



Prognóza pacientů s kastročně rezistentním karcinomem prostaty - využití detekce cirkulujících nádorových buněk

Čapoun O.¹, Mikulová V.², Jančíková M.², Honová H.³, Kološová K.⁴, Zima T.², Hanuš T.¹, Soukup V.¹

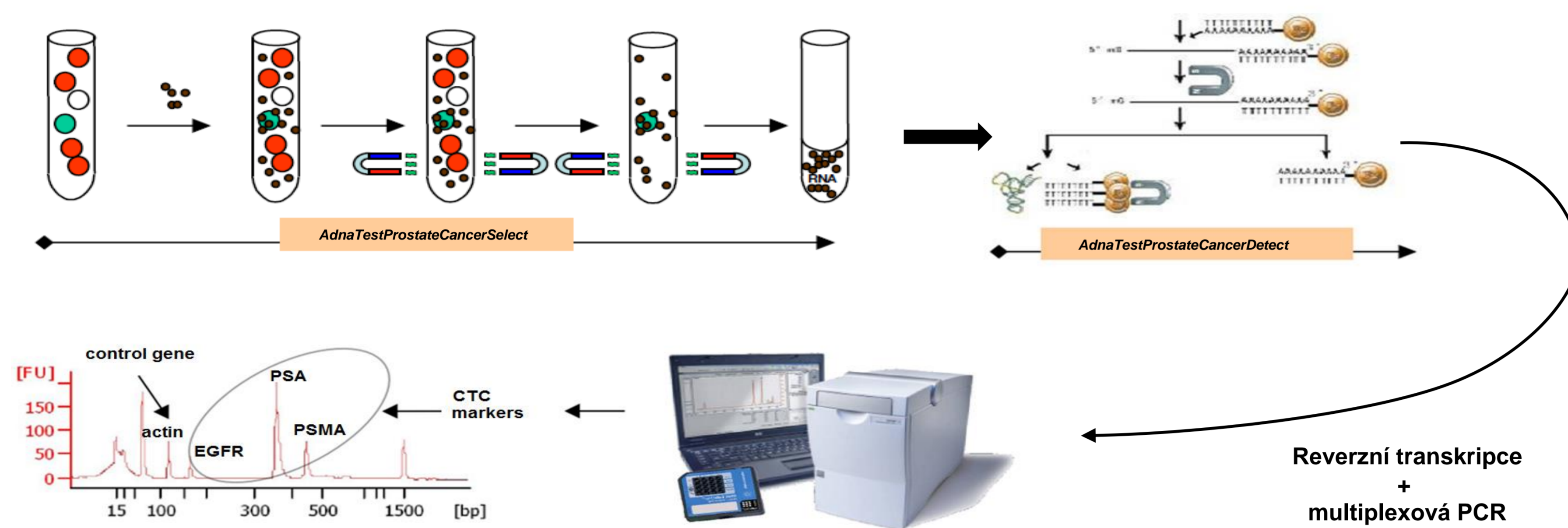


¹ Urologická klinika, Všeobecná fakultní nemocnice, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha
² Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Všeobecná fakultní nemocnice, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha
³ Onkologická klinika, Všeobecná fakultní nemocnice, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha
⁴ Oddělení nádorové biologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Cíl: Zhodnocení prognostického významu vyšetření cirkulujících nádorových buněk (CTC) u pacientů s kastročně rezistentním karcinomem prostaty (KRKP) léčených chemoterapií.

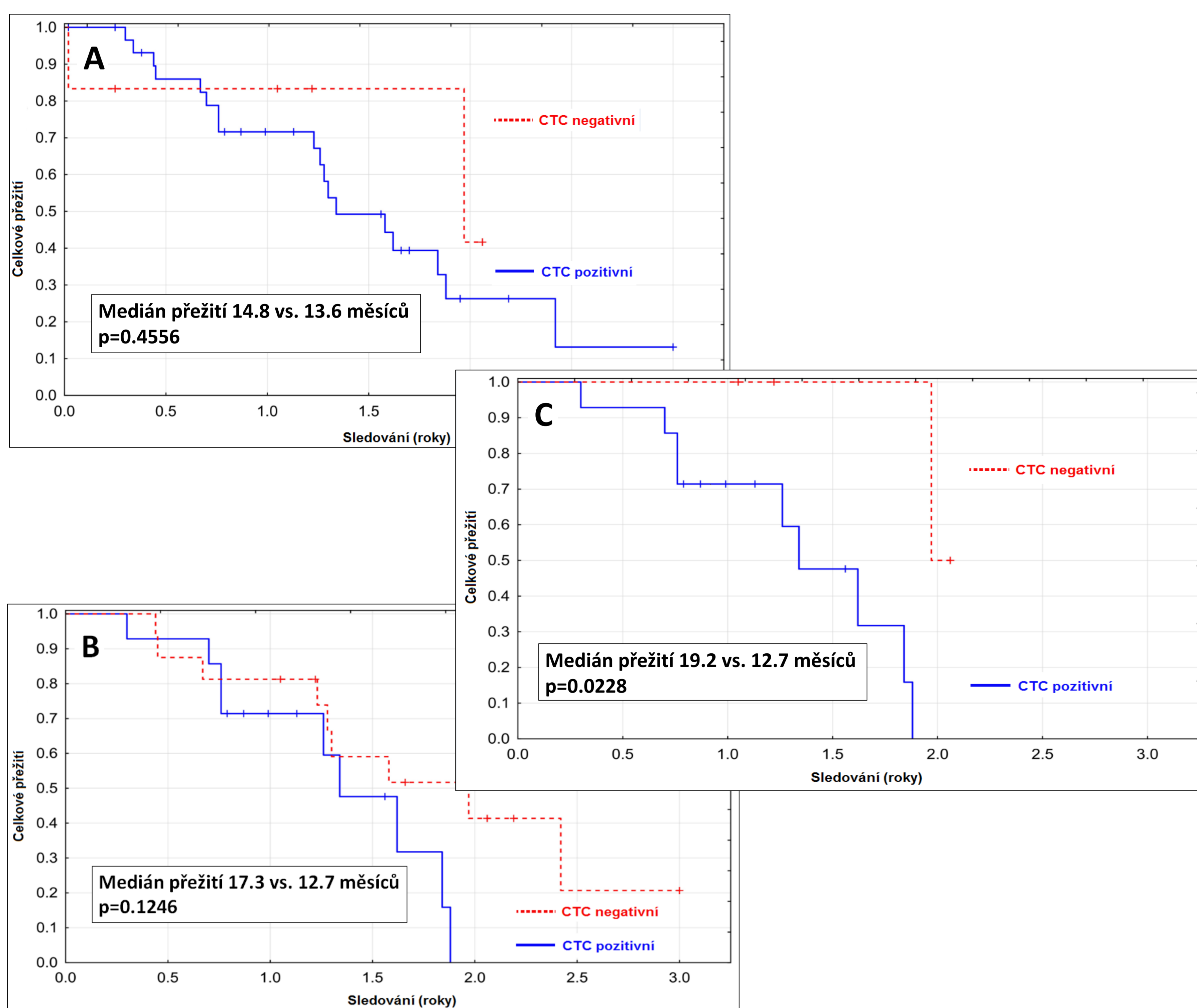
Materiál a metody: Vyšetření CTC jsme provedli v periferní krvi celkem u 37 pacientů s KRKP před zahájením chemoterapie (CHT) docetaxelem a u 30 mužů po třetím cyklu CHT. Použili jsme metodu imunomagnetické separace (Obr. 1) s analýzou nádorově specifických antigenů. Zhodnotili jsme korelaci mezi změnami v hladinách prostatického specifického antigenu (PSA) a pozitivitou CTC (Tab. 2). Byl také hodnocen vliv klinických a laboratorních parametrů včetně positivity CTC ve vztahu k celkovému přežití.

Obr. 1. Imunomagnetická separace cirkulujících nádorových buněk



Pět mililitrů krve (EDTA zkumavky) je použito pro izolaci cirkulujících nádorových buněk (ProstateCancerSelect®, Adnagen). Metoda imunomagnetické separace probíhá ve dvou krocích: nejdříve je využito vazby monoklonálních protilátek proti antigenům EpCAM a HER-2 konjugovaných s magnetickými částicemi Dynabeads™ na povrch nádorových buněk. V magnetickém poli jsou buňky z krve separovány a následně lyzovány. Lyzovaná frakce je použita pro RNA izolaci pomocí magnetických partikulí s oligo-dT nukleotidy (Adnatest ProstateCancerDetect®) a reverzní transkripce je syntetizována cDNA. Část cDNA je použita pro testování metodou multiplex-PCR reakce s primery vybraných epiteliálních tumor-asociovaných genů PSMA, PSA a EGFR a kontrolního aktinu. Analýza PCR-produktů je provedena metodou kapilární elektroforézy na DNA čipu pomocí přístroje Bioanalyzer Agilent 2100 (DNA Labchip 1000).

Obr. 2. Celkové přežití pacientů s kastročně rezistentním karcinomem prostaty podle nálezu CTC
A – před zahájením chemoterapie, B – během chemoterapie, C – s CTC negativním nebo pozitivním nálezem před a zároveň během chemoterapie



Výsledky: Záchyt CTC byl potvrzen u 32 pacientů před CHT, respektive u 16 během CHT. Hladina PSA korelovala s pozitivitou CTC během CHT ($p=0,0031$). Medián přežití pacientů byl 15,3 (0,9-35,2) měsíců. Riziko úmrtí pacientů s mnohočetnými kostními metastázami bylo 2,2krát vyšší ve srovnání s ostatními pacienty (Tab. 3). Delší přežití bylo zaznamenáno u pacientů s hladinou PSA < 100 ng/ml před CHT a < 50 ng/ml během CHT. Nejdelší celkové přežití bylo u pacientů s negativitou CTC před CHT a zároveň i během CHT ($p=0,0228$) (Obr. 2). Změna v hladinách PSA během léčby korelovala s léčebnou odpovědí ($p=0,033$).

Tab 1. Charakteristika souboru (N=37)

Parametr		
Věk; roky, medián (rozmezí)	71 (54-82)	
Gleasonovo skóre	N	%
≤ 6	7	18.9
7	12	32.4
≥ 8	16	43.3
Neznámo	2	5.4
Primární léčba		
Radikální prostatektomie	9	24.3
Radikální radioterapie	5	13.5
Pouze kastroční léčba	23	62.2
Kostní metastázy před chemoterapií		
≤ 3 ložiska	8	21.6
Mnohočetná ložiska	25	67.6
Uzlinové metastázy před chemoterapií	12	32.4
Hladina PSA; ng/ml, průměr (rozmezí)		
V době diagnózy	105.8 (3.2-782.0)	
Před chemoterapií	96.9 (2.2-770.0)	
Během chemoterapie	53.9 (0.8-1243.0)	

Tab. 2. Korelace hladin jednotlivých nádorově specifických transkriptů se sérovou hladinou PSA před a během chemoterapie

Specifický transkript	Průměrná hladina transkriptu; ng/ml (rozmezí)	CTC pozitivní vzorky; n (%)	Korelace s hodnotou sPSA*
Před chemoterapií			
PSA	9.2 (0.0-41.8)	31 (83.8)	0.439†
PSMA	0.8 (0.0-11.3)	21 (56.8)	0.348†
EGFR	0.1 (0.0-0.5)	3 (8.1)	0.305
Během chemoterapie			
PSA	3.6 (0.0-39.3)	15 (50.0)	0.563†
PSMA	0.4 (0.0-7.4)	5 (13.5)	0.430†
EGFR	0.0 (0.0-0.5)	3 (10.0)	0.374†

PSA : prostatický specifický antigen; PSMA : prostatický specifický membránový antigen; EGFR : receptor epidermálního růstového faktoru; * hodnoceno Spearmanovým korelačním koeficientem; † statisticky signifikantní korelace

Tab. 3. Univariátní analýza vztahu jednotlivých parametrů k přežití

Parametr	HR	95% CI	p-hodnota
Věk	0.72	0.28-1.84	0.4892†
sPSA v době diagnózy	0.49	0.19-1.29	0.1368†
sPSA před chemoterapií	1.64	0.64-4.22	0.3010†
sPSA během chemoterapie	2.00	0.73-5.51	0.1712†
CTC pozitivita před chemoterapií	1.75	0.40-7.71	0.4556†
CTC pozitivita během chemoterapie	2.17	0.79-5.98	0.1246†
Mnohočetné kostní metastázy	2.21	0.77-6.35	0.0421*

sPSA : sérová hladina prostatického specifického antigenu; CTC : cirkulující nádorové buňky; HR : hazard ratio; CI : konfidenční interval; † log-rank test; * Wilcoxonův test ($p=0.1306$)

Závěr: Zjistili jsme CTC u významného počtu pacientů s KRKP. Absolutní změna hladiny PSA během léčby korelovala s celkovým přežitím. Pozitivita CTC během léčby docetaxelem byla spojena s kratším přežitím.