

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ И ДИССЕМИНИРОВАННЫЕ РАКОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Н. Н. Тупицын

ФГБУ РОНЦ имени Н.Н. Блохина РАМН

Фундаментальные открытия последних лет в области циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) — феномен «повторного самообсеменения первичной опухоли», а также открытие роли молекулы VCAM-1 в развитии костных метастазов из диссеминированных раковых клеток (ДОК), прошедших период «спячки», дают ключ к обоснованию неблагоприятной прогностической роли ЦОК и ДОК при опухолях женской репродуктивной системы. Наличие циркулирующих раковых клеток — фактор неблагоприятного прогноза как при ранних, так и при диссеминированных раках.

Исследования диссеминированных опухолевых клеток костного мозга важны как для дальнейшего понимания роли костного мозга в патогенезе гематогенного метастазирования, так и с точки зрения оценки прогноза у больных раком яичников. Для подобных исследований рекомендовано проводить забор не более 0,5 мл костного мозга, чтобы исключить разбавление образца периферической кровью. На сегодняшний день отсутствуют эффективные лечебные подходы для эрадикации минимального рака (циркулирующих и диссеминированных опухолевых клеток).

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, диссеминированные опухолевые клетки, рак молочной железы, рак яичников, костный мозг.

CIRCULATING AND DISSEMINATED TUMOR CELLS IN BREAST CANCER AND OVARIAN CANCER

Tupitsyn N.N.

Federal Budgetary Institute «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»
of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Study of circulating and disseminated tumor cells (CTC, DTC) gave us new knowledge in fundamental carcinogenesis. These basic data (tumor re-seeding, role of VCAM in bone metastasis) give some explanation for adverse prognostic role of CTC and DTC in breast and ovarian cancers. Investigation of bone marrow disseminated tumor cells is very useful in breast and ovarian cancers. It is recommended to aspirate not more than 0,5 ml of bone marrow to exclude peripheral blood admixture. There are no efficient methods of disseminated and circulating tumor cell eradication yet.

Key words: circulating tumor cells, disseminated tumor cells, breast cancer, ovarian cancer, bone marrow.

Опухолевые клетки могут поступать в кровь и оседать в различных органах, в первую очередь, в костном мозге даже на самых ранних стадиях развития рака. Эти клетки называются *циркулирующими опухолевыми клетками* (ЦОК), если обнаруживаются в крови больных, или *диссеминированными опухолевыми клетками* (ДОК), если обнаруживаются в органах, в первую очередь в костном мозге. ЦОК и ДОК обнаруживаются в ничтожных количествах — 10^{-6} – 10^{-8} среди лейкоцитов или миелокариоцитов.

Обнаружение ЦОК и ДОК у больных раком молочной железы или яичников свидетельствует о гематогенной диссеминации опухоли. Наличие

этих клеток — фактор неблагоприятного прогноза, так как именно они дают рост гематогенных метастазов спустя годы и десятилетия после радикальной операции.

Диссеминированные опухолевые клетки расположены в костном мозге, как правило, разрозненно, поодиночке, как показано на рис. 1 на примере рака яичников.

Спустя годы или даже десятилетия диссеминированные или циркулирующие опухолевые клетки могут дать картину развернутого метастаза в различных органах. Пример очагового поражения костного мозга представлен на рис. 2 (А, Б, В).

Два наиболее важных фундаментальных достижения в биологии рака сделаны при исследовании циркулирующих опухолевых клеток. Первое открытие сделано Kim M.-Y. и соавторами из США (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, N-Y) [1], группа J. Massague. Авторы установили факт повторного обсеменения (reseeding) первичной опухоли диссеминированными и циркулирующими раковыми клетками. Вторая ключевая находка — в открытии роли VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule, молекула адгезии сосудистых клеток) в развитии костных метастазов из покоящихся (dormant) диссеминированных опухолевых клеток [2].

Вопреки существующему представлению об однонаправленном процессе метастазирования от первичной опухоли к удаленным органам циркулирующие опухолевые клетки могут также колонизировать исходные первичные опухоли [1]. Этот процесс авторы назвали «опухолевым самообсеменением» (tumor self-seeding). Подобное явление продемонстрировано на голых мышах, несущих человеческие опухоли: рак молочной железы, толстой кишки и меланому. Метастазирующие клетки рака молочной железы человека, введенные в молочную железу мышей nude, колонизируют первичную опухоль в другой молочной железе.

Аналогичным образом первичную опухоль заселяют и метастатические клетки из легких. Пропорция клеток, пришедших в опухоль, достигает 30%. Метастазирующие клетки не накапливались в нормальной молочной железе и в молочной железе,

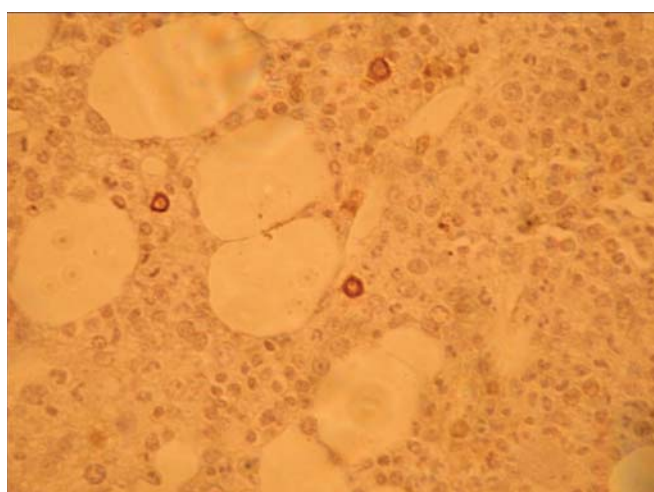


Рис. 1. Диссеминированные разрозненные опухолевые клетки в костном мозге у больной раком яичников. Иммуногистохимическая (иммунопереоксидазная) окраска срезов трепанобиоптата костного мозга. Увеличение × 400

в которую вводили неопухолевые клетки (контроль). Циркулирующие клетки, колонизировавшие первичную опухоль, приобретали новые свойства и больший метастатический потенциал. Это доказано при выделении этих клеток из опухоли с помощью клеточного сортировщика. Происходило более

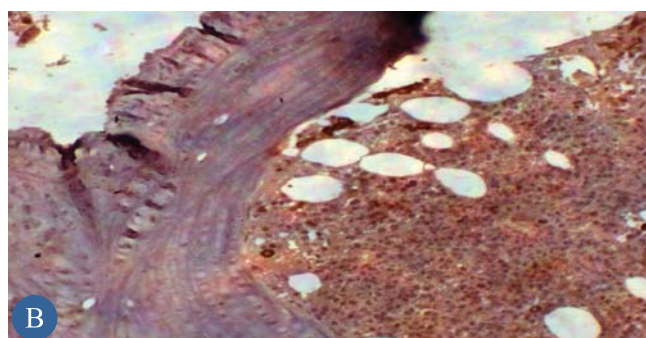
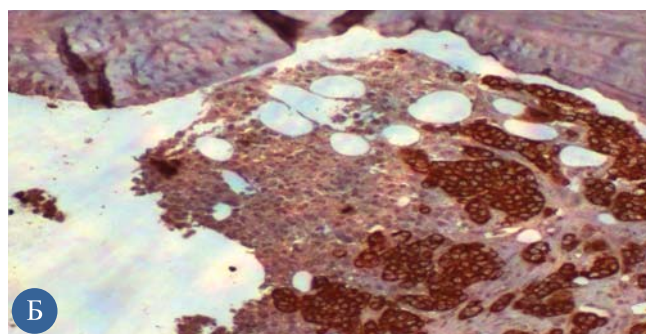
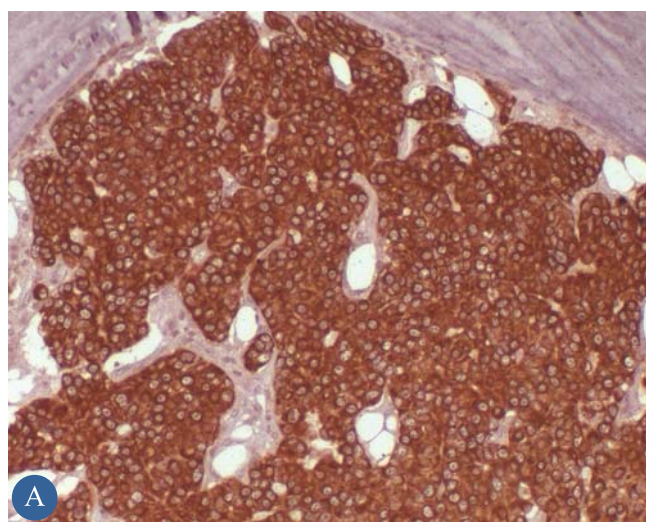


Рис. 2. Очаговое поражение костного мозга при раке молочной железы. А — тотальное замещение костного мозга опухолевыми клетками. Б — субтотальное замещение костного мозга. В — разрозненные опухолевые клетки. Все три среза сделаны из одного и того же столбика трепанобиоптата костного мозга одной больной. Иммуногистохимическое (иммунопереоксидазное) окрашивание. Увеличение × 400

быстрое заселение первичной опухоли, усиливалось метастазирование в легкие. И, наконец, метастатические клетки, прошедшие через опухоль, приобретали потенциал метастазирования без органной специфичности — отличались агрессивностью с тропизмом к костям, легким и головному мозгу, что подтверждено также на основании профилей генной экспрессии, характерных для широкого спектра метастазов.

Попадание метастатических клеток в первичную опухоль ускоряло ее рост. Ускорение было очень выраженным, и его невозможно объяснить ни пропорцией циркулирующих раковых клеток, поступивших в опухоль, ни их пролиферативным потенциалом. Играл роль комплекс факторов, в числе которых немаловажное значение придавалось привлечению стромы в опухоль и стимуляции ангиогенеза. Главным аттрактантом при раке молочной железы, привлекающим циркулирующие клетки в опухоль, является интерлейкин-6, продуцируемый первичной опухолью, а при меланоме — ИЛ-8. Блокада рецепторов интерлейкина 6 на уровне α -цепей (gp80) или общей трансдучерной молекулы gp130 в циркулирующих раковых клетках препятствовала их поступлению в опухоль [1].

Таким образом, представлены доказательства того, что колонизация опухолей циркулирующими раковыми клетками — широко распространенное явление при раке молочной железы, толстой кишки и меланоме. Колонизация первичной опухоли циркулирующими или диссеминированными опухолевыми клетками — новый и очень важный фактор опухолевой прогрессии:

- общее явление в канцерогенезе — циркулирующие клетки повторно инфильтрируют опухоль;
- не требуется адаптации циркулирующих клеток к микроокружению первичной опухоли;
- проникая в первичную опухоль, циркулирующие опухолевые клетки ускоряют ее рост;
- отбираются циркулирующие опухолевые клетки, способные к экстравазации и выживанию в крови;
- в ходе колонизации первичной опухоли происходит отбор наиболее агрессивных популяций циркулирующих опухолевых клеток, способных к метастазированию в различные органы;
- проникновение циркулирующих клеток в опухоль — это активный процесс, так как циркулирующие клетки воспринимают сигналы опухоли (ИЛ-6, ИЛ-8).

Эти фундаментальные данные, полученные в эксперименте, могут иметь очень важное клиническое значение при опухолях женской репродук-

тивной системы. В частности, при раке яичников циторедуктивные операции — распространенная клиническая практика. Существенное сокращение опухолевой массы в этих случаях может препятствовать селекции наиболее агрессивных ЦОК, способствующих как ускоренному росту первичной опухоли, так и образованию высокометастатических клонов циркулирующих опухолевых клеток.

Одно из самых загадочных явлений в канцерогенезе — пребывание циркулирующих опухолевых клеток в дремлющем состоянии, состоянии спячки в течение нескольких лет и десятилетий. Механизмы, управляющие пребыванием циркулирующих и диссеминированных раковых клеток в состоянии спячки, разнообразны. Существует клеточная спячка и спячка микрометастазов. В случае спящих микрометастазов важную роль играет баланс ангиогенных и антиангиогенных факторов. При наличии солитарных, разрозненных диссеминированных клеток ангиогенные стимулы роли не играют. А вот иммунная система, как предполагают, играет роль в поддержании в неактивном состоянии как разрозненных диссеминированных опухолевых клеток, так и микрометастазов [3].

В работе Lu X. и соавторов [2], установлены факторы, способные вывести диссеминированные раковые клетки из дремлющего состояния к активному росту костных метастазов. Суть работы заключается в том, что получены человеческие линии клеток рака молочной железы, которые прошли период дремлющего состояния (PD — post dormancy) и дали рост костным метастазам. Профиль генной экспрессии этих клеток был уникален, но лишь блокада экспрессии VCAM-1 на уровне РНК (нокдаун) или с помощью специфических антител предотвращала рост костных метастазов. Напротив, индукция VCAM-1 в неметастатических клетках PD-2R приводила к костному метастазированию [2].

Активация мембранной экспрессии и секреции VCAM задерживает в микрометастазах $\alpha 4\beta 1$ -позитивные предшественники остеокластов путем паракринного хемотаксиса и адгезии к опухолевым клеткам. Это ведет к локальному накоплению популяции предшественников остеокластов, их прикреплению к опухолевым клеткам и повышению активности зрелых остеокластов. Активированные остеокласты резорбируют кость и провоцируют порочный круг костного метастазирования [2].

Циркулирующие раковые клетки имеют сходство со стволовыми раковыми клетками [4] в том, что они значительно чаще экспрессируют маркеры

стволовых клеток (CD44+/CD24-/цитокератины+), чем первичная опухоль: 65% и менее 10% соответственно; способны к самоподдержанию и длительному нахождению в покоящемся состоянии, обладают пластичностью, т.е. способностью превращаться в мезенхимальные клетки (эпителиально-мезенхимальный транзит) и обратно. Немаловажное сходство также — резистентность к химиолучевой терапии [4].

Детальная характеристика циркулирующих опухолевых клеток свидетельствует о том, что они экспрессируют целый ряд маркеров (Twist1, Snail1, Zeb1, FOX C2, Slug, виментин, фибронектин, Act2), указывающих на приобретение эпителиальными раковыми клетками мезенхимальных свойств — эпителиально-мезенхимальный транзит. И наконец, пожалуй, самое важное — от 40 до 60% этих клеток утратили эпителиальные маркеры (EpCam, MUC-1, CK-19), в числе которых — пан-эпителиальные маркеры, традиционно используемые для обнаружения циркулирующих опухолевых клеток [5].

Изменения, присущие эпителиально-мезенхимальному транзиту, по-видимому, преходящие — они способствуют проникновению опухолевых клеток в кровеносное русло и затем выходу в ткани (костный мозг), где происходит обратное превращение — мезенхимально-эпителиальный транзит, и развивающиеся впоследствии микро- и макрометастазы происходят из клеток с признаками эпителиальных клеток [6].

Таким образом, кровь хотя и более доступный, но в то же время и более сложный с точки зрения интерпретации результатов объект исследования циркулирующих раковых клеток, чем костный мозг. Учитывая, что количество циркулирующих клеток очень мало, для их точного определения и наблюдения в динамике должны применяться надежные системы, характеризующиеся высокой воспроизводимостью. На сегодняшний день таких пригодных для клинического использования систем немного. Наиболее распространенная и принятая FDA — система CellSearch. В этом подходе автоматизировано иммуномагнитное обогащение циркулирующих или диссеминированных CD326+ клеток и система иммуноцитологической детекции, сочетающая в классическом варианте трехцветную флуоресцентную окраску: ядра клеток окрашиваются ядерным красителем DAPI, внутриклеточные цитокератины дают цитоплазматическое окрашивание эпителиальных клеток; отсутствие окрашивания на мембранный общелейкоцитарный антиген CD45 свидетельствует о негемо-

поэтической природе циркулирующих опухолевых клеток.

Именно этим методом получены наиболее доказательные клинические данные относительно прогностической роли циркулирующих опухолевых клеток с эпителиальными маркерами при распространенных стадиях рака молочной железы [7], колоректального рака [8], рака предстательной железы [9]. В работе Christophanilly [7] впервые установлен пороговый уровень циркулирующих опухолевых клеток крови, имеющий прогностическое значение при диссеминированном раке молочной железы. Наличие не менее пяти клеток в 7,5 мл крови характеризует группу неблагоприятного прогноза при раке молочной железы и раке предстательной железы [9]. Для диссеминированного рака толстой кишки этот уровень более низкий — три клетки [8], а для рака яичников — две клетки [10].

Важно не только исходное количество циркулирующих клеток, но и динамика этих клеток в процессе лечения. Снижение СТС при диссеминированном раке предстательной железы — более мощный фактор прогноза, чем снижение уровней простатоспецифического антигена в крови [9]. Подобные данные мы получили при диссеминированном раке молочной железы. При отсутствии снижения циркулирующих клеток в крови в процессе химиотерапии время до прогрессирования было достоверно более коротким, $p=0,0127$ [11].

Особое значение имеет изучение циркулирующих опухолевых клеток в крови на ранних стадиях рака. Поскольку количество этих клеток крайне низкое, особое внимание уделяется стандартизации методов определения и улучшения воспроизводимости получаемых результатов. Большинство имеющихся данных получено методом CellSearch. Частота и прогностическое значение обнаружения циркулирующих опухолевых клеток у больных с отсутствием отдаленных метастазов приведены в табл. 1.

Убедительные данные представлены Bidard F.-C. [12] у больных ранними стадиями рака молочной железы. В многофакторном анализе наличие циркулирующих опухолевых клеток (одной или более в 7,5 мл крови, метод CellSearch) было независимым фактором неблагоприятного прогноза ($p=0,01$ для выживаемости без отдаленных метастазов; $p=0,007$ — для общей выживаемости). Важно, что наиболее значимую прогностическую роль играло определение циркулирующих опухолевых клеток до неoadъювантной химиотерапии.

В исследовании GeparQuattro [13] определялось количество циркулирующих опухолевых клеток в крови больных операбельным раком молочной железы до и после неоадьювантной химиотерапии. Частота случаев с наличием циркулирующих опухолевых клеток после неоадьювантной химиотерапии снизилась с 22,2% до 10,6%. Снизилось также среднее количество клеток в 7,5 мл крови в среднем с 6,8 до 1,9. Вместе с тем, у 11 из 133 больных (8,3%), у которых до назначения химиотерапии циркулирующие клетки отсутствовали, после химиотерапии отмечено их появление. Эти данные свидетельствуют о том, что современные схемы неоадьювантной химиотерапии не способны обеспечить эрадикацию циркулирующих опухолевых клеток у больных операбельным раком молочной железы.

В докладе К. Pantel на 9-й Российской с международным участием конференции «Иммунология гемопоза» 8 июня 2012 г. приведены данные Rask et al. о прогностической роли наличия циркулирующих опухолевых клеток перед началом адьювантной химиотерапии у больных операбельным раком молочной железы (исследование SUCCESS), табл. 2.

Наличие более четырех циркулирующих опухолевых клеток в 7,5 мл крови — главный независимый фактор неблагоприятного прогноза у больных раком молочной железы высокого риска (N0 и N+) в условиях адьювантной химиотерапии. Даже сам факт наличия циркулирующих опухолевых клеток существенно ухудшает прогноз у этих больных.

Один из ключевых моментов при исследовании циркулирующих и диссеминированных опухоле-

вых клеток — оценка их жизнеспособности. Информативным методом, основанным на функциональных свойствах диссеминированных и циркулирующих опухолевых клеток — их способности секретировать специфические для опухоли белки, является метод Эписпот. Такой подход детально разработан Катрин Аликс-Панабьер во Франции. Циркулирующие клетки обогащаются методом негативной селекции, т.е. удаляются гемопоэтические клетки. В этом случае экспрессия EpCam, утрачиваемая при эпителиально-мезенхимальном транзите, не играет роли, так как в обогащенной фракции присутствуют как EpCam+, так и EpCam- клетки. Эти клетки помещаются на мембрану, к которой пришиты антитела к интересующим белкам. Через двое суток клетки удаляют, а секретированные белки проявляют флуоресцентно-мечеными антителами. Крупные флуоресцентные пятна соответствуют секретированным белкам.

Особенно важно то, что этим методом можно изучать потенциальные мишени для воздействия на циркулирующие клетки, как это показано на примере Her2/neu [14]. Эти работы С.Алих-Панабиерес в области циркулирующих и диссеминированных раковых клеток были удостоены самой большой награды Франции в области онкологии за 2012-й год — «le Prix Gallet et Breton».

Большое внимание уделяется не только исследованию циркулирующих в крови опухолевых клеток, но также и изучению диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге. Исследование костного мозга дает очень ценную информацию. В ранних работах, включая основополагающую статью Braun S. et al. [15], изучался большой объем

Таблица 1

Частота обнаружения и прогностическая значимость циркулирующих раковых клеток у больных раком молочной железы M0 (по К. Pantel et al., Nature Rev. Clin. Oncol., 2009; цитируется по докладу К. Pantel на 9-й Российской с международным участием конференции «Иммунология гемопоза», 8 июня 2012 г.)

Автор, год	Кол-во больных	Стадия	Частота	Прогностическое значение
Pierga 2008	118	T1-4	27%	DFS
Xenidis 2007	119	T1-2	18%	OS
Stathopoulou 2002	148	T1-2	30%	DFS, OS
Ignatiadis 2008	175	T1-3	8–41%	DFS, OS
Ignatiadis 2007	185	T1-3	18–34%	DFS, OS
Wiedswang 2006	341	T1-4	10	DFS
Ignatiadis 2007	444	T1-3	41%	DFS, OS

DFS — пятилетняя безрецидивная выживаемость. OS — общая выживаемость.

костного мозга (4-15 мл), что неизбежно приводит к разбавлению костного мозга периферической кровью. В работе Janni W. et al. 2011г [16] во многом сохраняется эта методическая погрешность. В таких случаях сказать точно, откуда происходят обнаруженные опухолевые клетки — из костного мозга или крови, невозможно. В лаборатории иммунологии гемопозза ФГБУ РОНЦ имени Н.Н. Блохина РАМН морфологическое и иммунологическое исследование костного мозга проводится из одной пробирки, причем объем костного мозга не должен превышать 0,5 мл (в этом случае разбавление кровью практически исключается).

Перед морфологическим или проточно-цитометрическим определением диссеминированных раковых клеток необходимо проводить их иммуномагнитное обогащение. При подобном подходе, дополненном иммуногистохимическим анализом, исследование костного мозга позволяет установить не только особенности клеточного состава костного мозга у больных с наличием диссеминированных опухолевых клеток, но и важно с точки зрения оценки прогноза больных раком яичников. Так, в работе К.И. Жордания [17, 18] обнаружение ДОК в кост-

ном мозге больных раком яичников ухудшало прогноз. При трехлетнем наблюдении показатели общей выживаемости при наличии ДОК были достоверно более низкими, $p=0,0189$.

Однозначного ответа на вопрос, как лечить минимальный остаточный рак, пока не существует. Наряду с системной полихимиотерапией или взамен ей необходимо разрабатывать методы селективного воздействия с учетом рецепторного статуса и иммунологических особенностей опухолевых клеток. Существует точка зрения, что системная полихимиотерапия способствует отбору устойчивых опухолевых клеток [4]. Возможно, некоторые новые патогенетические звенья процесса метастазирования могут быть мишенью терапевтического воздействия — среди них блокада активности интерлейкина-6 и препятствие взаимодействию VCAM-1 с рецептором $\alpha 4\beta 1$, тем более, что уже есть терапевтические антитела к ИЛ-6 и рецептору ИЛ-6. Именно вопросам эрадикации минимального рака будет посвящена 10 Юбилейная конференция «Иммунология гемопозза», которая пройдет в ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 6–7 июня 2013 г.

Таблица 2

Исследование SUCCESS: адъювантная химиотерапия (исследование III фазы) у больных раком молочной железы в группе высокого риска N0 и N+.

Многофакторный анализ для DFS при различных пороговых уровнях циркулирующих опухолевых клеток (Rack, Janni et al., unpublished; San Antonio Breast Cancer Symposium, Cancer Therapy and Research Center, Dec. 8–12, 2010). Данные приводятся по докладу К. Pantel на 9-й Российской с международным участием конференции «Иммунология гемопозза», 8 июня 2012 г.

Параметр	Количество циркулирующих опухолевых клеток в 7,5 мл крови		
	0 vs ≥ 1	0,1 vs ≥ 2	0–4 vs ≥ 5
ЦОК +/-	1,878*	2,825*	4,035*
Статус рецепторов гормонов +/-	2,073*	2,020*	3,273*
Метастазы в ЛУ +/-	1,698*	1,664*	1,574*
Степень злокачественности G1 vs G2–3	2,961*	3,182*	3,245
Размер опухоли T1 vs T2–4	1,629*	1,625*	2,575*

* $p < 0,05$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kim M.-Y., Oskarsson T., Acharyya S. et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. // Cell. 2009. V.139, № 7. P.1315–1326.
2. Lu X., Mu E., Wei Y. et al. VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging $\alpha 4\beta 1$ -positive osteoclast progenitors // Cancer Cell. 2011. V. 20. P. 701–714.
3. Aguirre-Ghiso J.A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. // Nat. Rev. Cancer. 2007. V. 7, № 11. P. 834–846.

4. *Shah M., Allergucci C.* Keeping an open mind: highlights and controversies of the breast cancer stem cell theory // *Breast cancer: targets and therapy.* 2012. V. 4. P. 155–166.
5. *Bednarz-Knoll N., Alix-Panabieres C., Pantel K.* Clinical relevance and biology of circulating tumor cells // *Breast Cancer Res.* 2011. V.13. P.228–238.
6. *Bednarz-Knoll N., Alix-Panabieres C., Pantel K.* Plasticity of disseminating cancer cells in patients with epithelial malignancies // *Cancer Metastasis Rev.* 2012. V. 3–4. P. 673–687.
7. *Christophanilly M., Budd G.T., Ellis M.J. et al.* Circulating Tumor Cells, Disease Progression, and Survival in Metastatic Breast Cancer. // *N.Engl.J.Med.* 2004. V. 351. P. 781–791.
8. *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. V.26. P.3213–3221.
9. *De Bono J.S., Scher H.I., Montgomery R.B. et al.* Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. // *Clin. Cancer Research.* 2008. V. 14, № 19. P. 6302–6309.
10. *Poveda K., Kaye S.B., McCormac R. et al.* Circulating tumor cells predict progression-free survival in patients with relapsed/recurrent advanced ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* 2011. V. 122, № 3. P. 567–572.
11. *Bzhadug O.B., Tjuliandin S.A., Gritsova L.Yu., Moldenhauer G., Brochier J., Tupitsyn N.N.* The prognostic value of circulating tumor cells in blood of patients with advanced breast cancer // *Haematopoiesis Immunology.* 2007. V.4., № 2. P. 73–101.
12. *Bidard F.-C., Maitot C., Delaloge S. et al.* Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer // *Annals of oncology.* 2010. V. 21. P. 729–733.
13. *Riethdorf S., Muller V., Zhang L. et al.* Detection and HER2 Expression of Circulating Tumor Cells: Prospective Monitoring in Breast Cancer Patients Treated in the Neoadjuvant GeparQuattro Trial // *Clin Cancer Res.* 2010. V. 16, № 9. P. 2634–2645.
14. *Alix-Panabieres C., Pantel K.* Detection and characterization of disseminating cancer cells in patients with solid epithelial malignancies // *Haematopoiesis Immunology.* 2012. V.10., №1. P. 79–93.
15. *Braun S., Vogl F.D., Naume B. et al.* A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer // *N. Engl. J. Cancer.* 2005. V. 353, № 8. P. 793–802.
16. *Janni W., Vogl F.D., Wiedswang G. et al.* Persistence of disseminated tumor cells in the bone marrow of breast cancer patients predicts increased risk for relapse — a European pooled study // *Clin. Cancer. Res.* 2011. V. 17. P. 2967–2976.
17. *Бокин И.И.* Микрометастазы рака яичников в костном мозге (клинико-иммунологические особенности) // Автореферат дис... канд. мед. наук. М., 2010.
18. *Чигринова Е.В., Бокин И.И., Жордания К.И., Тупицын Н.Н., Поддубная И.В., Сельчук В.Ю.* Микрометастазы в костном мозге у больных раком яичников — новая проблема? // *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2007. № 1–2. С. 59–64.