

В.Ф. Чехун, академик НАН Украины, д.м.н., профессор, **С.П. Осинский**, д.м.н., профессор,
Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

Минимальная остаточная болезнь при солидных опухолях

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении больных с солидными опухолями, отдаленные метастазы остаются главной причиной смерти пациентов со злокачественными новообразованиями.

Скрытое метастазирование как причина неудачи лечения, в том числе радикального

Раннее распространение опухолевых клеток из первичной опухоли определить обычно не представляется возможным даже с помощью визуализирующих техник с высокой разрешающей способностью (МРТ, ПЭТ), что препятствует началу своевременного и потенциально эффективного лечения. Следует также отметить, что подбор больных для адъювантной терапии, ставящей своей целью предотвратить развитие метастазов, основывается сегодня на статистическом риске метастазирования без четкого знания о том, имели ли место выход опухолевых клеток из первичной опухоли и их оседание в отдаленных тканях и органах. Эта неопределенность приводит к гиперлечению больных цитостатиками, которые, по сути, являются токсическими агентами, вызывающими тяжелые побочные эффекты. Известно также, что при обнаружении метастазов шансы значительного увеличения продолжительности жизни больных снижаются с 90% до приблизительно 5% на фоне ограничения вариантов лечения. У немалого количества (20-30%) пациентов, в частности с опухолями грудной железы, желудка, предстательной железы, которые подвергаются хирургическому вмешательству в ранней стадии заболевания и у которых не диагностируются регионарные или отдаленные метастазы после удаления первичной опухоли, в течение последующих 5-10 лет развиваются метастазы (Rosner, 1993; Feezor, 2002; Pantel, 2001; Seeliger, 2003).

Таким образом, даже радикальная хирургическая операция не всегда обеспечивает желаемые отдаленные результаты. Относительно хирургического радикализма интересно высказывание профессора К.Н. Вауег, основателя Немецкого центра онкологических исследований. В 1963 г. он писал, что «с точки зрения хирурга, операция по поводу рака может быть названа радикальной лишь в том случае, если даже единичные раковые клетки удалены из организма».

Неудачи радикального хирургического вмешательства в виде позднего метастатического рецидива обусловлены, главным образом, феноменом, описанным как ранняя диссеминация опухолевых клеток, которая часто имеет место еще до выполнения хирургической операции. Чрезвычайно интересным и практически важным остается также вопрос о взаимосвязи между частотой появления раковых клеток вне опухоли, особенно в периферической крови и в операционной ране, и возникновением рецидивов и метастазов. Еще в 1929 г. Я.В. Зильберберг, допуская возможность гематогенного распространения клеток рака грудной железы, придавал операции значение фактора, содействующего массивному поступлению опухолевых клеток в кровь. Б.Т. Билынский в 1963 г. опубликовал данные о том, что местные рецидивы развиваются у 13,3% больных, оперированных по поводу рака грудной железы, причем большинство рецидивов возникает на протяжении первых 2 лет после операции. Специально проведенное исследование

позволило выявить раковые клетки в операционной ране у 41,5% больных, что, по мнению автора, и является причиной развития рецидивов. Общеизвестна позиция Н.Н. Петрова, четко сформулировавшего принципы абластики и антибластики, который высказывался против грубых манипуляций с опухолью и считал, что местный рецидив всегда имплантационный. Имеются данные о том, что «массаж» опухоли приводит по меньшей мере к 10-кратному увеличению количества опухолевых клеток, покидающих первичный опухолевый узел. Отсюда рекомендации относительно сведения манипуляций с опухолью во время операции до минимума, выполнения экономных биопсий и, вообще, стремление к наименьшей травматизации новообразования.

Высказано также мнение о том, что хирургические манипуляции при опухолях грудной железы могут индуцировать ангиогенез и пролиферацию клеток отдаленных «дремлющих» микрометастазов, особенно у молодых больных с наличием положительных лимфатических узлов (Braun, 2005).

Следует учитывать и феномен «сбрасывания» опухолевых клеток из первичного узла, который связывают с ангиогенезом в опухоли, сосудистой инвазией, размерами опухоли и ее пролиферативным потенциалом. Большинство «сброшенных» опухолевых клеток элиминируются в первом капиллярном ложе, лимфатических узлах, прежде всего сторожевых, легких и печени и не превращаются в истинные макроскопические метастазы. Лишь меньшая часть этих клеток задерживается во вторичном капиллярном ложе и со временем дает начало росту метастазов. Установлено, что опухолевые клетки могут выходить из растущего опухолевого узла со скоростью, составляющей от нескольких тысяч до нескольких миллионов клеток в день на 1 г ткани (Butler, Gullino, 1975).

Опухолевые клетки вне первичной опухоли и состояние «спячки»

Опухолевые клетки после выхода из первичной опухоли остаются, главным образом, в костном мозге и сохраняют потенциал превращения в настоящие метастазы. Этот факт нельзя считать неожиданным, так как хорошее кровоснабжение костного мозга, развитая сеть капилляров и синусов, насыщенность клеточными элементами и особенности микроокружения являются оптимальными условиями для оседания в данном органе опухолевых клеток и последующего развития метастазов.

Опухолевые клетки в костном мозге недоступны для выявления с помощью традиционной гистологической техники, но могут быть идентифицированы с помощью высокочувствительных и специфических технологий, таких как иммуноцитохимический метод с применением моноклональных антител, метод проточной цитофлуориметрии, методы молекулярного анализа, в частности обратнотранскриптазная полимеразная цепная реакция, флуоресцентная гибридизация in situ, а также иммуномагнитный анализ, включая методику иммуномагнитного обогащения. Примечательно, что в 2002 г. Bernards и Weinberg представили новую

модель, в которой способность к метастазированию появляется рано, еще во время формирования и развития первичной опухоли.

Сохранение опухолевых клеток в латентном состоянии, часто в течение длительного времени, продолжает оставаться загадкой и в то же время одной из актуальнейших проблем клинической онкологии. Имеются наблюдения, свидетельствующие о том, что у многих людей может возникнуть микроскопическая опухоль, которая никогда не развивается до клинически определяемого новообразования (Black, Welch, 1993). Эти неагрессивные микроопухоли могут оставаться «дремлющими» на протяжении всей жизни пациента. Nielsen и соавт. сообщили, что примерно у 39% женщин в возрасте 40-49 лет имеет место клинически скрытый рак грудной железы, и только у 1,8% представительниц той же возрастной группы диагностируют данную онкопатологию.

Опубликованы также наблюдения относительно микроскопических опухолей других органов. Например, карцинома in situ предстательной железы выявляется у 31% мужчин в возрасте 60-70 лет, погибших в результате травмы, но клинически рак предстательной железы диагностируется только у 8% мужчин этой возрастной группы (Sanchez-Charado et al., 2003). Поразительно, что микроскопическая карцинома (часто менее 1 мм в диаметре) обнаруживается в щитовидной железе более чем у 38% людей в возрасте 41-60 лет, погибших вследствие травмы, но рак диагностируется только у 0,5% лиц этого возраста (Harach et al., 1985). Дополнительные клинические доказательства в поддержку состояния «дремоты» опухоли получены в исследовании рецидивов рака после первичной хирургии (Demicheli et al., 1994). Оказалось, что у больных раком грудной железы ранний пик появления рецидива приходится на 18-й месяц после хирургического вмешательства с последующим вторым пиком приблизительно через 60 мес и уменьшающимся платоподобным «хвостом», превышающим 15 лет (Demicheli et al., 2007).

Опухолевые клетки в периферической крови

Поиск опухолевых клеток в крови, их характеристика и анализ влияния на течение заболевания являются сегодня объектом интенсивных исследований в различных странах. Проблема не нова, поскольку еще в 1865 г. Thiersch обнаружил инвазию раковыми клетками вен и лимфатических сосудов; о выявлении атипических клеток в крови пациента с множественным раком кожи сообщил в 1869 г. Ashworth. Первое систематическое исследование раковых клеток, обнаруживаемых в периферической крови онкологических больных, приведено в 1934 г. в работе Pool и соавт., которые установили наличие опухолевых клеток в венозной крови у 42,5% пациентов. В нашем институте работы по обнаружению опухолевых клеток в периферической крови были начаты еще в 1962 г. по инициативе Р.Е. Кавецкого. Подобные исследования выполнялись в то время и в ленинградском НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова.



В.Ф. Чехун



С.П. Осинский

В настоящее время считается установленным, что у 20-45% онкологических больных с категорией M₀ в периферической крови обнаруживаются циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) (Pantel, 2009). Обобщенные результаты подобных исследований представлены в таблице 1.

Следует отметить, что менее 2% опухолевых клеток, находящихся в крови, способны формировать микрометастазы, и только около 0,2% сохраняют способность запускать механизмы, приводящие к появлению истинного метастатического узла. (Примечательно, что 0,2% — это примерно 4600 циркулирующих опухолевых клеток в организме больного.)

Опухолевые клетки в костном мозге

О наличии опухолевых клеток в костном мозге больных с различными формами опухолей впервые сообщил в 1935 г. Reich, позже это было подтверждено рядом исследователей; в частности, Sandberg (1958) обнаружил, что у 5 из 7 больных, у которых не были диагностированы метастазы, в костном мозге присутствовали опухолевые клетки, а у 2 пациентов они были выявлены в периферической крови. Диагностикой метастазов рака в костный мозг занимались отечественные онкологи И.Т. Шевченко и Г.А. Даштаец (1967), а также профессор Д.Ф. Глузман (ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины), применивший еще в 1975 г. энзимцитохимические методы для обнаружения раковых клеток в костном мозге. Современные исследователи отмечают, что у 25-60% больных с категорией M₀ в костном мозге обнаруживаются диссеминированные опухолевые клетки (ДОК) (Alix-Panabieres et al., 2008; Muller et al., 2010; Janni et al., 2011). Обобщенные результаты исследований представлены в таблице 2.

В наших исследованиях, начатых еще в 1999 г. (совместно с онкологами Института онкологии НАН Украины — до 2008 г., со специалистами Киевского городского онкологического центра — с 2004 г. до настоящего времени), установлено, что у 45-60% больных раком желудка с категорией M₀ в костном мозге выявляются опухолевые клетки. Полученные данные согласуются с работами других авторов, которые показали также, что годичная выживаемость больных раком желудка после радикального удаления опухоли (R₀) при наличии опухолевых клеток в костном мозге составила 36%, в то время как в отсутствие таких клеток — 81%.

Следует отметить, что нами была обнаружена корреляция между наличием опухолевых клеток в костном мозге и уровнем гипоксии и экспрессией ряда белков, ассоциированных с гипоксией, в первичной опухоли, указывающая на связь между молекулярным профилем опухоли, ее патофизиологическими характеристиками и опухолевой прогрессией. В настоящее время проводится анализ клинического значения обнаруженных закономерностей и определяется возможность их использования в мониторинге онкологических больных.

Следует заметить, что описанные выше ЦОК и ДОК предложено отнести

Продолжение на стр. 14.

В.Ф. Чехун, академик НАН Украины, д.м.н., профессор, С.П. Осинский, д.м.н., профессор, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

Минимальная остаточная болезнь при солидных опухолях

Продолжение. Начало на стр. 13.

к категории так называемой минимальной остаточной болезни (МОБ), которая в англоязычной литературе обозначается как minimal residual disease (MRD). МОБ определяется как присутствие опухолевых клеток, которые не могут быть обнаружены на основе использования современных рутинных диагностических методов, применяющихся для определения стадии опухолевого процесса у онкологических больных после хирургического удаления первичной опухоли (Pantel, 2008).

Концепция определения микрометастазов в костном мозге пациентов с солидными опухолями была введена в клиническую онкологию более 25 лет назад работами Pantel, Dearnaley и ряда других исследователей. Было показано, что, несмотря на полную резекцию первичной опухоли, у больных раком грудной железы сохраняется риск появления метастазов, обусловленных наличием скрытых опухолевых клеток в костном мозге. Необходимо подчеркнуть, что костный мозг играет наиболее значительную роль среди отдаленных органов как орган-индикатор развития МОБ. Кроме того, костный мозг является общим «хоуминг»-органом для ДОК, выходящих из различных типов

эпителиальных опухолей, прежде всего таких, как новообразования грудной железы, легкого, предстательной железы, толстого кишечника.

В этом плане интересны данные Хяо и соавт. (2009), исследовавших 10 112 трепанобиоптатов костного мозга у больных с неизвестными первичными негематологическими опухолями. Оказалось, что в 1% биоптатов костного мозга обнаруживались метастазы, при этом у пациентов с метастатическими опухолями метастазы в костном мозге были выявлены в 3,7% случаев. Первичная опухоль была диагностирована во время аутопсии у 49,5% больных с положительным костным мозгом. Наибольшее количество составили опухоли легкого, органов желудочно-кишечного тракта и грудной железы. Примечательно, что во всех случаях положительного костного мозга был обнаружен миелофиброз, выраженный в различной степени. Авторы пришли к заключению, что изучение рутинных трепанобиоптатов костного мозга может быть полезным для определения опухолей негематологической природы при наличии у пациентов болей в костях скелета и деструкции костей. Подобные проявления могут служить показаниями для исследования у таких пациентов костного мозга.

Необходимо при этом отметить, что аспирационная биопсия костного мозга и его исследование – рутинный диагностический метод для больных лейкемией и лимфомами. В то же время анализ клеточного состава пунктатов костного мозга еще не включен в обычное клиническое обследование больных с солидными опухолями.

В противоположность этому анализ периферической крови более привычен для больных, чем анализ костного мозга, и сопряжен с меньшей стрессовой нагрузкой; многие исследовательские группы в настоящее время оценивают клиническое значение ЦОК с целью прогноза и мониторинга системной терапии. Ранее было высказано предположение, что ДОК и ЦОК способны переживать химиотерапию путем персистенции в «дремлющем» непролиферирующем состоянии в течение многих лет (Pantel, 1993; Muller, 2005). Естественно предположить, что выявление и характеристика ДОК и ЦОК дают онкологам инструмент для создания системы мониторинга диссеминации опухолевых клеток в костный мозг и кровь, идентификации терапевтических мишеней на ДОК и ЦОК, позволяющая существенно улучшить эффективность лечения онкологических больных. Вместе с тем авторы, которые много лет изучают проблему ДОК, высказывают мнение о том, что иммуноцитохимический метод изучения клеток, выделенных в градиенте плотности, является «рабочей лошадкой» для выявления опухолевых клеток в костном мозге и имеет большее прогностическое значение, чем определение ЦОК в крови на ранних стадиях опухолевого процесса (Pantel, 2008).

Клиническое значение наличия ЦОК и ДОК

Итак, хотя большинство опухолей может быть подвергнуто радикальному хирургическому вмешательству, так называемой резекции R0, у значительного количества больных через определенное время появляются отдаленные метастазы (August, 1984). Причиной этого является пред- или послеоперационная диссеминация опухолевых клеток, которые не были выявлены ко времени выполнения хирургической операции (Frost, 1992). Свыше 20 лет назад такие клетки или их кластеры получили название микрометастазов и были включены в систему TNM 6-й редакции (2002) и оставлены в 7-й (2009), получив следующие обозначения по категории pM: изолированные опухолевые клетки, найденные в костном мозге с помощью гистологических методов, – M₀(i+); с помощью негистологических (иными словами, молекулярных) методов – M₀(mol+). Фактически эти клетки называются изолированными или диссеминированными в зависимости от нахождения их в крови или костном мозге; присутствие же таких клеток в организме онкологического больного расценивается как МОБ.

Хотя клиническое значение микрометастазов при ряде форм опухолей еще окончательно не установлено, наличие ДОК в целом ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. Метастатические клетки могут оставаться «дремлющими» неопределенное время и приобретать способность к пролиферации после различного по продолжительности периода покоя благодаря факторам, природа которых пока полностью не раскрыта. Аджьювантная химиотерапия, назначаемая с целью элиминации микрометастазов, часто неэффективна в плане подавления их роста. Клетки микрометастазов резистентны в силу того, что нередко они

не являются активно пролиферирующими или же защищены благодаря взаимодействию с факторами микроокружения в очаге метастазирования.

Выявление ДОК еще не стало частью рутинного определения стадии заболевания, больные не лечатся с учетом факторов индивидуального риска. Выявление ДОК представляется крайне необходимым, так как при этом могут быть определены больные с высоким риском развития рецидивов и метастазов, к лечению которых должны быть применены соответствующие подходы.

Сказанное подтверждают данные Maguire и соавт. о влиянии наличия опухолевых клеток в костном мозге на рецидивирование (табл. 3).

Большое влияние на повышение интереса к проблеме МОБ при солидных опухолях сыграли решения 22-го Международного симпозиума по раку грудной железы, проходившего в декабре 1999 года в г. Сан-Антонио (США). Проанализировав результаты исследований, участники симпозиума пришли к заключению, что идентификация клеток микрометастазов в костном мозге больных с различными формами новообразований может рассматриваться в качестве нового поколения методов скрининга и мониторинга злокачественных опухолей.

Интерес к проблеме резко возрос после сообщения группы онкологов под руководством W. Janni из Университета Людвиг-Максимилиана в г. Мюнхене, опубликовавших в 2000 г. результаты работы, которые могут быть названы поворотным пунктом в проблеме контроля эффективности лечения и прогноза течения заболевания с помощью выявления ДОК. Известно, что у больных раком грудной железы основными моментами в выборе методов терапии и оценке прогноза являются размер первичной опухоли и результаты исследования лимфатических узлов на наличие в них метастазов. Janni и соавт. было установлено, что для больных с негативными лимфатическими узлами, у которых в костном мозге были обнаружены опухолевые клетки, характерен более высокий риск неблагоприятного исхода заболевания, чем у пациентов с негативными лимфатическими узлами, у которых в костном мозге опухолевые клетки не были обнаружены.

Метаанализ результатов исследований больных раком грудной железы, проведенный Vraha и соавт. (2005), показал, что присутствие ДОК в костном мозге способно предсказать не только развитие метастазов в костях скелета, но и появление метастазов в других тканях и органах.

Основываясь на этих и других результатах, показавших клиническое значение определения ДОК/ЦОК у больных раком грудной железы, в 2007 г. указанные клетки были впервые упомянуты в рекомендациях ASCO как потенциальные опухолевые маркеры (Harris et al., 2007). Было сделано заключение, что наличие опухолевых клеток в костном мозге у больных, которые не получали адьювантную системную терапию, предсказывает статистически значимый больший риск рецидива заболевания. Было также сделано заключение, что наличие опухолевых клеток в костном мозге у больных с небольшими по размерам опухолями грудной железы степени дифференцировки G1 и негативными лимфатическими узлами не является существенным фактором неблагоприятного прогноза, который мог бы влиять на рекомендации по адьювантной терапии. Вместе с тем практически всеми онкологами признано, что проблема ДОК

Таблица 1. ЦОК в периферической крови больных с новообразованиями различной локализации с категорией M₀

Опухоль	Количество больных с ЦОК (%)
Рак грудной железы	28,9 (8,3-65)
Рак пищевода	28,3
Рак печени	41,8 (27-56,6)
Колоректальный рак	32,5 (5,8-77)
Рак желудка	25,6 (9-62)
Рак поджелудочной железы	50,0
Рак предстательной железы	31,7 (9,6-71)
Немелкоклеточный рак легкого	36,88-62)
Мелкоклеточный рак легкого	38,0
Рак почки	27,0
Переходноклеточная карцинома (уретральная)	19,5
Рак мочевого пузыря	37,9
Карцинома носоглотки	33,0
Меланома кожи	42,9 (15-86)
Увеальная меланома	10,0

Примечания: приведены среднее число положительных случаев и разброс данных (в скобках); отсутствие разброса данных означает, что исследования единичные; имеются сообщения (без указания категории M) о наличии опухолевых клеток в периферической крови у больных раком шейки матки, яичника, щитовидной железы, мезотелиомой плевры.

Таблица 2. ДОК в костном мозге больных с новообразованиями различной локализации с категорией M₀

Опухоль	Количество больных с ДОК (%)
Рак грудной железы	33,9 (8-57); рак in situ – 23,0
Рак яичника	25,0
Рак шейки матки	29,0
Рак пищевода	35,0
Колоректальный рак	31,1 (12,5-65)
Рак желудка	40,5 (11-71)
Рак поджелудочной железы	44,7
Рак предстательной железы	30,4 (18-56)
Немелкоклеточный рак легкого	42,7 (18-70)
Мелкоклеточный рак легкого	38,0
Рак мочевого пузыря	66,0
Опухоли головы и шеи	30,0
Нейробластома	27,0 (13-34)
Остеосаркома	54,0

Примечания: приведены среднее число положительных случаев и разброс данных (в скобках); имеются сообщения (без указания категории M) о наличии опухолевых клеток в костном мозге больных рабдомиосаркомой, раком печени, мультиформной глиобластомой и астроцитарной глиомой, переходноклеточной карциномой (уретральная).

Таблица 3. Частота рецидивирования опухолей различной локализации в зависимости от наличия метастазов в костном мозге

Первичная опухоль	Частота рецидивирования	
	у больных с метастазами в КМ	у больных без метастазов в КМ
Рак легкого	67% (через 13 мес)	37% (через 13 мес)
Рак грудной железы	33% (через 24 мес)	2% (через 24 мес)
Колоректальный рак	57% (через 12-58 мес)	30% (через 12-58 мес)
Рак пищевода	64% (через 24 мес)	11% (через 24 мес)

Примечание: КМ – костный мозг.

имеет большое значение для клинической онкологии и ее разработка должна продолжаться и углубляться. Особое внимание должно быть обращено на поиск высокочувствительных методов идентификации опухолевых клеток, стандартизацию их применения и разработку единых протоколов исследования для получения возможности сравнительной оценки получаемых результатов.

На фоне ожидания четких доказательств значения ДОК в этом году были опубликованы результаты большого клинического исследования группы онкологов под руководством W. Janni (ФРГ), одного из основоположников исследования проблемы ДОК. Результаты базировались на анализе наблюдения за 676 пациентами с первично диагностированным раком грудной железы в стадии I-III. Оказалось, что даже через

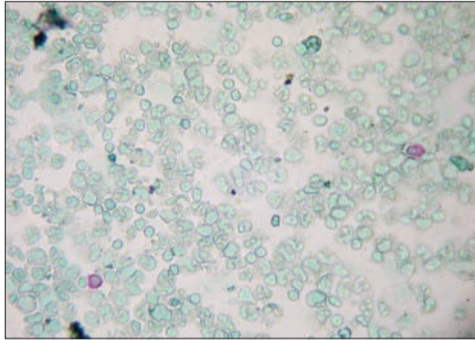


Рис. 1. Цитокератинположительные (опухолевые) клетки в костном мозге больного раком желудка, категория M₀ (цитоспиновый препарат, x400)

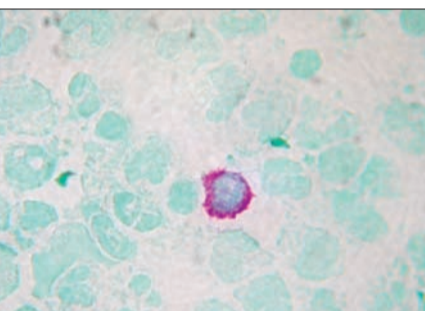
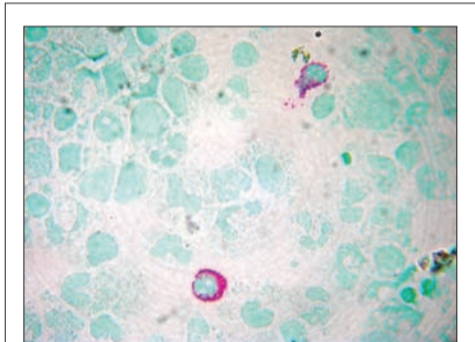


Рис. 2. Цитокератинположительные (опухолевые) клетки в костном мозге больного раком желудка, категория M₀ (цитоспиновый препарат, x1000)

4 года после установления диагноза и соответствующего стандартного лечения у 14,2% больных в костном мозге обнаруживаются опухолевые клетки. Тщательный статистический анализ позволил установить, что наличие ДОК является независимым индикатором плохого прогноза по показателям безрецидивной, безметастатической и общей выживаемости в течение первых 5 лет после установления диагноза рака. Было сделано заключение, что персистирующие ДОК способны предсказывать повышенный риск рецидива и плохого исхода заболевания, анализ же ДОК может быть клинически полезным для мониторинга и назначения вторичной адъювантной терапии.

Исследования проблемы МОБ

Вряд ли вызывает сомнение то положение, что раннее выявление ДОК у больных с солидными опухолями может помочь идентифицировать пациентов, нуждающихся в системной терапии после успешной хирургической резекции первичной опухоли, а определение клиренса ДОК/ЦОК – послужить промежуточной оценкой течения клинического процесса

и эффективности применения противоопухолевых агентов.

В 2009 г. в рамках ежегодной конференции ASCO (США) был организован специальный симпозиум, посвященный выявлению ЦОК и определению их клинического значения. Участники симпозиума сделали общий вывод, что анализ ЦОК является перспективным подходом к дальнейшей характеристике биологии опухоли и метастатического процесса и может уже сегодня применяться в клинике в качестве раннего маркера предсказания реакции новообразования на химиотерапию, а сами ЦОК могут рассматриваться как инструмент для мониторинга больного. Для обозначения процедуры выявления ЦОК был предложен термин «жидкая биопсия».

В сентябре 2009 г. состоялась конференция «Циркулирующие опухолевые клетки», организованная Национальным институтом рака США, которая заострила внимание на данной проблеме и дала начало инновационным исследовательским программам. В апреле 2011 года в г. Гамбурге прошел мировой саммит по ЦОК, который был посвящен практической пользе ЦОК для создания новых лекарств и диагностических приемов. На ноябрь в г. Сан-Диего (США) запланировано проведение третьего саммита по ЦОК, на котором будут рассмотрены вопросы, связанные с технологиями и техникой практической реализации проблемы ЦОК в клинике. На февраль 2012 г. в США запланировано проведение второй конференции, посвященной проблеме ЦОК. Основной темой будет клиническое применение ЦОК для выбора методов лечения и мониторинга реакции опухоли на терапию.

В настоящее время установлен порог количества опухолевых клеток в периферической крови, который позволяет оценивать течение опухолевого процесса и определять степень риска развития рецидива и метастазов, – 5 ЦОК в 7,5 мл крови. Показано, что наличие ≥ 5 опухолевых клеток в 7,5 мл периферической крови ассоциируется с плохим прогнозом. Полученные данные позволяют считать, что определение ЦОК в крови может быть быстрым и более аккуратным показателем для предсказания эффективности терапии, чем сегодняшний золотой стандарт – МРТ, которая выполняется обычно через 10-12 нед после лечения для контроля состояния опухоли. Считается доказанной клиническая ценность определения ЦОК у больных раком грудной железы, тогда как для злокачественных опухолей других локализаций это еще предстоит доказать. Весьма важным является вывод о том, что определение ЦОК будет более информативным и полезным при опухолях, которые ассоциированы с вовлечением в опухолевый процесс костного мозга. Cristofanilli (2009), много работающий по проблеме ЦОК, предположил, что последние могут изменить клиническую практику и стать основой для разделения опухолей на 2 различных типа: более агрессивные и менее агрессивные, что должно повлиять на выбор соответствующего лечения.

В настоящее время для поиска ЦОК применяются несколько приборов, но только один коммерчески доступный – CellSearch (Veridex LLC) – одобрен в 2004 г. Управлением по продуктам питания и лекарственным средствам США (Food and Drug Administration – FDA) для мониторинга лечения больных раком грудной железы (к настоящему времени – также у пациентов с колоректальным раком и раком предстательной железы). Вместе с тем существуют и другие методы выявления ЦОК, в частности ПЦР-анализ, проточная флуориметрия, лазерная сканирующая цитометрия, ЦОК-микрочипы и EPISPOT, положительные и отрицательные характеристики каждого из которых интенсивно изучаются. Это

чрезвычайно важные работы, так как включение оценки микрометастазов, в частности ДОК и ЦОК, в рутинную клиническую практику сдерживается, главным образом, отсутствием стандартных методов и приемов, которые могут быть воспроизведены.

Необходимо отметить, что определение ДОК в костном мозге имеет ряд преимуществ перед выявлением ЦОК в крови в плане прогностического значения, прежде всего из-за того, что костный мозг является «хоуминг»-органом для опухолевых клеток, в котором они могут находиться неопределенно длительное время, при этом анализ крови на наличие опухолевых клеток позволяет сделать лишь своеобразный моментальный снимок, который фиксирует присутствие ЦОК.

Важно акцентировать внимание на необходимости развития фундаментальных работ по проблеме ДОК и ЦОК, так как роль первичной опухоли и самих опухолевых клеток, ее «покидающих» и направляющихся в костный мозг и другие ткани и органы, в развитии рецидивов и метастазов все еще не выяснена. Установлена корреляция между уровнем ангиогенеза в опухоли и появлением опухолевых клеток в костном мозге при раке грудной железы и раке желудка. Примечательно, что обнаружено усиление ангиогенеза в новом для опухолевых клеток месте, в частности в костном мозге у больных раком грудной железы. Интересно наблюдение Lyden (2005) о том, что костномозговые клетки-предшественники в ответ на факторы роста, продуцируемые первичной опухолью, экспрессируют рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1 (Flt-1), направляются в отдаленные органы и изменяют локальное микроокружение, формируя так называемую предметастатическую нишу, являющуюся базой для принятия опухолевых клеток и формирования истинных метастазов.

Важным является наблюдение, что ДОК характеризуются дефицитом экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I класса, которые участвуют в опосредованном Т-лимфоцитами узнавании опухолевых клеток. Эти особенности фенотипа ДОК могут, вероятно, объяснить, почему они на протяжении многих лет игнорируются иммунной системой и сохраняются при лечении, основанном на активной иммунизации противоопухолевыми вакцинами (Pantel, Woelfle, 2005).

Интересны работы, посвященные возможной связи ДОК и ЦОК со стволовыми клетками опухолей, которая имеет как теоретическое, так и практическое значение (Pantel et al., 2009). Известно, что опухолевые стволовые клетки, наличие которых в опухолях человека показано рядом исследований (Clarke, Fuller, 2006), являются редкой самообновляющейся популяцией, которая необходима для инициации и поддержания роста новообразования. Высказано предположение, что опухолевые стволовые клетки могут выходить из первичной опухоли и диссеминировать в отдаленные органы и ткани, в частности в костный мозг (Vidard et al., 2008). В соответствии с гипотезой Aguirre-Ghiso (2007) только ДОК со свойствами стволовых клеток и микрометастазы, сформированные этими ДОК, могут выйти из состояния «спячки» и образовать истинные метастазы. ДОК без свойств стволовых клеток не могут осуществить такой важный переход.

Итак, возникает вопрос: есть ли среди ДОК стволовые метастатические клетки? Pantel (2009) приводит ряд доказательств в поддержку такой возможности: наличие ДОК в костном мозге коррелирует с появлением метастазов; большинство ДОК и ЦОК являются непролиферирующими клетками и резистентны к химиотерапии, что характерно для опухолевых стволовых клеток, и они могут существовать

в костном мозге больных с опухолями многие годы после операции; ДОК и ЦОК у больных раком грудной железы имеют фенотип стволовых клеток первичной опухоли; два фактора стволовых клеток – EGF и FGF2 – были необходимы для роста *in vitro* ДОК, полученных из костного мозга больных. Приведенные факты интересны, но вопрос о возможной стволовой природе ДОК, в частности о возможности использования ими костного мозга в качестве ниши подобно нормальным стволовым клеткам для существования у больных с опухолями в течение многих лет, все еще открыт.

Нам представляется возможным высказать предположение, дополняющее приведенную гипотезу. Известно, что одной из причин выхода опухолевых клеток из первичного очага являются неблагоприятные условия микроокружения, в частности гипоксия и нехватка питательных веществ. Можно допустить, что опухолевые стволовые клетки выходят из опухоли в силу тех же причин и, может быть, прежде всего для сохранения опухоли как таковой, поскольку только стволовые клетки способны существовать длительное время и быть готовыми в определенный момент инициировать продолжение опухолевого роста.

Приведенные данные позволяют сделать вывод, что определение ЦОК и ДОК, несомненно, имеет большую перспективу и серьезное клиническое значение, прежде всего в оценке риска раннего метастазирования, предсказании эффективности системной терапии и ее мониторинге, а также в прогнозировании течения заболевания.

Для успешного применения методов выявления опухолевых клеток в крови и костном мозге необходимы усовершенствование методов идентификации ДОК и ЦОК, их молекулярная характеристика, поиск связи особенностей биологии первичной опухоли с появлением ДОК и ЦОК, исследование взаимодействия «клетки опухоли – клетки стромы» с особым акцентом на изучении факторов микроокружения опухолевых клеток как метаболического, так и стромального, которое во многом предопределяет выход опухолевых клеток из первичного очага; исследование реакции организма на это взаимодействие и поиск методов управления последним, а также создание методов контроля баланса «опухоль–организм» и регистрации его нарушения с целью коррекции.

Для выявления опухолевых клеток в крови и костном мозге необходим тщательный подбор маркеров, которые являются наиболее характерными для клеток злокачественных опухолей. Основными и наиболее специфичными для клеток опухолей эпителиальной природы, которых большинство, являются цитокератины (рис. 1-2). Вместе с тем для данных опухолей могут быть применены и такие маркеры, которые специфичны для той или иной опухоли, – CEA, PSA, MUC и др., в том числе и для опухолей неэпителиальной природы. Учитывая интенсивные исследования в области молекулярной онкологии, есть все основания ожидать открытия новых генов, экспрессия которых окажется максимально специфичной для клеток тех или иных новообразований.

В заключение необходимо еще раз подчеркнуть, что для решения вопроса о месте в онкологической клинике метода выявления опухолевых клеток в крови и костном мозге, которые, являясь частью опухолевой прогрессии, оказывают существенное влияние на течение заболевания, необходимы активизация соответствующих исследований и объединение усилий ученых различных клиник и стран в рамках унифицированных протокольных исследований.