



## Células tumorales circulantes en paciente sometido a trasplante ortotópico hepático por hepatocarcinoma

## Circulating Tumoral Cells in a patient with hepatocellular carcinoma subjected to orthotopic liver transplant

### Autores

Luis Francisco Sáenz Mateos<sup>1</sup>  
Virginia de la Orden García<sup>2</sup>  
María Isabel Sánchez Lorencio<sup>3</sup>  
Pablo Ramírez Romero<sup>4</sup>

### Centros

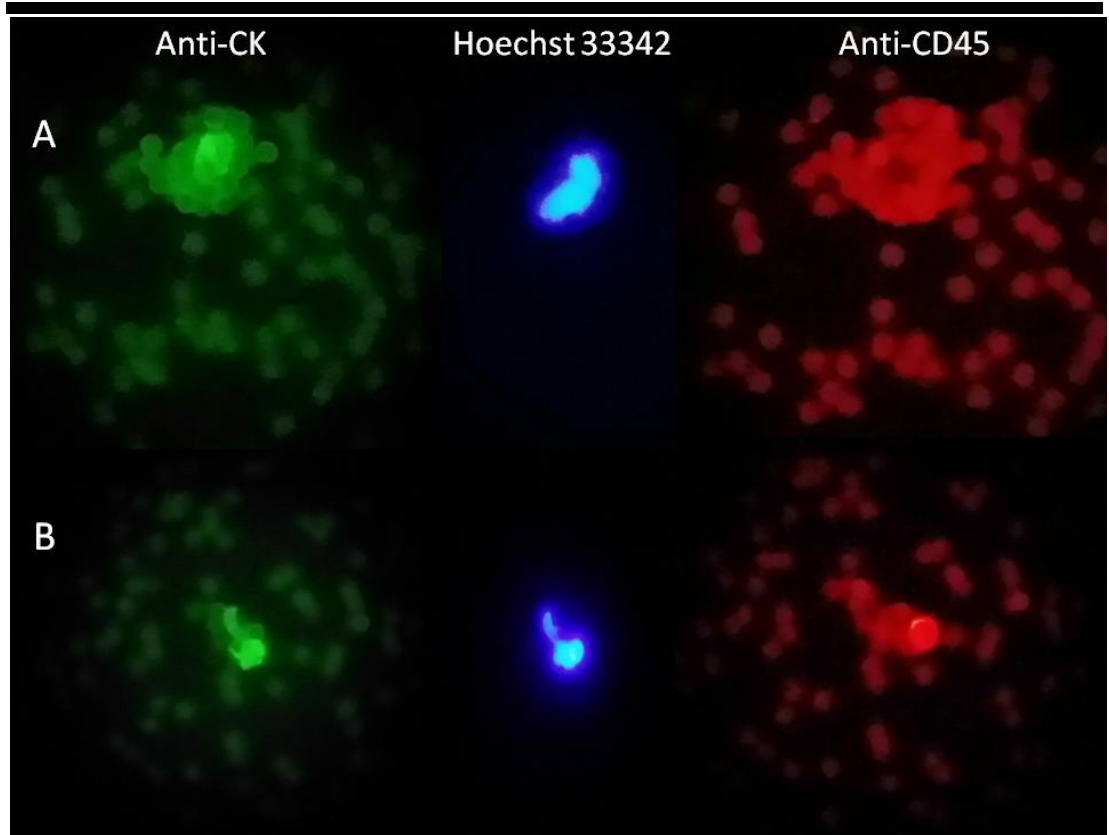
<sup>1</sup>Laboratorio Unificado de Navarra (LUNA). Complejo Hospitalario de Navarra.  
<sup>2</sup>Unidad de CTCs. Servicio de Oncología Médica. Hospital Clínico San Carlos, Madrid.  
<sup>3</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia.  
<sup>4</sup>Unidad de Trasplante hepático. Servicio de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca-IMIB, Murcia.

### Fecha de publicación

21 diciembre 2015

### Páginas

Páginas 8-11



Presentamos una imagen correspondiente a la sangre periférica de pretrasplante hepático de un paciente de 55 años con hepatocarcinoma (HCC) que cumplía los Criterios de Milán. En ella se distingue una célula tumoral circulante (CTC) de hepatocarcinoma aislada por el método microfluídico IsoFlux™ System (Fluxion Biosciences Inc, South San Francisco, CA) basado en la captura inmunomagnética de CTCs por

We present an image obtained from peripheral blood of a 55 years old liver pretransplant patient with hepatocellular carcinoma, who was in compliance with the Milan criteria. A hepatocellular carcinoma CTC can be observed. It was isolated by means of the IsoFlux™ System (Fluxion Biosciences Inc, South San Francisco, CA), a microfluidic platform that uses flow control and *anti-epithelial cell adhesion molecule* (EpCAM) immunomagnetic capture to enhance CTC isolation.

anticuepos *anti-epithelial cell adhesion molecule* (EpCAM).

Este método permite posteriormente el recuento por inmunofluorescencia de las CTCs presentando positividad para anti-citoqueratina intracitoplasmática (verde), positividad para *Hoechst* 33342, que tiñe el núcleo de la células (azul) y negatividad para el anti-CD45, que marca a los leucocitos (rojo), tal y como se puede comprobar en el apartado A de la figura. En el apartado B se puede observar una célula con fenotipo anti-citoqueratina positivo, *Hoechst* 33342 positivo y anti-CD45 positivo siendo identificada por tanto como un leucocito.

El paciente presentó antes del trasplante ortotópico hepático (OLT) 91 CTCs/10 mL, sin embargo, al mes y medio de la intervención no presentó CTCs en su sangre periférica. Las imágenes de la tomografía por emisión de positrones-tomografía computada (PET-TC) no mostraron la existencia de enfermedad residual.

En pacientes con HCC que cumplen los Criterios de Milán, esto es, tumor único  $\leq 5$  cm o hasta tres lesiones distintas, siendo ninguna de ellas mayor de 3 cm, el trasplante ortotópico hepático es la opción más viable para su tratamiento, alcanzándose tasas de supervivencia de hasta el 75% a los 4 años de seguimiento<sup>1</sup>. A pesar de ello, el porcentaje de recidivas no es despreciable, siendo preocupante las metástasis extrahepáticas<sup>2</sup>.

Actualmente se ha demostrado que los niveles de CTCs preoperatorios pueden ser un indicador de recidiva<sup>3</sup>. Las CTCs se consideran biomarcadores emergentes del proceso metastásico proporcionando una biopsia líquida a tiempo real que permite identificar a pacientes con riesgo de recaídas,

This technology allows the identification and enumeration of CTCs under a fluorescence microscope. In section A of figure, a CTC can be identified, which shows positivity for intracytoplasmatic cytokeratin (green) and for *Hoechst* 33342, which stains the cell nucleus (blue), while shows negativity for CD-45 (red), which is a leukocyte marker. In section B, a leukocyte can be distinguished from a CTC, since it shows positivity for the three markers, including the CD-45.

The number of CTCs found in the patient's peripheral blood before OLT was 91 CTCs/ 10mL, however, one month and a half after surgery, no CTC was recovered from the patient's peripheral blood. No images of residual cancer were obtained from the Positron Emission Tomography-Computed Tomography (PET-CT).

For patients with HCC in compliance with the Milan criteria, this is, one nodule smaller than 5cm, or up to 3 nodules being the biggest not greater than 3cm, OLT is the most favorable treatment option, reaching an overall survival (OS) of 75% after 4 years of follow up<sup>1</sup>. Even though, the percentage of recurrence is not a negligible number, being the extra hepatic localization a matter of concern<sup>2</sup>.

Nowadays it has been established that the preoperative CTC levels can be a recurrence indicator<sup>3</sup>. CTCs are considered as a biomarker emerging from the metastasis process and providing a real time liquid biopsy, which allows the clinicians to identify patients with low risk of recurrence, to classify patients depending on the adjuvant therapies they will receive and to monitor the treatment in different types of cancer<sup>4-6</sup>.

estratificar a los pacientes para recibir terapias adyuvantes y para monitorizar el tratamiento en distintos tipos de cáncer<sup>4-6</sup>.

Existe una gran variedad de técnicas basadas en distintos ensayos que permiten detectar CTCs. Esa variedad provoca que los resultados sean difícilmente comparables, equiparables y concordantes. En la actualidad los métodos que mejores resultados están alcanzando en los distintos tipos de cáncer son los basados en la captura inmunomagnética por el uso de anticuerpos anti-EpCAM. Esta molécula epitelial está presente en aquellos tumores de origen epitelial, como son los carcinomas.

En la actualidad, no existen datos sobre la utilidad de la determinación de CTCs por métodos microfluídicos en esta clase de pacientes, escenario más desfavorable desde el punto de vista oncológico por la terapia inmunosupresora necesaria para evitar el rechazo del órgano trasplantado. Sin embargo, nuestro grupo ha demostrado que presenta mayor capacidad de aislamiento de CTCs en pacientes con HCC que el método *CellSearch® platform* (Janssen Diagnostics, Raritan, NJ, USA), validado por la *US Food and Drug Administration* (FDA) para el pronóstico de pacientes metastásicos de cáncer de mama, próstata y colon<sup>7</sup>.

El paciente no presentó hallazgos de enfermedad metastásica por PET-TC, ni CTCs en sangre periférica tras el trasplante. Es necesario seguir la evolución de estos pacientes para comprobar si el estudio de las CTCs por esta tecnología nos permite establecer un riesgo de recidiva. El disponer de este marcador predictivo sería de gran utilidad al permitir una mejor selección de pacientes, evitando el OLT en pacientes con bajas probabilidades de supervivencia, mejorando la gestión de las listas de espera y

Due to the wide variety of methodologies developed to detect CTCs, it becomes difficult to compare or relate results between different studies. Nowadays, enrichment of CTCs by immunomagnetic capture by the use of anti-EpCAM antibodies has been the most successful and widely used approach. This molecule is present in tumors of epithelial origin, like carcinomas.

To date, no studies have been performed using microfluidic platforms like IsoFlux system in HCC patients, who represent the most unfavorable scenario from the oncologic point of view because of the immunosuppressant therapy these patients need for avoiding a rejection of the transplanted organ. However, our group has recently stated that this technology has a greater capacity to isolate CTCs from HCC patients than the *CellSearch® system* (Janssen Diagnostics, Raritan, NJ, USA), which is the only approach that has been approved by the US Food and Drug Administration (FDA) to determine breast, prostate and cancer patients prognosis<sup>7</sup>.

No metastatic disease findings were detected by PET-TC, nor CTCs isolated from peripheral blood after transplant in the studied patient. Following the evolution of this kind of patients is necessary to assess whether the determination of CTCs by the IsoFlux system makes it possible to establish a recurrence risk. The availability of this predictive marker would be of great usefulness to perform a better patient selection, avoiding OLT in patients with low probabilities of survival, improving the management of the waiting list and permitting the access to OLT to the patients with better probabilities of survival.

permitiendo el acceso al OLT a otros pacientes con mayores probabilidades de supervivencia.

### **Bibliografía/References:**

1. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334:693.
2. Bruix J, Sherman M; Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2005;42:1208-36.
3. Sun YF, Xu Y, Yang XR, Guo W, Zhang X, Qiu SJ, et al. Circulating stem cell-like epithelial cell adhesion molecule-positive tumor cells indicate poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Hepatology.* 2013;57(4):1458-68.
4. Pantel K, Alix-Panabières C. Circulating tumour cells in cancer patients: challenges and perspectives. *Trends Mol Med.* 2010;16(9):398-406.
5. Jacob K, Sollier C, Jabado N. Circulating tumor cells: detection, molecular profiling and future prospects. *Expert Rev Proteomics.* 2007;4(6):741-56.
6. Attard G, de Bono JS. Utilizing circulating tumor cells: challenges and pitfalls. *Curr Opin Genet Dev.* 2011;21(1):50-8.
7. Sanchez-Lorencio MI, Ramirez P, Saenz L, Martínez Sánchez MV, de la Orden V, Mediero-Valeros B, et al. Comparison of two types of liquid biopsy in hepatocellular carcinoma patients awaiting for orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc.* 2015 (in press).