

diseases. Currently, research is being conducted on circulating tumour cells (CTCs), which are collected by a so-called “liquid biopsy” and could be promising biomarkers for a number of diseases. In this paper, we provide an overview of the current use of CTCs in oncological diseases.

KEY WORDS

Circulating tumour cells, liquid biopsy, prostate cancer, kidney cancer, bladder cancer.

.....

ÚVOD

Přestože již bylo objeveno mnoho slibných onkomarkerů, stále chybí specifické molekuly, které by nám umožnily nejen diagnostikovat dané onemocnění, ale i monitorovat průběh léčby a předpovídat relaps či rezistenci pacienta na zvolenou terapii. Jelikož je pro nádorové onemocnění charakteristické, že se buňky postupnou evolucí a schopností selektovat nové mutace stávají odolnější k aplikované léčbě, nemožnost monitorovat tyto změny je bohužel často příčinou neúspěchu léčby (1). Pro tento účel by bylo ideální zvolit co nejméně invazivní metodu, která by oproti standardní biopsii umožnila provádět opakované odběry v průběhu léčby pacienta. Jako ideální přístup odběru vzorků se nabízí vyšetření periferní krve či moči pacienta. Pro tento způsob vyšetření se užívá již tradiční pojem „tekutá biopsie“, která zahrnuje použití krve a jiných lidských tekutin jako náhradních materiálů tkáňových/cytologických vzorků (2, 3). Výzkum v tekuté biopsii se v současnosti zaměřuje zejména na cirkulující nádorové buňky (circulating tumor cells), jaderné buňky, které se oddělily od primárního tumoru nebo metastáz a vstoupily do krevního oběhu a svým průchodem krevním řečištěm mohou založit metastázy v dalších orgánech (4). Hlavním úskalím, na které metody detekující CTC narážejí, je extrémně nízká koncentrace CTC v periferní krvi, průměrná koncentrace se udává jedna cirkulující buňka na 10 000 leukocytů, a proto je jejich detekce velmi obtížná (5).

MECHANISMUS VZNIKU CTC

Přesný mechanismus metastazování není stále přesně znám, avšak prokázaný a v posledních letech stále podrobněji studovaný je proces tzv. epiteliálně-mezenchymální tranzice (EMT). Při té dochází ke změně buňky z epiteliálního na mesenchymální fenotyp. Během tohoto procesu buňky ztrácejí svou buněčnou polaritu a buněčné spoje, které jim umožňují buněčnou adhezi. Tím získávají své migrační a invazivní schopnosti (6, 7). Na molekulární úrovni bylo zjištěno, že se na EMT podílejí transkripční faktory ZEB1 (zinc finger E-box binding homeobox 1), TWIST1 (twist family bHLH transcription factor 1) a SNAIL (snail family transcriptional repressor 1), u kterých dochází při buněčné tranzici k upregulaci. Výsledné produkty těchto kaskád pak způsobují modulaci buněčných spojů, přestavbu cytoskeletu a aktivují matrixové metaloproteázy, které rozpouštějí extracelulární matrix, což napomáhá odpojení buňky od její bazální membrány. Dále dochází u buněk ke ztrátě epiteliálních cadherinů (Ecadherinů) a oproti tomu se zvyšuje produkce neurálních cadherinů (N-cadherinů), pomocí kterých buňky lépe interagují se stromálními a endoteliálními buňkami a snadněji prochází do krevního řečiště (7, 8). Díky výše uvedeným změnám buňky získávají schopnosti rychlé proliferace, rezistence k apoptóze, deregulace metabolismu a pohyblivosti. Tyto buňky se pak odpojují od primárního tumoru a díky své vysoké pohyblivosti a schopnosti pronikat do tkání a krevního řečiště putují a zakládají sekundární nádorová ložiska (8).

DIAGNOSTICKÉ MOLEKULÁRNÍ METODY

Mezi převládající molekulární metody patří imunomagnetická separace a následné analýzy pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), imunocytochemie nebo fluorescenčního zobrazování. Tyto metody umožňují selektivní zachycení CTC a identifikaci specifických molekulárních markerů prostaty, jako jsou například prostatický specifický antigen