

Καρκίνος Κεφαλής και Τραχήλου Τοπική η συστηματική νόσος

Ποταμιάνος Σπυρίδων

ΩΡΛ Χειρουργός Κεφαλής και Τραχήλου

Επικ. Επιμελητής Β ΓΝΑ «Ιπποκράτειο»



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών



ΩΡΛ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΚΕΦΑΛΗΣ ΚΑΙ
ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Επιδημιολογία

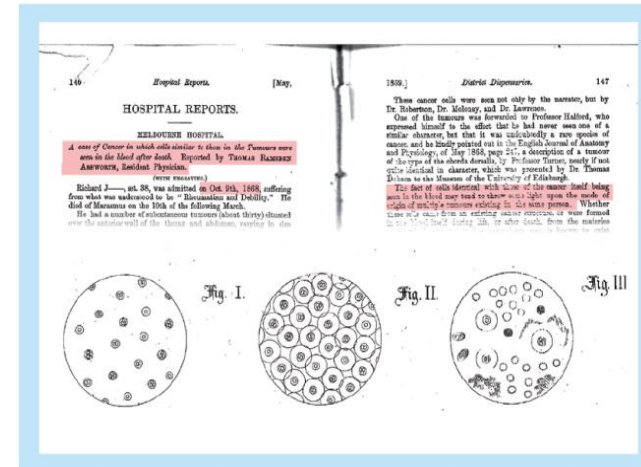
- 7^η συχνότερη κακοήθεια
- 3% των καρκίνων
- 1,5% των θανάτων από καρκίνο
- 890.000 νέες περιπτώσεις 450.000 θάνατοι ετησίως
- 60% ασθενών εμφανίζουν τοπικά προχωρημένη νόσο (στάδια III- IV) κατά τη διάγνωση

Chow L. N Engl J Med 2020



Ιστορική Αναδρομή

- 1869 Thomas Ashworth διαπιστώνει την παρουσία κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (ΚΚΚ)



- 1954 Cole et al νέες τεχνικές χρώσης εντοπίζει σε πλακίδια περιφερικού αίματος καρκινικά κύτταρα σε ασθενείς με καρκίνο του παχέως εντέρου

Η πορεία

- Αμφισβήτηση λόγω περιορισμένων δυνατοτήτων εντοπισμού και ασυμφωνία αποτελεσμάτων ανάμεσα σε μελέτες με περιορισμένο αριθμό ασθενών
- Παρουσία σε ασθενείς με χειρουργήσιμους όγκους και η συμπεριφορά τους μετά την αφαίρεση (323 ασθενείς)

Long et al Arch. Surg 1960

- Αξία ως προγνωστικοί δείκτες (99 ασθενείς)

Drye et al Ann Surg 1962



Η σύγχρονη εποχή

- Νέες μέθοδοι εντοπισμού
- Τεκμηρίωση ως προγνωστικοί δείκτες στον καρκίνο
 - του μαστού (Cristofanili et al N Eng J Med 2004)
 - του προστάτη (De Bono et al Clin Cancer Res 2008)
 - της ουροδόχου κύστης (Gazanica et al Int J Cancer 2014)
 - του παχέως εντέρου (Cohen et al J Clin Oncol 2008)



Η σύγχρονη εποχή

- Καρκίνος Κεφαλής και Τραχήλου
 - Partridge M, Brakenhoff R, Phillips E, et al **Detection of rare disseminated tumor cells identifies head and neck cancer patients at risk of treatment failure.** ClinCancer Res. 2003;9(14):5287-94
 - Grobe A, Blessmann M, Hanken H, et al. **Prognostic relevance of circulating tumor cells in blood and disseminated tumor cells in bone marrow of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity.** Clin Cancer Res. 2014;20(2):425-33

Μέθοδοι συλλογής

- Φυσικές ιδιότητες των κυττάρων όπως το μέγεθος και η πυκνότητα του κυτταροπλάσματος
- Έκφραση αντιγόνων επιφανείας
- Λύση των ερυθροκυττάρων για αύξηση της συγκέντρωσης
- Μέθοδοι θετικής και αρνητικής συλλογής



Μέθοδοι συλλογής

Θετική συλλογή

- **Μεγαλύτερη καθαρότητα** στον πληθυσμό των ΚΚΚ
- Μειονέκτημα το stress στο οποίο υποβάλλονται τα κύτταρα το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργικότητα τους

Αρνητική συλλογή

- Χρησιμοποιούν τα λευκοκύτταρα ως κύτταρα στόχο
- Προτιμότερες στις περιπτώσεις που διερευνάται **η βιολογική συμπεριφορά** των ΚΚΚ



Θετική συλλογή

- Αντισώματα έναντι του **epithelial cell adhesion molecule (EpCAM)** που εκφράζουν τα ΚΚΚ στο περιφερικό αίμα
- **CellSearch (FDA approved)**
 - Συλλογή ΚΚΚ μέσω anti-EpCAM Ab και μαγνητικών πεδίων
 - Επιπλέον σήμανση με ανοσοφθορισμό με αντισώματα έναντι της κυτταροκερατίνης 8 -18 -19 , του CD45
 - Χρώση του DNA με 4 '6 διαμιδινο-2φαινυλιδονη (DAPI)
 - Καρκινικά κύτταρα θεωρούνται ως τα εμπύρνηνα κύτταρα που είναι **DAPI (+) κυττοκερατίνη (+) και CD45 (-)**
 - Ευαισθησία 85%

Θετική συλλογή

- MagSweeper
- CellCollector (in vivo)
- CTC chip



Θετική συλλογή

- Μειονέκτημα των μεθόδων που βασίζονται στο ErCAM είναι πως **δεν εντοπίζουν** τα κύτταρα που έχουν υποστεί επιθηλιακή- μεσεγχυματική μετάβαση (**EMT**)
- Απώλεια κυτταρικών συνάψεων και πολικότητας, αποκτούν επίμηκες σχήμα που επιτρέπει την κινητικότητα και τη διεισδυτικότητα



Αρνητική συλλογή

- Υπερβαίνουν τους περιορισμούς που θέτει η έκφραση του ErCAM
- Χρησιμοποιούν αντισώματα έναντι του CD45 που εκφράζουν τα λευκοκύτταρα
- Επιτυγχάνουν μικρότερη καθαρότητα
- EasySep, RosetteSep
- DEPArray system χρήση ηλεκτρικού πεδίου δια διαχωρισμό και συλλογή



Κυτταρομετρία ροής

- Η απλή καταμέτρηση των ΚΚΚ έχει μικρή κλινική σημασία
- Μόνο μικρός αριθμός από τα ΚΚΚ έχουν τη δυνατότητα να επιβιώσουν και να δώσουν μεταστάσεις
- Μέθοδοι όπως κυτταρομετρία ροής (Flow cytometry FC) και ο συνδυασμός της με μικροσκόπηση υπό ανοσφθορισμό (Imaging Flow Cytometry IFC) επιτρέπουν την ανάλυση σε επίπεδο κυττάρου



Κλινικές εφαρμογές

- **Στοχευμένη θεραπεία**

- Έκφραση EGFR και p-EGFR αντίστοιχη αυτής της πρωτοπαθούς εστίας εντοπίστηκε στα ΚΚΚ ασθενών με ΚΚΤ

Tinhofer et al Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2012

- Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τις πρωτεΐνες PI3K και mTOR στον καρκίνο του μαστού

Kallergi et al Breast Cancer Res 2008

- Αυξανόμενα δεδομένα για την έκφραση PDL-1 υποδοχέων στα ΚΚΚ στους ασθενείς με ΚΚΤ

Kulasinghe et al 2017 ,Oliveira- Costa et al 2015, Strati et al 2017

Κλινικές εφαρμογές- Προοπτική

- Εντοπισμός στα ΚΚΚ μεταλλάξεων Ras που σχετίζονται με αντοχή στη θεραπεία με Cetuximab στους ασθενείς με ΚΚΤ
- Ποσοτικοποίηση PDL-1 στα ΚΚΚ και εντοπισμός ασθενών με υψηλό ποσοστό αποτυχίας στην ανοσοθεραπεία
- Παρακολούθηση της πορείας της θεραπείας μέσω της συμπεριφοράς των ΚΚΚ στο περιφερικό αίμα



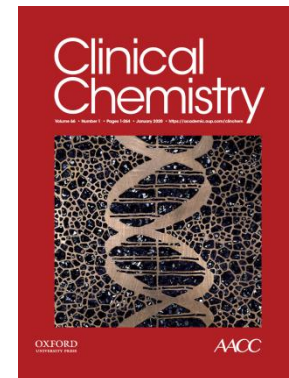
Οι περιορισμοί

- Μόνο μικρές και ετερογενείς σειρές ασθενών
- Διαφορετικές μέθοδοι εντοπισμού και επεξεργασίας ΚΚΚ
- Σε μεγάλο βαθμό άγνοια των κυτταρικών κλώνων που οδηγούν σε μεταστατική νόσο στον ΚΚΤ



Circulating Tumor Cells as a Prognostic Factor in Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: the CIRCUTEK Prospective Study

Renaud Garrel,¹ Martine Mazel,² Françoise Perriard,³ Marie Vinches,⁴ Laure Cayrefourcq,² Joël Guigay,⁵ Laurence Digue,⁶ Karine Aubry,⁷ Marc Alfonsi,⁸ Jean-Pierre Delord,⁹ Benjamin Lallemand,¹⁰ Caroline Even,¹¹ Jean-Pierre Daurès,³ Paul Landais,³ Didier Cupissol,⁴ and Catherine Alix-Panabières^{2*}



Η μελέτη

- Προοπτική πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης
- 8 κέντρα αναφοράς για ΚΚΤ (GORTEC) στη Γαλλία
- 80 ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό ΚΚΤ που πρόκειται να λάβουν κλασσική χημειοθεραπεία και cetuximab
- Primary outcome measure: Η προγνωστική αξία των ΚΚΚ σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό ΚΚΤ όσον αφορά την ανταπόκριση στη θεραπεία



Υλικό

- 80 συνεχόμενοι ασθενείς που πάσχουν από υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό ΚΚΤ
- 15 αποκλείστηκαν
 - 5 λόγω αναφυλακτικής αντίδρασης
 - 2 δεν ξεκίνησαν θεραπεία
 - 1 αρνήθηκε να συμμετάσχει
 - 1 για λόγους μεταφοράς του δείγματος
 - 3 με απόφαση εργαστηρίου
 - 3 δεν πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης
- **65 ασθενείς συμπεριλήφθησαν τελικά**

Υλικό

- 23 ασθενείς (38%) είχαν τοποπεριοχική νόσο
- 37 ασθενείς (62%) είχαν μεταστατική νόσο
- Για 5 ασθενείς δεν υπήρχαν δεδομένα
- Μέσος όρος- 3 κύκλοι χημειοθεραπείας
- Μέση συνολική επιβίωση 9,3 μήνες



Θεραπεία

- Ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο των Vermoken και συν.
- Cisplatin και 5FU για 4 ημέρες κάθε 3 εβδομάδες μέχρι 6 κύκλους
- Cetuximab εβδομαδιαία

Vermoken JB et al, N Engl J Med 2008

- Ασθενείς που επιβίωσαν πάνω από 6 μήνες μετά το τέλος της χημειοθεραπείας θεωρούνται πως ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία



Μέθοδος

- Δείγματα περιφερικού αίματος συλλέχθηκαν πριν την έναρξη της θεραπείας (D0), την 7^η (D7) και 21^η (D21) ημέρα της θεραπείας
- Για την ανίχνευση των ΚΚΚ χρησιμοποιήθηκαν σε όλα τα δείγματα οι μέθοδοι
 - **CellSearch**
 - **EPISPOT** (μέθοδος αρνητικής συλλογής που εντοπίζει ζωντανά ΚΚΚ. Αφαίρεση λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων με χρήση RosettSep και εντοπισμός CK19 και EGFR στα ΚΚΚ)
 - **Κυτταρομετρία ροής (FCM)**
ErCAM, N-Cadherin, EGFR, CD44, CD45, CD34, CD235 χρησιμοποιήθηκαν για τον **εντοπισμό κυττάρων που υπέστησαν EMT**. Επιλέχθηκαν μόνο ζωντανά ΚΚΚ

Επεξεργασία δεδομένων

- Η συνάφεια των αποτελεσμάτων των 3 μεθόδων ελέγχθηκε την D0 με συντελεστή συσχέτισης (intraclass correlation coefficient)
- Τα αποτελέσματα των μεθόδων ελέγχθηκαν ανά ζεύγη
- Οι ασθενείς τοποθετήθηκαν σε 2 ομάδες ανάλογα τις μεταβολές των ΚΚΚ
 - Ομάδα Α: Ασθενείς χωρίς ΚΚΚ την D0 και D7 ή μείωση των ΚΚΚ ανάμεσα στην D0 και D7
 - Ομάδα Β: Ασθενείς χωρίς μείωση ή αύξηση των ΚΚΚ ανάμεσα στη D0 και D7
- Η συνολική επιβίωση (OS) και η περίοδος ελεύθερη προόδου της νόσου (PFS) αναλύθηκαν με τη μέθοδο Kaplan-Meier

Αποτελέσματα

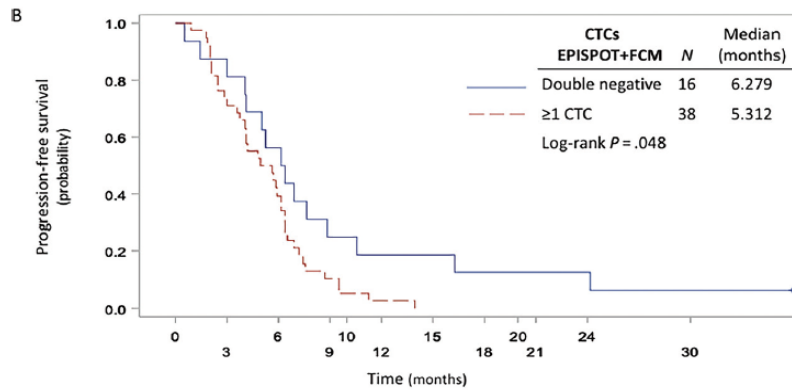
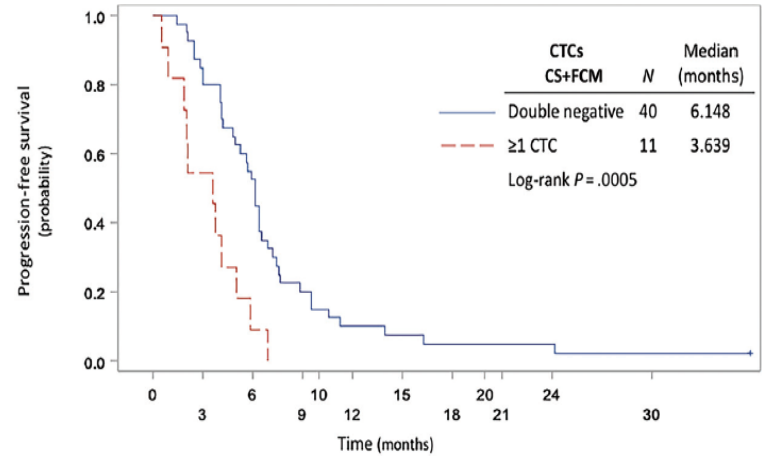
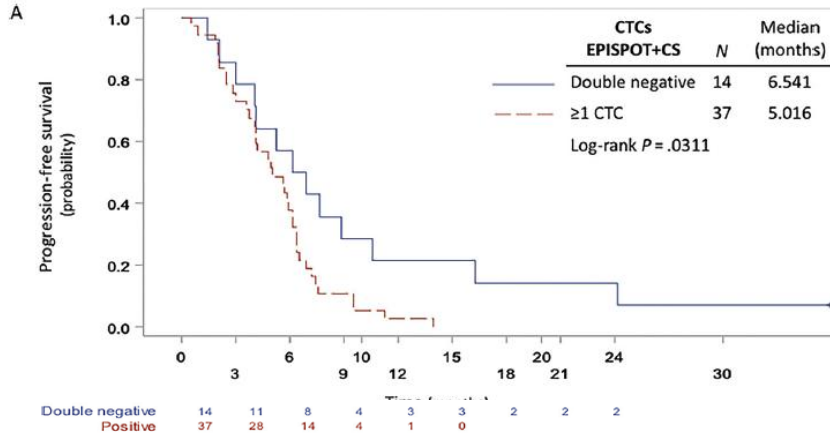
- Στη D0 εντοπίστηκαν ΚΚΚ σε
 - 69% των ασθενών με τη μέθοδο EPISPOT
 - 21% των ασθενών με τη μέθοδο CellSearch
 - 11% των ασθενών με τη μέθοδο FCM
- Η μέθοδος EPISPOT εντόπισε το 92% (36/39) των θετικών δειγμάτων τη D0 το 92% τη D7 και το 89% τη D21
- **Η παρουσία ΚΚΚ τη D0 δεν συσχετίστηκε στατιστικά με την παρουσία μεταστάσεων**



Αποτελέσματα

- Η διαφορά στην PFS ήταν στατιστικά σημαντική ανάμεσα στις ομάδες A και B όσον αφορά τη μέθοδο EPISPOT (6,1 έναντι 4,2 μηνών) αλλά όχι στη μέθοδο CellSearch
- Ο απόλυτος αριθμός ΚΚΚ τη D0 δεν σχετίστηκε με την PFS
- Ο αριθμός των ΚΚΚ που εντοπίζονται με τις μεθόδους CellSearch και FCM τη D7 φαίνεται να είναι σημαντικός προγνωστικός παράγοντας, δεν ισχύει το ίδιο και για τη μέθοδο EPISPOT
- Ο αριθμός των ΚΚΚ τη D21 δεν συσχετίστηκε με την PFS

Αποτελέσματα



Συμπεράσματα

- Ο αριθμός των ΚΚΚ δεν σχετίζεται με την παρουσία μεταστατικής νόσου αλλά με **την πρόγνωση στην πρόοδο της τοποπεριοχικής νόσου**
- **Ο συνδυασμός 2 μεθόδων αυξάνει την δυνατότητα εντοπισμού ΚΚΚ**
- Η προσθήκη της FCM με σκοπό των εντοπισμό μεσεγχυματικών υπότυπων που δεν εκφράζουν επιθηλιακούς δείκτες δεν φάνηκε να προσθέτει ευαισθησία

Συμπεράσματα

- Η μέθοδος EPISPOΤ εμφάνισε την μεγαλύτερη ευαισθησία ενώ κατάφερε να εντοπίσει σχεδόν το σύνολο των δειγμάτων που εντοπίστηκαν από τις άλλες μεθόδους
- Μόνο οι μεταβολές που εντοπίστηκαν με τη μέθοδο **EPISPOΤ** έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά στη PFS
- Δεδομένου ότι η συγκεκριμένη μέθοδος εντοπίζει μόνο τα ΚΚΚ που εκφράζουν τον EGFR **η πρώιμη ανταπόκριση** στη θεραπεία με anti-EGFR (Cetuximab) φαίνεται να μπορεί να αξιολογηθεί μόνο με μια **μέθοδο που βασίζεται σε αυτή τους την ιδιότητα**

Γιατί είναι σημαντική

- Καλός σχεδιασμός
- Σημαντικό αντιπροσωπευτικό μέγεθος δείγματος που δεν απαντάται σε άλλες μελέτες για τον ΚΚΤ
- Είναι η πρώτη φορά που χρησιμοποιείται η μέθοδος EPISPOΤ σε ασθενείς με ΚΚΤ
- Τεκμηριώνεται πως ο έλεγχος του περιφερικού αίματος (liquid biopsy) σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα/μεταστατικό ΚΚΤ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της πρώιμης ανταπόκρισης στη θεραπεία

Ευχαριστώ πολύ!!!

