

УДК 616-006

UDC 616-006

14.00.00 Медицинские науки

Medical sciences

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦОК У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫБОРА ОПЕРАТИВНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

THE COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CTCs IN COLORECTAL CANCER PATIENTS DEPENDING ON THE CHOICE OF SURGICAL INTERVENTION

Кит Олег Иванович

д.м.н., профессор, директор
РИНЦ SPIN-код: 1728-0329
Scopus ID: 55994103100

Kit Oleg Ivanovich

Dr. Sci. Med., professor, director
RSCI SPIN code: 1728-0329
Scopus ID: 55994103100

Колесников Владимир Евгеньевич

к.м.н., хирург-онколог
РИНЦ SPIN-код: 9915-0578

Kolesnikov Vladimir Evgenievich

Cand.Med.Sci., oncologist
RSCI SPIN-code: 9915-0578

Новикова Инна Арнольдовна

к.м.н., руководитель лаборатории
РИНЦ SPIN-код: 4810-2424
Scopus ID: 7005153343

Novikova Inna Arnoldovna

Cand.Med.Sci., head of laboratory
RSCI SPIN-code: 4810-2424
Scopus ID: 7005153343

Гранкина Анастасия Олеговна

младший научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 1659-6976
Scopus ID: 56381527400

Grankina Anastasiya Olegovna

junior researcher
RSCI SPIN-code: 1659-6976
Scopus ID: 56381527400

Геворкян Юрий Артушевич

д.м.н., профессор, заведующий отделением
РИНЦ SPIN-код: 8643-2348
Scopus ID: 56879189300

Gevorkyan Yury Artushevich

Dr. Sci. Med., professor, head of department
RSCI SPIN-code: 8643-2348
Scopus ID: 56879189300

Максимов Алексей Юрьевич

д.м.н., профессор, заместитель директора
РИНЦ SPIN-код: 7322-5589
ФГБУ "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Министерства здравоохранения РФ, Россия, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Maksimov Aleksey Yurievich

Dr. Sci. Med., professor, deputy director
RSCI SPIN-code: 7322-5589
Federal State Budgetary Institution "Rostov Cancer Research Institute", of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, 344037, Rostov-on-Don, str. 14-line 63

Смертность от злокачественных заболеваний напрямую связана с ранним метастазированием и развитием рецидивов. В настоящее время стало возможным определение единичных опухолевых клеток в биоптатах костного мозга и периферической крови. Колоректальный рак занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической заболеваемости и смертности, как в России, так и во всем мире. Исследования показали, что после операций увеличивается способность опухолевых клеток к имплантации и диссеминации. В работу были включены 30 пациентов по поводу верифицированного рака толстой кишки с метастазированием в печень. Для определения ЦОК применялась технология анализа в системе CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC). Проведенное нами исследование количества и частоты выявления циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови больных основной

Mortality from malignant diseases is directly linked to early metastasis and relapse. It is now possible to identify individual tumor cells in bone marrow biopsies and peripheral blood. Colorectal cancer is one of the leading places in the structure of cancer incidence and mortality, both in Russia and around the world. Studies have shown that after surgery the ability of tumor cells to the dissemination and implantation increases. The work contains 30 patients with the verified colorectal cancer with metastasis to the liver. To determine the CSC we have applied an analysis technology in CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC). Our study of the number and frequency of detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients and control group demonstrates the reduction in the number of CTCs during laparoscopic surgery and changing the dynamics of the level of tumor cells in the form of reduction from the stage of the mobilization of the

и контрольной групп наглядно демонстрирует уменьшение количества ЦОК при проведении лапароскопических вмешательств и изменение динамики уровня опухолевых клеток в виде их снижения начиная с этапа мобилизации препарата за счет малотравматичного доступа, минимизации манипуляций в проекции опухоли и как, следствие, препятствию выхода в кровяное русло единичных опухолевых клеток

Ключевые слова: КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК, ЦОК, ЛАПАРОСКОПИЯ

drug due to minimally invasive access, minimizing manipulation in the projection of the tumor and as a consequence, preventing the release into the blood stream of single tumor cells

Keywords: COLORECTAL CANCER, CTCs, LAPAROSCOPY

Doi: 10.21515/1990-4665-122-073

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно, что смертность от злокачественных заболеваний напрямую связана с ранним метастазированием и развитием рецидивов. С развитием современных технологий стало возможным детекция единичных опухолевых клеток в биоптатах костного мозга и периферической крови [11]. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) – клетки эпителиального происхождения, своего рода клоны первичной опухоли [4,5,10]. Клетки опухоли приобретают способность проникать в кровотоки после процесса эпителиально-мезенхимального перехода, в результате которого опухолевая клетка утрачивает клеточную адгезию, приобретает аномальную подвижность и инвазивность [7,16]. После попадания в кровоток основная часть опухолевых клеток (85%) подвергается апоптозу в течение 5 минут, часть - продолжает циркулировать, а часть клеток покидает кровоток в сосудах отдаленных органов, где могут находиться в «дремлющем» или «спящем» состоянии или, при реверсии мезенхимального фенотипа в эпителиальный, пролиферировать с формированием метастаза [8,13].

Основной интерес представляет фракция клеток опухоли, продолжающая свое существование в сосудистом русле. Эти клетки не вступают в клеточный цикл, не пролиферируют, устойчивы к действию цитотоксических агентов и не подвергаются апоптозу, благодаря

активации антиапоптотических программ происходящей во время эпителиально-мезенхимального перехода [7]. ЦОК имеют агрессивный метастатический потенциал, приобретенный в результате эволюции клона, что позволяет рассматривать их как основной механизм опухолевой прогрессии [6]. Во время эпителиально-мезенхимального перехода опухолевая клетка теряет эпителиальные антигены и приобретает мезенхимальные, в связи с чем меняются ее фенотипические характеристики, по сравнению с клетками в первичной опухоли [14].

Колоректальный рак занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической заболеваемости и смертности, как в России, так и во всем мире [1,2,3]. Известно, что хирургический стресс может активизировать рост опухоли и способствовать ее метастазированию. В экспериментах А. М. Eggermont и соавт. и Н. Goshima и соавт. показано, что после операций увеличивается способность опухолевых клеток к имплантации и диссеминации [9,12]. Лапароскопические вмешательства по сравнению с традиционными, открытыми операциями позволяют минимизировать хирургическую травму и хирургический стресс за счет прецизионной техники и малотравматичного доступа [15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 30 пациентов по поводу верифицированного рака толстой кишки с метастазированием в печень в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ. Все пациенты были разделены на основную группу (лапароскопические операции, 15 человек) и контрольную (традиционные открытые операции, 15 человек). Для определения ЦОК применялась технология анализа в системе CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC). Анализ выполнялся трижды: до оперативного вмешательства при поступлении, во время операции при мобилизации препарата и перед выпиской. Методика определения ЦОК

заключалась в следующем: кровь в объеме 8–10 мл забиралась в пробирки CellSave Preservative Tube, содержащие антикоагулянт ЭДТА, а также реагент для сохранения жизнеспособности опухолевых клеток. Для отделения клеток крови и опухолевых от плазмы, кровь смешивалась с рабочим буфером из набора реагентов CellSearch® CTC kit и центрифугировалась при ускорении 800g в течение 10 минут. После этого образцы переносились в аппарат CellTracks® AutoPrep® System, который в автоматическом режиме, удаляя плазму крови и форменные элементы, иммуномагнитно обогащал образец микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитокератинам 8,18,19. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля CTC control kit. Материал сканировался в анализаторе CellTracks® Analyzer II®. С учетом морфологических характеристик и экспрессии маркеров регистрировались циркулирующие опухолевые клетки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении количественного анализа ЦОК в крови больных основной группы на этапе до оперативного вмешательства опухолевые клетки были зарегистрированы у 13 больных из 15 (86,7% случаев). При этом от 1 до 3 клеток, что является допустимым при онкологических заболеваниях, наблюдалось в 46,7% случаев (у 7 из 15 больных). Уровень ЦОК выше 3-х наблюдался у 40% больных (6 из 15). Разброс опухолевых клеток в крови на этапе до оперативного вмешательства колебался от 1 до 121 ЦОК, в среднем составив $11,1 \pm 7,6\%$.

Процентное соотношение выявленных опухолевых клеток в крови в основной группе больных на этапе мобилизации препарата по сравнению с детекцией до оперативного вмешательства было немного меньше, так ЦОК регистрировались в 80% случаев (у 12 из 15 больных). От 1 до 3 клеток

обнаружено в 53,3% случаев (у 8 из 15 больных). На долю больных с уровнем ЦОК свыше 3-х приходилось 26,7% больных (4 из 15). Уровень ЦОК в крови больных на этапе мобилизации препарата находился в пределах от 1 до 52 опухолевых клеток, в среднем составив $5,3 \pm 3,3\%$.

На 7 сутки после оперативного вмешательства доля больных с выявленными ЦОК составила 46,7% (7 из 15). От 1 до 3 ЦОК наблюдалось у 33,3% больных основной группы (5 из 15). У двоих больных уровень ЦОК был выше 3-х. Количество ЦОК в крови больных на 7 сутки после оперативного вмешательства составляло от 1 до 12 клеток, в среднем составив $1,5 \pm 0,8\%$.

В целом, при анализе динамики уровня ЦОК во всех трех точках исследования при проведении лапароскопического оперативного вмешательства были получены следующие типы изменений содержания опухолевых клеток:

- Уровень ЦОК постепенно снижался от исходного фона к этапу мобилизации препарата и к 7-м суткам после оперативного вмешательства в 33,3% случаев (у 5 из 15 больных).
- В первой и второй точках исследования был одинаков и снижался на 7-е сутки в 20% случаев (у 3 из 15 больных).
- Снижался на этапе мобилизации препарата и оставался таким же на 7-е сутки в 20% (у 3 из 15 больных).
- Повышался на этапе мобилизации препарата, но снижался к 7-м суткам (в нашем случае, наблюдалось отсутствие ЦОК в 3 точке) в 13,3% у 2 из 15 больных.
- Снижался и отсутствовал на этапе мобилизации препарата, но увеличивался до 1 ЦОК на 7-е сутки после вмешательства в 6,7% случаев (1 из 15).
- В 1 случае из 15 анализ показал отсутствие опухолевых клеток в крови во всех трех точках исследования, что составило 6,7%.

Проведение количественного анализа ЦОК в крови больных контрольной группы на этапе до оперативного вмешательства выявило отсутствие опухолевых клеток в 13,3% случаев (у 2 из 15 больных), против 86,7% больных с наличием ЦОК (13 из 15). Детекция от 1 до 3 клеток происходила в 40% случаев (у 6 из 15 больных). Доля больных с уровнем ЦОК свыше 3 клеток составила 46,7% больных (7 из 15). Количество опухолевых клеток в крови на этапе до оперативного вмешательства у больных контрольной группы колебалось от 1 до 142 ЦОК, в среднем составив $12,2 \pm 9,2\%$.

Процентное соотношение выявленных опухолевых клеток в крови в контрольной группе больных на этапе мобилизации препарата составило 93,3% (у 14 из 15 больных). От 1 до 3 клеток зарегистрировано в 40% случаев (у 6 из 15 больных). На долю больных с уровнем ЦОК свыше 3-х приходилось 53,3% (8 из 15). Уровень ЦОК в крови больных на этапе мобилизации препарата находился в пределах от 1 до 140 опухолевых клеток, в среднем составив $12,7 \pm 9,1\%$.

На 7 сутки после оперативного вмешательства в крови больных контрольной группы наличие клеток опухоли выявлено в 86,7% (13 из 15). От 1 до 3 ЦОК обнаружено у 33,3% больных контрольной группы (5 из 15). На долю больных с уровнем ЦОК свыше 3-х клеток приходилось 53,3% (8 из 15).

Уровень ЦОК в крови больных контрольной группы на 7 сутки после оперативного вмешательства находился в пределах от 1 до 160 клеток, в среднем составив $14,7 \pm 10,4\%$.

Анализ динамики уровня ЦОК во всех трех точках исследования при проведении традиционной полостной операции соответствовал следующим типам изменений содержания опухолевых клеток:

- Постепенное снижение уровня ЦОК от исходного фона к этапу мобилизации препарата и к 7-м суткам после оперативного

вмешательства не выявлено ни в одном из проанализированных случаев контрольной группы.

- В первой и второй точках исследования уровень ЦОК был одинаков и снижался на 7-е сутки в 1 из 15 случаев, что составило 6,7%.
- Случаи снижения уровня ЦОК на этапе мобилизации препарата и такие же значения на 7-е сутки после операции среди больных контрольной группы нами выявлены не были.
- Уровень ЦОК повышался на этапе мобилизации препарата, но снижался к 7-м суткам у 4 из 15 больных, в 26,7%.
- Снижался на этапе мобилизации препарата, но увеличивался на 7-е сутки после оперативного вмешательства в 26,7% случаев (4 из 15).
- Постепенное повышение уровня ЦОК от исходного фона к этапу мобилизации препарата и к 7-м суткам после оперативного вмешательства выявлено в 20% случаев (у 3 из 15 больных).
- По 1 случаю приходилось на следующие типы динамики ЦОК: отсутствие опухолевых клеток в крови на всех этапах исследования и одинаковый исходный уровень и во время операции на этапе мобилизации препарата с увеличением к 7-м суткам (по 6,7%).
- Увеличение уровня ЦОК на этапе мобилизации препарата и сохранение на 7-е сутки отмечено у 1 из 15 больных (6,7%).

Проведенный сравнительный анализ количества ЦОК у больных обеих групп на этапах исследования выявил, что исходные показатели средних значений опухолевых клеток до оперативного вмешательства в основной и контрольной группах находились практически на одинаковом уровне и составили $11,1 \pm 7,6$ и $12,2 \pm 9,2$ соответственно. При проведении лапароскопической операции на этапе мобилизации препарата у больных основной группы отмечено снижение в 2,4 раза среднего количества ЦОК в крови в сравнении со значениями больных контрольной группы (с $12,7 \pm 9,1$ при полостной операции против $5,3 \pm 3,3$ при лапароскопической).

Наиболее выраженные изменения количества ЦОК, хотя и не имеющие достоверной разницы, отмечены на 7-е сутки у больных основной группы, где их средние значения в 9,8 раз снижались в сравнении со значениями больных контрольной группы (с $14,7 \pm 10,4$ больных контрольной группы, против $1,5 \pm 0,8$ больных основной группы).

При сравнительном анализе динамики уровня ЦОК на этапах исследования у больных основной и контрольной групп выявлены следующие типы изменений содержания опухолевых клеток:

- Одинаково часто в 6,7% у больных исследуемых групп опухолевые клетки не выявлены ни на одном из этапов исследования.
- У больных основной группы в 53,3% отмечено снижение уровня ЦОК к этапу мобилизации препарата, причем у 33,3% снижение количества ЦОК продолжалось и к 7-е суткам в сравнении с исходным фоном и этапом мобилизации препарата. Подобная динамика уровня ЦОК у больных контрольной группы выявлена не была.
- У больных основной группы снижение уровня ЦОК только к 7-м суткам выявлено в 3 раза чаще в сравнении с контрольной группой (20% против 6,7%).
- Увеличение уровня ЦОК у больных контрольной группы на этапе мобилизации препарата выявлено в 4 раза чаще в сравнении с больными основной группы (53,3% против 13,3%). При этом в 33,3% случаев контрольной группы высокий уровень ЦОК сохранялся и на 7-е сутки после оперативного вмешательства. Подобная динамика уровня ЦОК у больных основной группы нами не выявлена.
- Снижение уровня ЦОК на этапе мобилизации препарата и увеличение к 7-м суткам у больных контрольной группы выявлено в 4 раза чаще, в сравнении с больными основной группой (26,7% против 6,7%).

ВЫВОДЫ

Проведенное нами исследование количества и частоты выявления циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови больных основной и контрольной групп наглядно демонстрирует уменьшение количества ЦОК при проведении лапароскопических вмешательств и изменение динамики уровня опухолевых клеток в виде их снижения начиная с этапа мобилизации препарата за счет малотравматичного доступа, минимизации манипуляций в проекции опухоли и как, следствие, препятствию выхода в кровяное русло единичных опухолевых клеток.

Литература

1. Архипова О. Е. Анализ встречаемости онкологических заболеваний в Ростовской области. Пространственно-временная статистика / Архипова О. Е., Черногубова Е. А., Лихтанская Н. В., Тарасов В. А., Кит О. И., Матишов Д. Г. // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 7-3. – С. 504-510.
2. Архипова О. Е. Уровень онкологических заболеваний как индикатор медико-экологической безопасности территории (на примере Ростовской области) / Архипова О. Е., Черногубова Е. А., Тарасов В. А., Лихтанская Н. В., Кит О. И., Еремеева А. А., Матишов Д. Г. // *Вестник Южного научного центра РАН*. – 2013. – Т. 9. – № 3. – С.7-14.
3. Кит О. И. Проблема колоректального рака XXI века: достижения и перспективы / Кит О. И. // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2013. – Т. 23. – № 3. – С.65-71.
4. Кит О. И. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови / Кит О. И., Новикова И. А., Бахтин А. В., Никипелова Е. А., Шатова Ю. С., Габараева В. М., Нистратова О. В. // *Международный журнал экспериментального образования*. – 2013. – № 11. – С. 37-39.
5. Непомнящая Е. М. Циркулирующие опухолевые клетки и некоторые морфо-иммуногистохимические показатели при колоректальном раке / Непомнящая Е. М., Кит О. И., Нистратова О. В., Новикова И. А., Никипелова Е. А., Бахтин А. В., Ульянова Е. П., Вострикова Ж. И., Селютина О. Н. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – № 2.
6. Осинский С.П. Диссеминированные опухолевые клетки в крови и костном мозге (молекулярный прогноз в клинической онкологии) / С.П. Осинский, Д.Ф. Глузман // *Онкология*. — 2006. — Т. 8, № 2. — С. 102-108.
7. Тупицын Н.Н. Циркулирующие и диссеминированные раковые клетки при раке молочной железы и раке яичников / Тупицын Н.Н. // *Онкогинекология*. – 2013. – № 1. – С. 12-18.
8. Bednarz-Knoll N. Plasticity of disseminating cancer cells in patients with epithelial malignancies / Bednarz-Knoll N., Alix-Panabieres C., Pantel K. // *Cancer Metastasis Rev.* – 2012. – Vol. 3-4. – P. 673-87. doi: 10.1007/s10555-012-9370-z.

9. Eggermont A. M. Local regional promotion of tumor growth after abdominal surgery is dominant over immunotherapy with interleukin-2 and lymphokine activated killer cells / Eggermont A. M., Steller E. P., Marquet R. L. et al. // *Cancer. Detect. Prev.* – 1988. – Vol. 12. – P. 421–429.

10. Fehm T. Clinical utility of serial serum c-erbB-2 determinations in the follow-up of breast cancer patients / Fehm T., Gebauer G., Jäger W. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2002. – Vol. 75. – P. 97–106.

11. Gafforio J.J. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen receptor status and predicts for poor prognosis / Gafforio J.J., Serrano M.J., Sanches Rovira P. et al. // *Int. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 107. – № 6. – P. 984–990.

12. Goshima H. Experimental study on preventive effects of lung metastases using LAK cells induced from various lymphocytes: special references to enhancement of lung metastasis after laparotomy stress / Goshima H., Saji S., Furuta T. et al. // *Jpn J. Surg. Soc.* – 1989. – Vol. 90. – P. 1245–1250.

13. Lu X. VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging $\alpha 4\beta 1$ -positive osteoclast progenitors / Lu X, Mu E, Wei Y, Riethdorf S, Yang Q, Yuan M, Yan J, Hua Y, Tiede B, Lu X, Haffty B, Pantel K, Massagué J, and Kang Y. // *Cancer Cell.* – 2011. – Vol. 20(6). – P. 701-14.

14. Pantel, K. Circulating tumour cells in cancer patients: challenges and perspectives / Pantel K., Alix-Panabieres C. // *Trends Mol. Med.* – 2010. – Vol. 16. – P. 398–406.

15. Sákra L., Lotková H., Kohoutek L., Siller J. Different impact of the laparoscopic and laparotomic approach on the immune response induced by surgical procedure // *Rozhl. Chir.* 2011 Vol. 90, №6. P. 324–328

16. Shah M. Keeping an open mind: highlights and controversies of the breast cancer stem cell theory / Shah M., Allergucci C. // *Breast cancer: targets and therapy.* – 2012. – V. 4. – P. 155–166.

References:

1. Arhipova O. E. Analiz vstrechaemosti onkologicheskikh zabolevanij v Rostovskoj oblasti. Prostranstvenno-vremennaja statistika / Arhipova O. E., Chernogubova E. A., Lihtanskaja N. V., Tarasov V. A., Kit O. I., Matishov D. G. // *Fundamental'nye issledovanija.* – 2013. – № 7-3. – S. 504-510.

2. Arhipova O. E. Uroven' onkologicheskikh zabolevanij kak indikator mediko-jekologicheskoy bezopasnosti territorii (na primere Rostovskoj oblasti) / Arhipova O. E., Chernogubova E. A., Tarasov V. A., Lihtanskaja N. V., Kit O. I., Eremeeva A. A., Matishov D. G. // *Vestnik Juzhnogo nauchnogo centra RAN.* – 2013. – T. 9. – № 3. – S.7-14.

3. Kit O. I. Problema kolorektal'nogo raka XXI veka: dostizhenija i perspektivy / Kit O. I. // *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* – 2013. – T. 23. – № 3. – S.65-71.

4. Kit O. I. Pervyj opyt detekcii cirkulirujushhijh opuholevyh kletok v perifericheskoj krovi / Kit O. I., Novikova I. A., Bahtin A. V., Nikipelova E. A., Shatova Ju. S., Gabaraeva V. M., Nistratova O. V. // *Mezhdunarodnyj zhurnal jeksperimental'nogo obrazovanija.* – 2013. – № 11. – S. 37-39.

5. Nepomnjashhaja E. M. Cirkulirujushhie opuholevye kletki i nekotorye morfo-immunogistohimicheskie pokazateli pri kolorektal'nom rake / Nepomnjashhaja E. M., Kit O. I., Nistratova O. V., Novikova I. A., Nikipelova E. A., Bahtin A. V., Ul'janova E. P., Vostrikova Zh. I., Seljutina O. N. // *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija.* – 2016. – № 2.

6. Osinskij S.P. Disseminirovannye opuholevye kletki v krovi i kostnom mozge (molekuljarnyj prognoz v klinicheskoj onkologii) / S.P. Osinskij, D.F. Gluzman // *Onkologija*. — 2006. — Т. 8, № 2. — С. 102-108.
7. Tupicyn N.N. Cirkulirujushhie i disseminirovannye rakovye kletki pri rake molochnoj zhelezy i rake jaichnikov / Tupicyn N.N. // *Onkoginekologija*. — 2013. — № 1. — С. 12-18.
8. Bednarz-Knoll N. Plasticity of disseminating cancer cells in patients with epithelial malignancies / Bednarz-Knoll N., Alix-Panabieres C., Pantel K. // *Cancer Metastasis Rev.* — 2012. — Vol. 3-4. — P. 673-87. doi: 10.1007/s10555-012-9370-z.
9. Eggermont A. M. Local regional promotion of tumor growth after abdominal surgery is dominant over immunotherapy with interleukin-2 and lymphokine activated killer cells / Eggermont A. M., Steller E. P., Marquet R. L. et al. // *Cancer. Detect. Prev.* — 1988. — Vol. 12. — P. 421-429.
10. Fehm T. Clinical utility of serial serum c-erbB-2 determinations in the follow-up of breast cancer patients / Fehm T, Gebauer G, Jäger W. // *Breast Cancer Res Treat.* — 2002. — Vol. 75. — P. 97-106.
11. Gafforio J.J. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen receptor status and predicts for poor prognosis / Gafforio J.J., Serrano M.J., Sanches Rovira P. et al. // *Int. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 107. — № 6. — P. 984-990.
12. Goshima H. Experimental study on preventive effects of lung metastases using LAK cells induced from various lymphocytes: special references to enhancement of lung metastasis after laparotomy stress / Goshima H., Saji S., Furuta T. et al. // *Jpn J. Surg. Soc.* — 1989. — Vol. 90. — P. 1245-1250.
13. Lu X. VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging $\alpha 4\beta 1$ -positive osteoclast progenitors / Lu X, Mu E, Wei Y, Riethdorf S, Yang Q, Yuan M, Yan J, Hua Y, Tiede B, Lu X, Haffty B, Pantel K, Massagué J, and Kang Y. // *Cancer Cell.* — 2011. — Vol. 20(6). — P. 701-14.
14. Pantel, K. Circulating tumour cells in cancer patients: challenges and perspectives / Pantel K., Alix-Panabieres C. // *Trends Mol. Med.* — 2010. — Vol. 16. — P. 398-406.
15. Sákra L., Lotková H., Kohoutek L., Siller J. Different impact of the laparoscopic and laparotomic approach on the immune response induced by surgical procedure // *Rozhl. Chir.* 2011 Vol. 90, №6. P. 324-328
16. Shah M. Keeping an open mind: highlights and controversies of the breast cancer stem cell theory / Shah M., Allergucci C. // *Breast cancer: targets and therapy.* — 2012. — V. 4. — P. 155-166.