

А. А. Захаренко, Д. А. Зайцев, М. А. Беляев, А. А. Трушин, О. А. Тен, А. С. Натха

Возможности жидкостной биопсии при раке желудка

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России

Рак желудка характеризуется низкой пятилетней выживаемостью больных уже на ранних стадиях. Современные инструментальные методики обследования не всегда вовремя могут диагностировать рецидивы и прогрессирование заболевания у больных, прошедших радикальное оперативное лечение. Набирающая популярность в последние годы концепция жидкостной биопсии, которая включает определение циркулирующих опухолевых клеток и циркулирующих нуклеиновых кислот в крови, может значительно улучшить отдаленные результаты лечения благодаря высокой чувствительности методик. Необходимы дальнейшее изучение жидкостной биопсии применительно к раку желудка, поиск более универсальных маркеров и методов.

Ключевые слова: рак желудка, жидкостная биопсия, циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующие ДНК, микро-РНК, рецидив, прогрессирование

Рак желудка стоит на пятом месте в структуре онкологической заболеваемости в мире и является третьим в структуре смертности от онкологических заболеваний. В 2012 году зафиксировано 951000 случаев выявления больных раком желудка и 723000 случаев смерти от рака желудка по всему миру [17]. Постоянное совершенствование методик диагностики, различные скрининговые программы обследования населения способствовали в последние годы выявляемости рака желудка на ранних стадиях, однако смертность от данного заболевания, несмотря на своевременное лечение, остается на высоком уровне. В России в 2014 году зафиксировано 37800 впервые выявленных случаев рака желудка, что ставит его на четвертое место среди всех онкологических заболеваний (6,7%) [1].

Основная роль в борьбе с раком желудка отводится как раннему его выявлению, так и правильно определённой тактике лечения и профилактике рецидивов заболевания. Этому способствуют своевременное выполнение таких исследований, как, в первую очередь, гастроскопия, которая является основой для

скрининга и раннего выявления заболевания, методы ультразвуковой диагностики, включая эндо-УЗИ при гастроскопии, различные рентгенологические методы исследования — компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, рентгеноскопия. Но если гастроскопия позволяет выявить само наличие опухоли, то все остальные исследования определяют распространенность опухолевого процесса, что является необходимым условием для правильного стадирования заболевания и выбора оптимальной тактики, а также динамического наблюдения за пациентом в процессе лечения и после него. Однако не всегда перечисленные методы диагностики позволяют с точностью определить распространенность процесса до начала лечения, как например в случае начального карциноматоза брюшины, который зачастую является интраоперационной находкой, не говоря уже о динамическом наблюдении после проведенного лечения. В дополнение к инструментальным методикам можно отнести определение онкомаркеров в крови — РЭА, СА-19-9, СА-72-4 — которые, однако, не являются специфическими для рака желудка и не обладают высокой чувствительностью. Повышение уровня этих маркеров встречается лишь в 18-19,5% случаев рака желудка и не имеет четкой корреляции со стадией заболевания в момент его диагноза [15].

Одним из новых и перспективных направлений в улучшении качества диагностики опухолей является «жидкостная биопсия» — определение новых маркеров опухоли в крови с использованием различных современных методик лабораторной диагностики. Основной упор в исследовательских работах за последние годы сделан на определении циркулирующих опухолевых клеток крови и циркулирующих опухолевых нуклеиновых кислот [3,40].

Циркулирующие опухолевые клетки крови являются предикторами гематогенного метастазирования и появляются в крови больного уже на этапе интравазации первичной опухоли. Первое наблюдение о нахождении опухолевых клеток в крови больного метастатическим раком датировано 1869 годом — тогда Т. Ashworth

обнаружил в крови пациента клетки, идентичные клеткам первичной опухоли [2]. С тех пор появилось значительное количество работ, подтверждающих наличие подобных клеток в крови, однако лишь в последнее время использование новых высокоточных методов лабораторной диагностики, позволяющих выделить несколько клеток из миллионов элементов крови, позволило изучать их более детально.

Существующие методы обнаружения циркулирующих опухолевых клеток можно разделить на физические и биологические. К физическим методам можно отнести выделение клеток по их размеру, плотности, электрическому заряду — градиентное центрифугирование, диэлектрофорез, различные методики фильтрации, которые разработаны из расчета того, что опухолевые клетки в основном больше по размеру, чем другие клетки крови [44,50]. Одним из таких методов является ISET (Rarecells), в котором 10 мл крови больного после смешивания с гемолитическим буферным раствором фильтруются через мембраны с микропорами диаметром 8 нм. В дальнейшем эти микрофильтры с осевшими на них клетками можно использовать как для рутинного цитологического исследования, так и для иммуноцитохимических исследований и ПЦР [16]. Однако существует ряд работ, в которых говорится о сильной вариабельности размеров циркулирующих опухолевых клеток у различных больных и при различных опухолях [7,21].

Биологические методы используют иммунологическое определение циркулирующих опухолевых клеток по их антигенной структуре. В основном, используется подход к причислению клеток к опухолевым, когда они являются позитивными к антителам против опухоль-ассоциированными антигенами, таких как фактор адгезии эпителиальных клеток (ЕрСАМ) и цитокератины (СК), и негативными к антителам против лейкоцитов CD45. Показано, что ЕрСАМ обладает повышенной экспрессией при эпителиальных раках у человека, включая рак желудка [27,42,47]. Самой распространенной системой для выявления циркулирующих опухолевых клеток является CellSearch system (Veridex, США). Для исследования берется 7,5 мл крови больного, в которой происходит захват клеток на ЕрСАМ иммуномагнитных панелях, к которым в дальнейшем добавляется антитела к СК8/18/19 цитоплазматическим маркерам, DAPI для маркировки ядра, и к CD45 как маркера, специфичного для выявления лейкоцитов. Далее, в полуавтоматическом режиме оценивается наличие опухолевых клеток. CellSearch на данный момент является единственной одобренной FDA (United States Food and Drug Administration) к клиническому

применению системой для определения циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови больных раком предстательной железы, молочной железы и толстой кишки [6,8,9,32]. Так же, на базе Гарвардского медицинского университета в 2009 году была разработана система «СТС-Chip», которая позволяет выделить опухолевые клетки из небольшого объема крови больного, фильтруя ее через «лабиринт», на стенки которого нанесены антитела для фиксации ЕрСАМ. В последствии клетки, оставшиеся на панелях “СТС-Chip”, можно дополнительно пометить антителами к нужным маркерам, либо определить экспрессию их генов методом ПЦР [34].

Стоит отметить, что циркулирующие опухолевые клетки достаточно гетерогенны как в своем фенотипе, так и генотипе, и лишь некоторые из них, наиболее агрессивные, в дальнейшем способны образовывать метастатические очаги. На своём пути к увеличению потенциала злокачественности опухолевые клетки могут совершать эпителиально-мезенхимальный переход, который проявляется в частичной или полной утрате эпителиальных клеточных маркеров и связан с приобретением опухолью большей степени агрессивности, а ее клетками — повышенной способности к миграции и инвазии [38]. Методы, основанные на выделении опухолевых клеток по маркерам эпителиальных клеток, могут упускать эти наиболее агрессивные и значимые для прогрессии опухоли клетки. Использование специфичных для опухолей маркеров, таких как эпидермальный фактор роста (HER2), простатический антиген (PSA), муцин1/2 (MUC1/2), раковый эмбриональный антиген (CEA), позволяет повысить чувствительность и специфичность методов при гетерогенности опухолевых клеток.

Все вышеописанные методики используют образцы крови *in vitro*, тогда как еще одна новая методика CellCollector (GILUPI) создана для определения циркулирующих опухолевых клеток *in vivo*, и представляет из себя катетер, на поверхность которого нанесены антитела к ЕрСАМ. Будучи установленным в периферическую вену, он должен ловить значительное количество опухолевых клеток из приблизительно 1,5 литров циркулирующей крови в течение 30 минут. Однако, работ по применению такого подхода слишком мало, что пока не позволяет говорить о его преимуществах и недостатках в сравнении с методиками *in vitro*.

Другой методикой выявления циркулирующих опухолевых клеток может являться количественная полимеразная реакция в реальном времени (qRT-PCR), позволяющая выявлять определенные ДНК/РНК маркеры опу-

холевых клеток с высокой чувствительностью. Большинство работ использовало в качестве маркеров сигнальную РНК цитокератинов (СК19/20) и СЕА (60-80% частота обнаружения у больных раком). Однако высокая чувствительность метода может приводить к ложноположительным результатам, и некоторые исследователи предлагают использовать одновременно несколько маркеров, что повышает специфичность исследования [41,48,49].

Множество исследований показывает, что определение циркулирующих опухолевых клеток в крови онкологических больных является перспективным и информативным методом мониторинга течения онкологического процесса. Так, например, S.J. Cohen et al. при использовании для анализа крови 430 больных колоректальным раком системы CellSearch выявили, что при обнаружении более 5 опухолевых клеток на 7,5 мл крови достоверно уменьшается продолжительность жизни и безрецидивного течения заболевания этой группы пациентов [6]. Подобные пороги выявлены для рака предстательной и молочной желез [8,9,32]. Исследование K. Hiraiwa et al., проведенное на 44 больных метастатическим раком желудка, показало, что у пациентов, у которых определялось более двух опухолевых клеток в крови, общая выживаемость была значительно ниже группы, у которых опухолевых клеток было меньше двух [13]. S. Matsusaka et al. в своем исследовании опубликованном в 2010 году, оценивают обнаружение опухолевых клеток при проводимом химиотерапевтическом лечении. С использованием системы CellSearch показано, что у больных, у которых определяется четыре и более опухолевых клетки в крови, продолжительность жизни и безрецидивного течения гораздо меньше, нежели у тех, у кого их менее четырех (4 к 11 месяцам и 1,4 к 5 месяцам соответственно), тогда как количество опухолевых клеток до начала химиотерапии статистически не влияло на клинический исход [22].

Значительная часть исследований циркулирующих опухолевых клеток при раке желудка выполнялась методом полимеразной цепной реакции. Все они показали корреляцию между общей выживаемостью и агрессивностью опухоли при увеличении уровня определяемого маркера. В самом масштабном исследовании, проведенном K. Mimori et al. [23] с участием более 800 больных раком желудка, определяли уровень матричной металлопротеиназы типа 1 (MT1-MMP mRNA). Показано, что уровень MT1-MMP mRNA являлся достоверным независимым фактором определения прогрессирования заболевания и наличия отдаленных метастазов.

Множество проведенных исследований дает возможность применения различных методик определения циркулирующих опухолевых клеток для наблюдения за динамикой опухолевого процесса, его агрессивностью, позволяет более эффективно контролировать эффективность проводимого химиотерапевтического лечения. Однако, существуют и противоречивые данные, которые утверждают, что после хирургического лечения уровень циркулирующих клеток в крови больных может как снижаться, так и повышаться [14,26,28,31]. Вероятнее всего, объяснить такие колебания уровня опухолевых клеток можно широким спектром искомых параметров, различной методологией определяемых маркеров, индивидуальностью каждого больного и состояния исследуемых образцов.

Еще одним перспективным направлением жидкостной биопсии является определение свободно циркулирующих нуклеиновых кислот в плазме крови. Они были впервые выявлены P. Mandel и P. Metais еще в 1948 году, однако большого интереса к этой находке тогда проявлено не было. В 1977 г. появилось первое сообщение SA. Leon et al. [20] об обнаружении свободно циркулирующей ДНК в крови больных онкологическими заболеваниями. Так же в этой работе была высказана возможность использования находки в качестве индикатора течения заболевания и показано снижение уровня циркулирующей ДНК в ответ на проводимую радиотерапию. В 1989 г. группа ученых обнаружила циркулирующие ДНК с неопластическими свойствами, а в 1994 г. V. Vasioukhin et al. после обнаружения NRAS и KRAS мутации в крови больных миелодиспластическим синдромом и раком поджелудочной железы подтвердили гипотезу, что опухоли могут выбрасывать в кровяное русло ДНК [36,43]. Эти исследования открыли новые возможности для поиска и определения биологической значимости циркулирующих нуклеиновых кислот, таких как ДНК, матричная РНК и микро-РНК.

На сегодняшний день выдвинуто два механизма появления нуклеиновых кислот в крови — активный и пассивный. Пассивный представляет собой выход генетического материала опухолевых клеток при их разрушении вследствие апоптоза. Важную роль в нем играют макрофаги и фагоциты, которые могут выбрасывать захваченные ранее нуклеиновые кислоты умерших клеток в свое микроокружение. Активный механизм мало изучен и подразумевает выделение нуклеиновых кислот опухолевыми клетками, вероятнее всего для запуска каких-либо сигнальных каскадов в отдаленно расположенных клетках. Оба эти механизма неразрывно

связаны с наличием циркулирующих опухолевых клеток. В то же время циркулирующие ДНК определяются и в крови здоровых людей, что связано с естественным разрушением клеток крови. Однако, количество циркулирующей ДНК значительно увеличивается у онкологических больных [33,37].

Для поиска свободно циркулирующих опухолевых ДНК необходимо определение общего количества ДНК крови и выделение определенных онкоассоциированных генетических аббераций, которые могут включать в себя микросателлитную нестабильность, потерю гетерозиготности, генетический полиморфизм, точечные мутации, метилирование генов, делеции, амплификации, трансляции и др. Недавние проведенные исследования выявили появление в крови KRAS мутаций в процессе приобретения резистентности к таргетной анти-EGFR терапии больных колоректальным раком [11,24].

Циркулирующие крупные молекулы РНК, по большей своей мере, уничтожаются РНКазами крови, что значительно затрудняет их поиск. Однако, существуют работы, в которых сообщается об обнаружении циркулирующих РНК в крови больных меланомой, раком предстательной и молочной желез и раком толстой кишки [5,10,19,35], что также может подтверждать сохранение этих молекул РНК в различных секреторных везикулах, которые отщепляются от мембран клеток и находятся в кровеносном русле.

Наибольший интерес в современных работах представляет обнаружение микро-РНК в крови. Микро-РНК представляет собой группу коротких (примерно 19-25 нуклеотидных оснований), некодирующих РНК, которые вовлечены в посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов, ингибируя трансляцию и нарушая стабильность РНК. На сегодняшний день, согласно международной базе микро-РНК (miR-Base), найдено более 1800 микро-РНК, и их количество постоянно пополняется.

В контексте онкологических заболеваний, микро-РНК отводится одна из ведущих ролей в пролиферации и дифференцировке клеток, апоптозе, эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании. Множество исследований доказало экспрессию микро-РНК и их значительное участие как в онкогенезе, так и в онкосупрессии при различных онкологических заболеваниях, что может служить в разработке новых опухолевых биомаркеров и терапии, основанной на микро-РНК. Микро-РНК являются значительно более стабильными, чем циркулирующие РНК, к воздействиям РНКаз и различных физических факторов,

их транспортировка в секреторных везикулах может участвовать во внутриклеточной передаче информации, что позволяет предположить их роль в развитии опухолевого процесса и метастазирования [4,25]¹.

Существует значительное количество исследований, в которых микро-РНК использовалась как маркер при раке желудка [12,29,30,39,45,46]. Во всех этих исследованиях, несмотря на различие в выборе маркера и в среде поиска (сыворотка или плазма), показана возможность использования микро-РНК как достаточно чувствительного и специфичного маркера развития опухолевого процесса. В одной из работ, опубликованной в 2012 году, Н. Konishi et al. изучали профиль микро-РНК в плазме крови у всех пациентов до и после оперативного вмешательства, и, по их мнению, наиболее достоверными и точными маркерами могут служить микро-РНК-451 и микро-РНК-486 [18]. Показаны заметные колебания значений у групп здоровых и больных людей, а так же изменение их уровня после удаления опухолевой ткани и при возникновении рецидивов.

Как можно видеть из обзора имеющейся на данный момент литературы, жидкостная биопсия является перспективным направлением диагностики и динамического наблюдения за онкологическими больными. Она может служить дополнительным подтверждением наличия онкологического заболевания, как, например, в случае рака предстательной железы, печени или поджелудочной железы, когда для подтверждения диагноза требуются инвазивные пункционные методики забора материала, что не всегда возможно, или же может вызвать осложнения самих процедур. В случае раков других локализаций, когда выполнение забора гистологического материала может выполняться при рутинных исследованиях (ФКС, ФГДС), вероятнее всего жидкостная биопсия для первичной диагностики вряд ли найдет свое распространение. Хотя при обнаружении общего для конкретной нозологии высокочувствительного и специфичного маркера он может быть использован для скрининга этих заболеваний на ранних стадиях, что, возможно, будет более удобно для пациента, нежели другие инвазивные методики.

Однако основное применения жидкостной биопсии видится в прогнозировании агрессивности опухолевого процесса. Например, при обнаружении повышенного значения какого-либо маркера, который может говорить о высокой агрессии опухоли, даже при

¹ См. также работу А. В. Малек и соавт. (Вопр. онкол. – 2014. – Т. 60 (4). – С. 429-436), прим. ред.

отсутствии отдаленных метастазов и пораженных лимфоузлов возможно назначение адьювантной химиотерапии после выполнения радикальных оперативных вмешательств. Так, и динамическое наблюдение за этими больными становится эффективнее, если заподозрить рецидив заболевания значительно раньше, чем это можно выявить современными инструментальными методами исследований, что позволит вовремя назначить или изменить необходимую терапию. Возможен контроль эффективности проведения химиотерапевтического лечения, причем, как обычных схем, так и таргетной терапии, что позволило бы в нужный момент поменять препарат или схему лечения.

Применимо к раку желудка жидкостная биопсия могла бы сыграть важную роль в динамическом наблюдении за больными, перенесшими радикальную операцию, ввиду достаточно агрессивного течения этого заболевания даже на его ранних стадиях, высокой частоты рецидивов и прогрессирования, низкой выживаемости этих больных.

Все же, несмотря на наличие различных современных и достаточно точных методов жидкостной биопсии, лишь единицы применяются в клинической практике и для ограниченного количества патологий. Возможно, это связано с большим количеством методик, отсутствием единых маркеров для конкретной патологии, сложности выполнения исследований и экономической составляющей вопроса. Поэтому должна проводиться разработка новых методик определения циркулирующих опухолевых клеток и нуклеиновых кислот, стандартизация мишеней их поиска для более чувствительной и специфичной диагностики, что, несомненно, будет выполняться в ближайшее время ввиду большой перспективности жидкостной биопсии.

ЛИТЕРАТУРА

- Карпин А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году. — Москва: Коллектив авторов МНИОИ им. П. А. Герцена. — 2016. — 250 с.
- Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death // *Aust Med J.* -1 869. — Vol. 14. — P. 146-149.
- Beeharry M. K., Liu WT., Yan M., Zhu ZG. New blood markers detection technology: A leap in the diagnosis of gastric cancer // *World J Gastroenterol.* — 2016. — Vol. 22, № 3. — P. 1202-1212.
- Chen X., Ba Y, Ma L. et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases // *Cell Res.* -2008. — Vol. 18, № 10. — P. 997-1006.
- Chen XQ., Bonnefoi H., Pelte MF. et al. Telomerase RNA as a detection marker in the serum of breast cancer patients // *Clin Cancer Res.* — 2000. — Vol. 6, № 10. — P. 3823-3826.
- Cohen SJ., Punt CJ., Iannotti N. et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer // *J Clin Oncol.* — 2008. — Vol. 26, № 19. — P. 3213-3221.
- Coumans FA., van Dalum G., Beck M., Terstappen LW. Filtration parameters influencing circulating tumor cell enrichment from whole blood // *PLoS One.* — 2013. — Vol. 8, №4.
- Cristofanilli M., Budd GT., Ellis MJ. et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer // *N Engl J Med.* — 2004. — Vol. 351, № 8. — P. 781-791.
- Danila DC., Heller G., Gignac GA. et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer // *Clin Cancer Res.* — 2007. — Vol. 13, № 23. — P. 7053-7058.
- Dasí F., Martínez-Rodes P., March JA. et al. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in the plasma of patients with prostate cancer // *Ann N Y Acad Sci.* — 2006. — Vol. 1075. — P. 204-210.
- Diaz LA., Williams RT., Wu J. et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers // *Nature.* — 2012. — Vol. 486, № 7404. — P. 537-540.
- Gorur A., Balci Fidanci S., Dogruer Unal N. et al. Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer // *Mol Biol Rep.* — 2013. — Vol. 40, № 3. — P. 2091-2096.
- Hiraiwa K., Takeuchi H., Hasegawa H. et al. Clinical significance of circulating tumor cells in blood from patients with gastrointestinal cancers // *Ann Surg Oncol.* — 2008. — Vol. 15, № 11. — P. 3092-3100.
- Ikeguchi M., Kaibara N. Detection of circulating cancer cells after a gastrectomy for gastric cancer // *Surg Today.* — 2005. — Vol. 35, № 6. — P. 436-441.
- Ishigami S., Natsugoe S., Hokita S. et al. Clinical importance of preoperative carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels in gastric cancer // *J Clin Gastroenterol.* — 2001. — Vol. 32, № 1. — P. 41-44.
- Ismailova G., Laget S., Paterlini-Br chot P. Detection of Circulating Tumor cells by ISET and their molecular characterization for use as liquid biopsy // *J Clin Med Kaz.* — 2015. — Vol. 1, № 35. — P. 15-20.
- Jacques F., Soerjomataram I., Dikshit R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int. J. Cancer.* — 2015. — Vol. 136, № 5. — P. 359-386.
- Konishi H., Ichikawa D., Komatsu S. et al. Detection of gastric cancer-associated microRNAs on microRNA microarray comparing pre- and post-operative plasma // *Br J Cancer.* — 2012. — Vol. 106, № 4. — P. 740-747.
- Kopreski MS., Benko FA., Kwak LW., Gocke CD. Detection of tumor messenger RNA in the serum of patients with malignant melanoma // *Clin Cancer Res.* — 1999. — Vol. 5, № 5. — P. 1961-1965.
- Leon SA., Shapiro B., Sklaroff D. M., Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy // *Cancer Res.* — 1977. — Vol. 37, № 3 — P. 646-650.

21. Marrinucci D., Bethel K., Bruce RH. et al. Case study of the morphologic variation of circulating tumor cells // *Hum Pathol.* — 2007. — Vol. 38, № 3. — P. 514-519.
22. Matsusaka S., Chìn K., Ogura M. et al. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in patients with advanced gastric cancer // *Cancer Sci.* — 2010. — Vol. 101, № 4. — P. 1067-1071.
23. Mimori K., Fukagawa T., Kosaka Y. et al. A large-scale study of MT1-MMP as a marker for isolated tumor cells in peripheral blood and bone marrow in gastric cancer cases // *Ann Surg Oncol.* — 2008. — Vol. 15, № 10. — P. 2934-2942.
24. Misale S., Yaeger R., Hobor S. et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer // *Nature.* — 2012. — Vol. 486, № 7404. — P. 532-536.
25. Mitchell PS., Parkin RK., Kroh EM. et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection // *Proc Natl Acad Sci USA.* — 2008. — Vol. 105, № 30. — P. 10513-10518.
26. Miyazono F., Natsugoe S., Takao S. et al. Surgical maneuvers enhance molecular detection of circulating tumor cells during gastric cancer surgery // *Ann Surg.* — 2001. — Vol. 233, № 2. — P. 189-194.
27. Munz M., Baeuerle PA., Gires O. The emerging role of EpCAM in cancer and stem cell signaling // *Cancer Res.* — 2009. — Vol. 69, № 14. — P. 5627-5629.
28. Nishida S., Kitamura K., Ichikawa D. et al. Molecular detection of disseminated cancer cells in the peripheral blood of patients with gastric cancer // *Anticancer Res.* — 2000. — Vol. 20, № 3B. — P. 2155-2159.
29. Liu H., Zhu L., Liu B. et al. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer // *Cancer Lett.* — 2012. — Vol. 316, № 2. — P. 196-203.
30. Liu R., Zhang C., Hu Z. et al. A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis // *Eur J Cancer.* — 2011. — Vol. 47, № 5. — P. 784-791.
31. Pituch-Noworolska A., Kolodziejczyk P., Kulig J. et al. Circulating tumour cells and survival of patients with gastric cancer // *Anticancer Res.* — 2007. — Vol. 27, № 1B. — P. 635-640.
32. Riethdorf S., Fritsche H., Müller V. et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with metastatic breast cancer: a validation study of the Cell-Search system // *Clin Cancer Res.* — 2007. — Vol. 13, № 3. — P. 920-928.
33. Schwarzenbach H., Alix-Panabières C., Müller I. et al. Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer // *Clin Cancer Res.* — 2009. — Vol. 15, № 3. — P. 1032-1038.
34. Sequist LV., Nagrath S., Toner M. et al. The CTC-Chip: An exciting new tool to detect circulating tumor cells in lung cancer patients // *J Thorac Oncol.* — 2009. — Vol. 4, № 3. — P. 281-283.
35. Silva JM., Rodriguez R., Garcia JM. et al. Detection of epithelial tumour RNA in the plasma of colon cancer patients is associated with advanced stages and circulating tumour cells // *Gut.* — 2002. — Vol. 50, № 4. — P. 530-534.
36. Sorenson GD., Pribish DM., Valone FH. et al. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* — 1994. — Vol. 3, № 1. — P. 67-71.
37. Stroun M., Maurice P., Vasioukhin V. et al. The origin and mechanism of circulating DNA // *Ann N Y Acad Sci.* — 2000. — Vol. 906. — P. 161-168
38. Thompson EW., Haviv I. The social aspects of EMT-MET plasticity // *Nat Med.* — 2011. — Vol. 17, № 9. — P. 1048-1049.
39. Tsai KW., Liao YL., Wu CW. et al. Aberrant expression of miR-196a in gastric cancers and correlation with recurrence // *Genes Chromosomes Cancer.* — 2012. — Vol. 51, № 4. — P. 394-401.
40. Tsujiura M., Ichikawa D., Konishi H. et al. Liquid biopsy of gastric cancer patients: Circulating tumor cells and cell-free nucleic acids // *World J Gastroenterol.* — 2014. — Vol. 20, № 12. — P. 3265-3286.
41. Uen YH., Lin SR., Wu CH. et al. Clinical significance of MUC1 and c-Met RT-PCR detection of circulating tumor cells in patients with gastric carcinoma // *Clin Chim Acta.* — 2006. — Vol. 367, № 1-2. — P. 55-61.
42. van der Gun BT., Melchers LJ., Ruiters MH. et al. EpCAM in carcinogenesis: the good, the bad or the ugly // *Carcinogenesis.* — 2010. — Vol. 31, № 11. — P. 1913-1921.
43. Vasioukhin V., Anker P., Maurice P. et al. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia // *Br J Haematol.* — 1994. — Vol. 86, № 4. — P. 774-779.
44. Vona G., Sabile A., Louha M. et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells // *Am J Pathol.* — 2000. — Vol. 156, № 1. — P. 57-63.
45. Wang B., Zhang Q. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors // *J Cancer Res Clin Oncol.* — 2012. — Vol. 138, № 10. — P. 1659-1666.
46. Wang M., Gu H., Wang S. et al. Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer // *Mol Med Rep.* — 2012. — Vol. 5, № 6. — P. 1514-1520.
47. Wenqi D., Li W., Shanshan C. et al. EpCAM is overexpressed in gastric cancer and its downregulation suppresses proliferation of gastric cancer // *J Cancer Res Clin Oncol.* — 2009. — Vol. 135, № 9. — P. 1277-1285.
48. Wu CH., Lin SR., Hsieh JS. et al. Molecular detection of disseminated tumor cells in the peripheral blood of patients with gastric cancer: evaluation of their prognostic significance // *Dis Markers.* — 2006. — Vol. 22, № 3. — P. 103-109.
49. Wu CH., Lin SR., Yu FJ. et al. Development of a high-throughput membranearray method for molecular diagnosis of circulating tumor cells in patients with gastric cancers // *Int J Cancer.* — 2006. — Vol. 119, № 2. — P. 373-379.
50. Zheng S., Lin H., Liu JQ. et al. Membrane microfilter device for selective capture, electrolysis and genomic analysis of human circulating tumor cells // *J Chromatogr A.* — 2007. — Vol. 1162, № 2. — P. 154-161.

Поступила в редакцию 30. 03. 2016 г.

A. A. Zakharenko, D. A. Zaitsev, M. A. Belyaev, A. A. Trushin, O. A. Ten, A. S. Natkha

Possibilities of liquid biopsy in gastric cancer

I. P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University
St. Petersburg

The increasing popularity of the concept of liquid biopsy, which involves the definition of circulating tumor cells and circulating nucleic acids in the blood can significantly improve long-term results of treatment for gastric cancer due to the high sensitivity of techniques. It needs further study in relation to gastric cancer, the search for universal markers and methods.

Key words: gastric cancer, liquid biopsy, circulating tumor cells, circulating DNA, microRNA, recurrence, progression