

Для цитирования: Златник Е.Ю., Ситковская А.О., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Сагакянц А.Б. Показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком разных стадий при наличии и отсутствии циркулирующих опухолевых клеток. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 94–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-94-98.

For citation: Zlatnik E.Y., Sitkovskaya A.O., Novikova I.A., Bondarenko E.S., Sagakyants A.B. Cell mediated immunity in patients with stage II–IV colorectal cancer with or without circulating tumor cells. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 94–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-94-98.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ РАЗНЫХ СТАДИЙ ПРИ НАЛИЧИИ И ОТСУТСТВИИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Е.Ю. Златник, А.О. Ситковская, И.А. Новикова, Е.С. Бондаренко, А.Б. Сагакянц

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Аннотация

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) рассматриваются в настоящее время в качестве одного из важнейших механизмов метастазирования опухоли. Их обнаружение расценивается как прогностический фактор при различных злокачественных опухолях, в том числе при колоректальном раке (КРР). Однако ЦОК могут быть источником опухолевых антигенов, способных индуцировать как иммунный ответ, так и развитие толерантности, участвуя в «иммуноредактировании». **Цель исследования** – изучить показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком различной распространенности в зависимости от наличия и отсутствия циркулирующих опухолевых клеток. **Материал и методы.** Изучены показатели клеточного иммунитета у 60 больных КРР различной распространенности (II–IV стадий) при наличии и отсутствии ЦОК. В крови больных до начала лечения определяли уровень ЦОК по технологии анализа в системе CellSearch System™ и с помощью проточного цитометра FACSCantoII (BD) оценивали субпопуляционный состав лимфоцитов: T-B-NK-клеток, T-reg; CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); «наивных» T-лимфоцитов и T-клеток памяти (CD45RA-/CD45RO+); среди NK-клеток определяли лимфоциты, экспрессирующие CD335, перфорин, гранзим В. **Результаты.** Установлен ряд различий иммунологических показателей у больных с наличием и отсутствием ЦОК в зависимости от стадии КРР. При наличии ЦОК у больных местнораспространенным КРР отмечена стимуляция функциональных показателей врожденного иммунитета (CD335+ NK-клеток, кислородного взрыва в гранулоцитах) и активированных Th (CD38+, CD25+, HLA-DR+), а у больных генерализованным КРР – угнетение цитотоксических лимфоцитов врожденного (CD16/56+) и адаптивного (CD8+CD25+) иммунитета, что является, вероятно, неблагоприятным фактором прогноза. **Заключение.** Присутствие в крови больных КРР ЦОК сопровождается наличием иммунологических изменений: стимулирующих факторы T-хелперного и врожденного иммунитета при опухолях II–III стадий и угнетающих T- и NK-звенья при IV стадии.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, циркулирующие опухолевые клетки, колоректальный рак, иммуноредактирование.

CELL MEDIATED IMMUNITY IN PATIENTS WITH STAGE II–IV COLORECTAL CANCER WITH OR WITHOUT CIRCULATING TUMOR CELLS

E.Y. Zlatnik, A.O. Sitkovskaya, I.A. Novikova, E.S. Bondarenko, A.B. Sagakyants

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14-th Liniya Street, 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Abstract

Nowadays, circulating tumor cells (CTCs) are considered to be one of the most important mechanisms of tumor dissemination. Detection of CTCs in patients' blood is estimated as a prognostic factor for various tumors including colorectal cancer (CRC). However, CTCs may also be a source of tumor antigens capable of inducing both immune response and tolerance and participating in «immunoediting». **The aim of the study** was to assess the parameters of cell-mediated immunity in patients with stage II–IV CRC with respect to the presence or absence of CTCs. **Materials and Methods.** We studied the parameters of cell-mediated immunity in 60 patients with stage II–IV CRC with respect to the presence or absence of CTCs. Before treatment, we evaluated the CTC levels in patients' blood using CellSearch System™ and lymphocyte subsets: T-B-NK-cells, T-reg, CD4+ and CD8+ expressing markers of activation (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); naïve and memory T-lymphocytes (CD45RA-/CD45RO+); NK-cells expressing CD335, perforin and granzyme B using flow cytometry (FACSCantoII, BD). **Results.** A difference in the immunologic parameters between patients with CTCs and without CTCs depending on the stage of CRC was found. In CTC-positive patients with locally-advanced CRC, increase in the parameters of innate immunity (CD335+ NK-cells, neutrophils' respiratory burst) and activated Th (CD38+, CD25+, HLA-DR+) was found, while in CTC-positive patients with generalized CRC, suppression of cytotoxic lymphocytes of both innate (CD56/16+) and adaptive (CD8+CD25+) immunity was observed, which is, apparently, an unfavorable prognostic factor. **Conclusion.** The presence of CTC in CRC patients is accompanied by some immunologic changes rather stimulating Th-link and innate immunity factors in II–III stages and doubtlessly suppressive in patients with IV stage.

Key words: cellular immunity, circulating tumor cells, colorectal cancer, immunoediting.

Введение

Взаимодействие между злокачественной опухолью и иммунной системой опухоленосителя в современной литературе описывается термином «иммуноредактирование» [1, 2]. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) считаются одним из важных механизмов метастазирования злокачественных опухолей, но они же могут нести опухолевые антигены и потенциально индуцировать иммунный ответ или вызывать толерантность, вероятно, в зависимости от состояния иммунной системы больного. Накоплен ряд данных о роли ЦОК в прогнозе течения некоторых злокачественных опухолей [3, 4]; при колоректальном раке (КРР) отмечена прогностическая ценность изменения данного показателя в динамике лечения [5]. Нами ранее показано, что количество ЦОК у больных КРР находится в прямой зависимости от экспрессии маркеров апоптоза (p53), микрососудистой инвазии (CD31), ММП-2, а у больных с повышенным количеством ЦОК метастазы и рецидивы возникали в более ранние сроки [6]. В последние годы появляется все больше данных, относительно взаимодействия ЦОК с иммунной системой опухоленосителей [7, 8]. Оно представляется важным, например, в аспекте использования цельноклеточных вакцин [9, 10], которые могут быть изготовлены и на основе ЦОК,

так как возможность индукции полноценного иммунного ответа на опухолевые антигены является решающей в успехе такого подхода.

Ранее нами [11] и другими авторами [12] была показана не только связь уровня ЦОК с некоторыми биологическими свойствами опухолей у больных раком легкого, но и выявлен ряд корреляций уровня ЦОК и показателей иммунного статуса, обнаруженных не в основных субпопуляциях Т, В, NK-клеток, T-regs, а во фракциях активированных Т-лимфоцитов, Т-клеток памяти, функционально активных NK-клеток. В данной работе нами было предпринято подобное исследование при КРР.

Цель исследования – изучить показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком различной распространенности в зависимости от наличия и отсутствия циркулирующих опухолевых клеток.

Материал и методы

Изучали содержание ЦОК и показатели иммунного статуса у больных КРР; результаты анализировали в зависимости от распространенности (стадии) и наличия ЦОК в крови. Обследовано 60 больных: 52 (86,7 %) мужчины и 8 (13,3 %) женщин; средний возраст – $62 \pm 1,3$ года. На момент установления диагноза у 20 (33,3 %) паци-

ентов была II, у 12 (20 %) – III, у 28 (46,7 %) – IV стадия заболевания; у всех больных выявлена аденокарцинома.

В крови больных до начала лечения определяли уровень ЦОК по технологии анализа в системе CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC) с микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитоцератинам 8,18,19. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля CTC control kit. Материал сканировали в анализаторе CellTracks®Analyzer II®. ЦОК регистрировали с учетом морфологических характеристик и экспрессии маркеров. В крови больных с помощью проточного цитометра FACSCantoII (BD) определяли субпопуляционный состав лимфоцитов: процент Т-В-НК-клеток, Т-reg; CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); «наивных» Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти (CD45RA-/CD45RO+); среди НК-клеток определяли лимфоциты, экспрессирующие CD335, перфорин, гранзим В. Результаты выражали в процентах. Статистическую обработку выполняли с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты

Полученные данные позволили выявить некоторые различия в исследованных иммунологических показателях у больных КРР с наличием и

отсутствием ЦОК при II, III и IV стадиях. Так, при II стадии КРР у больных с наличием ЦОК обнаружены значительно более высокие уровни лимфоцитов ($19,1 \pm 2,7$ % против $15,6 \pm 1,4$ %), уровень CD335+ НК-клеток ($44,9 \pm 7,6$ % против $19,2 \pm 4,0$ %) и показатель кислородного взрыва в гранулоцитах ($97,5 \pm 1,6$ % против $92,3 \pm 1,2$ %); для всех показателей $p < 0,05$.

На рис. 1 представлены показатели иммунного статуса у больных КРР III стадии в зависимости от наличия или отсутствия у них ЦОК. Наличие ЦОК у этих больных сопровождалось снижением уровня лимфоцитов и моноцитов на фоне возрастания количества гранулоцитов. Кроме того, у них отмечено повышение содержания CD4+ клеток с маркерами ранней и поздней активации ($36,3 \pm 4,4$ % против $16,4 \pm 6,4$ % для CD4+CD38+; $15,7 \pm 5,1$ % против $2,7 \pm 1,0$ % для CD4+CD25+; $8,4 \pm 1,2$ % против $3,4 \pm 0,6$ % для CD4+HLA-DR+) (рис. 1А). Наблюдаются также различия и в цитотоксических звеньях: происходит повышение количества CD3+/CD8+/CD25+ клеток ($5,9 \pm 0,9$ % против $1,1 \pm 0,7$ %) и CD3+/CD56/16+ клеток ($7,9 \pm 1,9$ % против $2,6 \pm 0,2$ %) (рис. 1Б); для всех показателей $p < 0,05$.

Различия иммунологических показателей у ЦОК-положительных и ЦОК-отрицательных больных КРР IV стадии представлены на рис. 2, они характеризуются статистически значимо более низкими уровнями НК-клеток ($16,6 \pm 2,0$ % против $28,4 \pm 5,5$ %), CD4+CD69+ ($5,1 \pm 0,8$ % против

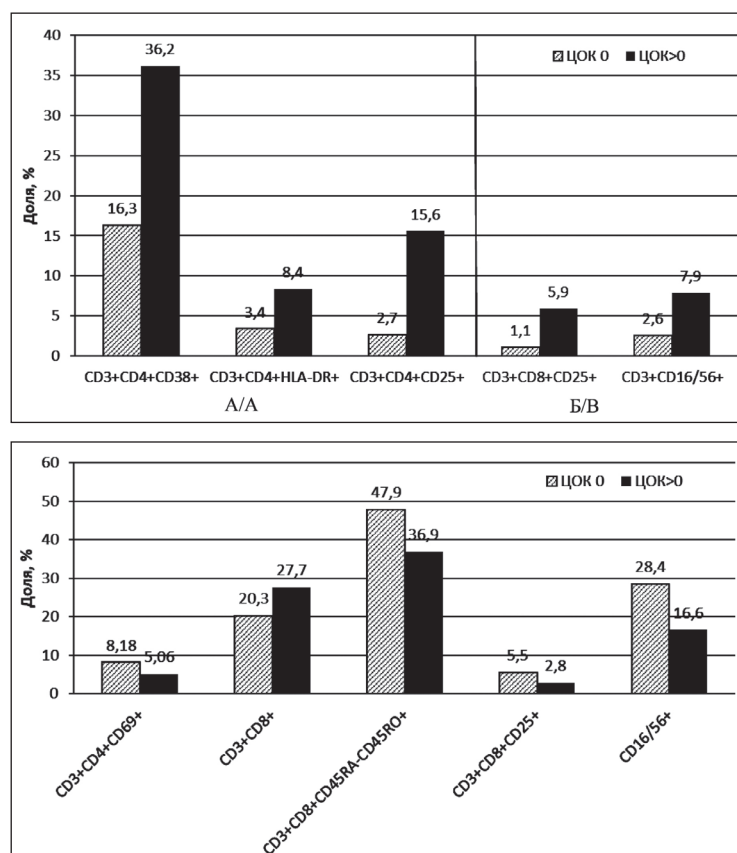


Рис. 1. Некоторые показатели клеточного иммунитета у больных КРР III стадии с наличием или отсутствием ЦОК: А) Th-звено,

Б) цитотоксическое звено
Fig. 1. Parameters of cell-mediated immunity in patients with stage III CRC with and without of CTCs: A) Th-link, B) cytotoxic link

Рис. 2. Некоторые показатели клеточного иммунитета у больных КРР IV стадии с наличием или отсутствием ЦОК

Fig. 2. Parameters of cell-mediated immunity in patients with stage IV CRC with and without of CTC

8,2 ± 1,0 %). Следует отметить, что, хотя наличие ЦОК при генерализованном КРР сопровождается более высоким уровнем CD8+ лимфоцитов (27,7 ± 2,0 против 20,3 ± 2,3 %), выявляется меньше активированных цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+CD25+ (2,8 ± 0,48 % против 5,5 ± 1,1 % у ЦОК-отрицательных больных, $p < 0,05$). Кроме того, количество Т-клеток памяти с фенотипом CD8+/CD45RA-/CD45RO+ также было меньше при наличии ЦОК (36,9 ± 3,4 против 47,9 ± 4,3 % при их отсутствии, $p < 0,05$) (рис. 2). Остальные исследованные показатели не имели значимых различий в зависимости от наличия ЦОК.

Обсуждение

Таким образом, наличие ЦОК при местнораспространенном КРР ассоциируется со стимуляцией функциональных показателей врожденного иммунитета и активированных Th, а при генерализованном – с угнетением цитотоксических лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета, что является, вероятно, неблагоприятным фактором прогноза, как отмечено в литературе [7, 13]. Следует отметить, что различия у ЦОК-позитивных и ЦОК-негативных больных КРР найдены, как и ранее при раке легкого, в субпопуляциях активиро-

ванных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти. Однако признаки иммуностимулирующего действия, отмеченные при местнораспространенном КРР, не реализуются в виде эффективного противоопухолевого ответа. По всей вероятности, причина этого состоит в том, что вскоре после попадания ЦОК в кровь в них развивается состояние «уклонения» от действия иммунной системы, характеризующееся гиперэкспрессией CD47, которая приводит к угнетению цитотоксичности НК-клеток и макрофагов и снижению экспрессии кальретикулина – маркера иммуногенной гибели опухолевых клеток [14].

Заключение

Присутствие в крови больных КРР ЦОК сопровождается наличием иммунологических изменений, неодинаковых при различных стадиях заболевания. У больных КРР II–III стадии такие изменения можно рассматривать как стимулирующие: при II стадии они касаются только звеньев врожденного иммунитета; максимальное количество их отмечено при III стадии (8 показателей из изученных 28, в основном относящихся к активированным Т-клеткам), при КРР IV стадии различия установлены по 5 показателям и являются супрессивными.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Mittal D., Gubin M.M., Schreiber R.D., Smyth M.J. New insights into cancer immunoeediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014; 27: 16–25. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.004.
- Kitamura T., Qian B.Z., Pollard J.W. Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol.* 2015 Feb; 15(2): 73–86. doi: 10.1038/nri3789.
- Кит О.И., Новикова И.А., Никителова Е.А., Нистратова О.В., Бахтин А.В., Селютин О.В., Черникова Е.Н. Циркулирующие опухолевые клетки как высокоспецифичный прогностический фактор. Обзор литературы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2014; 12(2): 252–257. [Kit O.I., Novikova I.A., Nikitelova E.A., Nistratova O.V., Bachtin A.V., Selutina O.V., Chernikova E.N. Circulating tumor cell as a highly specific prognostic factors. Review of the literature. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2014; 12(2): 252–257. (in Russian)].
- Bidard F.C., Peeters D.J., Fehm T., Nolé F., Gisbert-Criado R., Mavroudis D., Grisanti S., Generali D., Garcia-Saenz J.A., Siebbing J., Caldas C., Gazzaniga P., Manso L., Zamarchi R., de Lascoiti A.F., De Mattos-Arruda L., Ignatiadis M., Lebofsky R., van Laere S.J., Meier-Stiegen F., Sandri M.T., Vidal-Martinez J., Politaki E., Consoli F., Bottini A., Diaz-Rubio E., Krell J., Dawson S.J., Raimondi C., Rutten A., Janni W., Munzone E., Carañana V., Agelaki S., Almici C., Dirix L., Solomayer E.F., Zorzino L., Johannes H., Reis-Filho J.S., Pantel K., Pierga J.Y., Michiels S. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: A pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014; 15: 406–14. doi:10.1016/S1470-2045(14)70069-5.
- Burc C., Pop V.V., Buiga R., Daniel S., Samasca G., Aldea C., Lupan I. Circulating tumor cells in clinical research and monitoring patients with colorectal cancer. *Oncotarget.* 2018; 9(36): 24561–71. doi: 10.18632/oncotarget.25337.
- Непомнящая Е.М., Кит О.И., Нистратова О.В., Новикова И.А., Никителова Е.А., Бахтин А.В., Ульянова Е.П., Вострикова Ж.И., Селютин О.Н. Циркулирующие опухолевые клетки и некоторые морфо-иммуногистохимические показатели при колоректальном раке. *Современные проблемы науки и образования.* 2016; 2 [Интернет]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24378> (дата обращения: 28.05.2020). [Nepomnyashchaya E.M., Kit O.I., Nistratova O.V., Novikova I.A., Nikitelova E.A., Bachtin A.V., Ulyanova E.P., Vostrikova Zh.I., Selyutina O.N. Circulating tumor cells and some morpho-immunohistochemical parameters in colorectal cancer. *Modern problems of science and education.* 2016; 2 [Internet]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24378> (cited 28.05.2020). (in Russian)].
- Mego M., Gao H., Cohen E.N., Anfossi S., Giordano A., Sanda T., Fouad T.M., De Giorgi U., Giuliano M., Woodward W.A., Alvarez R.H., Valero V., Ueno N.T., Hortobagyi G.N., Cristofanilli M., Reuben J.M. Circulating Tumor Cells (CTC) Are Associated with Defects in Adaptive Immunity in Patients with Inflammatory Breast Cancer. *J Cancer.* 2016 Jun 3; 7(9): 1095–104. doi: 10.7150/jca.13098.
- Leone K., Poggiana C., Zamarchi R. The Interplay between Circulating Tumor Cells and the Immune System: From Immune Escape to Cancer Immunotherapy. *Diagnostics (Basel).* 2018 Aug 30; 8(3): 59. doi: 10.3390/diagnostics8030059.
- Манина И.В., Сапрыкина Н.М., Козлов А.М., Михайлова И.Н., Григорьева И.Н., Касаткина Н.Н., Барышников А.Ю. Повышение эффективности цельноклеточной gm-csf-секретирующей противоопухолевой вакцины путем преинкубации с цитокинами. *Российский биотерапевтический журнал.* 2011; 3: 61–66. [Manina I.V., Saprikina N.S., Kozlov A.M., Mikhaylova I.N., Grigorieva I.N., Kasatkina N.N., Barishnikov A.Y. The increasing of gm-csf produced vaccine efficiency by inhibition the cells with cytokines. *Russian Journal of Biotherapy.* 2011; 3: 61–66. (in Russian)].
- Ермакова Н.П., Михайлова И.Н., Меркулова И.Б., Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Абрамова Т.В., Барышников К.А., Михайлова Л.М. Доклинические исследования токсичности противоопухолевой вакцины «Меловак». *Российский биотерапевтический журнал.* 2010; 1: 57–62. [Ermakova N.P., Mikhaylova I.N., Merkulova I.B., Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Abramova T.V., Baryshnikov K.A., Mikhaylova L.M. Re-clinical study of anticancer vaccine «Melovac» toxicity. *Russian Journal of Biotherapy.* 2010; 1: 57–62. (in Russian)].
- Бахтин А.В., Кит О.И., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Исаева Р.Г., Селютин О.Н., Шульгина О.Г. Детекция циркулирующих в крови опухолевых клеток и их взаимоотношение с иммунокомпетентными клетками у больных генерализованными формами рака лёгкого. *Современные проблемы науки и образования.* 2015; 3 [Интернет]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19734> (дата обращения: 28.05.2020). [Bachtin A.V., Kit O.I., Novikova I.A., Zlatnik E.Yu., Isaeva R.G., Selyutina O.N., Shulgina O.G. Detection of tumor cells circulating in the blood and their relationship with immunocompetent cells in patients with generalized forms of lung cancer. *Modern Problems of Science and Education.* 2015; 3 [Internet]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19734> (cited 28.05.2020). (in Russian)].
- Ye L., Zhang F., Li H., Yang L., Lv T., Gu W., Song Y. Circulating Tumor Cells Were Associated with the Number of T Lymphocyte Subsets and NK Cells in Peripheral Blood in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Dis Markers.* 2017; 2017: 5727815. doi: 10.1155/2017/5727815.

13. Green T.L., Cruse J.M., Lewis R.E., Craft B.S. Circulating tumor cells (CTCs) from metastatic breast cancer patients linked to decreased immune function and response to treatment. *Exp Mol Pathol.* 2013 Oct; 95(2): 174–9. doi: 10.1016/j.yexmp.2013.06.013.

14. Schölch S., Bork U., Rahbari N.N., García S., Swiersy A., Betzler A.M., Weitz J., Koch M. Circulating tumor cells of colorectal cancer. *Cancer Cell Microenvironment.* 2014; 1: e323. doi: 10.14800/ccm.323.

Поступила/Received 28.05.2019
Принята в печать/Accepted 17.09.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. SPIN-код: 4137-7410. Author ID (Scopus): 6603160432.

Ситковская Анастасия Олеговна, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1659-6976. Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Новикова Инна Арнольдовна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4810-2424. ResearcherID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Бондаренко Елена Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 3117-4040. Author ID (Scopus): 57200132337. ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Сагакянц Александр Борисович, кандидат биологических наук, доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7272-1408. Author ID (РИНЦ): 426904. Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

ВКЛАД АВТОРОВ

Златник Елена Юрьевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ситковская Анастасия Олеговна: составление черновика рукописи.

Новикова Инна Арнольдовна: выполнение определения циркулирующих опухолевых клеток.

Бондаренко Елена Сергеевна: выполнение проточной цитометрии.

Сагакянц Александр Борисович: статистическая обработка данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena Y. Zlatnik, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. Author ID (Scopus): 6603160432.

Anastasia O. Sitkovskaya, Researcher, Laboratory of Cellular Technologies, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Inna A. Novikova, PhD, Deputy General Director for Science, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Elena S. Bondarenko, Junior Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57200132337. ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Alexander B. Sagakyants, PhD, Associate Professor, Head of Laboratory of Tumor Immunophenotyping, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena Y. Zlatnik: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Anastasia O. Sitkovskaya: drafting of the manuscript.

Inna A. Novikova: performing a determination of circulating tumor cells.

Elena S. Bondarenko: performing flow cytometry.

Alexander B. Sagakyants: statistical data analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.