

בדיקת RosettaGX Reveal – בדיקה ציטוגנטית חדשה להערכת קשריות בבלוטת התריס עם ציטולוגיה שאינה חד משמעית

מבוא

נגעים בבלוטת התריס (קשריות) הפכו בשנים האחרונות לממצא שכיח. לרוב לא מדובר בגידול סרטני, אך הופעת קשרית מחייבת בירור ושליטת סרטן. ניקור (Fine Needle Aspiration; FNA) ובחינה מיקרוסקופית של תאי הקשרית היא השיטה הנפוצה ביותר להבדלה בין קשריות שפירות לממאירות. לעיתים תוצאת בדיקת הניקור אינה חד משמעית (indeterminate) ולא ניתן לדעת על פי האבחנה הציטולוגית האם התאים שנלקחו הם שפירים או ממאירים. מטופלים המקבלים תשובה שאינה חד משמעית, מופנים לעיתים קרובות לניתוח אבחנתי הכולל כריתה חלקית של בלוטת התריס, זאת למרות שבמרבית המקרים מתברר כי הקשרית הייתה שפירה והניתוח היה מיותר. לאחרונה פותחו שיטות חדשות להערכת קשריות חשודות בבלוטת התריס המתבססות על סמנים מולקולריים בתאי הקשרית. במאמר זה נתאר את אחת הבדיקות, RosettaGX Reveal, העושה שימוש במשטחים הציטולוגיים שהוכנו במהלך הניקור ואינה מצריכה לקיחת דגימה נוספת מן המטופל. הבדיקה מעריכה את ביטויים של סמנים מולקולריים הקרויים מיקרו-RNA, מולקולות רנ"א קצרות, המבקרות ביטוי גנים ברקמות הגוף. RosettaGX Reveal מבחינה בין דוגמאות שפירות ודוגמאות החשודות בממאירות. בנוסף, הבדיקה בודקת נוכחות סמן מולקולרי ל- medullary carcinoma.

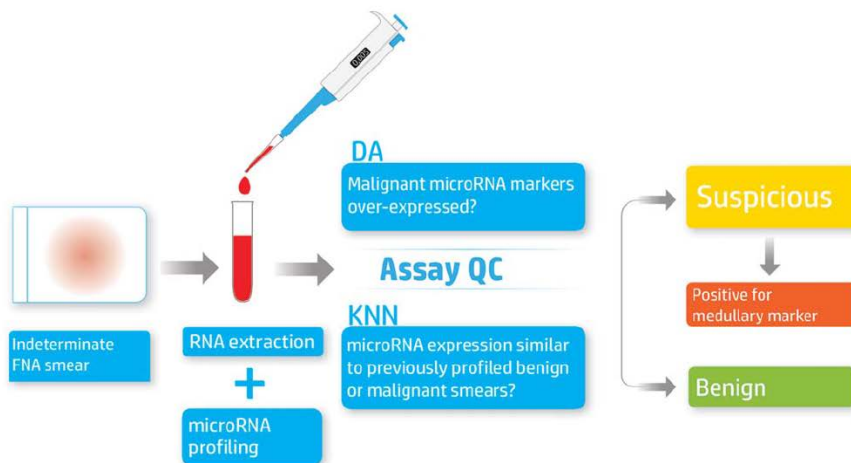
במאמר זה נתאר את ניסוי הולידיציה הקלינית של בדיקת ה- Reveal שתוצאותיו פורסמו בכתב העת המדעי Journal of Clinical Pathology באוקטובר 2016.

שיטות

הולידיציה הקלינית נעשתה באמצעות מחקר סמוי ורב מרכזי. ניסוי הולידיציה כלל 201 דוגמאות שנאספו באופן רטרוספקטיבי מחמישה מרכזים רפואיים בארה"ב אירופה וישראל. הדוגמאות שנאספו היו משטחים ציטולוגיים צבועים בעלי ציטולוגיה שאינה חד משמעית. סוג הדוגמאות כשפירות או ממאירות בניסוי הולידיציה נעשה באמצעות בחינה פתולוגית של הגידול שהוסר בניתוח. כל גידול נבחן ע"י פתולוג המרכז הרפואי שאסף את הדוגמאות וכן ע"י שני פתולוגים נוספים. דוגמאות הולידיציה היו מחולים בוגרים (מעל גיל 18) ומקשריות שהיו בגודל של מעל ל-0.5 ס"מ.

תוצאות

אופן ביצוע בדיקת ה- Reveal מתואר באיור 1. RNA מופק מן המשטח הציטולוגי וביטויים של 24 מיקרו-RNA נמדד באמצעות qRT-PCR. בשלב הראשון, נבדקת איכות הדגימה ע"י הערכת כמות תאי הקשרית וכימות תאים אחרים, כדוגמת תאי דם באמצעות מדידת סמני מיקרו-RNA ספציפיים לתאים אלה. לאחר מכן, נבדקת רמתם של סמני מיקרו-RNA האופייניים לקשריות שפירות או ממאירות. התוצאות משוקללות והמשטח מסווג כשפיר או חשוד בממאירות. משטחים בהם נמצא ביטוי גבוה של הסמן miR-375 יסווגו כבעלי סיכון גבוה ל- medullary carcinoma.



איור 1: אופן ביצוע בדיקת RosettaGX Reveal.

ניסוי הולידציה כלל 201 דוגמאות עבורן היתה הסכמה של שני פתולוגים לגבי האבחנה הסופית (שפיר או ממאיר). רק 12 דוגמאות לא עברו את בקרת האיכות (6%). ביצועי הבדיקה עבור 189 הדוגמאות שעברו את בקרת האיכות: ערך הניבוי השלילי (negative predictive value) של הבדיקה הוא 91% - ערך זה משקף את רמת וודאות הבדיקה כאשר הדגימה מסווגת כשפירה. רגישות הבדיקה (Sensitivity) הוא 85% - ערך זה משקף את אחוז הדגימות שסווגו בהצלחה כממאירות. ספציפיות הבדיקה הוא 72% - ערך זה משקף את אחוז הדגימות שסווגו בהצלחה כשפירות.

בנוסף חושבו ביצועי הבדיקה עבור חלק מן המדגם שכלל דוגמאות לגביהן היתה הסכמה של שלושת הפתולוגים על האבחנה הסופית. תת מדגם זה כלל 150 דוגמאות (80% מן המדגם המקורי) והראה את הביצועים הבאים: ערך ניבוי שלילי 99%, רגישות: 98%, ספציפיות: 78%.

ביצועי הבדיקה במדגם הכולל ובתת המדגם מובאים בטבלה 1.

טבלה 1: ביצועי הבדיקה

מדגם	מספר דוגמאות	עברו בקרת איכות	מס' דוגמאות ממאירות	רגישות (%)	ספציפיות (%)	ערך ניבוי שלילי (%)	ערך ניבוי חיובי (%)
כולל	201	189	61	85	72	91	59
תת מדגם	160	150	40	98	78	99	62

סוג דגימות של medullary carcinoma נעשה באמצעות קביעת כמותו של הסמן miR-375. במהלך פיתוח הבדיקה, בדקנו 17 דוגמאות של medullary carcinoma: 14 נבחנו בניסוי מקדים (שאינו סמוי) ו-3 בניסוי הולידציה. בניסוי המקדים לכל 14 הדוגמאות היה ביטוי גבוה של miR-375 והן סווגו כ-medullary carcinoma. בניסוי הולידציה סווגו שלוש הדוגמאות כחשודות בממאירות, אולם לאחת מהן היה ביטוי נמוך יחסית של miR-375 ולפיכך היא לא סווגה כ-medullary carcinoma.

דין

המאמר שנסקר פה בקצרה מתאר את ניסוי הולידציה הקלינית של בדיקה מולקולרית חדשה המבחינה בין נגעים שפירים לנגעים החשודים בממאירות תוך שימוש במשטח ציטולוגי יחיד. בניגוד לבדיקות מולקולריות אחרות, בדיקת ה-Reveal אינה דורשת ניקור נוסף או תנאי משלוח מיוחדים. לבדיקה רגישות גבוהה הנעה בין 85% ל-98% וערך ניבוי שלילי גבוה הנע בין 91% ל-99%. ביצועים אלו הודגמו בניסוי רב-מרכזי וסומי במדגם של 189 דוגמאות שעברו את בקרת האיכות וכן בתת מדגם של 150 דוגמאות עבורן היתה הסכמה של שלושה פתולוגים לגבי האבחנה הסופית.

חשוב לציין כי פיתוח בדיקה מולקולרית מהסוג המתואר במאמר זה והערכת ביצועי הבדיקה מצריכים שימוש בדוגמאות עבורן קיימת אבחנה פתולוגית מדויקת של הגידולים שהוסרו בניתוח. מסיבה זו נכללו במדגם רק מקרים של חולים שעברו ניתוח. בנוסף, האבחנה הסופית של דוגמאות המדגם וודאה ע"י שני פתולוגים לפחות ובתת המדגם נכללו דוגמאות עבורן אבחנה זו וודאה ע"י שלושה פתולוגים. בהתחשב בעובדה כי קיימת רמה

גבוהה של אי הסכמה בין פתולוגים שונים לגבי איבחון גידולים של בלוטת התריס, אנו מאמינים כי השימוש בדוגמאות שעברו בדיקה ע"י מספר פתולוגים העלה את רמת דיוק התוצאות. יחד עם זאת, איננו יכולים לפסול את ההשערה כי הדבר עשוי היה להשפיע על התפלגות הדוגמאות במדגם וכתוצאה מכך להשפיע על הביצועים.

לבדיקה ספציפיות הנעה בין 72% ל-78%. משמעות הדבר היא כי שימוש בבדיקה בחולים עם ציטולוגיה שאינה חד משמעית עשוי למנוע ביצוע של כ-72-78% מהניתוחים המיותרים המבוצעים כיום באוכלוסייה זאת.

סמני המיקרו-RNA בהם עושה הבדיקה שימוש נבחרו באמצעות מספר ניסויים מקדימים. בניסויים אלה נעשה שימוש בצ'יפים המכילים יותר מ-2000 מיקרו-RNA ובמאות משטחים ציטולוגיים. חלק מן הסמנים הללו תוארו בספרות הרפואית בהקשר של סרטן בלוטת התריס. לדוגמה, miR-146b-5p ו-miR-222-3p אשר נמצאו כבעלי ביטוי גבוה בסרטן מסוג פפילרי ומעורבים בהתקדמות המחלה, והסמנים miR-152-3p ו-miR-138-5p אשר תועדו בביטוי נמוך בסרטן מסוג פפילרי בהשוואה לרמה נורמלית או שפירה.

במחקר נוסף אשר פורסם ב-Cancer Cythopathology, נבדקה היכולת של הבדיקה לעבוד עם כמויות זעירות של תאי בלוטת התריס ונבחנה חזרתיות הבדיקה. מחקר זה הראה כי תוצאות הבדיקה לא הושפעו מגורמים רבים הכוללים גיל הדגימה, מעבדות שונות, ריאגנטים, טכנאים, ומכשירי PCR.

לסיכום, בדיקת Reveal מספקת כלי חשוב לאיבחון טרום-ניתוחי של קשריות בבלוטת התריס. בימים אלה נערכים מחקרים קליניים נוספים במרכזים רפואיים אקדמיים וכן במרכזים קהילתיים.