

Odběr cytologických a bioptických vzorků z pankreato-biliárního traktu na genetické vyšetření

Vážená paní doktorko/vážený pane doktore,

Naší dlouhodobou snahou je, co nejvíce zpřesnit a zjednodušit cytologickou diagnostiku tak, aby pro Vás mohla být co nejlépe nápomocna při rozhodování o dalším léčebném postupu u pacienta.

Cytologie pankreatobiliárních lezí je sice vyšetřením s vysokou specificitou, je však současně zatíženo relativně nízkou senzitivitou pro diagnózu malignity a vysokým procentem falešně negativních, případně nejednoznačných výsledků (a to především u lezí extrahepatálních žlučových cest). Literárně udávané rozmezí senzitivity pro diagnózu malignity je u lezí extrahepatálních žlučových cest ve velmi široké škále 8% - 62% (u množství studií se pak hodnoty senzitivity nejčastěji pohybují okolo 30%).

Příčinou nízké senzitivity cytologie je především nejistota hodnotícího cytologa/patologa při odlišování změn reaktivních (např. nenádorová zánětlivá stenóza) od změn neoplastických. Důvodem je notoricky známý fakt, že velká část adenokarcinomů pankreatobiliárního systému je tvořena buňkami s minimálními cytologickými atypii, které jsou cytologickým vyšetřením těžce odlišitelné právě od změn reaktivních. Závěr cytologického vyšetření finálně stanovující, že se jedná o "atypické buňky", tak obvykle není v rozhodování o dalším postupu u pacienta velmi přínosný a pro patologa i klinického lékaře je často frustrujícím.

Zlepšení senzitivity cytologické diagnostiky lze dosáhnout pomocnými vyšetřeními, především genetickou analýzou dodaného cytologického, případně bioptického materiálu. V praxi jsou využívány různé postupy genetické analýzy (např. PCR vyšetření jednotlivých genů, nebo technicky náročná a diagnosticky pouze středně přínosná analýza za pomoci fluorescenční in situ hybridizace/FISH). Jako jednoznačně nejlepší se v současnosti jeví **analýza použitím "next generation sequencing" (NGS)**, tj. paralelního sekvenování celého spektra (desítek až stovek) genů v rámci jedné analýzy. NGS analýza je dle v současné době dostupných publikací schopna vylepšit senzitivitu cytologického vyšetření až na úroveň přibližně 80%.

Na našem pracovišti aktuálně za tímto účelem používáme jeden z nejlepších komerčně dostupných kitů – **TruSight Oncology 500**. Toto vysoce citlivé vyšetření je schopno detekovat velký počet mutací genů, které jsou typické pro celé spektrum nádorů pankreatobiliárního traktu, včetně aberací, které představují vhodné terapeutické cíle. Navíc, v případě kvantitativně reprezentativního materiálu (dostatečná koncentrace RNA ve vzorku) je tato analýza schopna odhalit vzácné fúzní varianty a amplifikace genů, které rovněž mohou sloužit pro výběr vhodné cílené léčby (např. rearanže genů *NTRK1-3*, *HER2*, *ALK*, amplifikace *MET* a další). Velkým "bonusem" tohoto vyšetření je i možnost stanovení mikrosatelitní instability (MSI) a mutační nálože ("tumor mutation burden"), tj. parametrů, které mohou sloužit v indikaci imunoterapie.

Co tedy pro naše společné pacienty můžeme udělat?

1. **Standardní odběr bioptického/cytologického materiálu**, pro morfologické zhodnocení vzorku, tak jako jste byli doposud zvyklí:
 - a. Punkční/bioptický vzorek do formolu (materiál vhodný pro případnou NGS analýzu)
 - b. Nátěry na sklech (tento materiál je pouze omezeně vhodný pro NGS analýzu – je to poslední možnost, „salvage“ vyšetření, nedoporučujeme pro rutinní užití, avšak zkusit se to samozřejmě může a v některých případech to v diagnostice pomůže)

2. **Samostatný odběr na genetické vyšetření** do dodané zkumavky s „RNA-later“ fixačním roztokem (dodává Bioptická laboratoř, s.r.o.)
 - a. Ideálně vložit kartáček z druhého samostatného stěru (příp. druhý bioptický vzorek) do nádoby a nádobkou zatřást (aby se buňky z kartáčku uvolnily do roztoku).
 - b. V případě cystických lézí pankreatu je vhodné část odsáté tekutiny/mucinózního obsahu rovněž dodat na případné genetické vyšetření v „RNA-later“ fixačním médiu.

Genetické vyšetření nebude prováděno rutinně a automaticky u všech biopsií/cytologií. Vyšetření netřeba provádět např. u lézí jednoznačně maligních či benigních a v případech, kdy toto nebude přínosné pro diagnózu (málo buněčný/nediagnostický materiál, léze není v materiálu zastížena). Vyšetření bude indikováno vždy odečítajícím patologem, který výsledek analýzy vyhodnotí společně s histologickým/cytologickým obrazem a integruje je společně do finální diagnózy.

Věříme, že výše uvedený postup přinese výrazné zlepšení výtěžnosti bioptické a především cytologické diagnostiky pankreatobiliárních lézí a sníží počet nejednoznačných výsledků. Uvědomujeme si, že odběr materiálu z těchto lézí není jednoduchý a jedná se zpravidla o velmi malé vzorky. Zvýšené úsilí o odběr většího množství buněk (samostatný stěr pro genetické vyšetření) však může pomoci při stanovení jednoznačné definitivní diagnózy a při rozhodování o dalším terapeutickém postupu.

MUDr. Marián Švajdler, Ph.D.

Vedoucí lékař úseku biopsií, Bioptická laboratoř, s.r.o. Plzeň