

Immunodiagnosi cellulare: cellule tumorali circolanti – CTC Arricchimento e quantificazione

Uno degli sviluppi più promettenti nella medicina oncologica è la rilevazione delle cellule tumorali circolanti (CTC) come marker multifunzionale e minimamente invasivo. Le CTC che circolano nel sangue periferico derivano da tumori solidi e sono responsabili per il processo metastatico. La quantificazione delle CTC permette la valutazione prognostica e predittiva del percorso clinico dei pazienti. È quindi considerata una «**biopsia liquida**» e marker in tempo reale per monitorare la progressione di tumori e la sopravvivenza.

Uno degli sviluppi più promettenti nella medicina oncologica è la rilevazione delle cellule tumorali circolanti (CTC) come marker multifunzionale e minimamente invasivo. Le CTC che circolano nel sangue periferico derivano da tumori solidi e sono responsabili per il processo metastatico. La quantificazione delle CTC permette la valutazione prognostica e predittiva del percorso clinico dei pazienti. È quindi considerata una «**biopsia liquida**» e marker in tempo reale per monitorare la progressione di tumori e la sopravvivenza.

marcano gli antigeni con anticorpi coniugati a particelle ferromagnetiche, il complesso viene esposto ad un campo magnetico e le cellule vengono purificate ed eluite dopo la rimozione del campo magnetico. Questo metodo consente l'arricchimento delle cellule da 1'000 a 2'000 volte.

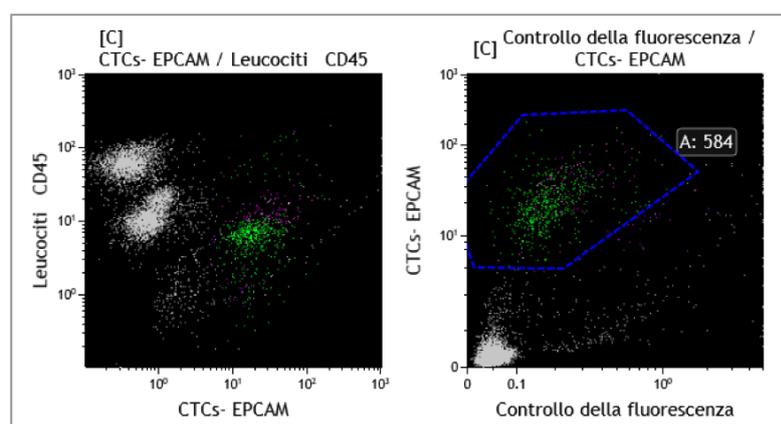
Analisi e conteggio delle CTC

Con la marcatura di antigeni per mezzo di anticorpi coniugati a fluorocromi le CTC possono essere rilevate e quantificate. A tale scopo esistono diversi metodi, sia microscopici che semiautomatizzati.

Arricchimento delle CTC mediante separazione immunomagnetica

Sulla maggior parte delle cellule tumorali viene espressa la molecola di adesione delle cellule epiteliali umana **EpCAM** (epithelial cell-adhesion molecule = **HEA** human epithelial antigen). I metodi immunomagnetici

Noi utilizziamo la **citometria a flusso**: Le cellule sono marcate con l'anticorpo EpCAM, l'anticorpo CD45 ed un colorante vitale. Le CTC ricercate risultano positive per EpCAM, negative per CD45 (verde, vedi Fig.) e colorate se non vitali (rosso, vedi Fig.).



Le CTC rilevate sono tutte cellule tumorali?

I metodi attuali non consentono di caratterizzare definitivamente le cellule tumorali, poiché le cellule tumorali circolanti non esprimono un antigene di superficie cellulare specifico del tumore. Le CTC possono essere quantificate solo sulla base delle loro proprietà di cellule epiteliali (EpCAM+) e di negatività per l'antigene leucocitario CD45.

Normalmente, nel sangue di persone sane non circola praticamente nessuna cellula epiteliale. Tuttavia, risultati positivi possono essere rilevati ad esempio in persone con ferite, in stato post-operatorio o in alcune malattie benigne (come diverticolosi, polipi, morbo di Crohn, colite ulcerosa o focolai di endometriosi intestinale). Pertanto non si parla di cellule tumorali, ma di **cellule sospette**.

Richiesta analisi

- EPCAM, profilo 7893
- Prelievo di sangue preferibilmente da lunedì a giovedì.
- con dati clinici, tipo di tumore, trattamento ecc.
- Materiale: 2x 7.5 ml sangue con EDTA.

Referto e interpretazione

Numero delle cellule sospette, positive per EpCAM, rilevate in 7.5 ml di sangue EDTA. Gli sviluppi vengono rappresentati graficamente e supportano la valutazione del decorso della malattia e della terapia.

Al primo dosaggio consigliamo la seguente interpretazione:

- tra 0 e ca. 30 cellule / 7.5 ml di sangue EDTA: non si raccomanda nessuna ripetizione della misura.
- tra ca. 30 e 100 cellule / 7.5 ml di sangue EDTA: si raccomanda una ripetizione della misura dopo ca. 3 mesi
- a partire da ca. 100 cellule / 7.5 ml di sangue EDTA: si consiglia di effettuare ulteriori indagini per chiarire il tumore.

Prezzo

350 PT (non coperto dall' assicurazione di base).

Diagnosi supplementare

- test delle cellule NK, profilo di base 2830.
- prelievo di sangue preferibilmente da lunedì a giovedì.
- Materiale: sangue con eparina, fresco.

Il test delle cellule NK può essere raccomandato per determinare la capacità delle cellule natural killer come difesa immunitaria primaria, non soggetta a restrizione MHC, contro le cellule tumorali. Qui vengono misurati il numero, la capacità di degranolazione come misura della citotossicità e la capacità di stimolazione da parte dell'interleuchina 2. È possibile richiedere ulteriori test con immunomodulatori.

Informazioni dettagliate sulle cellule NK sono disponibili nel settore «Info Medico» sotto «Servizio-Download centro» sulla homepage.



Bibliografia:

1. Lopresti et al.: Sensitive and easy screening for circulating tumor cells by flow cytometry; JCI Insight. 2019;4(14):e128180. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128180>.
2. Warawdekar et al.: A versatile method for enumeration and characterization of circulating tumor cells from patients with breast cancer; J Cancer Metastasis Treat 2017;3:23–33.
3. Kerklaan et al.: EpCAM-based flow cytometry in cerebrospinal fluid greatly improves diagnostic accuracy of leptomeningeal metastases from epithelial tumors; Neuro-Oncology 18(6), 855–862, 2016; doi:10.1093/neuonc/nov273.
4. Watanabe et al.: Multicolor Detection of Rare Tumor Cells in Blood Using a Novel Flow Cytometry-Based System; Cytometry Part A 85A, 2014, 206–213.
5. Simsek et al.: Determination of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood By Flow Cytometry; Niche, 2014; 3: 0–0 • DOI: 10.5152/niche.2015.246
6. Parkinson et al.: Considerations in the development of circulating tumor cell technology for clinical use; Journal of Translational Medicine 2012, 10:138.
7. Man et al.: Currently Used Markers for CTC Isolation – Advantages, Limitations and Impact on Cancer Prognosis; J Clinic Experiment Pathol 2011, 1:1.
8. Allard et al.: Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases; Clinical Cancer Research Vol. 10, 2004, 6897–6904.