

ÚVOD

Cirkulující nádorové buňky (CTC) jsou popisovány jako maligní buňky nacházející se v periferní krvi, pocházejí z primárního či sekundárního ložiska tumoru, které popsal již v roce 1869 Ashford (1). Zdá se, že kterýkoli aspekt diagnostiky, léčby a farmakokinetiky onkologického onemocnění může být zásadním způsobem ovlivněn identifikací cirkulujících či diseminovaných nádorových buněk (2).

V současné době mohou být CTC izolovány prakticky u všech druhů urologických malignit, ale ne ve všech stádiích. S postupně se zdokonalující technikou se zlepšuje i jejich záchyt a charakterizace. Počet a charakterizace CTC má potenciál zlepšit monitoraci onemocnění, ale také vést terapii a predikovat průběh. V současné době je značným nedostatkem CTC vyšetřování nedostatek standardizovaných postupů. Jedinou doposud schválenou metodou je systém Cellsearch® (schválen FDA v USA r. 2005), jako pomocný marker k určení prognózy u metastatického karcinomu prostaty, karcinomu prsu a karcinomu kolorekta.

Na rozdíl od karcinomu prostaty, nemáme u karcinomu ledviny doposud využitelný onkomarker. Co se týče incidence nádoru ledviny dosahujeme v ČR celosvětového prvenství. CTC by mohly být vhodným kandidátem na pozici biomarkeru u nádoru ledviny. V posledních letech přišli s rozvojem imunocytochemie a dalších metod zajímavé výsledky několika studií s CTC. Doposud se však nepodařilo zařadit vyšetření CTC do vyšetřovacího algoritmu renálního karcinomu, a to jak lokalizovaného, tak metastatického.

METODY DETEKCE CTC

Řídce se vyskytující CTC v periferní krvi (odhadem jedna buňka na miliardu krevních buněk) vyžadují využití pokročilých laboratorních a bioinženýrských technologií k jejich separaci

a určení jejich počtu. K detekci CTC u nádorů ledvin se nejčastěji využívá metod založených na:

- 1) izolaci buněk dle epiteliálních či non-epiteliálních markerů (např. EpCAM – Epithelial Cell Adhesion Molecule, CA IX – carboanhydráza 9, CD 147...),
- 2) detekci CTC pomocí RT-PCR (cílem této metody jsou nejčastěji detekce transkriptů CA IX, VHL – gen Von-Hippel-Lindau, CDH 6 – Cadherin (6)),
- 3) izolace na základě velikosti (např. filtrace dle velikosti – aparát Metacell – obr. č. 1) v kombinaci s cytomorfoloogickou a genovou analýzou (3).

VÝSLEDKY STUDIÍ

V studii Zhu et al. (2014), testovali filtrační systém CellSieve™ v kombinaci s imunofluorescenčními metodami (Obr. č. 2), kdy na nádorových buňkách detekovali přítomnost CD45, CD10 a vimentinu. Kombinací těchto tří markerů (CD45-, CD10+, VIM+) bylo dosaženo na třech typech buněčných linií světlobuněčného renálního karcinomu (ccRCC) detekce nádorových buněk u 98, 98 a 97 % (4).

■ V roce 2017 byly prezentovány výsledky studie srovnávající účinnost různých metod separace CTC u ccRCC. Studie srovnávala imunohistochemickou metodu založenou na přítomnosti EpCAM metodou CellSearch® – dosahující slabších výsledků (29 %), dále metodu leukocytární deplece, dosahující o něco lepších výsledků (40 %), a metodu separace na podkladě velikosti (Parsortix systém), dosahující nejlepších výsledků (až 87 %). Separační filtrační metoda Parsortix umožnila testování exprese cytokeratinu 8. Ten se zdá být velmi slibným biomarkerem a také velmi výhodným v kombinaci se systémem Parsortix k monitoraci léčby a průběhu onemocnění (5).

V dalších studiích byly CTC detekovány v periferní krvi u pacientů s karcinomem ledviny pomocí imunocytochemie a PCR. Imunocytochemickými metodami bylo dosaženo detekce CTC u 32–53 % pacientů s metastatickým onemocněním (6, 7, 8). Analýzou PCR bylo dosaženo detekce CTC v rozmezí mezi 37,5 % a 49 % (9, 10). Buchner a kol. navíc studovali 256 vzorků kostní