поджелудочной железы	40,6 (12,5–4,3)
Рак желудка	47,2 (12,9–93)
Рак прямой кишки	40,7 (19–67)
Рак молочной железы	32,2 (20–55)
Рак шейки матки	26–29
Рак яичника	20,0
Рак предстательной железы	32,0 (18–56)
Мелкоклеточный рак легкого	26–50
Немелкоклеточный рак легкого	21,9
Нейробластома	28–34

Возникновение местных рецидивов или развитие отдаленных метастазов у многих больных с солидными опухолями через непродолжительный период времени после курабельной резекции можно объяснить тем, что у таких больных к моменту выполнения операции имелись изолированные ДОК или ММ, которые не были определены традиционными диагностическими методами. С целью уничтожения ДОК и недопущения развития рецидивов заболевания назначают послеоперационную терапию, применение которой в настоящее время базируется на стратификации больных онкологического профиля согласно классификации TNM, не всегда реально отражающей степень распространения и истинное состояние опухолевого процесса. Факторы риска, влияющие на выбор тактики лечения и прогноз течения заболевания у отдельных больных, который мог бы позволить индивидуализировать терапию, пока еще адекватно не оценивают [1]. Учитывая, что развитие рецидивов и метастазов опухоли в большинстве случаев связано с

ДОК, становится понятной важность выявления циркулирующих ОК. Несомненно определение молекулярного профиля ПОп или ДОК будет способствовать установлению более точного прогноза и индивидуализации терапии [1]. J. Weitz и Ch. Herfarth [1] предложили интересный подход к реализации идеи индивидуальной терапии больного онкологического профиля, который основывается на особенностях типов ДОК (табл. 5).

Таблица 5
Предложения по индивидуализации лечения в зависимости от типа ДОК [1]

ДОК в крови/КМ	Адьювантная терапия
–	–
–	–/(+)
+	+
+	+

В историческом плане важно отметить, что исследования по выявлению ОК в ПК были начаты в нашем Институте по инициативе академика Р.Е. Кавецкого в 1962 г. Подобные же работы выполнялись в Ленинградском НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ СССР. Диагностикой метастазов рака в КМ и кости скелета занимались директор Киевского рентгено-радиологического и онкологического института проф. И.Т. Шевченко и профессор-гематолог Г.А. Даштаянц [40]. В работе Д.Ф. Глузмана, опубликованной в 1975 г., были представлены результаты выявления раковых клеток в КМ с помощью энзимо-цитохимических методов [41].

Следует также заметить, что несмотря на подтвержденное прогностическое значение выявления изолированных раковых клеток в КМ или крови, роль их биологических характеристик в развитии рецидивов и метастазов все еще остается невыясненной [42]. Индивидуальные характеристики ОК соотносятся с их принадлежностью к первичному очагу и с местом развития метастазов. Это может быть причиной того, что ДОК не обязательно проявляют свой метастатический потенциал с образованием клинически определяемых метастазов сразу же после попадания в тот или иной орган. Они могут оставаться «дремлющими» в течение длительного времени. Одним из доказательств подобного состояния осевших в КМ ОК является выявление развития отдаленных метастазов через 10 и более лет после удаления первичной опухоли [43].

Таким образом, установление клинического значения ММ — один из важных аспектов проблемы. Но уже сегодня можно говорить о том, что наличие ДОК в крови или КМ в большинстве случаев определяет неблагоприятный прогноз [18]. Однако подобное мнение не является окончательным, так как большинство одиночных метастатических клеток-эмболов не дают начала развитию истинных метастазов. Остается неясной природа взаимоотношений этих изолированных ОК с другими факторами, определяющими процессы рецидивирования или метастазирования. Еще один важный аспект — реакция ММ на адьювантную ХТ и использование их вы-

явления для оценки эффекта последней [18]. Послеоперационную ХТ весьма широко применяют для предупреждения рецидивирования и метастазирования, но даже у больных, которым была назначена агрессивная ХТ, сложно ожидать полного выздоровления из-за наличия ММ и ДОК. Это объясняется тем, что ММ резистентны к ХТ, что было убедительно показано при изучении КМ больных РМЖ [44] и в эксперименте [45]. Примечательно, что назначение более высоких доз цитостатических препаратов не приводило к улучшению результатов терапии [46]. Клетки ММ резистентны к ХТ по ряду причин, прежде всего из-за того, что они не относятся к активно пролиферирующим. Можно также предположить, что некоторые протоколы адъювантной терапии незначительно улучшают выживаемость из-за пролонгирования ХТ состояния «дремоты» покоящихся или медленно растущих клеток [18]. ММ устойчивы к действию ряда химиопрепаратов также из-за экспрессии различных генов, отвечающих за резистентность к лекарственным препаратам, и взаимодействия с клеточными и внеклеточными факторами МО в месте формирования метастазов [3].

Анализ результатов исследований по выявлению ММ солидных опухолей показал, что медиана частоты обнаружения клеток эпителиальной природы в КМ у различных категорий больных составляет 35%. Положительная корреляция между наличием в КМ ДОК и уменьшением продолжительности безрецидивной выживаемости показана в большинстве работ. Связь с короткой бессимптомной выживаемостью была установлена менее чем в половине исследований. Ряд авторов подтвердил прогностическое значение выявления скрытых метастатических клеток для прогнозирования безрецидивной и общей выживаемости у больных РМЖ и злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта. В то же время другие исследователи не смогли этого установить [47].

Следует отметить заметно возросший в последнее время интерес ученых и клиницистов к МОБ у больных с солидными опухолями. Ранее этой проблемой интенсивно занимались гематологи при оценке полноты ремиссии при острых лейкозах. Основными вопросами при этом являются методология выявления ДОК, определение частоты их наличия в КМ или крови у больных с клинически недокументированными метастазами и возможное влияние этих клеток на течение заболевания и прогноз. С клинической точки зрения важно также установить, исследование каких тканей и органов (КМ, ПК, ЛУ, экссудатов из перитонеальной и плевральной полости, спинномозговой жидкости) в каждом конкретном случае поможет получить результаты, имеющие прогностическую значимость.

КМ, как полагают, наиболее важен в качестве индикаторного органа для определения ДОК. Пункция КМ не связана с какими-либо техническими трудностями, достаточно легко выполнима и не ассоции-

руется с серьезными осложнениями. ОК, оседающие в КМ, становятся источником метастазов, развивающихся впоследствии в костной ткани. Особенно часто подобные отдаленные метастазы развиваются при раке легкого, молочной железы, предстательной железы, гипернефроидном раке [47]. Преимущества исследования ПК обусловлены тем, что пробы крови могут быть получены чрезвычайно просто и повторены многократно. Исследование ЛУ представляет несомненный интерес, так как оценку степени поражения ЛУ осуществляют в соответствии с известными классификациями факторов риска. Вместе с тем резекцию ЛУ проводят одновременно с первичной опухолью, вследствие чего они, в отличие от КМ и ПК, не могут быть использованы для контроля при проведении терапии.

Примечательными являются решения 22-го Международного симпозиума по раку молочной железы, проходившего в декабре 1999 года в Сан-Антонио (США). Проанализировав результаты исследований, участники симпозиума пришли к заключению, что *идентификацию клеток ММ в КМ больных с различными формами новообразований можно рассматривать в качестве нового поколения методов скрининга и мониторинга злокачественных опухолей*. Было также заострено внимание на проблеме методологического обеспечения работ по выявлению ДОК в КМ, включая более детальную их характеристику с применением дополнительных методов, в частности иммунохимических и молекулярно-генетических (FISH). Необходимо получение информации и о жизнеспособности и пролиферативной активности ОК, так как они могут вовлекаться и в апоптотический процесс [48, 49].

Интерес к подобного рода работам резко возрос после сообщения онкологов из Мюнхенского университета [50], которое может быть названо поворотным пунктом в проблеме контроля эффективности лечения и прогноза течения заболевания. Известно, что у больных РМЖ основным в выборе методов терапии и оценке прогноза является размер первичной опухоли и результаты исследования ЛУ на наличие метастазов. Однако было установлено, что у 20–30% больных, у которых ОК в ЛУ не выявляли, в течение последующих 10 лет возникали рецидивы заболевания, тогда как у 40% пациентов с ОК в ЛУ рецидивов в течение этого периода не диагностировано. Результаты исследования КМ, проведенного у 552 больных РМЖ, показали, что у 36% в КМ выявили ОК. Из этой группы больных 25% умерли в течение нескольких лет после оперативного вмешательства. Прогностическое значение выявления изолированных ОК в КМ больных РМЖ ко времени установления первичного диагноза подтверждено во многих исследованиях. Примечательно сообщение W. Janni и соавторов [51], показавших, что наличие изолированных ОК после проведенной послеоперационной терапии можно рассматривать в качестве фактора риска развития рецидивов и считать по-

казанием для назначения вторичной адъювантной терапии. Многофакторный регрессионный анализ с моделью Соx, включавший результаты исследования КМ, размер опухоли, статус ЛУ, данные гистопатологического анализа, показали, что ДОК являются независимым существенным фактором прогноза уменьшенной бессимптомной выживаемости и общей выживаемости больных.

Приведенные выше данные позволяют заключить, что в ПК и КМ больных онкологического профиля, у которых традиционными методами диагностируют категорию М0 с помощью высокочувствительных молекулярно-биологических и иммуноцитохимических методов с применением МкАТ ОК выявляют в 28 и 33% случаев соответственно. Выявление цитокератин-положительных клеток в крови, и особенно в КМ указывает на повышенную способность клеток ПОп к диссеминации и риск раннего метастазирования в различные органы. Широко применяемая в настоящее время методика определения стадии опухолевого процесса с помощью системы TNM имеет высокую прогностическую ценность, но не позволяет предсказать конечный результат лечения у каждого отдельно взятого больного. Подтверждением может служить то обстоятельство, что несмотря на радикальное удаление ПОп, почти половина больных раком желудка, оцененных как операбельные в стадии I–II, умирают от рецидивов или метастазов. Это связано, возможно, с наличием скрытых метастазов во время выполнения оперативного вмешательства [52].

У больных онкологического профиля, у которых традиционными методами диагностируют категорию М0, необходимо проведение исследований по выявлению ОК в ПК и/или в КМ с целью уточнения стадии заболевания, формирования групп риска по раннему метастазированию и назначению оптимальных схем лечения. Такие исследования могут стать оценочными и для прогнозирования течения заболевания, определяющими выбор наиболее эффективных в каждом конкретном случае методов терапии и ранней оценки ее эффективности. Для решения вопроса о значении и месте методики выявления ОК в крови и КМ больных онкологического профиля в системе диагностики необходимы широкие клинические исследования на основе оптимизации и стандартизации методических подходов, применения унифицированных протоколов.

ЛИТЕРАТУРА

- Weitz J, Herfarth Ch. Surgical strategies and minimal residual disease detection. *Semin Surg Oncol* 2001; **20**: 329–33.
- Baum M. Does surgery disseminate or accelerate cancer? *Lancet* 1996; **347**: 260.
- Coffey JC, Wang JH, Smith MJF, et al. Excisional surgery for cancer sure: therapy at a cost. *Lancet Oncology* 2003; **4**: 760–8.
- Baum M, Demicheli R, Hrushesky W, Retsky M. Does surgery unfavourably perturb the natural history of early breast cancer by accelerating the appearance of distant metastases? *Eur J Cancer* 2005; **41**: 508–15.
- Robinson PJ. Imaging liver metastases: current limitations and future prospects. *Br J Radiol* 2000; **73**: 234–41.
- Hermanek P. Disseminated tumor cells versus micrometastasis: definitions and problems. *Anticancer Res* 1999; **19**: 2771–4.
- Sloane JP, Ormerod MG, Neville AM. Potential pathological application of immunocytochemical methods to the detection of micrometastases. *Cancer Res* 1980; **40**: 3079–82.
- Muller P, Schlimok G. Bone marrow «micrometastases» of epithelial tumors: detection and clinical relevance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; **126**: 607–18.
- Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind Ch. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999; **86**: 2668–73.
- Dwenger A, Lindemann A, Mertelsmann R. Minimal residual disease: detection, clinical relevance and treatment strategies. *J Hematother* 1996; **5**: 537–48.
- Kienle P, Koch M. Minimal residual disease in gastrointestinal cancer. *Semin Surg Oncol* 2001; **20**: 282–93.
- Klein CA, Blankenstein T, Schmidt-Kittler O, et al. Genetic heterogeneity of single disseminated tumor cells in minimal residual cancer. *Lancet* 2002; **360**: 683–9.
- Wyckoff JB, Jones JG, Condeelis JS, Segal JE. A critical step in metastasis; in vivo analysis of intravasation at the primary tumor. *Cancer Res* 2000; **60**: 2504–11.
- Cameron MD, Schmidt EE, Kerkvliet N, et al. Temporal progression of metastasis in lung: cell survival, dormancy, and location dependence of metastatic inefficiency. *Cancer Res* 2000; **60**: 2541–6.
- Kang Y, Siegel PM, Shu W, et al. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 2003; **3**: 537–49.
- Bogenrieder T, Herlyn M. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* 2003; **22**: 6524–36.
- Larmonier N, Ghiringhelli F, Larmonier CB, et al. Freshly isolated bone marrow cells induced death of various carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 2003; **107**: 747–56.
- Wieder R. Insurgent micrometastases: sleeper cells and harboring the enemy. *J Surg Oncol* 2005; **89**: 207–10.
- Soeth E, Vogel I, Roeder Ch, et al. Comparative analysis of bone marrow and venous blood isolates from gastrointestinal cancer patients for the detection of disseminated tumor cells using reverse transcription PCR. *Cancer Res* 1997; **57**: 3106–10.
- Chausovsky G, Luchansky M, Figer A, et al. Expression of cytokeratin 20 in the blood of patients with disseminated carcinoma of the pancreas, colon, stomach, and lung. *Cancer* 1999; **86**: 2398–405.
- Bilchik A, Miyashiro M, Kelley M, et al. Molecular detection of metastatic pancreatic carcinoma cells using a multimer reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *Cancer* 2000; **88**: 1037–44.
- Lacroix J, Becker HD, Woerner SM, et al. Sensitive detection of rare cancer cells in sputum and peripheral blood samples of patients with lung cancer by preprogrp-specific RT-PCR. *Int J Cancer* 2001; **92**: 1–8.
- Mou D-C, Cai S-L, Peng J-R, et al. Evaluation of MAGE-1 and MAGE-3 as tumor-specific markers to detect blood dissemination of hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 2002; **86**: 110–6.
- Scheungraber C, Mueller B, Koehler Ch, et al. Detection of disseminated tumor cells in patients with cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; **128**: 329–35.
- Lin J-C, Chen KY, Wang W-Y, et al. Evaluation of cytokeratin-19 mRNA as a tumor marker in the peripheral blood of nasopharyngeal carcinoma patients receiving concurrent chemoradiotherapy. *Int J Cancer* 2002; **97**: 548–53.
- Lukyanchuk VV, Friess H, Kleeff J, et al. Detection of circulating tumor cells by cytokeratin 20 and prostate stem cell antigen RT-PCR in blood of patients with gastrointestinal cancers. *Anticancer Res* 2003; **23**: 2711–6.
- Piarga JY, Bonneton C, Vincent-Salomon A, et al. Clinical significance of immunocytochemical detection of tumor cells using digital microscopy in peripheral blood and bone marrow of breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004; **10**: 1392–400.

28. Kinjo M, Okegawa T, Horie S, Snutahara K, Higashihara E. Detection of circulating MUC7-positive cells by reverse transcription-polymerase chain reaction in bladder cancer patients. *Int J Urol* 2004; **11**: 38–43.

29. Ady N, Morat L, Fizazi K, et al. Detection of HER-2/neu-positive circulating epithelial cells in prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2004; **90**: 443–8.

30. Trillet V, Revel D, Combaret V, et al. Bone marrow metastases in small cell lung cancer: detection with magnetic resonance imaging and magnetic antibodies. *Br J Cancer* 1989; **60**: 83–8.

31. Pantel K, Izbicki JR, Angstwurm M, et al. Immunocytochemical detection of bone marrow micrometastasis in operable non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993; **53**: 1027–31.

32. Jauch K-W, Heiss MM, Gruetzner U, et al. Prognostic significance of bone marrow micrometastases in patients with gastric cancer. *J Clin Oncol* 1996; **14**: 1810–7.

33. Roder J, Thorban S, Pantel K, Siewert JR. Micrometastases in bone marrow: prognostic indicators for pancreatic cancer. *World J Surg* 1999; **23**: 888–91.

34. Osinsky SP, Osinsky DS, Gluzman DF, et al. Immunocytochemical (ICC) detection of pancreatic carcinoma cells in bone marrow (pilot-study). Abstr. of the 25th ESMO Congress, *Ann Oncol* 2000; **11** (Suppl. 4): 70 p.

35. Braun S, Schindlbeck Ch, Hepp F, et al. Occult tumor cells in bone marrow of patients with locoregionally restricted ovarian cancer predict early distant metastatic relapse. *J Clin Oncol* 2001; **19**: 368–75.

36. Pantel K, Mueller V, Auer M, et al. Detection and clinical implications of early systemic tumor cell dissemination in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 6326–34.

37. Janni W, Hepp F, Strobl B, et al. Patterns of disease recurrence influenced by hematogenous tumor cell dissemination in patients with cervical carcinoma of the uterus. *Cancer* 2003; **97**: 405–11.

38. Lilleby W, Nesland JM, Fossa SD, et al. The prognostic impact of cytokeratin-positive cells in bone marrow of patients with localized prostate cancer. *Int J Cancer* 2003; **103**: 91–6.

39. Burchill SA. Micrometastases in neuroblastoma: are they clinically important? *J Clin Pathol* 2004; **57**: 14–20.

40. Шевченко ИТ, Даштгайни ГА. Метастатические опухоли костей. К: Здоров'я, 1967. 203 с.

41. Глузман ДФ. Цитохимия кроветворных клеток и вопросы ранней и дифференциальной диагностики различных форм лейкозов и метастазов рака в костный мозг и лимфатические узлы. В кн.: «Механизмы лейкозогенеза», К, 1975: 185–218.

42. Horsch SB, Braun S, Pantel K. Characterization of disseminated tumor cells. *Semin Surg Oncol* 2001; **20**: 265–71.

43. Overgaard M, Hansen PS, Overgaard J, et al. Postoperative radiotherapy in high-risk premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 1997; **337**: 949–55.

44. Braun S, Kantenich C, Janni W, et al. Lack of an effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high risk breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2000; **18**: 80–6.

45. Naumov GN, Towson JL, MacDonald IC, et al. Ineffectiveness of doxorubicin treatment on solitary dormant mammary carcinoma cells or late-developing metastases. *Breast Cancer Res Treat* 2003; **82**: 199–206.

46. Hortobagay G. What is the role of high-dose chemotherapy in the era of targeted therapies? *J Clin Oncol* 2004; **22**: 2263–6.

47. Braun S, Rosenberg R, Thorban S, Harbeck N. Implications of occult metastatic cells for systemic cancer treatment in patients with breast or gastrointestinal cancer. *Semin Surg Oncol* 2001; **20**: 334–46.

48. Pierga J-Y, Bonneton C, Magdelenat H, et al. Clinical significance of proliferative potential of occult metastatic cells in bone marrow of patients with breast cancer. *Br J Cancer* 2003; **89**: 539–45.

49. Ambros PF, Mehes G, Ambros IM, Ladenstein R. Disseminated tumor cells in the bone marrow – chances and consequences of microscopical detection methods. *Cancer Lett* 2003; **197**: 29–34.

50. Braun S, Pantel K, Muller P, et al. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer. *N Engl J Med* 2000; **342**: 525–33.

51. Janni W, Rack B, Schindlbeck Ch, et al. The persistence of isolated tumor cells in bone marrow from patients with breast carcinoma predicts an increased risk for recurrence. *Cancer* 2005; **103**: 884–91.

52. Kell MR, Winter DC, O'Sullivan GC, et al. Biological behaviour and clinical implications of micrometastases. *Br J Surg* 2000; **87**: 1629–39.

DISSEMINATED TUMOR CELLS IN BLOOD AND BONE MARROW (MOLECULAR PROGNOSIS IN CLINICAL ONCOLOGY)

S.P. Osinsky, D.F. Gluzman

Summary. *The overall therapy outcome of malignant tumors remains unsatisfactory. Despite progress in surgical treatment and adjuvant systemic therapy, mortality is increasingly linked to early metastases, which is often occult at the time of the primary diagnosis. Early hematogenous dissemination of cancer cells is frequently responsible for the poor prognosis after radical resection of solid tumors. Detection of occult disseminated tumor cells (DTC) is crucial to improve early diagnosis of metastases as well as therapy outcome. Recent advances in molecular biological techniques have made it possible to identify individual cancer cells in biological specimens and, in particular, in peripheral blood (PB) and bone marrow (BM). DTC have been detected using the highly sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) technique and immunocytochemical (ICH) methods with monoclonal antibodies. The identification of DTC is based on the detection of expression of biomarkers that are specific for the tumor cells. Cancer cells have been detected in PB and BM of patients staged by conventional diagnostic technique as M_0 in 28,3% and 33,1% cases, respectively. The sensitivity of detection with ICH and RT-PCR methods amounts to about one cancer cell in 10^6 - 10^7 mononuclear cells. The prognostic relevance of disseminated cancer cells (DTC) has been demonstrated for some malignant tumors. Some problems remain: the optimization and standardization of ICH and RT-PCR technology for the sensitive and specific recognition of cancer cells and the estimation of the clinical value of cancer cell detection in PB, BM and other biological specimens for diagnosis of early metastases and prognosis of clinical outcome.*

Key Words: disseminated tumor cells, micrometastases, detection techniques, peripheral blood, bone, marrow, prognosis, individual approach to treatment.

Адрес для переписки:

Осинский С.П.

03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии

им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

E-mail: osion@onconet.kiev.ua