

Σύγχρονη Παθολογοανατομική προσέγγιση του ασθενούς με καρκίνο: Κόστος-όφελος

Μπασιτάτου Α., Στεφάνου Δ., Αγκάντη Ν.Ι.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Παθολογική Ανατομική έχει διανύσει μεγάλο δρόμο από την απαρχή της στην Ευρώπη πριν 240 χρόνια¹. Κατά τη διάρκεια αυτής της μακράς πορείας οι ιστολογικές τεχνικές βελτιώνονται συνεχώς και οι Παθολογοανατόμοι χρησιμοποιούν τις νέες τεχνολογίες κάνοντας τη διάγνωση τους πιο λεπτομερή και σίγουρη. Τις τελευταίες δεκαετίες, αυτή η πρόοδος έχει συμπληρωθεί από κυτταρολογικές και μοριακές μεθόδους, διευρύνοντας τους ορίζοντες της Παθολογικής Ανατομικής από το μακροσκοπικό παρασκεύασμα ως το DNA². Έτσι, ο Παθολογοανατόμος σήμερα μπορεί να βάλει διάγνωση εξετάζοντας ένα ολόκληρο όργανο, ένα κομμάτι ιστού ή ακόμα και λίγα κύτταρα. Επεξεργάζεται και συνδέει δεδομένα από τη μακροσκοπική και μικροσκοπική εξέταση, από κυτταρολογικές και μοριακές μεθόδους, για να μπορέσει να αντιμετωπίσει κοινές ασθένειες όπως είναι ο καρκίνος και η φλεγμονή.

ΠΡΟΟΔΟΙ ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

Η πρόοδος στην αντιμετώπιση του καρκίνου είναι πολυδιάστατη και εκτείνεται από τη βασική έρευνα, που στοχεύει στην κατανόηση της μοριακής παθογένειας του καρκίνου, ως την εφαρμογή αυτής της γνώσης για το καλό του ασθενούς. Τόσο η βασική όσο και η κλινι-

κή έρευνα αναπτύσσονται με ταχείς ρυθμούς. Η αρχή έγινε με την ανάπτυξη της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας και τις κλασσικές κυτταρογενετικές τεχνικές στις αρχές του 1960 και συνεχίστηκε με την ανοσοϊστοχημεία στα τέλη του 1970, τεχνικές DNA υβριδισμού στα 1980 και πρόσφατα με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και τον φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό (FISH)³. Το στοίχημα με τον καρκίνο είναι η ανακάλυψη των μοριακών διαταραχών που χαρακτηρίζουν κάθε νεοπλασία, η χρήση αυτής της πληροφορίας για την κατανοήση της πολυσταδιακής εξαλλαγής και βασισμένη πάνω σ' αυτά τα δεδομένα, η ανάπτυξη μιας πιο αποτελεσματικής προσέγγισης για τη διάγνωση και τη θεραπεία.

Ζούμε και εργαζόμαστε σε μια από τις πιο ενδιαφέρουσες περιόδους της έρευνας, τη μεταγονιδιακή εποχή. Έχει περάσει μόλις μισός αιώνας από την ανακάλυψη της δομής του DNA⁴ και ήδη έχουμε τη δυνατότητα, χρησιμοποιώντας την τεχνική των μικροσυστοιχιών (microarrays), όχι μόνο να εξετάζουμε ένα γονίδιο ανά πείραμα αλλά επίσης να ελέγχουμε πολλαπλά γονίδια ή και όλο το γονιδίωμα, ακόμα και ενός μόνο κυτάρου⁵. Οι DNA μικροσυστοιχίες για την ανίχνευση του DNA σε συνδυασμό με την ανίχνευση των εμπλεκόμενων messenger RNAs (Transcriptomics) και των πρωτεϊνών (Proteomics) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ακριβή διάγνωση όγκων, για την εκτίμηση της πρόγνωσης τους και για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης

στη θεραπεία^{6,7}. Καθώς ανακαλύπτονται όλο και περισσότεροι δείκτες, η σημασία τους σε μεγάλη ποικιλία νεοπλασματικών ιστών μπορεί να εκτιμηθεί με μεγάλη αποτελεσματικότητα με τη χρήση των μικροσυστοιχιών ιστού (tissue microarrays)⁸. Οι μικροσυστοιχιές ιστού είναι κατάλληλες για όλες τις αναλύσεις που γίνονται *in situ*, δηλαδή την ανοσοϊστοχημία, τον φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό (FISH), το χρωμογόνο *in situ* υβριδισμό (CISH) και τον RNA *in situ* υβριδισμό (RNA-ISH). Αυτή η τεχνολογία δίνει τη δυνατότητα να εκμεταλλευτούμε στο έπακρο περιορισμένη ποσότητα ιστού και έχει γίνει ένα πολύτιμο εργαλείο στην αναζήτηση της κλινικά σημαντικής διάγνωσης.

ΚΟΣΤΟΣ-ΟΦΕΛΟΣ ΤΩΝ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Υπάρχουν πάνω από 100 διαφορετικές κατηγορίες νεοπλασμάτων και πολύ περισσότερες υποκατηγορίες σε κάθε όργανο⁹. Παρά τις μεγάλες προόδους, όπως αναφέρθηκαν πιο πάνω, η βασική αποδοχή είναι ότι σήμερα οι περισσότερες διαγνώσεις τίθενται αποκλειστικά με την εξέταση ιστολογικών τομών με χρώσεις ρουτίνας (κυρίως με τη χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης). Ωστόσο, η μοριακή τεχνολογία παίζει έναν συνεχώς αυξανόμενο ρόλο στην Παθολογική Ανατομική. Οι αποφάσεις για το σχεδιασμό της κατάλληλης θεραπείας και για την πρόγνωση του όγκου συχνά βασίζονται στα μοριακά χαρακτηριστικά του νεοπλάσματος, και αυτό έχει οδηγήσει στην αντίληψη ότι οι εφαρμοζόμενες μοριακές τεχνικές θα φέρουν επανάσταση στη διαγνωστική ιστοπαθολογία. Εκτιμώντας το ρόλο και την πιθανή χρησιμότητα της μοριακής γενετικής στην κλινική πράξη, είναι προφανές ότι οι προσδοκίες είναι πολύ περισσότερες από την πραγματική προσφορά. Και ενώ, τουλάχιστον μέχρι σήμερα, τα μοριακά δεδομένα έχουν συμβάλει στη διευκρίνιση εξειδικευμένων δεμάτων που αφορούν στην ταξινόμηση των νεοπλασμάτων και στη διάγνωση ορισμένων σχετικά σπάνιων νεοπλασμάτων (ιδιαίτερα σε περιορισμένο ιστό), η συνολική επίδραση τους στην αντιμετώπιση του καρκίνου είναι μικρή.

Ο κατάλογος των νεοπλασμάτων που έχουν χαρακτηριστεί μετά την έλευση της νέας μοριακής εποχής στη βιολογία των όγκων είναι περιορισμένος και περιλαμβάνει κυρίως λεμ-

φώματα. Η ταξινόμηση των επιθηλιακών νεοπλασμάτων έχει μείνει ουσιαστικά αναλλοίωτη, παρά τις πρόσφατες γενετικές ανακαλύψεις. Αυτό δεν υποτιμά τη σημασία των μοριακών τεχνικών, αλλά αναδεικνύει την αξία της ιστολογικής εξέτασης ρουτίνας στη διάγνωση των νεοπλασμάτων. Είναι εντυπωσιακό και καθησυχαστικό το γεγονός ότι στις περισσότερες περιπτώσεις τα μοριακά δεδομένα απλά ενισχύουν την υπάρχουσα μορφολογική ταξινόμηση των όγκων.

Ωστόσο, παρά την έμφαση στην αξία της μορφολογίας, οι μοριακοί δείκτες είναι δυνατόν να βοηθήσουν σημαντικά στη διάγνωση και τη θεραπευτική αντιμετώπιση. Κλασικά παραδείγματα αποτελούν η ανίχνευση του διαμεμβρανικού υποδοχέα *c-kit* (CD 117) σε στρωματικά νεοπλάσματα του γαστρεντερικού (GIST) και η κυτταρογενετική ανίχνευση της διαμετάθεσης *t(X;18)* σε μονοφασικά και αδιαφοροποίητα συνοβιοσαρκώματα³.

Δυνητικά, το πιο σημαντικό πεδίο για τη χρησιμοποίηση μοριακών δεδομένων είναι η αναγνώριση προγνωστικών δεικτών για έναν όγκο. Η αξία των μοριακών δεικτών στην πρόγνωση έχει αναγνωριστεί στα αιματολογικά νεοπλάσματα (π.χ. οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία) και στους όγκους των οστών/μαλακών μορίων (π.χ. συνοβιοσάρκωμα, σάρκωμα Ewing)³.

Στα επιθηλιακά νεοπλάσματα ο γενετικές αλλαγές είναι ιδιαίτερα πολύπλοκες. Οι αναφερόμενοι στη βιβλιογραφία δυνητικοί προγνωστικοί παράγοντες για συχνά καρκινώματα (π.χ. μαστού, παχέος εντέρου και πνεύμονα) είναι άφθονοι. Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει με περιορισμένο αριθμό περιστατικών και δεν επιβεβαιώνονται από άλλα ερευνητικά κέντρα. Μεγάλος ενδουσιασμός ακολουθεί συνήθως την ανακοίνωση ενός νέου δείκτη, ο οποίος συχνά παρέρχεται όταν αποδειχτεί ότι δεν είναι τόσο αξιόπιστος ή ότι η ανίχνευσή του είναι δύσκολη και απαιτεί ακριβές μοριακές τεχνικές. Το κόστος των γενετικών εξετάσεων σε αυτά τα πολύ συχνά νεοπλάσματα είναι σημαντικός ανασταλτικός παράγοντας.

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί το καλύτερο παράδειγμα. Την τελευταία πενταετία έχουν ανακοινωθεί πάνω από 100 μοριακοί δείκτες, οι οποίοι με κάποιο τρόπο σχετίζονται με την πρόγνωση³. Από αυτούς σημαντικότεροι είναι ο καθορισμός της έκφρασης των υποδοχών

οιστρογόνων και προγεστερόνης, της ενίσχυσης του γονιδίου *HER-2/neu* και των μεταλλάξεων του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *p53*. Οι μελέτες αυτές γίνονται πια ως εξετάσεις ρουτίνας στα περισσότερα Παθολογοανατομικά εργαστήρια, και είναι σημαντικές για τον καθορισμό του θεραπευτικού σχήματος και την πρόγνωση. Οι λίγοι αυτοί απαραίτητοι προγνωστικοί δείκτες για τον καρκίνο του μαστού μπορούν να αποτελέσουν πρότυπο για τον καθορισμό άλλων μοριακών δεικτών σε συγκεκριμένους όγκους.

Για να επωφεληθούν οι ασθενείς όσο το δυνατόν περισσότερο από τη σύγχρονη Μοριακή Παθολογική Ανατομική, οι νέες τεχνικές πρέπει να εκτιμώνται αυστηρά και να αναλύονται σωστά ως προς το **κόστος-όφελος**. Για την επίτευξη αυτού του σκοπού είναι απαραίτητη η στενή συνεργασία μεταξύ των Κλινικών Γιατρών, των Παθολογοανατόμων και των Βασικών Ερευνητών. Πρέπει να τονιστεί ότι ακόμα δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες γύρω από τα τεχνικά χαρακτηριστικά των νέων μεθόδων, το φυσιολογικό εύρος τιμών και την επαναληψιμότητα. Ελάχιστες είναι και οι μελέτες για την κλινική ακρίβεια και τη χρησιμότητά των μοριακών τεχνικών και τη σχέση **κόστους-όφελους** των ειδικών γενετικών δοκιμασιών. Σε ό,τι αφορά την τεχνική των μικροσυστοιχιών DNA, ο στόχος της απόκτησης ενός μοριακού προφίλ γονιδιακής έκφρασης για κάθε νεόπλασμα¹⁰ αν και δεν είναι ανέφικτος, εν τούτοις είναι ακόμη μακρινός. Κύρια εμπόδια είναι το μεγάλο κόστος και η έλλειψη πείρας και τεχνογνωσίας.

Η συνεχής πρόοδος στη βασική έρευνα και στην Κλινική Ιατρική καθιστούν αδύνατη την πρόβλεψη του απώτερου μέλλοντος της ιστοπαθολογίας. Δυνάμεις πέραν της κοινότητας των Παθολογοανατόμων ίσως επηρεάσουν την αποδοχή των μοριακών εξετάσεων ρουτίνας. Καθώς οι τελευταίες μοριακές εξελίξεις βρίσκονται στις πρώτες σελίδες των εφημερίδων, οι ασθενείς θα ασκήσουν ισχυρή πίεση για επικουρικές εξετάσεις. Με παρόμοιο τρόπο, η καλά αναπτυγμένη βιοτεχνολογική βιομηχανία, που έχει ανακαλύψει τη ισχύ της άμεσης επιρροής των ασθενών, μπορεί να επηρεάσει στην αποδοχή νέων γενετικών εξετάσεων ή νέων καρκινικών δεικτών³.

Οι εισηγήσεις ότι η Παθολογική Ανατομική της "αιματοξυλίνης-ηωσίνης" θα υπερσκελιστεί στο εγγύς μέλλον από τις μοριακές τεχνικές, πιστεύουμε ότι είναι και πρώιμες και μη ρεαλιστικές. Ωστόσο, καθώς η θεραπεία έχει αρχίσει να βασίζεται στα ιδιαίτερα μοριακά χαρακτηριστικά κάθε νεοπλασματος, η διαδεσιμότητα αυτών των δοκιμασιών σε όλους τους ασθενείς αποτελεί θέμα μεγάλου ενδιαφέροντος. Σε εξειδικευμένα μεγάλα Κέντρα η σωστή ιστολογική διάγνωση θα αποτελέσει σύντομα μόνον το πρώτο βήμα στην εξέταση του παρασκευάσματος. Θα ακολουθείται από περαιτέρω μοριακές εξετάσεις, που θα παρέχουν πληροφορίες για την πρόγνωση του ασθενούς και την ανταπόκρισή του στη θεραπεία. Τέλος, θα θέλαμε να τονίσουμε ότι η χρήση αυτών των εξετάσεων θα πρέπει να γίνεται με μέτρο και ευαισθησία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Prat J, Ruitter DJ. Pathology-past, present and future. *Hellenic Arch Pathol* 12:52-55, 1998.
2. Berry C. The future for pathology. *Arch Hellenic Pathol* 12:56-57, 1998.
3. Jones D, Fletcher CDM. How shall we apply the new biology to diagnostics in surgical pathology? *J Pathol* 187:147-154, 1999.
4. Watson JD, Crick FHC. Molecular structures of nucleic acids. *Nature* 171:737-738, 1953.
5. Schena M, Shalon D, Davis RW, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270:467-470, 1995.
6. DeRisi J, Penland L, Brown PO, et al. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet* 14:457-460, 1996.
7. Kiechle FL, Holland-Staley CA. Genomics, Transcriptomics, Proteomics, and numbers. *Arch Pathol Lab Med* 127:1089-1097, 2003.
8. Bubendorf L, Nocito A, Moch H, Sauter G. Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. *J Pathol* 195:72-79, 2001.
9. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of cancer. *Cell* 100:57-70, 2000.
10. Ramaswamy S, Perou CM. DNA microarrays in breast cancer: the promise of personalised medicine. *Lancet* 361:1576-1577, 2003.