

ABSTRAKT

Úvod: Přítomnost cirkulujících nádorových buněk (CTC) v periferní krvi je asociována s horší prognózou a časným relapsem u pacientek s karcinomem prsu. Stanovení přítomnosti CTC v periferní krvi je nyní považováno za tzv. tekutou biopsii. Cílem této práce bylo stanovení přítomnosti CTC a jejich molekulární charakterizace s potenciálním využitím nejen jako nový biomarker pro sledování účinnosti systémové terapie ale také jako vhodný nástroj pro stratifikaci pacientek a následnou individualizaci léčby karcinomu prsu.

Metody: Do prospektivní studie bylo zařazeno 54 pacientek s časným karcinomem prsu. Opakovaně jsme odebírali 10ml periferní krve pro stanovení přítomnosti a charakterizaci CTC v průběhu léčby. Izolace a detekce CTC byla provedena za použití AdnaTest BreastCancer™ kitu (AdnaGen AG, Německo) využívající kombinaci imunomagnetické separace s multiplex PCR pro stanovení transkriptů epiteliálních a tumor-asociovaných genů (EpCAM, MUC1 a HER2) v lyzátu CTC. Následně byla cDNA z izolovaných CTC použita pro analýzu genových expresí TOP1, TOP2A, CSTD, ST6GAL, KRT19 a aktin pomocí nově navržených a optimalizovaných esejí pomocí kvantitativní PCR (qPCR). Výsledky qPCR byly analyzovány pomocí softwaru Genex (MultiD Analysis).

Výsledky: Celkem jsme vyšetřily 195 vzorků periferní krve. Přítomnost CTC byla prokázána u 31 % pacientek před zahájením léčby. Pouze u 10% pacientek jsme zjistili CTC pozitivitu po ukončení léčby. Úspěšně jsme navrhli a optimalizovali qPCR eseje pro TOP1, TOP2A, CSTD, ST6GAL, KRT19 a aktin. Získaná data poukázala na značnou rozdílnost v expresních profilech CTC pro všechny sledované geny. Nejvíce exprimovaným genem v CTC byl MUC1 (70%), HER2 (52%) a EpCAM (35%). Ostatní geny byly detekovány v méně jak 20%. Porovnáním HER2 stavu mezi primárním nádorem a CTC jsme zjistili diskrepanci u 20% pacientek. Na základě statistického vyhodnocení jsme nezjistili významnou korelaci mezi CTC a klinicko-patologickými charakteristikami primárního nádoru u jednotlivých pacientek.

Závěr: Pomocí našeho metodického přístupu je možné detekovat a charakterizovat CTC v periferní krvi pacientek s karcinomem prsu. Informace získané na základě průkazu CTC a jejich expresních profilů mohou napomoci v klinické praxi jako podpora pro individualizaci léčby.

Klíčová slova: cirkulující nádorové buňky; karcinom prsu; kvantitativní polymerázová řetězová reakce; imunomagnetická separace; genová exprese; charakterizace.