

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2023.110-123>
УДК: 616-013.1:616-006+576.32+576.385.5:616-001.8



Наративний огляд діагностичних та прогностичних можливостей виділення циркулюючих пухлинних клітин

Красносельський М.В.^{1,2}, ORCID: 0000-0001-5329-5533, e-mail: medrad20@ukr.net
Гладких Ф.В.¹, ORCID: 0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Рубльова Т.В.¹, ORCID: 0000-0002-8007-3220, e-mail: imro_nauka@ukr.net
Кулініч Г.В.^{1,3}, ORCID: 0000-0002-0636-9621, e-mail: kulinich.galina@gmail.com
Коморовський Р.Р.⁴, ORCID: 0000-0002-0288-4132, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua

¹Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

³Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

⁴Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна

A narrative review of diagnostic and therapeutic potential of isolation of circulating tumor cells

Krasnoselskyi M.V.^{1,2}, ORCID: 0000-0001-5329-5533, e-mail: medrad20@ukr.net
Hladkykh F.V.¹, ORCID: 0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Rubleva T.V.¹, ORCID: 0000-0002-8007-3220, e-mail: imro_nauka@ukr.net
Kulinich H.V.^{1,3}, ORCID: 0000-0002-0636-9621, e-mail: kulinich.galina@gmail.com
Komorovsky R.R.⁴, ORCID: 0000-0002-0288-4132, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua

¹State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

³Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

⁴I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine

Ключові слова:

циркулюючі пухлинні клітини, метастазування, технології виділення циркулюючих пухлинних клітин.

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», відділ радіології, група променевої терапії;
вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© Красносельський М.В., Гладких Ф.В., Рубльова Т.В., Кулініч Г.В., Коморовський Р.Р., 2023

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Метастазування є провідною причиною смерті пов'язаної із раком, а здатність пухлинних клітин мігрувати через навколишні тканини та інтравазувати у кровоносні чи лімфатичні судини – це важливий проміжний етап у переході від локалізованого захворювання до системного. Від 5 до 10% усіх випадків розповсюдженого раку метастатичне ураження виявляється раніше первинної пухлини. В основі метастазування є здатність пухлинних клітин залишати первинний осередок та потрапляти у системний кровообіг, це так звані циркулюючі пухлинні клітини. Раннє виявлення вказаних клітин має високу діагностичну цінність та може слугувати вспецифічним прогностичним маркером ефективності лікування, що обумовлює доцільність аналізу та узагальнення сучасних відомостей щодо підходів до кількісного та якісного аналізу циркулюючих пухлинних клітин.

Мета роботи – охарактеризувати сучасні діагностичні та лікувальні можливості виділення циркулюючих пухлинних клітин.

Матеріали та методи. Пошук літературних джерел проводили за ключовими словами: циркулюючі пухлинні клітини, метастазування, міграція та інвазія, технології виділення циркулюючих пухлинних клітин, рецептор-лігандні взаємодії циркулюючих пухлинних клітин. На другому етапі вивчались резюме статей та виключались публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі вивчали повні тексти відібраних статей на відповідність критеріям включення до списку літератури та релевантність досліджень.

Результати та їх обговорення. У порівнянні зі звичайною біопсією, дослідження циркулюючих пухлинних клітин є відносно недорогим та неінвазивним методом, тому його можна повторювати багато разів під час терапії, що робить цю методику потужним інструментом моніторингу розвитку раку. З огляду на низьку кількість циркулюючих пухлинних клітин у цільній периферичній крові, їх виокремлення

є вирішальним кроком для подальшого аналізу. Моніторинг вмісту циркулюючих пухлинних клітин під час терапії – це інструмент, який дозволяє оцінити розвиток захворювання в режимі реального часу, навіть до появи явних клінічних ознак рецидиву. Зменшення кількості циркулюючих пухлинних клітин після операції та/або хімотерапії, ймовірно, є ознакою ремісії. Навпаки, збільшення кількості циркулюючих пухлинних клітин вказує на реактивацію захворювання.

Висновки. Вчасне виявлення та характеристика циркулюючих пухлинних клітин є новою стратегією прогнозування та ідентифікації рецидиву онкологічної патології. Циркулюючі пухлинні клітини, виявлені до та після ад'ювантної терапії, променевої терапії або хірургічної резекції первинної пухлини, були описані як незалежні фактори ризику рецидиву та смерті.

Для цитування:

Красносельський М.В., Гладких Ф.В, Рубльова Т.В., Кулініч Г.В., Коморовський Р.Р. Наративний огляд діагностичних та лікувальних можливостей виділення циркулюючих пухлинних клітини. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2023. Т. 31. № 1. С. 110–123. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2023.110-123>

Key words:

circulating tumor cells, metastases, circulating tumor cells isolation techniques.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Radiology Department;
82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Krasnoselskyi M.V., Hladkykh F.V., Rubleva T.V., Kulinich H.V., Komorovsky R.R., 2023*

ABSTRACT

Background. The spread of metastasis (metastasizing) is the leading cause of cancer-related death, and the ability of tumor cells to migrate through surrounding tissue and to intravasate into blood or lymphatic vessels is an important interim step in the transition from localized to systemic disease. In 5% to 10% of all cases of advanced cancer, metastatic lesions are detected before the primary tumor. The cellular basis of metastasis is the ability of tumor cells to leave the primary focus and to enter systemic circulation, i.e., the so-called circulating tumor cells. Early detection of these cells is of high diagnostic value and may serve as a specific prognostic marker of treatment effectiveness. Therefore, it is a rationale for review and analysis of state-of-the-art information on approaches to quantitative and qualitative analysis of circulating tumor cells.

Aim – to characterize current diagnostic and therapeutic potential of isolation of circulating tumor cells.

Materials and methods. Literature search was performed with the following keywords: circulating tumor cells, metastases, migration and invasion, technologies of circulating tumor cells isolation, receptor-ligand interactions of circulating tumor cells. On the second stage, article abstracts were screened and non-relevant publications were excluded. On the third stage, full-text articles were assessed for meeting the inclusion criteria for the list of references and for the relevance of studies.

Results and discussion. As compared with conventional biopsy, the study of circulating tumor cells is a relatively inexpensive and non-invasive method, so it can be repeated many times during therapy, which makes this technique a powerful tool for monitoring the development of cancer. Given the low number of circulating tumor cells in whole peripheral blood, their isolation is a decisive step for further analysis. Monitoring the content of circulating tumor cells during therapy is a tool that allows you to evaluate the development of the disease in real time, even before the appearance of obvious clinical signs of relapse. A decrease in the number of circulating tumor cells after surgery and/or chemotherapy is likely to be a sign of remission. In contrast, an increase in the number of circulating tumor cells indicates a reactivation of the disease, which should lead to a re-examination of therapy.

Conclusions. Early detection and characterization of circulating tumor cells is a new strategy for predicting and identifying the recurrence of cancer pathology. Circulating tumor cells detected before and after adjuvant therapy, radiotherapy, or surgical resection of the primary tumor have been described as independent risk factors for tumor recurrence and death.

For citation:

Krasnoselskyi MV, Hladkykh FV, Rubleva TV, Kulinich HV, Komorovsky RR. A narrative review of diagnostic and therapeutic potential of isolation of circulating tumor cells. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2023;31(1):110–123. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2023.110-123>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Розроблення індивідуальних підходів до проведення антибластомної терапії у пацієнтів, які перенесли COVID-19», номер державної реєстрації: 0121U112052, прикладна, термін

Relationship with academic programs, plans and themes

The work is a fragment of the planned research project of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» «Development of the individual approaches to antiblastomic therapy in patients recovered from COVID-19», state registration number: 0121U112052, applied, period for performance: 2022–2024,

виконання 2022–2024 рр., наукові керівники – директор Інституту, доктор медичних наук, професор М.В. Красносельський, доктор медичних наук, професор В.П. Старенький.

led by Director of Institute, Doctor of Medical Sciences, Professor M.V. Krasnoselskyi; Doctor of Medical Sciences, Professor V.P. Starenkyi.

ВСТУП

Метастазування виступає провідною причиною смерті пов'язаної із раком – на нього припадає близько 90% смертей, а здатність пухлинних клітин мігрувати через навколишні тканини та інтравасувати у кровоносні чи лімфатичні судини є важливим проміжним етапом, у переходу від локалізованого захворювання до системного [1, 2, 3]. Від 5 до 10% усіх випадків розповсюдженого раку метастатичне ураження виявляється раніше первинної пухлини [4].

В основі метастазування є здатність пухлинних клітин залишати первинний осередок та потрапляти у системний кровообіг, де вони називаються **циркулюючими пухлинними клітинами (ЦПК)**. Частина ЦПК здатна проникати у віддалені місця та зберігатися у вигляді **дисемінованих пухлинних клітин**. Окремі пухлинні клітини можуть зупиняти процеси поділу після поширення та зберігатися у стані спокою більше 10 років, доки умови навколишнього середовища не дадуть відповідних сигналів для початку проліферації [3]. Лише частина з них здатна прогресувати до метастазів [4]. Адаптація до нового мікросередовища та проліферація однієї пухлинної клітини у віддаленій ділянці потребує пластичності, яку клітина повинна мати або придбати, щоб розвинути до метастазу [3]. Можливість виділення ЦПК у пацієнтів до виявлення первинної пухлини та їх збереження у кровообігу деяких пацієнтів після її видалення, слугували основою концепції ЦПК-опосередкованої оцінки пухлинного тягаря на всіх стадіях прогресування пухлини [5].

Попри те, що високоагресивні пухлини щодня викидають тисячі ракових клітин у кровообіг, ЦПК складають досить рідкісну популяцію в крові [4]. Виділення життєздатних ЦПК дозволяє охарактеризувати їх молекулярну та функціональну характеристику. Хромосомні перебудови можна вивчати за допомогою низки методів, зокрема інтерфазною флуоресцентною гібридизацією *in situ*. Крім того, секвенування ДНК наступного покоління дозволяє вивчати спектр мутацій у геномі в ЦПК [4]. Дослідження останніх років вказують на тенденцію до переходу парадигми персоналізованого лікування від дослідження метастазів до вивчення дисемінованих пухлинних клітин та ЦПК, що має на меті зміщення фокусу з лікування метастазів на запобігання метастазам [4].

Мета роботи – охарактеризувати сучасні діагностичні та лікувальні можливості виділення циркулюючих пухлинних клітин.

INTRODUCTION

Metastasizing is the leading cause of cancer-related death, accounting for about 90% of deaths, and the ability of tumor cells to migrate through surrounding tissues and to intravasate into hematogenous or lymphatic vessels is an important intermediate step in the transition from localized to systemic disease [1, 2, 3]. In 5% to 10% of all cases of advanced cancer, the metastatic lesions are detected before the primary focus [4].

The principle of metastasizing is the ability of tumor cells to leave the primary focus and enter the systemic circulation, where they are known as **circulating tumor cells (CPC)**. Some of these CPC are able to penetrate into distant places and to persist there in the form of **disseminated tumor cells**. Some tumor cells which have spread, can stop the division processes afterwards and can persist in this resting («frozen») state even for more than 10 years, until environmental conditions give appropriate signals to start proliferation [3]. Only some of them are capable of progressing to metastases [4]. Adaptation to a new microenvironment and proliferation of a single tumor cell in a remote area requires plasticity, which the cell must have or acquire in order to develop to a metastasis [3]. The possibility of isolating CPC in patients before the detection of the primary tumor and their preservation in the circulation of some patients after the tumor removal serves as the basis for the concept of CPC-indirect assessment of tumor burden at all stages of tumor progression [5].

Despite the fact that highly aggressive tumors release thousands of cancer cells into the bloodstream every day, CPC constitute a fairly rare population in the blood [4]. Isolation of viable CPC enables their molecular and functional characterization. Chromosomal rearrangements can be studied using a number of methods, including interphase fluorescence *in situ* hybridization. Besides, next-generation DNA sequencing allows studying the spectrum of mutations in CPC genome [4]. Recent studies reveal a tendency to a shift within the paradigm of personalized treatment from the study of metastases to the study of disseminated tumor cells and CPC. This, actually, transfers the focus from treatment of metastases to prevention of metastases [4].

Aim – to characterize current diagnostic and therapeutic potential of isolation of circulating tumor cells.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), eBook Business Collection (<https://www.ebsco.com/>), Clinical Key Elsevier (<https://www.clinicalkey.com/>), Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com/>) та Google Scholar (<https://scholar.google.com/>) опублікованих у період 2003–2023 рр., у яких висвітлювались відомості про

MATERIALS AND METHODS

Literature search of studies published within 2003-2023 and containing information on circulating tumor cells was performed utilizing the online databases PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), eBook Business Collection (<https://www.ebsco.com/>), Clinical Key Elsevier (<https://www.clinicalkey.com/>), Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com/>) and Google

циркулюючі пухлинні клітини. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: циркулюючі пухлинні клітини, метастазування, міграція та інвазія, технології виділення циркулюючих пухлинних клітин, рецептор-лігандні взаємодії циркулюючих пухлинних клітин. На другому етапі вивчались резюме статей та виключались публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі вивчали повні тексти відібраних статей на відповідність критеріям включення до списку літератури та релевантність досліджень.

Scholar (<https://scholar.google.com/>). On the first stage, literature search was performed with the following keywords: circulating tumor cells, metastases, migration and invasion, technologies of circulating tumor cells isolation, receptor-ligand interactions of circulating tumor cells. On the second stage, article abstracts were screened and non-relevant publications were excluded. On the third stage, full-text articles were assessed for meeting the inclusion criteria for the list of references and for the relevance of studies.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

Сучасне уявлення каскаду «інвазія-метастаз»

Current views on the cascade «invasion-metastasis»

Метастазування є складним процесом, який включає кілька послідовних та взаємопов'язаних етапів та багато біохімічних подій [1]. Дисемінацію пухлинних клітин можна викласти у наступній послідовності: 1) локалізована інвазія через базальну мембрану під час зляканої прогресії [6, 8]; 2) інтравазація в системи гематогенної чи лімфатичної циркуляції, що забезпечує транспорт через циркуляцію та взаємодію з компонентами крові [9]; 3) виживання в кровообігу за рахунок конкуренції з циркулюючими імунними клітинами, втрати клітинно-клітинних з'єднань і напруги зсуву [10]; 4) зупинка в капілярному руслі різних органів [4]; 5) екстравазація та міграція в чуже мікросередовище з наступною колонізацією з утворенням мікрометастазів [7]; і 6) стимуляція ангиогенезу, що призводить до зростання метастатичних пухлин. Однак цей процес є дуже неефективним, і менше 0,01% ЦПК дають метастази [11].

Metastasizing is a complex process involving several sequential and interrelated stages and many biochemical events [1]. Dissemination of tumor cells can be described in the following sequence: 1) localized basement membrane invasion during malignant progression [6, 8]; 2) intravasation into blood or lymphatic vessels, providing transport through circulation and interaction with blood components [9]; 3) survival in the blood circulation due to competition with circulating immune cells, loss of cell-cell connections and shear stress [10]; 4) deposition in the capillary bed of various organs [4]; 5) extravasation and migration to alien microenvironment with subsequent colonization with the formation of micrometastases [7]; and 6) stimulation of angiogenesis, leading to the growth of metastatic tumors. However, this process is very inefficient, and less than 0.01% of CPC metastasize [11].

Міграційна та інвазивна здатність ЦПК є двома критичними параметрами метастатичного каскаду [1]. За нормальних умов, при відокремленні пухлинні клітини, подібно до незмінених епітеліальних та ендотеліальних клітин, зазнають особливого виду апоптозу – явище аноїкісу, що призначений для захисту багатоклітинних організмів від того, що клітини закріплюються за межами свого правильного анатомічного розташування [6]. Екстравазація починається, коли ЦПК досягають малих капілярів, прикріплюються до ендотелію та піддаються трансендотеліальній міграції [6]. Іншим механізмом виступає здатність ЦПК утворювати емболи у мікроциркуляторному руслі які зрештою розривають судину [12]. Ендотеліальні клітини, які утворюють внутрішньосудинну оболонку кровеносних та лімфатичних судин, виявляють високу гетерогенність у структурі та функціях та відрізняються у різних органах і, таким чином, впливають на місце екстравазації ЦПК. Капіляри в печінці та кістковому мозку, які називаються синусоїдами, вистелені фенестрованими ендотеліальними клітинами та переривчастою базальною пластинкою, що сприяє кращій екстравазації ЦПК [13]. Саме тому одним із найпоширеніших місць хоумінгу ЦПК виступають кістки та печінка, в тому числі для первинних зляканих новоутворень, таких як колоректальний рак і рак легенів [1]. В той же час, ендотелій легеневих капілярів, навпаки, має щільні з'єднання та базальну мембрану, а стінки капілярів головного мозку додатково укріплені перицитами та відростками астроцитів, разом утворюючи гематоенцефалічний бар'єр [14]. Проте особливості ендотелію судин мікроциркуляторного русла є

The migration and invasive capacity of CPC are the two critical parameters of the metastatic cascade [1]. Under normal conditions, when separated, tumor cells, similar to unchanged epithelial and endothelial cells, undergo a special kind of apoptosis, anoikis phenomenon, which is designed to protect multicellular organisms from cells being anchored outside their proper anatomical location [6]. Extravasation begins when CPC reach small capillaries, attach to the endothelium, and undergo transendothelial migration [6]. Another mechanism is the ability of CPC to form emboli in the microvasculature, which eventually rupture the vessel [12]. Endothelial cells forming the intravascular layer of blood and lymphatic vessels, exhibit extremely high heterogeneity in structure and function and differ in various organs and this has an impact on the site of CPC extravasation. Liver and bone marrow capillaries, also known as sinusoids, are lined with fenestrated endothelial cells and an intermittent basement membrane, which contribute to better extravasation of CPC [13]. That is why bones and liver represent one of the most common sites of CPC homing, for, e.g., primary malignancies such as colorectal and lung cancer [1]. The endothelium of the pulmonary capillaries, on the contrary, has tight connections and a basement membrane, while brain capillaries are additionally strengthened by pericytes and astrocytic processes, forming together a hematoencephalic barrier [14]. However, the features of the endothelium of microvasculature vessels are far from the only factor in the process of metastasizing. The metaphorical «self-seeding» hypothesis is based on observations that different types of cancer show a tendency to metastasize to different organs, and suggests that certain organs are conditionally more «hospitable» to CPC than the others [15].

далеко не єдиним чинником у процесі метастазування. Метафорична гіпотеза «насіння та ґрунту» базувалася на спостереженнях, що різні види раку виявляють схильність до метастазування в різні органи, і передбачає, що певні органи є умовно більш «гостинні» для ЦПК, ніж інші [15].

На сьогодні розуміння механізму проникнення пухлинних клітин в лімфатичну систему та/або кровообіг через процес активної міграції, пасивно або обома способами, залишається клінічно та науково невирішеним питанням [16]. Joosse S.A. та співав. виділяють «рухливі» та «мобільні» пухлинні клітини [3]. «Рухливі» пухлинні клітини – це клітини, які набули здатності рухатися крізь позаклітинний матрикс та проникати у базальні мембрани та ендотеліальні стінки при інтравазації та екстравазації. Ці активні механізми міграції передбачають модифікацію клітинної морфології, положення та навколишньої тканини [17]. «Мобільні» пухлинні клітини переміщуються зовнішніми силами, такими як ріст пухлини, механічні сили або тертя, які змушують їх зміщуватись з місця [18].

Перші припущення щодо ролі ЦПК у процесі метастазування сформульовано понад півтора століття тому [19]. Ashworth T.R. у 1869 р. описав наявність пухлинних клітин, схожих на клітини первинної пухлини, в крові людини з метастатичним раком [20]. У системі кровообігу ЦПК стикаються з низкою фізіологічних перешкод, які протидіють метастатичному процесу. По-перше, це величезні сили зсуву та зіткнення з клітинами крові, що виникають під час кровотоку. По-друге, ЦПК повинні виживати в кровотоці без взаємодії між клітиною та матриксом, що зазвичай викликає апоптоз через аноїкіс. Резистентність до аноїкісу стає можливою завдяки активованій тропоміозиноподібній кіназі В, яка пригнічує пов'язаний з каспазою апоптоз і дозволяє клітинам виживати в рідкій суспензії [21]. Третя перешкода, з якою стикаються ЦПК в крові, – це активність імунної системи. І в решті-решт, ЦПК повинні покинути кровообіг, що вимагає зв'язування з ендотелієм судини. Тромбоцити компенсують ці перешкоди, створюючи захисну оболонку, яка сприяє утворенню пухлинних мікроемболів і зупинці на стороні просвіту капілярів і венул [4]. Саме тому інгібування агрегації тромбоцитів, наприклад, ацетилсаліциловою кислотою, може зменшити стабільне зв'язування ЦПК з активованими тромбоцитами, тим самим перешкоджаючи метастазуванню [3, 22, 23].

Окремої уваги заслуговує зв'язок між ступенем диференціації новоутворення та особливостями метастатичного процесу. Так, за даними Lin H.C. та співав. у пацієнтів з папілярною карциномою щитоподібної залози абсолютна кількість ЦПК, що експресують молекулу адгезії епітеліальних клітин (EPCAM) становила 6, 12, та 91 клітин відповідно у хворих з G1, G2, та G3 стадіями диференціації відповідно. Кількість ЦПК, що експресують рецептор тиреотропного гормону (TSHR), в свою чергу становили 9, 16 та 100 клітин відповідно у хворих з G1, G2, та G3 стадіями диференціації [16]. Аналогічні результати продемонструвала дослідницька група, очолювана Padillo-Ruiz J. Вони встановили, що у хворих на рак підшлункової залози кількість ЦПК була вищою у пацієнтів із пухлинами третього ступеня або низькодиференційованими (G3), ніж у пацієнтів із добре (G1) або помірно (G2) диференційованими пухлинами ($p = 0,018$) [24].

To date, understanding the mechanism of penetration of tumor cells into the lymphatic system or blood circulation through the process of active migration and/or passively, remains a clinically and scientifically unresolved issue [16]. Joosse S.A. et al. describe «motile» and «mobile» tumor cells [3]. «Motile» tumor cells are the cells that have acquired the ability to move through the extracellular matrix and penetrate the basement membranes and endothelial walls during intravasation and extravasation. These active migration mechanisms involve modification of cellular morphology, position, and surrounding tissue [17]. «Mobile» tumor cells are moved by external forces, such as tumor growth, mechanical forces, or friction that cause them to move out of place [18].

The first assumptions about the role of AntAC in the process of metastasis were formulated more than a century and a half ago [19]. Ashworth T.R. in 1869 described the presence of tumor cells, similar to those of a primary tumor, in the blood of a patient with metastatic cancer [20]. In the blood circulation, CPC face a number of physiological obstacles that counteract the metastatic process. First, there are the significant shear forces and collisions with blood cells that occur during blood flow. Second, CPC must survive in the bloodstream without the interaction between the cell and the matrix, which usually causes apoptosis due to anoikis. Resistance to anoikis is made possible by activated tropomyosin-like kinase B, which inhibits caspase-related apoptosis and allows cells to survive in liquid suspension [21]. The third obstacle faced by CPC in the bloodstream, is the activity of the immune system. And finally, CPC must leave the circulation, which requires binding to the endothelium of the vessel. Platelets compensate for these obstacles by creating a protective sheath that promotes the formation of tumor microemboli and stops on the lumen side of the capillaries and venules [4]. That is why inhibition of platelet aggregation, for example, by acetylsalicylic acid, can reduce the stable binding of CPC to activated platelets, thereby preventing metastases [3, 22, 23].

The relationship between the degree of differentiation of the neoplasm and the features of the metastatic process deserves special attention. According to Lin H. C. et al., in patients with papillary thyroid carcinoma, the absolute number of CPC expressing the epithelial cell adhesion molecule (EPCAM) was 6, 12, and 91 cells in patients with G 1, G 2, and G 3 stages of differentiation, respectively. The number of CPC expressing the thyroid stimulating hormone receptor (TSHR) was 9, 16 and 100 cells, respectively, in patients with G 1, G 2, and G3 stages of differentiation [16]. Similar results were demonstrated by a research team led by Padillo-Ruiz J. who found that in patients with pancreatic cancer, the number of CPC was higher in patients with third-degree tumors or low-differentiated (G3) than in patients with good (G1) or moderately (G2) differentiated tumors ($p = 0,018$) [24].

Сучасні підходи до виявлення ЦПК

Раннє виявлення та характеристика ЦПК є важливим елементом загальної стратегії моніторингу та запобігання розвитку метастатичного процесу. Крім того, послідовний аналіз ЦПК може надати клінічно значущу інформацію про ефективність і прогресування системної терапії (наприклад, хіміо-, гормональної або цільової терапії з антитілами та ін.). Незважаючи на те, що було досягнуто багато успіхів щодо виявлення та молекулярної характеристики ЦПК, все ще існує низка проблем, які обмежують поточне використання цього важливого діагностичного підходу [3, 9, 10, 11].

За останні два десятиліття було досягнуто значних зрушень у виявленні та характеристиці ЦПК, проте досі є низка невирішених проблем. По-перше, ЦПК зустрічаються рідко та з'являються на рівні одиниці на мільйони (10⁶–10⁷) оточуючих нормальних периферичних мононуклеарних клітин крові [25, 26, 27, 28]. По-друге, оскільки ЦПК є неоднорідними, різні групи клітин мають значні варіації в експресії поверхневих біомаркерів [29, 30, 31]. Тому розпізнати різні типи ЦПК за уніфікованими критеріями є неможливим [30]. На сьогодні методи виділення ЦПК класифіковані залежно від того, чи використовують вони фізичні чи біологічні властивості клітин [12].

Виділення життєздатних ЦПК дозволяє аналізувати їх молекулярну та функціональну характеристику, оскільки вони біохімічно відрізняються від клітин крові. Однією з найпоширеніших поверхневих молекул на ЦПК є молекула адгезії епітеліальних клітин (*Epithelial cell adhesion molecule* – *EpCAM*), яка походить з епітелію [26, 29]. EpCAM є трансмембранним глікопротеїном, який присутній у 80% випадків солідного раку (таких як рак молочної залози, колоректальний рак та рак простати), але відсутній у клітинах периферичної крові [29, 32, 33]. Також повідомлялося про такі альтернативи, як кератин-19, пухлинспецифічний антиген-9 та пептиди, що вивільняють прогастрин [34]. Крім того, як антитіла для специфічного розпізнавання ЦПК можна використовувати низку пухлинних імунних маркерів, таких як простатоспецифічний антиген (PSA), рецептор епідермального фактора росту людини-2 (HER2), рецептор ендотеліального фактора росту (EGFR) та ін. [26, 35].

На додаток до біохімічних відмінностей, існують чіткі фізичні відмінності між ЦПК і клітинами крові [36]. Загально визнано, що клітинні лінії, що походять із солідних пухлин, мають більші розміри клітин, ніж клітини крові. Так за даними Qian B.Z. та співав. площа поперечного перерізу п'яти ліній пухлинних клітин (MCF-7, Hep3B, HepG2, LNCaP і HeLa) під мікроскопом становила 396–796 мкм², що значно більше, ніж у лейкоцитів, які в середньому мають площу поперечного перерізу 140 мкм² [37].

Крім того, пухлинні клітини містять різноманітні поляризовані частинки, включаючи пептиди, білки та нуклеїнові кислоти. Діелектрофоретичне фракціонування потоком поля пухлинних клітин показало, що ємності ракових клітин значно більші, ніж у клітин крові [26, 38]. За даними Mazel M. та співав., ЦПК різняться за жорсткістю від нормальних клітин – метастатичні ракові клітини більш ніж на 70% є м'якші, ніж доброякісні клітини за величиною модулю Юнга [39].

Методи виділення ЦПК з периферичної крові

З огляду на низьку кількість ЦПК у цільній периферичній крові, їх виокремлення є вирішальним кроком

Modern approaches to detection of CPC

Early detection and characterization of CPC is an important element of the overall strategy for monitoring and prevention of the metastatic process development. In addition, sequential analysis of CPC can provide clinically relevant information on the efficacy and progression of systemic therapies (for example, chemotherapy, hormonal or targeted therapy with antibodies, etc.). While many advances have been made in the detection and molecular characterization of CPC, there are still a number of challenges that limit the current use of this important diagnostic approach [3, 9, 10, 11].

Over the past two decades, significant progress has been made in detection and characterization of CPC, but there are still a number of unresolved issues. First, CPC are rare and appear as one per million (10⁶–10⁷) of surrounding normal peripheral mononuclear blood cells [25, 26, 27, 28]. Second, because CPC are heterogeneous, different groups of cells have significant variations in the expression of surface biomarkers [29, 30, 31]. Therefore, it is impossible to recognize different types of CPC using the unified criteria [30]. Currently, CPC isolation methods are classified depending on whether they are based on the physical or biological cell properties [12].

Isolation of viable CPC allows analyzing their molecular and functional characteristics, since they are biochemically different from blood cells. One of the most common surface molecules on CPC is the epithelial cell adhesion molecule (*EpCAM*), originating from epithelium [26, 29]. EpCAM is a transmembrane glycoprotein present in 80% of cases of substantial cancer (such as breast cancer, colorectal cancer, and prostate cancer), but absent in peripheral blood cells [29, 32, 33]. Besides, alternatives such as keratin-19, tumor-specific antigen-9, and progastrin-releasing peptides have also been reported [34]. In addition, a number of tumor immune markers can be used as antibodies for specific recognition of CPC, such as prostate-specific antigen (PSA), human epidermal growth factor receptor (HER2), endothelial growth factor receptor (EGFR), etc. [26, 35].

Along with biochemical differences, there are clear physical differences between CPC and blood cells [36]. It is generally accepted that the cell lines originating from solid tumors have larger cell sizes than the blood cells. Thus, according to Qian B.Z. et al., the cross-sectional area of five lines of tumor cells (MCF-7, Hep3B, HepG2, LNCaP and HeLa) under a microscope was 396–796 μm², which is significantly larger than that of leukocytes, which on average have a cross-sectional area of 140 μm² [37].

Also, tumor cells contain a variety of polarizing particles, including peptides, proteins, and nucleic acids. Dielectrophoretic field fractionation of tumor cells showed that the capacities of cancer cells are much larger than those of blood cells [26, 38]. According to Mazel M. and sang. CPC differ in stiffness from normal cells: metastatic cancer cells are more than 70% softer than the benign cells as compared by the Young's modulus values [39].

Methods of isolation of CPC from peripheral blood

Given the low amount of CPC in whole peripheral blood, their isolation is a decisive step for further analysis [26].

для подальшого аналізу [26]. Зважаючи на наведені вище фізичні особливості ЦПК, методи їх виділення базуються на їх унікальних властивостях, таких як їх розмір [26, 40], ємність мембрани [41] та щільність [26, 42].

У методах розділення за розміром використовуються спеціальні пористі мембрани з розміром пор приблизно ± 8 мкм (найчастіше від 6,5 до 8 мкм). Захоплені на мембрані ЦПК можна культивувати, забарвлювати та оцінювати за допомогою світлопольної та/або флуоресцентної мікроскопії. Як мРНК, так і ДНК можна виділити з отриманих таким чином ЦПК. До автоматизованих методів розділення на основі розміру належать системи ISET® (*Rarecells*), Screencell® (*Screencell*), MetaCell® (*MetaCell Ltd.*), CellSieve® (*Creatv MicroTech Inc.*), Microcavity Array (*MCA*) та ін. [43].

Так, у системі **Screencell® (Cyto)** 3 мл зразка периферичної крові розводять у 4 мл буфера для фільтрації, що складається переважно з сапоніну та параформальдегіду протягом 8 хв. при кімнатній температурі. 7 мл розведеного зразка потім фільтрують в унікальній фільтраційній колонці шляхом аспірації, створеної колектором з вакуумною трубкою [44].

У **пристрої ISET® (Rarecell)** периферична кров розводиться 1:10 у буфері для фільтрації (0,175% сапоніну, 0,2% параформальдегіду, 0,0372% EDTA і 0,1% бичачого сироваткового альбуміну) протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Модуль фільтрації має 12 лунок, що дозволяє фільтрувати 12 проб по 10 мл розведеного розчину. Фільтрація ініціюється аспірацією, створеною вакуумним насосом [45].

Центрифугування, яке використовує питому щільність лейкоцитів, червоних кров'яних тілець та пухлинних клітин, є одним з перших описаних методів, що використовуються для поділу ЦПК [46].

Успішна ізоляція ЦПК на основі поверхневого заряду пов'язана з унікальними характеристиками пухлинних клітин, а саме високою швидкістю гліколізу та сильною секрецією молочної кислоти. Дослідження показали, що кисле ракове мікрооточення, пов'язане з «ефектом Варбурга», обумовлює їх негативний заряд, що пов'язано з високою швидкістю аеробного гліколізу [47].

Метод CellSearch® (Menarini Silicon Biosystems) вважається «золотим стандартом» серед методів виділення та виявлення ЦПК за мітками (молекули адгезії епітеліальних клітин (Ep-CAM), специфічний маркер епітеліальної тканини, рецептор епідермального фактора росту людини 2 (HER2), муцин-1 (MUC1), цитокератини та ін). Метод заснований на імуномагнітному збагаченні мітками зразка крові та подальшому виявленні та оцінці ЦПК за допомогою імунофлуоресценції. Це єдина система ізоляції ЦПК, схвалена Управлінням з харчових продуктів і медикаментів США (FDA) для клінічного використання у пацієнтів з метастатичним раком молочної залози, колоректальним раком і простатою [48].

AdnaTest (Qiagen) – метод, що поєднує в собі специфічне розділення ЦПК і відносно простий спосіб оцінки їх транскриптома. ЦПК імуномагнітно відокремлюються від інших компонентів крові за допомогою магнітних кульок, кон'югованих з антитілами проти EpCAM і MUC1. Отримані клітини лізують, мРНК виділяють і додатково оцінюють. [43, 49].

MagSweeper – метод із застосуванням імуномагнітного розділення проти EpCAM. Зразок крові розбавляють буферним розчином та додають мічені

In view of the above physical features of CPC, methods for their selection are based on their unique properties, such as their size [26, 40], membrane capacity [41] and density [26, 42].

In size separation methods, special porous membranes with a pore size of approximately ± 8 microns (most often from 6.5 to 8 microns) are used. Membrane-captured CPCs can be cultivated, stained and evaluated using lightfield and/or fluorescence microscopy. Both mRNA and DNA can be isolated from CPC thus obtained. Automated size-based separation methods include ISET® (*Rarecells*), Screencell® (*Screencell*), MetaCell (*MetaCell® Ltd.*), CellSieve® (*Creatv MicroTech Inc.*), Microcavity Array (*MCA*), etc. [43].

Thus, **in the Screencell® System (Cyto)**, 3 ml of peripheral blood sample is diluted in 4 ml of filtration buffer, consisting mainly of saponin and paraformaldehyde for 8 min. at room temperature. 7 ml of diluted sample is then filtered in a unique filtration column by aspiration created by a vacuum tube collector [44].

In an ISET® (Rarecell) device, peripheral blood is diluted 1:10 in a filtration buffer (0.175% saponin, 0.2% paraformaldehyde, 0.0372% EDTA, and 0.1% bovine serum albumin) for 10 minutes at room temperature. The filtration module has 12 wells, which allows you to filter 12 samples of 10 ml of diluted solution. Filtration is initiated by aspiration created by a vacuum pump [45].

Centrifugation, which uses the specific gravity of leukocytes, red blood cells and tumor cells, is one of the first described methods used to divide CPC [46].

Successful isolation of CPC based on surface charge is associated with unique characteristics of tumor cells, namely high glycolysis rate and strong lactic acid secretion. Studies have shown that acidic cancerous microenvironments associated with the «Warburg effect» cause their negative charge, which is associated with a high rate of aerobic glycolysis [47].

The CellSearch® method (Menarini Silicon Biosystems) is considered the «gold standard» among methods for isolating and detecting CPC by labeling epithelial cell adhesion molecules (Ep-CAM), specific epithelial tissue marker, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), mucin-1 (MUC1), cytokeratins, etc. The method is based on immunomagnetic enrichment with blood sample tags and subsequent detection and evaluation of CPC using immunofluorescence. This is the only CPC isolation system, approved by the US Food and Drug Administration (FDA) for clinical use in patients with metastatic breast, colorectal cancer and prostate cancer [48].

AdnaTest (Qiagen) is a method that combines the specific separation of CPCs and a relatively simple way to evaluate their transcriptome. CPC is immunomagnetically separated from other blood components using magnetic beads conjugated with antibodies against EpCAM and MUC1. The resulting cells are lysed, mRNA isolated and further evaluated [43, 49].

MagSweeper is a method using immunomagnetic separation against EpCAM. The blood sample is diluted with a buffer solution and ferrofluid-labeled anti-EpCAM

фероридиною анти-EpCAM антитіла. Клітини збирають за допомогою обертових магнітних стрижнів, які поміщають у зразок. Виконуються етапи промивання, а потім отримані клітини звільняються від стрижнів за допомогою зовнішніх магнітів. Отримані ЦПК можна культивувати та/або додатково аналізувати. [50].

Магнітно-активоване сортування клітин MACS (Miltenyi Biotec) – модифікація імуномагнітного розділення анти-EpCAM. ЦПК захоплюються на імуномагнітних кульках, і зразок пропускається через колонку, яка поміщається в сильне магнітне поле. Незахоплені клітини проходять колонку, тоді як ЦПК на магнітних кульках залишаються всередині колонки. Потім магнітне поле прибирають [43].

Методи мікрофлюїдних чіпів. Технології мікрофлюїдних чіпів використовують розділення анти-EpCAM за умови регульованого потоку всередині пристрою розділення. Антитіла кон'югуються з магнітними кульками, а клітини, захоплені кульками, залишаються всередині чіпа завдяки магнітному полю. Крім того, антитіла безпосередньо прикріплюються до стінки мікрофлюїдного чіпа [43, 51].

Аналіз EPISPOT представляє метод виокремлення клітин CD45+ клітин. ЦПК збагачуються шляхом виснаження лейкоцитів і культивуються в лунках, де приєднані антитіла проти MUC-1 або інших білків відповідно до типу раку. Відібрані білки потім позначають відповідними антитілами, міченими флуорохромом, і візуалізують за допомогою флуоресцентної мікроскопії [43, 49].

CellCollector® (GILUPI) є модифікацією методу виділення анти-EpCAM для використання *in vivo*. CellCollector використовує стрічку із прикріпленнями на його поверхні антитілами проти EpCAM. Стрічка вставляється через канюлю безпосередньо в кровотік пацієнта і піддається впливу великої кількості крові пацієнта (одиниці літрів порівняно з 7,5 мл, які використовуються в інших системах) [3].

Клінічне прогностичне значення ЦПК

У порівнянні зі звичайною біопсією, дослідження ЦПК є відносно недорогим та неінвазивним, тому його можна повторювати багато разів під час терапії, що робить цю методику потужним інструментом моніторингу розвитку раку [43, 52, 53]. Моніторинг вмісту ЦПК під час терапії є інструментом, який дозволяє оцінити розвиток захворювання в режимі реального часу, навіть до появи явних клінічних ознак рецидиву. Зменшення кількості ЦПК після операції та/або хіміотерапії, ймовірно, є ознакою ремісії. Навпаки, збільшення кількості ЦПК вказує на реактивацію захворювання [54, 55, 56].

У дослідженні Ilie M. та співав. було проведено оцінку вмісту ЦПК у пацієнтів з хронічним обструктивним захворюванням легень. У вказаному дослідженні ЦПК виявили у 5 зі 168 (3%) пацієнтів. Цікаво, що у всіх цих п'яти пацієнтів протягом 4 років розвинувся рак легень. Крім того, у жодного з ЦПК-негативних пацієнтів не розвинувся рак протягом періоду моніторингу [57].

Дослідниками встановлено, що більш високі показники ЦПК у периферичній крові пацієнтів пов'язані з поганим прогнозом при різних типах раку, включаючи колоректальний рак, рак молочної залози, рак легень, рак підшлункової залози тощо [26, 58]. Було доведено, що наявність ≥ 3 ЦПК на 7,5 мл

antibodies are added. The cells are collected using rotating magnetic rods that are placed in a sample. Washing steps are performed, and then the resulting cells are released from the rods by means of external magnets. The resulting AntAC can be cultivated and/or further analyzed [50].

Magnetically activated cell sorting, MACS, (Miltenyi Biotec) is a modification of the immunomagnetic separation of anti-EpCAM. CPC is captured on immunomagnetic beads, and the sample is passed through a column, which is placed in a strong magnetic field. The uncaptured cells pass the column, while the CPC on the magnetic beads remain inside the column. Then the magnetic field is removed [43].

Methods of microfluidic chips. Microfluidic chip technologies use anti-EpCAM separation provided there is an adjustable flow inside the separation device. Antibodies are conjugated to magnetic beads, and cells trapped by the balls remain inside the chip due to the magnetic field. In addition, antibodies are directly attached to the wall of the microfluidic chip [43, 51].

The EPISPOT assay presents a method for isolating CD cells from 45+ cells. CPC is enriched by white blood cell depletion and cultured in wells where antibodies against MUC-1 or other proteins are attached according to the type of cancer. The selected proteins are then labeled with appropriate fluorochrome-labeled antibodies and visualized by fluorescence microscopy [43, 49].

The Cell Collector® (GILUPI) is a modification of the anti-EpCAM isolation method for *in vivo* use. The Cell Collector uses tape with antibodies against EpCAM attached to its surface. The tape is inserted through a cannula directly into the patient's bloodstream and is exposed to large amounts of the patient's blood (units of liters compared to 7.5 ml used in other systems) [3].

Clinical and prognostic significance of CPC

Compared to conventional biopsy, CPC testing is relatively inexpensive and non-invasive, so it can be repeated many times during therapy, which makes this technique a powerful tool for monitoring cancer development [43, 52, 53]. Monitoring CPC content during therapy is a tool that allows assessing the development of the disease in real time, even before the appearance of obvious clinical signs of relapse. Reducing the number of CPC after surgery and/or chemotherapy may be a sign of remission. In contrast, an increase in the number of CPC indicates reactivation of the disease [54, 55, 56].

In the study, Ilie M. and sang. CPC content was assessed in patients with chronic obstructive pulmonary disease. In this study, CPC was found in 5 of 168 (3%) patients. Interestingly, all these five patients developed lung cancer within 4 years. In addition, none of the CPC-negative patients developed cancer during the monitoring period [57].

The researchers found that higher rates of CPC in the peripheral blood of patients are associated with poor prognosis in various types of cancer, including colorectal cancer, breast cancer, lung cancer, pancreatic cancer, etc. [26, 58]. The presence of ≥ 3 CPC per 7.5 mL of peripheral blood has been shown to be a strong predictor of reduced progression-free survival, while

периферичної крові є сильним предиктором зниження виживаності без прогресування, тоді як виявлення < 3 ЦПК на 7,5 мл вказує на кращу загальну виживаність [59]. Початкові показники ЦПК, а також ранні зміни після початку лікування тісно пов'язані з розміром первинної пухлини, кількістю метастазів і зниженням виживаності без прогресування у пацієнтів з раком молочної залози [26, 60].

Виявлення ЦПК є потенційним новим підходом до оцінки ефективності неoad'ювантної хіміотерапії. Показано, що показники ЦПК до та після неoad'ювантної терапії у пацієнтів з карциномою шлунка є прогностичним фактором ризику рецидиву захворювання: пацієнти з ≥ 4 ЦПК частіше були стійкими до хіміотерапії, ніж ті, у кого виявлено <4 ЦПК, що вказує на те, що кількість ЦПК є перспективним показником для оцінки біологічної активності та відповіді на хіміотерапію [26, 61].

Послідовні взяття периферичної крові, зокрема, для моніторингу мінімального залишкового захворювання в режимі реального часу у онкологічних пацієнтів, які проходять системну терапію, очевидно, більш прийнятні, ніж повторні аспірації кісткового мозку. Дійсно, багато дослідницьких груп зараз оцінюють клінічну цінність аналізів ЦПК, які, як було доведено, надають значну прогностичну інформацію при метастатичному раку грудної залози та інших солідних пухлинах, таких як рак простати, колоректальний рак та рак легенів [3].

Актуальним завданням технологій виявлення ЦПК є моніторинг онкологічної патології після лікування у пацієнтів без ознак явного метастазування, оскільки кількість ЦПК у цих пацієнтів дуже низька. Обнадійливі результати, які вказують на те, що навіть такі низькі показники ЦПК можуть мати прогностичну значущість, було опубліковано для кількох пухлинних утворень, таких як рак грудної залози, рак сечового міхура та колоректальний рак [3, 62, 63, 64].

Важливою для ідентифікації терапевтичних цілей та сприяння більш персоналізованим антиметастатичним методам лікування може вважатись й молекулярна характеристика ЦПК. У сучасній клінічній практиці рішення щодо таргетної терапії ґрунтується виключно на аналізі первинної пухлини, хоча терапія спрямована проти метастатичних клітин [65]. Однак метастатичний рецидив може виникнути через багато років після первинної діагностики пухлини та її хірургічної резекції. За вказаних умов саме виявлення ЦПК у периферичній крові стає оптимальним методом контролю ремісії.

detection of < 3 CPC per 7.5 ml indicates better overall survival [59]. Initial CPC scores, as well as early changes after treatment initiation, are closely related to primary tumor size, number of metastases, and reduced progression-free survival in breast cancer patients [26, 60].

The detection of CPC is a potential novel approach to evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy. CPC scores before and after neoadjuvant therapy in patients with gastric carcinoma have been shown to be a prognostic risk factor for disease recurrence: patients with ≥ 4 CPC were more likely to be resistant to chemotherapy than those with < 4 CPC, indicating that CPC count is a promising indicator for assessing biological activity and response to chemotherapy [26, 61].

Sequential peripheral blood sampling, particularly to monitor minimal real-time residual disease in cancer patients receiving systemic therapy, is apparently more acceptable than repeated bone marrow aspirations. Indeed, many research groups are now evaluating the clinical value of CPC analyses, which have been proven to provide significant predictive information in metastatic breast cancer and other solid tumors such as prostate cancer, colorectal cancer, and lung cancer [3].

An important task of CPC detection technologies is monitoring of oncological pathology after treatment in patients without signs of obvious metastases, since the number of CPC in these patients is very low. Encouraging results, indicating that even such low CPC scores may have prognostic significance, have been published for several tumor formations such as breast cancer, bladder cancer, and colorectal cancer [3, 62, 63, 64].

Molecular characterization of CPC may also be important for identifying therapeutic targets and promoting more personalized antimetastatic therapies. In modern clinical practice, the decision on targeted therapy is based solely on the analysis of the primary tumor, although therapy is directed against metastatic cells [65]. However, metastatic relapse may occur many years after the initial diagnosis of the tumor and its surgical resection. Under these conditions, the detection of CPC in peripheral blood becomes the optimal method of controlling remission.

ВИСНОВКИ

Вчасне виявлення та характеристика циркулюючих пухлинних клітин є новою стратегією прогнозування та ідентифікації рецидиву онкологічної патології. Циркулюючі пухлинні клітини, виявлені до та після ад'ювантної терапії, променевої терапії або хірургічного видалення первинної пухлини, були описані як незалежні фактори ризику рецидиву та смерті. Найбільш часто використовуються методи виявлення циркулюючих пухлинних клітин, які базуються на наявності специфічних поверхневих антигенів, фізичних та функціональних властивостях клітин. Одним з найперспективніших методів виділення циркулюючих пухлинних клітин на сьогодні є системи мікрофлю-

CONCLUSIONS

Timely detection and characterization of circulating tumor cells is a new strategy for predicting and identifying the recurrence of cancer pathology. Circulating tumor cells detected before and after adjuvant therapy, radiotherapy, or surgical removal of the primary tumor have been described as independent risk factors for tumor recurrence and death. The most commonly used methods for detecting circulating tumor cells are based on the presence of specific surface antigens, physical and functional properties of cells. One of the most promising methods of isolation of circulating tumor cells today are microfluidic chip systems and hybrid systems that combine isolation of tumor cells according to their

ідних чипів та гібридні системи, які поєднують виділення пухлинних клітин за їх фізичними властивостями та подальшу детекцію за поверхневими антигенами.

physical properties and subsequent detection by surface antigens.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

REFERENCES

1. Guan X. Cancer metastases: challenges and opportunities. *Acta pharmaceutica Sinica*. 2015. Vol. 5(5). P. 402–418. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.07.005>
2. Seyfried T.N., Huysentruyt L.C. On the origin of cancer metastasis. *Critical reviews in oncogenesis*. 2013. Vol. 18(1–2). P. 43–73. DOI: <https://doi.org/10.1615/critrevoncog.v18.i1-2.40>
3. Joosse S.A., Gorges T.M., Pantel K. Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO molecular medicine*. 2015. Vol. 7(1). P. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.201303698>
4. Dasgupta A., Lim A.R., Ghajar C.M. Circulating and disseminated tumor cells: harbingers or initiators of metastasis? *Molecular oncology*. 2017. Vol. 11(1). P. 40–61. DOI: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12022>
5. Allard W.J., Matera J., Miller M.C. et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clinical cancer research*. 2004. Vol. 10(20). P. 6897–6904. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0378>
6. Joosse S.A., Pantel K. Biologic challenges in the detection of circulating tumor cells. *Cancer research*. 2013. Vol. 73(1). P. 8–11. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3422>
7. Friedl P., Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011. Vol. 147(5). P. 992–1009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.11.016>
8. Fornvik D., Andersson I., Düstler M., Ehrnström R., Rydén L. et al. No evidence for shedding of circulating tumor cells to the peripheral venous blood as a result of mammographic breast compression. *Breast cancer research and treatment*. 2013. Vol. 141(2). P. 187–195. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2674-z>
9. Andree K.C., van Dalum G., Terstappen L.W.M.M. Challenges in circulating tumor cell detection by the CellSearch system. *Molecular oncology*. 2016. Vol. 10(3). P. 395–407. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.12.002>
10. Ashworth T.R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *The Medical journal of Australia*. 1869. Vol. 14. P. 146–149.
11. Douma S., Van Laar T., Zevenhoven J., Meuwissen R., Van Garderen E., Peepers D.S. Suppression of anoikis and induction of metastasis by the neurotrophic receptor TrkB. *Nature*. 2004. Vol. 430(7003). P. 1034–1039. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02765>
12. Uppal A., Wightman S.C., Ganai S., Weichselbaum R.R., An G. Investigation of the essential role of platelet-tumor cell interactions in metastasis progression using an agent-based model. *Theoretical biology & medical modelling*. 2014. Vol. 11. 17 p. DOI: <https://doi.org/10.1186/1742-4682-11-17>
13. Alizadeh A.M., Shiri S., Farsinejad S. Metastasis review: from bench to bedside. *Tumour biology*. 2014. Vol. 35(9). P. 8483–8523. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2421-z>
14. Reymond N., Agua B.B., Ridley A.J. Crossing the endothelial barrier during metastasis. *Nature reviews. Cancer*. 2013. Vol. 13(12). P. 858–870. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3628>
15. Hamidi H., Ivaska J. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis. *Nature reviews. Cancer*. 2018. Vol. 18(9). P. 533–548. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0038-z>
16. Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A. et al. Intravasation as a key step in Cancer metastasis. *Biochem Mosc*. 2019. Vol. 84(7). P. 762–772. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297919070071>
17. Szczerba B.M., Castro-Giner F., Vetter M. et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression. *Nature*. 2019. Vol. 566(7745). P. 553–557. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0915-y>
18. Micalizzi D.S., Maheswaran S., Haber D.A. A conduit to metastasis: circulating tumor cell biology. *Genes & development*. 2017. Vol. 31(18). P. 1827–1840. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.305805.117>
19. Massague J., Obenauf A.C. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature*. 2016. Vol. 529(7586). P. 298–306. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature17038>
20. Aird W.C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation research*. 2007. Vol. 100(2). P. 158–173. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>
21. Nguyen D.X., Bos P.D., Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nature reviews. Cancer*. 2009. Vol. 9(4). P. 274–284. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc2622>
22. Kim M.Y., Oskarsson T., Acharyya S., Nguyen D.X., Zhang X.H., Norton L., Massague J. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009. Vol. 139(7). P. 1315–1326. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.025>
1. Guan X. Cancer metastases: challenges and opportunities. *Acta pharmaceutica Sinica*. 2015;5(5):402–418. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.07.005>
2. Seyfried TN, Huysentruyt LC. On the origin of cancer metastasis. *Critical reviews in oncogenesis*. 2013;18(1–2):43–73. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1615/critrevoncog.v18.i1-2.40>
3. Joosse SA, Gorges TM, Pantel K. Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO molecular medicine*. 2015;7(1):1–11. (In English). DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.201303698>
4. Dasgupta A, Lim AR, Ghajar CM. Circulating and disseminated tumor cells: harbingers or initiators of metastasis? *Molecular oncology*. 2017;11(1):40–61. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12022>
5. Allard WJ, Matera J, Miller MC et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clinical cancer research*. 2004;10(20):6897–904. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0378>
6. Joosse SA, Pantel K. Biologic challenges in the detection of circulating tumor cells. *Cancer research*. 2013;73(1):8–11. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3422>
7. Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011;147(5):992–1009. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.11.016>
8. Fornvik D, Andersson I, Düstler M, Ehrnström R, Rydén L et al. No evidence for shedding of circulating tumor cells to the peripheral venous blood as a result of mammographic breast compression. *Breast cancer research and treatment*. 2013;141(2):187–95. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2674-z>
9. Andree KC, van Dalum G, Terstappen LWMM. Challenges in circulating tumor cell detection by the CellSearch system. *Molecular oncology*. 2016;10(3):395–407. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.12.002>
10. Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *The Medical journal of Australia*. 1869;14:146–9. (In English).
11. Douma S, Van Laar T, Zevenhoven J, Meuwissen R, Van Garderen E, Peepers DS. Suppression of anoikis and induction of metastasis by the neurotrophic receptor TrkB. *Nature*. 2004;430(7003):1034–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02765>
12. Uppal A, Wightman SC, Ganai S, Weichselbaum RR, An G. Investigation of the essential role of platelet-tumor cell interactions in metastasis progression using an agent-based model. *Theoretical biology & medical modelling*. 2014;11:17. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/1742-4682-11-17>
13. Alizadeh AM, Shiri S, Farsinejad S. Metastasis review: from bench to bedside. *Tumour biology*. 2014;35(9):8483–523. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2421-z>
14. Reymond N, Agua BB, Ridley AJ. Crossing the endothelial barrier during metastasis. *Nature reviews. Cancer*. 2013;13(12):858–70. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3628>
15. Hamidi H, Ivaska J. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis. *Nature reviews. Cancer*. 2018;18(9):533–48. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0038-z>
16. Zavyalova MV, Denisov EV, Tashireva LA et al. Intravasation as a key step in Cancer metastasis. *Biochem Mosc*. 2019;84(7):762–72. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297919070071>
17. Szczerba BM, Castro-Giner F, Vetter M et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression. *Nature*. 2019;566(7745):553–7. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0915-y>
18. Micalizzi DS, Maheswaran S, Haber DA. A conduit to metastasis: circulating tumor cell biology. *Genes & development*. 2017;31(18):1827–40. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.305805.117>
19. Massague J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature*. 2016;529(7586):298–306. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nature17038>
20. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation research*. 2007;100(2):158–73. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>
21. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nature reviews. Cancer*. 2009;9(4):274–84. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc2622>
22. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, Massague J. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009;139(7):1315–26. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.025>

23. Lin H.C., Liou M.J., Hsu H.L., Hsieh J.C., Chen Y.A., Tseng C.P., Lin J.D. Combined analysis of circulating epithelial cells and serum thyroglobulin for distinguishing disease status of the patients with papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7(13). P. 17242–17253. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6587>
24. Padillo-Ruiz J., Suarez G., Pereira S., Calero-Castro F.J., Tinoco J. et al. Circulating Tumor Cells Enumeration from the Portal Vein for Risk Stratification in Early Pancreatic Cancer Patients. *Cancers*. 2021. Vol. 13(24). 6153 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13246153>
25. Alix-Panabieres C., Schwarzenbach H., Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annual review of medicine*. 2012. Vol. 63. P. 199–215. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062310-094219>
26. Ju S., Chen C., Zhang J., Xu L., Zhang X., Li Z., Chen Y., Zhou J., Ji F., Wang L. Detection of circulating tumor cells: opportunities and challenges. *Biomarker research*. 2022. Vol. 10(1). 58 p. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40364-022-00403-2>
27. Miller M.C., Doyle G.V., Terstappen L.W.M.M. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *Journal of oncology*. 2010. Vol. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1155/2010/617421>
28. Kulasinghe A., Kenny L., Perry C. et al. Impact of label-free technologies in head and neck cancer circulating tumour cells. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7(44). P. 71223–71234. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12086>
29. Gires O., Stoecklein N.H. Dynamic EpCAM expression on circulating and disseminating tumor cells: causes and consequences. *Cellular and molecular life sciences*. 2014. Vol. 71(22). P. 4393–4402. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1693-1>
30. Mai J., Abubrig M., Lehmann T. et al. T2 mapping in prostate Cancer. *Investig Radiology*. 2019. Vol. 54(3). P. 146–152. DOI: <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000520>
31. Braso-Maristany F., Griguolo G., Pascual T. et al. Phenotypic changes of HER2-positive breast cancer during and after dual HER2 blockade. *Nature communications*. 2020. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14111-3>
32. Praharaj P.P., Bhutia S.K., Nagrath S., Bittling R.L., Deep G. Circulating tumor cell-derived organoids: current challenges and promises in medical research and precision medicine. *Biochimica et biophysica acta*. 2018. Vol. 1869(2). P. 117–127. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.12.005>
33. Sharma S., Zhuang R., Long M. et al. Circulating tumor cell isolation, culture, and downstream molecular analysis. *Biotechnology advances*. 2018. Vol. 36(4). P. 1063–1078. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.007>
34. Liu L., Liao G.Q., He P. et al. Detection of circulating cancer cells in lung cancer patients with a panel of marker genes. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008. Vol. 372(4). P. 756–760. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.101>
35. Placke T., Orgel M., Schaller M. et al. Platelet-derived MHC class I confers a Pseudonormal phenotype to Cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer research*. 2012. Vol. 72(2). P. 440–448. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1872>
36. Qian B., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010. Vol. 141(1). P. 39–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.014>
37. Qian B.Z., Li J., Zhang H. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast tumor metastasis. *Nature*. 2011. Vol. 475(7355). P. 222–225. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10138>
38. Gordon N., Kleinerman E.S. The role of Fas/FasL in the metastatic potential of osteosarcoma and targeting this pathway for the treatment of osteosarcoma lung metastases. *Cancer treatment and research*. 2009. Vol. 152. P. 497–508. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0284-9_29
39. Mazel M., Jacot W., Pantel K. et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. *Molecular oncology*. 2015. Vol. 9(9). P. 1773–1782. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.05.009>
40. Vona G., Sabile A., Louha M. et al. Isolation by size of epithelial tumor cells. *The American journal of pathology*. 2000. Vol. 156(1). P. 57–63. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64706-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64706-2)
41. Gascoyne P.R.C., Shim S. Isolation of circulating tumor cells by Dielectrophoresis. *Cancers*. 2014. Vol. 6(1). P. 545–579. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers6010545>
42. Rosenberg R., Gertler R., Friederichs J. et al. Comparison of two density gradient centrifugation systems for the enrichment of disseminated tumor cells in blood. *Cytometry*. 2002. Vol. 49(4). P. 150–158. DOI: <https://doi.org/10.1002/cyto.10161>
43. Maly V., Maly O., Kolostova K., Bobek V. Circulating Tumor Cells in Diagnosis and Treatment of Lung Cancer. *In Vivo*. 2019. Vol. 33(4). P. 1027–1037. DOI: <https://doi.org/10.21873/invivo.11571>
44. Desitter I., Guerrouahen B.S., Benali-Furet N., Wechsler J., Jänne P.A. et al. A new device for rapid isolation by size and characterization of rare circulating tumor cells. *Anticancer research*. 2011. Vol. 31(2). P. 427–441.
23. Lin HC, Liou MJ, Hsu HL, Hsieh JC, Chen YA, Tseng CP, Lin JD. Combined analysis of circulating epithelial cells and serum thyroglobulin for distinguishing disease status of the patients with papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(13):17242–53. (In English). DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6587>
24. Padillo-Ruiz J, Suarez G, Pereira S, Calero-Castro FJ, Tinoco J et al. Circulating Tumor Cells Enumeration from the Portal Vein for Risk Stratification in Early Pancreatic Cancer Patients. *Cancers*. 2021;13(24):6153. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13246153>
25. Alix-Panabieres C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annual review of medicine*. 2012;63:199–215. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062310-094219>
26. Ju S, Chen C, Zhang J, Xu L, Zhang X, Li Z, Chen Y, Zhou J, Ji F, Wang L. Detection of circulating tumor cells: opportunities and challenges. *Biomarker research*. 2022;10(1):58. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/s40364-022-00403-2>
27. Miller MC, Doyle GV, Terstappen LWMM. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *Journal of oncology*. 2010. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1155/2010/617421>
28. Kulasinghe A, Kenny L, Perry C et al. Impact of label-free technologies in head and neck cancer circulating tumour cells. *Oncotarget*. 2016;7(44):71223–34. (In English). DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12086>
29. Gires O, Stoecklein NH. Dynamic EpCAM expression on circulating and disseminating tumor cells: causes and consequences. *Cellular and molecular life sciences*. 2014;71(22):4393–402. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1693-1>
30. Mai J, Abubrig M, Lehmann T et al. T2 mapping in prostate Cancer. *Investig Radiology*. 2019;54(3):146–52. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000520>
31. Braso-Maristany F, Griguolo G, Pascual T et al. Phenotypic changes of HER2-positive breast cancer during and after dual HER2 blockade. *Nature communications*. 2020;11. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14111-3>
32. Praharaj PP, Bhutia SK, Nagrath S, Bittling RL, Deep G. Circulating tumor cell-derived organoids: current challenges and promises in medical research and precision medicine. *Biochimica et biophysica acta*. 2018;1869(2):117–27. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.12.005>
33. Sharma S, Zhuang R, Long M et al. Circulating tumor cell isolation, culture, and downstream molecular analysis. *Biotechnology advances*. 2018;36(4):1063–78. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.007>
34. Liu L, Liao GQ, He P et al. Detection of circulating cancer cells in lung cancer patients with a panel of marker genes. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;372(4):756–60. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.101>
35. Placke T, Orgel M, Schaller M et al. Platelet-derived MHC class I confers a Pseudonormal phenotype to Cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer research*. 2012;72(2):440–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1872>
36. Qian B, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39–51. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.014>
37. Qian BZ, Li J, Zhang H et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast tumor metastasis. *Nature*. 2011;475(7355):222–5. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10138>
38. Gordon N, Kleinerman ES. The role of Fas/FasL in the metastatic potential of osteosarcoma and targeting this pathway for the treatment of osteosarcoma lung metastases. *Cancer treatment and research*. 2009;152:497–508. (In English). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0284-9_29
39. Mazel M, Jacot W, Pantel K et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. *Molecular oncology*. 2015;9(9):1773–82. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.05.009>
40. Vona G, Sabile A, Louha M et al. Isolation by size of epithelial tumor cells. *The American journal of pathology*. 2000;156(1):57–63. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64706-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64706-2)
41. Gascoyne PRC, Shim S. Isolation of circulating tumor cells by Dielectrophoresis. *Cancers*. 2014;6(1):545–79. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers6010545>
42. Rosenberg R, Gertler R, Friederichs J et al. Comparison of two density gradient centrifugation systems for the enrichment of disseminated tumor cells in blood. *Cytometry*. 2002;49(4):150–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1002/cyto.10161>
43. Maly V, Maly O, Kolostova K, Bobek V. Circulating Tumor Cells in Diagnosis and Treatment of Lung Cancer. *In Vivo*. 2019;33(4):1027–37. (In English). DOI: <https://doi.org/10.21873/invivo.11571>
44. Desitter I, Guerrouahen BS, Benali-Furet N, Wechsler J, Jänne PA et al. A new device for rapid isolation by size and characterization of rare circulating tumor cells. *Anticancer research*. 2011;31(2):427–41. (In English).

45. Dolfus C., Piton N., Toure E., Sabourin J.C. Circulating tumor cell isolation: the assets of filtration methods with polycarbonate track-etched filters. *Chinese journal of cancer research*. 2015. Vol. 27(5). P. 479–487. DOI: <https://doi.org/10.3978/j.issn.1000-9604.2015.09.01>
46. Banko P., Lee S.Y., Nagygyorgy V. et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *Journal of hematology*. 2019. Vol. 12(1). 48 p. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>
47. Zhu Z., Zhang Y.H.P. In vitro metabolic engineering of bioelectricity generation by the complete oxidation of glucose. *Metabolic engineering*. 2017. Vol. 39. P. 110–116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.11.002>
48. Cote R.J., Datar R.H. Circulating tumor cells. *Springer New York*. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3363-1>
49. Bertoldo F., Boccardo F., Bombardieri E., Evangelista L., Valdagni R. Bone metastases from prostate cancer: Biology, diagnosis and management. *Springer International Publishing*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-42327-2>
50. Wang Y., Navin N.E. Advances and applications of single-cell sequencing technologies. *Molecular cell*. 2015. Vol. 58(4). P. 598–609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.005>
51. Nagrath S., Sequist L.V., Maheswaran S., Bell D.W., Irimia D. et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*. 2007. Vol. 450(7173). P. 1235–1239. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature06385>
52. Stott S.L., Hsu C.H., Tsukrov D.I., Yu M., Miyamoto D.T., Waltman B.A. et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010. Vol. 107(43). P. 18392–18397. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1012539107>
53. Harouaka R.A., Nisic M., Zheng S.Y. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties. *Journal of laboratory automation*. 2013. Vol. 18(6). P. 455–468. DOI: <https://doi.org/10.1177/2211068213494391>
54. Laget S., Broncy L., Hormigos K., Dhingra D.M., BenMohamed F. et al. Technical insights into highly sensitive isolation and molecular characterization of fixed and live circulating tumor cells for early detection of tumor invasion. *PLoS One*. 2017. Vol. 12(1). e0169427 p. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169427>
55. Kolostova K., Cegan M., Bobek V. Circulating tumour cells in patients with urothelial tumours: Enrichment and in vitro culture. *Canadian Urological Association journal*. 2014. Vol. 8(9–10). P. E715–E720. DOI: <https://doi.org/10.5489/auj.1978>
56. Cabel L., Proudhon C., Gortais H., Loirat D., Coussy F., Pierga J.Y., Bidard F.C. Circulating tumor cells: Clinical validity and utility. *International journal of clinical oncology*. 2017. Vol. 22(3). P. 421–430. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10147-017-1105-2>
57. Ilie M., Hofman V., Long-Mira E. et al. “Sentinel” circulating tumor cells allow early diagnosis of lung Cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2014. Vol. 9(10). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111597>
58. Weissenstein U., Schumann A., Reif M., Link S., Toffol-Schmidt U.D., Heusser P. Detection of circulating tumor cells in blood of metastatic breast cancer patients using a combination of cytokeratin and EpCAM antibodies. *BMC Cancer*. 2012. Vol. 12(1). 206 p. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-206>
59. Rossi G., Mu Z., Rademaker A.W. et al. Cell-free DNA and circulating tumor cells: comprehensive liquid biopsy analysis in advanced breast Cancer. *Clinical cancer research*. 2018. Vol. 24(3). P. 560–568. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2092>
60. Aceto N., Bardia A., Miyamoto D.T. et al. Circulating tumor cell clusters are Oligoclonal precursors of breast Cancer metastasis. *Cell*. 2014. Vol. 158(5). P. 1110–1122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.013>
61. He W., Hou M., Zhang H. et al. Clinical significance of circulating tumor cells in predicting disease progression and chemotherapy resistance in patients with gestational choriocarcinoma. *International journal of cancer*. 2019. Vol. 144(6). P. 1421–1431. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.31742>
62. Rack B., Schindlbeck C., Jückstock J., Andergassen U., Hepp P. et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2014. Vol. 106(5). dju066 p. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/dju066>
63. Gazzaniga P., de Berardinis E., Raimondi C., Gradilone A., Busetto G.M. et al. Circulating tumor cells detection has independent prognostic impact in high-risk non-muscle invasive bladder cancer. *International journal of cancer*. 2014. Vol. 135(8). P. 1978–1982. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.28830>
64. Deneve E., Riethdorf S., Ramos J., Nocca D., Coffy A. et al. Capture of viable circulating tumor cells in the liver of colorectal cancer patients. *Clinical chemistry*. 2013. Vol. 59(9). P. 1384–1392. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.202846>
65. Wan L., Pantel K., Kang Y. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic. *Nature medicine*. 2013. Vol. 19(11). P. 1450–1464. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.3391>
45. Dolfus C, Piton N, Toure E, Sabourin JC. Circulating tumor cell isolation: the assets of filtration methods with polycarbonate track-etched filters. *Chinese journal of cancer research*. 2015;27(5):479–87. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3978/j.issn.1000-9604.2015.09.01>
46. Banko P, Lee SY, Nagygyorgy V et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *Journal of hematology*. 2019;12(1):48. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>
47. Zhu Z, Zhang YHP. In vitro metabolic engineering of bioelectricity generation by the complete oxidation of glucose. *Metabolic engineering*. 2017;39:110–6. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.11.002>
48. Cote RJ, Datar RH. Circulating tumor cells. *Springer New York*. 2016. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3363-1>
49. Bertoldo F, Boccardo F, Bombardieri E, Evangelista L, Valdagni R. Bone metastases from prostate cancer: Biology, diagnosis and management. *Springer International Publishing*. 2017. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-42327-2>
50. Wang Y, Navin NE. Advances and applications of single-cell sequencing technologies. *Molecular cell*. 2015;58(4):598–609. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.005>
51. Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, Bell DW, Irimia D et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*. 2007;450(7173):1235–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nature06385>
52. Stott SL, Hsu CH, Tsukrov DI, Yu M, Miyamoto DT, Waltman BA et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(43):18392–7. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1012539107>
53. Harouaka RA, Nisic M, Zheng SY. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties. *Journal of laboratory automation*. 2013;18(6):455–68. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1177/2211068213494391>
54. Laget S, Broncy L, Hormigos K, Dhingra DM, BenMohamed F et al. Technical insights into highly sensitive isolation and molecular characterization of fixed and live circulating tumor cells for early detection of tumor invasion. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169427. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169427>
55. Kolostova K, Cegan M, Bobek V. Circulating tumour cells in patients with urothelial tumours: Enrichment and in vitro culture. *Canadian Urological Association journal*. 2014;8(9–10):E715–20. (In English). DOI: <https://doi.org/10.5489/auj.1978>
56. Cabel L, Proudhon C, Gortais H, Loirat D, Coussy F, Pierga JY, Bidard FC. Circulating tumor cells: Clinical validity and utility. *International journal of clinical oncology*. 2017;22(3):421–30. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10147-017-1105-2>
57. Ilie M, Hofman V, Long-Mira E et al. “Sentinel” circulating tumor cells allow early diagnosis of lung Cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2014;9(10). (In English). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111597>
58. Weissenstein U, Schumann A, Reif M, Link S, Toffol-Schmidt UD, Heusser P. Detection of circulating tumor cells in blood of metastatic breast cancer patients using a combination of cytokeratin and EpCAM antibodies. *BMC Cancer*. 2012;12(1):206. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-206>
59. Rossi G, Mu Z, Rademaker AW et al. Cell-free DNA and circulating tumor cells: comprehensive liquid biopsy analysis in advanced breast Cancer. *Clinical cancer research*. 2018;24(3):560–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2092>
60. Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT et al. Circulating tumor cell clusters are Oligoclonal precursors of breast Cancer metastasis. *Cell*. 2014;158(5):1110–22. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.013>
61. He W, Hou M, Zhang H et al. Clinical significance of circulating tumor cells in predicting disease progression and chemotherapy resistance in patients with gestational choriocarcinoma. *International journal of cancer*. 2019;144(6):1421–31. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.31742>
62. Rack B, Schindlbeck C, Jückstock J, Andergassen U, Hepp P et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2014;106(5):dju066. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/dju066>
63. Gazzaniga P, de Berardinis E, Raimondi C, Gradilone A, Busetto GM et al. Circulating tumor cells detection has independent prognostic impact in high-risk non-muscle invasive bladder cancer. *International journal of cancer*. 2014;135(8):1978–82. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.28830>
64. Deneve E, Riethdorf S, Ramos J, Nocca D, Coffy A et al. Capture of viable circulating tumor cells in the liver of colorectal cancer patients. *Clinical chemistry*. 2013;59(9):1384–92. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.202846>
65. Wan L, Pantel K, Kang Y. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic. *Nature medicine*. 2013;19(11):1450–64. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.3391>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Проведений аналіз літературних джерел показав перспективність виділення та вивчення циркулюючих пухлинних клітин, як нової стратегії прогнозування та ідентифікації рецидиву онкологічної патології. У подальших дослідженнях доцільно охарактеризувати прогностичну значущість та специфічність виділення циркулюючих пухлинних клітин залежно від локалізації зляклого процесу.

The performed literature review demonstrated the prospects of isolation and study of circulating tumor cells as a new strategy for prediction and diagnosis of cancer recurrence. In further studies, it is advisable to characterize the prognostic significance and specificity of the isolation of circulating tumor cells depending on the location of the malignant process.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

The authors declare no conflict of interest and no financial interest in the preparation of this article.

Інформація про фінансування

Funding information

Робота фінансується видатками Державного бюджету України.

The work is financed by the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Красносельський Микола Вілленович – доктор медичних наук, професор, директор Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; завідувач кафедри онкології, радіології та радіаційної медицини Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;

e-mail: medrad20@ukr.net

моб.: +38(050) 300-56-97

Внесок автора: ідея огляду, обґрунтування мети дослідження, аналіз отриманих результатів.

Гладких Федір Володимирович – кандидат медичних наук (доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина»), молодший науковий співробітник групи променевої патології і паліативної медицини Відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;

e-mail: fedir.hladykh@gmail.com

моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: підбір літературних джерел, узагальнення та написання тексту статті.

Кулініч Галина Василівна – кандидат медичних наук, завідувачка відділення променевої патології та паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; доцент кафедри радіології та радіаційної медицини Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;

e-mail: imr_omo@ukr.net

моб.: +38 (067) 799-08-36

Внесок автора: аналіз літературних джерел, написання тексту статті.

Krasnoselskyi Mykola Villenovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Director, State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Head of the Department of Oncology, Radiology and Radiation Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of Ministry of Education and Science of Ukraine; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: medrad20@ukr.net

tel.: +38 (050) 300-56-97

Author's contribution: the idea of the review, justification of the purpose of the research, analysis of the obtained results.

Hladykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine» (Candidate of Medical Sciences), Junior Research fellow of the Group of Radiation pathology and palliative medicine at the Radiology Department of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: fedir.hladykh@gmail.com

tel.: +38 (099) 782-78-72

Author's contribution: selection of literary sources, generalization and writing of the text of the article.

Kulinich Halyna Vasylivna – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Leading Researcher of Radiation Pathology and Palliative Care Group of Radiology Department, Head of Radiation Pathology and Palliative Care; Associate Professor of the Department of Radiology and Radiation Medicine of Kharkiv National Medical University of Ministry of Health of Ukraine; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: kulinich.galina@gmail.com

tel.: +38 (067) 799-83-36

Author's contribution: the analysis of literary sources, writing the text of the article.

Рубльова Тетяна Валеріївна – кандидат біологічних наук, заступник директора з наукової роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;
e-mail: imro_nauka@ukr.net
моб.: +38 (050) 933-16-00

Внесок автора: *аналіз літературних джерел, написання тексту статті.*

Коморовський Роман Ростиславович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; Майдан Волі, буд. 1, Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (093) 844-28-29

Внесок автора: *аналіз літературних джерел, коригування рукопису статті.*

Rubleva Tetiana Valeriivna – Candidate of Biological Science, Deputy director in science, State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: imro_nauka@ukr.net
tel.: +38 (050) 933-16-00

Author's contribution: *the analysis of literary sources, writing the text of the article.*

Komorovsky Roman Rostyslavovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of Internal Medicine Department No 2 of I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 1, Maidan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
tel.: +38 (093) 844-28-29

Author's contribution: *the analysis of literary sources, correction of the manuscript of the article.*

Рукопис надійшов
Manuscript was received
02.02.2023

Отримано після рецензування
Received after review
16.02.2023

Прийнято до друку
Accepted for printing
23.02.2023

Опубліковано
Published
22.03.2023