BIOPSIA LIKUIDE, NJË METODË AKTUALE PËR ZBULIMIN DHE MONITORIMIN E HERSHËM TË KANCERIT

Liridona Gashi

Doktor i Mjekësisë

Zbulimi i hershëm i kancerit dhe diagnoza e saktë janë barriera kryesore në parandalimin dhe trajtimin e kancerit. Identifikimi i biomarkerëve për lloje specifike të kancerit është thelbësor për lehtësimin e diagnostikimit të hershëm, përmirësimin e rezultateve të trajtimit dhe sigurimin e një prognoze të favorshme. Metodat tradicionale të diagnostikimit zakonisht përdorin teknika invazive që mund të jenë të rrezikshme, të kushtueshme dhe të pakëndshme. Një ndër problematikat e biopsisë është qasja në tumor duke u bazuar në vendndodhje, ku tek personat me sëmundje të tjera i bën ata të papërshtatshëm për biopsi. Pikërisht në këtë kontekst po hulumtohet biopsia likuide si një alternativë në trajtimin e neoplazmave. Këto procedura inovative, pak invazive ose jo-invazive synojnë të identifikojnë biomarkerët për të ofruar dhe identifikuar terapinë e synuar.

Biopsia likuide

Biopsia likuide është një term kolektiv i analizës së lëngjeve të trupit si urina, gjaku, lëngu cerebrospinal dhe pështyma. Termi u prezantua për herë të parë në vitin 2010 dhe ka qenë në këtë fushë që atëherë. Në teste të tilla të karakterizuara për specifikat e tyre në lidhje me diagnozën e kancerit, biopsia likuide fokusohet në identifikimin e biomarkuesve specifikë të cilët përfshijnë: 1. biomarkerët që rrjedhin nga tumori si qelizat e tumorit qarkullues (CTCs), ADN-ja e tumorit pa qeliza (ctDNA), ARN (përfshirë ARN-në jo-koduese, mikroRNA dhe ARN-në mesazhere), vezikulat jashtëqelizore dhe proteinat qarkulluese, dhe 2. përbërësit e sistemit imunitar dhe qelizat imune qarkulluese. Biopsitë likuide janë metoda jo-invazive ose minimalisht invazive që ofrojnë një pamje sistematike të një spektri në zhvillim të heterogjenitetit të tumorit duke mundësuar monitorimin e progresionit të kancerit. Klinikisht, këto teste mund të shërbejnë për:

- Diagnostikimin e hershëm të kancerit nëpërmjet analizës së sasive të konsiderueshme të gjakut.
- Stadifikimin e tumoreve dhe monitorimi i pacientëve me kancer të lokalizuar, duke bërë dallimin midis përsëritjes së tumorit tek pacientët me rrezik të ulët dhe të lartë.
- Parashikimin e progresionit metastatik në rastet e avancuara të kancerit.
- Vlerësimin e efektivitetit të trajtimit.

Vështirësia në diagnostikimin e hershëm të tumoreve është se ato janë me madhësi të vogël dhe biomarkerët e tyre të liruar ekzistojnë në përqendrime të ulëta në gjak. Shënues të tjerë sistematik që nuk rrjedhin nga tumoret, janë zakonisht në përqendrime më të mëdha. Kjo qasje bimodale, duke kombinuar sinjale nga burime tumorale dhe jo tumorale rrit gjasat për diagnostikimin e hershëm të kancerit.

Qelizat tumorale qarkulluese

Qelizat e tumorit qarkullues (CTC) u zbuluan për herë të parë nga Ashworth në 1869. Përdorimi i CTC-ve për zbulimin dhe profilizimin e tumorit ofron një alternativë më praktike ndaj biopsive tradicionale, duke çuar në strategji të reja për diagnostikimin, monitorimin e metastazave dhe gjurmimin e përsëritjes së tumorit. CTC-të lirohen në qarkullimin e gjakut nga tumoret dhe mund të udhëtojnë nëpërmjet sistemit të qarkullimit të gjakut ose limfatik në organet e tjera, duke shkaktuar metastaza të largëta. Fillimisht, përmbajtja e hulumtimit të biopsisë së lëngshme u bazua në CTC. CELLSEARCH®

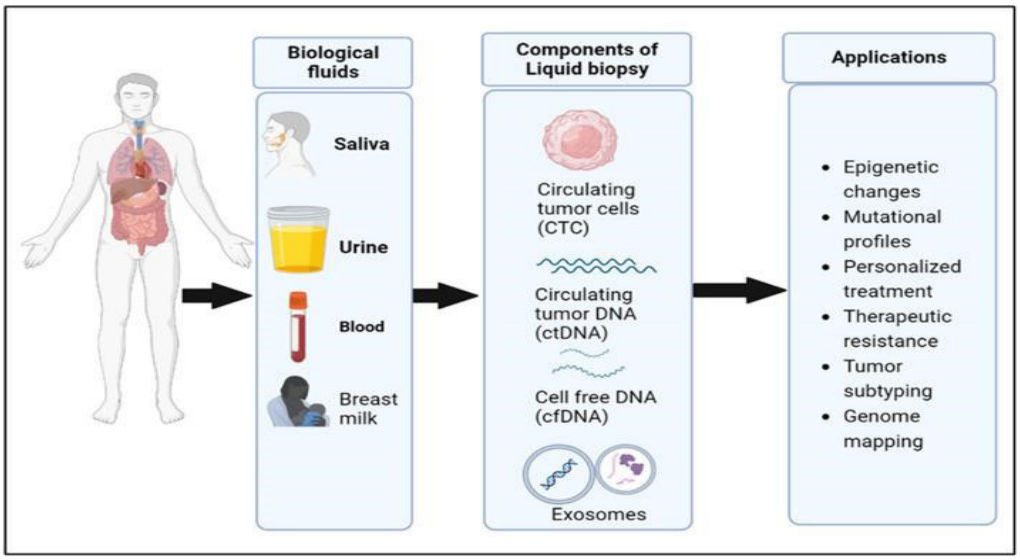

Figura 1. Një përmbledhje e biopsive likuide dhe aplikimet e tyre (Sandeep Sisodiya, Vishakha Kasherwal, Khan A, Roy B, Goel A, Kumar S, et al. Liquid Biopsies: Emerging role and clinical applications in solid tumours. Translational Oncology. 2023 Sep 1;35:101716-6.)

Korrespodenca:
gashiliridona25@gmail.com

u bë metoda e parë e miratuar nga FDA për izolimin dhe kulturën e CTC nga gjaku i pacientit. CTC shprehin shënues të ndryshëm molekularë, ku modeli i tyre i shprehjes ndryshon sipas histologjisë së tumorit. Zakonisht tumoret kanë origjinë nga qelizat epiteliale, një shënues i zakonshëm epitelial quhet EpCAM, i cili përdoret shpesh në identifikimin e CTC. Shprehja e EpCAM ndryshon midis llojeve të ndryshme të kancerit, me shprehje të spikatur në kancerin e gjirit dhe të prostatës. Megjithatë CTC ekzistojnë në numër shumë të ulët, duke qenë më pak se 10 CTC për mililitër gjak, edhe në pacientët me sëmundje metastatike. Incidenca e ulët kërkon përdorimin e teknologjive shumë të ndjeshme për zbulimin efektiv të CTC dhe izolimin nga një mori qelizash të tjera të gjakut. Heterogjeniteti midis llojeve dhe fazave të ndryshme të kancerit, si dhe variacionet gjatë trajtimit vazhdojnë të afirmojnë nevojën për shënues të ndryshëm CTC. Numri i kufizuar i shënuesve molekularë aktualisht vendos një pengesë në identifikimin e plotë të CTC. Prandaj, vëmendja e madhe po përqendrohet në zhvillimet e qasjeve më të besueshme të zbulimit të CTC për të lehtësuar diagnozën e përdorimit klinik dhe implikimet terapeutike.

ADN-ja pa qeliza dhe ADN-ja e tumorit qarkullues

ADN-ja pa qeliza(cfDNA) i referohet ADN-së së fragmentuar, e pranishme në lëngje të ndryshme trupore. Këto fragmente zakonisht lëshohen nga qelizat që i nënshtrohen apoptozës, nekrozës ose sekretimit aktiv nga tumoret. Zbuluar për herë të parë nga Mandel dhe Métais më 1948, cfDNA qarkullon si në individë të shëndetshëm ashtu edhe në të sëmurë. Hulumtimet tregojnë se këto nivele të cfDNA rriten me stresin e indeve nga inflamacioni, procedurat kirurgjikale, lëndimet akute dhe aktivitetet fizike. Që nga ardhja e saj, analiza cfDNA është vendosur për një mori aplikimesh klinike që përfshijnë shqyrtimin prenatal, identifikimin e çrregullimeve imune, monitorimin e rezultatit të transplantit të organeve dhe zbulimin e kancerit. ADN-ja e tumorit qarkullues (ctDNA) i referohet cfDNA-së me prejardhje nga tumori, që gjendet në qarkullim dhe arrin në rreth 1 deri në 2% të cfDNA totale në pacientët me kancer. ctDNA mund të dallohet nga një cfDNA e tillë jo-tumorale me anë të ndryshimeve gjenetike specifike që përfshijnë shënues unik të metilimit dhe mutacione somatike. ctDNA vazhdon të shërbejë si një mjet i fuqishëm molekular për vendimet e trajtimit, vlerësimin e prognozës dhe zbulimin e sëmundjes së mbetur ose rrezikut të përsëritjes. Një studim nga Johns Hopkins shqyrtoi 640 mostra pacientësh duke përdorur Digital Droplet PCR dhe zbuloi se 48-73% e pacientëve me kancer kolorektal, gastrointestinal, pankreas dhe gji shfaqin ctDNA të zbulueshme. ctDNA është njohur në studime të shumta se luan një rol të rëndësishëm si një shënues i padyshimtë diagnostikues për profilin molekular të tumorit, veçanërisht në kancerin e mushkërive me qeliza jo të vogla (NSCLC).

Vezikulat jashtëqelizore

Vezikulat jashtëqelizore (EVs) janë grimca të vogla me membranë që gjenden në lëngje të trupit. Ato funksionojnë së bashku me sinjalizimin ndërqelizor dhe janë të përfshira në shumë procese fiziologjike dhe patologjike. Në përgjithësi mund të ndahen në tre kategori: ekzosome, mikrovezikula dhe trupa apoptotikë. Këto fshikëza përmbajnë një shumëllojshmëri të gjerë të biomolekulave të karbohidrateve, lipideve, proteinave, metabolitëve, acideve ribonukleike dhe fragmenteve të ndryshme të ADN-së. Hulumtimet deri më tani kanë dokumentuar se EV-të nga pacientët me kancer strehojnë disa molekula të lidhura me tumorin. Ato ofrojnë shumë përparësi ndaj ctDNA dhe CTC. Me strukturën e tyre të membranës së dyshtresës lipidike, EV-të duket të jenë më të qëndrueshme se çdo acid nukleik duke ndihmuar në ruajtjen e informacionit origjinal biologjik. Megjithatë, mungesa e protokolleve të standardizuara dhe ndryshueshmëria midis metodave me të cilat mund të izolohen EV-të paraqesin sfida për këtë aplikim klinik. EV-të ndonjëherë mund të jenë kontribuuesit mbështetës të fenomeneve anti ose pro patogjene: mund të ndihmojnë në stimulimin e rritjes së kancerit, metastazave gjë që çon në progresion të sëmundjes, mirëpo lidhja e tyre me kancerin ka hapur rrugë të reja drejt përdorimit të tyre në diagnostikim dhe terapi. Ekzozomet shërbejnë si shënues diagnostikues për disa tumore të ngurta si NSCLC, kanceri ovarian, kanceri i gjirit, kanceri i prostatës dhe karcinoma hepatocelulare. Ende përballemi me disa sfida të konsiderueshme në përdorimin e tyre për diagnostikimin e tumorit, pasi disa nga mikroARN-të brenda këtyre vezikulave janë të zakonshme për kancere të ndryshme duke e bërë të vështirë diagnostikimin midis llojeve specifike.

Proteinat

Proteinat, që kryejnë funksione të ndryshme qelizore, tregojnë një rrugë të ndritshme drejt identifikimit të biomarkerëve të rinj dhe aplikimeve klinike të tyre. Megjithatë, analizave aktuale më të përhapura të proteinave u mungon kapaciteti i kërkuar për qëllime diagnostikuese. Antigjeni specifik për prostatën (PSA) është një shembull i një biomarkeri proteinash për diagnozën e kancerit të prostatës, por dobia e tij klinike është vënë në dyshim. Nivelet e antigjenit specifik të prostatës janë të ngritura në kushte të tjera përveç kancerit të prostatës, të tilla si prostatiti dhe hiperplazia beninje e prostatës. Për më tepër mosha, përkatësia etnike, indeksi i masës trupore dhe përdorimi i

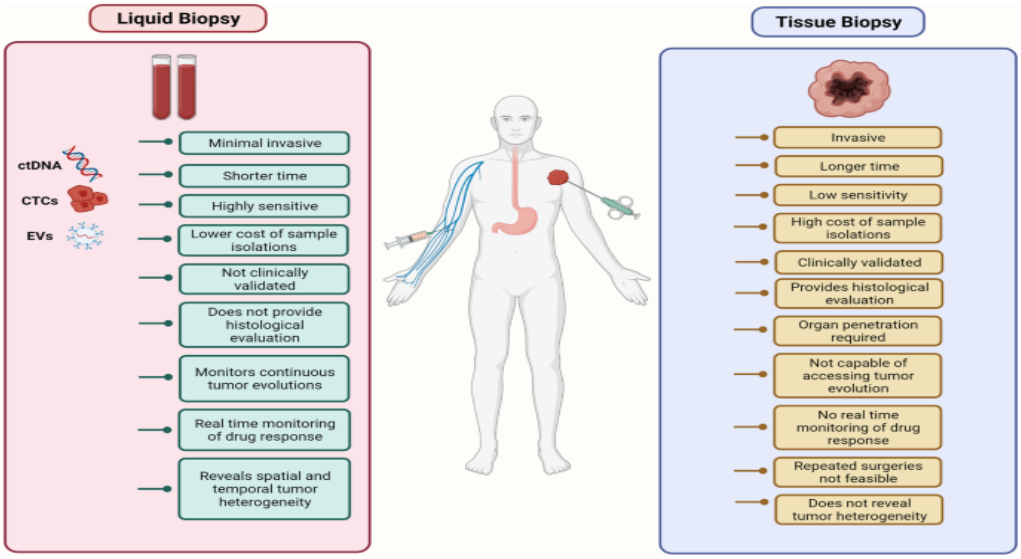

Figura 2. Krahasimi i biopsisë invazive të indeve dhe biopsisë likuidale. (Lone SN, Nisar S, Masoodi T, Singh M, Rizwan A, Hashem S, et al. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. Molecular Cancer [Internet]. 2022 Mar 18;21(1). Available from: https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-022-01543-7).

ilaçeve duhet gjithashtu të merren parasysh kur të përcaktohet se çfarë përbëjnë nivele të larta të PSA. Antigjeni i kancerit 125 (CA125) është një shënues kryesor i kancerit ovarian që ka qenë në përdorim për gati 40 vjet. Megjithatë, nuk është i veçantë për këtë kancer dhe as i kufizuar në të, pasi kursi mund të përfshijë menstruacionet, endometriozën dhe shtatzëninë. Është propozuar në disa studime që të përfshijnë përdorimin e paneleve ose nënshkrimeve biologjike që përbëhen nga më shumë se një proteinë, si dhe një kombinim të dy biomarkerëve të proteinave dhe ADN-së për të rritur saktësinë diagnostike.

Përparësitë e biopsisë likuide

Biopsitë likuide aktualisht nuk janë pjesë e punës standarde për diagnostikimin e tumoreve. Ato mund të ofrojnë teste plotësuese ose imazhe shtesë. Biopsitë likuide kanë përfitime të shumta dalluese në krahasim me procedurat tradicionale kirurgjikale. Nga natyra e tyre e përbashkët, këto kryesisht kërkojnë një kosto më të lirë me mundësi më të mirë për përsëritje dhe besueshmëri të përmirësuar. Kështu, në përgjithësi ato mund të zgjerojnë aplikimet e mundshme në zonën e grupeve me të ardhura të ulëta dhe të mesme. Në disa situata, biopsia kirurgjikale mund të mos merret në konsideratë për shkak të rreziqeve të tjera të larta që lidhen me të. Për më tepër, biopsitë likuide paraqesin shumë më pak sfida në lidhje me heterogjenitetin e mostrës që shkakton diagnozë të gabuar në biopsi kirurgjikale. Ndryshe nga mostrat e indeve, të cilat shpesh kanë nevojë për ruajtje, biopsitë likuide ofrojnë një burim të freskët dhe të qëndrueshëm të materialeve me prejardhje nga tumori. Ato mund të kryhen më shpejt me sfond gjenomik, proteomik dhe metabolik të marrë në një mënyrë jo invazive. Megjithatë, biopsitë likuide mund të zhgënjejnë disa pacientë. Kështu për shembull jo çdo kancer liron mjaftueshëm ADN për t'u kapur, duke përfshirë shumë tumore në fazat e hershme, kancerin e mushkërive me qeliza të vogla dhe disa nga kanceret gjinekologjike. Për më tepër, tiparet unike gjenetike në disa individë mund të çojnë në rezultate të shtrembëruara të testit, duke rezultuar në pasaktësi të mundshme. Kjo do të thotë se biopsitë likuide janë të shkëlqyera, por ato në asnjë mënyrë nuk zëvendësojnë biopsitë aktuale, kritike për një diagnozë të plotë dhe përfundimtare të kancerit. Figura 2

Metodologjia

Hulumtimi i këtij punimi është "rishikim i literaturës ekzistuese" me bazë në publikime të ndryshme ndërkombëtare shkencore-mjekësore dhe informata shkencore marrë nga ueb faqe të ndryshme. Të gjitha burimet informative janë të cituara në pjesën e referencave.

Konkluzioni

Studimet aktuale paraqesin role gjithnjë e më premtuese të biopsive likuide, si një ndihmë në zbulimin e hershëm të kancerit dhe menaxhimin e trajtimit. Aplikimi i tyre është i përshtatshëm për ekzaminimin e popullatave me rrezik të lartë, zbulimin e heterogjenitetit të tumorit dhe identifikimin e mutacioneve të reja që shkaktojnë kancer. Teknologjitë ekzistuese për të përcaktuar aktivitetin e tumorit ofrojnë vetëm informacion sipërfaqësor, për dallim nga biopsitë likuide që ofrojnë aftësinë për të vëzhguar rritjen e kancerit nga një pikë molekulare, të afta për të identifikuar kanceret më herët se sa është menduar ndonjëherë. Ato gjithashtu mundësojnë që të kontrollohet diversiteti intratumoral me monitorimin e tumoreve në fazat e hershme shumë kohë përpara se këto procese të jenë të dukshme në rrethana tradicionale. Megjithatë, sfidat mbesin. Specifika e këtyre testeve duhet ende të vlerësohet, mungesa e standardizimit të testeve ka kufizuar kryesisht mundësitë për biomarkues të dalluar dhe kostot aktualisht vlerësohen si shumë të larta. Nevojiten studime për të përmirësuar zbulimin gjithëpërfshirës të kancerit nëpër organe të shumta dhe për të përmirësuar analizën e tumorit, gjë që mund të ndikojë ndjeshëm në praktikat klinike.

Liquid Biopsy Assay	Clinical Application	Genes Analyzed
FoundationOne ® Liquid CDx assay	NSCLC, mCRPC	70 genes + MSI-H (BRCA 1, 2, EGFR)
Guardant360 ® CDx assay	NSCLC, pan-cancer	70 genes using NGS
Therascreen ® (Qiagen) PI3KCA	Breast cancer	11 mutation in PIK3CA gene
EpiproColon ®	Colorectal cancer	PCR, methylation
Cobas ® EGFR mutation test (Roche)	NSCLC	EGFR variants
In Vision First-Lung ®	NSCLC	37 genes NSCLC
Oncobeam Lung-1 ®	NSCLC	EGFR
Oncobeam Lung-2 ®	NSCLC	EGFR, KRAS, BRAF
Oncomine ® (Thermo Fisher Scientific)	Breast, lung, colon cancer, pan-cancer	52 genes cancer assay
TS0500 ctDNA ® (Illumina)	Pan-cancer	500+ genes
Avenio ctDNA ® (Roche)	Breast, lung, colorectal, gastric, melanoma, pancreatic, ovarian, glioma, thyroid cancers	17 genes

Non-small cell lung cancer (NSCLC); metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC); microsatellite instability (MSI-H).

Figura 3. Analizat e biopsisë likuide të miratuara nga Administrata e Ushqimit dhe Barnave (US. Food and Drug Administration (FDA). Available online: www.fda.gov (accessed on 10 October 2020).

Referencat:

1.Alix-Panabières C, Marchetti D, Lang JE. Liquid biopsy: from concept to clinical application. Scientific Reports [Internet]. 2023 Dec 7;13(1):21685. Available from: https://www.nature.com/articles/s41598-023-48501-x.

2.Liquid Biopsy: What It Is & Procedure Details [Internet]. Cleveland Clinic. Available from: https://my.clevelandclinic.org/health/diagnostics/23992-liquid-biopsy.

3.Heidrich I, Ačkar L, Mossahebi Mohammadi P, Pantel K. Liquid biopsies: Potential and challenges. International Journal of Cancer. 2020 Aug 10;148(3):528-45.

4.Connal S, Cameron JM, Sala A, Brennan PM, Palmer DS, Palmer JD, et al. Liquid biopsies: the future of cancer early detection. Journal of Translational Medicine [Internet]. 2023 Feb 11;21(1). Available from:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9922467/

5.Liquid biopsy: A new tool for identifying and monitoring cancer - UChicago Medicine [Internet]. www.uchicagomedicine.org. [cited 2024 Jun 24]. Available from: https://www.uchicagomedicine.org/forefront/cancer-articles/2024/january/liquid-biopsies

6.Liquid biopsy [Internet]. Nature. Nature; 2024 [cited 2024 Sep 16]. Available from: https://www.nature.com/collections/igcgicbdgg/participating-journals

7.Poulet G, Massias J, Taly V. Liquid Biopsy: General Concepts. Acta Cytologica. 2019;63(6):449–55.

8.Sandeep Sisodiya, Vishakha Kasherwal, Khan A, Roy B, Goel A, Kumar S, et al. Liquid Biopsies: Emerging role and clinical applications in solid tumours. Translational Oncology. 2023 Sep 1;35:101716-6.