

© ЗЮЗЮКИНА А. В., ВАТРУШКИНА М. О., ЗУКОВ Р. А.

УДК. 616-092.18:618.19-006.04

DOI: 10.20333/2500136-2021-2-94-96

Циркулирующие опухолевые клетки: мониторинг течения рака молочной железы в реальном времени

А. В. Зюзюкина^{1,2}, М. О. Ватрушкина¹, Р. А. Зуков^{1,2}

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А. И. Крыжановского, Красноярск 660133, Российская Федерация

Цель исследования. Определить содержание циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) у больных раком молочной железы с помощью аптамера MDA231 в динамике заболевания.

Материал и методы. В исследование включены 6 больных раком молочной железы (РМЖ), находящиеся на диспансерном наблюдении с 2017 года. Детекцию ЦОК проводили в 3,5 мл крови больных РМЖ с помощью аффинного клеткам рака молочной железы аптамера MDA231, меченого флуоресцентным красителем Cy-5. Подсчет ЦОК в мазках образцов крови проводили с помощью флуоресцентной и сканирующей лазерной микроскопии.

Результаты. С помощью аптамера MDA231 проанализировано содержание ЦОК периферической крови больных РМЖ в динамике заболевания. Выявлены ЦОК у 1 больной, впоследствии у которой диагностировано метастатическое поражение печени.

Заключение. Проведенное исследование демонстрирует возможность использования аптамеров для определения риска развития рецидива заболевания и оценки эффективности противоопухолевой терапии у больных РМЖ.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, аптамеры, рак молочной железы, терапия, диагностика.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Зюзюкина АВ, Ватрушкина МО, Зуков РА. Циркулирующие опухолевые клетки: мониторинг течения рака молочной железы в реальном времени. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;(2):94-96. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-94-96

Circulating tumor cells: real-time monitoring of the course of breast cancer

A. V. Zyuzukina^{1,2}, M. O. Vatrushkina¹, R. A. Zukov^{1,2}

¹Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

²Krasnoyarsk Regional Clinical Cancer Center named after A.I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation

The aim of the research. This study aims to determine the content of circulating tumor cells (CTCs) in the peripheral blood using the MDA 231 aptamer in the dynamics of the disease.

Material and methods. The study included 6 patients with breast cancer, who have been under dispensary supervision since 2017. Detection of CTCs was carried out in 3.5 ml of the blood of BC patients with the help of the MDA 231 aptamer which is affine for breast cancer cells, labeled with the fluorescent Cy-5 dye. The count of CTCs in the blood samples was performed using fluorescent and laser scanning microscopy.

Results. Using the MDA231 aptamer, the content of CTCs in the peripheral blood of patients with breast cancer in the dynamics of the disease was analyzed. CTCs were detected in 1 patient, who was subsequently diagnosed with metastatic liver damage.

Conclusion. The study demonstrates the possibility of using aptamers to determine the risk of relapse and to evaluate the effectiveness of antitumor therapy in patients with breast cancer.

Key words: circulating tumor cells, aptamers, breast cancer, therapy, diagnostics.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Zyuzukina AV, Vatrushkina MO, Zukov RA. Circulating tumor cells: real-time monitoring of the course of breast cancer. *Siberian Medical Review*. 2021; (2):94-96. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-94-96

Введение

В 2020 году рак молочной железы занял первое место в структуре онкологической заболеваемости, зарегистрировано более 2,2 миллионов новых случаев заболевания, при этом около 684 тыс. связаны со смертельным исходом [1]. Примерно у 20-30 % пациентов с ранней стадией РМЖ заболевание

прогрессирует с развитием метастатических форм заболевания [2]. У большинства пациентов прогрессирование заболевания происходит в течение 12–24 месяцев [3].

Для диагностики рецидива заболевания РМЖ используются инструментальные методы исследования, а также возможно серийное измерение онкомаркеров:

ракового антигена (СА 15-3) и ракового эмбрионального антигена (РЭА) [4,5].

Одним из важных агентов метастазирования являются циркулирующие опухолевые клетки, представляющие собой эпителиальные клетки карцином, попадающие в кровоток в ходе развития злокачественного новообразования [6]. Для определения ЦОК возможно использовать аптамеры, которые представляют синтетические одонитевые молекулы РНК или ДНК (размером 30-80 нуклеотидов), способные к специфичному связыванию с любыми молекулярными и клеточными мишенями.

Определение количества циркулирующих опухолевых клеток в крови больных раком молочной железы поможет оценить риск рецидива или прогрессирования заболевания, провести количественный мониторинг в реальном времени [7,8].

Материал и методы

В 2020 году выполнено определение количества ЦОК в периферической крови у 6 пациентов со злокачественными новообразованиями молочной железы, находящихся на диспансерном наблюдении в КГБУЗ «КККОД им. А.И. Крыжановского» с 2017 года. Все пациенты находятся под наблюдением врача-онколога, получают адъювантную лекарственную терапию. Клинических и инструментальных данных рецидива заболевания не выявлено за весь период контрольных осмотров.

Детекцию ЦОК проводили из 3,5 мл крови пациентов через 1-1.5 часа после сбора в вакутейнеры с гепарином. ЦОК выделяли из крови с помощью аптамера MDA 231, конъюгированного с магнитными шариками, а затем окрашивали аптамером MDA 231, меченным Cy5. Из полученной суспензии делали мазки, которые фиксировали в метаноле и окрашивали красителем Романовского-Гимзы. Подсчет циркулирующих опухолевых клеток проводили на флуоресцентном микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss Group, Германия) и анализировали с помощью лазерной сканирующей микроскопии.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования выявлены ЦОК в крови у 1 больной в количестве 6 клеток. В периферической крови остальных больных ЦОК не обнаружены. Через несколько месяцев на очередном контрольном осмотре пациентки с выявленными ЦОК обнаружено метастатическое поражение печени (при УЗИ органов брюшной полости – образование в правой доле печени размером от 0,9x1,1 см вторичного характера).

Проведенное исследование показывает возможность использования жидкостной биопсии, которая является одним из малоинвазивных методов диагностики. Количественное определение ЦОК

в периферической крови может быть использовано для прогнозирования показателей беспрогрессивной и общей выживаемости, что подтверждается полученными данными. Используемый аптамер для выявления ЦОК подтверждает свою аффинность и специфичность для РМЖ.

Заключение

Продемонстрирована возможность мониторинга течения онкозаболевания в клинической практике. Метод может быть использован как дополнительная опция диагностики рецидива заболевания и оценки эффективности противоопухолевой терапии. Проведенное исследование в очередной раз доказало возможность применения аптамера в детекции молекулярных мишеней, таких как циркулирующие опухолевые клетки.

Литература / References

1. Breast. Source: Globocan 2020. World Health Organization : [website]. Accessed February 12, 2021. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-factsheet.pdf>
2. Cardoso F, Kataja V, Tjan-Heijnen V. Breast Cancer. Essentials for Clinicians. *ESMO Press*. 2019.
3. Paganì O, Senkus E, Wood W. et al. International guidelines for management of metastatic breast cancer: can metastatic breast cancer be cured? *Journal of the National Cancer Institute*. 2010; 102(7):456-63.
4. Molina R, Barak V, van Dalen A, Duffy MJ, Einarsson R, Gion M, Goike H, Lamerz R, Nap M, Sölétormos G, Stieber P. Tumor markers in breast cancer- European Group on Tumor Markers recommendations. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2005;26(6): 281-93.
5. Wang W, Xu X, Tian B, Wang Y, Du L, Sun T, Shi Y, Zhao X, Jing J. The diagnostic value of serum tumor markers CEA, CA19-9, CA125, CA15-3, and TPS in metastatic breast cancer. *Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2017 ;(470):51-55.
6. Yang J, Mani SA, Weinberg RA. Exploring a new twist on tumor metastasis. *American Association for Cancer Research*. 2006; 66(9):4549-52.
7. Ussano M, Napolitano A, Ribelli G, Iuliani M, Simonetti S, Citarella F, Pantano F, Dell'Aquila E, Anesi C, Silvestris N, Argentiero A, Solimando AG, Vincenzi B, Tonini G, Santini D. Liquid biopsy and tumor heterogeneity in metastatic solid tumors: the potentiality of blood samples. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*. 2020; 39(1):95.
8. Banys-Paluchowski M, Reinhardt F, Fehm T. Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer: Clinical Applications and Future Possibilities. *Applied Sciences*. 2020; 10(9):3311.

Сведения об авторах

Зюзюкина Алена Владимировна, к.м.н., ассистент, Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: 8(913)5332325, e-mail: alena-vz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6758-4800>.

Ватрушкина Маргарита Олеговна, студент, Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; e-mail: ritulya.veselova.98@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2318-6296>.

Зукров Руслан Александрович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(913)5349316; email: zukov_rus@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-7210-3020>.

Author information

Alena V. Zyuzukina, Cand.Med.Sci., assistant, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(913)5332325; e-mail: alena-vz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6758-4800>.

Margarita O. Vatrushkina, student, Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; e-mail: ritulya.veselova.98@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2318-6296>.

Ruslan A. Zukov, Dr.Med.Sci., Professor, Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(913)5349316; e-mail: zukov_rus@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-7210-3020>.

Дата поступления: 16.02.2021

Дата рецензирования: 18.03.2021

Принята к печати: 31.03.2021

Received 16 February 2021

Revision Received 18 March 2021

Accepted 31 March 2021