УДК 618.19 – 006.6 – 033.2 – 085.277.3: 616 – 006 – 018.1 – 07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНО-ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ЭТАПАХ ЛЕЧЕНИЯ

Саманева Н.Ю.[1], Владимирова Л.Ю.[1], Новикова И.А.[1], Миташок И.С.[1], Шатова Ю.С.[1], Снежко Т.А. [1], Ежова М.О.[1], Селютина О.Н.[1]

[1]ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздравсоцразвития России (344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63), e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Определение циркулирующих опухолевых клеток в крови больных злокачественными новообразованиями актуально и может применяться для оценки эффективности проводимого лечения. Авторами разработана методика детекции циркулирующих опухолевых клеток на этапах терапии у больных с первично-генерализованным раком молочной железы. Диагностически значимым считался уровень 5 клеток в 7,5 мл периферической крови. Снижение количества клеток свидетельствовало о хорошем ответе опухоли на проводимое лечение. Напротив, если их число не изменялось или росло, принималось решение о смене режима полихимиотерапии. Отмечена корреляция изменений количества циркулирующих опухолевых клеток с клиническим течением заболевания в зависимости от эффективности химиотерапии. Это позволило сделать вывод о значимости данной методики в качестве критерия эффективности проводимого лекарственного лечения.

Ключевые слова: рак молочной железы, циркулирующие опухолевые клетки, полихимиотерапия

DETERMINATION OF CIRCULATING TUMOR CELL CONTENT IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH PRIMARY GENERALIZED BREAST CANCER DURING THE TREATMENT

Samaneva N.Y.[1], Vladimirova L.Y.[1], Novikova I.A.[1], Mitashok I.S.[1], Shatova Y.S.[1], Snezhko T.A.[1], Ejova M.O.[1], Selyutina O.N.[1]

[1]Rostov Research Institute of Oncology (344037, Rostov-on-Don, 14 Line, 63), e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Detection of circulating tumor cells in the blood of patients with malignant neoplasms is actual and can be used to evaluate the treatment effectiveness. The authors developed a technique for detection of circulating tumor cells during the therapy in patients with primary generalized breast cancer. The level of 5 cells in 7.5 ml of peripheral blood was considered as diagnostically significant. Reducing of the number of cells indicated a good tumor response to treatment. Conversely, if their number was not changing or was growing, there was making a decision about changing of the regime of chemotherapy.Correlation between changes in circulating tumor cell content and the disease course in dependence on effectiveness of the chemotherapy was found. It led to the conclusion on the importance of this technique as a criterion for the treatment effectiveness.

Keywords: breast cancer, circulating tumor cells, polychemotherapy

Выявление циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) при различных локализациях злокачественных новообразований в настоящее время является одним из актуальных вопросов в онкологии. Отличительной особенностью ЦОК является агрессивный метастатический потенциал, приобретенный в результате эволюции клона, что позволяет рассматривать их как основной механизм опухолевой прогрессии [4]. Изучение биологических характеристик ЦОК, в отличие от множества других злокачественных клеток, представленных в первичной опухоли, позволило говорить о принципиально новых онкомаркерах, обладающих высоким прогностическим значением.

В настоящее время известно, что ЦОК в крови у больных ранним (N0) раком молочной железы обнаруживаются в 30% случаев, у больных местнораспространенным (N+) раком – в 36%, у больных метастатическим раком – в 70% случаев [2].

По данным некоторых исследований содержание ЦОК в крови изменяется в зависимости от эффективности проводимой терапии. Оценка наличия/отсутствия их содержания в периферической крови может быть использована в качестве метода мониторинга у больных, получающих системную химиотерапию [1].

Цель исследования

Изучить возможность использования определения циркулирующих опухолевых клеток в крови больных с первично-генерализованным раком молочной железы в качестве диагностического критерия оценки эффективности лечения.

Материал и методы

В клинике РНИОИ для детекции ЦОК в периферической крови у больных с первично-генерализованным раком молочной железы был использован аппарат CellSearch™ Veridex, Johnson&Johnson, США. Кровь в объеме 8–10 мл забиралась в пробирки CellSavePreservativeTube, содержащие антикоагулянт ЭДТА, а также реагент для сохранения жизнеспособности опухолевых клеток. Для отделения клеток крови и опухолевых клеток от плазмы кровь смешивалась с рабочим буфером из набора реагентов CellSearch® CTC kit и центрифугировалась при ускорении 800g в течение 10 мин. После этого образцы переносились в аппарат CellTracks® AutoPrep® System, который в автоматическом режиме, удаляя плазму крови и форменные элементы, иммуномагнитно обогащал образец микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитокератинам 8,18,19. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля CTC controlkit. Материал сканировался в анализаторе CellTracks® Analyzer II®. Диагностически значимым уровнем считали 5 клеток на 7,5 мл. С учетом морфологических характеристик и экспрессии маркеров регистрировались ЦОК. Общее число выявленных опухолевых клеток являлось конечным результатом [3, 5, 6].

Клинический пример 1

Пациентка А., 63 года. Диагноз: рак правой молочной железы T4N2M1, ст. IV, мтс в легкие, внутригрудные лимфатические узлы, клиническая группа 2. Процесс верифицирован, патолого-гистологическое заключение: № 148521/3 инфильтрирующий протоковый рак. Иммуногистохимическое исследование № 350/2015 – экспрессия рецепторов эстрогена и прогестерона отсутствует, высокая пролиферативная активность (Ki-67)-30%, экспрессия Her2/neu-0.

Анамнез жизни: Беременностей 4, родов 2, абортов 2, менструации регулярные, с 12 лет. Кормила обоих детей грудью до 7 месяцев. Наследственный анамнез не отягощен. Менопауза с 49 лет. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II ст. 2 ст., риск умеренный, сахарный диабет II типа, субкомпенсация.

Из анамнеза заболевания: самостоятельно обнаружила образование в правой молочной железе месяц назад. Обратилась к маммологу по месту жительства, выполнено ультразвуковое исследование, заключение: визуализируется инфильтрация мягких тканей правой молочной железы, поверхностно в верхнелатеральном квадранте определяется анэхогенная зона объемом до 18 мм^3. Состояние расценено как абсцесс правой молочной железы, хирургом по месту жительства выполнено дренирование абсцесса. После получения данных гистологического анализа самостоятельно обратилась в ФГБУ РНИОИ.

Больная дообследована в клинико-диагностическом отделении, по данным спиральной компьютерной томографии (СРКТ) органов грудной клетки и брюшной полости выявлено: аксиллярные лимфатические узлы справа в конгломерате до 10,2 см, увеличение надключичных лимфатических узлов до 1,3 см с двух сторон, в легких с обеих сторон (больше справа) множественные очаги метастатического характера до 1 см, увеличение внутригрудных лимфатических узлов: ретрокавальных до 2,5 см, бифуркационных до 1,5 см, кпереди от дуги аорты до 1,5 см. Больной рекомендовано проведение курсов паллиативной полихимиотерапии.

При поступлении в отделение предъявляла жалобы на слабость, отечность правой руки, боли в области правой молочной железы. Соматический статус по шкале Карновского 80%, ECOG-2. При осмотре: правая молочная железа отечна, гиперемирована. В верхнем наружном квадранте отверстие после дренирования со скудным сукровично-гнойным отделяемым. В правой подкрыльцовой области конгломерат л/у до 10 см, плотной консистенции, неподвижный, при пальпации умеренно болезненный.

До начала проведения курса полихимиотерапии определено количество ЦОК в периферической крови, выявлены 7 клеток в 7,5 мл, что признано диагностически значимым. Пациентке проведено 2 курса паллиативной полихимиотерапии по схеме АС (доксорубицин, эндоксан), на фоне чего отмечалось нарастание процесса в виде увеличения размеров первичной опухоли в пораженной железе и регионарных подкрыльцовых лимфатических узлов. По данным контрольной СРКТ органов грудной клетки и брюшной полости также отмечено прогрессирование, выявлен рост метастатических очагов в легких до 2,5 см. Выполнено повторное определение содержания ЦОК в периферической крови, выявившее значительное увеличение их содержания (до 30 клеток на 7,5 мл). Ситуация расценена как прогрессирование заболевания на фоне проводимого лечения, рекомендована смена режима

полихимиотерапии. Проведены 2 курса полихимиотерапии II линии препаратами карбоплатин, паклитаксел. На фоне проводимой терапии больная отметила улучшение самочувствия на фоне местного ответа в виде уменьшения отека железы, сокращения в размерах первичной опухоли и регионарных лимфоузлов. Контроль содержания ЦОК в периферической крови выявил уменьшение их количества до 4 клеток на 7,5 мл. По данным спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости в динамике выявлено: аксиллярные лимфатические узлы справа в конгломерате до 5 см, в легких с обеих сторон (больше справа) множественные очаги метастатического характера до 1 см, увеличение внутригрудных лимфатических узлов: ретрокавальных до 1,5 см. В дальнейшем больная продолжила лечение по данной схеме терапии, после 8 курсов достигнута частичная ремиссия заболевания (сохраняются единичные очаги в легких справа до 1 см). В течение 6 месяцев находится под наблюдением.

Клинический пример 2

Пациентка А., 54 года. Диагноз: рак левой молочной железы T4N2M1, ст. IV, метастатическое поражение внутригрудных лимфатических узлов. Клиническая группа 2. Процесс верифицирован, патолого-гистологическое заключение: № 43442-43/15 инфильтрирующий дольковый рак с воспалением стромы опухоли. Иммуногистохимическое исследование: экспрессия рецепторов эстрогена — 100% ядер, прогестерона – 10% ядер, высокая пролиферативная активность (Ki-67) — 60%, экспрессия Her2/neu — 0.

Анамнез жизни: Беременностей 3, родов 2, абортов 1, менструации регулярные, с 11 лет. Кормила обоих детей грудью до 1 года. Наследственный анамнез не отягощен. Менопауза с 53 лет. Страдает гипертонической болезнью II ст., 3 ст., риск высокий.

Из анамнеза заболевания: в мае 2015 г. самостоятельно обнаружила образование в левой молочной железе. Обратилась к маммологу по месту жительства, выполнено ультразвуковое исследование, заключение: визуализируется образование в левой молочной железе, в верхнем наружном квадранте.Самостоятельно обратилась в ФГБУ РНИОИ.

Больная дообследована в клинико-диагностическом отделении, по данным спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости выявлено метастатическое поражение внутригрудных лимфоузлов: предаортальные до 1,9 см, ретрокавальные до 1,3 см, опухоль левой молочной железы 3,7 х 2,8 см, аксиллярные лимфатические узлы слева до 2,1 см. Больной рекомендовано проведение курсов паллиативной полихимиотерапии.

При поступлении в отделение предъявляла жалобы на боли в левой молочной железе. Соматический статус по шкале Карновского 90%, ECOG-1. При осмотре: в левой молочной железе образование до 5 см с нечеткими контурами, плотной структуры. В левой

подкрыльцовой области лимфатический узел до 2 см, плотный, неподвижный, безболезненный.

До начала проведения курса полихимиотерапии определено количество ЦОК в периферической крови, выявлены 10 клеток в 7,5 мл, что являлось диагностически значимым. Пациентке проведено 2 курса паллиативной полихимиотерапии по схеме FAC (доксорубицин, циклофосфан, фторурацил), на фоне чего у больной отмечалось уменьшение первичного очага и лимфатического узла в подкрыльцовой области. Выполнено повторное определение содержания ЦОК в периферической крови, выявившее значительное уменьшение их содержания (до 4 клеток на 7,5 мл). Ситуация расценена как положительная динамика заболевания на фоне проводимого лечения, рекомендовано продолжить проведение полихимиотерапии по проводимой схеме еще 2 курса. После 4-го курса химиотерапии ЦОК в периферической крови не определялись. По данным контрольной спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости в динамике: сохраняется опухоль левой молочной железы 2,0 х 2,3 см при нормализации размеров аксиллярных и внутригрудных лимфатических узлов. В дальнейшем больная получила комплексное противоопухолевое лечение, в настоящий момент получает гормонотерапию анастрозолом, находится под наблюдением без признаков прогрессирования заболевания в течение 13 месяцев.

Выводы

Таким образом, можно сделать вывод о том, что данная методика определения ЦОК в периферической крови может успешно применяться в клинической практике как надежный маркер оценки эффективности лечения у больных с первично-генерализованным раком молочной железы. Корреляция полученных лабораторных изменений с клиническим течением заболевания говорит о надежности данного способа диагностики.

Список литературы

1 Бжадуг О.Б., Гривцова Л.Ю., Тупицын Н.Н., Тюляндин С.А. Циркулирующие опухолевые клетки в крови больных местно-распространенным и диссеминированным раком молочной железы // Вестник Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина РАМН. — 2007. — № 3. — С. 19–22.

2 Зубцов Д.А., Зубцова Ж.И., Лавров А. В., Легченко Е.В., Аладинский В. А., Потеряхина А. В., Гольдштейн Д. В. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) при раке молочной железы: прогностическая значимость и методы выделения // Труды МФТИ. — 2012. — Т. 4. — № 3. — С. 18–26.

3 Кит О.И., Новикова И.А., Бахтин А.В., Никипелова Е.А., Шатова Ю.С., Габараева В.М., Нистратова О.В. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 11. – С. 37–39.

4 Осинский С. П., Глузман Д. Ф. Диссеминированные опухолевые клетки в крови и костном мозге (Молекулярный прогноз в клинической онкологии) // Онкология. — 2006. — Т. 8 — С. 102–108.

5 BuddG.T, CristofanilliM, EllisMJ, etal. Circulatingtumorcellsversusimaging – predictingoverallsurvivalinmetastaticbreast cancer // Clin Cancer Res. – 2006. — № 12. – P. 6403–6409.

6 Lucci A., Hall C.S., Lodhi A.K., Bhattacharyya A., Anderson A.E., Xiao L., Bedrosian I., Kuerer H.M., Krishnamurthy S. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study// Lancet Oncol. – 2012. — № 13. – P. 688–695.

Рецензенты:

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону;

Голотина Л.Ю., д.м.н., профессор, врач-онколог отделения онкогинекологии, ведущий научный сотрудник отдела опухолей репродуктивной системы ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздравсоцразвития России, ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.