



CENTRUM KRYZYSOWE
twój plaster na raka



WIEM WIĘCEJ: DIAGNOSTYKA GENETYCZNA

Najważniejsze informacje o nowoczesnej diagnostyce zebrane na bazie 3 webinarów przeprowadzonych z udziałem ekspertów diagnostycznych w grudniu 2023 roku przez stowarzyszenie PARS – Polskie Amazonki Ruch Społeczny. Informacje zebrała dr Katarzyna Seliga z Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie w Warszawie.

Link do webinarów:

<http://tinyurl.com/4udspfu8>



dr hab. n. med. Artur Kowalik,
Świętokrzyskie Centrum
Onkologii w Kielcach



**dr hab. n. med. Małgorzata
Oczko-Wojciechowska,**
Narodowy Instytut Onkologii,
PIB Gliwice



dr n. med. Michał Pyzlak,
Instytut Matki i Dziecka,
Centrum Diagnostyki
Patomorfologicznej



mgr inż. Magdalena Sakowicz,
Narodowy Instytut Onkologii,
PIB w Warszawie



dr n. med. Katarzyna Seliga,
Narodowy Instytut Onkologii,
PIB w Warszawie



dr n. med. Andrzej Tysarowski,
Narodowy Instytut Onkologii,
PIB w Warszawie

WPROWADZENIE

Celem współczesnej diagnostyki genetycznej jest zapewnienie kompleksowej informacji dotyczącej profilu genetycznego pacjenta onkologicznego, który umożliwi podjęcie właściwych decyzji terapeutycznych w zakresie kwalifikacji do nowoczesnych terapii celowanych.

Szybki postęp technologii genomicznych analiz genetycznych stał się niezbędną częścią praktyki klinicznej. Dynamiczny rozwój diagnostyki genetycznej otworzył nową erę w medycynie, szczególnie w dziedzinie onkologii klinicznej. Nową drogę sposobu leczenia nowotworów prezentuje terapia agnostyczna - leczenie zależne od identyfikacji określonej zmiany molekularnej, w różnych nowotworach lokalnie zaawansowanych lub przerzutujących.

Zastosowanie zaawansowanych technik molekularnych, do diagnostyki nowotworów, pozwala na uzyskanie informacji dotyczących ich biologii. Jednakże, kluczowe jest dobranie odpowiedniej metody badawczej, w zależności od typu histologicznego oraz kliniczno-patologicznych problemów diagnostycznych.

Badania genetyczne pozwalają na postawienie właściwego rozpoznania nowotworu, umożliwiają różnicowanie, jak również pozwalają na właściwą klasyfikację nowotworów, monitorowanie leczenia jak i wdrożenie odpowiednio wcześniej działań profilaktycznych.

Bardzo ważna i kluczowa w diagnostyce pacjenta onkologicznego jest wysoka jakość badań oraz współpraca pomiędzy patomorfologami, onkologami, diagnostami laboratoryjnymi, biologami molekularnymi i genetykami klinicznymi.

Diagnostyka raka płuca

1. Kluczowe w doborze zakresu oraz techniki badań molekularnych jest prawidłowo postawione rozpoznanie patomorfologiczne.
2. Do badań molekularnych w diagnostyce raka płuca możemy wykorzystać różne rodzaje materiałów: materiał tkankowy utrwalony w formalinie (tzw. *bloczek parafinowy*), materiał cytologiczny utrwalony w formalinie (tzw. *cytoblok*), rozmaz cytologiczny utrwalony w alkoholu (tzw. *preparat cytologiczny*) oraz krew obwodowa (*ctDNA*) – krążące DNA uwalniane z komórek nowotworowych.
3. Zgodnie z rekomendacjami w następujących podtypach raka płuca: gruczołowy, wielkokomórkowy, niedrobnokomórkowy oraz nieokreślonym typie histologicznym (NOS), możemy zastosować szeroko-profilowe badanie molekularne z zastosowaniem sekwencjonowania następnej generacji (NGS), w celu oceny genów: *EGFR, KRAS, BRAF, HER2, ALK, ROS1, NTRK1/2/3, RET, MET*.
4. Zastosowanie technologii NGS umożliwiają jednoczesną identyfikację wszystkich istotnych markerów molekularnych w raku płuca, co pozwala na szybką i pełną diagnostykę oraz zastosowanie odpowiedniej terapii celowanej.
5. W diagnostyce raka płuca, kolejnym punktem, po wykonaniu badań molekularnych, jest możliwość oceny ekspresji receptora PD-L1 metodą immunohistochemiczną (*IHC*), w zakładzie patomorfologii, w kierunku zastosowania immunoterapii w podtypach: *gruczołowy, wielkokomórkowy, niedrobnokomórkowy, nieokreślonym typie histologicznym (NOS)* oraz *płaskonabłonkowym*.

6. Dobór technik biologii molekularnej wykorzystywany w diagnostyce genetycznej zależy od ilości utkania nowotworowego w dostępnym materiale pobranym od pacjenta.
7. Sekwencjonowanie następnej generacji umożliwia identyfikację zarówno znanych, jak i nowych fuzji genetycznych, co ma istotne znaczenie dla personalizowanej terapii.
8. Badania genetyczne wymagają świadomej zgody pacjenta.
9. Materiał do badań genetycznych powinien być przygotowany zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Patomorfologów, co ma kluczowe znaczenie dla uzyskania wiarygodnych wyników.
10. Raport z analizy molekularnej powinien zawierać następujące informacje: wskazanie do badania, rodzaj badanego materiału, informacje o zidentyfikowanym wariacie wraz z komentarzem klinicznym, bądź odniesieniem do dostępnego piśmiennictwa, pełna informacja dotycząca zakresu wykonanej metody.
11. Istotne jest prawidłowe nazwanie wariantu genetycznego oraz jego klasyfikacja, ponieważ ma to znaczenie kliniczne dla pacjenta i wpływa na dalsze postępowanie terapeutyczne.
12. Wiedza o zmianach genetycznych w nowotworach płuca pozwala na dobór terapii celowanych, z uwzględnieniem różnic molekularnych w zaawansowaniu choroby.
13. Nowotwory są chorobami genetycznymi, a warianty genów mogą być dziedziczne (*germinalne*) lub somatyczne.
14. Wiedza o zmianach genetycznych w nowotworach umożliwia personalizację terapii i poprawia skuteczność leczenia.
15. Biopsja płynna (*ctDNA*) jest narzędziem wykorzystywanym np. w diagnostyce raka płuca, w przypadku braku dostępności do materiału tkankowego w celu oceny zmian molekularnych w su mutacyjnego genu EGFR - zarówno u pacjentów pierwszorazowych do oceny zmian w genie EGFR, ale również w monitorowaniu odpowiedzi na zastosowane leczenie inhibitorami kinaz tyrozynowych.
16. Analiza *ctDNA* pozwala na nieinwazyjną i szybką diagnostykę pacjenta – na etapie wczesnej diagnozy, monitorowania odpowiedzi na leczenie na poszczególnych etapach terapii przeciwnowotworowej.
17. Profilowanie genetyczne z wykorzystaniem *ctDNA* może odzwierciedlać całkowity profil mutacji całej populacji komórek guza, w tym nowych subklonów odpowiedzialnych za przerzuty. Stąd też, w materiale z płynnej biopsji możliwe jest wykrycie zmian, która nie były obecne w pierwotnej biopsji tkanki.
18. W 2023 roku zostały opublikowane rekomendacje przy współpracy z Polskim Towarzystwem Onkologicznym, które wskazują badania podstawowe oraz badania rozszerzone dla konkretnych typów nowotworów wraz ze sposobem finansowania oraz dostępnymi terapiami w ramach programów lekowych.
19. Laboratoria genetyczne powinny kierować się standardami stworzonymi przez Sekcję Guzów Litych Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka oraz rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, aby zapewnić wysoką jakość diagnostyki genetycznej.
20. Całość wymogów stawianych przed pracownikami diagnostycznymi reguluje Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie standardów jakości dla laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (Dz.U. 2019, poz. 1923).

Diagnostyka nowotworów BRCA-zależnych

1. Do grupy nowotworów BRCA-zależnych należą rak piersi, rak jajnika, rak prostaty, rak trzustki. U chorych z tymi nowotworami często (od 5 do 25% chorych) obserwuje się mutacje w genach *BRCA1/2*.
2. Mutacje w genach *BRCA1/2* mogą być germinalne (dziedziczne) lub somatyczne (niedziedziczne).
3. Mutacje germinalne obecna są w każdej komórce organizmu – dlatego do badań wykorzystuje się głównie krew obwodową.
4. Mutacje somatyczne obecna są w komórkach nowotworowych, dlatego do badań wykorzystuje się materiał pobrany z guza pierwotnego lub przerzutów, a w przypadku braku materiału tkankowego możemy zastosować badanie z ctDNA (wolnokrążące DNA nowotworowe).
5. W przypadku kiedy zidentyfikujemy mutację w genach *BRCA1/2* w materiale tkankowym, nie wiemy czy jest to mutacja germinalna czy somatyczna. W takim przypadku zawsze należy wykonać dodatkowe badanie z krwi obwodowej, w celu potwierdzenia, czy jest to mutacja germinalna.
6. Wszyscy pacjenci, u których zidentyfikuje się mutację w genach *BRCA1/2* powinni zostać skierowani do poradni genetycznej wraz z rodzinami, aby zapewnić odpowiednie poradnictwo genetyczne i profilaktykę dla członków rodziny.
7. W diagnostyce raka piersi identyfikuje się tylko mutacje germinalne – dziedziczne – w genach *BRCA1/2*, dlatego materiałem z wyboru do badań genetycznych jest krew obwodowa.
8. W diagnostyce raka jajnika identyfikuje się mutacje somatyczne i germinalne w genach *BRCA1/2*, dlatego najlepszym materiałem do badań jest tkanka pobrana z guza (biopsja lub materiał operacyjny).
9. W diagnostyce raka stercza identyfikuje się mutacje somatyczne i germinalne w genach *BRCA1/2*, a najlepszym materiałem do badań genetycznych, jest biopsja z guza pierwotnego, materiał z prostatektomii lub biopsja z ognisk przerzutowych w obrębie węzłów chłonnych lub szpiku.
10. W diagnostyce raka trzustki identyfikuje się tylko mutacje germinalne – dziedziczne- w genach *BRCA1/2*, dlatego materiałem z wyboru do badań genetycznych jest krew obwodowa.
11. Standardy leczenia ustalone przez Ministerstwo Zdrowia obowiązują wszystkie ośrodki w Polsce, niezależnie od tego, czy posiadają one dodatkowe akredytacje lub certyfikacje. Tym samym nie może być wyjątków w zakresie właściwego zabezpieczenia i utrwalenia materiału tkankowego.
12. Kluczowe w diagnostyce onkologicznej jest rozpoznanie postawione przez patologa w oparciu o badania kliniczne, radiologiczne i patomorfologiczne.
13. Badania genetyczne wymagają świadomej zgody pacjenta.
14. Prawidłowo wyselekcjonowany materiał, to pierwszy, bardzo ważny element do powodzenia badań genetycznych z materiału tkankowego. Konieczne jest zatem dokładne przyjrzenie się opisowi patomorfologicznemu, w tym danym dotyczącym reprezentatywności materiału tkankowego, aby zapewnić odpowiednią ilość materiału do badań genetycznych, wykonywanych z tkanki.

15. Testowanie genetyczne pacjentów z nowotworami BRCA-zależnymi, panelem terapeutycznym może ujawnić dodatkowe, inne niż BRCA, rzadsze punkty uchwytu, które mogą być wykorzystane dla skutecznego leczenia.
16. Stwierdzone zmiany genetyczne, w genach BRCA1 i BRCA2 mogą zwiększać ryzyko wystąpienia raka sutka, jajnika, stercza, trzustki oraz nowotworów układu pokarmowego.
17. W przypadku pacjentów z dwoma lub więcej nowotworami BRCA-zależnymi, szczególnie istotne jest badanie zmian germinalnych w genach BRCA1 i BRCA2.
18. Badanie genetyczne z materiału archiwalnego może być konieczne w przypadku zmiany decyzji terapeutycznej u pacjenta leczonego onkologicznie, co wymaga współpracy między onkologiem a laboratorium genetycznym.
19. Badania NGS genów BRCA1 i BRCA2 powinny uwzględniać ocenę dużych rearanżacji genów, które mogą stanowić około 5% zmian genetycznych patogennych w populacji polskiej
20. W przypadku wykrycia zmiany genetycznej, istotne jest określenie jej charakteru (somatyczny czy germinalny) poprzez analizę zdrowej tkanki np. krwi obwodowej, co ma znaczenie dla dalszego postępowania terapeutycznego i profilaktyki rodzinnej.
21. Poszerzone badania genetyczne w genach BRCA1 i BRCA2, powinny być wykonywane ponownie u pacjentów, u których wykonano badania kilku mutacji założycielskich i nie stwierdzono występowania zmian patogennych, ponieważ nowe technologie pozwalają na szeroką analizę wariantów w tych genach.
22. W raku jajnika jest możliwość zastosowania rozszerzonej diagnostyki genetycznej o ocenę sygnatury HRD (deficyt rekombinacji homologicznej) w przypadku uzyskania wyniku braku zmian patogennych w genach BRCA1/2.

Diagnostyka nowotworów hematologicznych

1. Badania molekularne są jedną ze składowych (obok obrazu klinicznego, parametrów krwi obwodowej i morfologii komórek szpiku chorego) diagnostyki nowotworów mieloproliferacyjnych.
2. Diagnostyka molekularna jest kluczowa w przypadku ostrej białaczki mieloidalnej, gdzie konieczne jest wykonanie wielu testów genetycznych, takich jak badanie cytogenetyczne, ocena zmian w genach FLT3, IDH1/2, NPM1 oraz badanie panelowe z wykorzystaniem NGS.
3. Monitorowanie choroby resztkowej staje się coraz bardziej istotne w diagnostyce ostrej białaczki mieloidalnej, co wymaga regularnych badań krwi lub szpiku w różnych odstępach czasu.
4. Badanie genetyczne odgrywa kluczową rolę w diagnostyce czerwienicy prawdziwej, gdzie głównie badane są mutacje w genie JAK2, co pozwala na lepsze zrozumienie choroby i lepsze dostosowanie terapii.
5. Sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) staje się coraz bardziej istotne w diagnostyce onkohematologicznej, jednak trudności związane z sfinansowaniem tego badania mogą stanowić wyzwanie.
6. Diagnostyka przewlekłej białaczki szpikowej opiera się na identyfikacji fuzji BCR::ABL1.

7. W diagnostyce przewlekłej białaczki szpikowej, monitorowanie oporności na leczenie jest istotne, a wyższa transkrypcja może sugerować konieczność sekwencjonowania domeny kinazy w celu zidentyfikowania zmiany warunkującej oporność na terapię.
8. Badanie panelowe z wykorzystaniem NGS jest pomocne w postawieniu rozpoznania ostrej białaczki mieloidalnej, umożliwiając identyfikację różnych typów mutacji i ocenę choroby resztkowej.
9. W diagnostyce ostrej białaczki mieloidalnej, monitorowanie fenotypowe, czyli ekspresja białek na powierzchni komórek białaczkowych, jest istotne, szczególnie, gdy nie można wykryć pewnych cech molekularnych
10. Badanie panelowe z wykorzystaniem NGS umożliwia monitorowanie ostrej białaczki mieloidalnej poprzez badanie 17 genów, co pozwala na lepsze zrozumienie choroby i lepsze dostosowanie terapii
11. W diagnostyce ostrej białaczki mieloidalnej, ocena choroby resztkowej staje się coraz bardziej istotna, a badanie panelowe z wykorzystaniem NGS jest pomocne w identyfikacji różnych typów mutacji, co umożliwia lepsze monitorowanie choroby.
12. Diagnostyka przewlekłej białaczki limfocytowej dotyczy badań różnych aberracji (delecja chromosomu 11 (del 11q22-23), trisomia chromosomu 12, delecji fragmentu chromosomu 13 (del 13q14) oraz delecji chromosomu 17 (del 17p12).
Badania są wykonywane metodami cytogenetyki molekularnej i powinny być przeprowadzone przed każdym kursem chemioterapii.
Analiza wariantów w genie TP53 pozwala na lepsze przygotowanie i planowanie skuteczniejszej terapii.
13. Zastosowanie NGS wydaje się być metodą z wyboru w diagnostyce nowotworów mieloproliferacyjnych oraz wykrywaniu oporności na leczenie z wykorzystaniem TKI.

Finansowanie badań genetycznych

1. Narodowy Fundusz Zdrowia finansuje badania genetyczne w ramach umowy leczenia szpitalne oraz programu opieki nad rodzinami wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi lub jajnika
2. NFZ w 2017 roku wprowadził możliwość finansowania badań genetycznych w umowie leczenia szpitalne, w zależności oczywiście od zastosowanej technologii diagnostycznej, w zależności od rozpoznania ICD 10, czyli od rodzaju nowotworu, użytej techniki diagnostycznej, liczby, rodzaju wykonywanych oznaczeń, i czasu pobrania materiału do badania.
3. Refundacja badań genetycznych w chorobach nowotworowych w ramach umowy leczenia szpitalne dedykowane są produkty rozliczeniowe z katalogu 1C (do sumowania), które pozwalają sfinansować wykonane diagnostyczne badania genetyczne z materiału pobranego w trakcie hospitalizacji lub z materiału archiwalnego na podstawie załącznika nr 7:
 - podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych, jest to wartość tego produktu 649 punktów
 - złożone badania genetyczne w chorobach nowotworowych o wartości 1298 punktów
 - zaawansowane badania genetyczne o wartości 2434 punkty.

4. Koszty badań genetycznych są zróżnicowane i zależą od użytej techniki badawczej oraz liczby i rodzaju wykonywanych procedur
5. Zwiększenie finansowania diagnostyki genetycznej w chorobach nowotworowych, a w tym samym szerszy dostęp do badań genetycznych przyczyni się do optymalizacji procesu leczenia i daje nie tylko szansę na dłuższe życie pacjentów, ale także zwiększa efektywność systemu ochrony zdrowia.
6. W przypadku materiału świeżego, badanie genetyczne może być rozliczone w trybie ambulatoryjnym w ramach umowy o rodzaju świadczenia zdrowotne, kontraktowane odrębnie.
7. W przypadku materiału świeżego pobranego w trakcie hospitalizacji, można rozliczyć z procedury dosumowania, ale tylko z grupą JGP (katalog 1A).
8. W zależności od momentu pobrania materiału, badania genetyczne mogą być rozliczane w różny sposób.
9. Pobranie materiału w trakcie hospitalizacji oraz wykonanie zlecenia na badanie genetyczne są podstawowymi warunkami rozliczenia badania genetycznego.
10. Raport z analizy molekularnej powinien zawierać następujące informacje: wskazanie do badania, rodzaj badanego materiału, informacje o zidentyfikowanym wariancie wraz z komentarzem klinicznym, bądź odniesieniem do dostępnego piśmiennictwa, pełna informacja dotycząca zakresu wykonanej metody.

Diagnostyka CGP

1. Automatyzacja badań genetycznych, zwłaszcza kompleksowego profilowania genetycznego, pozwala skrócić czas oczekiwania na wyniki, co jest kluczowe dla pacjentów onkologicznych.
2. Badania genetyczne wymagają świadomej zgody pacjenta.
3. Proces kwalifikacji materiału genetycznego przez patologa jest kluczowym etapem, który może być czasochłonny, ale istotny dla poprawności wyników.
4. Wprowadzenie nowych technologii i urządzeń do automatyzacji badań genetycznych może przyspieszyć proces diagnostyczny i poprawić dostępność wyników dla pacjentów.
5. Kompleksowe profilowanie genetyczne (CGP) pozwala na ocenę markerów prognostycznych, predykcyjnych i diagnostycznych, pozwala na ocenę genów biorących udział w onkogenezie, a także na rozwój onkologii precyzyjnej.
6. CGP jest szczególnie zasadne w przypadku zaawansowanych nowotworów, takich jak mięsaki tkanek miękkich i kości czy rak jajnika.
7. Zastosowanie paneli CGP pozwala na weryfikację rozpoznania klinicznego, identyfikację markerów terapeutycznych, ale również predyspozycji genetycznych, ponieważ pozwala na identyfikację zmian zarówno na poziomie germinalnym i somatycznym.
8. Raport z analizy molekularnej powinien zawierać następujące informacje: wskazanie do badania, rodzaj badanego materiału, informacje o zidentyfikowanym wariancie wraz z komentarzem klinicznym, bądź odniesieniem do dostępnego piśmiennictwa, pełna informacja dotycząca zakresu wykonanej metody.

Materiały aktualne na 02.2024

Dodatkowe pytania prosimy przesyłać na adres: biuro@ruchspoleczny.org.pl

Przekierujemy je do ekspertów.

Zapraszamy do korzystania z naszego portalu: www.centrumkryzysowe.org.pl

które prowadzi pacjentów i ich bliskich krok po kroku przez diagnostykę, leczenie, a także zawiera informacje o wsparciu socjalnym, odżywianiu i innych ważnych kwestiach, oraz na naszą infolinię **22 105 55 30**.

Więcej informacji o infolinii:

<https://centrumkryzysowe.org.pl/centrum-kryzysowe-uruchamia-infolinie-dla-pacjentow/>

Przy liście ośrodków znajdą się również wkrótce informacje z kontaktami do koordynatorów pacjenta onkologicznego.

Jeśli nie ma tam jeszcze Twojego imienia i nazwiska oraz bezpośredniego kontaktu, prześlij nam te informacje na adres: biuro@ruchspoleczny.org.pl

Więcej informacji i naszych działaniach znajdziesz na stronie: www.ruchspoleczny.org.pl



CENTRUM KRYZYSOWE
twój plaster na raka

1,5%

KRS 0000346788

Materiał powstał dzięki pomocy i wsparciu firmy **AstraZeneca** 