

Для цитирования: Михайлов И.В., Гребенник И.В., Глазков А.А., Круглова И.А., Кузнецова С.А., Балканов А.С. Параметры циркулирующих в крови опухолевых клеток в период проведения системной терапии при первичном раке молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2026; 25(2): 67–79. – doi: 10.21294/1814-4861-2026-25-2-67-79
For citation: Mikhailov I.V., Grebennik I.V., Glazkov A.A., Kruglova I.A., Kuznetsova S.A., Balkanov A.S. Circulating tumor cell parameters during systemic therapy in primary breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2026; 25(2): 67–79. – doi: 10.21294/1814-4861-2026-25-2-67-79

ПАРАМЕТРЫ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ПЕРВИЧНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.В. Михайлов¹, И.В. Гребенник², А.А. Глазков¹, И.А. Круглова³,
С.А. Кузнецова^{2,4}, А.С. Балканов¹

¹ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Россия, 117198, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1

³ГБУЗ НО «Городская больница 35 г. Нижнего Новгорода»

Россия, 603089, г. Нижний Новгород, ул. Республиканская, 47

⁴ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии»

Российской академии наук

Россия, 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30

Аннотация

Циркулирующие в крови опухолевые клетки (ЦОК) часто исследуют с точки зрения их прогностической значимости при системной терапии в периоперационном периоде (СТпери) первичного рака молочной железы (пРМЖ). Пока не ясно, существуют ли уникальные особенности изменения параметров ЦОК, которые можно использовать в качестве предиктора эффективности неoadъювантной (неоСТ) или адъювантной (аСТ) системной терапии. **Цель исследования** – сравнительный анализ параметров однократно выделенных ЦОК у пациенток с пРМЖ с высоким риском прогрессирования, получающих неоСТ или аСТ. **Материал и методы.** В исследование включено 39 пациенток с пРМЖ, получивших неоСТ (1-я группа, n=16) или аСТ (2-я группа, n=23). Забор крови для выделения ЦОК методом микрофилтрации осуществлялся однократно, после 2–5 циклов СТпери. **Результаты.** Количество ЦОК позитивных пациенток (1-я группа – 87,5 %, 2-я группа – 82,6 % пациенток), частота выделения 5 и более ЦОК (37,5 и 52,2 % пациенток в 1-й и 2-й группах соответственно, p=0,563), а также кластеров ЦОК (у 56,2 и у 43,5 % пациенток в 1-й и 2-й группах соответственно, p=0,646) в группах неоСТ или аСТ оказались сравнимыми. Не установлено существенных различий количественных параметров (Me) ЦОК (1-я группа – 3 [1,8; 7,8] ЦОК, 2-я группа – 5 [2; 6,5] ЦОК, p=0,785). Вне зависимости от группы у большинства пациенток кластеры ЦОК состояли из 2–3 клеток (в 1-й группе у 88,9 %, во 2-й – у 100 % пациенток). При СТпери выделение большого числа ЦОК ассоциировалось с обнаружением кластеров ЦОК и наличием лимфогенных метастазов. **Заключение.** При неоСТ и аСТ количество и характеристики ЦОК существенно не отличались, что может указывать на незначительное влияние резекции молочной железы на вышеперечисленные параметры. Полученные данные также могут свидетельствовать о сравнимой прогностической значимости параметров выделенных ЦОК у пациенток с пРМЖ при прогнозе эффективности СТпери безотносительно последовательности, в которой осуществлялись системная терапия и хирургическое вмешательство.

Ключевые слова: рак молочной железы, циркулирующие опухолевые клетки, кластеры, системная терапия, периоперационный период, микрофилтрация, цитологический анализ.

CIRCULATING TUMOR CELL PARAMETERS DURING SYSTEMIC THERAPY IN PRIMARY BREAST CANCER

I.V. Mikhailov¹, I.V. Grebennik², A.A. Glazkov¹, I.A. Kruglova³,
S.A. Kuznetsova^{2,4}, A.S. Balkanov¹

¹M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute
61/2, Shchepkina St., Moscow, 129110, Russia

²D. Rogachev National Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Health of Russia

1, Samory Mashela St., Moscow, 117198, Russia

³City Hospital No. 35

47, Respublikanskaya St., Nizhny Novgorod, 603089, Russia

⁴Centre for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology of the Russian Academy of Sciences
30, Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow, 109029, Russia

Abstract

Circulating tumor cells (CTCs) are frequently studied in terms of their prognostic significance during perioperative systemic therapy (periST) for breast cancer (BC). It is not yet clear whether there are unique changes in the CTC parameters that could be used as a predictor of the effectiveness of neoadjuvant (neoST) or adjuvant (aST) systemic therapy. **The aim of the study** was a comparative analysis of parameters of once-isolated CTCs in BC patients with high risk of progression, who received neoST or aST. **Material and Methods.** The study included BC 39 patients who received neo-ST (group 1: 16 patients) or aST (group 2: 23 patients). Blood sampling for CTC isolation using microfiltration was performed after 2–5 cycles of periST. **Results.** No significant differences in the number of CTC-positive patients (87.5 % in group 1 and 82.6 % in group 2) and the frequency of isolation of 5 or more CTCs (37.5 % in group 1 and 52.2 % in group 2, $p=0.563$), as well as CTC clusters (56.2 % and 43.5 % of patients in groups 1 and 2 groups, respectively, $p=0.646$) between the neoST and aST groups were found. There were no significant differences in the quantitative parameters (Me) of CTCs between the groups (1 group – 3 [1.8; 7.8] CTCs, 2 group – 5 [2; 6.5] CTCs, $p=0.785$). Regardless of the group, most patients had CTC clusters consisting of 2 to 3 cells (88.9 % and 100 % of patients in groups 1 and 2, respectively). During peri ST, a high count of CTCs was associated with the detection of CTC clusters and the presence of lymphatic metastases. **Conclusion.** No significant differences in CTC count and characteristics between the neoST and aST groups were found. It indicates that breast tumor resection has a minor effect on CTC parameters. The findings highlight that CTCs hold similar prognostic value regardless of whether they are measured before or after surgery, aiding in the prediction of periST.

Key words: breast cancer, circulating tumor cells, clusters, systemic therapy, perioperative period, microfiltration, cytological analysis.

Введение

Доля рака молочной железы (РМЖ) среди ежегодно выявляемых случаев онкопатологии у женщин составляет 31 %, что соответствует 1-му месту в структуре онкологической заболеваемости. Являясь ежегодной причиной гибели 15–16,6 % онкологических пациенток, РМЖ занимает лидирующие позиции (2-е место) и в структуре онкологической смертности [1, 2]. В подавляющем числе случаев (75,5 %) смерть пациенток с РМЖ вызвана развитием отдаленных метастазов (ОМ) [3], которые в течение первых 5 лет после выявления первичной опухоли молочной железы (пРМЖ) диагностируются у 20 % пациенток [4]. При прогрессировании метастазы в костях выявляются у 60–75 %, в легких – у 32–37 %, в печени – у 32–35 %, в головном мозге – у 10 % пациенток [5, 6]. Даже при T1 (предиктор низкого риска ОМ) прогрессирование ежегодно выявляется у 1 % пациенток [4].

Для снижения риска прогрессирования пРМЖ в периоперационном периоде используют неoadъювантную (неоСТ) или адъювантную (аСТ) системную терапию [7–10]. Предикторами эффективности системной терапии в периоперационном периоде (СТпери) являются клиничко-морфологические признаки высокого риска прогрессирования. Сравнительный анализ чувствительности опухоли к неоСТ и аСТ, основанный на выживаемости пациенток, установил, что оба вида СТпери равно эффективны [7, 8, 10]. Среди преимуществ неоСТ отмечают возможность использовать сразу после ее завершения еще один предиктор эффективности лечения, основанный на динамике изменения размеров опухоли [11–13]. В отношении аСТ не существует предикторов, дающих возможность оценить степень цитотоксического эффекта в момент ее проведения или сразу после завершения лечения. В этой связи очевидна необходимость поиска новых биомаркеров, использование которых

на самых ранних этапах лечения пРМЖ (в период проведения СТпери) позволит установить степень толерантности опухоли к проводимой терапии.

Предпринимаются попытки использовать результаты выделения циркулирующих в крови опухолевых клеток (ЦОК) в качестве предиктора эффективности СТпери при пРМЖ. Известно, что пациентки, в крови которых до начала СТпери выявлены ЦОК, имеют значительно меньшую безрецидивную выживаемость, чем пациентки, у которых ЦОК не были найдены [11, 13–16]. Пока не выявлена взаимосвязь между концентрацией ЦОК и уже известными предикторами, например ответом опухоли на неоСТ [11–13]. Наоборот, даже однократное обнаружение ЦОК при проведении СТпери некоторыми авторами уже предлагается рассматривать как независимый предиктор, свидетельствующий о резистентности опухоли к терапии и, как следствие, о высоком риске прогрессирования [14–19]. Вместе с тем, современные представления о патогенезе формирования пула ЦОК до и после операции у пациенток с пРМЖ, а также данные, свидетельствующие о возможном уменьшении числа ЦОК при резекции опухоли [11, 14, 20], дают основание предполагать наличие уникальной прогностической значимости концентрации ЦОК в период проведения того или иного вида СТпери.

Цель исследования – сравнительный анализ количества выделяемых ЦОК в качестве раннего предиктора эффективности лечения у пациенток с пРМЖ с высоким риском прогрессирования, получающих неоСТ или аСТ.

Материал и методы

В проспективное исследование включено 39 пациенток с пРМЖ высокого риска прогрессирования (табл. 1), которые получали СТпери в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с октября 2023 г. по декабрь 2024 г. Шестнадцати пациенткам проводилась неоСТ (1-я группа), 23 – аСТ (2-я группа). Основанием для назначения СТпери являлось наличие следующих признаков высокого риска прогрессирования пРМЖ: лимфогенное метастазирование (N+), размер опухоли ≥ 2 см, HER2 позитивный (HER2+) или трипленегативный (ТПн) статус, Ki67 > 20 %, G3. В группе неоСТ критерий T определялся на основании данных инструментального обследования, в группе аСТ – на основании морфологического исследования операционного материала.

Для выделения ЦОК забор крови осуществлялся однократно, после 2–5 циклов СТпери. Выделение ЦОК осуществлялось методом микрофилтрации: 7,5 мл цельной крови, взятой из локтевой вены в пробирку с K_3 ЭДТА, разбавляли в 2 раза фосфатно-солевым буфером (ФСБ, pH 7,4), содержащим 1 % бычьего сывороточного альбумина (БСА). Полученный раствор с помощью шприцевого насоса

прокачивали со скоростью 0,5 мл/мин через поликарбонатную трековую мембрану с порами диаметром $7 \pm 0,5$ мкм и плотностью пор $2 \times 10^4/\text{см}^2$ (it4ip, Бельгия). При этом клетки крови проходят сквозь поры трековой мембраны, а ЦОК задерживаются на поверхности мембраны. После окончания фильтрации трековую мембрану с находящимися на ее поверхности клетками заливали чистой телячьей сывороткой, помещали на предметное стекло и высушивали. Анализ клеток проводился с помощью световой микроскопии в светлом поле при $\times 1000$.

Для иммуноцитохимического окрашивания эпителиальную молекулу адгезии (ЕрСАМ), высушенную трековую мембрану с находящимися на ее поверхности клетками в течение 10 сек фиксировали 10 % раствором формалина в этаноле, отмывали в фосфатно-солевом буфере, выдерживали в 100 мМ растворе глицина в течение 10 мин, затем забивали 1 % раствором БСА в ФСБ в течение 1 ч. После забивки образец инкубировали 1 ч с первичными моноклональными мышиными антителами к ЕрСАМ (клон VU-1D9, ПраймБиоМед) в концентрации 20–50 мкг/мл, отмывали 1 % БСА на ФСБ, инкубировали 1 ч с вторичными козьими антителами к мышиным IgG, конъюгированными с пероксидазой хрена, отмывали 1 % БСА на ФСБ, выдерживали 1 ч с тиаминобензидином (Сигма), после чего отмывали водой и высушивали. Для визуализации ядра клетку затем окрашивали по Паппенгейму.

Для иммунофлуоресцентного окрашивания образец фиксировали и забивали, как описано выше; в качестве первичных антител использовали моноклональные мышиные антитела к ЕрСАМ, конъюгированные с флуоресцеин изотиоцианатом (FITC) (ПраймБиоМед).

Все инкубации проводили при комнатной температуре.

Клеточная суспензия исследовалась двумя независимыми цитологами (И.К. и С.К.). Идентификацию ЦОК после окраски по Паппенгейму проводили на основании следующих цитоморфологических критериев (рис. 1): диаметр клетки больше 12 мкм, высокий ядерно-цитоплазматический индекс, эксцентрично расположенное ядро, нарушения контура ядерной мембраны (неравномерность, извилистость, с грубыми вырезами), гиперхромия ядра, грубоглыбчатая или крупнозернистая структура хроматина, складчатое ядро, гипертрофия ядрышек. Также признаками злокачественности считали наличие многоядерных клеток с полиморфными ядрами и образование кластеров. Кластерами считали скопления из нескольких соприкасающихся клеток, содержащих хотя бы одну ЦОК. Кластеры, состоящие только из ЦОК, считали гомотипическими, содержащие также нормальные клетки крови – гетеротипическими. Кластеры разделяли на небольшие (состоящие из 2–3 клеток) и крупные, содержащие 4 и более

Таблица 1/Table 1

Характеристики пациенток с первичным раком молочной железы, получавших системную терапию в периоперационном периоде

Characteristics of BC patients who received perioperative systemic therapy

Параметры/Parameters		СТпери/peri ST (n=39)		p
		1-я группа, неоСТ/ Group 1, neoST (n=16)	2-я группа, аСТ/ Group 2, aST (n=23)	
Возраст, лет/ Age, years	M ± SD	54,6 ± 11,1	59,9 ± 10,3	0,119 ^a
	Me [LQ; UQ] min-max	56 [48; 60,2] 35–75	64 [54; 67] 35–73	
T	< 3 см [95 % ДИ]	10 (62,5 %) [38,6 %; 81,5 %]	23 (100 %) [85,7 %; 100 %]	0,002 ^{*b}
	≥ 3 см [95 % ДИ]	6 (37,5 %) [18,5 %; 61,4 %]	0 (0 %) [0 %; 14,3 %]	
N	N+ [95 % ДИ]	14 (87,5 %) [64 %; 96,5 %]	12 (52,2 %) [33 %; 70,8 %]	0,05 ^c
	N- [95 % ДИ]	2 (12,5 %) [3,5 %; 36 %]	11 (47,8 %) [29,2 %; 67 %]	
HER+	0 [95 % ДИ]	7 (43,8 %) [23,1 %; 66,8 %]	12 (52,2 %) [33 %; 70,8 %]	0,904 ^b
	1+ [95 % ДИ]	4 (25 %) [10,2 %; 49,5 %]	5 (21,7 %) [9,7 %; 41,9 %]	
	2+ [95 % ДИ]	0 (0 %) [0 %; 19,4 %]	1 (4,3 %) [0,8 %; 21 %]	
	3+ [95 % ДИ]	5 (31,2 %) [14,2 %; 55,6 %]	5 (21,7 %) [9,7 %; 41,9 %]	
Ki67	M ± SD	42,8 ± 20,3	35,3 ± 17,3	0,224 ^d
	Me [LQ; UQ] min-max	41 [24,8; 60,8] 15 – 70	30 [24; 41] 14 – 78	
G	2 [95 % ДИ]	4 (36,4 %) [15,2 %; 64,6 %]	13 (59,1 %) [38,7 %; 76,7 %]	0,389 ^c
	3 [95 % ДИ]	7 (63,6 %) [35,4 %; 84,8 %]	9 (40,9 %) [23,3 %; 61,3 %]	
LV	LV- [95 % ДИ]	–	10 (66,7 %) [41,7 %; 84,8 %]	1 ^b
	LV + [95 % ДИ]	–	5 (33,3 %) [15,2 %; 58,3 %]	
Pn	Pn - [95 % ДИ]	–	13 (86,7 %) [62,1 %; 96,3 %]	1 ^b
	Pn + [95 % ДИ]	–	2 (13,3 %) [3,7 %; 37,9 %]	
Подтип опухоли/ Subtype of tumor	A [95 % ДИ]	1 (6,2 %) [1,1 %; 28,3 %]	2 (8,7 %) [2,4 %; 26,8 %]	0,972 ^b
	B [95 % ДИ]	8 (50 %) [28 %; 72 %]	12 (52,2 %) [33 %; 70,8 %]	
	B/HER [95 % ДИ]	0 (0 %) [0 %; 19,4 %]	1 (4,3 %) [0,8 %; 21 %]	
	HER+ [95 % ДИ]	5 (31,2 %) [14,2 %; 55,6 %]	5 (21,7 %) [9,7 %; 41,9 %]	
	ТПн [95 % ДИ]	2 (12,5 %) [3,5 %; 36 %]	3 (13 %) [4,5 %; 32,1 %]	

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – точный критерий Фишера; ^c – тестирование не проводилось; ^d – критерий Стьюдента; ^e – критерий χ^2 ; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney test; ^b – Fisher’s exact criterion; ^c – no testing was performed; ^d – Student’s test; ^e – Chi-square criterion; created by the authors.

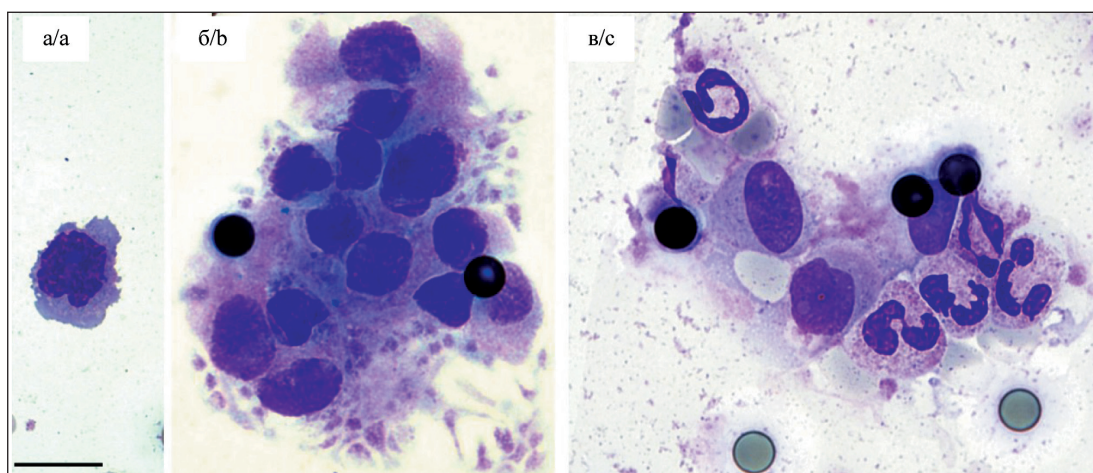


Рис. 1. Микрофото. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в крови пациенток с первично выявленным раком молочной железы: а) одиночная ЦОК с эксцентрично расположенным гиперхромным ядром с неровными (складчатыми) контурами; б) гомотипический кластер; в) гетеротипический кластер (включает нейтрофилы). Окраска по Паппенгейму, $\times 1000$.

Размерный отрезок соответствует 15 мкм. Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Microphoto. Circulating tumor cells (CTCs) in the blood of BC patients: a) a single CTC with an eccentrically located hyperchromatic nucleus with irregular (folded) contours; b) a homotypic CTC cluster; c) a heterotypic CTC cluster (including neutrophils). Papanicolaou staining, $\times 1000$. The size bar corresponds to 15 μm . Note: created by the authors

клеток. ЦОК, входящие в состав кластеров, учитывали при подсчете общего числа обнаруженных циркулирующих опухолевых клеток. Клетку, в которой не визуализировалась цитоплазма, считали «голым» ядром [21, 22].

Статистический анализ был выполнен в программе RStudio 2024.12.1 Build 563 (Posit Software, PBC) с помощью языка R версии 4.3.3. Для количественных переменных рассчитывали средние арифметические значения и стандартные отклонения ($M \pm SD$), медианы и квартили ($Me [LQ; UQ]$), минимум и максимум ($\text{min} - \text{max}$). Одновременное представление количественных переменных с помощью $M \pm SD$ и $Me [LQ; UQ]$ обусловлено характером анализируемых данных. Число ЦОК является дискретной счетной величиной. Такие величины, как правило, имеют распределение Пуассона или отрицательное биномиальное распределение. Для этих распределений математическое ожидание (M) и дисперсия (SD^2) являются фундаментальными параметрами распределения, а медиана и квартили дополняют картину распределения в выборке.

Проверку нормальности распределения количественных признаков проводили с помощью теста Шапиро–Уилка. Сравнение количественных переменных проводили с помощью критерия Манна–Уитни / теста Стьюдента (в зависимости от результатов проверки на нормальность). Сравнение показателей в трех группах проводили с помощью теста Крускала–Уоллиса. Для качественных переменных рассчитывали абсолютные и относительные частоты. Сравнение проводили с помощью теста χ^2 или точного теста Фишера. Нулевые гипотезы отвергали при $p < 0,05$.

Результаты

При сравнении клинико-морфологических показателей в группе пациенток, получавших неоСТ (группа 1), чаще выявляли первичные опухоли диаметром, равным или превышающим 3 см (1-я группа – 37,5 %, 2-я группа – 0 % пациенток, $p=0,002$). В 1-й группе также выявлена тенденция увеличения числа пациенток с лимфогенным метастазированием (1-я группа – 87,5 %, 2-я группа – 52,2 % пациенток, $p=0,05$). При сравнении в группах иных морфологических и возрастных параметров значимых различий не выявлено.

Поскольку золотым стандартом определения ЦОК является экспрессия эпителиальной молекулы адгезии (EpcAM), у 4 и 2 пациенток соответственно проведено иммуноцитохимическое и иммунофлуоресцентное окрашивание клеточной суспензии на EpcAM. На рис. 2 представлено сравнение ЦОК, выделенных из крови одних и тех же пациенток, при стандартной окраске по Паппенгейму и после иммуноцитохимического окрашивания на EpcAM. Можно видеть, что ЦОК, выделенные на основании цитологических критериев злокачественности [23], также экспрессировали и EpcAM. В дальнейшем для выделения ЦОК мы использовали только цитологический анализ.

Сравнительный анализ частоты выделения ЦОК (табл. 2) показал, что число пациенток, у которых обнаружены ЦОК, в обеих группах сравнимо (1-я группа – 87,5 %, 2-я группа – 82,6 % пациенток). Также существенно не отличалась частота выделения 5 и более ЦОК (1-я группа – 37,5 %, 2-я группа – 52,2 % пациенток, $p=0,563$), а также кластеров ЦОК (1-я группа – 56,2 %, 2-я группа – 43,5 % пациенток, $p=0,646$). Вне зависимости от группы у большинства пациенток кластеры ЦОК

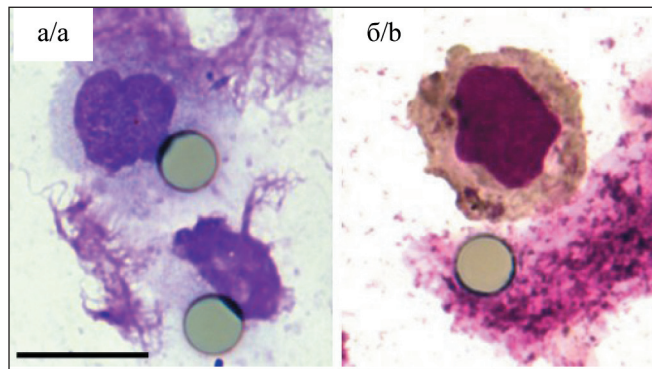


Рис. 2. Микрофото. Циркулирующие опухолевые клетки в крови пациенток с первично выявленным раком молочной железы: а) окраска по Паппенгейму, б) иммуноцитохимическое окрашивание на EpCAM (тотальное светло-коричневое окрашивание цитоплазмы). ×1000. Размерный отрезок соответствует 15 мкм. Примечание: рисунок выполнен авторами
 Fig. 2. Microphoto. Circulating tumor cells in the blood of BC patients: a) Pappenheim staining, b) immunocytochemical staining for EpCAM (total light brown staining of the cytoplasm). ×1000. The size bar corresponds to 15 μm. Note: created by the authors

Таблица 2/Table 2

Сравнительный анализ кратности выделения циркулирующих в крови опухолевых клеток при первично выявленном раке молочной железы во время проведения неoadъювантной или адъювантной системной терапии

Comparative analysis of the frequency of circulating tumor cells in the blood of BC patients during neoadjuvant or adjuvant systemic therapy

Параметры/Parameters	Кол-во пациентов/Number of patients		p
	1-я группа, неоСТ/ Group 1, neoST (n=16)	2-я группа, аСТ/ Group 2, aST (n=23)	
ЦОК+/СТС+ [95 % ДИ]	14 (87,5 %) [64 %; 96,5 %]	19 (82,6 %) [62,9 %; 93 %]	1 ^a
ЦОК≥5+/СТ≥5+ [95 % ДИ]	6 (37,5 %) [18,5 %; 61,4 %]	12 (52,2 %) [33 %; 70,8 %]	0,563 ^b
Кластеры+/Clusters+, n [95 % ДИ]	9 (56,2 %) [33,2 %; 76,9 %]	10 (43,5 %) [25,6 %; 63,2 %]	0,646 ^b
Кластеры 2/3 ЦОК/ Clusters 2/3СТС + [95 % ДИ]	8 (88,9 %) [56,5 %; 98 %]	10 (100 %) [72,2 %; 100 %]	0,474 ^a
Кластеры ≥4 ЦОК/ Clusters ≥4 СТС + [95 % ДИ]	2 (22,2 %) [6,3 %; 54,7 %]	0 (0 %) [0 %; 27,8 %]	0,211 ^a
Гомотипические кластеры/ Homotypic clusters + [95 % ДИ]	7 (77,8 %) [45,3 %; 93,7 %]	8 (80 %) [49 %; 94,3 %]	1 ^a
Гетеротипические кластеры/ Heterotypic clusters + [95 % ДИ]	3 (33,3 %) [12,1 %; 64,6 %]	4 (40 %) [16,8 %; 68,7 %]	1 ^a

Примечания: ^a – точный критерий Фишера; ^b – критерий χ²; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Fisher’s exact criterion; ^b – Chi-square criterion; created by the authors.

состояли из 2–3 клеток (1-я группа – 88,9 %, 2-я группа – у 100 % пациенток). Только в группе неоСТ у 22,2 % пациенток обнаружены кластеры, состоящие из 4 и более клеток. Анализ частоты выделения гомотипических и гетеротипических кластеров не установил существенных различий в зависимости от вида СТпери. Следует отметить, что в обеих группах гомотипические кластеры выявлялись в 2 раза чаще, чем гетеротипические (табл. 2).

Сравнительный количественный анализ ЦОК (табл. 3) показал, что число (Me) ЦОК в 1-й и 2-й группах не различалось и составило 3 [1,8; 7,8] и 5 [2; 6,5] (p=0,785) клеток соответственно. Также не установлено существенных различий при сравне-

нии ядерно-цитоплазматических индексов (ЯЦИ) ЦОК (Me) в обеих группах (0,835 [0,708; 1,485] и 1,02 [0,835; 1,17], p=0,401).

С учетом того, что число выявленных ЦОК считается важнейшим прогностическим фактором уровня выживаемости при ПРМЖ, мы провели анализ параметров, оказывающих влияние на этот показатель в каждой группе. В 1-й группе (табл. 4) число выделенных ЦОК у пациенток с ТПн подтипом было почти в 2 раза выше, чем у пациенток с иными подтипами РМЖ. Однако при статистической обработке не установлено существенного влияния подтипа на число ЦОК. Выявлена парадоксальная тенденция увеличения числа ЦОК у пациенток в случае, если диаметр опухоли

Таблица 3/Table 3

Сравнительный анализ количественных и качественных параметров циркулирующих в крови опухолевых клеток в период проведения неoadъювантной или адъювантной системной терапии
Comparative analysis of the quantitative and qualitative parameters of circulating tumor cells during neoadjuvant or adjuvant systemic therapy

Параметры/Parameters	1-я группа, неоСТ/ Group 1, neoST (n=16)	2-я группа, аСТ/ Group 2, aST (n=23)	p
Число ЦОК/Number of CTC			
M ± SD	5,2 ± 5,5	4,9 ± 4,1	0,785 ^a
Me [LQ; UQ]	3 [1,8; 7,8]	5 [2; 6,5]	
min-max	0 – 18	0 – 16	
Ядерно-цитоплазматический индекс/Nuclear cytoplasmic index			
M ± SD	1,174 ± 0,717	1,021 ± 0,279	0,401 ^b
Me [LQ; UQ]	0,835 [0,708; 1,485]	1,02 [0,835; 1,17]	
min-max	0,54 – 2,52	0,64 – 1,62	

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – критерий Стьюдента; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney test; ^b – Student’s Test; created by the authors.

Таблица 4/Table 4

Зависимость числа циркулирующих в крови опухолевых клеток от некоторых клинико-морфологических параметров в период проведения неoadъювантной системной терапии
Relationship between the number of circulating tumor cells and clinical/morphological parameters during neoadjuvant systemic therapy

Параметры/Parameters	Критерий T/Criterion T	Число ЦОК/ Number CTC	p
<3 см/cm	M ± SD	7,1 ± 6,1	0,08 ^a
	Me [LQ; UQ]	5 [2,2; 11,5]	
	min-max	0–18	
≥3 см/cm	M ± SD	2 ± 1,8	
	Me [LQ; UQ]	1,5 [1; 2,8]	
	min-max	0–5	
Критерий N/Criterion N			
N+	M ± SD	5,7 ± 5,6	_ ^b
	Me [LQ; UQ]	3 [2; 9,2]	
	min-max	0–18	
N-	M ± SD	1,5 ± 2,1	
	Me [LQ; UQ]	1,5 [0,8; 2,2]	
	min-max	0–3	
Подтип опухоли/Subtype of tumor			
HER+	M ± SD	4,8 ± 7,5	0,797 ^c
	Me [LQ; UQ]	2 [1; 3]	
	min-max	0–18	
Люминальный/ Luminal	M ± SD	4,8 ± 4,4	
	Me [LQ; UQ]	3 [1,8; 7,8]	
	min-max	0–12	
Трипленегативный/ Triple negative	M ± SD	8 ± 8,5	
	Me [LQ; UQ]	8 [5; 11]	
	min-max	2–14	

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – недостаточно наблюдений для проведения теста; ^c – критерий Крускала–Уоллиса; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney test; ^b – not enough observations; ^c – Kruskal–Wallis test; created by the authors.

был меньше 3 см (число ЦОК (Me): 5[2,2;11,5] – <3 см, 1,5 [1; 2,8] – ≥3 см, p=0,08). К сожалению, незначительное число пациенток без лимфогенных метастазов в этой группе не позволило выполнить сравнительный статистический анализ по этому параметру. Однако обращает на себя внимание, что число ЦОК (Me), выделенных у пациенток с N+, в 2 раза выше, чем при N- (3 [2; 9,2] клеток и 1,5 [0,8; 2,2] соответственно).

Во 2-й группе (табл. 5) не удалось выполнить анализ в отношении размеров первичной опухоли (отсутствие пациенток с РМЖ ≥3 см). Число (Me) выделенных ЦОК в этой группе было выше не только среди пациенток с ТПн, но и с HER+ пРМЖ. Однако зафиксировать влияние морфологического подтипа на число ЦОК с использованием статистического анализа не удалось. Также установлено, что число (Me) ЦОК значимо выше у пациенток, у

Таблица 5/Table 5

Зависимость числа циркулирующих в крови опухолевых клеток от некоторых клинико-морфологическими параметрами в период проведения адъювантной системной терапии
Relationship between the number of circulating tumor cells and clinical/ morphological parameters during adjuvant systemic therapy

Параметры/Parameters		Число ЦОК/ Number CTC	p
Критерий N/Criterion N			
N+	M ± SD	6,2 ± 5,1	0,028 ^{*a}
	Me [LQ; UQ]	5 [2; 9,8]	
	min-max	0–18	
N-	M ± SD	2,5 ± 2,2	
	Me [LQ; UQ]	3 [0; 5]	
	min-max	0–6	
Подтип опухоли/Subtype of tumor			
HER+	M ± SD	5,8 ± 6,7	0,629 ^b
	Me [LQ; UQ]	2,5 [1,2; 9,5]	
	min-max	0–18	
Люминальный/ Luminal A	Me [M ± SD LQ; UQ]	2,3 ± 2,5	
	min-max	2 [1; 3,5]	
		0–5	
Люминальный/ Luminal B	M ± SD	4,6 ± 3,7	
	Me [LQ; UQ]	3,5 [1,8; 7]	
	min-max	0–12	
Трипленегативный/ Triple negative	M ± SD	5,8 ± 4,8	
	Me [LQ; UQ]	5 [3; 5]	
	min-max	2–14	

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – критерий Крускала–Уоллиса; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney test; ^b – Kruskal–Wallis test; created by the authors.

Таблица 6/Table 6

Сравнительный анализ циркулирующих в крови опухолевых клеток в зависимости от выделения кластеров у 39 пациенток с первично выявленным раком молочной железы в период проведения системной терапии в периоперационном периоде
Comparative analysis of circulating tumor cells depending on the presence/absence of clusters during systemic perioperative therapy in 39 BC patients

Параметры/Parameters	Количество пациенток/ Number of patients		p
	Кластеры+/ Clusters+ (n=19)	Кластеры-/ Clusters – (n=20)	
Число ЦОК/Number of CTC			
M ± SD	7,6 ± 5,1	3,6 ± 2,1	0,028 ^{*a}
Me [LQ; UQ]	6 [3; 11]	3 [2,2; 5]	
min-max	2–18	1–7	
Ядерно-цитоплазматический индекс/Nuclear cytoplasmic index			
M ± SD	1,146 ± 0,558	1,003 ± 0,439	0,432 ^b
Me [LQ; UQ]	0,99 [0,78; 1,185]	0,88 [0,69; 1,108]	
min-max	0,64–2,52	0,54–2,15	

Примечания: ^a – критерий Манна–Уитни; ^b – критерий Стьюдента; таблица составлена авторами.

Notes: ^a – Mann–Whitney test; ^b – Student’s test; created by the authors.

которых было метастатическое поражение регионарных лимфоузлов (N+ – 5 [2; 9,8] клеток, N- – 3 [0; 5] клетки, p=0,003).

С учетом идентичности практически всех характеристик ЦОК, обнаруженных в период проведения неоСТ и аСТ, анализ числа выделенных ЦОК в зависимости от обнаружения кластеров мы проводили в общей группе (табл. 6). Установлено, что выделение кластеров ассоциировалось с уве-

личением числа ЦОК (Me) в 2 раза (кластеры+: 6 [3; 11] ЦОК, кластеры-: 3 [2,2; 5] ЦОК, p=0,028). С целью выявления цитоморфологических различий ЦОК, ассоциированных с образованием кластеров ЦОК, мы вычисляли их ЯЦИ. Не установлено различий по данному параметру у пациенток с выявленными или не установленными в крови кластерами (кластеры+: ЯЦИ – 0,99 [0,78; 1,185]; кластеры-: ЯЦИ – 0,88 [0,69; 1,108], p= 0,432)

Обсуждение

Использование СТпери зарекомендовало себя как оптимальный инструмент снижения риска прогрессирования пРМЖ. Однако пока не существует изолированного предиктора корректного прогнозирования эффективности СТпери в период ее проведения (а не после завершения, как в случае с неоСТ). В этой связи очевидна необходимость поиска новых инструментов прогноза и совершенствования пороговых значений уже существующих тестов, применяемых на как только можно раннем этапе лечения.

В последнее время предпринимаются попытки оценить эффективность СТпери с использованием различных технологий выделения ЦОК. С этой целью наиболее часто применяется метод иммуномагнитной сепарации [15], существенным недостатком которого считается выделение только ЦОК с эпителиальным фенотипом. Но, как известно, наиболее агрессивные ЦОК могут утрачивать экспрессию эпителиальных маркеров [24]. Уже появляются публикации, где указывается на то, что только выделение ЦОК с мезенхимальным фенотипом после завершения неоСТ ассоциируется со снижением выживаемости при пРМЖ [25]. Необходимость выделения таких ЦОК обусловила разработку метода микрофльтрации, основанного на выделении ЦОК большого размера и низкой пластичности [15, 25]. Окрашивание полученной клеточной суспензии по Паппенгейму позволяет успешно дифференцировать ЦОК (в том числе кластеры ЦОК) от иных мононуклеаров крови [21, 26–32].

Пока не выявлена ассоциация между выделением ЦОК до лечения и уже известными клинкоморфологическими предикторами высокого риска прогрессирования пРМЖ (стадия, наличие лимфогенных метастазов, полная морфологическая регрессия опухоли, G, рецепторы эстрогена, HER2/neu статус, Ki67) [11–13, 16, 26, 33, 34]. Однако выделение до лечения ЦОК в количестве ≥ 5 довольно часто ассоциируется с низкой выживаемостью [12, 15, 33, 34].

Нет единого мнения о характере изменения уровня ЦОК в ответ на СТпери. В некоторых публикациях после неоСТ отмечается снижение до 1,0–15 % ЦОК позитивных пациенток [12]. Другие считают, что неоСТ не оказывает существенного влияния на частоту выделения ЦОК в ответ на лечение [16, 18, 33–35]. Отсутствует единая точка зрения в отношении прогноза выделения ЦОК в период проведения неоСТ. Если одни авторы считают снижение ЦОК в процессе неоСТ [11] признаком высокой чувствительности к терапии, то другие полагают выделение ЦОК неблагоприятным предиктором [11, 18, 35, 36], даже у пациенток с полной морфологической регрессией опухоли [35]. В период проведения аСТ выделение ЦОК (≥ 5 ЦОК) также может ассоциироваться с низкой выживаемостью [14, 16, 20]. Интересно, что

увеличение числа ЦОК в процессе адьювантной лучевой терапии также ассоциируется с низкой выживаемостью [37].

В нашем исследовании не установлено различий частоты и количественных параметров выделенных ЦОК (в том числе частоты обнаружения большого числа ЦОК) в период проведения неоСТ и аСТ. Не различались в группах и частота выделения кластеров ЦОК и их качественный и количественный состав. Приведенные выше результаты наводят на мысль, что наличие (1-я группа) или отсутствие (2-я группа) первичной опухоли может не оказывать существенного влияния на результат однократного выделения ЦОК в период проведения того или другого вида СТпери. Считается, что при пРМЖ в период проведения неоСТ основным источником ЦОК является первичная опухоль. В период аСТ в качестве безальтернативного резервуара ЦОК (если они выделяются) рассматривают отдаленные микрометастазы (ОММ). Отбор пациенток в каждую из групп в нашем исследовании осуществлялся на основании одних и тех же клинкоморфологических признаков высокого риска прогрессирования, что подразумевает сравнимый риск уже состоявшегося формирования ОММ. То есть создается впечатление, что уровень ЦОК в период проведения СТпери может определяться высокой интенсивностью распространения ЦОК именно из ОММ, а не из первичной опухоли. На вероятность низкой интенсивности распространения ЦОК из первичной опухоли косвенно указывает их более высокий уровень у пациенток из 1-й группы с диаметром первичной опухоли меньше, а не больше 3 см, а также выявленная ассоциация между числом ЦОК и наличием лимфогенных метастазов в обеих группах, факт наличия лимфогенных метастазов является мощнейшим предиктором ОМ при пРМЖ [38]. Если наши предположения верны и значимым источником ЦОК как до, так и после операции у пациенток с пРМЖ являются ОММ, значит, результаты однократного выделения ЦОК, вне зависимости от вида СТпери, обладают сравнимой прогностической значимостью в отношении оценки толерантности к проводимой СТ и риска прогрессирования.

В обеих группах число выделенных ЦОК оказалось выше у пациенток с одними и теми же подтипами (HER+ и ТПн подтипы) пРМЖ, которые характеризуются наиболее высоким риском прогрессирования. Мы не исключаем, что сочетание более высокого уровня ЦОК в период проведения СТпери у пациенток с нелюминальными подтипами опухоли может при определенных обстоятельствах свидетельствовать о низкой эффективности лечения. Однако вышеуказанное предположение нам не удалось подтвердить статистически. Причиной явилось недостаточное количество пациенток в сравниваемых группах. Вышеприведенные результаты станут основанием

для продолжения исследования на более крупных когортах пациенток.

Кластеры ЦОК в нашем исследовании обнаружены практически у половины пациенток в обеих группах. Обращает на себя внимание, что подавляющее большинство обнаруженных кластеров были гомотипическими и состояли из 2–3 ЦОК. Известно, что чем большее число клеток участвует в формировании кластера, тем более агрессивное течение характерно для РМЖ [39]. То есть в нашем случае обнаружение двух-трехклеточных кластеров не должно ассоциироваться с неблагоприятным исходом лечения. Однако мы установили, что кластеры в период проведения СТпери выделялись у пациенток, у которых число ЦОК было достоверно более высоким. Не исключено, что с точки зрения прогноза эффективности проводимой терапии важен не сам факт выделения ЦОК в период проведения СТпери, а выделение одновременно и высокого уровня ЦОК, и кластеров (даже если они состоят из 2–3 клеток). Стоит также отметить, что роль 2–3-клеточных гетеротипических кластеров в формировании ОМ также пока не ясна. Высказанные предположения предстоит проверить на практике.

Как указывалось выше, при верификации ЦОК мы опирались на цитоморфологические признаки,

основным из которых считался ЯЦИ. Во многих исследованиях, посвященных выделению ЦОК методом микрофилтрации, постулируется, что мононуклеары крови могут быть идентифицированы как ЦОК лишь при условии, если их ЯЦИ не меньше 0,75 [27, 30]. В нашем исследовании цитоморфологические параметры ЦОК в обеих группах отвечали названным выше требованиям (ЯЦИ определялся в обеих группах на уровне 0,8–1,1). Однако анализ цитоморфологических параметров ЦОК, выделение которых осуществлялось на основании экспрессии цитокератинов, показывает, что диаметр таких ЦОК (и их ядра) значительно уступает установленным нами, а ЯЦИ вполнину ниже – 0,47 [40]. Приведенные выше противоречия диктуют необходимость в дальнейшем включать в число анализируемых параметров и результаты выделения ЦОК с использованием эпителиальных маркеров.

В заключение считаем необходимым еще раз отметить идентичность параметров однократного выделения ЦОК, в том числе кластеров ЦОК, в период неоСТ и аСТ, что может указывать на их сопоставимую прогностическую значимость на ранней стадии лечения пРМЖ в процессе выполнения вышеуказанных видов СТпери.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022; 72(1): 7–33. doi: 10.3322/caac.21708.
2. Гуров А.Н., Балканов А.С., Капунцева Н.А., Огнева Е.Ю. Анализ онкозаболеваемости и смертности населения Московской области за 2014 год. *Альманах клинической медицины*. 2015; (41): 6–11. [Gurov A.N., Balkanov A.S., Kapuntseva N.A., Ogneva E.Y. The analysis of cancer incidence and mortality among the population of the Moscow region in 2014. *Almanac of Clinical Medicine*. 2015; (41): 6–11. (in Russian)]. doi: 10.18786/2072-0505-2015-41-6-11. EDN: UMQBEB.
3. Dillekås H., Rogers M.S., Straume O. Are 90 % of deaths from cancer caused by metastases? *Cancer Med*. 2019; 8(12): 5574–76. doi: 10.1002/cam4.2474.
4. Marioito A.B., Zou Z., Zhang F., Howlader N., Kurian A.W., Etzioni R. Can We Use Survival Data from Cancer Registries to Learn about Disease Recurrence? The Case of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2018; 27(11):1332–41. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-17-1129.
5. Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Kravtsova E.A., Tsydenova I.A., Litviakov N.V. Organ-specificity of breast cancer metastasis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(21): 15625. doi: 10.3390/ijms242115625.
6. Mohamed R.F., Abdelhameed D.H., Mohamed M.A. Combination of anatomical and biological factors to predict disease-free survival in breast cancer. *JCO Glob Oncol*. 2023; 9: e2200269. doi: 10.1200/GO.22.00269.
7. Liu D., Chang L., Hao Q., Ren X., Liu P., Liu X., Wei Y., Wang M., Wu H., Kang H., Lin S. Is neoadjuvant chemotherapy necessary for T2N0-1M0 hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer patients undergoing breast-conserving surgery? *J Cancer Res Clin Oncol*. 2024; 150(5): 285. doi: 10.1007/s00432-024-05810-6.
8. Mason S.R., Willson M.L., Egger S.J., Beith J., Dear R.F., Goodwin A. Platinum chemotherapy for early triple-negative breast cancer. *Breast*. 2024; 75: 103712. doi: 10.1016/j.breast.2024.103712.
9. Ghasemi F., Brackstone M. The impact of neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy on survival outcomes in locally advanced breast cancer. *Curr Oncol*. 2024; 31(10): 6007–16. doi: 10.3390/curroncol31100448.
10. Akbari M.E., Ghelichi-Ghojogh M., Nikeghbalian Z., Karami M., Akbari A., Hashemi M., Nooraei S., Ghiasi M., Fararouei M., Moradian F. Neoadjuvant vs adjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer: a retrospective cohort study. *Ann Med Surg (Lond)*. 2022; 84: 104921. doi: 10.1016/j.amsu.2022.104921.
11. Pierga J.Y., Bidard F.C., Autret A., Petit T., Andre F., Dalenc F., Levy C., Ferrero J.M., Romieu G., Bonnetterre J., Lerebours F., Bachelot T., Kerbrat P., Campone M., Eymard J.C., Mouret-Reynier M.A., Gligorov J.,

Hardy-Bessard A.C., Lortholary A., Soulie P., Boher J.M., Proudhon C., Charafe-Jauffret E., Lemonnier J., Bertucci F., Viens P. Circulating tumour cells and pathological complete response: independent prognostic factors in inflammatory breast cancer in a pooled analysis of two multicentre phase II trials (BEVERLY-1 and -2) of neoadjuvant chemotherapy combined with bevacizumab. *Ann Oncol*. 2017; 28(1): 103–109. doi: 10.1093/annonc/mdw535.

12. Bidard F.C., Michiels S., Riethdorf S., Mueller V., Esserman L.J., Lucci A., Naume B., Horiguchi J., Gisbert-Criado R., Sleijfer S., Toi M., Garcia-Saenz J.A., Hartkopf A., Generali D., Rothé F., Smerage J., Muinelo-Romay L., Stebbing J., Viens P., Magbanua M.J.M., Hall C.S., Engebraaten O., Takata D., Vidal-Martinez J., Onstenk W., Fujisawa N., Diaz-Rubio E., Taran F.A., Cappelletti M.R., Ignatiadis M., Proudhon C., Wolf D.M., Bauldry J.B., Borgen E., Nagaoka R., Carañana V., Kraan J., Maestro M., Brucker S.Y., Weber K., Reyat F., Amara D., Karhade M.G., Mathiesen R.R., Tokiniwa H., Llombart-Cussac A., Meddis A., Blanche P., d'Hollander K., Cottu P., Park J.W., Loibl S., Latouche A., Pierga J.Y., Pantel K. Circulating tumor cells in breast cancer patients treated by neoadjuvant chemotherapy: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2018; 110(6): 560–67. doi: 10.1093/jnci/djy018.

13. Zhou J., Wu J., Hao X., Li P., Zhang H., Wu X., Chen J., Liu J., Xiao J., Zhang S., Jiang Z., Yang Y., Hu Z., Wang T. An exploratory study on the checkout rate of circulating tumor cells and the prediction of efficacy of neoadjuvant therapy and prognosis in patients with HER-2-positive early breast cancer. *Front Oncol*. 2022; 12:966624. doi: 10.3389/fonc.2022.966624.

14. Shliakhtunou Y.A. CTCs-oriented adjuvant personalized cytostatic therapy non-metastatic breast cancer patients: continuous non-randomized prospective study and prospective randomized controlled study. *Breast Cancer Res Treat*. 2021; 186(2): 439–51. doi: 10.1007/s10549-020-06036-z.

15. Zhao H., Wang L., Fang C., Li C., Zhang L. Factors influencing the diagnostic and prognostic values of circulating tumor cells in breast cancer: a meta-analysis of 8,935 patients. *Front Oncol*. 2023; 13: 1272788. doi: 10.3389/fonc.2023.1272788.

16. Pang S., Li H., Xu S., Feng L., Ma X., Chu Y., Zou B., Wang S., Zhou G. Circulating tumour cells at baseline and late phase of treatment provide prognostic value in breast cancer. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 13441. doi: 10.1038/s41598-021-92876-8.

17. Jakabova A., Bielikova Z., Pospisilova E., Petruzalka L., Blasiak P., Bobek V., Kolostova K. Characterization of circulating tumor cells in early breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Ther Adv Med Oncol*. 2021; 13: 17588359211028492. doi: 10.1177/17588359211028492.

18. Ma G., Wang J., Fu J., Chen R., Liang M., Li M., Xia T., Liu X., Wang S. Heterogeneous circulating tumor cells correlate with responses to neoadjuvant chemotherapy and prognosis in patients with locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2023; 201(1): 27–41. doi: 10.1007/s10549-023-06942-y.
19. Galardi F., De Luca F., Biagioni C., Migliaccio I., Curigliano G., Minisini A.M., Bonechi M., Moretti E., Risi E., McCartney A., Benelli M., Romagnoli D., Cappadona S., Gabellini S., Guarducci C., Conti V., Biganzoli L., Di Leo A., Malorni L. Circulating tumor cells and palbociclib treatment in patients with ER-positive, HER2-negative advanced breast cancer: results from a translational sub-study of the TReEnd trial. *Breast Cancer Res.* 2021; 23(1): 38. doi: 10.1186/s13058-021-01415-w.
20. Rack B., Schindlbeck C., Jückstock J., Andergassen U., Hepp P., Zwingers T., Friedl T.W., Lorenz R., Tesch H., Fasching P.A., Fehm T., Schneeweiss A., Lichtenegger W., Beckmann M.W., Friese K., Pantel K., Janni W.; SUCCESS Study Group. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2014; 106(5): dju066. doi: 10.1093/jnci/dju066.
21. Brady L., Hayes B., Sheill G., Baird A.M., Guinan E., Stanfill B., Vljajic T., Casey O., Murphy V., Greene J., Allott E.H., Hussey J., Cahill F., van Hemelrijck M., Peat N., Mucci L., Cunningham M., Grogan L., Lynch T., Manecksha R.P., McCaffrey J., O'Donnell D., Sheils O., O'Leary J., Rudman S., McDermott R., Finn S. Platelet cloaking of circulating tumour cells in patients with metastatic prostate cancer: Results from ExPeCT, a randomised controlled trial. *PLoS One.* 2020; 15(12): e0243928. doi: 10.1371/journal.pone.0243928.
22. Kuvendjiska J., Pitman M.B., Martini V., Braun C., Grebe K., Timme S., Fichner-Feigl S., Glaz T., Schmoor C., Guenzle J., Hoepfner J., Kulemann B. Cytopathological heterogeneity of circulating tumor cells in non-metastatic esophageal adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2020; 40(10): 5679–85. doi: 10.21873/anticancer.14582.
23. Волченко Н.Н., Славнова Е.Н., Гладунова З.Д., Тузулукова А.А., Митина Л.А., Сухарев С.С., Спиридонов И.Н., Самородов А.В., Медовый В.С., Тыхинский В.П., Решетов И.В., Кретушев А.В., Вышенская Т.В., Клемешов И.В. Современная цитологическая диагностика заболеваний молочной железы. Под ред. Н.Н. Волченко, Е.Н. Славновой. М., 2014. 198 с. [Volchenko N.N., Slavnova E.N., Gladunova Z.D., Tugulukova A.A., Mitina L.A., Sukharev S.S., Spiridonov I.N., Samorodov A.V., Medoviy V.S., Tykhinskiy V.P., Reshetov I.V., Kretushev A.V., Vyshenskaya T.V., Klemeshov I.V. Modern cytological diagnostics of breast diseases; eds. N.N. Volchenko, E.N. Slavnova. Moscow, 2014; 198 p. (in Russian)]. ISBN: 978-5-7038-3993-5. EDN: VYBANF.
24. Adams D.L., Stefansson S., Haudenschild C., Martin S.S., Charpentier M., Chumsri S., Cristofanilli M., Tang C.M., Alpaugh R.K.. Cytometric characterization of circulating tumor cells captured by microfiltration and their correlation to the CellSearch® CTC test. *Cytometry A.* 2015; 87(2): 137–44. doi: 10.1002/cyto.a.22613.
25. Du K.Y., Wu S., Ma X., Liu Y. Circulating tumor cell phenotype detection based on epithelial-mesenchymal transition markers combined with clinicopathological risk has potential to better predict recurrence in stage III breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy: a pilot study. *Breast Cancer Res Treat.* 2024; 207(3): 517–27. doi: 10.1007/s10549-024-07430-7.
26. Tseng J., Yang C., Liang S., Liu R., Jiang J., Lin C. Dynamic changes in numbers and properties of circulating tumor cells and their potential applications. *Cancers (Basel).* 2014; 6(4): 2369–86. doi: 10.3390/cancers6042369.
27. Lopresti A., Acquaviva C., Boudin L., Finetti P., Garnier S., Aulas A., Liberatoscioli M.L., Cabaud O., Guille A., de Nonneville A., Da Costa Q., Denicolai E., Pakradouni J., Goncalves A., Birnbaum D., Bertucci F., Mamessier E. Identification of atypical circulating tumor cells with prognostic value in metastatic breast cancer patients. *Cancers (Basel).* 2022; 14(4): 932. doi: 10.3390/cancers14040932.
28. Воловецкий А.Б., Малинина П.А., Капитанникова А.Ю., Сметанина С.В., Круглова И.А., Масленикова А.В. Выделение циркулирующих опухолевых клеток из образцов периферической крови онкологических больных с помощью микрофлюидной технологии. Современные технологии в медицине. 2020; 12(6): 62–69. [Volovetskiy A.B., Malinina P.A., Kapitannikova A.Y., Smetanina S.V., Kruglova I.A., Maslennikova A.V. Isolation of circulating tumor cells from peripheral blood samples of cancer patients using microfluidic technology. *Modern Technology in Medicine.* 2020; 12(6): 62–69. (in Russian)]. doi: 10.17691/stm2020.12.6.08. EDN: EYKDDH.
29. Kulemann B., Pitman M.B., Liss A.S., Valsangkar N., Fernández-Del Castillo C., Lillemo K.D., Hoepfner J., Mino-Kenudson M., Warshaw A.L., Thayer S.P. Circulating tumor cells found in patients with localized and advanced pancreatic cancer. *Pancreas.* 2015; 44(4): 547–50. doi: 10.1097/MPA.0000000000000324.
30. Zheng X., Fan L., Zhou P., Ma H., Huang S., Yu D., Zhao L., Yang S., Liu J., Huang A., Cai C., Dai X., Zhang T. Detection of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in gastric cancer. *Transl Oncol.* 2017; 10(3): 431–41. doi: 10.1016/j.tranon.2017.02.007.
31. Huebner H., Fasching P.A., Gumbrecht W., Jud S., Rauh C., Matzas M., Paulicka P., Friedrich K., Lux M.P., Volz B., Gass P., Häberle L., Meier-Stiegen F., Hartkopf A., Neubauer H., Almstedt K., Beckmann M.W., Fehm T.N., Ruebner M. Filtration based assessment of CTCs and CellSearch® based assessment are both powerful predictors of prognosis for metastatic breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2018; 18(1): 204. doi: 10.1186/s12885-018-4115-1.
32. Peruzzi C., Di Cosimo S., Gerrata L., Motta R., Martinetti A., Vingiani A., D'Amico P., Zhang Y., Vismara M., Depreto C., Scaperrotta G., Folli S., Pruneri G., Cristofanilli M., Daidone M.G., Cappelletti V. Circulating tumor cell clusters are frequently detected in women with early-stage breast cancer. *Cancers (Basel).* 2021; 13(10): 2356. doi: 10.3390/cancers13102356.
33. Hall C., Karhade M., Laubacher B., Anderson A., Kuerer H., Desynder S., Lucci A. Circulating tumor cells after neoadjuvant chemotherapy in stage I-III triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2015; 22 (s3): 552–58. doi: 10.1245/s10434-015-4600-6.
34. Hall C.S., Karhade M.G., Bowman Bauldry J.B., Valad L.M., Kuerer H.M., DeSnyder S.M., Lucci A. Prognostic value of circulating tumor cells identified before surgical resection in nonmetastatic breast cancer patients. *J Am Coll Surg.* 2016; 223(1): 20–29. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2016.02.021.
35. Gwark S., Kim J., Kwon N.J., Kim K.Y., Kim Y., Lee C.H., Kim Y.H., Kim M.S., Hong S.W., Choi M.Y., Jeon B.H., Chang S., Yu J., Park J.Y., Lee H.J., Lee S.B., Chung I.Y., Ko B.S., Kim H.J., Lee J.W., Son B.H., Ahn J.H., Jung K.H., Kim S.B., Gong G.Y., Ahn S.H. Analysis of the serial circulating tumor cell count during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 17466. doi: 10.1038/s41598-020-74577-w.
36. Li M., Liu Y., Han X., Li T., Zhang Z., Xue N., Liang M., Ma G., Xia T. Aneuploid circulating endothelial cells with prognostic value in locally advanced breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer (Dove Med Press).* 2024; 16: 761–68. doi: 10.2147/BCTT.S487336.
37. Mäurer M., Schott D., Pizon M., Drozd S., Wendt T., Wittig A., Pachmann K. Increased circulating epithelial tumor cells (CETC/CTC) over the course of adjuvant radiotherapy is a predictor of less favorable outcome in patients with early-stage breast cancer. *Curr Oncol.* 2022; 30(1): 261–73. doi: 10.3390/curroncol30010021.
38. Wang G., Zhang S., Wang M., Liu L., Liu Y., Tang L., Bai H., Zhao H. Prognostic significance of occult lymph node metastases in breast cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer.* 2021; 21(1): 875. doi: 10.1186/s12885-021-08582-1.
39. Lai H.C., Huang H.H., Hao Y.J., Lee H.L., Wang C.C., Ling T.Y., Wu J.K., Tseng F.G. A preliminary analysis of circulating tumor microemboli from breast cancer patients during follow-up visits. *Curr Oncol.* 2024; 31(9): 5677–93. doi: 10.3390/curroncol31090421.
40. Mendelaar P.A.J., Kraan J., Van M., Zeune L.L., Terstappen L.W.M.M., Oomen-de Hoop E., Martens J.W.M., Sleijfer S. Defining the dimensions of circulating tumor cells in a large series of breast, prostate, colon, and bladder cancer patients. *Mol Oncol.* 2021; 15(1): 116–25. doi: 10.1002/1878-0261.12802.

Поступила/Received 20.11.2025
Одобрена после рецензирования/Revised 16.04.2026
Принята к публикации/Accepted 20.04.2026

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Михайлов Илья Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением противоопухолевой лекарственной терапии, ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-6963-5472.

Гребенник Иван Валерьевич, стажер-исследователь лаборатории биофизики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Глазков Алексей Андреевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-физических исследований, ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3250-1882. Author ID (Scopus): 57199329515. Researcher ID (WOS): R-7373-2016. ORCID: 0000-0001-6122-0638.

Круглова Ирина Александровна, врач клинико-диагностической лаборатории, ГБУЗ НО «Городская больница 35 г. Нижнего Новгорода» (г. Нижний Новгород, Россия). ORCID: 0000-0001-7955-349X.

Кузнецова Софья Алексеевна, кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; старший научный сотрудник, ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): N-1383-2014. ORCID: 0000-0001-5946-0026.

Балканов Андрей Сергеевич, доктор медицинских наук, руководитель отделения радиотерапии, ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5757-4455. Author ID (Scopus): 6508333085. ORCID: 0000-0002-1601-9780.

ВКЛАД АВТОРОВ

Михайлов Илья Владимирович: разработка дизайна исследования, сбор материала исследования, написание черновика статьи.

Гребенник Иван Валерьевич: разработка дизайна исследования, сбор материала исследования, написание черновика статьи.

Глазков Алексей Андреевич: обработка результатов исследования, статистическая обработка данных, редактирование статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Круглова Ирина Александровна: сбор и обработка данных, подготовка иллюстративного материала.

Кузнецова Софья Алексеевна: разработка концепции и дизайна научной работы, сбор и обработка данных, обработка результатов исследования, написание статьи, работа с графическим материалом, редактирование статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Балканов Андрей Сергеевич: разработка концепции и дизайна научной работы, сбор и обработка данных, обработка результатов исследования, написание статьи, работа с графическим материалом, редактирование статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Выделение и анализ ЦОК выполнялись за счет гранта Российского Научного Фонда (проект № 23-45-10039).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского (Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2), протокол № 13 от 28.09.23.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Ilya V. Mikhailov, MD, PhD, Head of the Department of Antitumor Drug Therapy, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-6963-5472.

Ivan V. Grebennik, Intern-Researcher, Laboratory of Biophysics, D. Rogachev National Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia).

Alexey A. Glazkov, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Medical and Physical Research, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57199329515. Researcher ID (WOS): R-7373-2016. ORCID: 0000-0001-6122-0638.

Irina A. Kruglova, MD, Clinical Diagnostic Laboratory, City Hospital No. 35 (Nizhny Novgorod, Russia). ORCID: 0000-0001-7955-349X.

Sofya A. Kuznetsova, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Biophysics, D. Rogachev National Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; Senior Researcher, Centre for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): N-1383-2014. ORCID: 0000-0001-5946-0026.

Andrey S. Balkanov, MD, DSc, Head of Radiotherapy Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6508333085. ORCID: 0000-0002-1601-9780.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ilya V. Mikhailov: development of research design, collection of research material, drafting of the manuscript.

Ivan V. Grebennik: development of research design, collection of research material, drafting of the manuscript.

Alexey A. Glazkov: processing of research results, statistical data processing, editing of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Irina A. Kruglova: data collection and processing, preparation of illustrative material.

Sofya A. Kuznetsova: study concept and design, data collection and processing, processing of research results, writing of the manuscript, working with graphic material, editing of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Andrey S. Balkanov: study concept and design, data collection and processing, processing of research results, writing of the manuscript, editing of the manuscript, critical revision with valuable intellectual content.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

The isolation and analysis of CTCs were carried out with the support of a grant from the Russian Science Foundation (project No. 23-45-10039).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (61/2, Shchepkina St., Moscow, 129110, Russia), protocol No. 13 dated September 28, 2023.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.