

Для цитирования: *Водолажский Д.И., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А.* Циркулирующие опухолевые клетки в онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 117–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-117-125
For citation: *Vodolazhsky D.I., Nekhaeva T.L., Baldueva I.A.* Circulating tumor cells in oncology. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 117–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-117-125

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В ОНКОЛОГИИ

Д.И. Водолажский, Т.Л. Нехаева, И.А. Балдуева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.
E-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Аннотация

Цель исследования. В рамках настоящего исследования предпринята попытка выявления общих закономерностей наличия детектируемых количеств циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), отрицательно коррелирующих с общей выживаемостью пациентов и их способностью образовывать метастазы в отдаленных тканях и органах. Обобщение биологических свойств и взаимодействие ЦОК с другими типами клеток во время интравазации, циркуляции в кровотоке, экстравазации и колонизации, являющихся многогранными и включающими в себя изменения фенотипов ЦОК, которые регулируются многими сигнальными молекулами, включая цитокины и хемокины. **Материал и методы.** Нами проведен поиск литературы в электронных базах данных PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>) и Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>), опубликованных в период с января 1994 г. по май 2021 г., с использованием ключевых слов: «circulating tumor cells», «biomarker» и «metastasis». **Результаты.** Мониторинг уровня ЦОК в крови может иметь исключительные прогностические и мониторинговые последствия. Жидкостная биопсия для выявления ЦОК и их продуктов может быть использована для диагностики онкологических заболеваний в общей популяции, а также для прогнозирования биомаркеров у онкологических больных. С развитием более совершенных технологий детекции ЦОК и клинических испытаний в крупных проспективных исследованиях можно ожидать увеличения клинической полезности ЦОК. Понимание их биологии и взаимодействия с другими типами клеток, особенно с иммунной системой, и развитие иммунотерапии также дают большие перспективы для новых терапевтических возможностей. **Заключение.** ЦОК в настоящее время рутинно не используются в клинической практике, но исследования в этой области продолжают накапливать клиническую валидность и соответствующие инструментальные подходы. Это связано с возможностью мониторинга состояния пациентов с использованием методов жидкостной биопсии при использовании ЦОК. Мы представляем обзор текущей клинической ценности ЦОК в качестве биомаркера, а также основные концепции и исследования, изучающие клиническую полезность ЦОК.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, злокачественные новообразования, маркеры малигнизации, внеклеточная ДНК (вкДНК), эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП).

CIRCULATING TUMOR CELLS IN ONCOLOGY

D.I. Vodolazhsky, T.L. Nekhaeva, I.A. Baldueva

N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia,
St. Petersburg, Russia
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Abstract

Purpose of the study: to identify general patterns in the presence of detectable amounts of circulating tumor cells (CTCs) negatively correlated with the overall survival of patients and their ability to form metastases in distant tissues and organs, as well as to summarize the biological properties and interactions of CTCs with other cell types during intravasation, circulation, extravasation, and colonization, which involve changes in CTC phenotypes that are regulated by many signaling molecules, including cytokines and chemokines. **Material and Methods.** We analyzed publications available from PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>), and Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>) databases between 2000–2021 using the keywords “circulating tumor cells”, “biomarker”, “metastasis” and others. **Results.** Monitoring of blood levels of CTCs can have exceptional prognostic and monitoring implications. Liquid biopsy to detect CTCs and their progeny can be used to diagnose cancer in the general population, as well as to predict biomarkers in cancer patients. The improvement in the CTC detection technology and clinical trials in large prospective studies will increase the clinical usefulness of these marker cells. Understanding of their biology and interactions with other cell types, especially with the immune cells, and the development of CTC immunotherapy also holds great promise in cancer therapy. **Conclusion.** Currently, CTCs are not routinely used in clinical practice, but research in this area continues to accumulate the data on the clinical validity of CTC detection. This is due to the feasibility of monitoring the patient’s condition using liquid biopsy for the CTC detection. We present an overview of the clinical value of CTCs as a biomarker, as well as key studies examining the clinical usefulness of CTCs.

Key words: circulating tumor cells (CTCs), malignant neoplasms, malignancy markers, extracellular DNA (cfDNA), epithelial-mesenchymal transition (EMT), mesenchymal-epithelial transition (MET).

Введение

Метастазирование опухолей является причиной не менее 90 % летальных исходов при развитии онкологических заболеваний, что обуславливает интерес клинических онкологов к прогностической оценке этого явления [1]. В процессе метастазирования раковые клетки распространяются из первичной опухоли, внедряются в ткани и образуют новую опухоль в другой локализации. Поэтому процессы метастазирования сопровождаются появлением ЦОК в периферической крови, которые выявляются как единичные клетки или кластерные клеточные образования [2]. О наличии ЦОК в периферической крови впервые сообщил австралийский врач Т. Эшворт в 1869 г. при изучении материала, полученного при вскрытии пациента с метастатическими подкожными опухолевыми очагами, расположенными в передней стенке грудной клетки и брюшной полости [3].

Современные методы исследования предоставили дополнительные доказательства, подтверждающие концепцию, согласно которой онкологические заболевания характеризуются всеми признаками дарвиновской эволюции: высокая изменчивость и отбор наиболее жизнеспособных клонов клеток, эффективное избегание иммунного ответа [4]. Анализ свойств опухолевых биоптатов, диагностированных много лет назад, часто оказывался причиной малоэффективных клинических решений. Достижения в методах детекции и молекулярно-биологических исследованиях ЦОК позволят оптимизировать решение этой проблемы и разработать терапевтические процедуры на основе мониторинга эволюции опухолевых клеток практически в режиме реального

времени [5]. Практика применения «жидкостной клеточной биопсии» в качестве диагностического, прогностического и тераностического инструмента в клинических исследованиях представляется перспективным подходом ввиду неинвазивности и возможности осуществлять мониторинг состояния опухолей в режиме «Real-Time». Данный подход потенциально позволит обнаруживать изменения генома опухолевых клеток, которые могут служить мишенями для применения и корректировки применения противоопухолевой терапии [6].

По данным сайта Grantome при Национальном Институте Здравоохранения США (NIH USA), в области исследования ЦОК ежегодно финансируются более 60 научных разработок ([https://grantome.com/search?q=circulating %20tumor %20cells](https://grantome.com/search?q=circulating%20tumor%20cells)) с двукратным увеличением количества грантов по этому направлению в интервале с 2006 до 2020 г. По данным ресурса PubMed ([https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=circulating %20tumor %20cells&timeline=expanded](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=circulating%20tumor%20cells&timeline=expanded)), до 1982 г. количество публикаций по тематике «Circulating Tumor Cells» составляло менее 100 публикаций в год, а уже к 2019 г. наблюдался их почти экспоненциальный рост – до 1696 публикаций в год. Эти данные свидетельствуют о большой актуальности и динамичном развитии тематики ЦОК в современной онкологии.

Материал и методы

Нами проведен поиск литературы в электронных базах данных «National Center for Biotechnology Information Search database (PubMed/Medline)», «Grantome» (<https://grantome.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer

Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>) и Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>), опубликованных в период с января 1994 по май 2021 г, с использованием ключевых слов: «circulating tumor cells», «biomarker» и «metastasis».

Циркулирующие опухолевые клетки

ЦОК представляют собой опухолевые клетки, выделяемые в сосудистую сеть из первичного злокачественного новообразования, потенциально представляющие собой исходные клетки («семена») для последующего метастазирования. По сравнению с больными, они крайне редко встречаются у здоровых людей и пациентов с доброкачественными опухолями [7]. Клинические данные указывают на то, что у пациентов с метастатическими поражениями ЦОК, поддающиеся препаративному получению, встречаются значительно чаще, но частота их встречаемости в большинстве случаев варьирует в широких пределах: от ~1–10 до 800 ЦОК на 7,5 мл цельной крови [7, 8]. Хотя, и это необходимо иметь в виду, иногда ЦОК встречаются в количествах, превышающих 1000 ЦОК/7,5 мл крови. Однако доля таких пациентов в общей выборке в большинстве случаев не превышает 5 % [7–9]. Как правило, ЦОК определяются с использованием моноклональных антител (mAb), меченных флуоресцентными красителями, как клетки, положительные по маркерам цитокератинов, молекуле адгезии эпителиальных клеток (Epithelial Cell Adhesion Molecule; EpCAM, CD326) и негативные по CD45 (Leukocyte Common Antigen – LCA), имеющие интактное жизнеспособное ядро (положительное окрашивание по DAPI) [10]. Однако EpCAM и другие маркеры не всегда экспрессируются на поверхности ЦОК вследствие эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [11]. Известны случаи обнаружения не опухолевых эпителиоподобных клеток, циркулирующих в крови пациентов с простатитом или пациентов, перенесших операцию [12]. С методической точки зрения гетерогенность популяции ЦОК является серьезной проблемой, и это привело к альтернативным стратегиям препаративных методов получения ЦОК, таким как микрофлюидные технологии, которые не зависят от экспрессии каких-либо опухолевых маркеров, которые использовались на ранних этапах исследований [13].

Попадая в кровотоки, ЦОК способны вызывать новые метастатические образования [14]. ЦОК способны выживать в кровотоке, противостоять биофизическим и клеточно-опосредованным воздействиям и достигать конечного пункта назначения. Они внедряются в преметастатическую нишу, уже подготовленную мессенджерами из опухолевых клеток. В этой нише ЦОК находятся в состоянии покоя в течение неопределенного периода, пока некоторые еще малоизвестные сигналы не вызовут их пробуждение [15].

Гетерогенность ЦОК

ЦОК – чрезвычайно редкие и гетерогенные клеточные элементы [16]. Их количественная оценка в периферической крови у онкологических больных весьма вариабельна и, как правило, колеблется в диапазоне от единиц до сотен клеток на 7,5 мл периферической крови: этот показатель зависит от применяемых методов селекции и детектируемых маркеров поверхности ЦОК [17]. А. Marchetti et al. [18] продемонстрировано, что кроме «классических» ЦОК также встречаются неопластические клетки, не отвечающие всем критериям Veridex (также известные как «подозрительные объекты»), что подтверждает возможность существования и других фенотипов гетерогенной популяции ЦОК. Ими был разработан протокол для извлечения обогащенных образцов ЦОК из картриджа платформы Veridex (в настоящее время «Janssen Diagnostics»). В результате установлено, что у 37 пациентов с немелкоклеточным раком легкого (Non Small Cell Lung Cancer, NSCLC) распространенность частот аллельных вариантов генетических мутаций варьировала от 0,02 до 24,79 %, со средним значением 6,34 %. Полученные данные наглядно продемонстрировали гетерогенность популяции ЦОК в образцах как одного, так и разных пациентов.

Одним из стимулов для использования ЦОК в диагностике онкологических заболеваний служит тот факт, что пациенты с различными типами опухолей не проходят всестороннее тестирование в режиме мониторинга в соответствии с рекомендациями The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) и не могут получить своевременную коррекцию лечения в соответствии с изменяющимися свойствами опухолевых клеток. ЦОК могут служить источником биологического материала для подобного рода исследований практически в режиме реального времени. Традиционный клинический анализ крови значительно улучшает выполнение рекомендаций по тестированию NCCN и в сочетании с тестом «CELLSEARCH® CTC Test» позволяет обеспечить выбор оптимального курса лечения.

Генетическая гетерогенность ЦОК является отражением эволюции генома, которая часто происходит во время прогрессирования опухолей, создавая вариабельность в первичных опухолях, а также гетерогенность между первичной карциномой и метастазами. Распределения рисков и рекомендации по лечению пациентов основаны на характеристиках первичной опухоли, однако генетические различия между диссеминированными опухолевыми клетками и первичной карциномой могут отрицательно влиять на эффективность лечения и выживаемость пациентов [19]. Это событие может приводить к образованию солидных опухолей, состоящих из множества клонов, которые различаются по транскриптному, протеомному и функциональному составу. Генетическая гетеро-

генность наиболее агрессивных опухолей, таких как тройной негативный рак молочной железы, может быть весьма выраженной. Экспериментально доказано, что ни одна отдельно взятая клетка этого типа опухолей не имела одинакового геномного профиля, выявляемого секвенированием [20]. Гетерогенность субпопуляций ЦОК может быть реализована с использованием механизмов клонального полиморфизма, отбора и адаптивности клеток солидных опухолей [21]. Действительно, ЦОК могут проявлять признаки генетической гетерогенности со временем, начиная с момента их образования, с эпителио-подобным фенотипом, переходящим в мезенхимо-подобное состояние и наоборот, через процессы, известные как ЭМП↔МЭП [22]. ЭМП может наблюдаться в различных переходных состояниях. Эти состояния ЭМП довольно различны и могут быть обнаружены с использованием маркеров клеточной поверхности и полногеномным секвенированием РНК из отдельных клеток. ЭМП – гибридные ЦОК могут обладать самым высоким метастатическим потенциалом с различной степенью агрессивности благодаря своим молекулярно-биологическим особенностям [23]. Приведенные выше данные предполагают, что изучение небольшого количества биомаркеров в одной или немногих временных точках, например при первой диагностике и/или рецидиве, могут дать очень неполную оценку состояния опухоли или ложно-отрицательный результат. Мониторинг эволюции и прогрессирования опухоли посредством своевременного и точного обнаружения нескольких маркеров является современным требованием для организации оптимального лечения онкологических заболеваний. Исследования свойств ЦОК дают такую возможность, отражая изменяющиеся свойства опухоли. Некоторые из ЦОК имеют признаки стволовых клеток (например, CD44+ или ABC-G2-позитивность), другие имеют мезенхимо-подобные характеристики (например, маркеры N-кадгерина) или фенотипы опухолевых гибридов. Некоторые подгруппы ЦОК с точки зрения метастазирования могут быть более агрессивными по сравнению с другими. Другие ЦОК могут экспрессировать эндотелиальные маркеры, и они воспроизводят сосудистую мимикрию (васкулогенную мимикрию), явление, присутствующее в некоторых раковых опухолях человека, связанное с агрессивным развитием заболевания [24].

Методы получения циркулирующих опухолевых клеток

Процедура препаративного получения ЦОК основана на различиях в биохимических или биофизических свойствах между ЦОК и клетками крови. Различия в экспрессии антигенов клеточной поверхности между ЦОК и лейкоцитами позволяют осуществлять положительный отбор ЦОК и отрицательный отбор (удаление) лейкоцитов. При карциномах наиболее часто используемым

антигеном для положительной иммуноселекции ЦОК служит маркер EpCAM, который экспрессируется большинством клеток карцином. Система «Cellsearch®System» является единственной методикой детекции ЦОК, утвержденной Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (US FDA) [25]. Эта система использует EpCAM-положительную иммуноселекцию в качестве этапа получения ЦОК. Биофизические подходы для селекции ЦОК основаны на различиях в размерах клеток, их деформируемости, биоэлектрических характеристиках или различиях в плавучей плотности между ЦОК, эритроцитами и лейкоцитами. После обогащения ЦОК проверка идентичности полученных клеток обычно проводится с использованием методов визуализации с высоким разрешением в сочетании с иммуно-цито-флуоресцентным окрашиванием выбранных маркеров. Более сложные методы включают в себя высокопроизводительную геномную, транскриптомную или протеомную характеристику изолированных клеток и поэтому в рамках данного обзора не рассматриваются. Различные методы позволяют осуществлять препаративное получение ЦОК с различными фенотипами, при этом чувствительность и специфичность этих методов не однородна и варьирует в зависимости от типа заболевания. Также нельзя исключать того, что при различных заболеваниях ЦОК имеют различные фенотипы и свойства, что находит свое отражение в видимой чувствительности различных методов [26].

В работе G. Kallergi et al. [27] проведено сравнительное модельное исследование эффективности различных методов разделения перевиваемых клеточных линий рака молочной железы (MCF7, SKBR3 и MDA MB-231):

- в градиентах плотности фиколла;
- путем лизиса эритроцитов (гемолиз);
- методом положительной иммуномагнитной сепарации на шариках, покрытых антителами к EpCAM («DynaI-anti-EpCAM»);
- отрицательной системы иммуномагнитной сепарации (с использованием антител к CD45);
- «CELLSEARCH®Circulating Tumor Cell (CTC) Test» и «ISET®Technology».

Степень эффективности получения тестируемых клеток при использовании гемолиза и градиента фиколла в этой работе составила 39 и 24 % соответственно. Препаративные методы получения перевиваемых линий раковых клеток с использованием положительных иммуномагнитных методов селекции ранжировались от худшего к лучшему результатам следующим образом: «MyItenyi Biotec» анти-CD45 (24 %); «DynaI-anti-EpCAM» (75 %); «Dynabeads-anti-CD45» (Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C (97 %)). Выделение ЦОК из образцов крови с использованием систем «CELLSEARCH® CTC Test» и «ISET®Technology» показало, что каче-

ство выделения для «CELLSEARCH® CTC Test» и «ISET®Technology» составляло 52 и 95 % соответственно. При этом необходимо учитывать, что лабораторные условия тестирования были «идеальными»: в реальных условиях развития опухолевого процесса популяции ЦОК имеют динамически гетерогенные характеристики и на это накладываются эффекты ЭМП↔МЭП, что неизбежно отрицательно скажется на методах иммуномагнитной сепарации. По результатам этого исследования гранулы «DynaI-anti-CD45» в модельных условиях имели лучшую скорость препаративного получения ЦОК по сравнению с другими иммуномагнитными методами, но самый большой процент извлечения клеток продемонстрировал метод «ISET®Technology» (95 %). Скорость извлечения и специфичность метода «ISET®Technology» были выше по сравнению с «CELLSEARCH® CTC Test». В реальных условиях образец крови человека, кроме основных форменных элементов крови, обычно содержит небольшое количество других циркулирующих редких клеток, включая нормальные эпителиальные клетки, эпителиально-атипичные клетки, эндотелиальные клетки и стволовые гемопоэтические клетки. Также содержатся клетки, зависящие от физиологического состояния пациента: клетки плода у беременных и перенесших беременность женщин. Поэтому диагностическая проблема состоит в том, чтобы с высокой специфичностью получить редкие ЦОК среди множества других клеток в данном образце крови [28].

CELLSEARCH® CTC

Наиболее известной и валидной системой детекции ЦОК на сегодняшний день является «CELLSEARCH®CTC Test» от производителя «Janssen Diagnostics» (бывшая Veridex), которая позволяет получать ЦОК методом положительной иммуномагнитной сорбции с использованием антител. Детекция и подсчет клеток производятся в полуавтоматическом микроскопе («CELLTRACKS ANALYZER II® System»). Использование метода количественной оценки ЦОК в качестве диагностического теста с использованием платформы «CELLSEARCH® CTC Test» от Veridex было одобрено US FDA для клинического использования при диагностике больных раком молочной железы [29], колоректальным раком [30] и раком предстательной железы [31]. В качестве маркеров ЦОК в этой платформе традиционно используются EpCam, Cytokeratin 8, 18 и/или 19, CD45 [32]. Положительный тест (более 5 обнаруженных ЦОК для метастатического рака молочной железы и простаты и более 3 ЦОК – для метастатического колоректального рака на 7,5 мл крови) интерпретируется как предиктивный фактор уменьшения показателя выживаемости без прогрессирования заболевания и снижения показателя общей выживаемости у обследованных

пациентов. Результаты теста «CELLSEARCH® CTC Test» должны использоваться в сочетании с доступной клинической информацией, полученной с использованием других диагностических тестов [32, 33]. К недостаткам этой платформы можно отнести возможность получения ложноотрицательных или просто заниженных результатов в тех случаях, когда ЦОК не несут на своей поверхности маркеры, которые таргетируются антителами, используемыми в этом тесте. Подходы, основанные на биофизических свойствах клеток (размеры, плавающая плотность), в данном случае предпочтительнее, т. к. спектр клеток, извлекаемых с использованием этих методов, не ограничен какими-то маркерами на поверхности клеток. К недостаткам этой платформы можно также отнести относительно низкую чувствительность детекции и сепарации ЦОК при использовании системы «CellSearch», что часто не позволяет детектировать ЦОК. Поэтому количественный выход ЦОК из системы «CellSearch» обычно очень низок и имеет низкую чистоту [34, 35].

Микрофлюидная ISET®Technology

Микрофлюидная «ISET®Technology» (ISET: Isolation by Size of Tumor cells) разработана «Rarecells Device and Consumables». Этот метод основан на наблюдении, что опухолевые клетки всех видов солидных раков крупнее клеточных элементов крови (лейкоцитов и эритроцитов). Однако фильтрация крови для получения редких циркулирующих опухолевых клеток без потерь и без повреждения клеток является сложной задачей. В «ISET®Technology» используются специально разработанные устройства и специально разработанные фильтры, которые позволяют удалять все эритроциты и большинство лейкоцитов из исследуемого образца, что делает последующий процесс детекции ЦОК значительно более простым и точным. Эффективность использования «ISET®Technology» была подтверждена более чем 50 независимыми научными исследованиями (доступными на сайте www.rarecells.com), на более чем 2 000 пациентах с различными видами онкологических заболеваний (рак легких, рак молочной железы, рак простаты, рак печени, рак почки, кожная и увеальная меланома, рак поджелудочной железы, саркома и т. д.) и на более чем 600 участниках контрольной группы (без онкологических заболеваний). ЦОК присутствуют в образцах крови у пациентов со всеми типами солидных опухолей. «ISET®Technology» позволяет идентифицировать все типы ЦОК, без потерь, без повреждений и с высокой чистотой и жизнеспособностью [36].

Сравнительная оценка технологий

«CellSearch» и «ISET» при детекции ЦОК

М. Tamminga et al. [37] проведено сравнительное исследование ЦОК с использованием

платформ «CellSearch» и «ISET» у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Для увеличения чувствительности детекции применялись препараты, полученные с использованием диагностического лейкофереза (ДЛФ). Авторы обратили внимание на то, что платформа «CellSearch» может обрабатывать только ограниченные объемы ДЛФ (~2 мл). Поэтому ими был разработан протокол для подсчета ЦОК в продуктах ДЛФ с использованием платформы «ISET». Они сравнили количество детектируемых ЦОК между платформами «CellSearch®» и «ISET». С адаптированным протоколом «ISET» можно было обрабатывать 10 мл ДЛФ. «CellSearch» в данном исследовании позволял обнаружить ЦОК в 2×10^8 лейкоцитов (в среднем 2 мл). Авторы отмечают, что платформа «ISET» успешно обработала все продукты ДЛФ. Всего было обработано 10–20 мл ДЛФ. «ISET» позволила детектировать ЦОК в 88 % образцов по сравнению с 69 % ($p < 0,05$) с использованием платформы «CellSearch». «ISET» также позволила детектировать ~в 4 раза большее количество ЦОК в одних и тех же пробах (медианное значение ЦОК «ISET» клеток/мл равно 4, медианное значение ЦОК для CellSearch клеток/мл равно 0,9). Клетки, положительные по маркерам EpCAM в пересчете на 1 мл, были обнаружены в одинаковых количествах обоими методами. В целом, платформа «ISET» позволила обработать большие объемы клеток и детектировать большее количество ЦОК по сравнению с платформой «CellSearch».

AccuCyte® Sample Preparation System («RareCyte»)

Относительно недавно для детекции ЦОК появилась исследовательская платформа «RareCyte» [38, 39]. В платформе «RareCyte» реализованы увеличенные возможности для получения ЦОК с более детализированной фенотипической характеристикой подтипов ЦОК и молекулярного анализа отдельных клеток. В этом отношении «RareCyte» представляет собой «новое поколение» клеточных технологий в жидкой биопсии. Для идентификации и анализа ЦОК «RareCyte» разработала интегрированный процесс подготовки образцов, визуализации и поиска отдельных клеток. Первый шаг в этом процессе «AccuCyte®» (центрифугирование клеток в градиенте плотности) позволяет разделить, собрать и перенести на слайд фракцию ядросодержащих клеток крови, которая содержит ЦОК, и провести иммуно-флуоресцентное окрашивание, идентификацию и отбор отдельных клеток для последующего анализа. Сопоставление основных характеристик платформы «RareCyte» с «золотым стандартом» детекции ЦОК (платформа «CellSearch») на одних и тех же образцах крови продемонстрировало их сопоставимость: в образцах крови пациентов количество детектируемых ЦОК в большинстве случаев не превышало значения 200 клеток в 7,5 мл крови у пациентов с колорек-

тальным раком, раком предстательной и молочной железы. С использованием этой же платформы С.А. Blau et al. [40] исследовано количество ЦОК в крови одной пациентки с метастатическим трипленегативным раком молочной железы (клинический случай). В статье исходное количество ЦОК в периферической крови пациентки до начала проведения терапевтических процедур приводится равным 1500 ЦОК/мл, однако на графике указывается равным $1,5 \times 10^{-3}$ клеток/мл. Отсутствие табличных данных не позволяет прояснить эти существенные расхождения. В другой работе с использованием этой же платформы [9] данные о количестве клеток приводятся уже в представлении количества ЦОК/7,5 мл крови. В данной работе более чем в 95 % случаев (20/21) этот показатель не превышал значения 300 ЦОК/7,5 мл (или 40 клеток/мл), и только у одного пациента этот показатель превышал значение 3000 ЦОК/7,5 мл периферической крови. Эти данные наглядно демонстрируют уже ранее приводимые нами данные о том, что количественные показатели содержания ЦОК варьируют в очень широком динамическом диапазоне, но в подавляющем большинстве случаев не превышают значения 300 ЦОК/7,5 мл периферической крови у пациентов с онкологическими заболеваниями. Этот же вывод подтверждается в работе [41], в которой авторы приходят к заключению о том, что ЦОК детектируются у 75 % пациентов с онкологическими заболеваниями, при этом количественные показатели детекции ЦОК имеют медианное значение 2,5 ЦОК/7,5 мл с варьированием в диапазоне от 0 до 170 ЦОК/7,5 мл.

Клинические аспекты использования ЦОК

W.C. Chou et al. [42] проанализирована возможность создания прогностической модели с использованием количественных характеристик циркулирующих опухолевых клеток для прогнозирования результатов выживания у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Авторы использовали протоколы негативной селекции для удаления эритроцитов (лизис) и лейкоцитов (CD45+ селекция) с последующей проточной цитометрией для количественной идентификации ЦОК. Было продемонстрировано, что ЦОК были обнаружены у всех пациентов, и средний показатель количества ЦОК составлял 30,8 /мл (при диапазоне 5,8–431,3 ЦОК/мл). Медиана общей выживаемости (Overall Survival, OS) и безрецидивной (Progression Free Survival, PFS) составили 37,1 и 13,3 мес соответственно у пациентов с количеством ЦОК ≤ 30 /мл, в то время как медиана OS и PFS составили 14,9 и 5,1 мес соответственно у пациентов с ЦОК > 30 /мл ($p < 0,001$). Прогностическая модель, использующая ЦОК в сочетании с другими независимыми клиническими переменными, позволила еще больше дискриминировать пациентов на «хорошие» и «плохие» прогностические группы. Медиана OS и

PFS составляли 32,4 и 11,5 мес в «хорошей» прогностической группе и 5,4 и 2,7 мес соответственно в «плохой» прогностической группе.

D. Boral et al. [43] проведено исследование молекулярных характеристик транскриптомов ЦОК у больных раком молочной железы и их предиктивной роли с точки зрения образования метастазов головного мозга. Для получения и идентификации ЦОК применяли как рутинно используемую платформу «CellSearch®», так и разработанный авторами мультипараметрический препаративный метод с использованием проточной цитофлуориметрии (FACS Aria II, BD Biosciences), состоящий из 3 последовательных этапов: дискриминации и удаления мертвых клеток, удаления клеток, обычно присутствующих в периферической крови, с использованием антител, и положительного отбора PanCK+ (эпителиальных) или CD44+/CD24- ЦОК с признаками «стволовости». Исследования ЦОК необходимы для ранней идентификации, мониторинга и оценки ответа на эффективность лечения метастазов рака молочной железы головного мозга (breast cancer brain metastasis, ВСВМ). С использованием комплексного анализа транскриптомов ЦОК авторами обнаружена уникальная «сигнатура генов циркулирующих опухолевых клеток», которая отличается от первичных тканей рака молочной железы. Дальнейшее исследование сигнатур генов ЦОК позволило идентифицировать сигнальные пути, связанные с ЦОК ВСВМ, которые могут играть роль в потенцировании ВСВМ. По результатам исследования предложены биомаркеры ЦОК и сигнальные пути, вовлеченные в образование ВСВМ, которые могут быть использованы в качестве инструмента скрининга для обнаружения микрометастазов головного мозга либо для принятия рациональных решений о лечении и мониторинга терапевтического ответа у пациентов с ВСВМ.

Заключение

Клиническая практика давно испытывает потребность использования в онкологии малоинвазивных маркеров малигнизации, метастазирования и чувствительности/устойчивости к используемым терапевтическим схемам лечения. Всем этим тре-

бованиям потенциально удовлетворяют малоинвазивные методы детекции, к которым относятся ЦОК и вкДНК. Однако в силу небольших концентраций содержания вышеупомянутых маркеров в биологических жидкостях внедрение этих маркеров в клиническую практику происходит медленно. Это может объясняться несколькими причинами: существует большое количество платформ, описанных для детекции и получения ЦОК без консенсуса относительно идеального технического подхода; множественность потенциальных биомаркеров для оценки опухолевого потенциала, высокая стоимость и методическая сложность доступных в настоящее время методов, которые ограничивают их использование в рутинных клинических исследованиях. В настоящее время клиническая информация, полученная при количественной оценке ЦОК, ограничивается прогнозированием вероятности метастазирования [40, 41]. Однако уже разрабатываются методы использования ЦОК для раннего выявления и мониторинга эффективности используемых индивидуализированных схем лечения. Одной из проблем при работе с ЦОК исследователи считают гетерогенность их свойств и количественных показателей [5, 14, 18]. Однако, с нашей точки зрения, это свойство ЦОК, скорее, свидетельствует о потенциальной информативности этого маркера, позволяющего охарактеризовать феномен клональной клеточной гетерогенности опухолей и своевременного подбора оптимальных терапевтических схем.

Молекулярная характеристика маркеров ЦОК важна при назначении таргетных препаратов и терапевтических процедур, а мониторинг изменяющихся свойств ЦОК во время лечения может стать надежным помощником в постановке своевременного и надежного диагноза, а также своевременной смены схемы лечения [41, 42]. Анализ ЦОК, полученных методом «жидкостной биопсии», может помочь контролировать состояние пациентов в различных временных точках терапии онкологического заболевания, включая детекцию минимального остаточного заболевания, предоставляя ценную информацию о мониторинге эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chaffer C.L., Weinberg R.A. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*. 2011; 331(6024): 1559–64. doi: 10.1126/science.1203543.
2. Di Raimo T., De Santis E., Coppola L., D'Andrea M.R., Angelini F. Circulating tumor cells and the metastatic process: the complexity of malignancy. *J Cancer Metastasis Treat*. 2018; 4: 54. Open Access Review. doi: 10.20517/2394-4722.2018.50.
3. Ashworth T.R. A Case of Cancer in Which Cells Similar to Those in the Tumours Were Seen in the Blood after Death. *The Medical Journal of Australia*. 14: 146–7.
4. Messerschmidt J.L., Bhattacharya P., Messerschmidt G.L. Cancer Clonal Theory, Immune Escape, and Their Evolving Roles in Cancer Multi-Agent Therapeutics. *Curr Oncol Rep*. 2017; 19(10): 66. doi: 10.1007/s11912-017-0625-2.
5. Agnoletto C., Corrà F., Minotti L., Baldassari F., Crudele F., Cook W.J.J., Di Leva G., d'Adamo A.P., Gasparini P., Volinia S. Heterogeneity in Circulating Tumor Cells: The Relevance of the Stem-Cell Subset. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(4): 483. doi: 10.3390/cancers11040483.
6. *Corporate Medical Policy*. An Independent Licensee of the Blue Cross and Blue Shield Association. Detection of Circulating Tumor Cells and Cell Free DNA in Cancer Management AHS-G2054 [Internet]. 2019. URL: https://www.bluecrossnc.com/sites/default/files/document/attachment/services/public/pdfs/medicalpolicy/detection_of_circulating_tumor_cells_and_cell_free_dna_in_cancer_management_4.pdf.
7. Kang H.M., Kim G.H., Jeon H.K., Kim D.H., Jeon T.Y., Park D.Y., Jeong H., Chun W.J., Kim M.H., Park J., Lim M., Kim T.H., Cho Y.K. Circulating tumor cells detected by lab-on-a-disc: Role in early diagnosis of gastric cancer. *PLoS One*. 2017; 12(6). doi: 10.1371/journal.pone.0180251.
8. Miller M.C., Doyle G.V., Terstappen L.W. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the Cell Search System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol*. 2010. doi: 10.1155/2010/617421.
9. Kaldjian E.P., Ramirez A.B., Sun Y., Campton D.E., Werbin J.L., Varshavskaya P., Quarre S., George T., Madan A., Blau C.A., Seubert R. The RareCyte® platform for next-generation analysis of circulating tumor cells. *Cytometry A*. 2018; 93(12): 1220–5. doi: 10.1002/cyto.a.23619.

10. Ferreira M.M., Ramani V.C., Jeffrey S.S. Circulating tumor cell technologies. *Mol Oncol.* 2016; 10(3): 374–94. doi: 10.1016/j.molonc.2016.01.007.

11. Grover P.K., Cummins A.G., Price T.J., Roberts-Thomson I.C., Hardingham J.E. Circulating tumour cells: the evolving concept and the inadequacy of their enrichment by EpCAM-based methodology for basic and clinical cancer research. *Ann Oncol.* 2014; 25(8): 1506–16. doi: 10.1093/annonc/mdu018.

12. Murray N.P., Reyes E., Badínez L., Orellana N., Fuentealba C., Olivares R., Porcell J., Dueñas R. Circulating Prostate Cells Found in Men with Benign Prostate Disease Are P504S Negative: Clinical Implications. *J Oncol.* 2013. doi: 10.1155/2013/165014.

13. Karabacak N.M., Spuhler P.S., Fachin F., Lim E.J., Pai V., Ozkumur E., Martel J.M., Kojic N., Smith K., Chen P.I., Yang J., Hwang H., Morgan B., Trautwein J., Barber T.A., Stott S.L., Maheswaran S., Kapur R., Haber D.A., Toner M. Microfluidic, marker-free isolation of circulating tumor cells from blood samples. *Nat. Protoc.* 2014; 9(3): 694–710. doi: 10.1038/nprot.2014.044.

14. Mitra A., Mishra L., Li S. EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance. *Oncotarget.* 2015; 6(13): 10697–711. doi: 10.18632/oncotarget.4037.

15. Vishnoi M., Peddibhotla S., Yin W., T. Scamardo A., George G.C., Hong D.S., Marchetti D. The isolation and characterization of CTC subsets related to breast cancer dormancy. *Sci Rep.* 2015; 5: 17533. doi: 10.1038/srep17533.

16. Reinhardt F., Franken A., Meier-Stiegen F., Driemel C., Stoeklein N.H., Fischer J.C., Niederacher D., Ruckhaeberle E., Fehm T., Neubauer H. Diagnostic Leukapheresis Enables Reliable Transcriptomic Profiling of Single Circulating Tumor Cells to Characterize Inter-Cellular Heterogeneity in Terms of Endocrine Resistance. *Cancers (Basel).* 2019; 11(7): 903. doi: 10.3390/cancers11070903.

17. Broncy L., Paterlini-Bréchet P. Clinical Impact of Circulating Tumor Cells in Patients with Localized Prostate Cancer. *Cells.* 2019; 8(7): 676. doi: 10.3390/cells8070676.

18. Marchetti A., Del Grammasio M., Felicioni L., Malatesta S., Filice G., Centi I., De Pas T., Santoro A., Chella A., Brandes A.A., Venturino P., Cuccurullo F., Crinò L., Buttitta F. Assessment of EGFR mutations in circulating tumor cell preparations from NSCLC patients by next generation sequencing: toward a real-time liquid biopsy for treatment. *PLoS One.* 2014; 9(8). doi: 10.1371/journal.pone.0103883.

19. Ellsworth R.E., Blackburn H.L., Shriver C.D., Soon-Shiong P., Ellsworth D.L. Molecular heterogeneity in breast cancer: State of the science and implications for patient care. *Semin Cell Dev Biol.* 2017; 64: 65–72. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.08.025.

20. Wang Y., Waters J., Leung M.L., Unruh A., Roh W., Shi X., Chen K., Scheet P., Vattathil S., Liang H., Multani A., Zhang H., Zhao R., Michor F., Meric-Bernstam F., Navin N.E. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature.* 2014; 512(7513): 155–60. doi: 10.1038/nature13600.

21. Williams M.J., Sottoriva A., Graham T.A. Measuring Clonal Evolution in Cancer with Genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2019; 20: 309–29. doi: 10.1146/annurev-genom-083117-021712.

22. Francart M.E., Lambert J., Vanwynsberghe A.M., Thompson E.W., Bourcy M., Polette M., Gilles C. Epithelial-mesenchymal plasticity and circulating tumor cells: Travel companions to metastases. *Dev Dyn.* 2018; 247(3): 432–50. doi: 10.1002/dvdy.24506.

23. Pastushenko I., Blanpain C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. *Trends Cell Biol.* 2019; 29(3): 212–26. doi: 10.1016/j.tcb.2018.12.001.

24. Werner S., Stenzl A., Pantel K., Todenhöfer T. Expression of Epithelial Mesenchymal Transition and Cancer Stem Cell Markers in Circulating Tumor Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 994: 205–28. doi: 10.1007/978-3-319-55947-6_11.

25. Veridex L.L.C. CellSearch™. Circulating Tumor Cell Kit. Pre-market Notification- Expanded Indications for Use Metastatic Prostate Cancer [Internet]. URL: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf7/K073338.pdf.

26. Cabel L., Proudhon C., Gortais H., Loirat D., Coussy F., Pierga J.Y., Bidard F.C. Circulating tumor cells: clinical validity and utility. *Int J Clin Oncol.* 2017; 22(3): 421–30. doi: 10.1007/s10147-017-1105-2.

27. Kallergi G., Politaki E., Alkahtani S., Stournaras C., Georgoulas V. Evaluation of Isolation Methods for Circulating Tumor Cells (CTCs). *Cell Physiol Biochem.* 2016; 40(3–4): 411–9. doi: 10.1159/000452556.

28. Cristofanilli M., Budd G.T., Ellis M.J., Stopeck A., Matera J., Miller M.C., Reuben J.M., Doyle G.V., Allard W.J., Terstappen L.W., Hayes D.F. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2004; 351(8): 781–91. doi: 10.1056/NEJMoa040766.

29. Negin B.P., Cohen S.J. Circulating tumor cells in colorectal cancer: past, present, and future challenges. *Curr Treat Options Oncol.* 2010; 11(1–2): 1–13. doi: 10.1007/s11864-010-0115-3.

30. Resel Folkersma L., Olivier Gómez C., San José Manso L., Veganzones de Castro S., Galante Romo I., Vidaurreta Lázaro M., de la Orden G.V., Arroyo Fernández M., Díaz Rubio E., Silmi Moyano A., Maestro de Las Casas M.A. Immunomagnetic quantification of circulating tumoral cells in patients with prostate cancer: clinical and pathological correlation. *Arch Esp Urol.* 2010; 63(1): 23–31.

31. Riethdorf S., Pantel K. Advancing personalized cancer therapy by detection and characterization of circulating carcinoma cells. *Ann NY Acad Sci.* 2010; 1210: 66–77. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05779.x.

32. Aggarwal C., Meropol N.J., Punt C.J., Iannotti N., Saidman B.H., Sabbath K.D., Gabrail N.Y., Picus J., Morse M.A., Mitchell E., Miller M.C., Cohen S.J. Relationship among circulating tumor cells, CEA and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2013; 24(2): 420–8. doi: 10.1093/annonc/mds336.

33. Кум О.И., Нистратова О.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Никпелова Е.А., Непомнящая Е.М., Ульянова Е.П., Олейникова Е.Н. Ассоциация между наличием KRAS-мутаций в опухоли и количеством циркулирующих опухолевых клеток у больных колоректальным раком. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2016; 1(156): 70–3. [Kit O.I., Nistratova O.V., Novikova I.A., Vodolazhsky D.I., Nikipelova E.A., Nepomnyashchaya E.M., Ulyanova E.P., Oleinikova E.N. The association between the presence of KRAS mutations in the tumor and the number of circulating tumor cells in patients with colorectal cancer. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2016; 1(156): 70–3. (in Russian)].

34. To expand the indication for use of the CellSearch™ CTC Assay for use with colon cancer as well as the previously cleared breast cancer [Internet]. URL: www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K071729.

35. Allard W.J., Matera J., Miller M.C., Repollet M., Connelly M.C., Rao C., Tibbe A.G., Uhr J.W., Terstappen L.W. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004; 10(20): 6897–904. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0378.

36. Farace F., Massard C., Vimond N., Drusch F., Jacques N., Billiot F., Laplanche A., Chauchereau A., Lacroix L., Plancharde D., Le Moulec S., André F., Fizazi K., Soria J.C., Vielh P. A direct comparison of CellSearch and ISET for circulating tumour-cell detection in patients with metastatic carcinomas. *Br J Cancer.* 2011; 105(6): 847–53. doi: 10.1038/bjc.2011.294.

37. Tamminga M., Andree K.C., Hiltermann T.J.N., Jayat M., Schuuring E., van den Bos H., Spierings D.C.J., Lansdorp P.M., Timens W., Terstappen L.W.M.M., Groen H.J.M. Detection of Circulating Tumor Cells in the Diagnostic Leukapheresis Product of Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Comparing CellSearch® and ISET. *Cancers (Basel).* 2020; 12(4): 896. doi: 10.3390/cancers12040896.

38. Campton D.E., Ramirez A.B., Nordberg J.J., Droveton N., Clein A.C., Varshavskaya P., Friemel B.H., Quarre S., Berman A., Dorschner M., Blau S., Blau C.A., Sabath D.E., Stilwell J.L., Kaldjian E.P. High-resolution visual identification and single-cell retrieval of circulating tumor cells for genomic analysis using a dual-technology platform integrated with automated immunofluorescence staining. *BMC Cancer.* 2015; 15: 360. doi: 10.1186/s12885-015-1383-x.

39. Werbin J.L., Nordberg J.J., Tzucker J., Varshavskaya P., Stilwell J.L., Kaldjian E.P. RareCyte® CTC Analysis Step 2: Detection of Circulating Tumor Cells by CyteFinder® Automated Scanning and Semiautomated Image Analysis. *Methods Mol Biol.* 2017; 1634: 173–80. doi: 10.1007/978-1-4939-7144-2_14.

40. Blau C.A., Ramirez A.B., Blau S., Pritchard C.C., Dorschner M.O., Schmechel S.C., Martins T.J., Mahen E.M., Burton K.A., Komashko V.M., Radenbaugh A.J., Dougherty K., Thomas A., Miller C.P., Annis J., Fromm J.R., Song C., Chang E., Howard K., Austin S., Schmidt R.A., Linenberger M.L., Becker P.S., Senecal F.M., Mecham B.H., Lee S.I., Madan A., Ronen R., Dutkowski J., Heimfeld S., Wood B.L., Stilwell J.L., Kaldjian E.P., Haussler D., Zhu J. A Distributed Network for Intensive Longitudinal Monitoring in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016; 14(1): 8–17. doi: 10.6004/jcn.2016.0003.

41. Chalfin H.J., Glavaris S.A., Gorin M.A., Kates M.R., Fong M.H., Dong L., Matoso A., Bivalacqua T.J., Johnson M.H., Pienta K.J., Hahn N.M., McConkey D.J. Circulating Tumor Cell and Circulating Tumor DNA Assays Reveal Complementary Information for Patients with Metastatic Urothelial Cancer. *Eur Urol Oncol.* 2021; 4(2): 310–4. doi: 10.1016/j.euo.2019.08.004.

42. Chou W.C., Wu M.H., Chang P.H., Hsu H.C., Chang G.J., Huang W.K., Wu C.E., Hsieh J.C. A Prognostic Model Based on Circulating Tumor Cells is Useful for Identifying the Poorest Survival Outcome in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Int J Biol Sci.* 2018; 14(2): 137–46. doi: 10.7150/ijbs.23182.

43. Boral D., Vishnoi M., Liu H.N., Yin W., Sprouse M.L., Scamardo A., Hong D.S., Tan T.Z., Thiery J.P., Chang J.C., Marchetti D. Molecular characterization of breast cancer CTCs associated with brain metastasis. *Nat Commun.* 2017; 8(1): 196. doi: 10.1038/s41467-017-00196-1.

Поступила/Received 01.04.2020
 Одобрена после рецензирования/Revised 17.08.2020
 Принята к публикации/Accepted 08.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Водолажский Дмитрий Игоревич, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: dvodolazhsky@gmail.com. SPIN-код: 6660-5361. Researcher ID (WOS): AAF-7800-2020. Author ID (Scopus): 6506507156. ORCID: 0000-0003-1114-8732.

Нехаева Татьяна Леонидовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5366-8969. Researcher ID (WOS): L-7268-2018. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Балдуева Ирина Александровна, доктор медицинских наук, руководитель отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7512-8789. Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

ВКЛАД АВТОРОВ

Водолажский Дмитрий Игоревич: поиск и анализ научной литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания и компоновка материала.

Нехаева Татьяна Леонидовна: общее руководство проектом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Балдуева Ирина Александровна: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают свою искреннюю благодарность сотрудникам редакции СОЖ за помощь при оформлении рукописи статьи.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry I. Vodolazhsky, PhD, Researcher of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). E-mail: dvodolazhsky@gmail.com. Researcher ID (WOS): AAF-7800-2020. Author ID (Scopus): 6506507156. ORCID: 0000-0003-1114-8732.

Tatyana L. Nekhaeva, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): L-7268-2018. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Irina A. Baldueva, MD, DSc, Head of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitry I. Vodolazhsky: data collection and analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content and layout of the material.

Tatyana L. Nekhaeva: general project management, supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Irina A. Baldueva: study conception, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

No additional funding was required to write this article.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors express their sincere gratitude to the editorial staff of Siberian Journal of Oncology for their help in completing the manuscript.