

Przydatność kliniczna pomiaru liczby krążących komórek nowotworowych u chorych na raka piersi

Clinical usefulness of measuring the number of Circulating Tumor Cells (CTC) in breast cancer patients

lek. med. Dariusz Brenski

Como, Włochy
przy współpracy z ESO (European School of Oncology)
via Turati, 29 20121 Milan – Italy



STRESZCZENIE

Wstęp: Monitorowanie raka piersi po leczeniu adiuwantowym w szczególnych przypadkach może się opierać na zastosowaniu metod obrazowych lub wykonaniu biopsji. W świetle obecnych badań należy zadać pytanie, czy alternatywną metodą mogłoby być oznaczanie stężenia markerów raka piersi – jedną z nich jest pomiar liczby krążących komórek nowotworowych (CTC, *circulating tumor cells*).

Cel: Celem pracy było porównanie skuteczności standardowych metod monitorowania leczenia raka piersi z monitorowaniem w oparciu o CTC.

Material i metody: Wykonano systematyczny przegląd bazy PubMed. Kryteria włączenia spełniło 16 badań klinicznych (*clinical trials*), 9 artykułów przeglądowych i 5 rekomendacji dotyczących leczenia.

Wyniki: Czulość testu CTC w porównaniu z badaniami obrazowymi wyniosła pomiędzy 39% a 55%, a w połączeniu z markerem CA 27.29 (*cancer antigen 27.29*) – 64%. Swoistość testu dla wykrycia < 5 lub ≥ 5 CTC we krwi wynosi prawie 100%. Stwierdzono zależność między przeżyciem całkowitym (OS) i przeżyciem wolnym od progresji choroby (PFS) a liczbą CTC we krwi u pacjentek z przerzutami. Wyniki badań wskazują na korelację liczby CTC z oceną w badaniach obrazowych. Pacjentki z $CTC \geq 5$ miały większe ryzyko wystąpienia nawrotu choroby, potwierdzone w badaniach obrazowych, niż pacjentki z $CTC < 5$.

Wnioski: Pomiar CTC we krwi może być pomocny w ocenie ryzyka progresji i zgonu oraz może być stosowany w monitorowaniu efektów terapii u pacjentek o wysokim stopniu ryzyka nawrotu czy też progresji choroby.

SŁOWA KLUCZOWE: rak piersi, krążące komórki nowotworowe, CTC

ABSTRACT

Background: Monitoring the breast cancer patients after an adjuvant therapy usually involves imaging methods or biopsy. Alternatively, breast cancer markers can be determined – one of them is the number of circulating tumor cells (CTC).

Aim: The aim of this study was to compare the efficacy of standard monitoring methods and those based on CTC count.

Materials and methods: Systematic review of PubMed database was performed. Inclusion criteria were met by 16 clinical trials, 9 reviews and 5 treatment recommendations.

Results: CTC assay sensitivity was between 39% and 55% compared to the imaging, and 64% in combination with CA 27.29 (*cancer antigen 27.29*) marker. CTC specificity for the detection level of < 5 or ≥ 5 CTCs in blood was almost 100%. CTC assay enables correct classification of patients according to the neoplastic disease progression. Overall survival (OS) and progression free survival (PFS) were correlated with blood CTCs in metastatic patients. The study results suggest a link between CTC level and imaging diagnosis. Patients with $CTC \geq 5$ were at a higher risk of disease progression, as diagnosed by radiographic methods, than patients with $CTC < 5$.

Conclusions: Blood CTC measurement is a good clinical predictor of overall survival and progression-free survival and can be used for treatment efficacy monitoring in patients at high risk of recurrence or progression during advanced breast cancer treatment.

KEY WORDS: breast cancer, circulating tumor cells, CTC

WSTĘP

Szacuje się, że nawrót raka piersi (BC, *breast cancer*) rozwinie się u ok. 30% kobiet po leczeniu adiuwantowym [1].

Metodami diagnostycznymi do potwierdzenia rozpoznania, oceny stopnia zaawansowania nowotworu, monitorowania progresji/remisji choroby i oceny skuteczności leczenia są badania obrazowe: RTG (rentgenografia), PET (pozytonowa tomografia emisyjna), CT (tomografia komputerowa), MRI (rezonans magnetyczny), USG (ultrasonografia), oraz biopsja (jako technika inwazyjna wykonywana w przypadkach wątpliwych) [2].

Niekiedy skuteczność metod obrazowych jest ograniczona (w przypadku dużej gęstości piersi czy nietypowej lokalizacji nowotworu), wadę stanowi też słaba rozdzielczość USG [3] i mimo wszystko nadal dostęp do badań oraz ich koszt.

Alternatywę dla powyższych metod może stanowić oznaczanie markerów nowotworowych w surowicy (STM, *serum tumor markers*), jednak metoda ta wymaga dalszych badań.

Wśród wielogenowych testów rokowniczych (MammaPrint, Oncotype DX, Rotterdam Signature, Breast Cancer Gene Expression Ratio) jedynie testy Oncotype DX i MammaPrint są dostępne komercyjnie, a tylko test MammaPrint został zatwierdzony przez FDA [4].

TESTY DIAGNOSTYCZNE WYKRYWAJĄCE CTC

Jednym z markerów nowotworowych oznaczanych w surowicy jest liczba krążących komórek nowotworowych (CTC, *circulating tumor cells*) [5, 6]. Są to komórki, które oderwały się od

nowotworu i dostały do krwiobiegu. Testy wykrywające CTC we krwi mają wysoką czułość – mogą wykryć nawet jedną komórkę nowotworową w 7,5 ml. Punktem odcięcia jest 5 komórek w badanej próbce [7]. Metody wykrywające CTC dzielą się na cytologiczne oraz molekularne [8, 9]. Jedynym testem zatwierdzonym przez FDA i dopuszczonym do użytku klinicznego w zakresie wykrywania CTC jest system CellSearch [10]. Żaden z testów nie jest obecnie zatwierdzony przez EMA.

CEL

Celem pracy było porównanie skuteczności monitorowania w oparciu o CTC ze skutecznością standardowych metod monitorowania leczenia raka piersi.

MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzono systematyczny przegląd bazy artykułów medycznych PubMed pod kątem obecności słów kluczowych: CTC in Breast Cancer, Disseminated Tumor Cells (DTC) in Breast Cancer, CellSearch CTC Test, Monitoring of breast cancer progression in Breast Cancer. W efekcie wytypowano 569 publikacji i przyjęto następujące kryteria włączenia: metoda – Circulating Tumor Cells (CTC), leczenie adiuwantowe pacjentek o wysokim ryzyku nawrotu nowotworu, rak piersi przerzutowy/inwazyjny/ w stadium III lub IV. Spełniło je 16 badań klinicznych (*clinical trials*), 9 artykułów przeglądowych i 5 rekomendacji leczenia; w 14 publikacjach do pomiaru użyto techniki CellSearch, w jednej testu FAST (*fiber-optic array scanning technology*) [11] i także w jednej Adna Test Breast Cancer [12].

WYNIKI I OMÓWIENIE

Czułość i swoistość testu CTC

Obecnie dostępne testy diagnostyczne mają dużą czułość, pozwalającą wykryć jedną komórkę rakową w ok. 7,5 ml krwi pobranej do badania. Charakteryzują się też wysoką swoistością (ponad 99%). Wykrywalność CTC w stadium progresji ma miejsce u ok. 38–82% pacjentek. W porównaniu metody obrazowej (PET/CT) z testem CTC zaobserwowano, że u 55% pacjentek z przerzutami potwierdzonymi w PET/CT występowały liczne CTC. Czułość metody w wykrywaniu przerzutowego raka piersi (MBC, *metastatic breast cancer*) przy użyciu CA 27.29 (*cancer antigen 27.29*) i PET/CT wyniosła 59% [14].

U 64% pacjentek z MBC i wysokim wynikiem CA 27.29 stwierdzono również dużą liczbę CTC (≥ 5) [14]. W badaniu Yagata i wsp. [15] CTC > 2 stwierdzono u 0% zdrowych ochotników i osób z łagodnym guzem piersi ($n = 57$), u 3,3% pacjentek z wczesnym rakiem piersi ($n = 30$) oraz u 50% pacjentek z przerzutowym rakiem piersi ($n = 38$).

W pracy Sanislo i wsp. [16] 3 na 12 zdrowych ochotników (25%) miało CTC = 1, u pacjentek z wczesnym BC ($n = 13$) stwierdzono 0–36 CTC, a u 10 z nich (83%) liczba CTC była > 2 . W badaniu Lang i wsp. [17] u 38% pacjentek ($n = 92$) z operacyjnym BC stwierdzono obecność CTC (mediana = 1, zakres 1–22).

Somlo i wsp. [11] wykryli CTC przy użyciu testu FAST u 62% pacjentek z lokalnie zaawansowanym/zapalnym BC i u 82% pacjentek z MBC ($n = 36$). Tewes i wsp. [12] przy użyciu Adna Test Breast Cancer potwierdzili obecność CTC u 52% pacjentek ($n = 42$) z MBC.

Pomiar CTC we krwi a przeżycie wolne od progresji choroby (PFS, *progression-free survival*) i przeżycie całkowite (OS, *overall survival*)

Porównanie wyników badań obrazowych i CTC u chorych na BC w IV stopniu zaawansowania wskazuje na korelację między progresją choroby wykazaną badaniem radiologicznym a wynikiem testu CTC wykonanego zarówno w dniu przeprowadzonego badania obrazowego, jak i w okresach 3–5 tygodni oraz 7–9 tygodni przed oceną radiologiczną u większości badanych (58–61%) [13]. Budd i wsp. [18] porównali wyniki obrazowania z liczbą CTC u 138 pacjentek z przerzutowym rakiem piersi. Mediana okresu przeżycia całkowitego (OS) przy braku radiologicznych cech progresji choroby była znacznie krótsza u pacjentek z CTC ≥ 5 niż u osób z CTC < 5 (odpowiednio 15,3 i 26,9 miesiąca). Podobnie mediana OS u pacjentek z radiologicznie stwierdzoną progresją choroby była znacznie dłuższa w przypadku liczby CTC < 5 niż

w przypadku CTC ≥ 5 (odpowiednio 19,9 i 6,4 miesiąca) [18]. Hayes i wsp. [19] wykazali silną zależność między liczbą CTC a medianami PFS i OS. W czasie każdego z pomiarów mediana PFS u pacjentek z CTC < 5 (5,6–7 miesięcy) była istotnie wyższa niż u pacjentek z CTC > 5 (1,3–3,6 miesiąca). Podobną tendencję zaobserwowano dla OS (Md OS dla CTC < 5 : od 18,6 do > 25 miesięcy, Md OS dla CTC > 5 : 6,3–10,9 miesiąca). W badaniach opublikowanych przez Cristofanilliego i wsp. [20, 21] mediana przeżycia całkowitego dla pacjentek z CTC < 5 wyniosła powyżej 18 miesięcy i była o 8 miesięcy dłuższa niż przy CTC ≥ 5 . Podobne wyniki odnotowano dla parametru przeżycia wolnego od choroby oraz potwierdzono w innej pracy tego samego zespołu [22]. Przeżycie bez progresji choroby dla wszystkich pacjentek wyniosło 5 miesięcy i było dłuższe dla pacjentek z CTC < 5 niż dla pacjentek z CTC ≥ 5 [20, 21]. Wykazano ponadto, że wynik testu CTC przed rozpoczęciem leczenia (pierwszej terapii) również koreluje z wynikiem czasu do progresji choroby i przeżycia całkowitego.

Do podobnych wniosków doprowadziły badania Tokudome i wsp. [23], którzy ustalili, że 2–3 miesiące po rozpoczęciu chemioterapii wskaźnik CTC jest przydatny do przewidzenia przeżycia całkowitego, szczególnie w przypadku zmian trudnych do oceny w badaniach obrazowych. Nolé i wsp. [24] zbadali poziom CTC u 80 pacjentek z zaawansowanym rakiem piersi. W momencie rozpoczęcia badania u 49 pacjentek (61%) stwierdzono CTC ≥ 5 . Analiza wieloczynnikowa wykazała, że liczba CTC była w sposób znaczący skorelowana z długością PFS, a jeśli jej wartość przekraczała 5, to ryzyko progresji choroby było pięciokrotnie większe niż w przypadku wartości 0–4.

Podsumowując: dostępne badania potwierdzają zależność długości okresu przeżycia całkowitego od liczby CTC, a także to, że ryzyko jest istotnie wyższe w grupie pacjentek z CTC ≥ 5 niż u pacjentek z CTC < 5 [18, 20, 21, 25, 26]. Podobną zależność obserwowano dla okresu przeżycia bez progresji choroby. Ryzyko progresji w grupie pacjentek z CTC > 5 jest istotnie wyższe niż u pacjentek z CTC < 5 [20, 21, 24]. Tak więc wynik testu CTC może być niezależnym czynnikiem rokowniczym, co dodatkowo zostało potwierdzone w metaanalizie 49 badań przeprowadzonej przez Liling Zhang i wsp. [29] w odniesieniu do PFS oraz OS.

Lokalizacja przerzutu a liczba CTC i odpowiedź na leczenie (PFS/OS)

Cristofanilli i wsp. [21] ocenili poziom CTC u 177 pacjentek z MBC. W grupie tej 83 osoby rozpoczęły leczenie pierwszej linii i u połowy z nich (52%) stwierdzono CTC ≥ 5 . Mediana okresu PFS wynosiła ponad 7 miesięcy, a OS ponad 18 miesięcy.

Pacjentki z CTC < 5 z przerzutami do narządów trzewnych miały dłuższe OS i PFS niż pacjentki z CTC > 5 w każdym momencie pomiaru.

OS dla CTC < 5 wynoszące powyżej 18 miesięcy utrzymywało się na stałym poziomie przed leczeniem i w jego trakcie. OS dla CTC ≥ 5 było krótsze. Taką samą zależność obserwowano dla parametru PFS.

W pracy opublikowanej w 2010 r. przez de Giorgiego i wsp. [26] porównywano znaczenie prognostyczne pomiaru CTC i skanu FDG-PET/CT u 195 pacjentek z przerzutowym rakiem piersi. CTC < 5 stwierdzono u 39% badanych, CTC ≥ 5 i < 21 u 26%, a CTC ≥ 21 u 35% osób z przerzutami (również na podstawie skanu FDG-PET/CT). CTC < 5 występowało u 84% pacjentek bez przerzutów w FDG-PET/CT, CTC ≥ 5 i < 21 występowało u 12%, a CTC ≥ 21 u 4% chorych. U żadnej pacjentki z ograniczonymi przerzutami nie stwierdzono CTC ≥ 21, u 82% wartość CTC wynosiła < 5, a u 18% CTC było ≥ 5 [26]. Mediana przeżycia całkowitego u pacjentek z CTC ≥ 5 dla pomiaru wyjściowego była krótsza niż dla pacjentek z CTC < 5, wynosiła ona odpowiednio 12,4 miesiąca i 18,5 miesiąca [26]. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy uznali, że liczba CTC jest dobrym wskaźnikiem długości OS w przypadku różnych przerzutów BC, w tym do kości, natomiast nie jest użyteczna u pacjentek bez przerzutów do kości lub z przerzutami tylko do kości.

Podsumowując: lokalizacja przerzutów może mieć znaczenie dla wyniku testu CTC, zwłaszcza obecność licznych przerzutów kosztnych wiąże się ze zwiększoną liczbą CTC.

Zależność między odpowiedzią na leczenie a liczbą CTC we krwi

Dane literaturowe wskazują na związek liczby CTC z wynikami badań obrazowych. W grupie z częściową odpowiedzią na leczenie (OCz) i stabilną chorobą (Sch) odsetek osób z CTC ≥ 5 jest niższy niż w przypadku pacjentek z progresją choroby (PCh) (odpowiednio 55%, 36% i 70%). Różnica uwidacznia się szczególnie w czasie pierwszej oceny po rozpoczęciu terapii (12%, 11% vs 67%) i w czasie pierwszej oceny odpowiedzi w badaniach obrazowych po rozpoczęciu terapii (5%, 8% vs 65%) [21]. Podobne wyniki uzyskali Nolé i wsp. [24]. Praca Budda i wsp. [18] wskazuje dodatkowo na niższy odsetek pacjentek z CTC < 5 w grupie z diagnozą PCh niż w grupie z diagnozami Sch lub OCz (14% i 60%).

Ryzyko progresji choroby u pacjentek z CTC ≥ 5 oceniane na podstawie badań obrazowych było ponad 6 razy większe niż u osób z CTC < 5. Zależność ta utrzymywała się również u pacjentek poddanych chemioterapii oraz terapii hormonalnej [13].

W publikacji Nakamury i wsp. [25] 64% (76/118) pacjentek z przerzutowym rakiem piersi (brak informacji nt. leczenia adiuwantowego)

miało CTC > 1, a 37% (44/118) CTC ≥ 5. Po pierwszym cyklu terapii (po 3–4 tyg.) u 6 z 7 (86%) pacjentek, u których zaobserwowano spadek liczby CTC o > 90%, stwierdzono również pełną lub częściową odpowiedź na leczenie na podstawie badań obrazowych, natomiast u 7 z 11 pacjentek (64%), u których nastąpił wzrost CTC o > 100%, stwierdzono progresję choroby.

W tabeli 1 zebrano wyniki trzech publikacji porównujące odpowiedź na leczenie przeciwnowotworowe w zależności od wyników badań obrazowych i liczby CTC we krwi.

WNIOSKI

Swoistość testów CTC jest wysoka [13, 14] dla poziomu wykrycia CTC < 5 lub ≥ 5 i wynosi prawie 100% przy dodatkowo wysokiej czułości (rzędu jednej komórki rakowej). Z tego powodu są one dokładnym narzędziem do potwierdzania obecności nowotworu [7].

Stwierdzono silną zależność między OS i PFS a liczbą CTC we krwi – wyniki pomiaru CTC korelują z przeżyciem w podobnym stopniu co wyniki badań obrazowych [13, 18, 21, 24].

Dane przedstawione we włączonych badaniach są spójne i pozwalają na stwierdzenie, że pomiar CTC we krwi może być klinicznie użytecznym wskaźnikiem całkowitego czasu przeżycia oraz czasu wolnego od progresji choroby, a także może być stosowany w monitorowaniu efektów terapii jako narzędzie do szybkiej oceny efektów leczenia. W przypadku pomiaru CTC ryzyko błędnej oceny nawrotu choroby i włączenia leczenia jest niższe niż w przypadku metod obrazowych [18, 27].

W przyszłości należałoby przeprowadzić kolejne badania dotyczące pomiaru liczby CTC we krwi pacjentek o wysokim ryzyku wznowy leczonych adiuwantowo, uwzględniające konkretne schematy i rodzaje terapii, gdzie metoda ta mogłaby umożliwić dokładniejsze monitorowanie efektów leczenia. Obecnie koszt pomiaru liczby CTC wynosi ok. 1600 złotych, przy czym obserwuje się tendencję spadkową przy coraz szerszym stosowaniu metody.

Dokładniejsze przewidzenie efektywności leczenia jest bardzo istotne, ponieważ może oszczędzić pacjentom działań niepożądanych związanych ze źle dobraną terapią i umożliwić o wiele szybszą niż przy zastosowaniu metod obrazowych zmianę na skuteczniejszą terapię.

Pomiar liczby CTC we krwi pacjentek jest przedmiotem wielu badań i może służyć jako wskaźnik prognostyczny nie tylko w raku piersi, ale również w raku prostaty oraz jelita grubego [28].

TABELA 1.

Odpowiedź na leczenie – liczba CTC we krwi a wyniki badań obrazowych.

Publikacja	Charakterystyka populacji	Pomiar w czasie	Całkowita liczba pacjentów	Liczba pacjentów z PR	Liczba pacjentów z SCh	Liczba pacjentów z PD	Odpowiedź na leczenie n (%)				
							OCz ≥ 5 CTC	SCh ≥ 5 CTC	PCh ≥ 5 CTC	SCh/OCz < 5 CTC	PCh < 5 CTC
Budd i wsp. [18]	pacjenci z progresją MBC, rozpoczynające I linię terapii, leczenie adiuwantowe dozwolone	pierwsza ocena radiologiczna	138	na	na	na	13 (9)	22 (16)	83 (60)	20 (14)	
Cristofanilli i wsp. [21]	pacjenci z progresją MBC, rozpoczynające I linię leczenia, 55 pacjentek (61%) otrzymało leczenie adiuwantowe	baseline	79	20 (25)	39 (49)	20 (25)	11 (55)	14 (36)	14 (70)	nd	nd
		pierwsza ocena tylko CTC po rozpoczęciu terapii	60	17 (28)	28 (47)	15 (25)	2 (12)	3 (11)	10 (67)	nd	nd
		kolejna ocena CTC razem z oceną radiologiczną po rozpoczęciu terapii	79	20 (25)	39 (50)	20 (25)	1 (5)	3 (8)	13 (65)	nd	nd
Nolé i wsp. [24]	pacjenci z MBC rozpoczynające terapię lub już leczone z powodu zaawansowanej choroby, minimum dwie linie leczenia	baseline					9 (53)	20 (54)	19 (76)	nd	nd
		ocena	80	17 ¹	37	25	1 (6)	11 (30)	12 (48)	nd	nd

¹ N pacjentek po leczeniu adiuwantowym = 51 (61%).

Ważniejsze skróty:

Md – mediana

CTC – krążące komórki nowotworowe

BC – rak piersi

PFS – przeżycie wolne od progresji choroby

OS – całkowite przeżycie

PCh – postęp choroby

SCh – stabilna choroba

OCz – odpowiedź częściowa

HR – wskaźnik ryzyka

FU – *follow-up*

MBC – przerzutowy rak piersi

Piśmiennictwo

- O'Shaughnessy J.: Extending Survival with Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer. *Oncologist* 2005; 10(supl. 3): 20-29.
- Breastcancer.org: Breast Cancer Tests: Screening, Diagnosis, and Monitoring [online: <http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types>] (dostęp: 21 maja 2013).
- Vaughan C.L.: New developments in medical imaging to detect breast cancer. *Continuing Medical Education* 2012; 30(1): 12-15.
- National Vancer Institute: NCI Cancer Bulletin for February 14, 2007 [online: <http://www.cancer.gov/aboutnci/ncicancerbulletin/archi-ve/2007/021407/page5>] (dostęp: 21 maja 2013).
- Krebs M.G., Hou J.M., Ward T.H. et al.: Circulating tumour cells: their utility in cancer management and predicting outcomes. *Ther. Adv. Med.*

- Oncol. 2010; 2(6): 351-365.
6. Mikulová V., Kološťová K., Zima T.: Methods for detection of circulating tumour cells and their clinical value in cancer patients. *Folia Biol. (Praha)* 2011; 57(4): 151-161.
 7. Kołacińska A., Pawlak M., Morawiec Z.: Nowoczesne testy diagnostyczne w raku piersi. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2007; 3(2): 56-58.
 8. Oakman C., Pestrin M., Bessi S. et al.: Significance of Micrometastases: Circulating Tumor Cells and Disseminated Tumor Cells in Early Breast Cancer. *Cancers* 2010; 2(2): 1221-1235.
 9. Alix-Panabières C., Riethdorf S., Pantel K.: Circulating Tumor Cells and Bone Marrow Micrometastasis. *Clin Cancer Res* 2008; 14(16): 5013-5021.
 10. FDA: CellSearch™ Epithelial Cell Kit / CellSpotter™ Analyzer. FDA Clearance Letter 2004.
 11. Somlo G., Lau S.K., Frankel P. et al.: Multiple biomarker expression on circulating tumor cells in comparison to tumor tissues from primary and metastatic sites in patients with locally advanced/inflammatory, and stage IV breast cancer, using a novel detection technology. *Breast Cancer Res. Treat.* 2011; 128(1): 155-163.
 12. Tewes M., Aktas B., Welt A. et al.: Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115(3): 581-590.
 13. Liu M.C., Shields P.G., Warren R.D. et al.: Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(31): 5153-5159.
 14. Saad A., Kanate A., Sebai A. et al.: Correlation among [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, cancer antigen 27.29, and circulating tumor cell testing in metastatic breast cancer. *Clin. Breast Cancer* 2008; 8(4): 357-361.
 15. Yagata H., Nakamura S., Toi M. et al.: Evaluation of circulating tumor cells in patients with breast cancer: multi-institutional clinical trial in Japan. *Int. J. Clin. Oncol.* 2008; 13(3): 252-256.
 16. Sanislo L., Kuliffay P., Sedlak J. et al.: Advanced detection and measurement of cells on membrane from peripheral blood by laser scanning cytometry (LSC) in early stage breast cancer patients. *Bratisl. Lek. Listy* 2010; 111(1): 13-19.
 17. Lang J.E., Mosalpuria K., Cristofanilli M. et al.: HER2 status predicts the presence of circulating tumor cells in patients with operable breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 113(3): 501-507.
 18. Budd G.T., Cristofanilli M., Ellis M.J. et al.: Circulating Tumor Cells versus Imaging – Predicting Overall Survival in Metastatic Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12(21): 6403-6409.
 19. Hayes D.F., Cristofanilli M., Budd G.T. et al.: Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12(14 Pt1): 4218-4224.
 20. Cristofanilli M., Budd G.T., Ellis M.J. et al.: Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 781-791.
 21. Cristofanilli M., Hayes D.F., Budd G.T. et al.: Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(7): 1420-1430.
 22. Cristofanilli M., Broglio K.R., Guarneri V. et al.: Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: biologic staging beyond tumor burden. *Clin. Breast Cancer* 2007; 7(6): 471-479.
 23. Tokudome N., Ito Y., Takahashi S. et al.: Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of heavily treated metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer* 2011; 18(3): 195-202.
 24. Nolé F., Munzone E., Zorzino L. et al.: Variation of circulating tumor cell levels during treatment of metastatic breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Ann. Oncol.* 2008; 19(5): 891-897.
 25. Nakamura S., Yagata H., Ohno S. et al.: Multi-center study evaluating circulating tumor cells as a surrogate for response to treatment and overall survival in metastatic breast cancer. *Breast Cancer* 2010; 17(3): 199-204.
 26. Giorgi U.D., Valero V., Rohren E. et al.: Circulating tumor cells and bone metastases as detected by FDG-PET/CT in patients with metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.* 2010; 21(1): 33-39.
 27. Beveridge R.: Circulating tumor cells in the management of metastatic breast cancer patients. *Community Oncology* 2007; 4(2): 79-82.
 28. Yu M., Stott S., Toner M. et al.: Circulating tumor cells: approaches to isolation and characterization. *J. Cell Biol.* 2011; 192(3): 373-382.
 29. Zhang L., Riethdorf S., Wu G. et al.: Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer. *Clinical Cancer Research* 2012; 18(20): 5701-5710.

Adres do korespondencji:

Dariusz Brenski, MD
Como, Włochy
via Turati, 29 20121 Milan – Italy
e-mail: dbrenski@gmail.com