

Utility of Liquid Biopsy Analysis in Detection of Hepatocellular Carcinoma, Determination of Prognosis, and Disease Monitoring: A Systematic Review

Vincent L. Chen, Dabo Xu, Max S. Wicha, Anna S. Lok, Neehar D. Parikh

Περίληψη άρθρου

Εισαγωγή και σκοπός

Υγρές βιοψίες ή δείγματα αίματος, μπορούν να αναλυθούν για την ανίχνευση κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (circulating tumor cells, CTCs), ελεύθερου-κυττάρου DNA (cell-free DNA, cfDNA) και εξωκυττάρια κυστίδια (extracellular vesicles, EVs), τα οποία μπορεί να αναγνωρίσουν ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (ΗΚΚ) ή να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της πρόγνωσής τους.

Πραγματοποιήσαμε μια συστηματική ανασκόπηση μελετών που αναλύουν τις υγρές βιοψίες ασθενών με ΗΚΚ και τις συγκρίσεις τους με άλλους βιοδείκτες.

Μέθοδοι

Πραγματοποιήσαμε μια συστηματική ανασκόπηση των πρωτότυπων μελετών που δημοσιεύθηκαν πριν την 1η Δεκεμβρίου 2019.

Συμπεριλάβαμε μελέτες που συνέκριναν τις υγρές βιοψίες μεμονωμένα και σε συνδυασμό με άλλους βιοδείκτες για την ανίχνευση ΗΚΚ, πραγματοποίησαν πολυπαραγοντική ανάλυση της ακρίβειας της ανάλυσης υγρής βιοψίας στον προσδιορισμό της πρόγνωσης του ασθενή, ή αξιολόγησαν τη χρησιμότητα της ανάλυσης της υγρής βιοψίας στην παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία.

Αποτελέσματα

Η τελική μας ανάλυση συμπεριέλαβε 112 μελέτες: 67 μελέτες ανίχνευσης, 46 μελέτες προσδιορισμού της πρόγνωσης και 25 μελέτες παρακολούθησης ή επιλογής της θεραπείας. Δέκα μελέτες

αξιολόγησαν μεθόδους που χαρακτήρισαν το cfDNA για την ανίχνευση ΗΚΚ σε συνδυασμό με τη μέτρηση της α-φетоπρωτεΐνης (AFP): αυτές οι μελέτες διαπίστωσαν ότι η συνδυασμένη μέτρηση cfDNA και AFP αναγνώρισε με μεγαλύτερη ακρίβεια τους ασθενείς με ΗΚΚ σε σύγκριση με τη μεμονωμένη μέτρηση τη AFP μόνο. Έξι μελέτες αξιολόγησαν μεθόδους για εξωκυττάρια κυστίδια και 2 μελέτες αξιολόγησαν μεθόδους για CTC για την ανίχνευση ΗΚΚ, με και χωρίς άλλους βιοδείκτες: οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες διαπίστωσαν ότι η ανίχνευση CTCs ή εξωκυττάρων κυστιδίων με AFP αναγνώρισε με μεγαλύτερη ακρίβεια ασθενείς με ΗΚΚ σε σύγκριση με την μεμονωμένη μέτρηση AFP. Η ανίχνευση CTCs πριν τη χειρουργική επέμβαση συσχετίστηκε με υποτροπή του ΗΚΚ μετά την ηπατεκτομή σε 13 από 14 μελέτες. Το cfDNA και τα εξωκυττάρια κυστίδια μελετήθηκαν λιγότερο ως προγνωστικοί παράγοντες. Η μεταβολή του αριθμού των CTCs πριν και μετά τη θεραπεία αναγνωρίζει με μεγαλύτερη ακρίβεια τους ασθενείς με υποτροπή του ΗΚΚ σε σύγκριση με τη μέτρησή τους μόνο πριν τη θεραπεία και η μέτρηση του cfDNA μπορεί να αναγνωρίσει ασθενείς με υποτροπή ή εξέλιξη της νόσου πριν να διαπιστωθεί αλλαγή στην απεικόνιση. Δεν βρήκαμε πολλά στοιχεία που αποδεικνύουν ότι η ανάλυση της υγρής βιοψίας μπορεί να βοηθήσει στην επιλογή της θεραπείας του ΗΚΚ. Η αξιολόγηση ποιότητας κατέδειξε σφάλμα κινδύνου σε μελέτες ανίχνευσης ΗΚΚ και προσδιορισμού της πρόγνωσης.

Συμπέρασμα

Σε μια συστηματική ανασκόπηση 112 μελετών για την ακρίβεια της ανάλυσης υγρής βιοψίας, βρήκαμε ότι οι μέθοδοι ανίχνευσης CTCs και cfDNA θα μπορούσαν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της πρόγνωσης των ασθενών και την παρακολούθηση του ΗΚΚ και οι μέθοδοι ανίχνευσης cfDNA ενδέχεται να βοηθήσουν στην ανίχνευση ΗΚΚ, αλλά υπάρχει σφάλμα κινδύνου σε αυτές τις μελέτες. Οι μελέτες πρέπει να τυποποιηθούν πριν μπορέσουμε να αξιολογήσουμε την κλινική χρησιμότητα της ανάλυσης υγρής βιοψίας στην ανίχνευση και τη διαχείριση των ασθενών με ΗΚΚ.

Σχόλιο άρθρου

Το ΗΚΚ είναι η τρίτη αιτία θανάτου λόγω κακοήθειας παγκοσμίως με διάμεση επιβίωση μικρότερη από 2 έτη. Οι στρατηγικές ανίχνευσης/ ελέγχου με τη χρήση υπερηχογραφήματος και AFP φαίνεται πως είναι ανεπαρκείς (ευαισθησία 63%, ειδικότητα 84%) και οι νεότεροι βιοδείκτες δεν έχουν επαληθευτεί. Ουσιαστικά, δεν χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη. Επίσης, εξακολουθεί να υπάρχει σημαντικό έλλειμμα στη δυνατότητα θεραπευτικής παρέμβασης και την εξατομίκευση της βέλτιστης αγωγής για κάθε ασθενή. Η υγρή βιοψία είναι μια εξέταση σε δείγμα αίματος που μετρά κυκλοφορούντες (προερχόμενους εκ της κακοήθους βλάβης) δείκτες και αναφέρεται α) στην ανίχνευση των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (circulating tumor cells, CTCs) τα οποία αντιπροσωπεύουν ένα ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ της εντοπισμένης νόσου και των απομακρυσμένων μεταστάσεων και μπορούν να ανιχνευθούν πρακτικά σε όλους τους κύριους συμπαγείς όγκους. Οι μέθοδοι ανίχνευσης στοχεύουν σε επιθηλιακούς δείκτες (κυτοκερατίνες, μόριο προσκόλλησης επιθηλιακού κυττάρου, υποδοχέα ασιαλογλυκοπρωτεΐνης), μέγεθος ή/ και μορφολογία κυττάρου. Προσφέρουν επιπλέον τη δυνατότητα ανίχνευσης της μοριακής ετερογένειας του όγκου σε ένα ασθενή. β) την ανίχνευση του DNA που είναι ελεύθερο-κυττάρου (cell-free DNA, cfDNA). Αυτό απελευθερώνεται στην κυκλοφορία από νεκρά καρκινικά κύτταρα και /ή εκκρίνεται από βιώσιμα καρκινικά κύτταρα. Οι έρευνες ως τώρα μετρούν τη συνολική ποσότητα, της μεταλλάξεις ή τη μεθυλίωσή του, και γ) την ανίχνευση εξωκυττάρων κυστιδίων (extracellular vesicles, EVs) τα οποία δημιουργούνται από τη συνάθροιση λυσοσωματίων, κυτταρικών μεμβρανών ή αποπτωτικών σωματίων τα οποία ακολούθως απελευθερώνονται στην κυκλοφορία.

Οι Chen, Lok και συνεργάτες στο Clinical Gastroenterology & Hepatology του Δεκεμβρίου 2020 δημοσιεύουν τα αποτελέσματα συστηματικής ανασκόπησης του ρόλου της υγρής βιοψίας στην

ανίχνευση του ΗΚΚ, την πρόγνωση και/ή την πρόβλεψη της απόκρισης στην αγωγή, την παρακολούθηση για πιθανή υποτροπή και την επιλογή της αγωγής. Διαπίστωσαν ότι τα score μεθυλίωσης του cfDNA διαθέτουν τα πιο ευνοϊκά χαρακτηριστικά για την ανίχνευση του ΗΚΚ (σε σύγκριση με τα CTCs και τα EVs). Έχουν ευαισθησία >75% και ειδικότητα >90% για στάδιο I κατά TNM ή στάδιο 0 κατά BCLC σε μελέτες βιοδεικτών φάσης II με περισσότερους από 2000 ασθενείς. Όμως, έχουν χαμηλή ευαισθησία για την ανίχνευση πρώιμου ΗΚΚ. Η παρουσία CTCs έχει ειδικότητα >90%, αλλά μέτρια ευαισθησία (περίπου 60%) και τα EVs έχουν κυμαινόμενη διαγνωστική ακρίβεια. Αντίθετα, CTCs και EVs φαίνονται να έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία για την ανίχνευση πρώιμου ΗΚΚ.

Οι ερευνητές διατυπώνουν ότι τα CTCs είναι χρήσιμα για την πρόβλεψη της υποτροπής μετά την θεραπεία ίασης. Δεν είναι σαφές όμως εάν έχουν προγνωστική αξία μετά από τοπικές-περιοχικές θεραπείες ή παρηγορικές θεραπείες. cfDNA και EVs δεν έχουν αρκετές μελέτες, ιδίως το cfDNA που φαίνεται να έχει καλύτερη ευαισθησία στην ανίχνευση υπολειπόμενης νόσου σε διάφορους τύπους καρκίνου.

Τέλος, σχολιάζουν ότι η υγρή βιοψία είναι δυνητικά χρήσιμη για την παρακολούθηση της απόκρισης στην αγωγή. Υπάρχουν μελέτες που διαπίστωσαν ότι CTCs και cfDNA προβλέπουν καλύτερα την υποτροπή ή την εξέλιξη του όγκου σε σχέση με την AFP και η μεταβολή στα CTCs και το cfDNA προηγείται των αλλαγών στην απεικόνιση. Προς το παρόν πάντως δεν υπάρχουν οδηγίες για αλλαγή της θεραπείας βάσει της υγρής βιοψίας.

Μειονέκτημα της συγκεκριμένης ανασκόπησης είναι η ετερογένεια των μελετών. α) Ορισμένες είχαν μικρό αριθμό ασθενών, β) η σύγκριση με την μεμονωμένη χρήση AFP έγινε με διαφορετικό κατώφλι τιμής (4-400 ng/mL, οι περισσότερες χρησιμοποίησαν τα 20 ng/mL). γ) Η ανίχνευση του ΗΚΚ μεν ήταν αξιόπιστη και στις περισσότερες μελέτες οι ασθενείς ήταν αντιπροσωπευτικοί του πληθυσμού με ΗΚΚ, αλλά δεν διευκρίνιζαν τον τρόπο με τον οποίο επιλέγονταν οι ασθενείς (διαδοχικοί

ασθενείς έναντι δειγματοληψίας ευκαιρίας). δ) Επίσης, σχεδόν στην πλειοψηφία των μελετών η διάγνωση του ΗΚΚ ήταν τεκμηριωμένη πριν τη διαγνωστική υγρή βιοψία, συνεπώς δεν υπήρχε τυχαιοποίηση, οπότε αυξάνεται η πιθανότητα σφάλματος. ε) Τέλος, στις μελέτες πρώιμης ανίχνευσης επιλέγονταν ασθενείς με ΗΚΚ πρώιμου σταδίου και συγκρίνονταν με ασθενείς υψηλού κινδύνου για ΗΚΚ ή με χρόνια ηπατοπάθεια χωρίς κίρρωση/ προχωρημένη ίνωση ή ακόμη και υγιείς μάρτυρες.

Βασικός περιορισμός της υγρής βιοψίας είναι ότι δεν πρόκειται για προτυποποιημένη μέθοδο. Εκ των τριών τύπων μόνο τα CTCs διαθέτουν εγκεκριμένη από τον FDA μέθοδο για καρκίνο προστάτη, μαστού και παχ. εντέρου. Υπάρχουν και έτερες μέθοδοι ανίχνευσης CTCs (ανίχνευση επιθηλιακών φαινοτύπων, μέγεθος κυττάρου, μορφολογία κυττάρου) που δυσχεραίνουν τη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Αντίστοιχα, υπάρχουν πολλά διαφορετικά σκορ μεθυλίωσης για το cfDNA και η ανίχνευση των EVs στηρίζεται σε microRNAs (διαφορετικά σε κάθε μελέτη).

Συνολικά, η υγρή βιοψία είναι χρήσιμη για την πρώιμη διάγνωση του ΗΚΚ και την πρόγνωση επιπλέον των υπάρχόντων διαγνωστικών εργαλείων, για τη σταδιοποίηση του όγκου και ενδεχομένως για την παρακολούθηση της απόκρισης στην αγωγή. Πρόκειται για ένα ελκυστικό αλλά υποσχόμενο βιοδείκτη που απαιτεί περαιτέρω έρευνα για περαιτέρω επαλήθευση.

Link άρθρου: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.04.019/>

Βιβλιογραφία

1. Jin T, Peng H, Wu H. Clinical value of circulating liver cancer cells for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Biomed Rep* 2013;1:731–736.
2. Liao W, Mao Y, Ge P, et al. Value of quantitative and qualitative analyses of circulating cell-free DNA as diagnostic tools for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e722.

Μπέλλου Αριστέα
Παθολόγος-Ηπατολόγος

Επιστημονική Συνεργάτιδα
Παθολογικής Κλινικής & Ομώνυμου Ερευνητικού Εργαστηρίου
Κέντρο Εμπειρογνωμοσύνης για τα Αυτοάνοσα Νοσήματα Ήπατος
Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας