

DIAGNOSTIKIMI I TUMOREVE NË INSTITUT TË ANATOMISË PATOLOGJIKE QENDRA KLINIKE UNIVERSITARE E KOSOVËS



Rinë Limani

*Drejtoreshë e Instituteve
Paraklinike*

*Specialiste e Patologjisë
Instituti i Patologjisë
SHSKUK - FM*

Për diagnostikimin e tumoreve në të shumtën e rasteve patologët e kanë fjalën e fundit. Pavarësisht nga dyshimet klinike, diagnostikimi i tumoreve nuk mund të bëhet në mungesë të ekzaminimit histopatologjik dhe/ose atij citologjik. Për më shumë, me përjashtime të rralla, trajtimi i tumoreve malinje nuk guxon të fillohet në mungesë të diagnostikimit histopatologjik apo citologjik.

Jo shumë kohë më parë, ka mjaftuar ndarja e tumoreve në beninj dhe kancere për t'i ofruar klinikistit të gjitha informatat e duhura për kujdes adekuat ndaj pacientit. Përderisa, sot tumoret, e në veçanti kanceret, nuk janë më vetëm një sëmundje. Secili tumor i ka karakteristikat e veta të sjelljes biologjike dhe të zhvillimit. Zhvillimet e jashtëzakonshme në fushën e onkologjisë e kanë bërë të domosdoshme ofrimin e informatave shtesë për të mundësuar klasifikimin e duhur të tumoreve, dhe për të përcaktuar prognozën dhe intervenimin terapeutik të tumoret. Të dhënat për tipin dhe origjinën e tumorit, diferencimin e tij, invazionin, numrin e nyjeve limfatike me dhe pa tumor metastatik, ploeditetin, numrin e mitozave, praninë ose jo të receptorëve hormonal, ekspresionin e proteinave dhe aktivitetin e enzimave specifike, të gjitha janë bërë pjesë e raporteve standarde rutinore histopatologjike (1).



Patologët merren në radhë të parë me ekzaminimin e strukturës së qelizës, indit dhe organit.

Ekzaminimet citologjike aplikohen me qëllime diagnostike dhe për skringing të lezioneve prekanceroze dhe kancereve. Ekzaminimi i materialeve citologjike të marra me aspirim me gjilpërë të hollë (Fine needle aspiration- FNA), marrja me brushë e materialeve, ekzaminimi citologjik i qelizave eksfoliative në lëngje trupore si urinë, sputum, lëng cerebrospinal, lëng pleural, lëng perikardial dhe ascit aplikohen për përcaktim të diagnozës të tumoret. Në materiale citologjike sot mund të aplikohen edhe ngjyrimet dhe metoda tjera ndihmëse diagnostike për të ofruar të dhëna më specifike për diagnozën (1).

Në ekzaminim histopatologjik të biopsive, ekzaminimi i kujdesshëm makroskopik, përcillet me ekzaminim më të detajuar të prerjeve indore me

mikroskop optik.

Patologët duhet të jenë të informuar për të dhënat klinike, përfshirë diagnozat diferenciale klinike, rezultatet laboratorike e imazherike, dukjen makroskopike të indit, të dhënat nëse ka pas ekzaminime të mëparshme dhe diagnozat e mëparshme histopatologjike e citologjike.

Për më shumë, materialet e dërguara për ekzaminim histopatologjik duhet të markohen me kapëse, penj ose ngjyrë për të ndihmuar në orientimin anatomik.

Standard në histopatologji është ekzaminimi në mikroskop optik i prerjeve të indeve të fiksuara në formalinë neutrale të pufizuar 10%, të zhytura në parafinë dhe të ngjyrosura me hematoksilinë dhe eozinë (H & E). Procedurë kjo e cila e mundëson që struktura e qelizës dhe ajo e indit të ruhet mire (1).

Metodat ndihmëse diagnostikuese si histokimia, imunohistokimia me ose pa fluoreshencë, metodat e ndryshme të in situ hibridizimit, mikroskopia elektronike, biologjia molekulare me PCR (polymerase chain reaction) dhe NGS (next gene sequencing) ndihmojnë në diagnostikim të tumoreve si dhe japin infomata shtesë prognostike dhe terapeutike për pacientin.

Histokimia si metodë ndihmëse për diagnostikim në patologji ka filluar të aplikohet në fund të shekullit 19 (2). Ngjyrimet histokimike aplikohen për identifikimin e qelizave dhe strukturave përbërëse të indeve, për identifikimin e mikroorganizmave të ndryshëm si dhe për identifikimin e depozitimeve të elementeve dhe substancave të ndryshme në qeliza dhe inde. Në Institutin e Anatomisë Patologjike në QKUK sot në rutinë të ekzaminimeve histopatologjike të biopsive të marra nga lukthi përveç ngjyrimet me H & E e aplikojmë edhe ngjyrimin me May-Grunwald Giemsa, për të ndihmuar në identifikimin më të lehtë të mikroorganizmit *Helicobacter Pylori*. Standard i artë për diagnostikim të infeksionit me *Helicobacter Pylori* në lukth, është diagnostikimi i ndryshimeve morfologjike dhe identifikimi i *Helicobacter Pylori* në biopsi (3).

Në Institut të Anatomisë Patologjike në Qendrëmbn

Klinke Universitare, QKUK aplikohen edhe ngjyrimet histokimike si Silver Reticulina, Alcian blue, Prussian blue, Periodic acid-Schiff (PAS), Masson's trichrome, Congo Red dhe Ziehl-Neelsen, si ngjyrimet standarde të domosdoshme për diagnostikim citologjik dhe histopatologjik.

Imunohistokimia (IHC) është metodë e ngjyrimet e cila i identifikon antigenet specifik në qeliza dhe inde të fiksuara në formalinë dhe të zhytura në parafinë përmes antitropave specifik për antigjene (4). Antitropa mono dhe poliklonale të markuar me enizma (imunoperoksidaza) ose me fluorofore (imunofluoreshencë) aplikohen për të identifikuar proteinat dhe molekulat tjera në qeliza të indeve të shëndosha dhe të proceset e ndryshme patologjike. Ngjyrimet IHC aplikohen për qëllime diagnostike, prognostike dhe terapeutike (4).

Në Institut të Anatomisë Patologjike, QKUK nga viti 2005 aplikohet ngjyrimi IHC me imunoperoksidazë. Nga viti 2020 me aktivizimin e Aparatit për ngjyrim imunohistokimik Autostainer Link 48, dhe me sigurimin e Aparatit për ngjyrosje automatike Ventana GX Benchmark, ngjyrimet imunohistokimike kryhen në numrin më të madhe në mënyrë automatike.

Kalimi nga ngjyrimi manual në atë automatik, ka mundësuar që kualiteti i ngjyrimëve të jetë konform standardeve ndërkombëtare, ka eliminuar dukshëm gabimet teknike të varura nga faktori njeri, e për më shumë me rritjen e kapacitetit të ngjyrimet është shkurtuar koha e pritjes për ngjyrimet.

Në Institutin e Anatomisë Patologjike, QKUK përveç markerëve të IHC të cilat aplikohen për qëllime diagnostike, bëhen edhe markerë me rëndësi prognostike dhe terapeutike si receptorët për estrogen dhe progesteron dhe produktet e proteinave të onkogjeneve si HER-2/neu të kancerit i gjirit, si dhe antigenet të cilat tregojnë për indeksin e proliferimit të qelizave tumorale si Ki-67.

Nga viti 2020 me kërkesë të onkologëve kemi filluar edhe me testimin për biomarkerët si PD-L1 (SP124) me rëndësi terapeutike për kancerin e gjirit në rastet kur receptorët hormonal dhe HER-2/neu janë negative si dhe PD-L1 (SP 263) dhe ALK (D5F3) me rëndësi terapeutike për kanceret e avancuara me qeliza jo të vogla të mushkërive.

Për më shumë, me sigurimin e mikroskopit fluoreshentë në gjysmën e dytë të vitit 2021 planifikojmë të fillojmë edhe me ngjyrimet IHC fluorofore (imunofluoreshenca) me rëndësi të veçantë diagnostike për patologjitë e veshkave dhe të lëkurës.

Këtë vit, për herë të parë në Kosovë me sigurimin e aparatit Ventana GX- Benchmark kemi filluar edhe të punojmë metodën e Silver In Situ Hibridizimit të kanceret e gjirit të cilat rezultati i HER-2/neu me ekzaminim IHC është i papërcaktuar (HER-2/neu 2+). Kjo metodë punohet me VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail dhe e përcakton statusin e amplifikimit të HER2 gjenit duke numëruar raportin ndërmjet gjenit HER2 me Kromozomin 17 në mikroskop optik (5).

Me zhvillimet e fundit në fushën e onkologjisë kemi aplikim të gjerë në patologji të metodave molekulare

si PCR dhe NGS, të cilat janë me rëndësi diagnostike, prognostike e terapeutike.

Metodat e ndryshme të PCR me amplifikim të ADN-së (acidit dezoksiribonukleik) përdoren për detektim të mutacioneve të gjeneve apo translokacioneve të tumorit dhe ndihmojnë në përcaktimin e diagnozës dhe ofrojnë të dhëna për trajtimin terapeutik të tumoreve (6).

NGS është teknologjia e fundit me të cilën përcaktohen sekuencat e ADN-së dhe ARN-së (acidit ribonukleik) për të studiuar variacionet gjenetike të ndërlidhura me patologji të ndryshme dhe tiparet tjera biologjike. NGS për herë të parë është prezantuar për përdorim komercial në vitin 2005, dhe në fillim është quajtur "sekuencim masiv paralel", pasi që ka mundësuar të sekuencohen disa zinxhirë të ADN-së në të njëjtën kohë, për dallim nga PCR metoda me të cilën mund të sekuencohet vetëm një zinxhirë i ADN-së për test. Rekomandimet e Shoqatës Evropiane për Onkologji Mjekësore (ESMO) janë që NGS si metodë testuese të aplikohet në mënyrë rutinore në mostra të tumoreve të kanceret e avancuara me qeliza jo të vogla të mushkërive, të kancerit i avancuar i prostatës, kanceri i avancuar i ovarëve dhe të kolangiokarcinomat. Sipas ESMO rekomandimeve NGS mund të jetë alternativë e PCR testimeve për kancerin e kollonit, si dhe rekomandohet për përcaktimin e ngarkesës me mutacione tumorale (tumor mutational burden) të anti-programmed cell death PD-1 për të përcaktuar përgjigjen në imunoterapi të pacientët me kancer të endometrit, kancer të mushkërive me qeliza të vogla, të tumoret nuroendokrine mirë dhe mesatarisht të diferencuara, të kancerit i gjëndrave salivare, kanceri i tiroidës dhe kanceri i vulvës (7).

NGS si metodë është mjaft komplekse dhe FDA (Food and Drug Administration, Shtetet e Bashkuara të Amerikës) ka aprovuar deri më sot një numër të vogël të testeve të cilat i kanë plotësuar kriteret për testim të besueshëm. Të aprovuara nga FDA janë: Focus CDxBRCA Assay (Foundation Medicine); FoundationOne CDx (Foundation Medicine); Myriad myChoice CDx (Myriad Genetic Laboratories); Guardant360 CDx (Guardant Health) dhe FoundationOne Liquid CDx (Foundation Medicine) (8-10).

FoundationOne CDx (F1CDx) është testim diagnostik in vitro përmes së cilës detektohen zëvendësimet, alterimet me insertim dhe delecionet (indels), alterimet e numrit të kopjeve (CNAs) në 324 gjene, riarranzhimet në gjene të selektuara, si dhe jostabiliteti mikrosatelitor (MSI) dhe ngarkesa me mutacion të tumorit (TMB) në ADN të izoluar nga indi tumoral i fiksuar në formalinë dhe i zhytur në parafinë (10).

Instituti i Anatomisë Patologjike në QKUK, është në proces të planifikimit për gjetjen e moduleve të përballeshme ekonomike dhe të dobishme për pacientët për testim me PCR dhe NGS.

Praktika klinike është duke shkuar drejt një epoke ku të dhënat molekulare do të mundësojnë që trajtimi i tumoreve të jetë i personalizuar sipas profilit genomik unik të tumorit të pacientit. Roli i patologut në këtë proces është kyç si për diagnostikim të tumoreve ashtu edhe në vendimarrje të trajtimit terapeutik..

Literatura:

1. Connolly JL, Schnitt SJ, Wang HH, et al. Role of the Surgical Pathologist in the Diagnosis and Management of the Cancer Patient. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. *Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition.* Hamilton (ON): BC Decker; 2003.
2. Riva MA, Manzoni M, Isimbaldi G, Cesana G, Pagni F. *Histochemistry: historical development and current use in pathology.* *Biotech Histochem.* 2014 Feb;89(2):81-90.
3. Sabbagh, P., Mohammadnia-Afrouzi, M., Javanian, M. et al. *Diagnostic methods for Helicobacter pylori infection: ideals, options, and limitations.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 38, 55–66 (2019).
4. McKenney, Jesse K. MD*, Hornick, Jason L. MD, PhD† *Immunohistochemistry in Surgical Pathology, Advances In Anatomic Pathology: November 2018 - Volume 25 - Issue 6 - p 373.*
5. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update Antonio C. Wolff, M. Elizabeth Hale Hammond, Kimberly H. Allison, Brittany E. Harvey, Pamela B. Mangu, John M.S. Bartlett, Michael Bilous, Ian O. Ellis, Patrick Fitzgibbons, Wedad Hanna, Robert B. Jenkins, Michael F. Press, Patricia A. Spears, Gail H. Vance, Giuseppe Viale, Lisa M. McShane, and Mitchell Dowsett.* *Journal of Clinical Oncology* 2018 36:20, 2105-2122.
6. Evans MF. *The polymerase chain reaction and pathology practice.* *Diagn Histopathol (Oxf).* 2009;15(7):344-356.
7. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. *Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: A report from the ESMO Precision Medicine Working Group.* *Ann Oncol.* 2020.
8. Rozenblum, AB., et al. (2017) *J Thorac Oncol* 12:258-68; 2. Schwaederle, M., Kurzrock, R. (2015) *Oncoscience* 2:779-80.
9. Mansinbo, A., et al. (2017) *Expert Rev Anticancer Ther* 17:563-65;
10. *FoundationOne CDx FDA Approval (2017) Available at: https://www.accessdata.fda.gov/cdrb_docs/pdf/17/P170019a.pdf.*