

Прогностическая роль циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), обнаруженных при помощи обратной транскриптазной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) при раке молочной железы: мета-анализ опубликованной литературы

Е.А. Шляхтунов¹, В.М. Семенов¹, А.В. Савченко²

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Беларусь

²УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», Беларусь

Prognostic role of circulating tumor cells (CTCs) detected by RT-PCR in breast cancer: a meta-analysis of published literature

Е.А. Шляхтунов¹, В.М. Семенов¹, А.В. Савченко²

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, рак молочной железы, RT-PCR

Прогностическое значение циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) у пациенток, страдающих раком молочной железы (РМЖ) до настоящего времени остается спорным. Чтобы ответить на вопрос: «Можно ли использовать обнаружение ЦОК у пациенток с верифицированным диагнозом первичного рака молочной железы в качестве прогностического фактора?» был проведен мета-анализ опубликованной литературы. Для анализа имеющихся литературных источников использовались базы Medline, Science Citation Index, Embase, а также опубликованные соответствующие статьи (в том числе и обзорные), в которых оценивали прогностическую значимость обнаружения опухолевых клеток в периферической крови. Было отобрано 24 исследования, включающее 4013 случая и 1333 контроля. Мета-анализ проводили с использованием модели случайных эффектов, используя коэффициент отношения рисков (ОР) и 95% доверительный интервал (95% ДИ) в качестве оценки эффективности. Положительное обнаружение ЦОК у пациенток была в значительной степени связано с плохой общей выживаемостью (ОВ) (ОР = 3,00 [95% ДИ 2,29–3,94], $n = 17$, $p < 0,0001$) и безрецидивной выживаемостью (БВ) (ОР = 2,67 [95% ДИ 2,09–3,42], $n = 22$, $p < 0,0001$). ЦОК-положительные случаи РМЖ в значительной степени коррелировали с высокой степенью злокачественности опухоли Grade 2–3 (ОР = 1,21 [95% ДИ 1,09–1,35], $n = 34$, $p < 0,0001$), размером опухоли (> 2 см) (ОР = 1,12 [95% ДИ 1,02–1,22], $n = 31$, $p = 0,01$), и метастатическим поражением лимфатических узлов (N⁺) (ОР = 1,10 [95% ДИ 1,00–1,21], $n = 32$, $p = 0,037$). Однако положительные ЦОК по цитокератину-19 (СК-19) мРНК не коррелировали с клинико-патологоанатомическими параметрами РМЖ. Обнаружение в периферической крови ЦОК не было связано с негативным гормонорецепторным статусом по эстрогену (ER) и прогестерону (PR) или позитивным статусом по рецептору человеческого эпидермального фактора роста типа 2 (HER2). Обнаружение ЦОК в периферической крови указывает на плохой прогноз у пациенток, с первичным РМЖ. Для дальнейшей оценки роли этих маркеров и поиска новых маркеров в клинической практике необходимы более крупные клинические исследования. Перспективным является исследование экспрессии гена Survivin (BIRC5) в качестве маркера ЦОК и прогноза течения РМЖ.

Key words: circulating tumor cells, breast cancer, RT-PCR

The prognostic value of circulating tumor cells (CTCs) in patients suffering from breast cancer (BC) still remains controversial. Meta-analysis of the published literature was conducted to answer the question: Is it possible to use the detection of CTCs in patients with verified diagnosis of primary breast cancer as a prognostic factor. For the analysis of the available literature were used Medline database, Science Citation Index, Embase, and published by the relevant articles (including review) that evaluated the prognostic significance of peripheral blood detection of tumor cells. 24 eligible studies were selected, including 4013 cases and 1333 control cases. Meta-analysis was performed using a random effects model, using a coefficient of hazard ratio (HR) and 95% confidence interval (95% CI) as a performance measurement. Positive detection of CTCs in patients was significantly associated with poor overall survival (OS) (HR = 3.00 [95% CI 2.29–3.94], $n = 17$, $p < 0,0001$) and recurrence-free survival (RFS) (HR = 2.67 [95% CI 2.09–3.42], $n = 22$, $p < 0,0001$). CTC-positive cases of breast cancer are largely correlated with high tumor grade Grade 2–3 (HR = 1.21 [95% CI 1.09–1.35], $n = 34$, $p < 0,0001$), tumor size (> 2 cm) (HR = 1.12 [95% CI 1.02–1.22], $n = 31$, $p = 0,01$), and metastatic lymph nodes (n⁺) (HR = 1.10 [95% CI 1.00–1.21], $n = 32$, $p = 0,037$). However positive CTCs for cytokeratin-19 (CK-19) mRNA did not correlate with clinicopathological parameters of breast cancer. Detection of peripheral blood CTC was not associated with negative status for estrogen receptors (ER) and progesterone (PR) or positive status of the human receptor for epidermal growth factor type 2 (HER2). Detection of CTCs in the peripheral blood indicates a poor prognosis in patients with primary breast cancer. To further assess the role of the search for new markers and markers in clinical practice requires a large clinical study. Perspective is a gene expression study Survivin (BIRC5) as a marker of CTCs and prognosis of breast cancer.

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) по-прежнему является серьезной проблемой для здоровья женщин как во всем мире, так и для жительниц Республики Беларусь [1]. Исход этого коварного заболевания, как и других злокачественных новообразований, во многом зависит от развития отдаленных метастазов, субстратом которых являются циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК). Обнаружение ЦОК является одним из активно развивающихся научных направлений, которое фокусируется на новом методе обнаружения процесса раннего метастазирования, поиске субстрата метастазов, который является малоинвазивным, и более надежным, чем доступные в настоящее время традиционные методы, такие как клинические проявления болезни, методы медицинской визуализации (УЗИ, Rtg, КТ, ПЭТ, сцинтиграфия), обнаружение опухолевых маркеров в сыворотке крови.

ЦОК определяются как опухолевые клетки, циркулирующие в периферической крови пациентов, которые отделяются либо от первичной опухоли либо от ее метастазов. ЦОК, оторвавшиеся от первичной опухоли и пройдя инвазацию попадают в кровоток и в последующем либо размножаются в просвете сосудов образуя опухолевые кластеры и эмболы, экстравазируют и колонизируют отдаленные органы, образуя отдаленные метастазы. Присутствие ЦОК в крови было зафиксировано более ста лет назад в 1869 г. австрийским патологом T.R. Ashworth при раке кожи [2]. Вскоре после этого, были описаны различные способы для поиска ЦОК, в том числе и методов, основанных на ПЦР, которые увеличивают шансы идентификации ЦОК от клеточного фона нормальных клеток, и в настоящее время считается наиболее чувствительными методами для обнаружения ЦОК [3].

Многие авторы [4–17] показали, что ЦОК-позитивный статус связан с плохим клиническим исходом и, следовательно, может играть важную роль в диагностике и лечении женщин, страдающих РМЖ. Тем не менее, в других исследованиях [18–22] не обнаружено достоверной связи между наличием ЦОК и плохим клиническим исходом и прогнозом опухолевого процесса. Таким образом, отношения между наличием ЦОК и клинико-патологическими особенностями опухолевого роста остается спорным. Как правило к спорным результатам клинических данных приводит ограниченное количество исследуемых образцов и самих исследований. Эта неоднозначность и недостаточность клинических данных делает применение маркеров ЦОК в клинической практике в настоящее время недопустимой.

Целью проведения настоящей мета-анализа было определение связи между ЦОК и обычно идентифицируемыми клиническими и патогистологическими характеристиками РМЖ, что позволяет рассмотреть предполагаемую роль ЦОК в прогнозировании исходов при РМЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для систематического поиска были использованы следующие электронные базы данных без ограничений по времени с использованием английского языка в июне 2016 года: PubMed (HTTP: // www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/), EMBASE, и Science Citation Index, а также eLiberry и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ) с использованием двух языков русского и английского. В качестве ключевых слов были использованы «Circulating tumor cells», «CTCs», «breast cancer», или «циркулирующие опухолевые клетки», «ЦОК» и «рак молочной железы» соответственно.

Результаты поиска были затем подвергают скринингу по следующим критериям включения: 1) любая форма обратной транскрипции ПЦР (RT-PCR), используемая для оценки ассоциации между предполагаемыми маркерами ЦОК и либо общей выживаемостью (ОВ), безрецидивной выживаемостью (БВ), или прогностическими факторы РМЖ; 2) >20 проанализированных пациенток, и достаточное количество данных для расчета отношения рисков (ОР) в качестве оценки сравнимого эффекта для БВ и / или ОВ с 95% доверительный интервал (ДИ 95%).

В результате скрининга были исключены обзорные статьи, а также статьи и материалы опубликованные в книгах неанглоязычных изданиях.

В случае потенциально соответствующие ссылки, были получены полные статьи и извлечены следующие данные из каждого исследования: год издания, фамилия первого автора, количество случаев и контроля, число различных клинических и патологических параметров, а также методы оценки выживаемости.

В данном мета-анализе был использован максимально скорректированная оценка риска с 95% доверительными интервалами, но при отсутствии соответствующих данных, были использовали минимальные или нескорректированные данные. Неоднородность между исследованиями была проверена с помощью Q-теста и I^2 статистики. Если I^2 статистика была $\geq 50\%$, для группы исследований использовалась модель с фиксированным эффектом, в противном случае, была использована модель случайных эффектов. Оценка потенциальной систематической ошибки проводили при помощи воронкообразного графика, который был дополнен Egger и Begg's. Статистический анализ проводили с использованием комплексного мета-анализ программного обеспечения версии Comprehensive Meta Analysis 3.3.070 (Biostat, Inc., США) доступной для свободного доступа в интернете. Все тесты были двусторонними, а значение P менее 0,05 считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При систематическом поиске литературы было отобрано в общей сложности 24 исследования, которые включили 4013

пациенток для окончательного анализа. Во всех 24 исследованиях для поиска ЦОК в периферической крови применялся метод молекулярного обнаружения (ПЦР, ОТ-ПЦР или ОТ-ПЦР в режиме реального времени). Пятнадцать исследований были основаны на обнаружение опухолевых клеток путем детекции одного гена или антигена [4–8, 10, 11, 13, 15, 16, 18, 19, 21–23].

В остальных исследованиях [3, 9, 12, 14, 17, 20, 24–26] для анализа использовались два и более различных маркеров. Исходные характеристики исследований, отобранных для дальнейшего анализа обобщены в таблице 1. В 15 исследованиях анализ на ЦОК как прогностический фактор при РМЖ был подтвержден с использованием мно-

Таблица 1 — Характеристика исследований, включенных в мета-анализ

Литературный источник	Год	ЦОК маркер (п/Н %)	Средний возраст	Размер опухоли (Т)	Количество случаев	Контроль	Период наблюдения, мес.	Оценка конечных результатов
Grunewald [24]	2000	hMAM (11/133 8,3) EGFR (13/133 9,8) CK19 (64/133 48,1)	НД	I–IV	133	91	НД	НД
Suchy [18]	2000	hMAM (11/98 11,2)	49 (30–69)	I–IV	98	33	49 (8–107)	БВ
Kahn [4]	2000	CK19 (48/109 44,0)	48 (34–89)	I–IV	109	45	НД	НД
Stathopoulou [5]	2002	CK19 (44/148 29,7)	54 (30–74)	I–II	148	113	28 (7–62)	БВ, ОВ
Xenidis [6]	2003	CK19 (44/161 27,3)	54 (30–74)	I–II	161	нет	29 (7–55)	БВ, ОВ
Lin [19]	2003	hMAM (41/112 36,6)	47 (32–85)	I–IV	112	27	НД	НД
Jotsuka [7]	2004	CEA (30/100 30,0B) (14/100 14,0A)	НД	I–III	100	14	56 (42–70)	БВ
Ntoulia [8]	2006	hMAM (14/101 13,9) PTTG1 (70/92 76,1) Survivin (77/92 83,7) UbcH10 (76/92 82,6) TK1 (78/92 84,8)	53 (26–75)	I–II	101	70	24 (1–80)	БВ, ОВ
Chen [9]	2006	CK19 (36/167 21,6) CK19 (22/148 14,9) hMAM (29/148 19,6)	50	I–III	92	100	НД	НД
Xenidis [10]	2006	CK19 (36/167 21,6)	49 (30–80)	I–III	167	Нет	32 (3–88)	БВ, ОВ
Benoy [20]	2006	hMAM (29/148 19,6)	53 (28–88)	I–IV	148	37	26 (16–29)	ОВ
Xenidis [11]	2007	CK19 (22/119 18,5)	50 (28–77)	I–II	119	Нет	65 (22–106)	БВ, ОВ
Ignatiadis [12]	2007	CK19 (63/185 34,1) HER2 (33/185 17,8)	55 (28–80)	I–III	185	Нет	65 (10–120)	БВ, ОВ
Ignatiadis [13]	2007	CK19 (181/444 40,8) CEA (51/215 23,7) hMAM (29/215 13,5) PSE (58/215 27,0)	54 (26–78)	I–III	444	Нет	53,5	БВ, ОВ
Mikhitarian [25]	2008	PIP (36/215 16,7) EpCAM (7/215 3,3) CK19 (0/215) Muc1 (0/215)	56 (29–84)	I–III	215	49	НД	НД
Marques [21]	2008	hMAM (52/278 18,7) CK19 (72/175 41,1)	51 (22–81)	I–III	278	28	43 (3–74)	БВ, ОВ БВ, ОВ
Ignatiadis [14]	2008	hMAM (14/175 8,0) HER2 (50/175 28,6) hMAM (31/94 33,0)	54 (28–75)	I–III	175	Нет	НД	
Shen [26]	2008	Survivin (34/94 36,2) Htert (56/94 59,6)	50	I–IV	94	100	НД	НД
Apostolaki [15]	2008	HER2 (53/216 24,5)	55 (28–79)	I–II	216	104	78 (5–108)	БВ, ОВ
Xenidis [16]	2009	CK19 (179/437 41,0B) (143/437 32,7A)	54 (26–78)	I–III	437	98	54 (10–106)	БВ, ОВ
Daskalaki [22]	2009	CK19 (91/165 55,2B) (79/162 48,8A)	54 (26–75)	I–II	165	Нет	59 (13–95)	БВ, ОВ
Auwera [3]	2009	CK19 (20/76 26,3) hMAM (41/76 53,9) CK19 (20/50 40,0)	62 (34–85)	IV	76	20	НД	НД
Chen [17]	2010	hMAM (13/50 26,0) CEA (7/50 14,0)	50 (29–69)	I–III	50	74	36	БВ
Ferro [23]	2010	hMAM (18/190 9,5)	63 (33–93)	I–III	190	330	НД	НД

Примечание: НД — нет данных, ОВ — общая выживаемость, БВ — безрецидивная выживаемость, В — до химиотерапии, А — после химиотерапии

гомерного анализа. Двадцать три исследования включали ранний РМЖ, и пять исследований включали метастатический РМЖ.

Влияние циркулирующих опухолевых клеток на выживаемость пациенток, страдающих РМЖ

В 15 исследованиях была оценена общая выживаемость (ОВ) и / или безрецидивная выживаемость (БВ) на основе анализа 2894 случаев. Наличие ЦОК в периферической крови было в значительной степени связано с плохой ОВ (ОР = 3,00 [95% ДИ 2,29–3,94], $n = 17$, $p < 0,0001$) (рис. 1) и БВ (ОР = 2,67 [95% ДИ 2,09–3,42], $n = 22$, $p < 0,0001$) (рис. 2).

Была проведена стратификация использования маркеров СК-19 и hMAM в качестве наиболее часто используемых для идентификации ЦОК и получены следующие результаты для СК-19 ОВ (ОР = 3,59 [95% ДИ 2,52–5,11], $n = 12$, $p < 0,0001$) и БВ (ОР = 2,94 [95% ДИ 2,17–3,98], $n = 13$, $p < 0,0001$) и для hMAM ОВ (ОР = 1,94 [95% ДИ 1,03–3,67], $n = 3$, $p = 0,04$) соответственно. Было предположено, что совместное определение этих маркеров в качестве идентификаторов ЦОК должно ассоциироваться с плохим про-

гнозом, однако, мРНК hMAM-положительные ЦОК не подтвердили свою значимость в качестве независимого прогностического фактора для БВ (ОР = 1,62 [95% ДИ 0,95–2,74], $n = 5$, $p = 0,075$). Кроме того, присутствие мРНК HER2-положительных ЦОК коррелировали с плохим ОВ (ОР = 2,27 [95% ДИ 1,3–3,85], $n = 3$, $p = 0,002$) и БВ (ОР = 2,84 [95% ДИ 1,71–4,62], $n = 3$, $p < 0,0001$), хотя данные были получены из ограниченного количества исследований, доступных для анализа.

ЦОК и клинично-патологоанатомические параметры опухолевого процесса

ЦОК-положительные случаи РМЖ были связаны с биологически агрессивным фенотипом, таким как высокая степень злокачественности Greid (ОР = 1,21 [95% ДИ 1,09–1,35], $n = 34$, $p < 0,0001$) (рис. 3), размером опухоли (> 2 см) (ОР = 1,12 [95% ДИ 1,02–1,22], $n = 31$, $p = 0,01$) (рис. 4), и метастатическим поражением лимфатических узлов (ОР = 1,10 [95% ДИ 1,00–1,21], $n = 32$, $p = 0,037$) (рис. 5).

Тем не менее, наличие мРНК СК-19-положительных ЦОК не было связано с высокой степенью злокачественности Greid (ОР = 1,08 [95% ДИ 0,94–1,23], $n = 12$, $p =$

Исследование	ОР	Нижний предел	Верхний предел	p
Xenidis 2009,5 СК19(-/+)	3,631	1,309	10,070	0,013
Xenidis 2009,5 СК19(+/-)	3,756	1,476	9,558	0,005
Xenidis 2009,5 СК19(+++)	4,893	2,086	11,478	0,000
Apostolaki 2008,11 HER2	2,761	1,347	5,659	0,006
Ignatiadis 2008,5 СК19	2,102	0,947	4,665	0,068
Ignatiadis 2008,5 Hmam	2,521	0,942	6,746	0,066
Ignatiadis 2008,5 Her2	1,806	0,828	3,939	0,137
Ignatiadis 2007,12 СК19	4,132	1,699	10,049	0,002
Ignatiadis 2007,11 СК19	2,482	1,286	4,791	0,007
Xenidis 2007,5 СК19	13,954	4,763	40,878	0,000
Ntoulia 2006,6 Hmam	1,538	0,353	6,697	0,566
Xenidis 2006,8 СК19	17,936	2,157	149,150	0,008
Stathopoulou 2002,8 СК19	8,589	1,474	50,041	0,017
Benoy 2006,1 СК19	1,450	0,428	4,915	0,551
Benoy 2006,1 hmam	1,650	0,601	4,529	0,331
Daskalaki 2009,7 СК19	3,319	1,101	10,005	0,033
Daskalaki 2009,7 СК19	2,034	0,798	5,183	0,137
	3,002	2,287	3,940	0,000

Относительный риск 95% ДИ

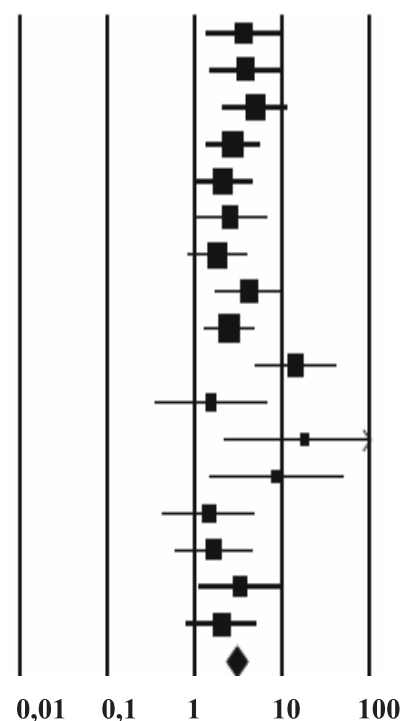


Рисунок 1 — Показатели относительных рисков (ОР) для общей выживаемости (ОВ) по результатам исследований, включенных в мета-анализ. График показывает комбинированный ОР, который рассчитывается с помощью модели фиксированных эффектов и демонстрирует, что ЦОК можно использовать в качестве прогностического фактора ОВ у пациенток, страдающих раком молочной железы

Исследование	ОР	Нижний предел	Верхний предел	p
Chen2010 CK19	1,792	0,312	10,286	0,513
Chen2010 Hmam	0,990	0,104	9,391	0,993
Chen 2010 CEA	13,022	2,770	61,216	0,001
Xenidis 2009,5 CK19(-/+)	1,944	0,980	3,857	0,057
Xenidis 2009,5 CK19(+/-)	2,390	1,346	4,243	0,003
Xenidis 2009,5 CK19(+/+)	3,239	1,937	5,416	0,000
Apostolaki 2008,11 HER2	4,045	2,285	7,161	0,000
Ignatiadis 2008,5 CK19	3,085	1,687	5,642	0,000
Ignatiadis 2008,5 Hmam	2,633	1,251	5,541	0,011
Ignatiadis 2008,5 Her2	1,781	0,750	4,229	0,191
Marques 2008,4 HMAM	0,989	0,445	2,199	0,978
Marques 2008,4 HMAM	0,930	0,356	2,430	0,882
Ignatiadis 2007,12 CK19	2,237	0,988	5,064	0,053
Ignatiadis 2007,12 CK19 HER2	2,432	1,095	5,401	0,029
Ignatiadis 2007,11 CK19	2,406	1,549	3,738	0,000
Xenidis 2007,5 CK19	22,318	4,885	101,966	0,000
Ntoulia 2006,6 HMAM	2,840	1,182	6,826	0,020
Xenidis 2006,8 CK19	26,319	6,425	107,809	0,000
Xenidis 2003,3 CK19	3,700	1,036	13,208	0,044
Stathopoulou 2002,8 CK19	5,092	1,894	13,689	0,001
Daskalaki 2009,7 CK19	1,827	0,917	3,641	0,087
Daskalaki 2009,7 CK19	1,873	0,969	3,621	0,062
	2,673	2,088	3,421	0,000

Относительный риск 95% ДИ

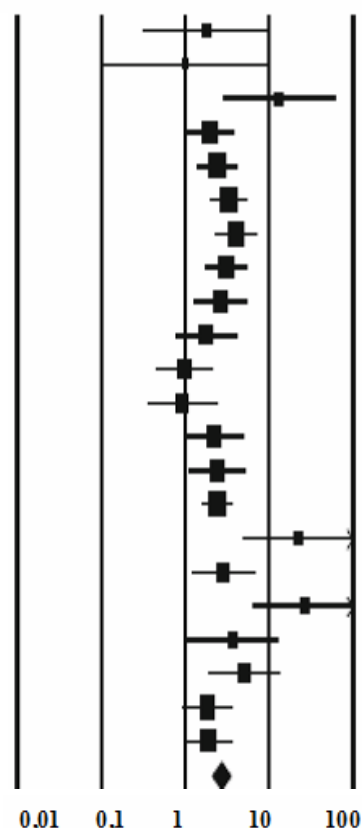


Рисунок 2 – Показатели относительных рисков (ОР) для безрецидивной выживаемости (БВ) по результатам исследований, включенных в мета-анализ. График показывает комбинированный ОР, который рассчитывается с помощью модели фиксированных эффектов и демонстрирует, что ЦОК можно использовать в качестве прогностического фактора БВ у пациенток, страдающих раком молочной железы

0,272), размером опухоли (> 2 см) (ОР = 1,07 [95% ДИ 0,96–1,20], $n = 11$, $p = 0,191$), и метастатическим поражением лимфатических узлов (ОР = 1,01 [95% ДИ 0,90–1,14], $n = 11$, $p = 0,819$). Кроме того, наличие мРНК hMAM-положительных ЦОК также не было связаны с высокой степенью злокачественности Greid (ОР = 1,33 [95% ДИ 1,03–1,72], $n = 10$, $p = 0,027$).

ЦОК положительные случаи не ассоциировались с биологическими параметрами опухоли, такими как негативный эстроген рецепторный статус (ER) (ОР = 1,09 [95% ДИ 0,97–1,21], $n = 29$, $p = 0,141$), негативный прогестерон рецепторный статус (PR) (ОР = 0,98 [95% ДИ 0,89–1,08], $n = 29$, $p = 0,732$), или рецептор эпидермального фактора роста человеческого 2 типа HER2-неи положительным статусом (ОР = 1,13 [95% ДИ 0,94–1,36], $n = 20$, $p = 0,207$). Следует обратить внимание, что мРНК HER2 -положительные ЦОК случаи не коррелировали с биологическим HER2 статусом опухоли определяемом по иммуногистохимическому исследованию

в некоторых исследованиях (Score 2+ - 3+) (ОР = 0,89 [95% ДИ 0,54–1,44], $n = 3$, $p = 0,626$) (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным проведенного ранее мета-анализа в 2005 году, Braun и др. сообщили, что наличие микрометастазов в костном мозге пациенток, страдающих РМЖ является независимым фактором неблагоприятного прогноза [27]; Тем не менее, до настоящего момента нет никаких исследований, собранных и сообщающих о взаимосвязи между ЦОК и клиническим исходом при РМЖ. Данный мета-анализ является исследованием, направленным на систематическую оценку связи между ЦОК маркеров и выживаемости при РМЖ, а также связи с клинико-патологическими и биологическими параметрами опухоли.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что маркеры ЦОК связаны с высокой степенью злокачественности опухоли, метастатическим поражением подмы-

Относительный риск 95% ДИ

Исследование	ОР	Нижний предел	Верхний предел	Z	p
Chen2010,4 CK19	1,688	0,651	4,374	1,077	0,282
Chen2010,4 CEA	1,890	0,616	5,797	1,113	0,266
Chen2010,4HMAM	1,992	0,758	5,234	1,399	0,162
Daskalaki2009,7 CK19	1,189	0,722	1,957	0,679	0,497
Xenidis2009,5 CK19	1,220	0,907	1,639	1,316	0,188
Apostolaki2008,11 HER2	1,078	0,696	1,672	0,338	0,736
Shen2008,11 hMAM	1,219	0,534	2,786	0,470	0,638
Shen2008,11 Survivin	1,261	0,560	2,838	0,559	-
Shen2008,11 Htert	2,036	0,808	5,128	1,508	0,132
Ignatiadis2008,5 CK19	0,944	0,600	1,485	-0,251	0,802
Ignatiadis2008,5 Hmam	0,622	0,227	1,700	-0,926	0,354
Ignatiadis2008,5 HER2	1,045	0,643	1,701	0,179	0,858
Mikhitarian2008,2 hMAM	6,719	3,695	12,218	6,244	0,000
Mikhitarian2008,2 PSE	113,690	15,648	826,031	4,678	0,000
Ignatiadis2007,12 CK19	1,112	0,715	1,729	0,470	0,638
Ignatiadis2007,12 her2	1,237	0,735	2,082	0,803	0,422
Ignatiadis2007,11 CK19	0,879	0,656	1,178	-0,863	0,388
Xenidis2007,5 CK19	1,160	0,578	2,329	0,418	0,676
Xenidis2006,8 ck19	1,260	0,737	2,153	0,844	0,399
Ntoulia 2006,6 hmam	0,956	0,405	2,258	-0,103	0,918
Chen2006,7 PTTG1	1,781	0,522	6,077	0,922	0,357
Chen2006,7 Survivin	3,701	0,495	27,648	1,276	-
Chen2006,7 UbcH10	4,000	0,535	29,880	1,351	0,177
Chen2006,7 TK1	1,615	0,375	6,962	0,643	0,520
Benoy2006,1 CK19	1,540	0,764	3,104	1,209	0,227
Benoy2006,1 HMAM	1,140	0,566	2,297	0,366	0,714
Jotsuka2004,4 CEA	1,313	0,580	2,970	0,653	0,514
Jotsuka2004,4 CEA	1,170	0,402	3,409	0,288	0,773
Lin2003,1 HMAM	0,812	0,295	2,233	-0,404	0,686
Xenidis2003,3	0,939	0,548	1,606	-0,232	0,817
Stathopoulou2002,8 CK19	1,211	0,715	2,048	0,712	0,476
Grunewlad2000,3 Hmam	1,775	0,618	5,099	1,065	0,287
Kahn2000 CK19	0,817	0,452	1,477	-0,669	0,503
	1,211	1,089	1,347	3,539	0,000

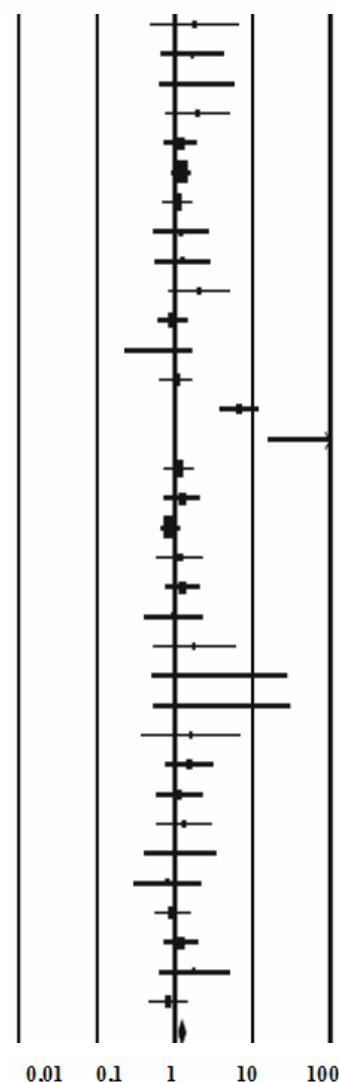


Рисунок 3 — Показатели относительных рисков (ОР) оцененные по ассоциации между ЦОК и клинико-патологическим показателем опухоли, таким-как степень злокачественности Greid, демонстрирующие высокую корреляцию между наличием ЦОК в периферической крови и высокой степенью злокачественности опухоли молочной железы

шечных лимфатических узлов, а также размером опухоли >2 см, а также ОБ и БВ. Это явление свидетельствует о том, что в более продвинутой стадии (TNM) рака, ЦОК более легко обнаружить, так как у пациенток с распространенным опухолевым процессом, опухолевые клетки могут легко отделяться от первичной опухоли и попадать в общий кровоток. Эта ассоциация была особенно выражена при анализе маркера СК-19 (ОБ и БВ). В настоящем исследовании, достоверной ассоциации между ЦОК (включая все маркеры) и ER, PR и HER2 не было получено.

Таким образом, молекулярная и иммунофенотипическая характеристика мРНК экспрессии маркеров ЦОК-поло-

жительных пациентов с ER-отрицательным (базальный тип ЦОК) или ER-положительным (люминальный тип ЦОК) типом рак требует дальнейшего исследования. В последнее время, Theodoropoulos и др. сообщили о существовании субпопуляции ЦОК с мнимый фенотипов стволовых клеток-предшественников у пациенток с метастатическим РМЖ [28]. Было бы интересно исследовать, существуют ли различные субпопуляции из микрометастатической клеток стволовых клеток, которые отвечают за развитие метастазов в ER-отрицательных и ER-положительных пациентках.

Настоящий мета-анализ включает в себя множество различных маркеров ЦОК, но наиболее широко были изуче-

Исследование	OR	Нижний предел	Верхний предел	Z	p
Ferro 2010 Hmam	2,300	0,594	8,908	1,206	0,228
Chen 2010 ,4 CK19	1,020	0,551	1,889	0,063	0,950
Chen 2010 ,4 CEA	0,647	0,231	1,812	-0,829	0,407
Chen 2010 ,4HMAM	0,889	0,437	1,809	-0,323	0,746
Daskalaki 200 9,7 CK19	1,107	0,760	1,614	0,531	0,596
Xenidis 2009 ,5 CK19	1,123	0,880	1,434	0,936	0,349
Apostolaki 2008,11 HER2	1,123	0,801	1,574	0,672	0,501
Shen 2008 ,11 hMAM	0,948	0,503	1,789	-0,164	0,870
Shen 2008 ,11 Survivin	1,008	0,546	1,864	0,027	0,979
Shen 2008,11 Htert	1,312	0,703	2,447	0,854	0,393
Ignatiadis 2008 ,5 CK19	1,105	0,767	1,593	0,538	0,591
Ignatiadis 2008 ,5 Hmam	1,438	0,808	2,559	1,234	0,217
Ignatiadis 2008 ,5 HER2	1,111	0,750	1,645	0,526	0,599
Ignatiadis 2007 ,12 CK19	1,147	0,793	1,658	0,727	0,467
Ignatiadis 2007 ,12 her2	1,261	0,817	1,945	1,046	0,295
Ignatiadis 2007 ,11 CK19	1,044	0,826	1,320	0,361	0,718
Xenidis 2007 ,5 CK19	1,056	0,622	1,792	0,201	0,841
Ntoulia 2006 ,6 hmam	2,786	1,448	5,359	3,069	0,002
Xenidis 2006 ,8 ck19	1,166	0,743	1,830	0,669	0,503
Chen 2006 ,7 PTTG1	2,933	0,892	9,649	1,771	0,076
Chen 2006 ,7 Survivin	5,844	0,797	42,854	1,737	0,082
Chen 2006 ,7 UbcH10	1,421	0,497	4,061	0,656	0,512
Chen 2006 ,7 TK1	5,385	0,734	39,484	1,656	0,098
Jotsuka 2004 ,4 CEA	0,972	0,577	1,638	-0,106	0,916
Jotsuka 2004 ,4 CEA	0,937	0,465	1,890	-0,182	0,856
Xenidis 2003 ,3 CK19	1,003	0,706	1,424	0,017	0,987
Lin 2003 ,1 HMAM	1,461	0,639	3,338	0,899	0,369
Stathopoulou 2002,8 CK19	0,973	0,657	1,443	-0,135	0,893
Suchy 2000 ,6 HMAM	1,217	0,515	2,874	0,447	0,655
Grunewlad 2000 ,3 Hmam	1,280	0,550	2,979	0,572	0,567
Kahn 2000 CK19	1,033	0,615	1,732	0,121	0,903
	1,124	1,032	1,225	2,675	0,007

Относительный риск 95% ДИ

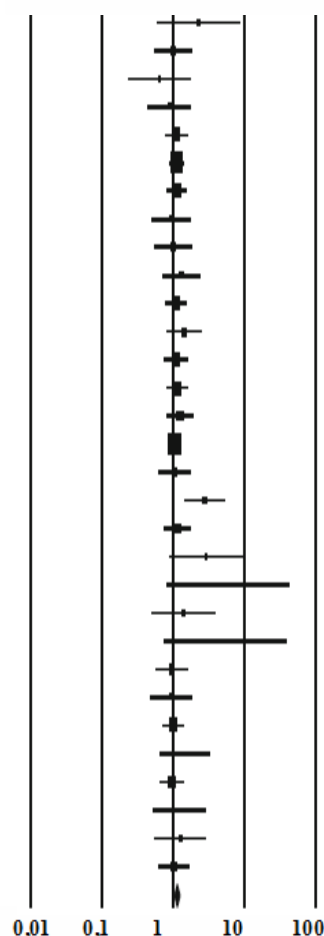


Рисунок 4 — Показатели относительных рисков (ОР) оцененные по ассоциации между ЦОК и клинико-патологическим показателем опухоли, таким как размер первичной опухоли, демонстрирующие высокую корреляцию между наличием ЦОК в периферической крови и размером опухоли молочной железы больше 2 см

ны CK-19 и hMAM. CK-19 является общим маркером эпителиальных клеток, экспрессия которого главным образом выражена в эпителиальных, но не в мезенхимальных клетках и хорошо изучена в качестве потенциального маркера для обнаружения ЦОК при раке молочной железы [3–6, 10–14, 16, 17, 20–22, 24, 25].

Ген hMAM, член семейства secretoglobins-uteroglobins, первоначально был идентифицирован из первичного РМЖ человека Watson and Fleming [29]. Экспрессируется данный маркер главным образом во взрослой молочной железе и клеточных линиях РМЖ. Экспрессия hMAM имеет диагностическое и прогностическое значение в качестве специфического молекулярного маркера при РМЖ [8, 14, 23–25]. Однако, в некоторых исследованиях экспрессия hMAM также может быть обнаружена у пациенток с доброкачественными заболеваниями молочной железы [17] и при других видах рака, таких как рак яичников [18].

В настоящем анализе мРНК CK-19-положительных ЦОК не были связаны с клинико-патологическими параметрами РМЖ. Возможной причиной этого может быть то, что клетки РМЖ могут распространяться от первичной опухоли до подмышечных лимфатических узлов и отдаленных метастатических очагов различными путями. Эти отдельные пути метастазирования могут зависеть от разных хемокинов и рецептор-лигандного взаимодействия [30, 31]. Интересно, что мРНК HER2-положительных ЦОК не были связаны со статусом первичной опухоли (по иммуногистохимии Score 2+ - 3+) ($p = 0,635$) или другими важными клиническими или патологическими параметрами опухоли ($p > 0,05$). Это заключение согласуется с описанной выше ЦОК при РМЖ [32, 33].

Существуют определенные ограничения в настоящем мета-анализе.

Во-первых, мы определена значительная степень неоднородности исследований. Различия в методах обнаруже-

Исследование	OR	Нижний предел	Верхний предел	Z	p
Ferro2010,4 hMAM	5,600	1,394	22,500	2,428	0,015
Chen2010,4 CK19	1,200	0,562	2,564	0,471	0,638
Chen2010,4 CEA	1,396	0,529	3,687	0,674	0,501
Chen2010,4HMAM	0,996	0,421	2,356	-0,009	0,993
Daskalaki2009,7 CK19	1,191	0,809	1,756	0,885	0,376
Xenidis2009,5 CK19	1,056	0,824	1,354	0,430	0,667
Apostolaki2008,11 HER2	0,961	0,538	1,716	-0,134	0,893
Shen2008,11 hMAM	2,258	1,195	4,269	2,507	0,012
Shen2008,11 Survivin	3,025	1,565	5,848	3,292	0,001
Shen2008,11 Htert	5,768	2,047	16,254	3,315	0,001
Ignatiadis2008,5 CK19	0,967	0,671	1,395	-0,179	0,858
Ignatiadis2008,5 Hmam	1,055	0,552	2,016	0,162	0,871
Ignatiadis2008,5 HER2	1,000	0,672	1,488	0,000	1,000
Mikhitarian2008,2 hMAM	1,188	0,605	2,332	0,500	0,617
Mikhitarian2008,2 PSE	0,625	0,333	1,170	-1,469	0,142
Ignatiadis2007,12 CK19	0,992	0,681	1,446	-0,039	0,969
Ignatiadis2007,12 her2	1,081	0,686	1,702	0,336	0,737
Ignatiadis2007,11 CK19	1,083	0,855	1,372	0,661	0,508
Xenidis2007,5 CK19	0,987	0,564	1,728	-0,045	0,964
Ntoulia 2006,6 hmam	1,052	0,555	1,992	0,154	0,877
Chen2006,7 PTTG1	2,137	0,836	5,464	1,586	0,113
Chen2006,7 Survivin	3,604	0,869	14,953	1,766	0,077
Chen2006,7 UbcH10	1,432	0,560	3,660	0,749	0,454
Chen2006,7 TK1	3,321	0,800	13,777	1,653	0,098
Benoy2006,1 CK19	0,848	0,473	1,520	-0,553	0,580
Benoy2006,1 HMAM	0,935	0,560	1,560	-0,257	0,797
Lin2003,1 HMAM	1,391	0,685	2,828	0,913	0,361
Xenidis2003,3	0,976	0,638	1,494	-0,111	0,911
Stathopoulou2002,8 CK19	0,882	0,572	1,362	-0,565	0,572
Suchy2000,6 HMAM	1,198	0,468	3,070	0,377	0,706
Grunewlad2000,3 Hmam	1,996	0,982	4,059	1,909	0,056
Kahn2000 CK19	0,721	0,422	1,232	-1,196	0,232
	1,109	1,013	1,214	2,240	0,025

Относительный риск 95% ДИ

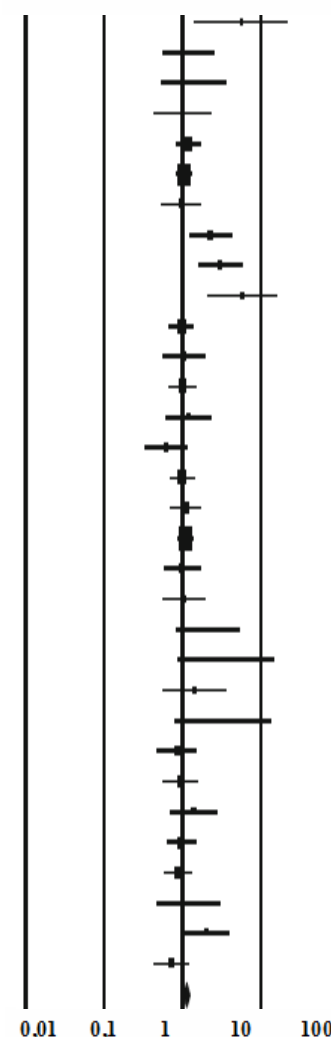


Рисунок 5 — Показатели относительных рисков (ОР) оцененные по ассоциации между ЦОК и клинико-патологическим показателем опухоли, таким-как метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, демонстрирующие высокую корреляцию между наличием ЦОК в периферической крови и метастатическим поражением подмышечных лимфатических узлов при раке молочной железы

Исследование	OR	Нижний предел	Верхний предел	Z	p
Apostolaki2008.11 HER2	0,809	0,302	2,168	-0,401	0,674
Ignatiadis2008.5 HER2	0,743	0,379	1,457	-0,864	0,388
Ignatiadis2007.12 her2	1,439	0,527	3,929	0,711	0,477
	0,886	0,545	1,441	-0,488	0,626

Относительный риск 95% ДИ

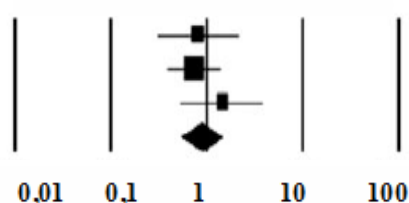


Рисунок 6 — Показатели относительных рисков (ОР) мРНК HER2-положительные ЦОК и их связь с HER2 статусом опухоли. График показывает, что обнаружение мРНК HER2-положительных ЦОК не были коррелировало с HER2 статусом первичной опухоли определяемым иммуногистохимическим методом (Score 2+, Score3+)

8. Ntoulia, M. Detection of mammaglobin A-mRNA-positive circulating tumor cells in peripheral blood of patients with operable breast cancer with nested RT-PCR / M. Ntoulia [et al.] // Clin. Biochem. — 2006. — Vol. 39. — P. 879–887.
9. Chen, C-C. Combination of multiple mRNA markers (PTTG1, Survivin, UbcH10 and TK1) in the diagnosis of Taiwanese patients with breast cancer by membrane array / C-C. Chen [et al.] // Oncology. — 2006. — Vol. 70. — P. 438–446.
10. Xenidis, N. Predictive and prognostic value of peripheral blood cytokeratin-19 mRNA- positive cells detected by real-time polymerase chain reaction in node-negative breast cancer patients / N. Xenidis [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2006. — Vol. 24. — P. 3756–3762.
11. Xenidis, N. Clinical relevance of circulating CK-19 mRNA-positive cells detected during the adjuvant tamoxifen treatment in patients with early breast cancer / N. Xenidis [et al.] // Ann. Oncol. — 2007. — Vol. 18. — P. 1623–1631.
12. Ignatiadis, M. Different prognostic value of cytokeratin-19 mRNA-positive circulating tumor cells according to estrogen receptor and HER2 status in early-stage breast cancer / M. Ignatiadis [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2007. — Vol. 25. — P. 5194–5202.
13. Ignatiadis, M. Molecular detection and prognostic value of circulating cytokeratin-19 messenger RNA-positive and HER2 messenger RNA-positive cells in the peripheral blood of women with early-stage breast cancer / M. Ignatiadis [et al.] // Clin. Breast. Cancer. — 2007. — Vol. 7. — P. 883–889.
14. Ignatiadis, M. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimarker reverse transcription-PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer / M. Ignatiadis [et al.] // Clin. Cancer Res. — 2008. — Vol. 14. — P. 2593–2600.
15. Apostolaki, S. Detection of occult HER2 mRNA-positive tumor cells in the peripheral blood of patients with operable breast cancer: evaluation of their prognostic relevance / S. Apostolaki [et al.] // Breast Cancer Res. Treat. — 2009. — Vol. 117. — P. 525–534.
16. Xenidis, N. Cytokeratin- 19 mRNA-positive circulating tumor cells after adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer / N. Xenidis [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2009. — Vol. 27. — P. 2177–2184.
17. Chen, Y. Detection of cytokeratin 19, human mammaglobin, and carcinoembryonic antigen-positive circulating tumor cells by tree-marker reverse transcription-PCR assay and its relation to clinical outcome in early breast cancer / Y. Chen [et al.] // Int. J. Biol. Markers. — 2010. — Vol. 25. — P. 59–68.
18. Suchy, B. Detection of mammaglobin expressing cells in blood of breast cancer patients / B. Suchy [et al.] // Cancer Lett. — 2000. — Vol. 158. — P. 171–178.
19. Lin, Y-C. Lack of correlation between expression of human mammaglobin mRNA in peripheral blood and known prognostic factors for breast cancer patients / Y-C. Lin [et al.] // Cancer Sci. — 2003. — Vol. 94. — P. 99–102.
20. Benoy, I.H. Real-time RT-PCR detection of disseminated tumour cells in bone marrow has superior prognostic significance in comparison with circulating tumour cells in patients with breast cancer / I.H. Benoy [et al.] // Br. J. Cancer. — 2006. — Vol. 13. — P. 672–680.
21. Marques, A.R. Detection of human mammaglobin mRNA in serial peripheral blood samples from patients with non-metastatic breast cancer is not predictive of disease recurrence / A.R. Marques [et al.] // Breast Cancer Res. Treat. — 2009. — Vol. 114. — P. 223–232.
22. Daskalaki, A. Detection of cytokeratin-19 mRNA-positive cells in the peripheral blood and bone marrow of patients with operable breast cancer / A. Daskalaki [et al.] // Br. J. Cancer. — 2009. — Vol. 101. — P. 589–597.
23. Ferro, P. Detection of circulating tumour cells in breast cancer patients using human mammaglobin RT-PCR: association with clinical prognostic factors / P. Ferro [et al.] // Anticancer Res. — 2010. — Vol. 30. — P. 2377–2382.
24. Gruenewald, K. Mammaglobin gene expression: a superior marker of breast cancer cells in peripheral blood in comparison to epidermal-growth-factor receptor and cytokeratin-19 / K. Gruenewald [et al.] // Lab. Invest. — 2000. — Vol. 80. — P. 1071–1077.
25. Mikhitarian, K. Detection of mammaglobin mRNA in peripheral blood is associated with high grade breast cancer: interim results of a prospective cohort study / K. Mikhitarian. [et al.] // BMC Cancer. — 2008. — Vol. 8. — P. 55–66.
26. Shen, C.X. The detection of circulating tumor cells of breast cancer patients by using multimarker (Survivin, hTERT and hMAM) quantitative real-time PCR / C.X. Shen [et al.] // Clin. Biochem. — 2009. — Vol. 42. — P. 194–200.
27. Braun, S. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer / S. Braun [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 353. — P. 793–802.
28. Theodoropoulos, P.A. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer / P.A. Theodoropoulos [et al.] // Cancer Lett. — 2010. — Vol. 288. — P. 99–106.
29. Watson, M.A. Mammaglobin, a mammary-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer / M.A. Watson, T.P. Fleming // Cancer Res. — 1996. — Vol. 56. — P. 860–865.
30. Pantel, K. Dissecting the metastatic cascade / K. Pantel, R.N. Brakenhoff // Nat. Rev. Cancer. — 2004. — Vol. 4. — P. 448–456.
31. Zlotnik, A. Chemokines in neoplastic progression / A. Zlotnik // Semin. Cancer Biol. — 2004. — Vol. 14. — P. 181–185.
32. Brandt, B. Isolation of bloodbored epithelium-derived c-erb-B2 oncoprotein-positive clustered cells from the peripheral blood of breast cancer patients / B. Brandt [et al.] // Int. J. Cancer. — 1998. — Vol. 76. — P. 824–828.
33. Wulfig, P. HER2 positive circulating tumor cells indicate poor clinical outcome in stage I to III breast cancer patients / P. Wulfig [et al.] // Clin. Cancer Res. — 2006. — Vol. 12. — P. 1715–1720.
34. Bozionellou, V. Trastuzumab administration can effectively target chemotherapy-resistant cytokeratin-19 messenger RNA-positive tumor cells in the peripheral blood and bone marrow of patients with breast cancer / V. Bozionellou [et al.] // Clin. Cancer Res. — 2004. — Vol. 10. — P. 8185–8194.
35. Meng, S. HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses / S. Meng [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2004. — Vol. 10. — P. 9393–9398.