

Patologi

Hans Brunnström
Klinisk patologi Lund

Cytologi/patologi vid lungcancer och mesoteliom samt molekylärpatologi

- Patologins roll
- Diagnostik
- Behandlingsprediktiva analyser
- Provtyper
- Begränsningar och fallgropar

Utredning vid misstänkt lungcancer



Cancer eller inte?

Typ av cancer?

Ursprung?

Stadium?

Behandlingsprediktiva förändringar?

Patientens allmäntillstånd?
(performance status, komorbiditet)

Patientens önskemål?

Utredning vid misstänkt lungcancer

Cancer eller inte?

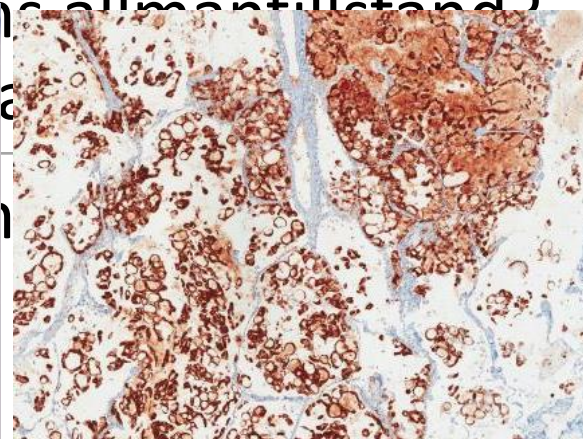
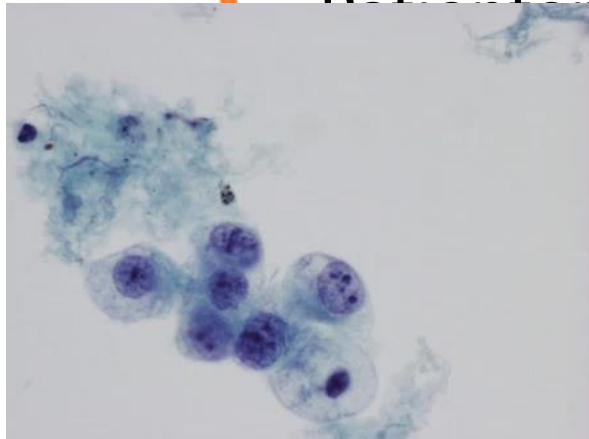
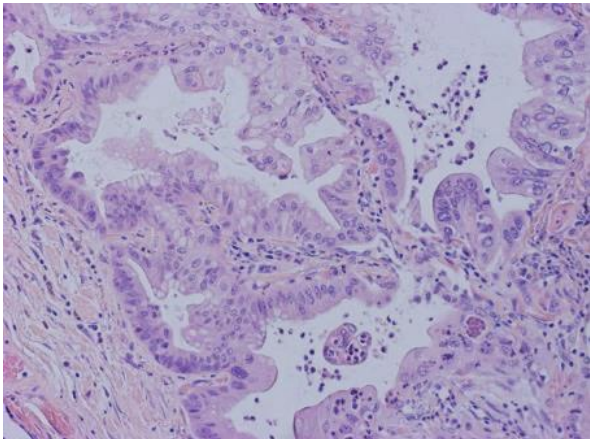
Typ av cancer?

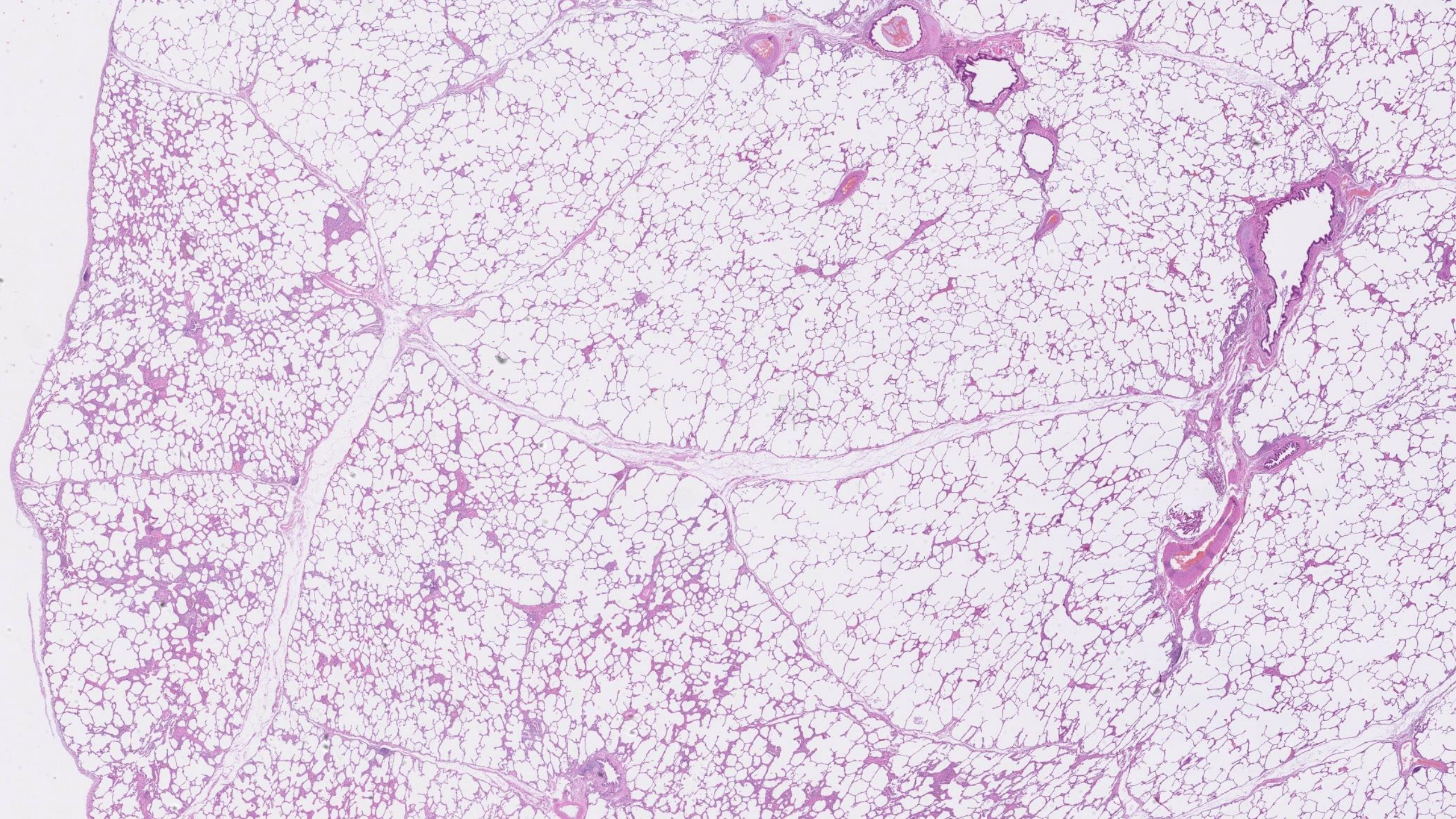
Ursprung?

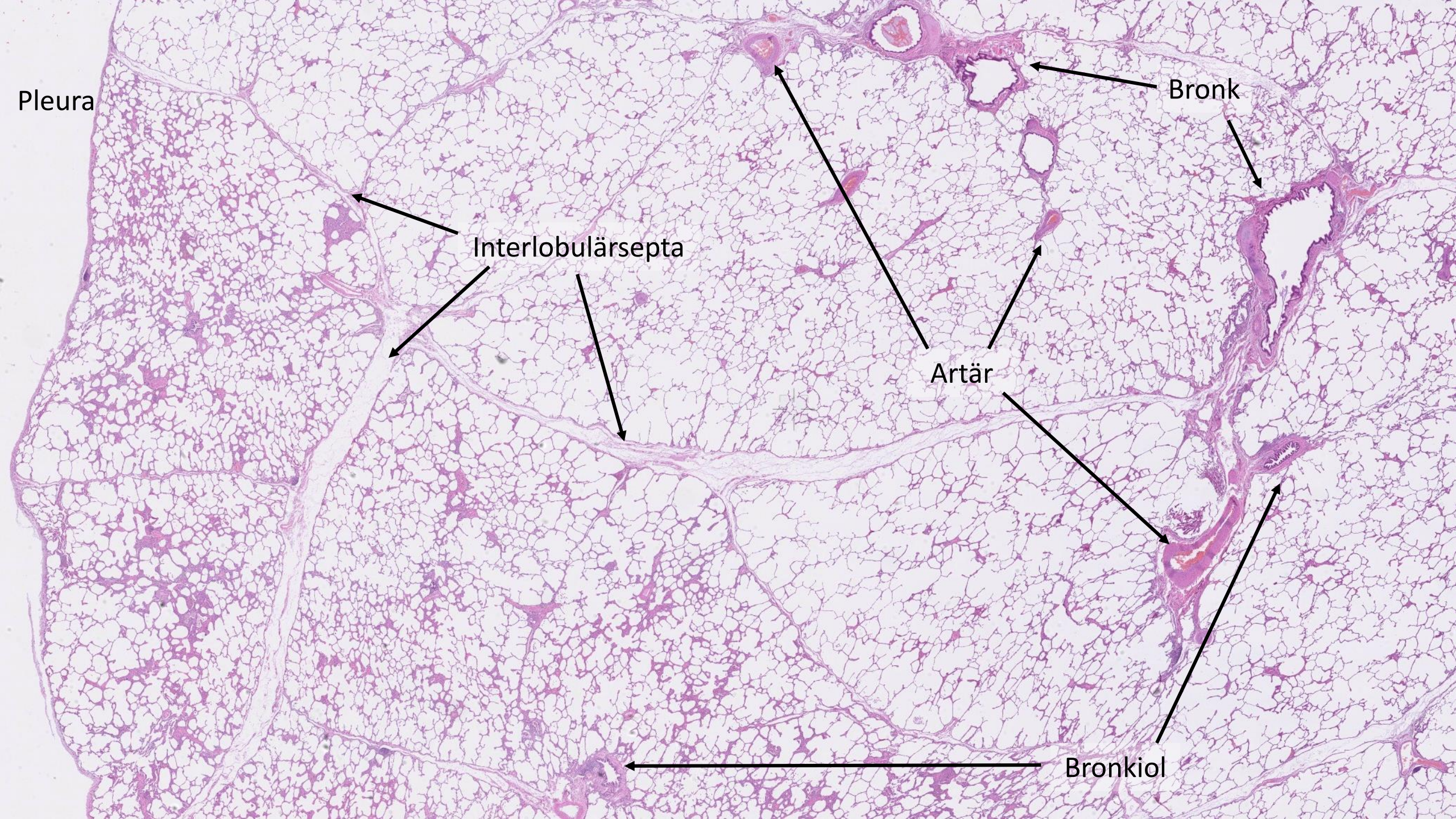
Stadium?

Behandlingsprediktiva förändringar?

Patientens allmäntillstånd?







Pleura

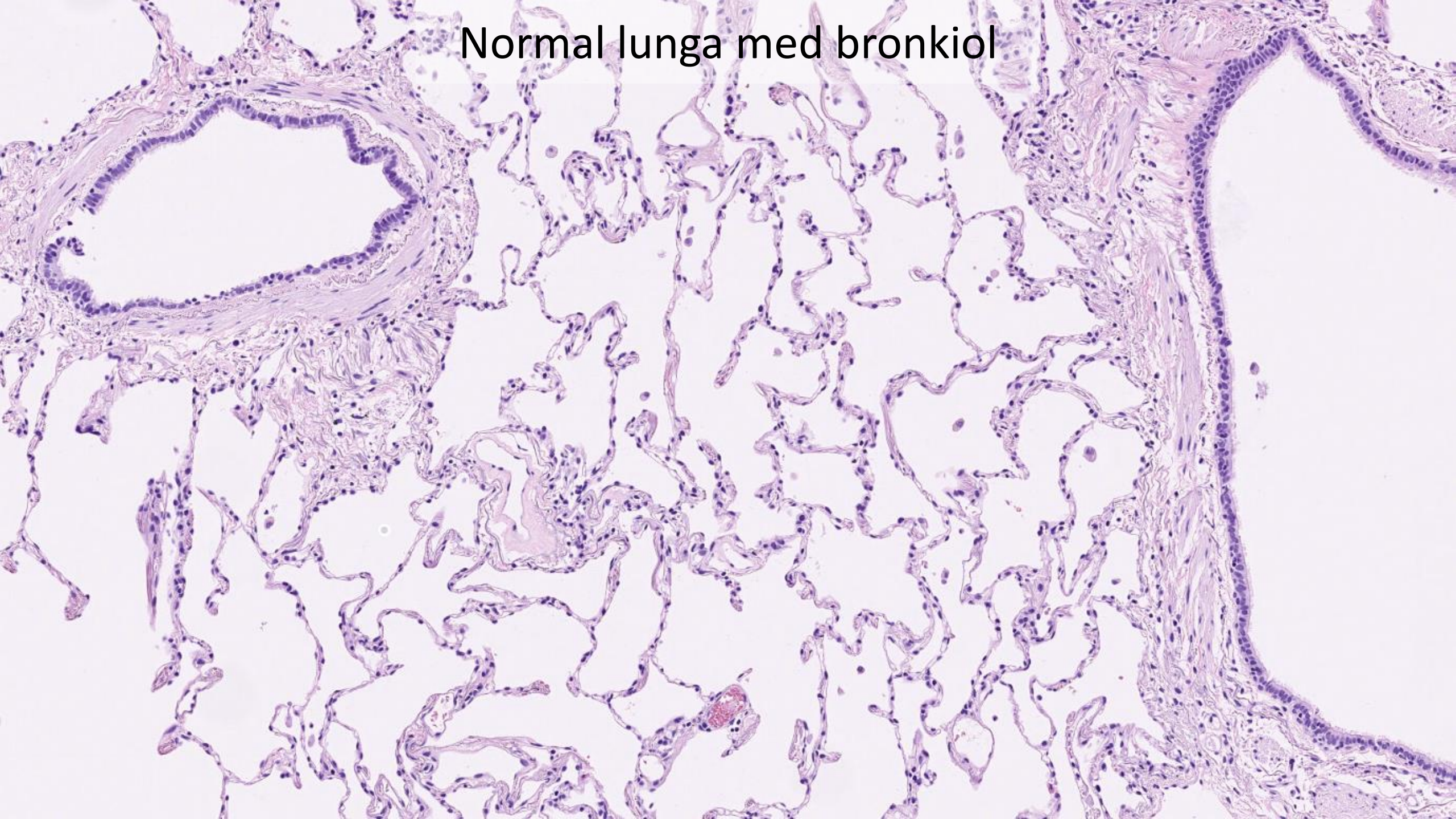
Bronk

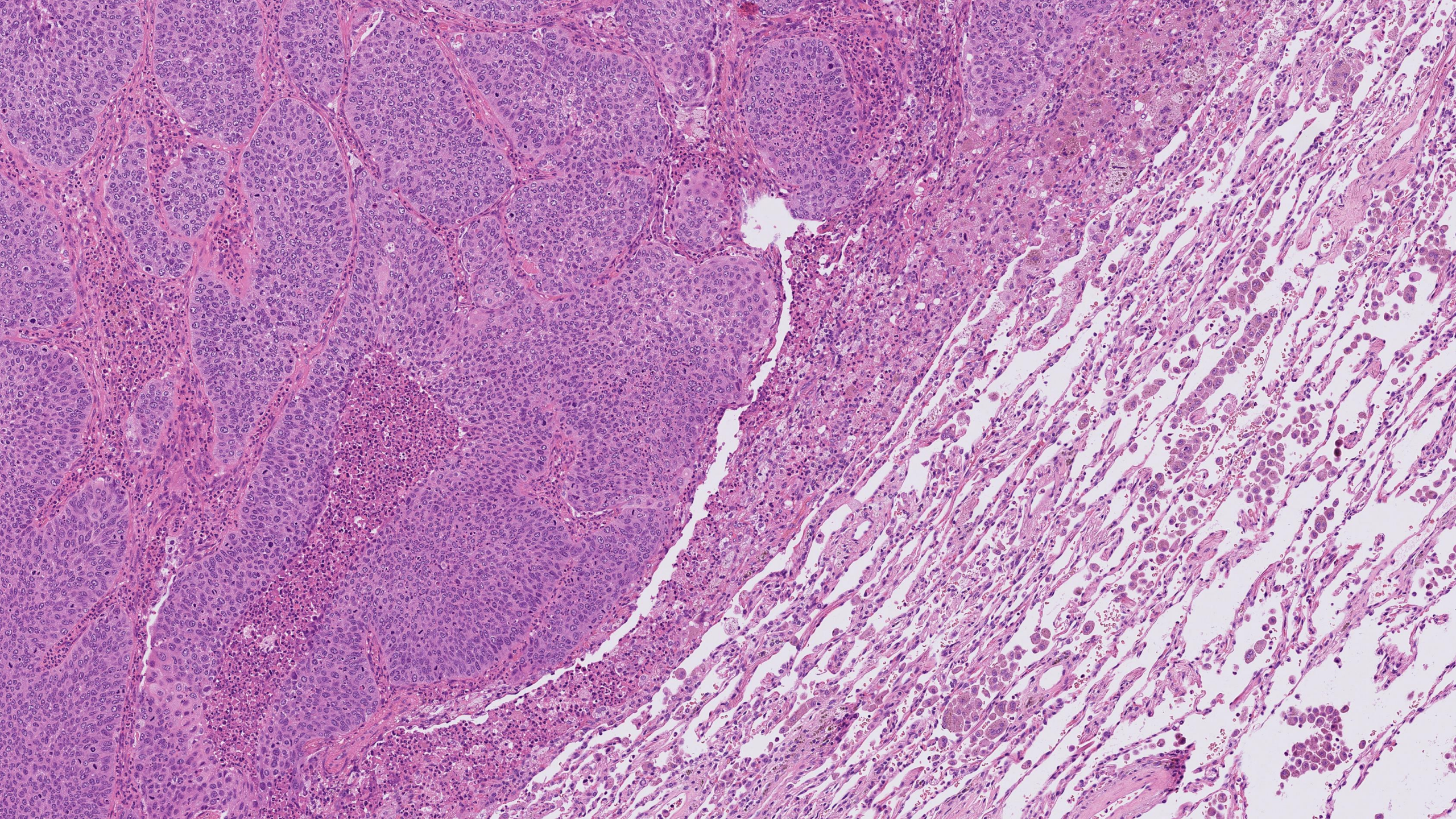
Interlobulärsepta

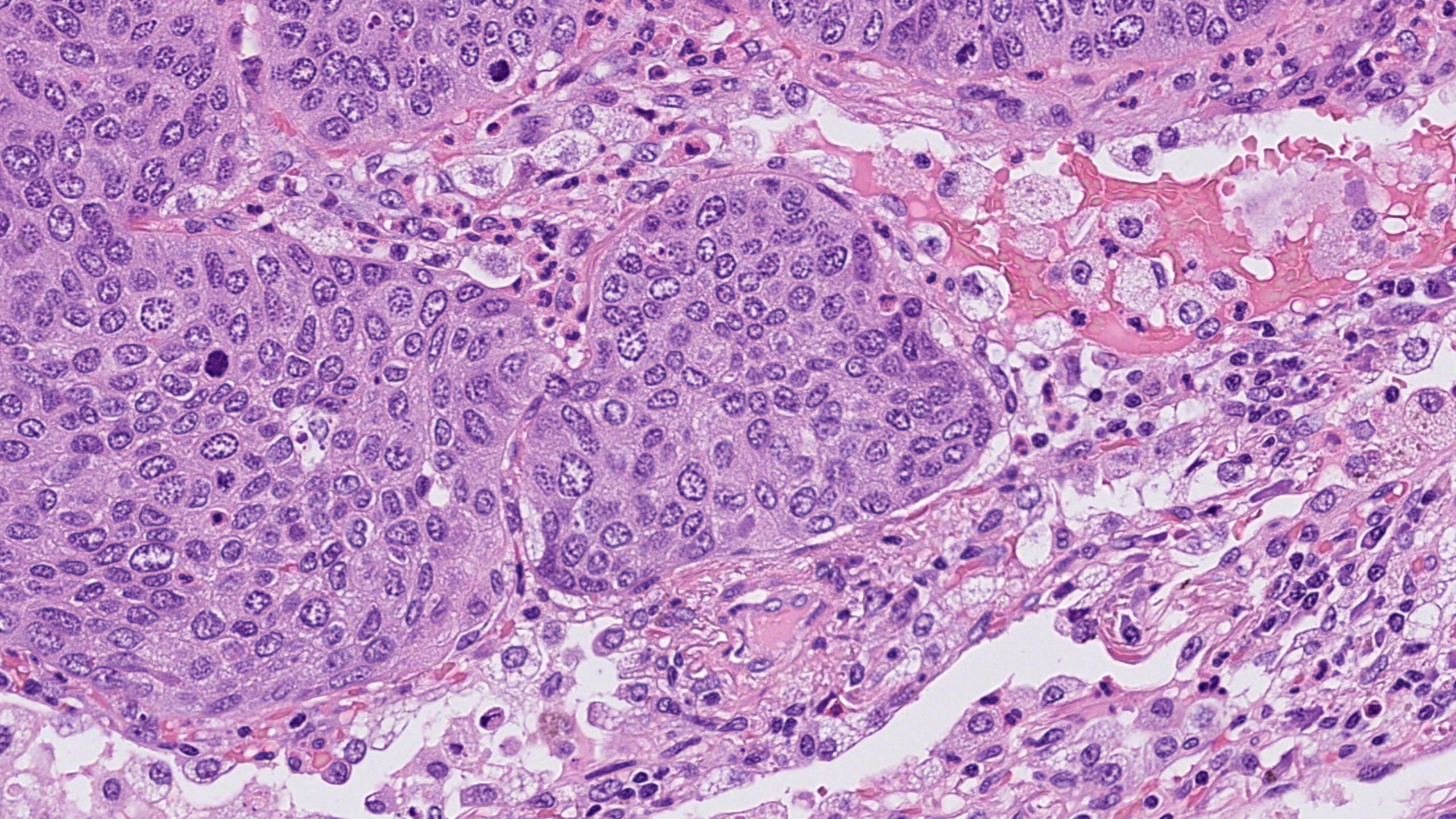
Artär

Bronkiol

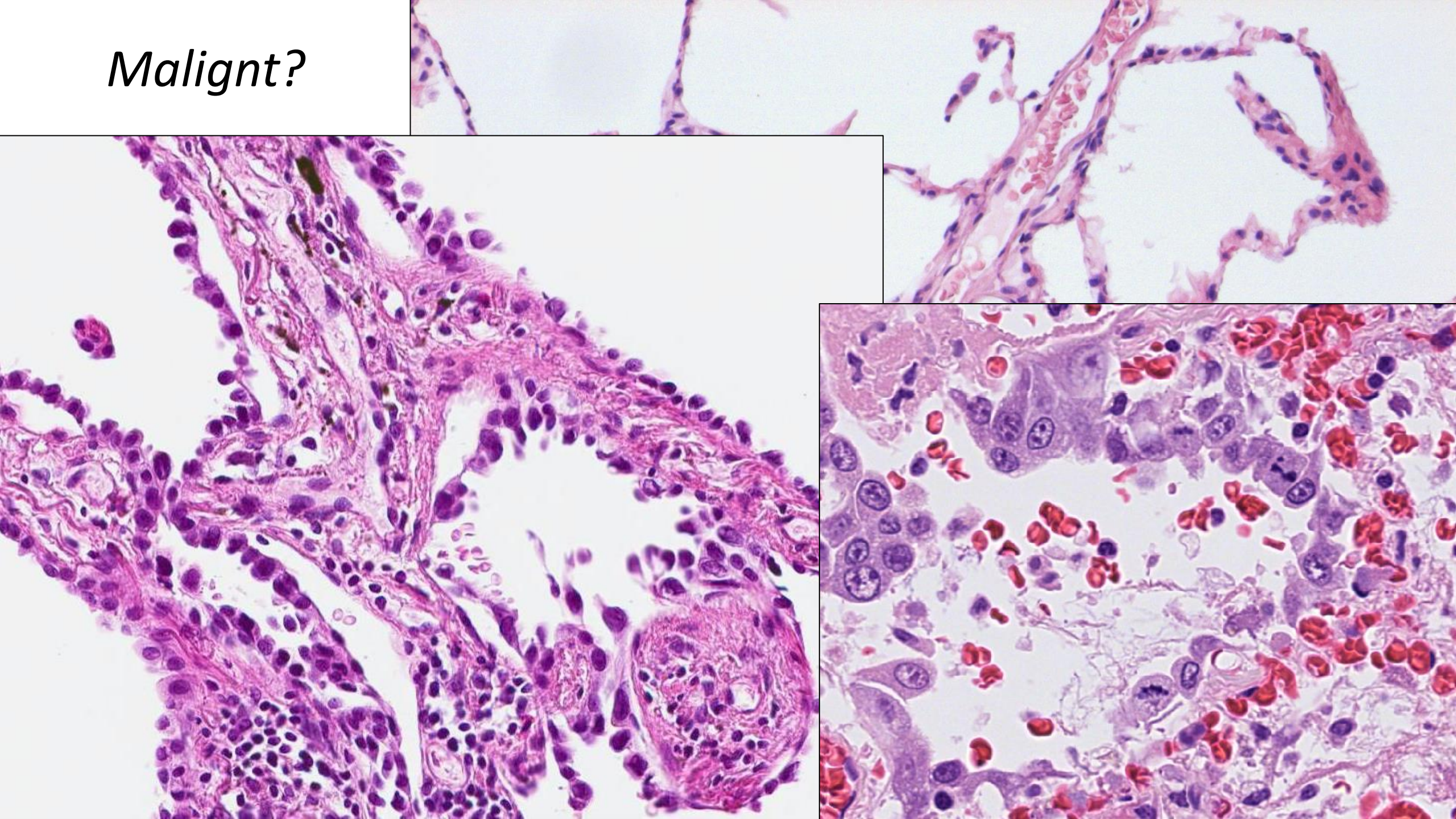
Normal lunga med bronkiol





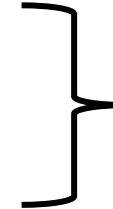


Malignant?



Utmaningar

- Reaktiva pneumocyter/bronkepitel vs. adenokarcinom
- Skivepitelmetaplasi/basalceller vs. skivepitelcancer
- Basalceller mm vs. karcinoid (fr.a. cytologi)



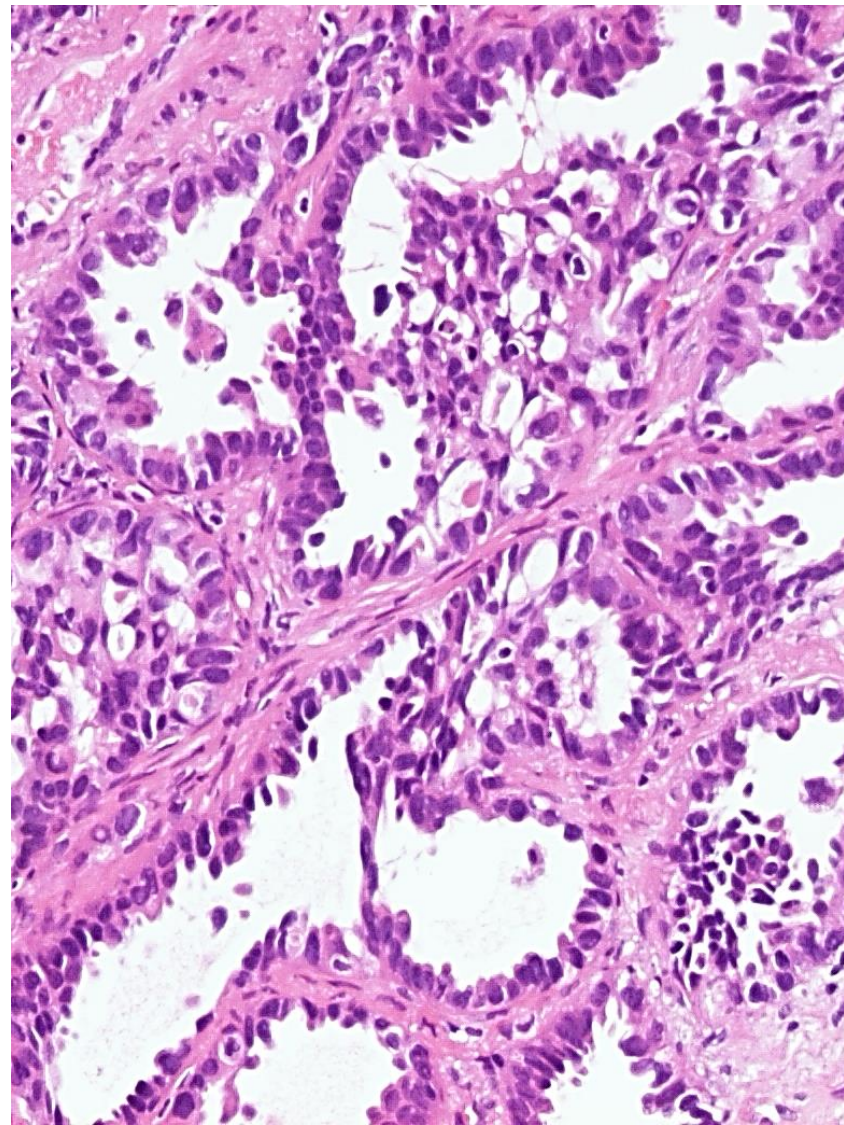
Inga bra
analyser för
att säkert
skilja

Adekvat representativt material och
gott informationsunderlag viktigast!

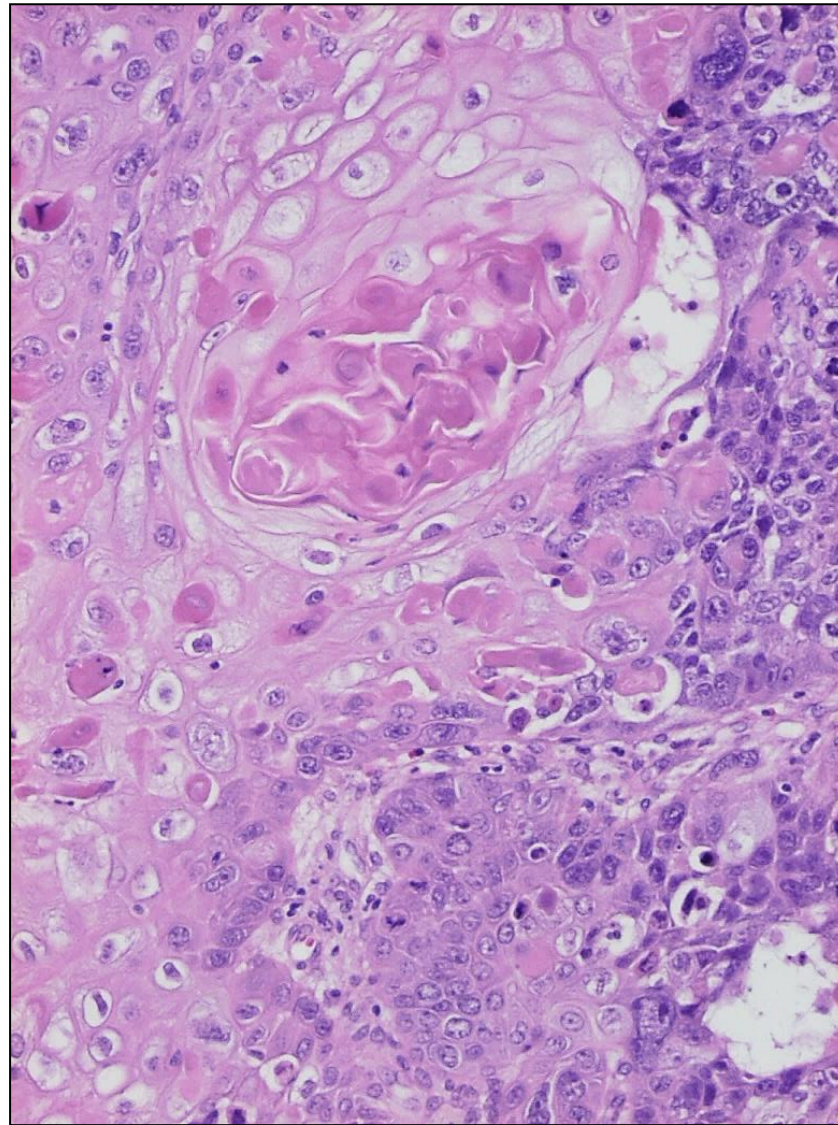
Generella riktlinjer för PAD-svar

- Otillräckligt
- Benigt
- Oklar atypi Osäker men sannolikt benigt
- Misstanke om malignitet Osäker men sannolikt malignt
- Malignt (specificera typ om möjligt)

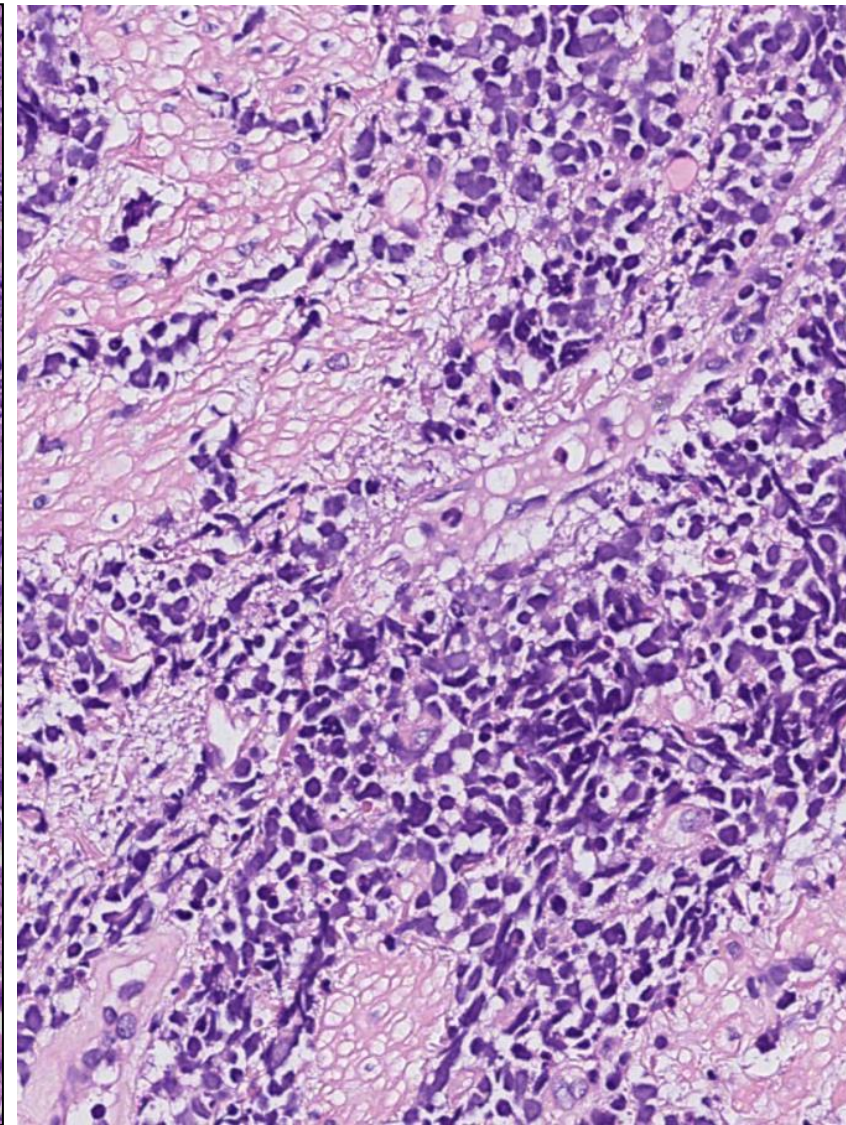
De vanligaste formerna av lungcancer



Adenokarcinom



Skivepitelcancer



Småcellig cancer

- Handläggs som adenokarcinom
 - Adenokarcinom
 - Icke-småcellig cancer sannolikt adenokarcinom
 - Icke-småcellig cancer ospecificerad
 - Storcellig cancer
 - Adenoskvamöst carcinom
 - Sarkomatoitt carcinom
 - Thorakal SMARCA4-deficient odifferentierad tumör

- Handläggs som skivepitelcancer
 - Skivepitelcancer
 - Icke-småcellig cancer sannolikt skivepitelcancer
 - Lymfoepitelialt carcinom

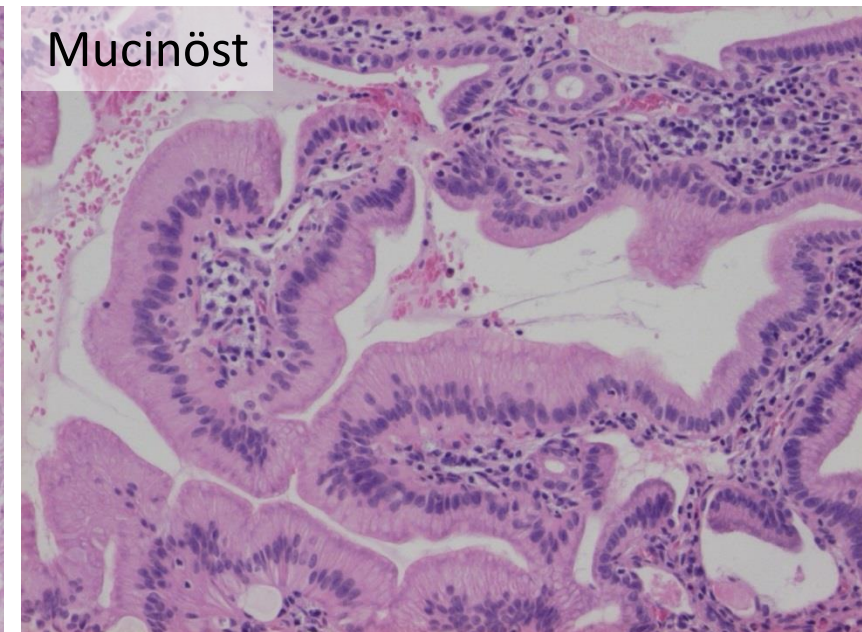
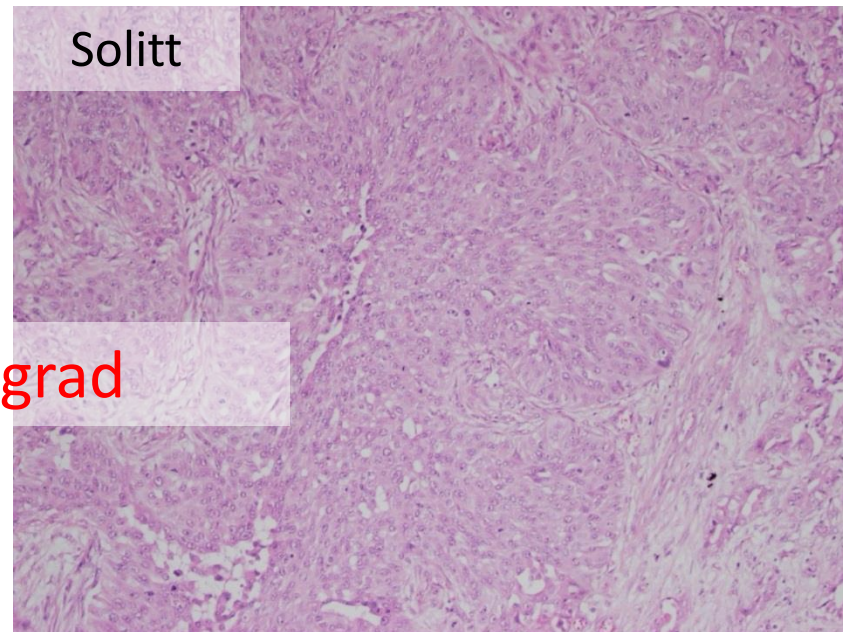
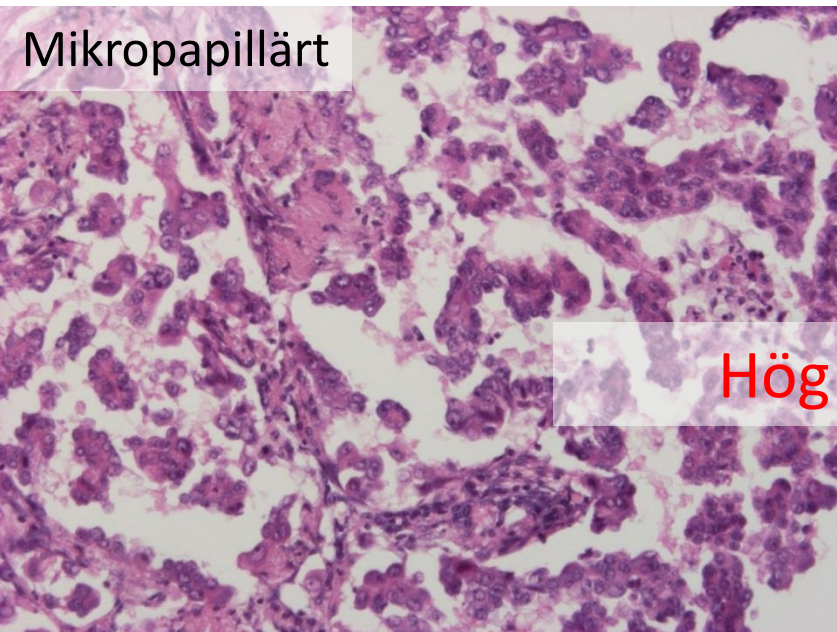
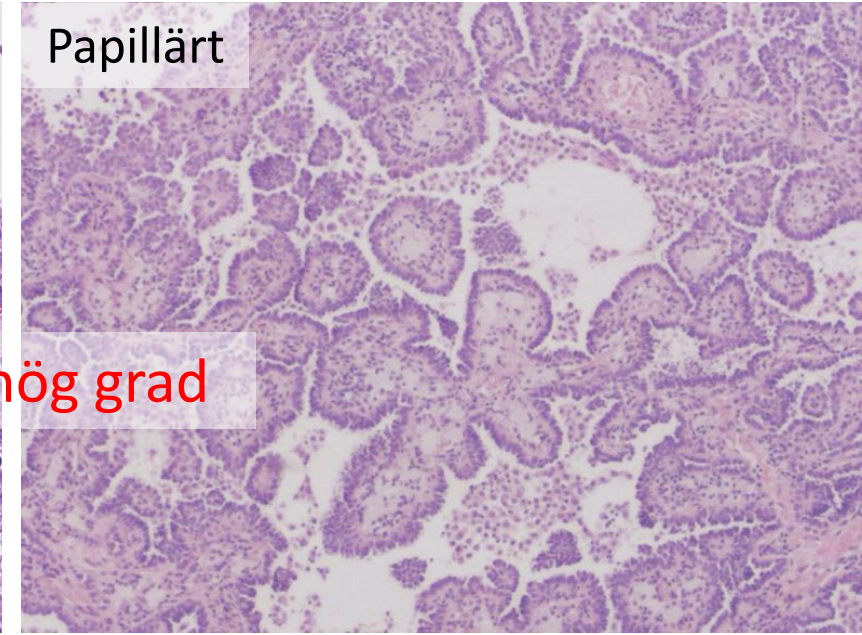
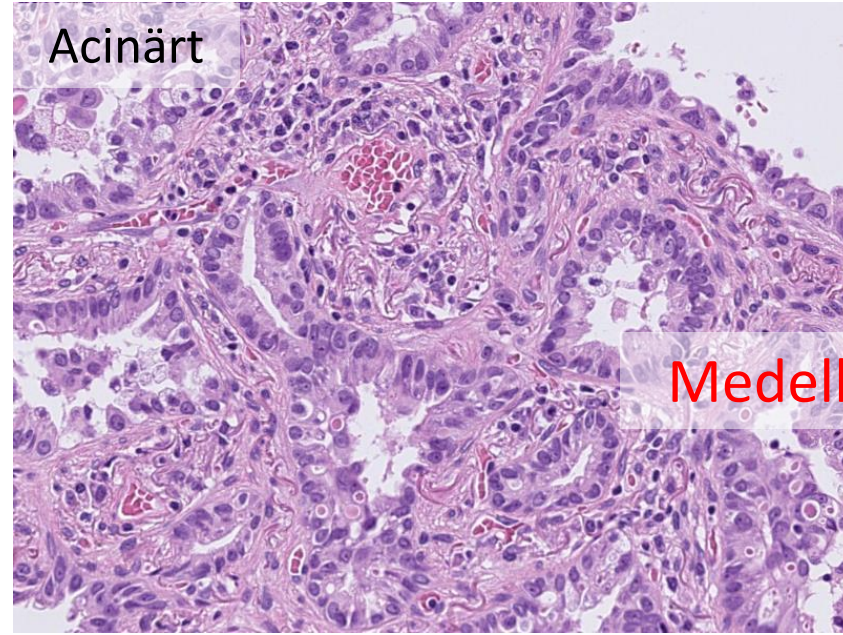
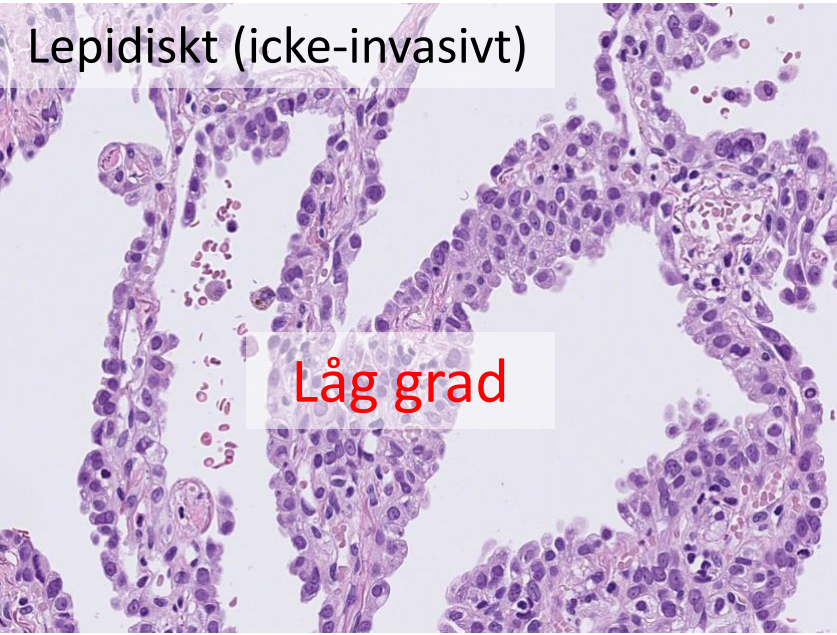
- Handläggs som småcellig cancer
 - Småcellig cancer
 - Storcellig neuroendokrin cancer
 - Neuroendokrin cancer ospecificerad

- Övriga
 - Cancer av spottkörteltyp
 - Karcinoid
 - NUT-carcinom

- Metastas till lunga

- Icke-epiteliala tumörer
 - Sarkom, lymfom, melanom

Subtypning av adenokarcinom utifrån växtmönster

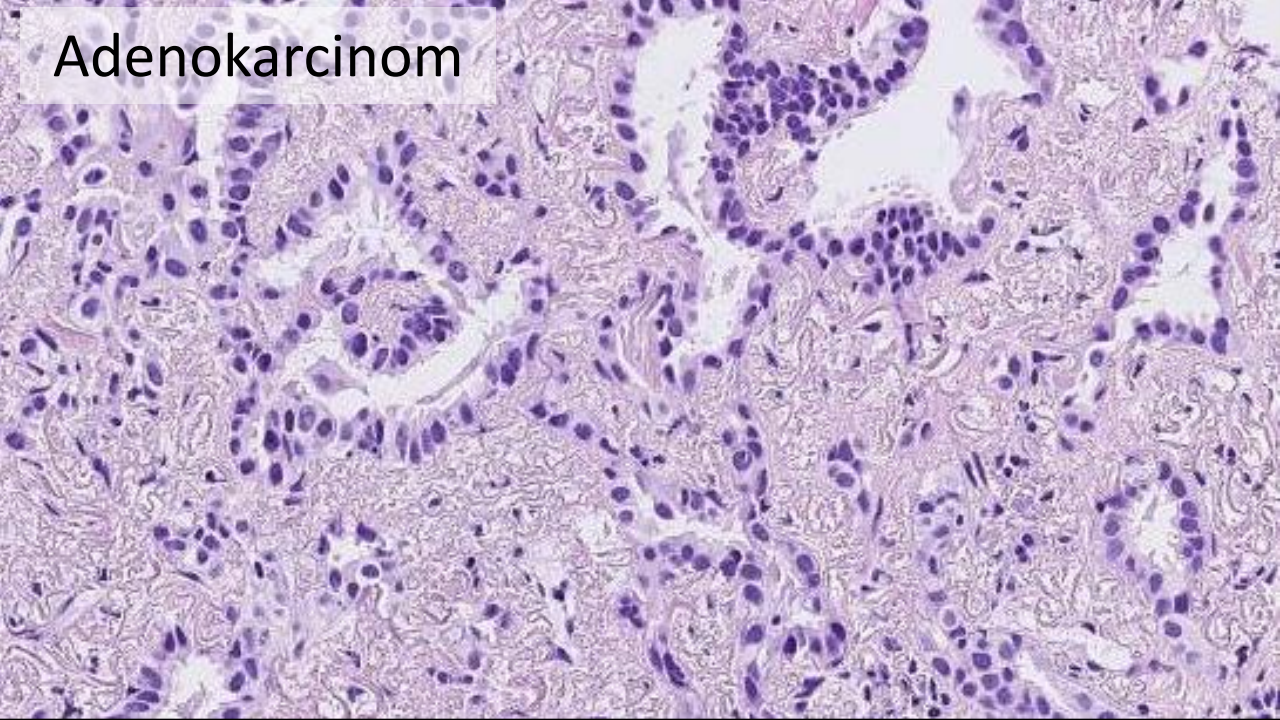


Terminologi

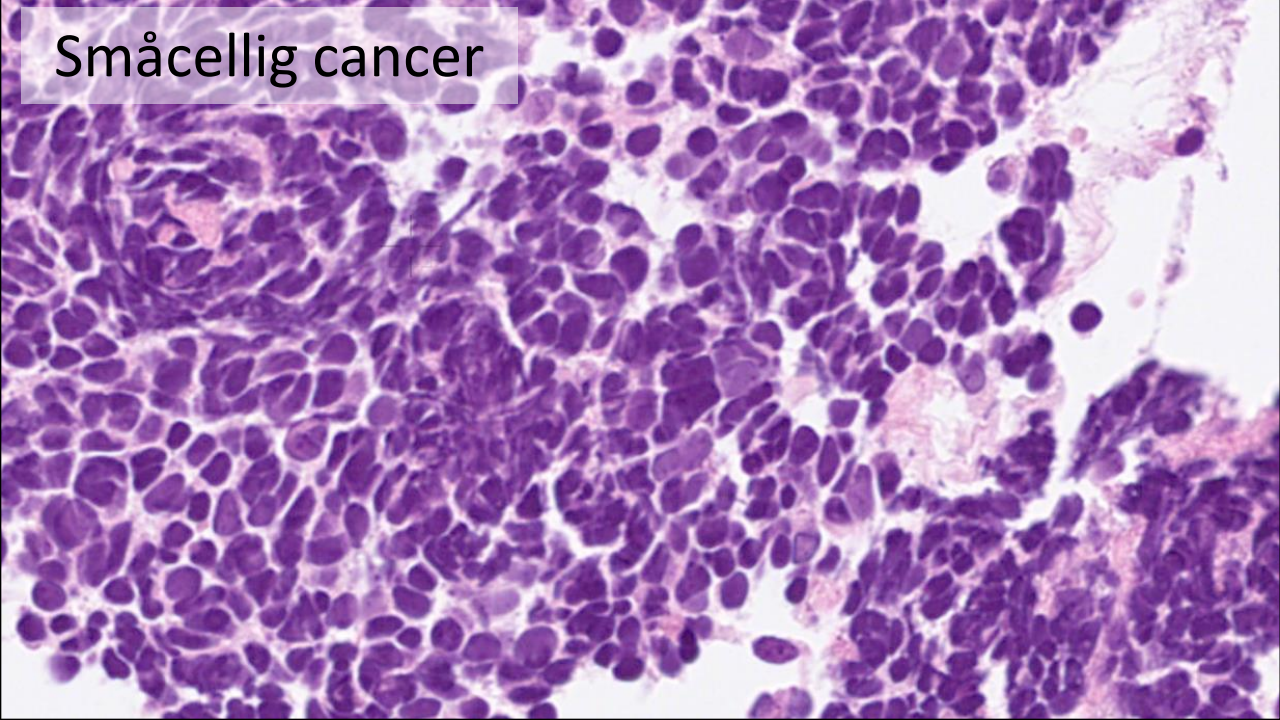
Resektat	Biopsi/cytologi	Kommentar
Adenokarcinom	Adenokarcinom	
-	NSCC sannolikt adenokarcinom	Oklar morfologi men TTF1+/ Napsin A+/mucin+
Skivepitelcancer	Skivepitelcancer	
-	NSCC sannolikt skivepitelcancer	Oklar morfologi men p40+/CK5+
Storcellig cancer	NSCC ospecificerad	NSCC men TTF1-/p40-/mucin- etc. (eller ej utförda/oklara)
Småcellig cancer	Småcellig cancer	
Storcellig neuroendokrin cancer	NSCC sannolikt storcellig neuroendokrin cancer	
Karcinoid, atypisk	Karcinoid UNS	
Karcinoid, typisk	Karcinoid UNS	

NSCC = icke-småcellig cancer

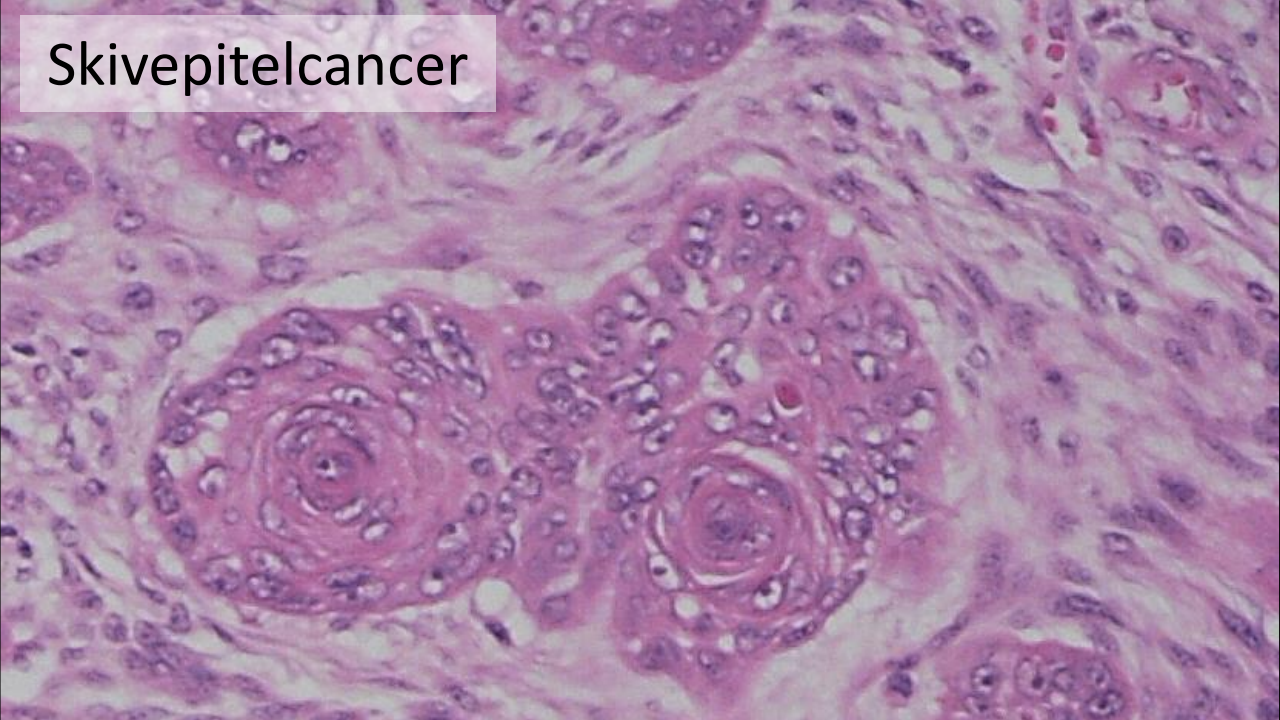
Adenokarcinom



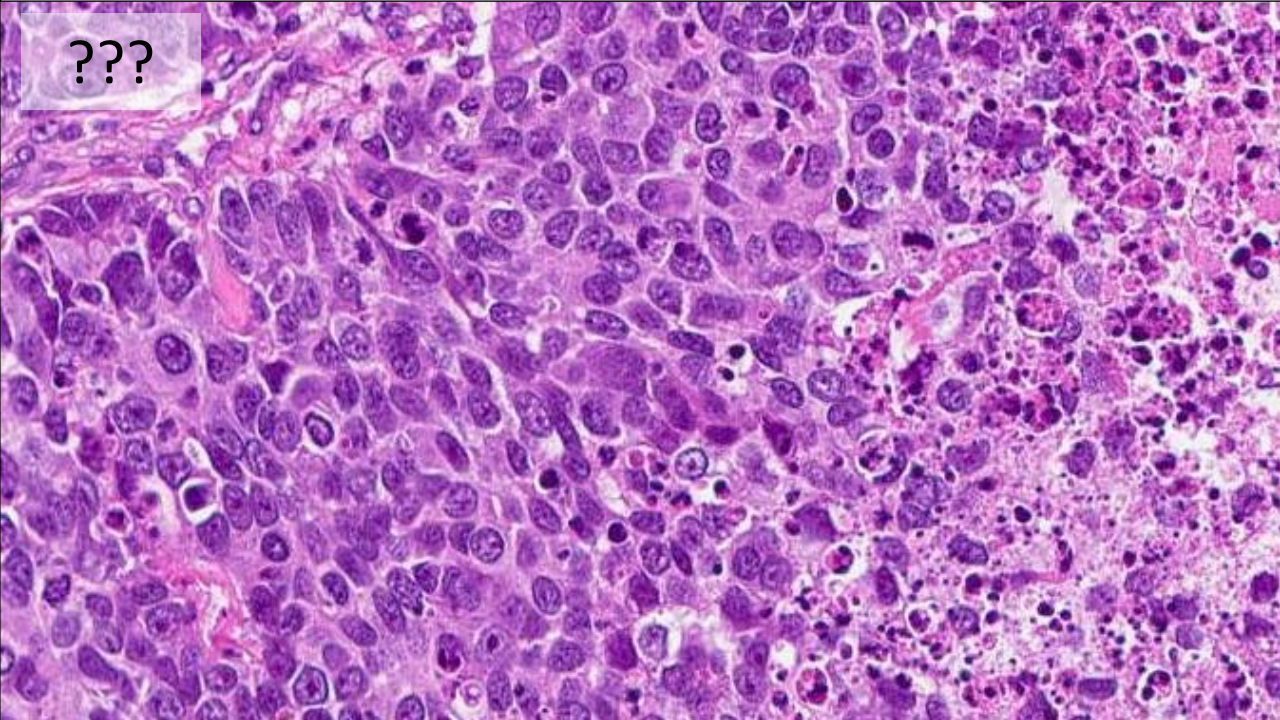
Småcellig cancer

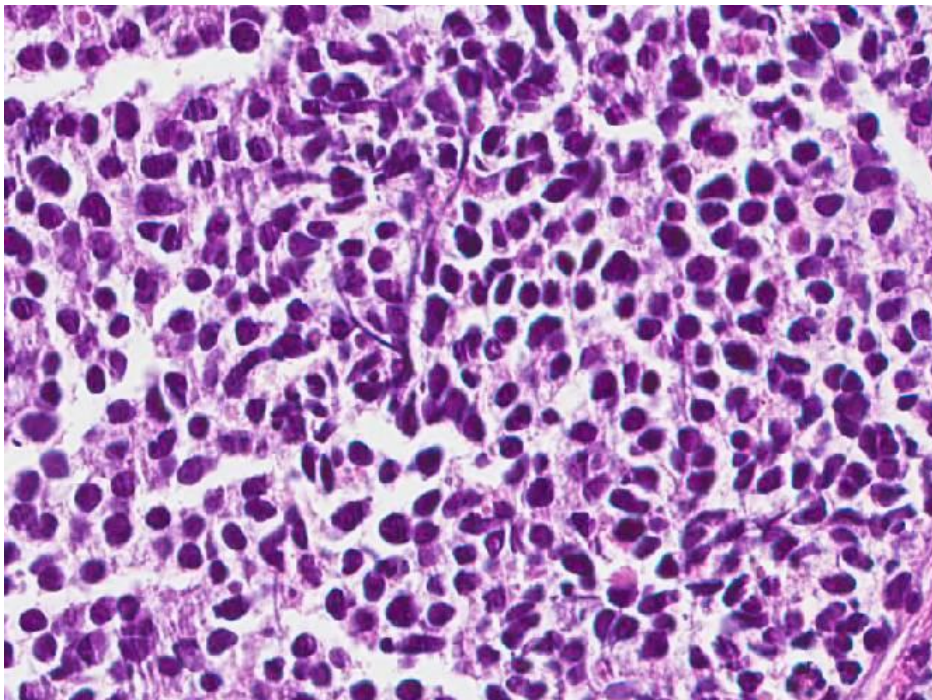
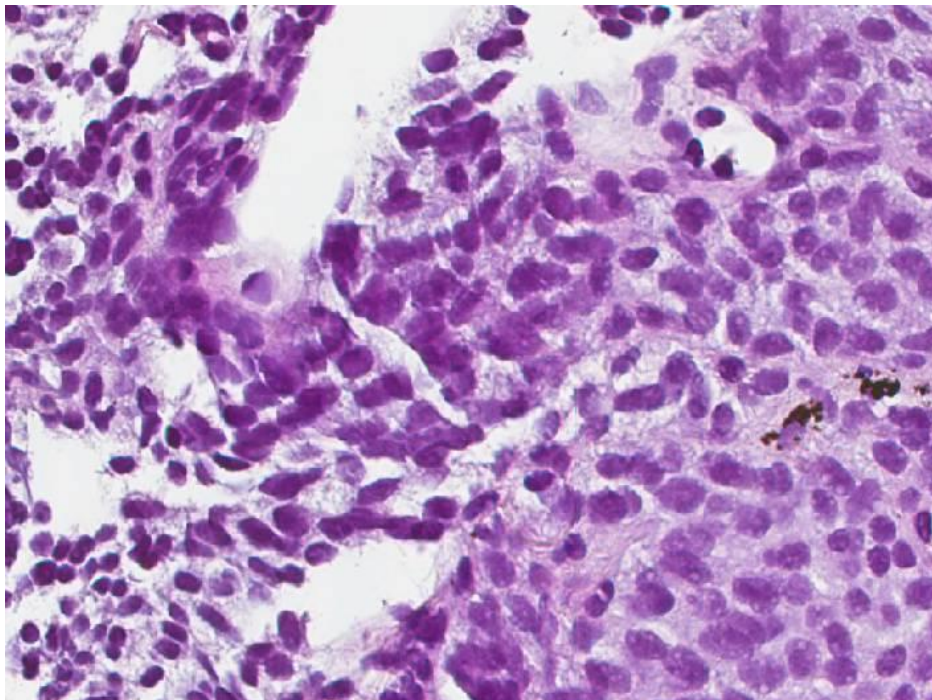
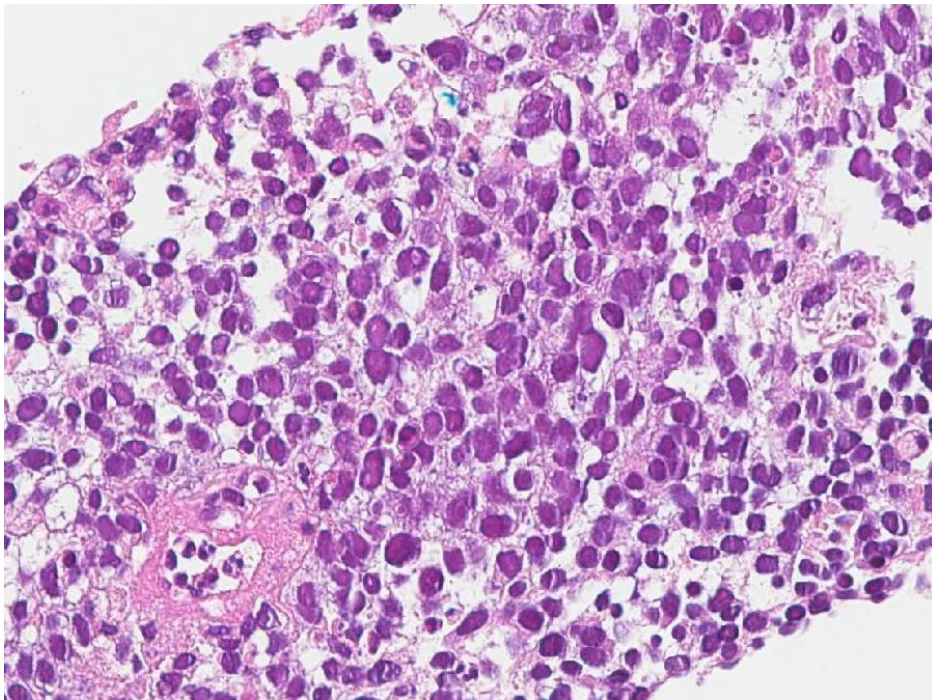
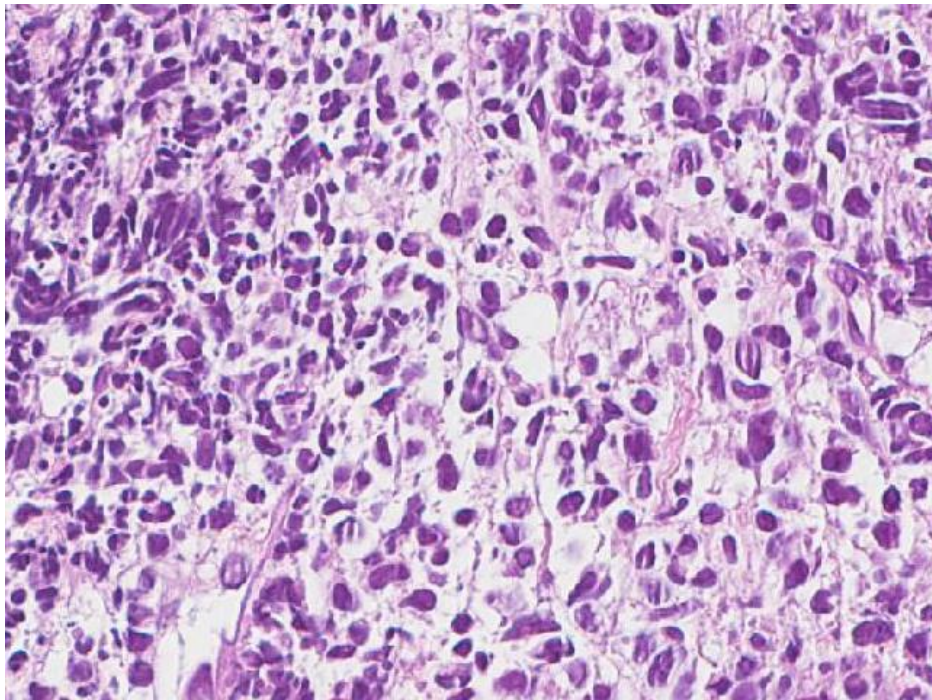


Skivepitelcancer



???

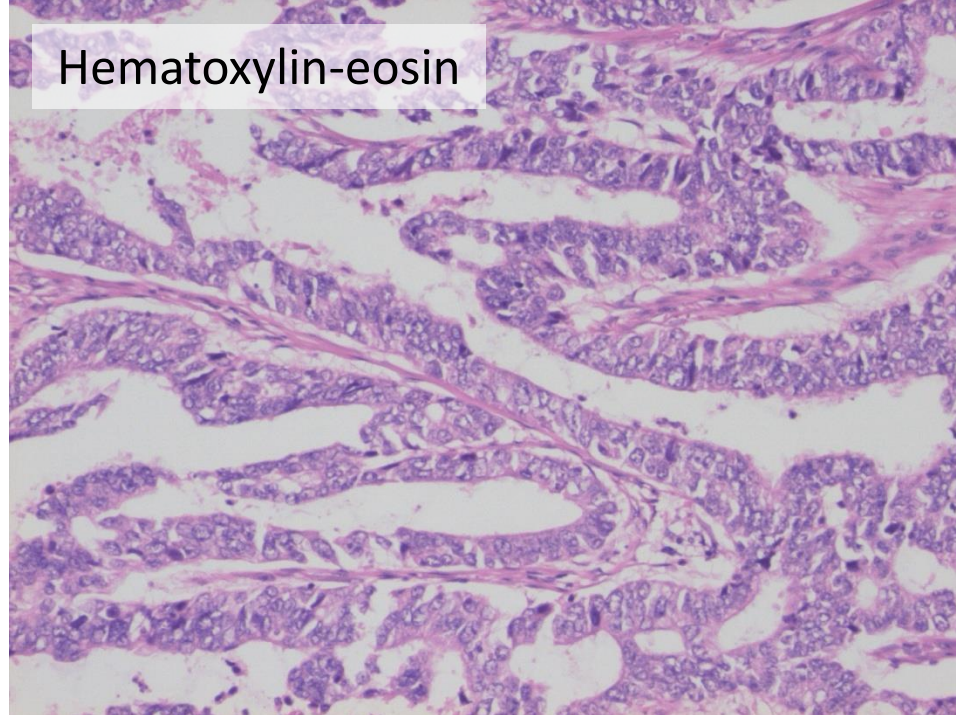




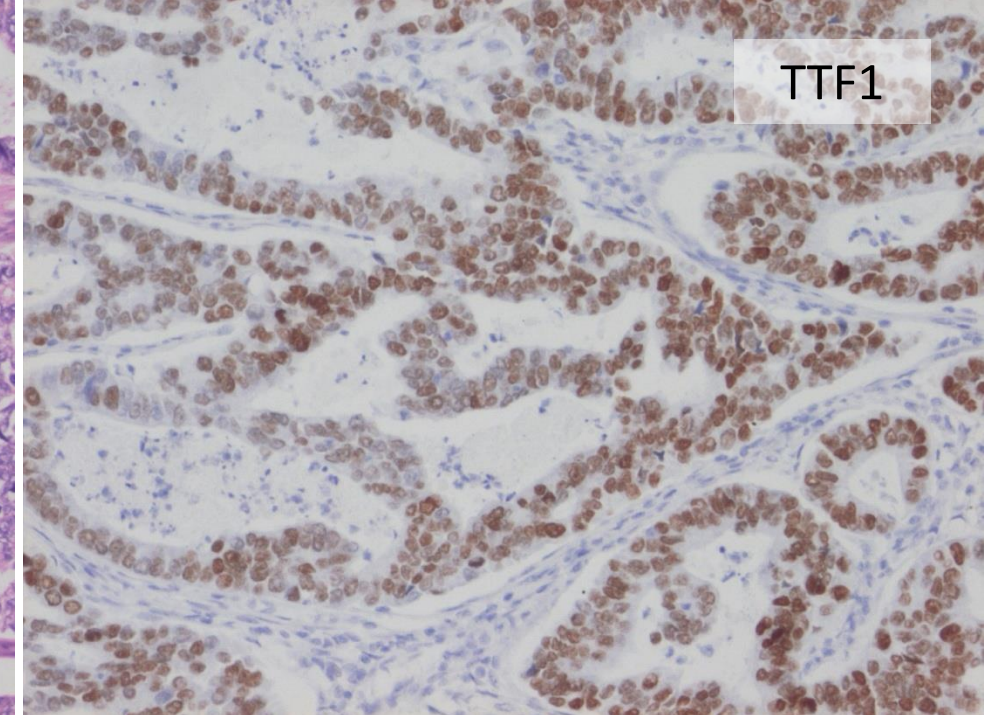
Diagnostiska immunfärgningar

Tumör/celler	p40	CK7	CDX2 / CK20	TTF1	Neuroendokrina markörer	Östrogen- receptor
Skivepitelcancer	+	±	-	-	-	-
Småcellig cancer	-	±	-	+	±	-
Adenocarcinom	-	+	-	+	-	-
Metastas coloncancer (adenokarcinom)	-	-	+	-	-	-
Metastas bröstcancer (adenokarcinom)	-	+	-	-	-	±
Benigt bronkepitel	±	+	-	-	-	-
Benigna pneumocyter	-	+	-	+	-	-

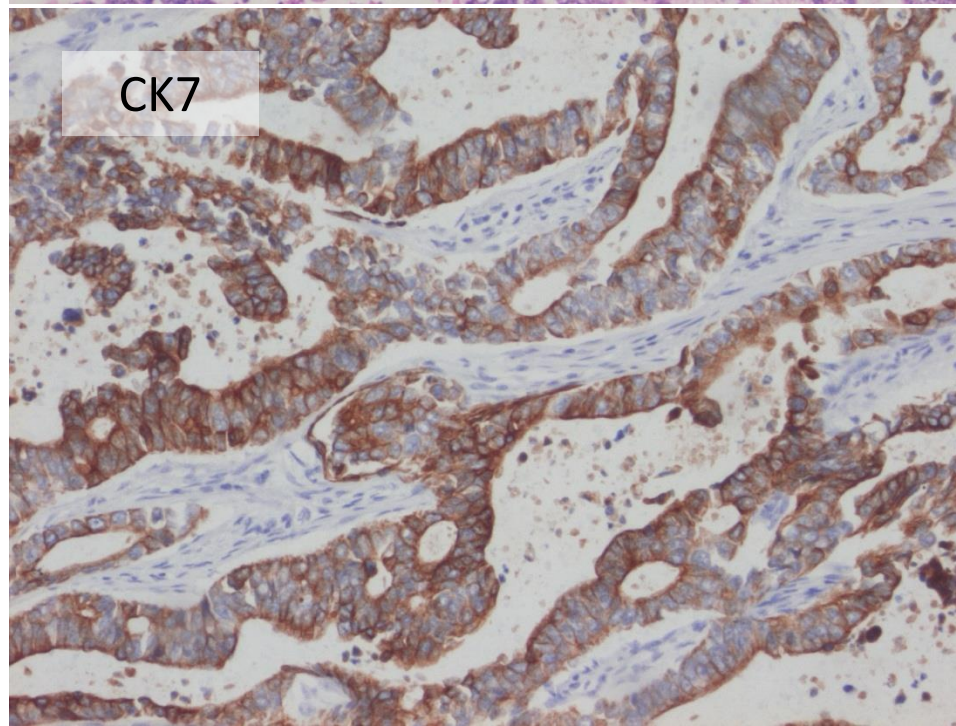
Hematoxylin-eosin



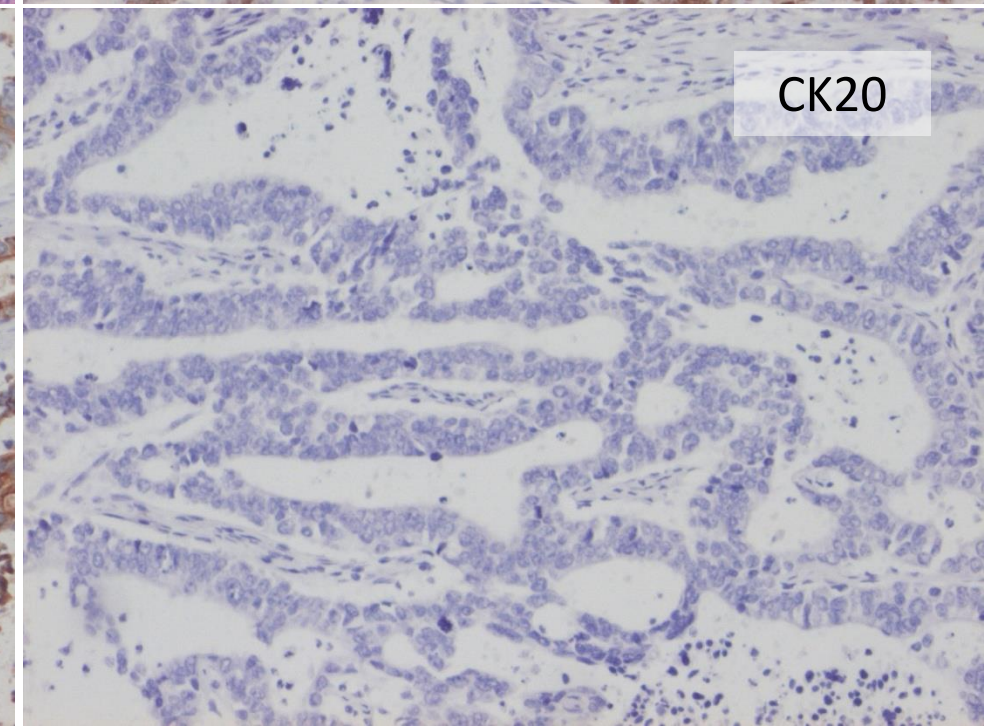
TTF1



CK7



CK20



Vilken diagnos?

1. Skivepitelcancer
2. Småcellig cancer
3. Adenokarcinom (primär i lunga)
4. Adenokarcinom metastas från colon
5. Adenokarcinom metastas från bröst
6. Benigt epitel/ pneumocyter

Ofta använda immunfärgningar

- TTF-1: lungadenokarcinom, neuroendokrin cancer, thyreoidea
- Napsin A: lungadenokarcinom, njure, klarcellig cancer
- p40: skivepitelcancer, urotelial cancer, spottkörtelcancer
- CK5: skivepitelcancer, urotelial cancer, spottkörtelcancer, mesoteliom, trippelneg bröstcancer
- CK7: lungadenokarcinom, bröst, gyn, övre GI, urotelial, mesoteliom (viss andel skivepitelcancer; sällan njure, prostata, kolorektal)
- CK20: kolorektal
- CDX2: GI
- GATA3: bröst, uro, mesoteliom (lungcancer 10%)
- PAX8: gyn, njure, thyreoidea

Hinder för komplett och rätt diagnostik

- För lite material
- För lite material
- För lite material

Hinder för komplett och rätt diagnostik

- Otillräckligt informationsunderlag
- För liten tumörmängd
- För liten tumörcellsandel
- Fixeringsmetod
- Urkalkningsmedel
- Biologi (likartad morfologi, avvikande immunprofiler etc)
- Ej tillgång till eller inadekvata analyser
- Patologen bedömer fel

Anamnes, frågeställning (inkl tidigare behandling).

Högersidig pleuravätska. Diagnostisk
tappning.

Maligna celler? Atypi?

- | | | |
|---|--|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Bronkborste | <input type="checkbox"/> Ascites | <input type="checkbox"/> Likvor |
| <input type="checkbox"/> Bronskölvätska | <input checked="" type="checkbox"/> Pleura | <input type="checkbox"/> Mammarsekre |
| <input type="checkbox"/> Sputum | <input type="checkbox"/> Bukskölvätska | <input type="checkbox"/> Vulva |

Remiss för patologi/cytologi

Anamnes, frågeställning (inkl tidigare behandling).

Maligna celler?

EBUS pos 7, 4L, 11L



Vid icke-småcellig lungcancer av icke-skivepiteltyp görs automatiskt molekyllär analys av relevanta tumör genetiska förändringar (reflextestning) såvida inte detta utförts på tidigare prov eller vid önskemål om att det inte ska göras.

Reflextestning önskas ej

- | | | | |
|---|---------------------------------|--|-------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Bronkborste | <input type="checkbox"/> Sputum | <input checked="" type="checkbox"/> EBUS | <input type="checkbox"/> Sugkateter |
| <input type="checkbox"/> Bronskölvätska | <input type="checkbox"/> Pleura | <input type="checkbox"/> FNP | <input type="checkbox"/> Övrigt |



1/1 ← ⋮ → >

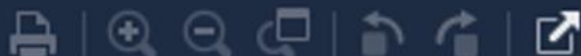
Frågeställning

Infektion? Infiltration? Lungemboli?

Anamnes

Önskad tid: 68-årig kvinna med i botten, KOL, diabetes, kotkompressioner, reumatoidartrit, osteoporos. Söker idag Akuten för dyspne sedan 3 veckor tillbaka som idag har blivit värre, andfådd vid minsta ansträngning. Provat inhalation med Airomir hemma, hjälpt lite. Känner det som att hon inte kan andas och har ont i bröstet, beskriver en brinnande känsla i lungor med utstrålning mot ryggen. Har varit så under 3 veckors tid. Står stående på Alvedon 1 gram x 3, har inte hjälpt. Tycker att det blir värre vid djupa andetag, men det finns smärta konstant. Har tidigare haft upprepade lunginflammationer, bedöms som koloniserad med pseudomonas via Lungmottagningen som följer pat, detta samt KOL. Önskar nu göra en lungröntgen för att utreda om lungemboli föreligger, även tacksam bedömning infiltrat eller tecken till pleuravätska.

Remiss för radiologi



1/1 ← ⋮ → >

Frågeställning

Lung emboli

Anamnes

Önskad tid:Prio 2 Hypertoni. Diabetes typ-2, tablettbehandling. Stroke 2021. MGUS. Opererad vänstersidigt ljumskbråck 2018. Följs via hematologmottagningen i Kristianstad på grund av nyupptäckt M-komponent. Nyupptäckta bilaterala lungmetastaser, spridda. Inkom med bröstsmärta där man uteslutit kardiell orsak. Pt har haft besvär med detta i en veckas tid och de kommer i intervaller.

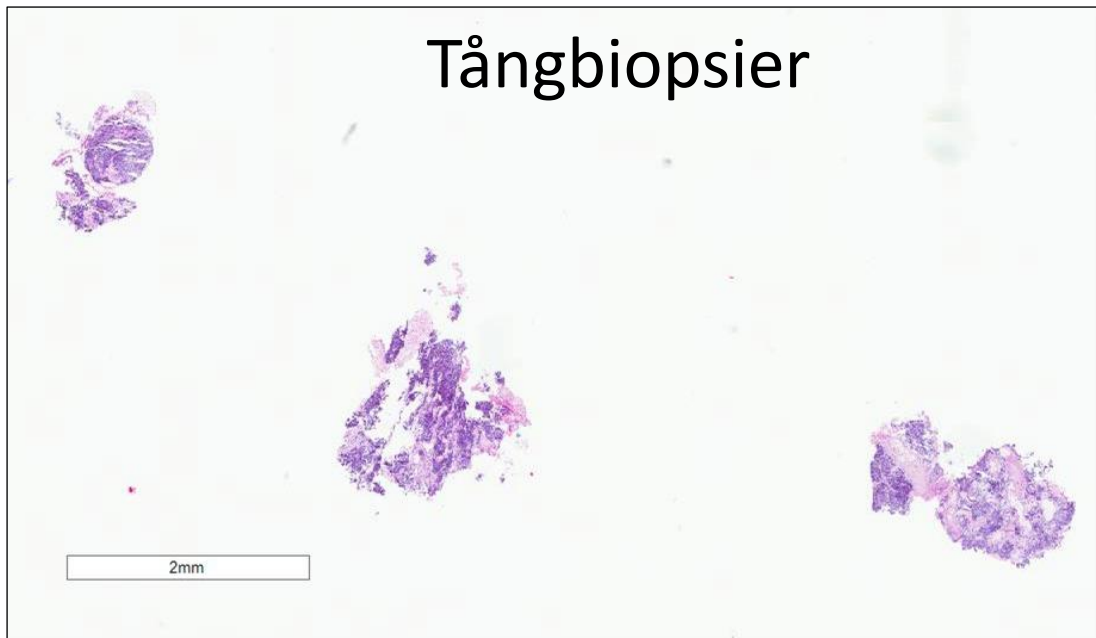
Vad vill patologen veta?

- Rökning
- Tidigare malignitet
- Misstanke om infektion, interstitiell sjukdom eller malignitet
- Misstanke om lymfom, karcinoid eller metastas till lunga

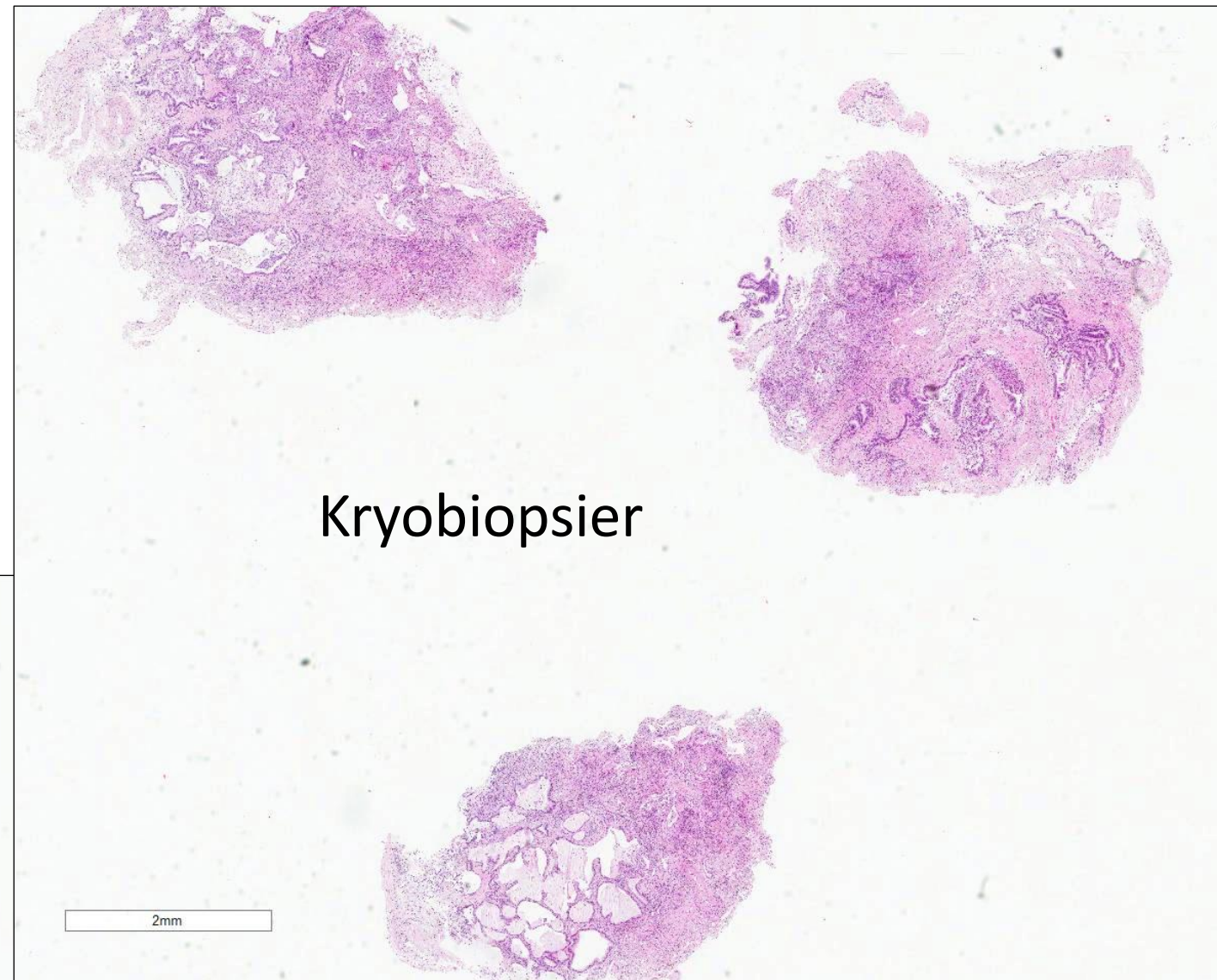
Provtagning/provtyper

- Sputum
- Bronkoskopi
 - Bronkcytologi: borstprov, skölvätska, sugkateter
 - Bronkbiopsi inkl. transbronkiell biopsi eller navigationshjälpmedel: tångbiopsi, kryobiopsi
 - EBUS-ledd finnålspunktion
 - EUS-ledd finnålspunktion
- Transthorakal punktion
 - Finnålspunktion
 - Mellannålsbiopsi
- Pleuratappning
- Punktion mot metastas (Igl, skelett, lever, hud mm)
 - Finnålspunktion
 - Mellannålsbiopsi
- Kirurgisk biopsi
 - Mediastinoskopi
 - Pleurabiopsi
- Resektat (öppen/VATS/robot)
 - Kilexcision
 - Segmentresektion
 - Lobektomi
 - Bilobektomi
 - Pulmektomi

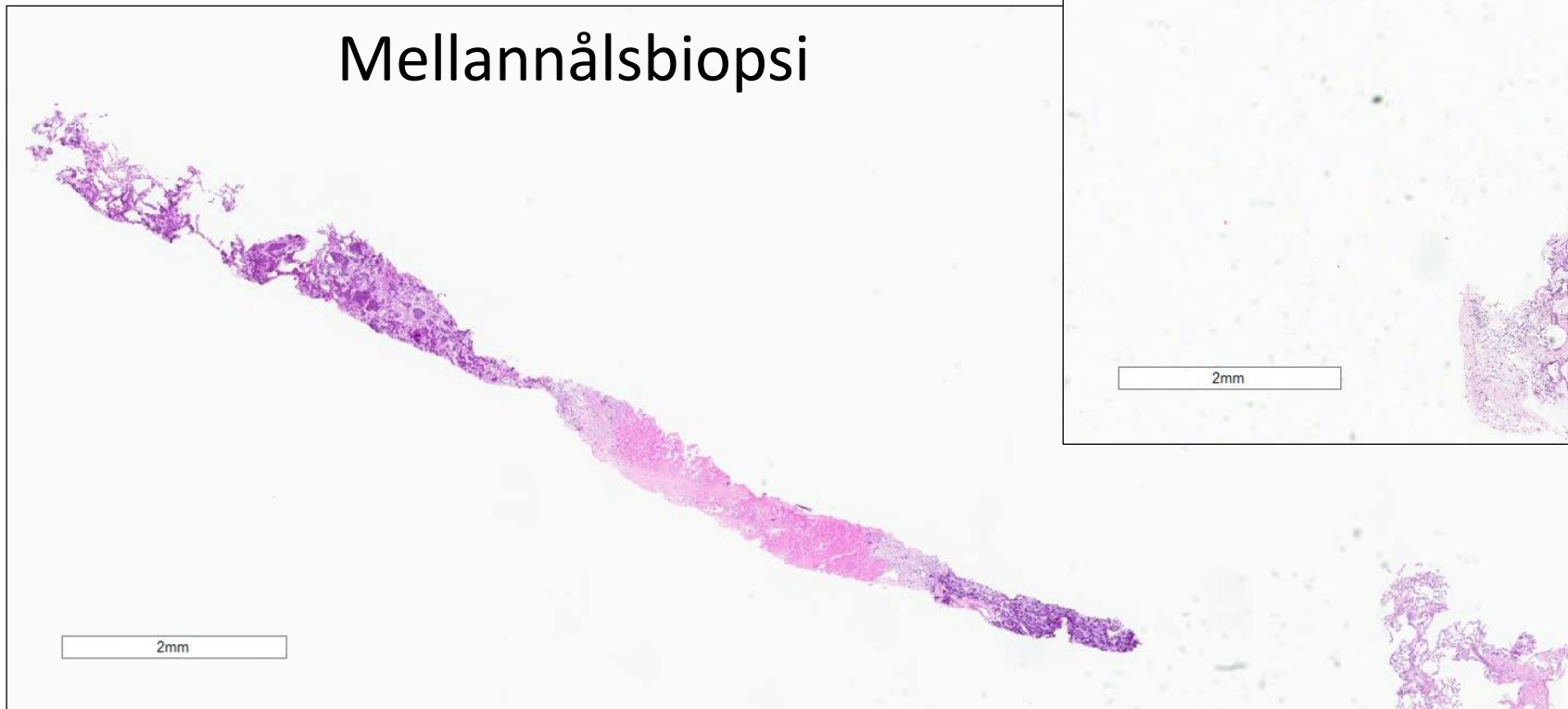
Tångbiopsier



Kryobiopsier

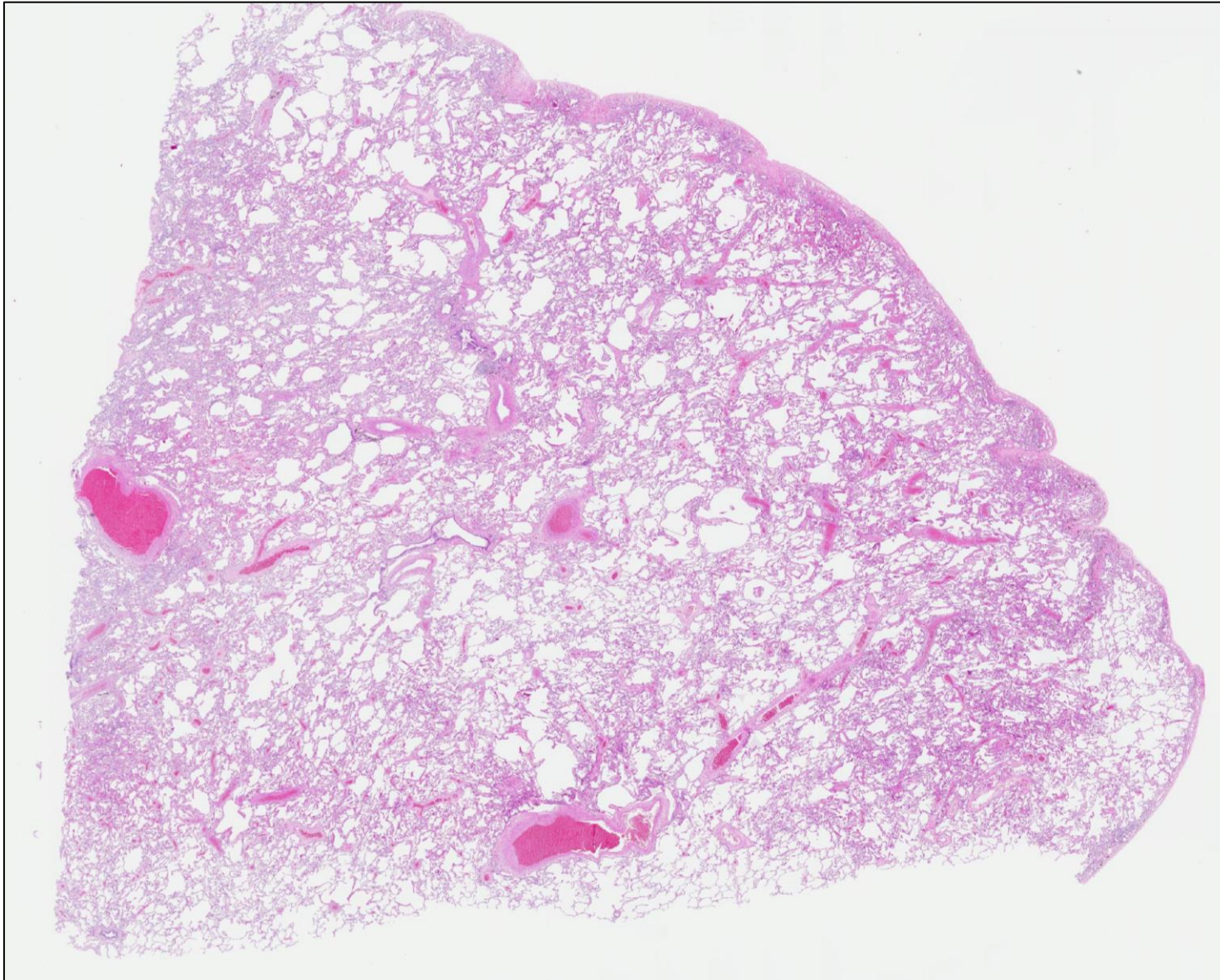


Mellannålsbiopsi

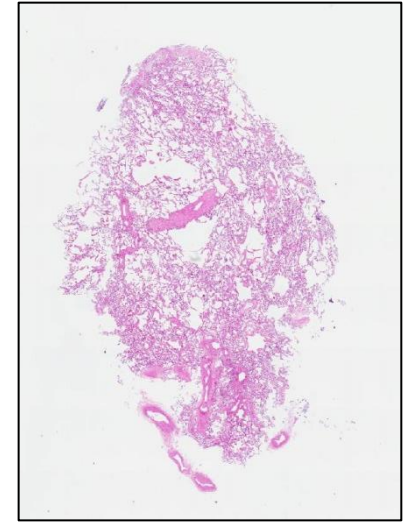


Samma förstoring

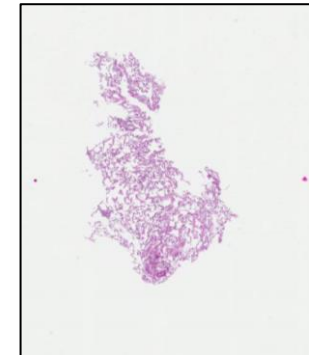
Del av resektat (ca 2,5 x 2 cm)



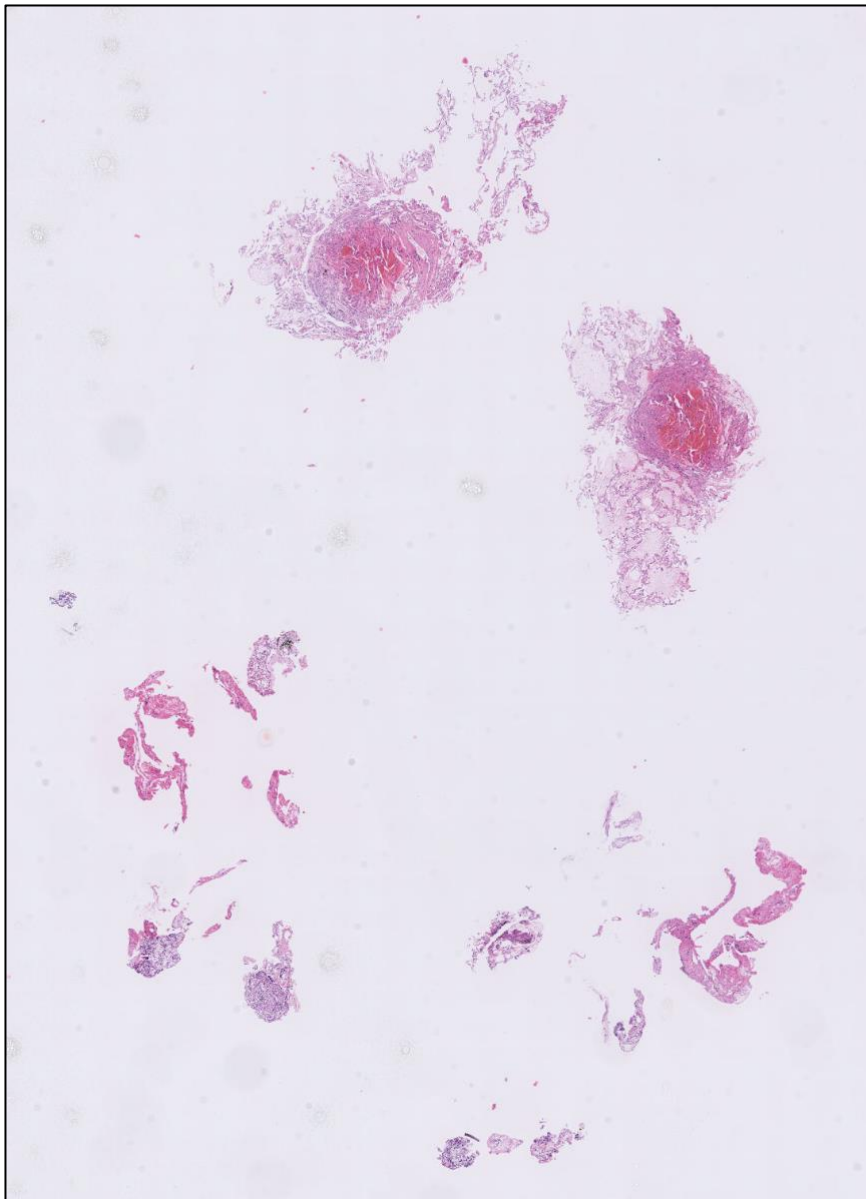
Stor kryobiopsi



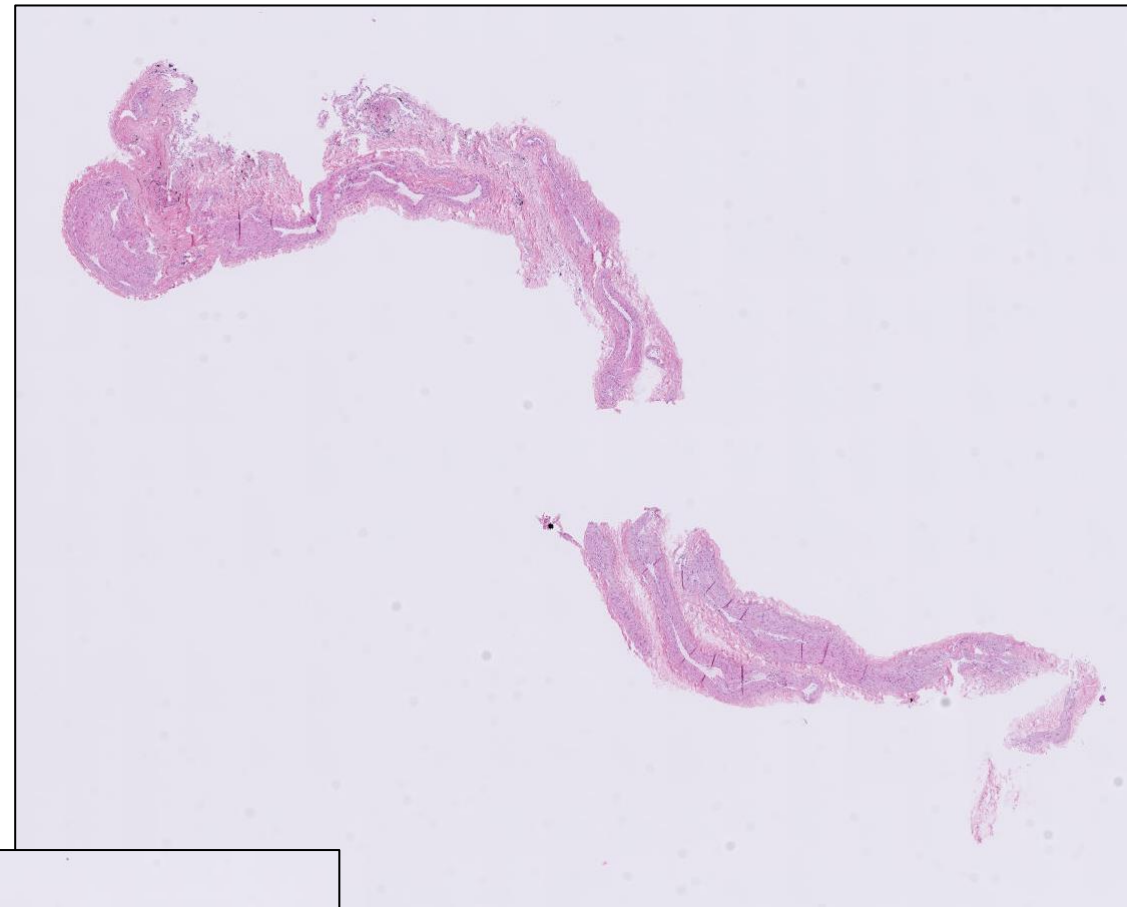
Stor transbronkiell tångbiopsi



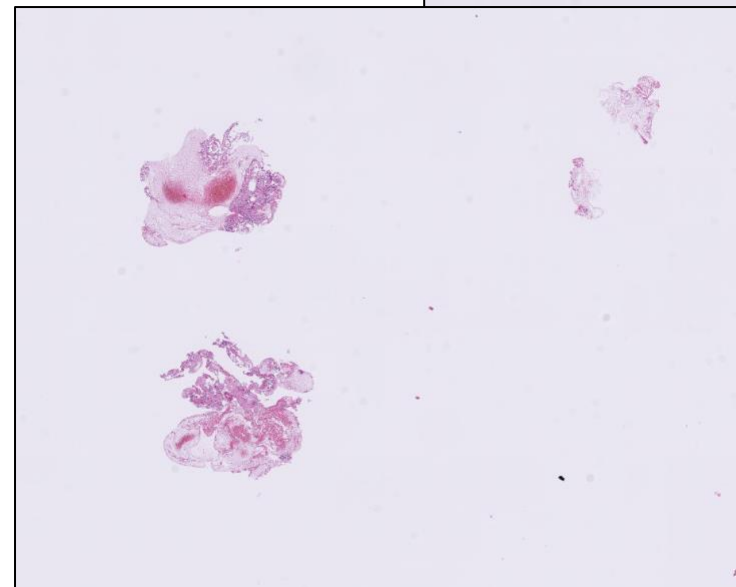
Samma förstoring



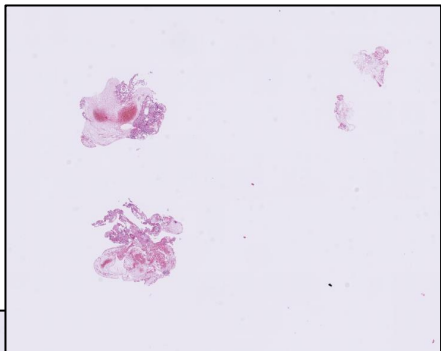
Normal tångbiopsi-serie



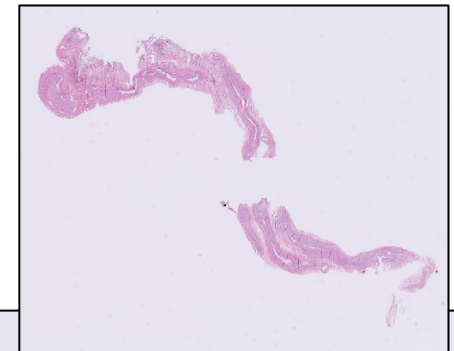
Två mindre bra
tångbiopsi-serier



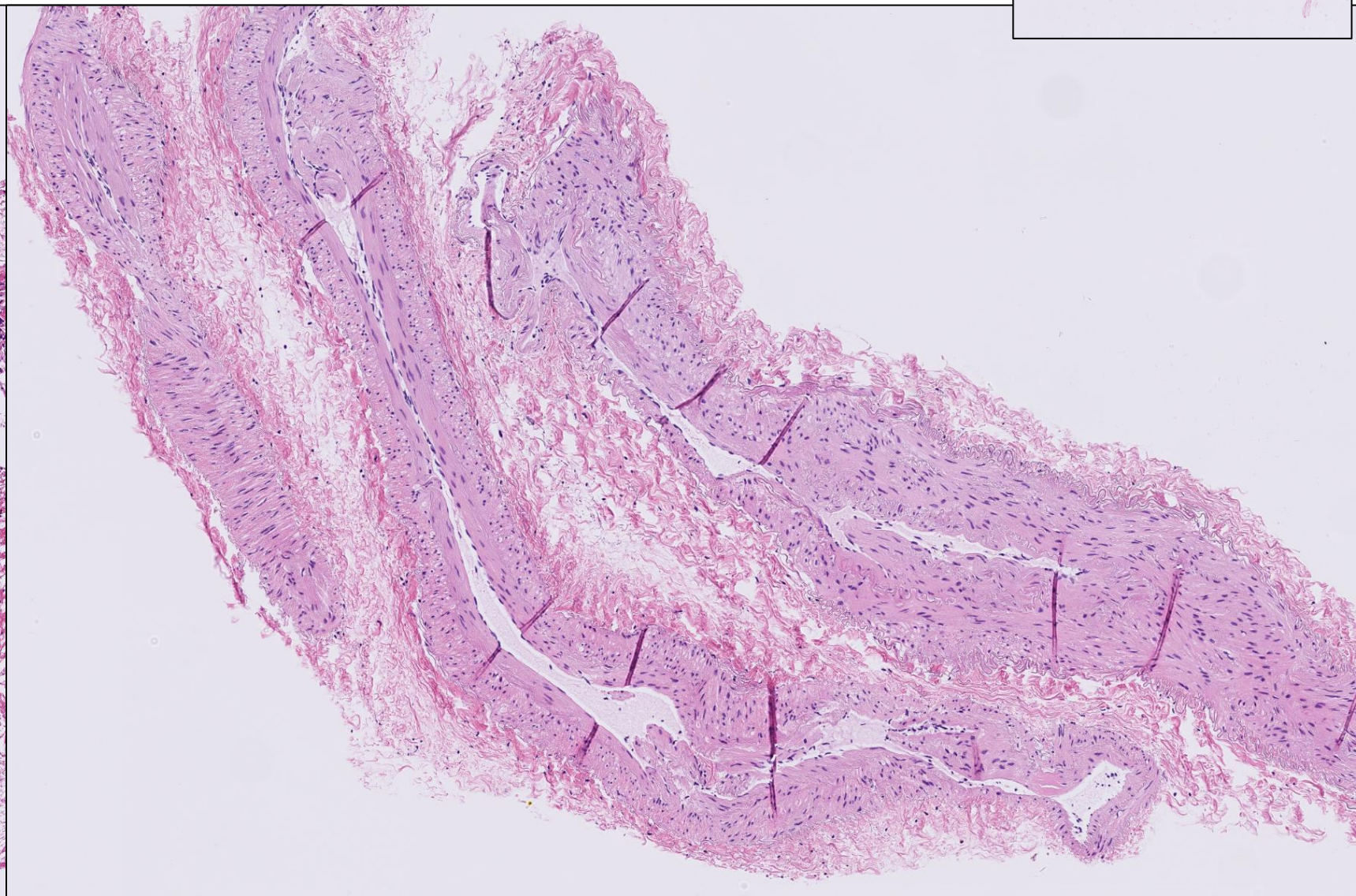
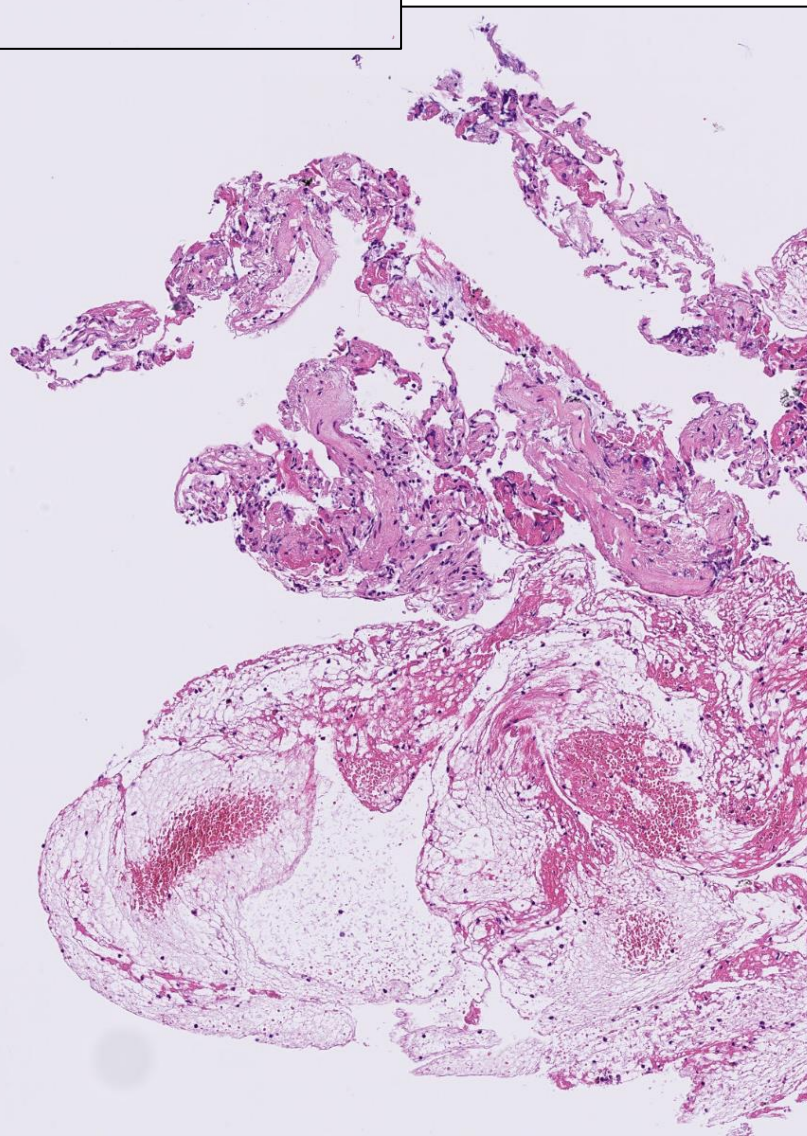
Samma förstoring



Mest fibrin



Kärl och bindväv

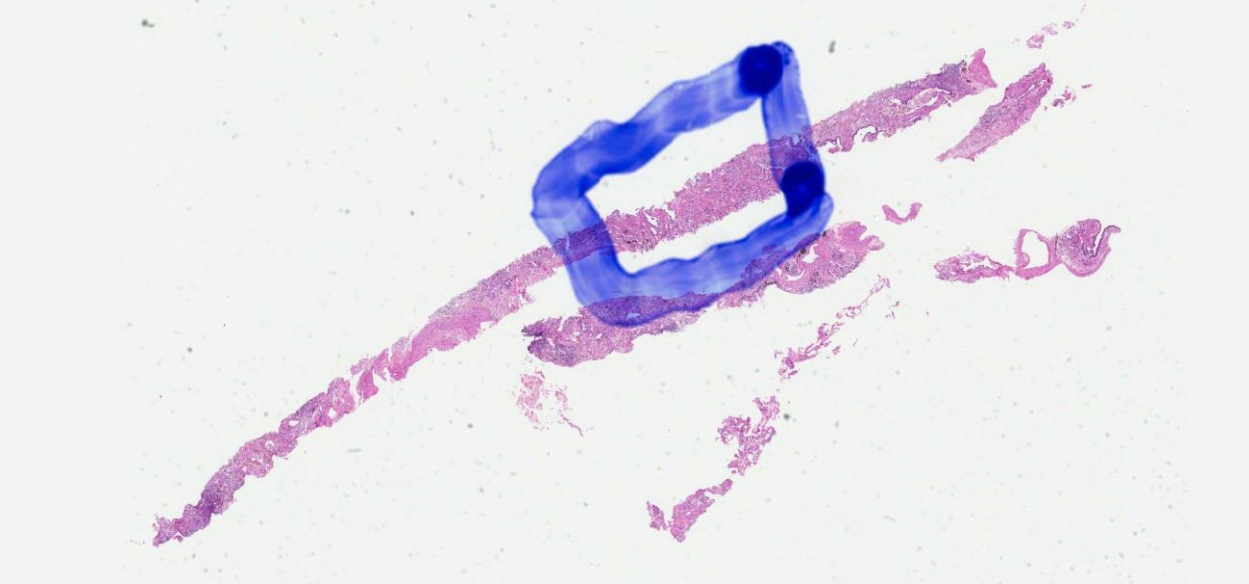


Representativt prov

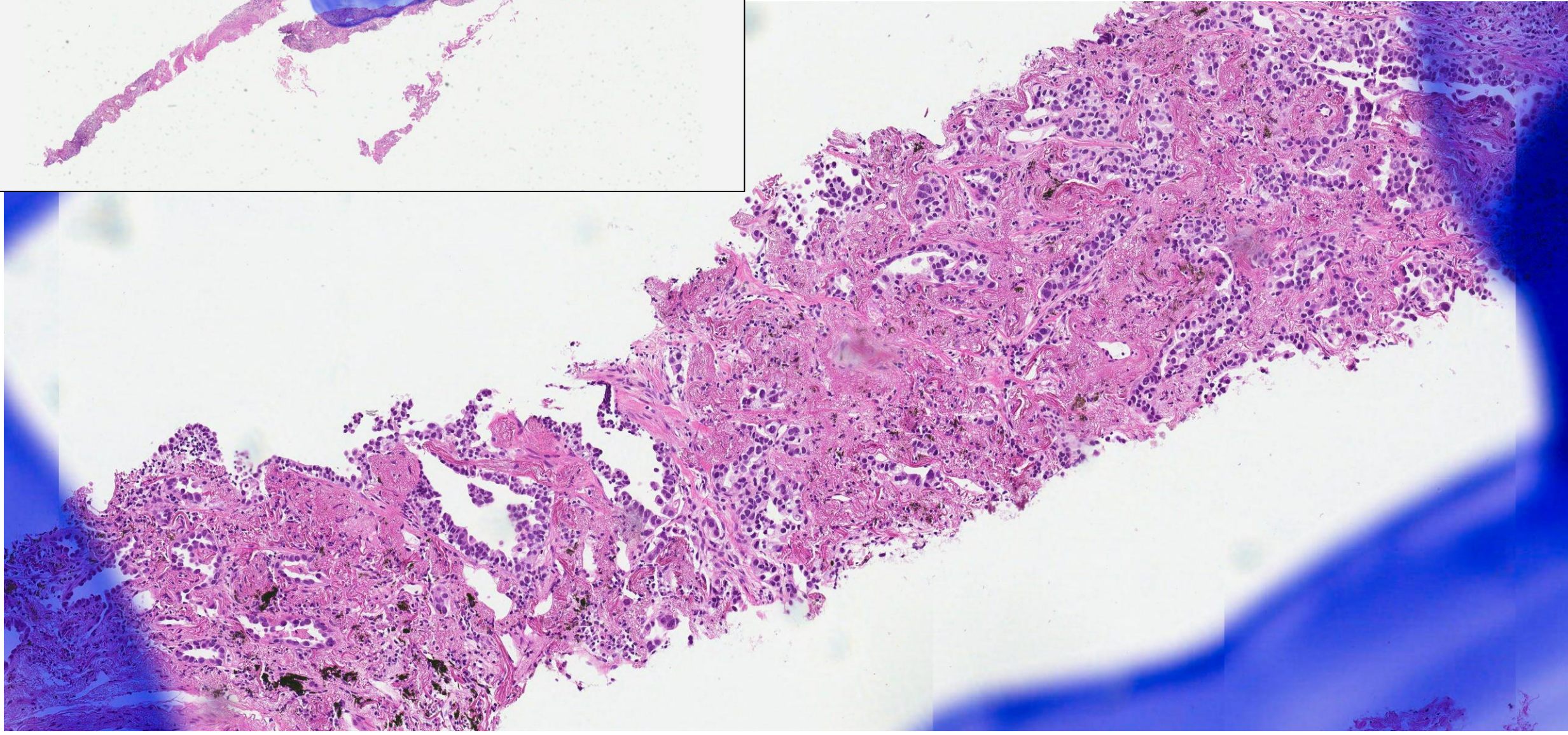
- Pleura
 - Mesotel
- Bronkborste/sköljvätska/sugkateter
 - Bronkepitel
- EBUS
 - 40+ lymfocyter i ett högförstoringssynfält
 - 100+ lymfocyter i >5 lågförstoringssynfält
 - Flera kluster av pigmenterade makrofager
 - Granulom
 - Representation av germinalcenter

Hur många celler behövs?

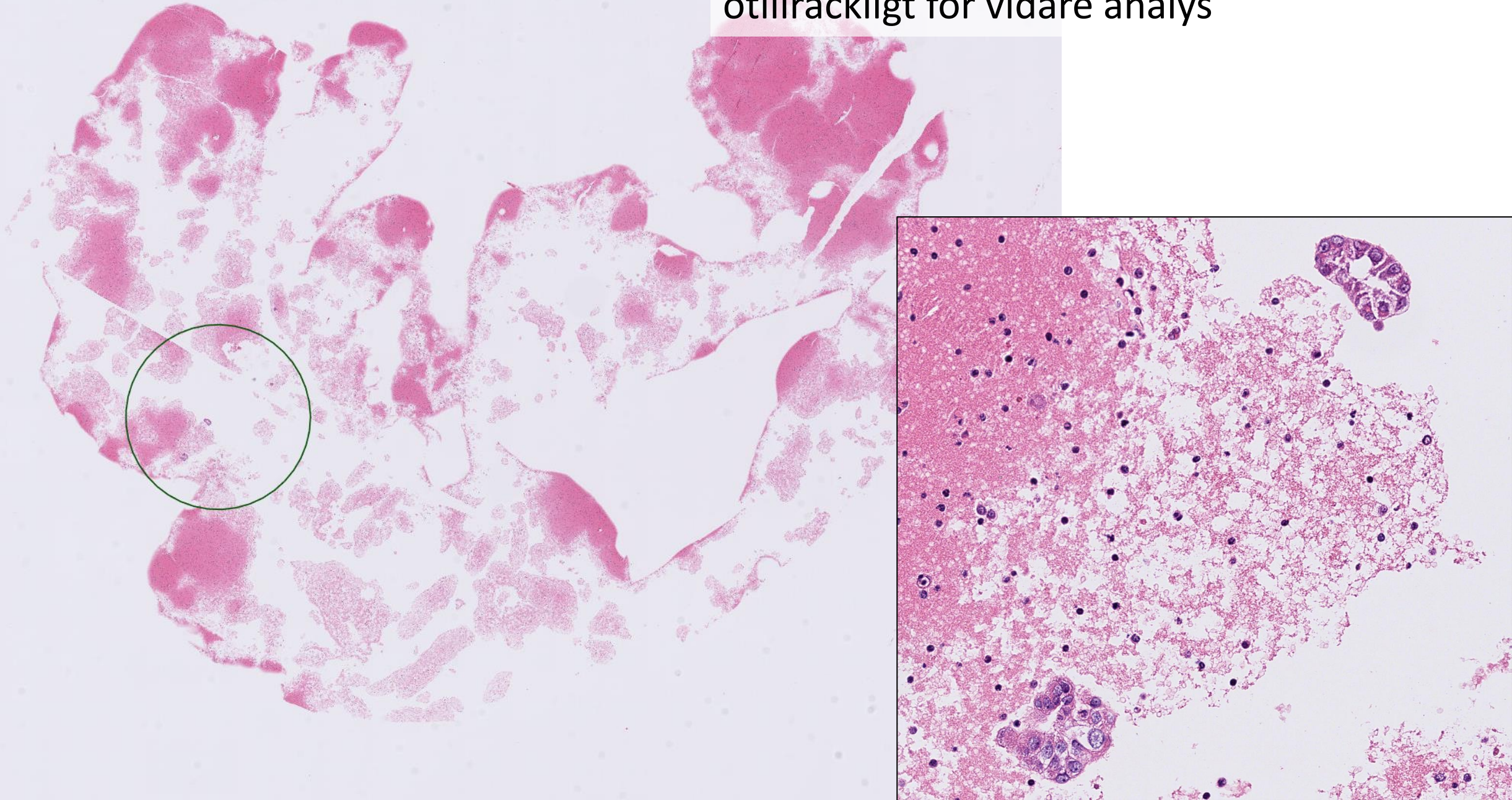
- Morfologisk diagnos: beror på, sällan säker malignitet om <20 celler
- Immunfärgning generellt: beror på, sällan säker om <10-20 tumörceller
- PD-L1: 100+ tumörceller
- NGS: 100-500+ (?) tumörceller, tumörcellshalt 10%+
- FISH: 50+ (helst 100+) lättidentifierade tumörceller



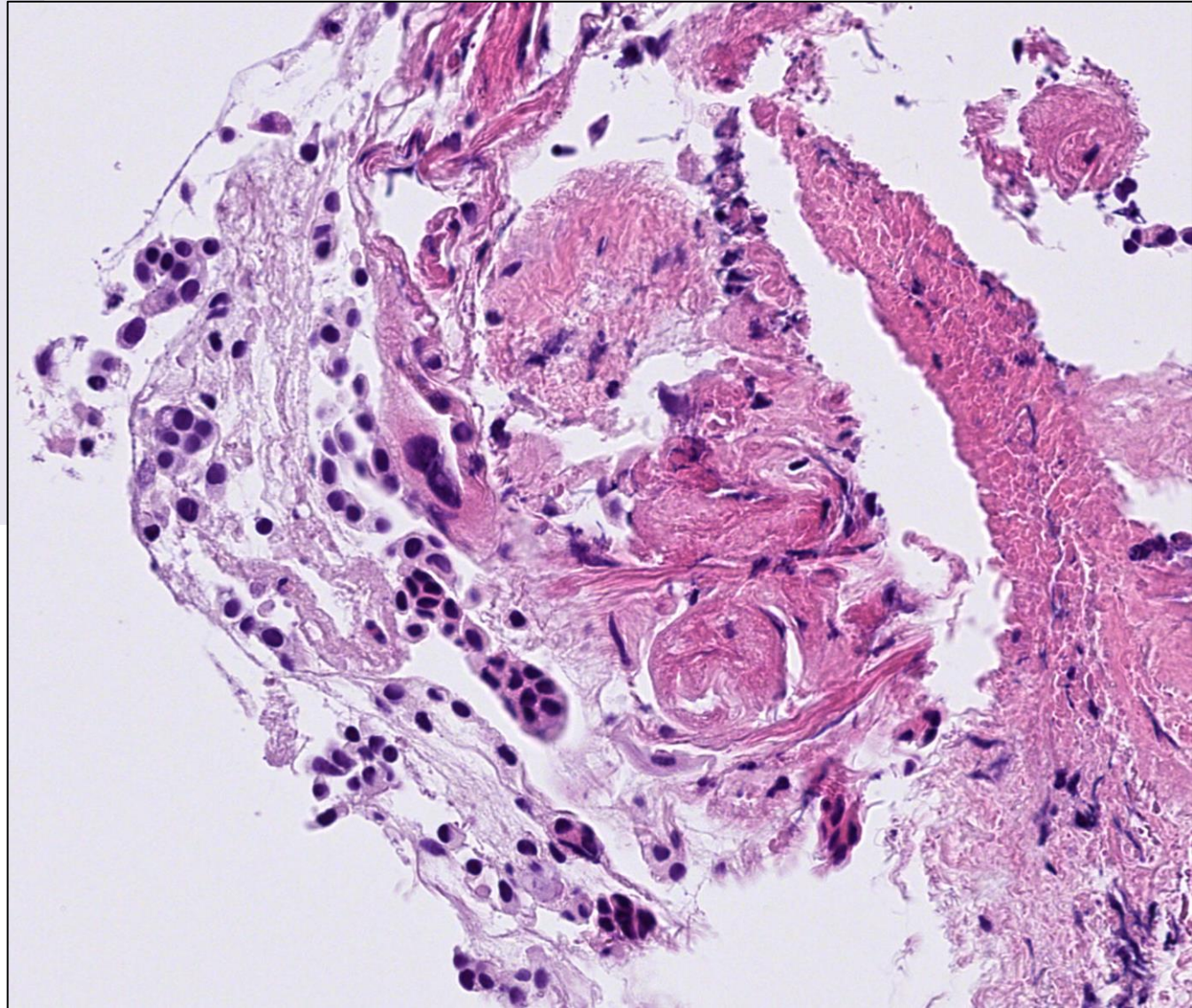
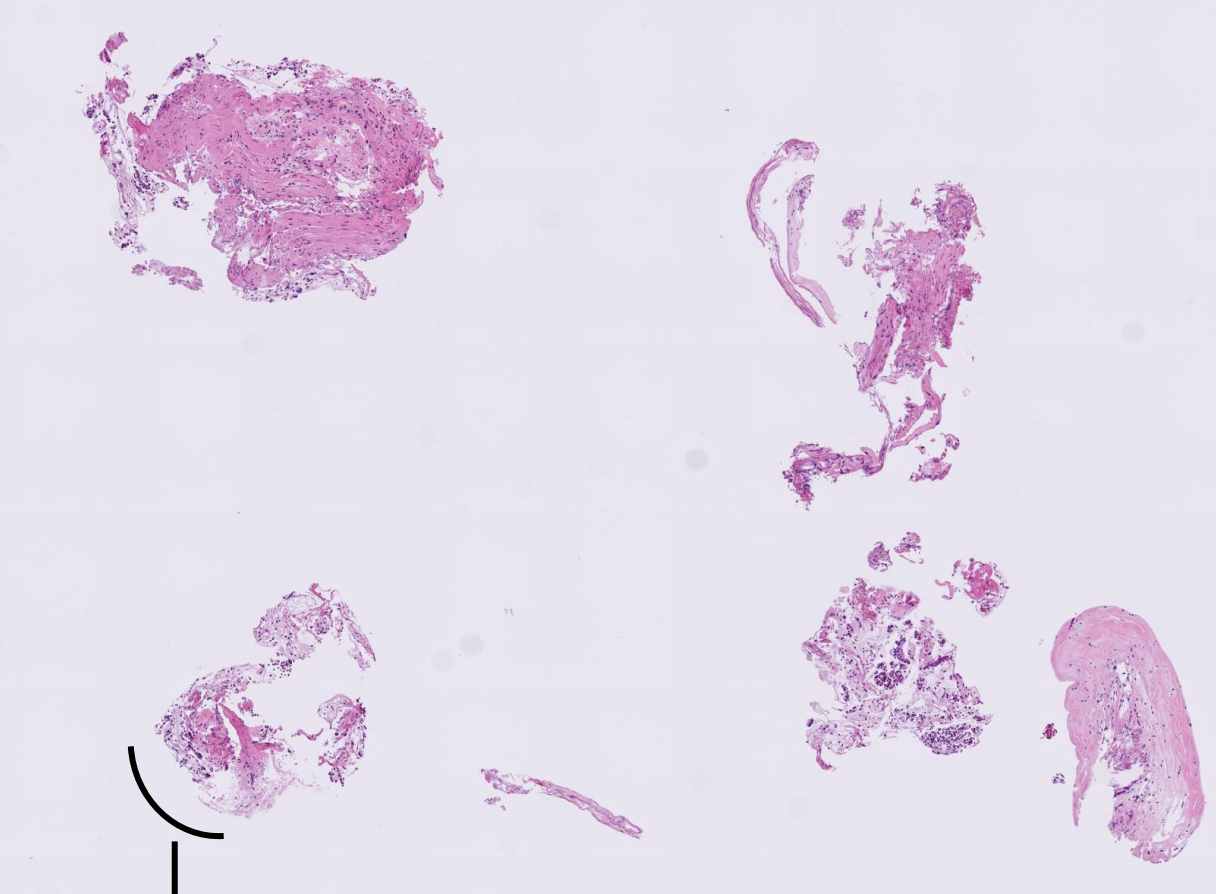
Framgångsrik biopsi trots måttlig tumör-
mängd (KRAS- och TP53-mutation påvisade)



Cellblock pleuravätska med adenokarcinom,
otillräckligt för vidare analys



Biopsi med ett 20-tal celler
med oklar atypi



Föreslagna hållpunkter

- Bronkbiopsier 5+
- Mellannålsbiopsier 3-4+
- Borstningar 4-5+
- Finnålsaspirationer 4-5+

Pre-operativ provtagning (perifera tumörer)

Pre-operativ diagnos	Lund (n=268)	Stockholm (n=270)
Cytologi endast	24 (9%)	100 (37%)
Biopsi endast	98 (36%)	40 (15%)
Både cytologi och biopsi	42 (16%)	34 (13%)
Ingen pre-operativ diagnos	104 (39%)	96 (36%)

Konsekutiva kirurgiskt behandlade lungcancerfall under 15 mån

Diagnostiskt material vid pre-operativ provtagning

Provtagningsmetod	Lund	Stockholm
Bronkborste	46 / 183 (25%)	38 / 121 (31%)
Bronksköljvätska (BAL)	3 / 32 (9%)	18 / 125 (14%)
Sugkateter	23 / 134 (17%)	0 / 0
Bronkbiopsi	66 / 176 (38%)	25 / 47 (53%)
Transthorakal finnålsaspiration	1 / 2	93 / 116 (80%)
Transthorakal mellannålsbiopsi	73 / 86 (85%)	49 / 68 (72%)

Analys på biopsi	Lund	Halmstad	Stockholm Solna	Stockholm Huddinge
Material för immunfärgning	Paraffin-inbäddad vävnad	Paraffin-inbäddad vävnad	Paraffin-inbäddad vävnad	Paraffin-inbäddad vävnad
Fixering före immunfärgning	Formalin	Formalin	Formalin	Formalin

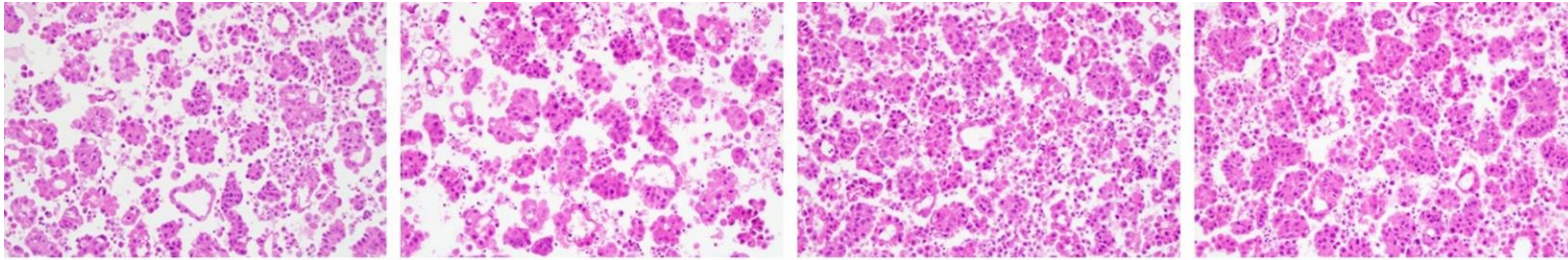
Analys på cytologi	Lund	Halmstad	Stockholm Solna	Stockholm Huddinge
Material för immunfärgning	Cellblock (Cellient)	Cellblock (manuella)	Färgning av lufttorkade utstryk Omfärgning av pap-utstryk Sällan cellblock (Megafunnel)	Cytospin Cellblock (Shandon)
Fixering före immunfärgning	Lunga: CytoLyt sen PreservCyt Pleura: PreservCyt	Lunga: CytoLyt sen formalin Pleura: Formalin	Aceton / etanol / formalin om nya utstryk Etanol om omfärgning av utstryk CytoRich Red om Megafunnel	BAL: CytoRich Red sen etanol Borste: PreservCyt sen etanol Pleura: PEG sen etanol (sen formalin om cellblock) FNA: aceton

Formalin

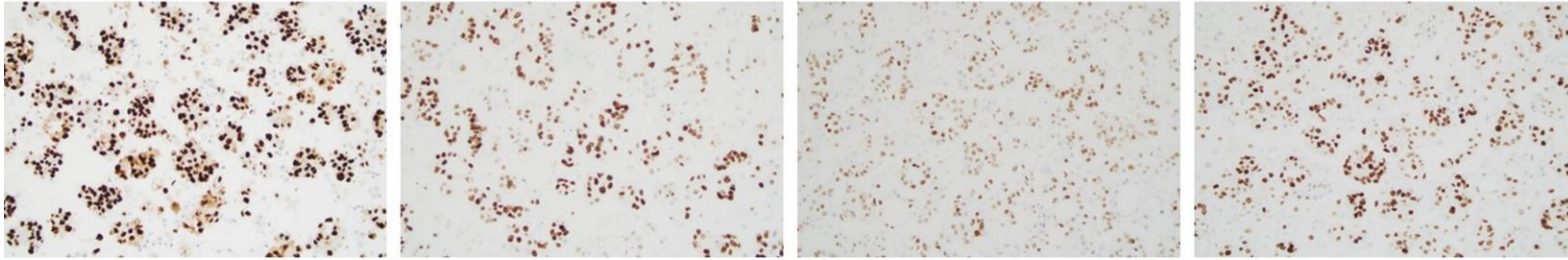
PreservCyt

CytoLyt

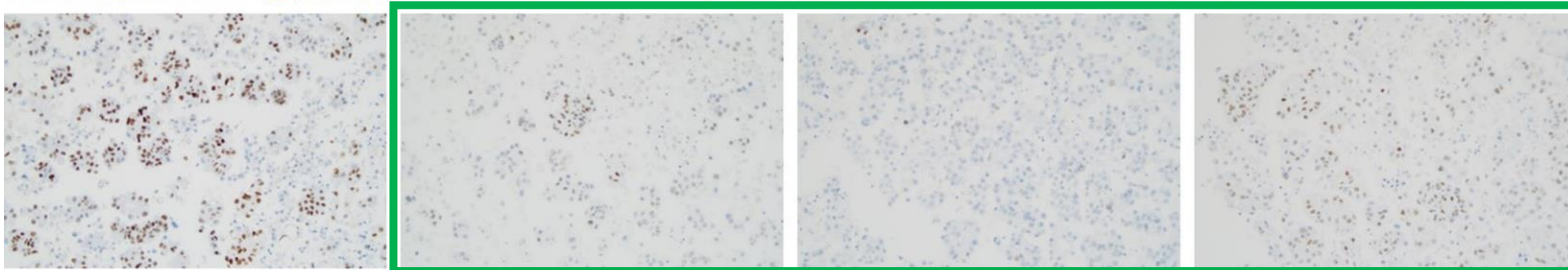
CytoRich Red



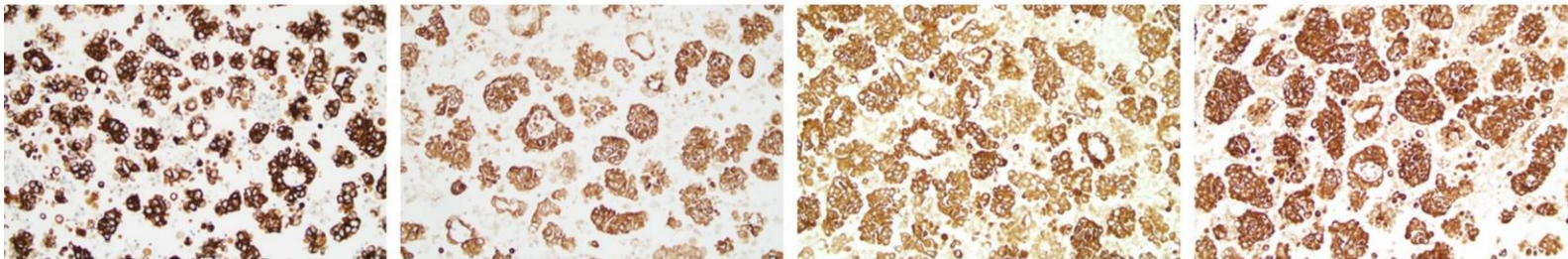
TTF-1 klon SPT24



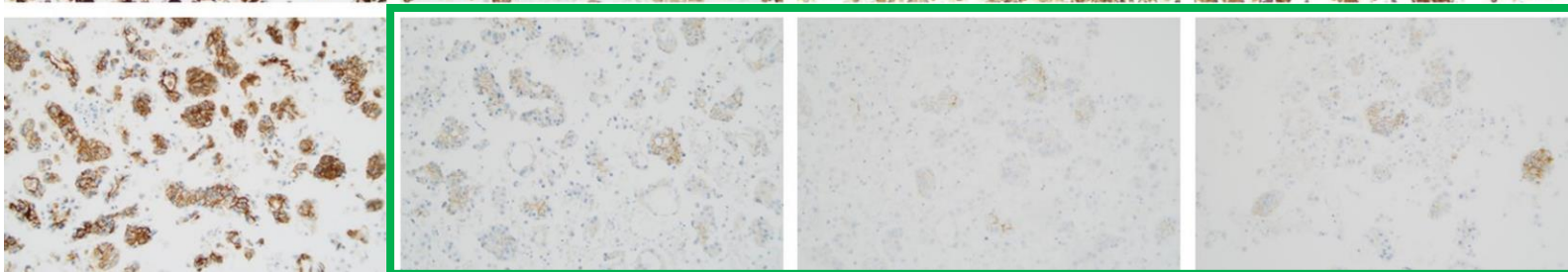
TTF-1 klon 8G7G3/1



EPCAM klon BS14



EPCAM klon MOC31



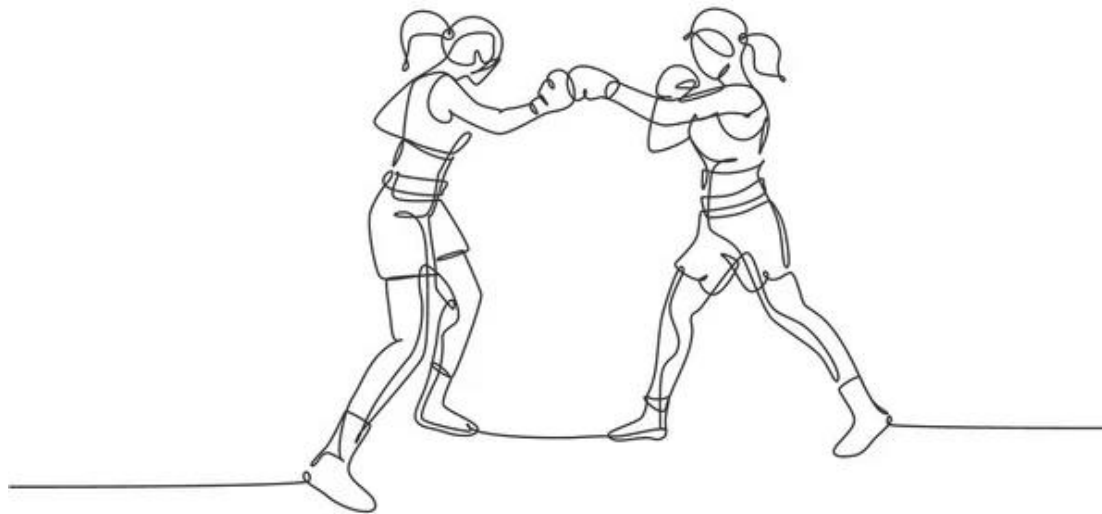
Vissa immunfärgningar fungerar dåligt vid metanolbaserad fixering

Urskalkning annat stort problem för många analyser

TTF-1-antikroppskloner

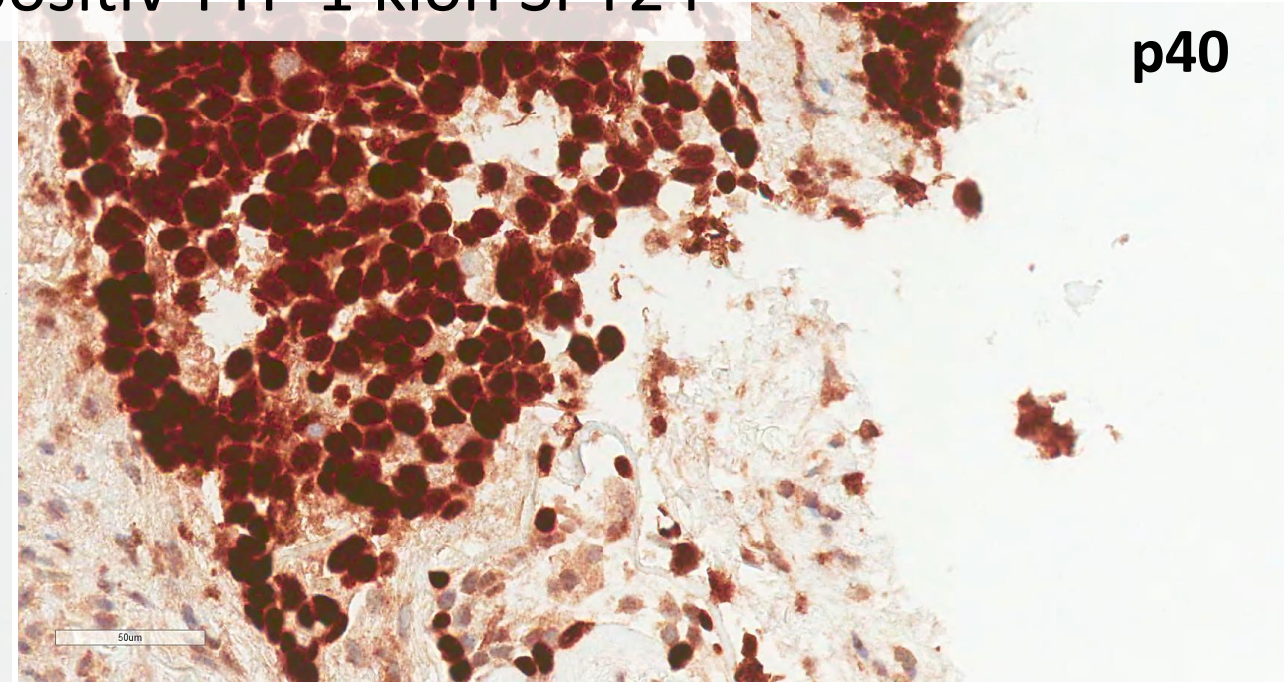
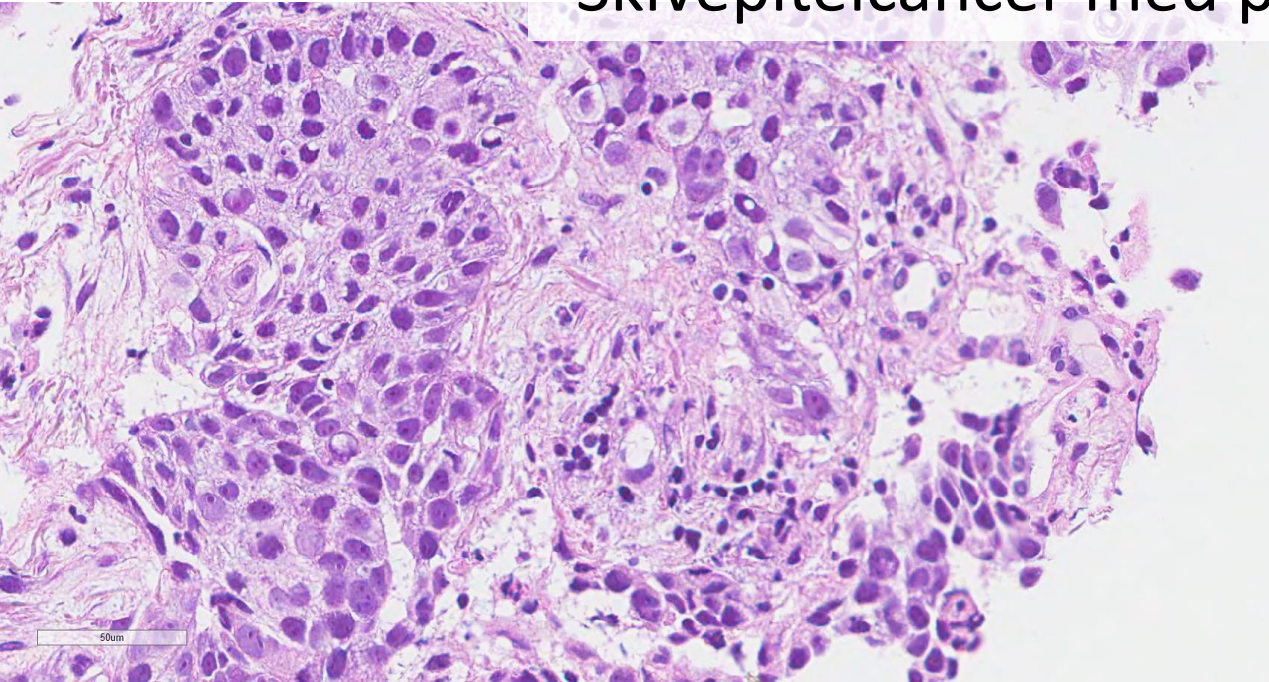
Tumör i lunga	TTF-1 klon 8G7G3/1	TTF-1 klon SPT24
Adenokarcinom	80% (64-93%)	88% (70-93%)
Skivepitelcancer	0% (0-5%)	6% (0-14%)
Lungmetastas kolorektalcancer	1% (0-2%)	5% (0-10%)

IASLC/WHO
Klon 8G7G3/1

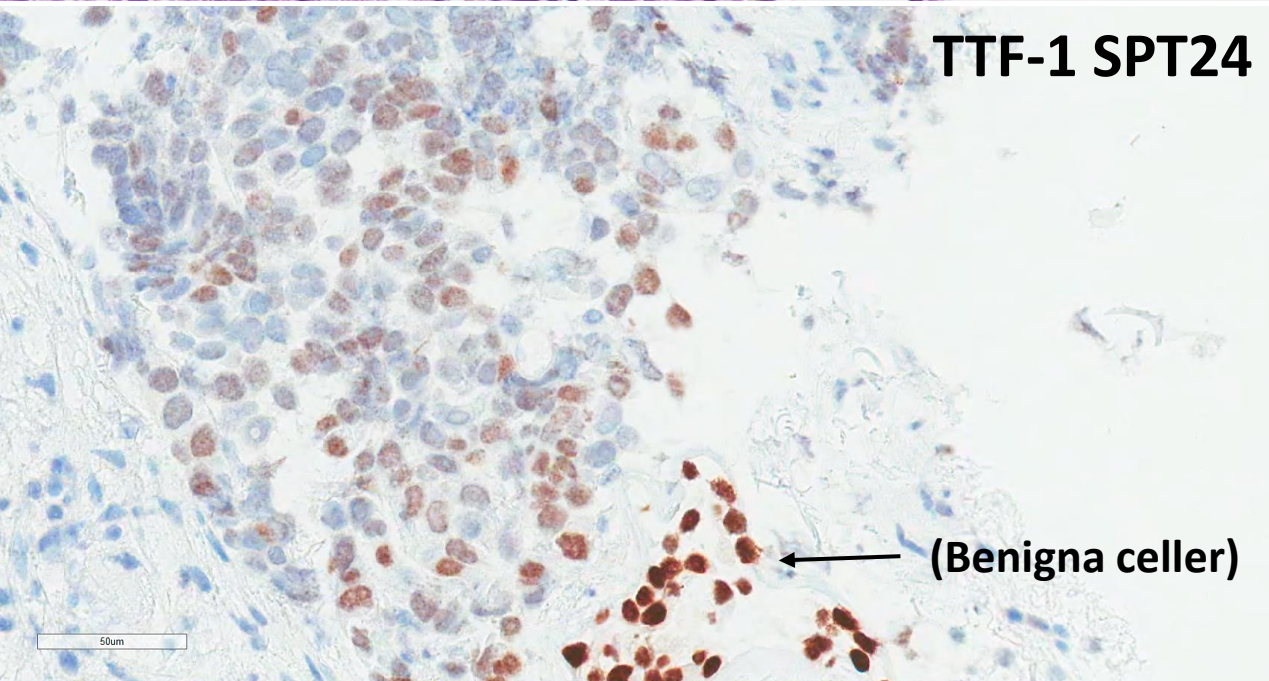


NordiQC
Klon SPT24

Skivepitelcancer med positiv TTF-1 klon SPT24

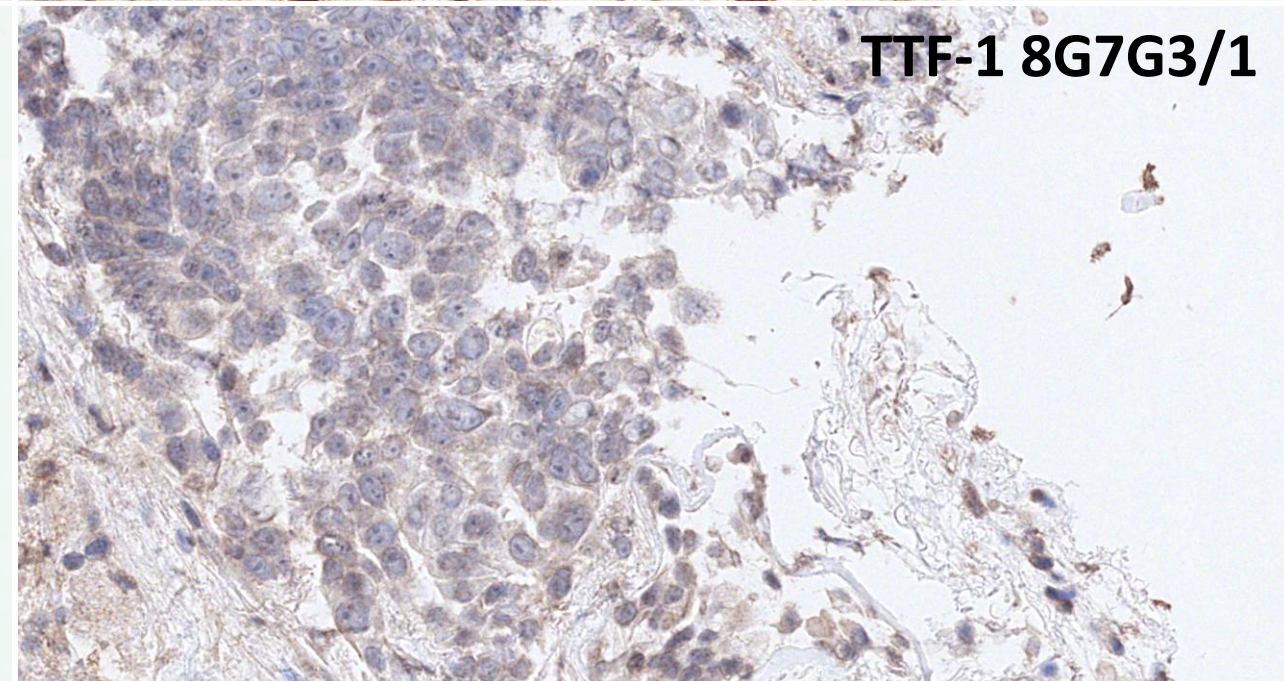


p40



TTF-1 SPT24

(Benigna celler)



TTF-1 8G7G3/1

> [Biomolecules](#). 2021 Nov 18;11(11):1721. doi: 10.3390/biom11111721.

Real-World Diagnostic Accuracy and Use of Immunohistochemical Markers in Lung Cancer Diagnostics

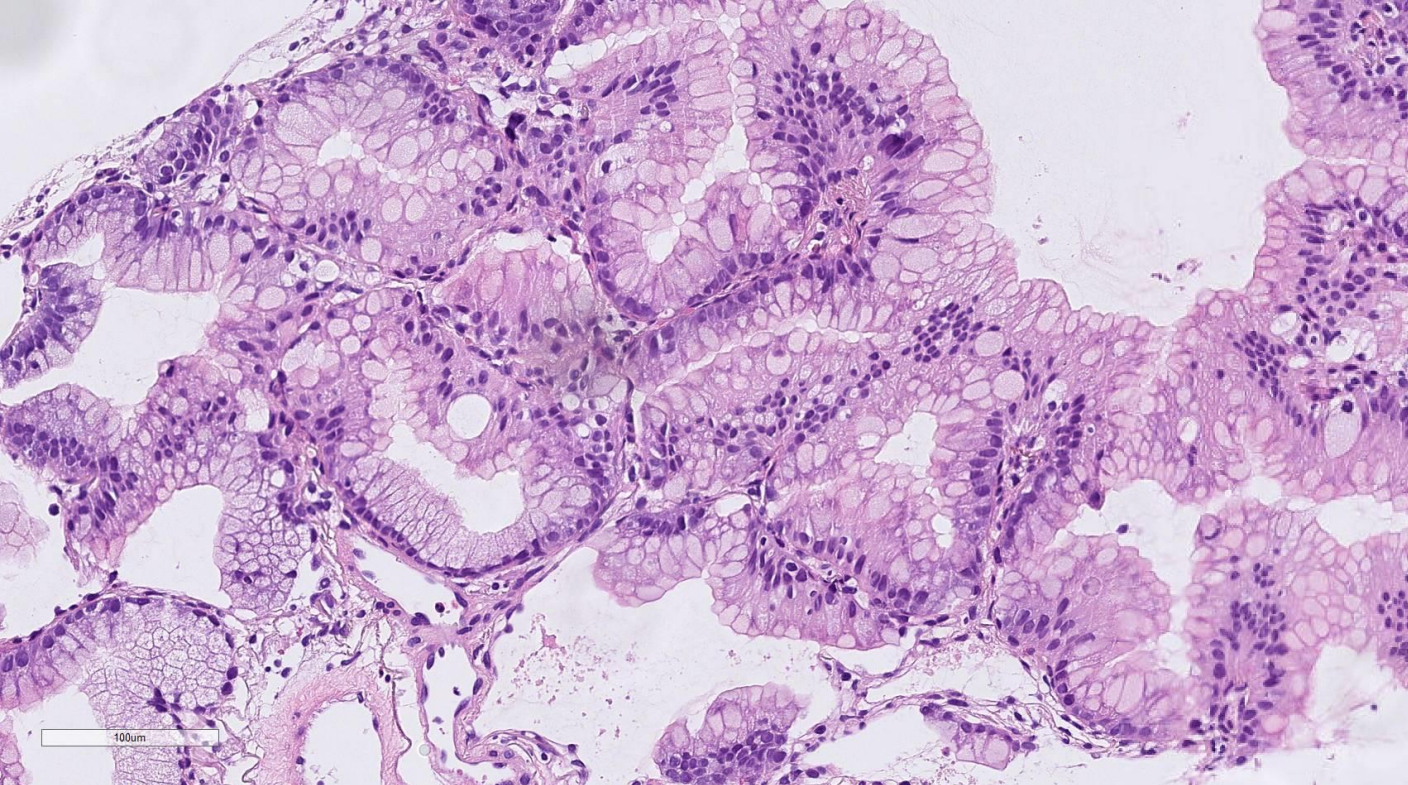
Kajsa Ericson Lindquist ^{1 2}, Inga Gudnaviciene ¹, Nektaria Mylona ¹, Rodrigo Urdar ¹, Maria Lianou ¹, Eva Darai-Ramqvist ³, Felix Haglund ^{3 4}, Mátyás Béndek ⁵, Erika Bardoczi ⁵, Katalin Dobra ^{5 6}, Hans Brunnström ^{1 2}

Affiliations + expand

PMID: 34827719 PMID: PMC8615395 DOI: 10.3390/biom11111721

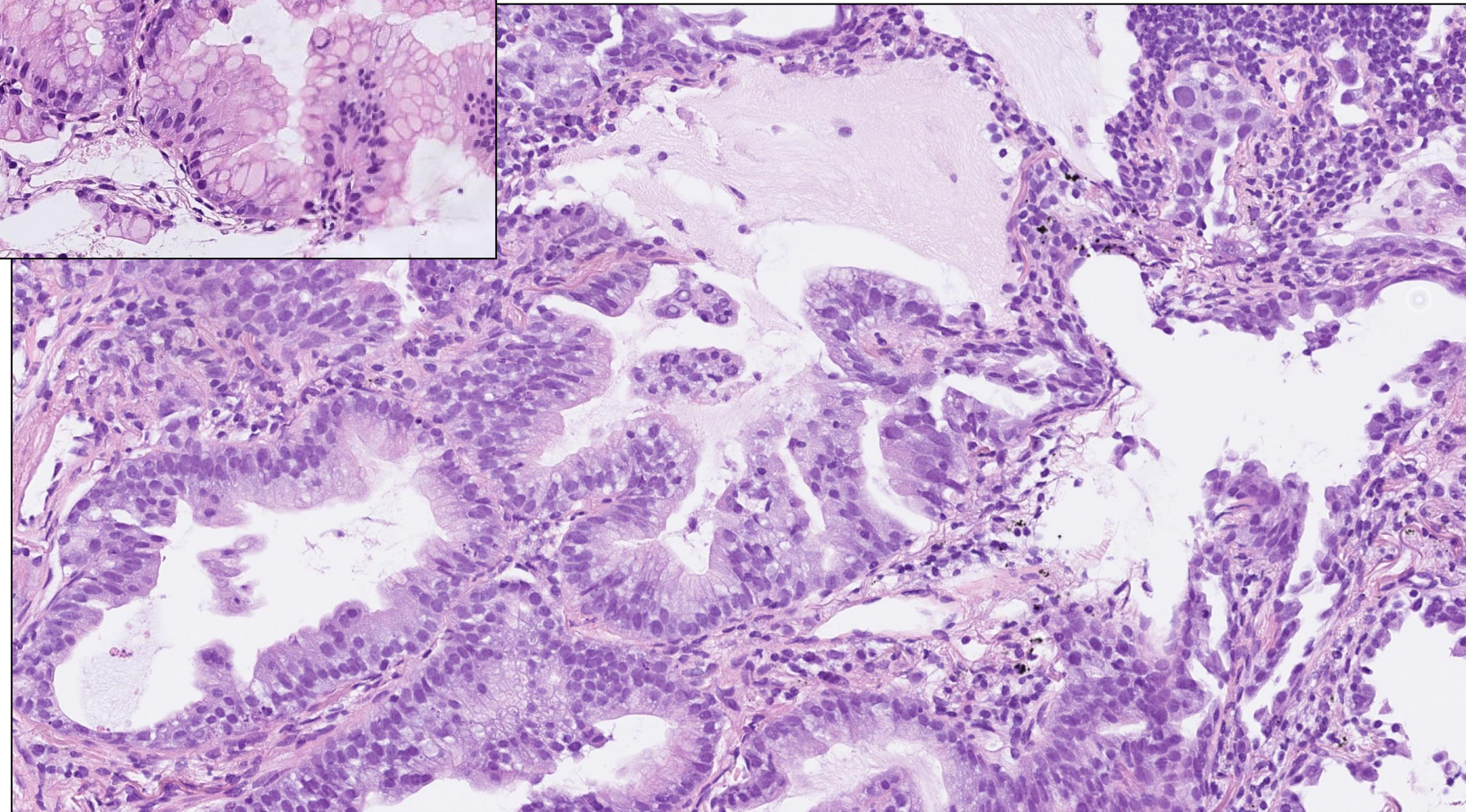
Diagnos på biopsi/cytologi jämfört med efterföljande resektat med lungcancer

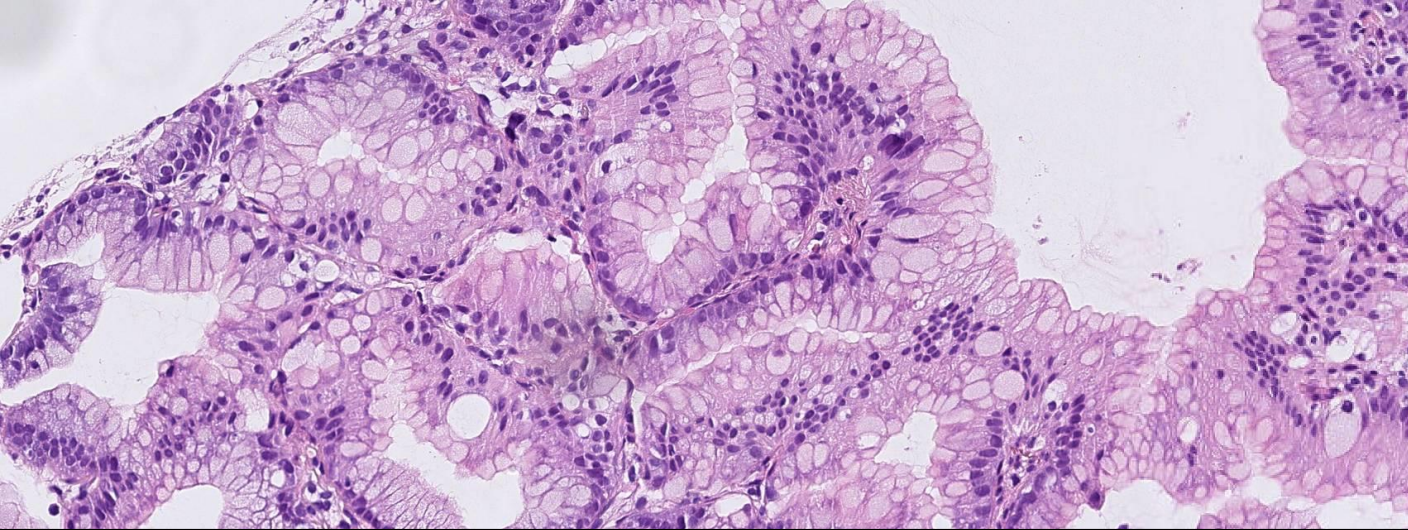
- Relevant skillnad i typning i 2.3-2.4% av fallen
 - Cytologi > biopsier (relaterat till färre IHC)
 - LCNEC är svårt
 - Uteslutande av p40
 - TTF-1 klon SPT24
- } medför feldiagnoser



Mucinöst lungadenokarcinom

Metastas av esofaguscancer



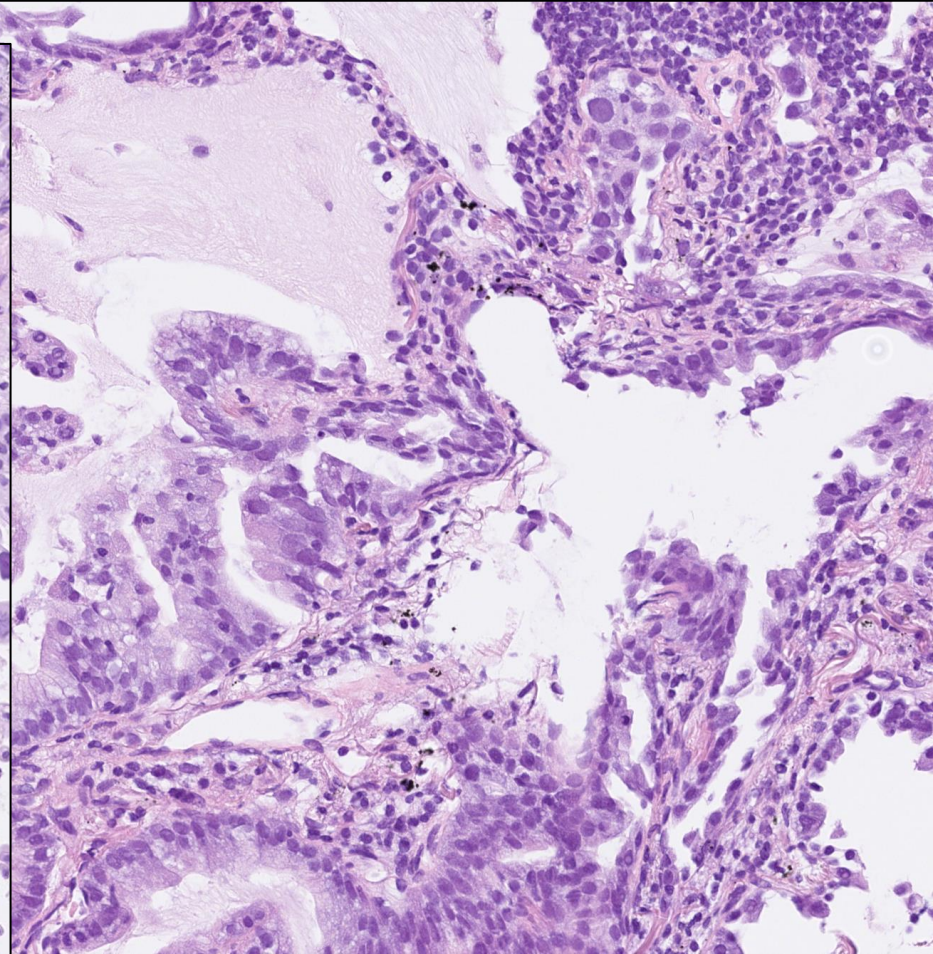
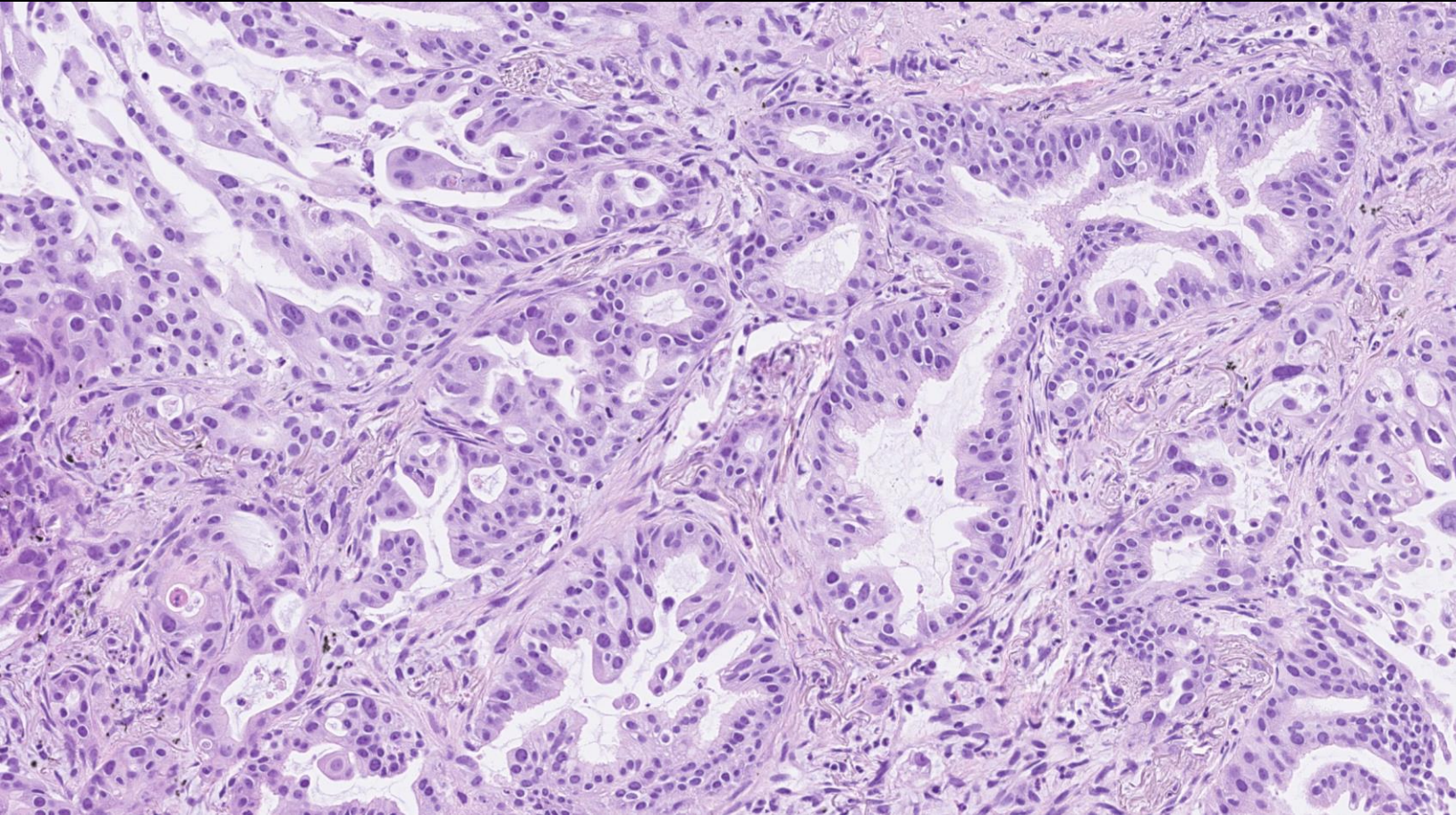


Mucinöst lungadenokarcinom

Alla ofta CK7+, CDX2+, TTF1-, CK20-

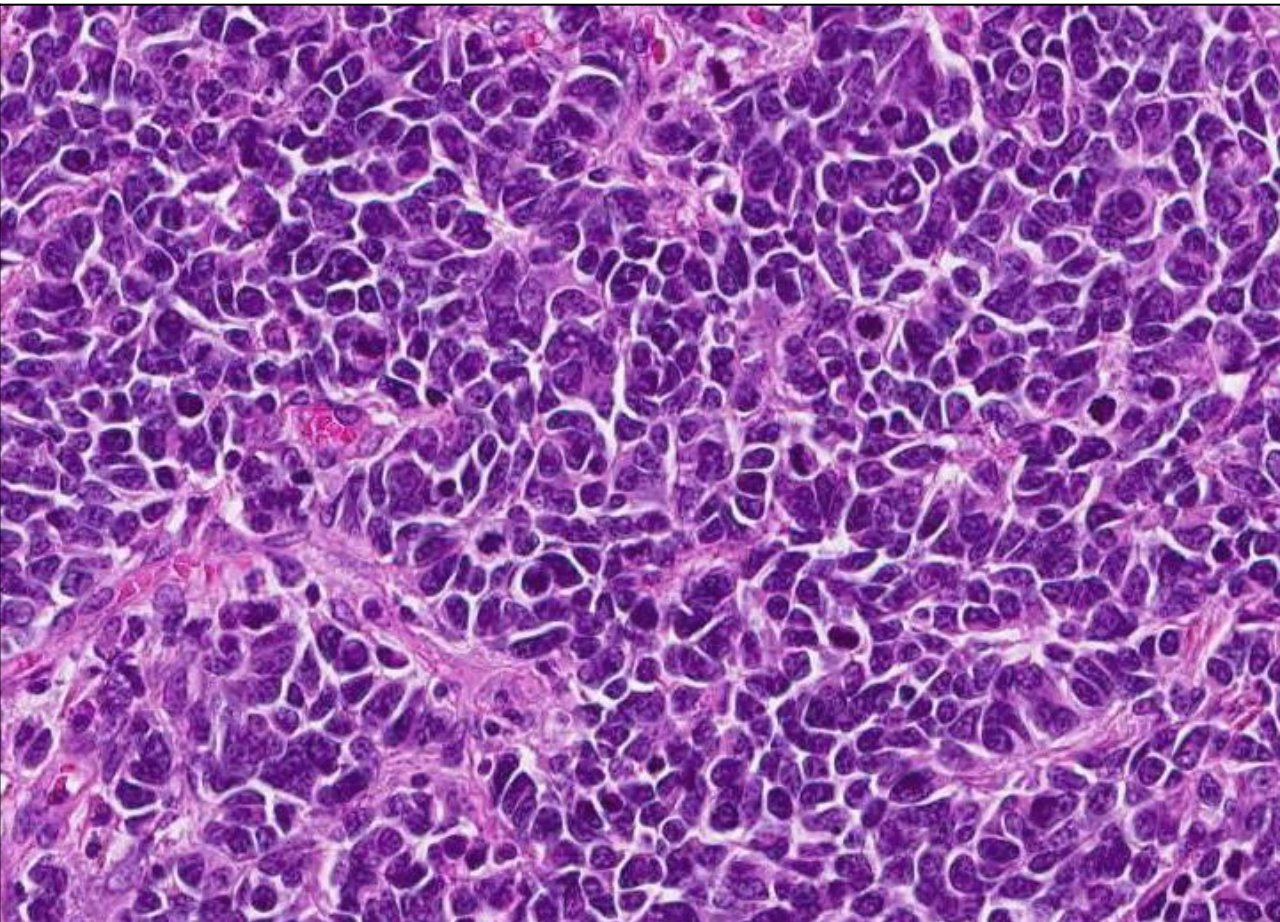
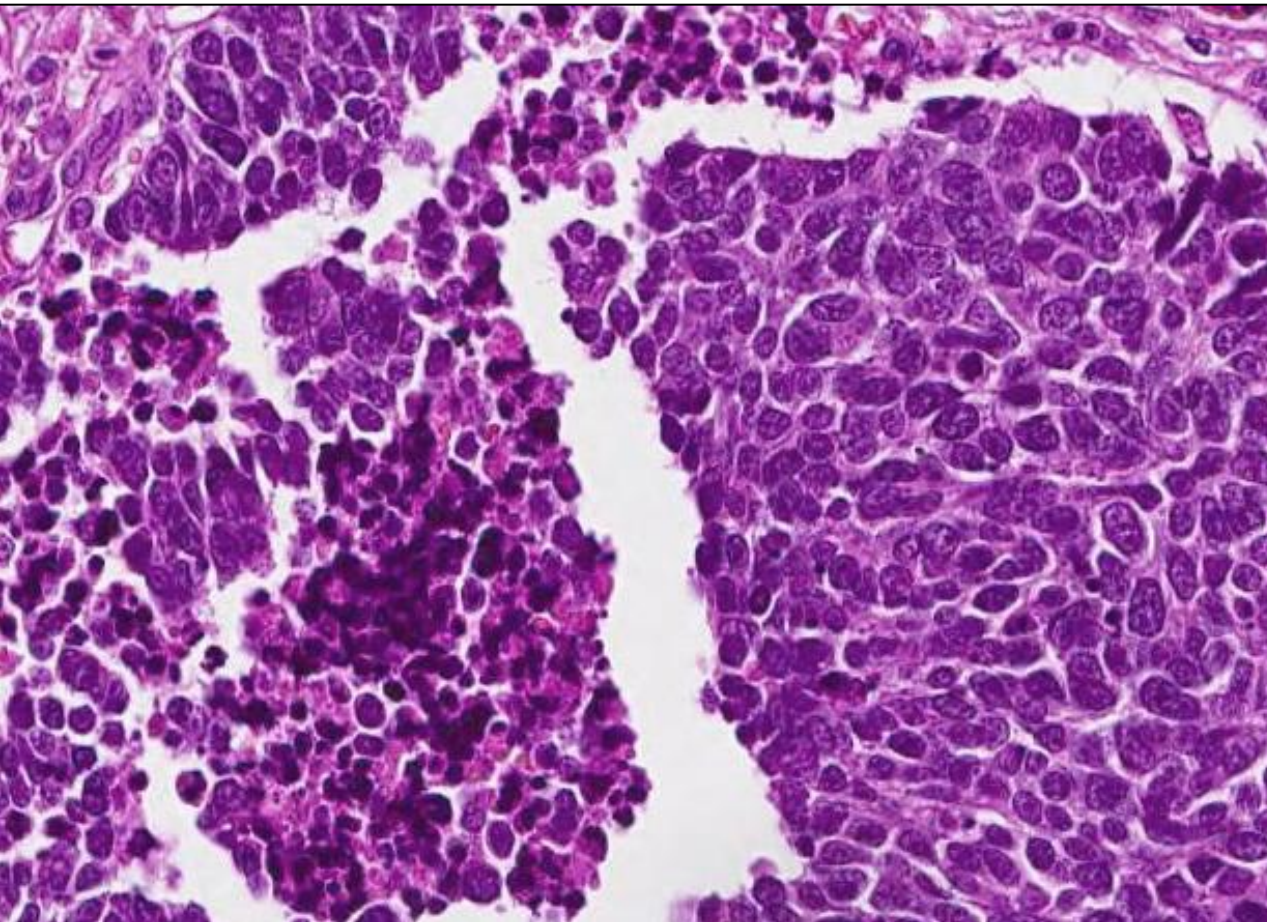
Metastas av pankreascancer

Metastas av esofaguscancer

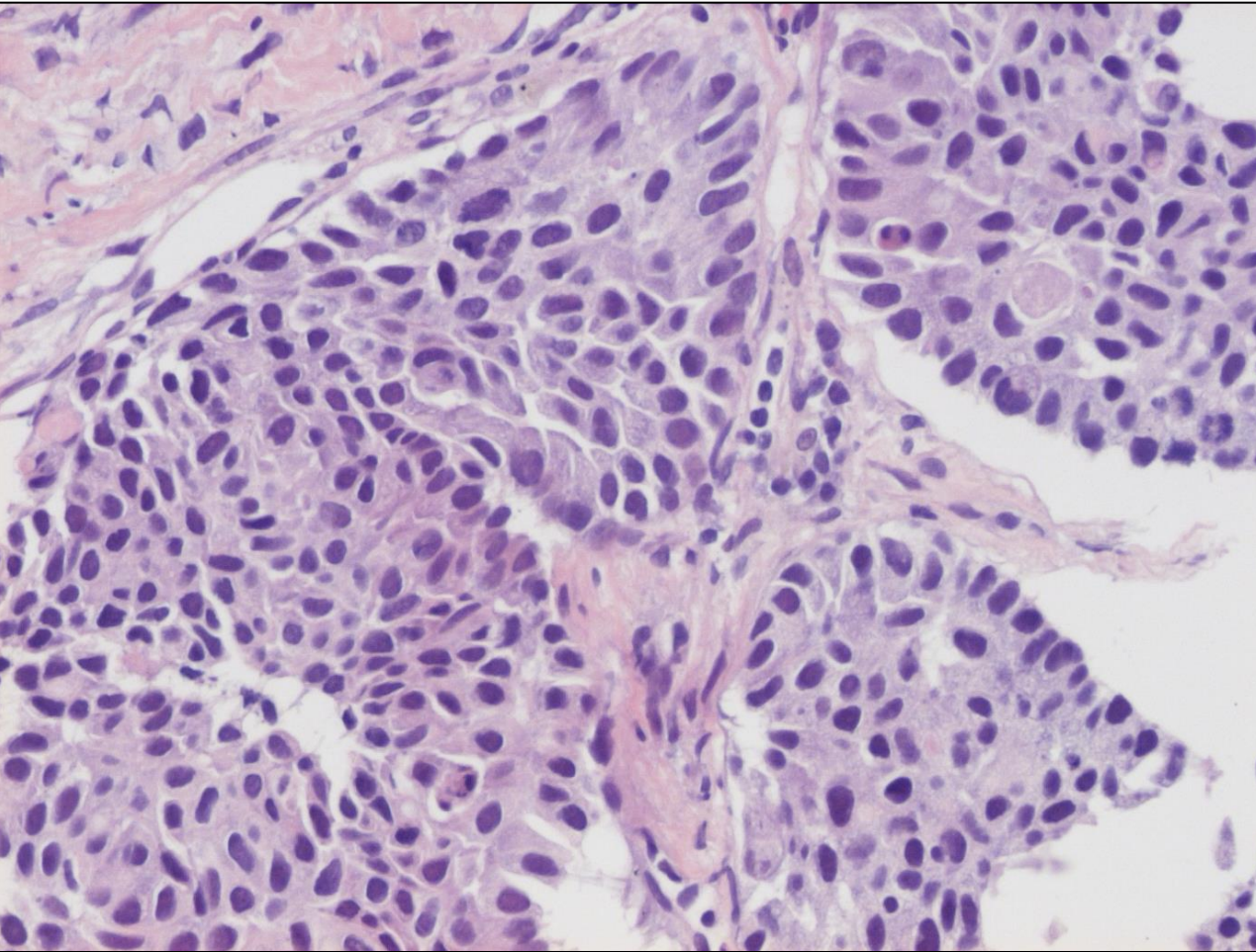


Storcellig neuroendokrin cancer (LCNEC)

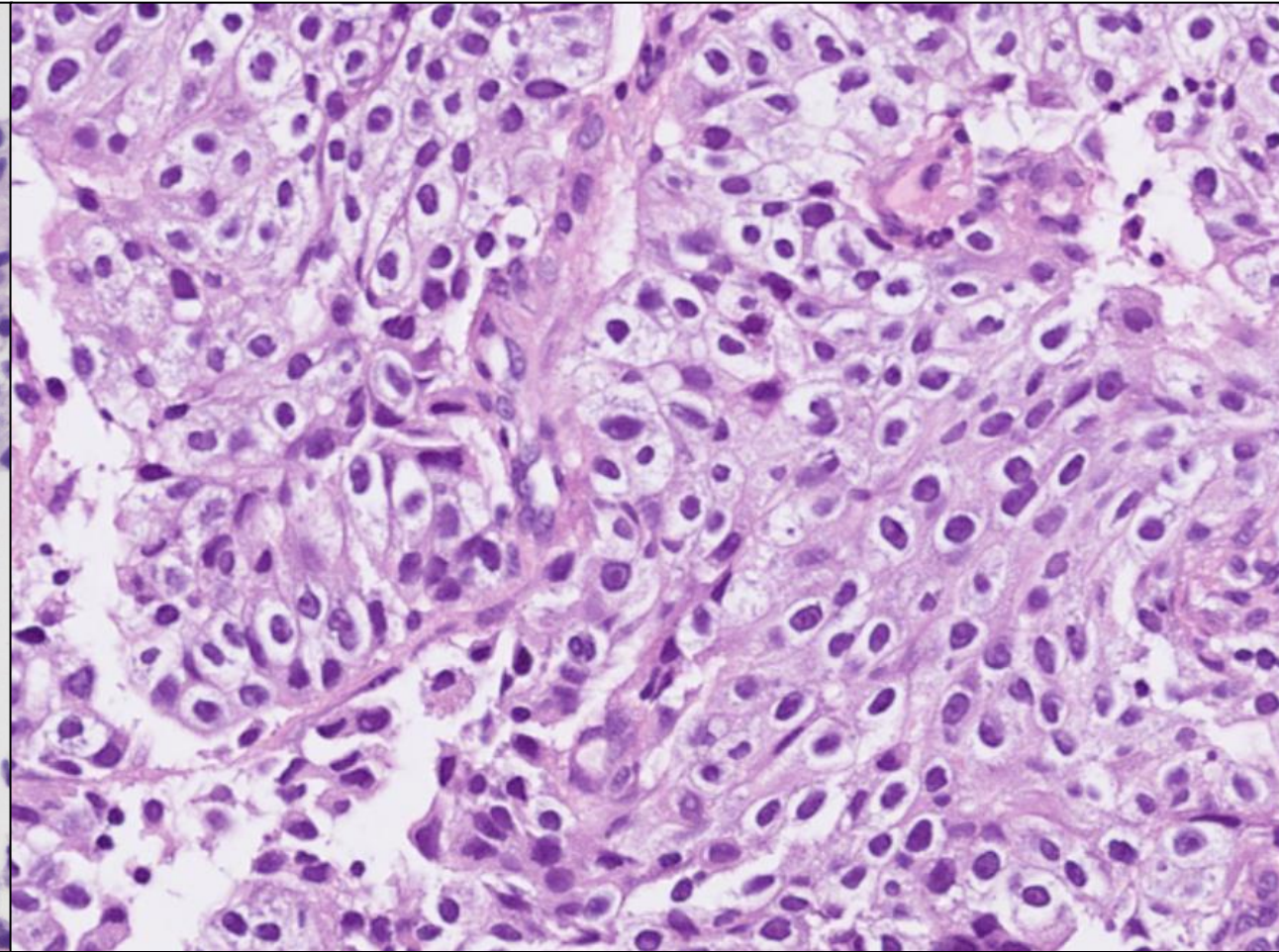
Småcellig cancer (utan krossartefakter)



Storcellig neuroendokrin cancer (LCNEC)



Adenokarcinom med solitt växtmönster



Neuroendokrina markörer i lungcancer

	CD56	Chromogranin A	INSM1	Synaptofysin
Karcinoid	93% (83-100%)	98% (93-100%)	88% (79-100%)	98% (94-100%)
LCNEC	86% (61-94%)	55% (42-85%)	58% (42-91%)	68% (55-88%)
SCLC	90% (63-100%)	55% (4-83%)	89% (75-100%)	79% (52-100%)
Adenokarcinom	5% (0-22%)	3% (0-41%)	2% (0-3%)	13% (0-72%)
Skivepitelcancer	9% (0-20%)	4% (0-26%)	1% (0-4%)	5% (0-43%)

Litteratursammanställning (totalt några tusen fall)

Hinder för komplett och rätt diagnostik

- Otillräckligt informationsunderlag
- För liten tumörmängd
- För liten tumörcellsandel
- Fixeringsmetod
- Urkalkningsmedel
- Biologi (likartad morfologi, avvikande immunprofiler etc)
- Ej tillgång till eller inadekvata analyser
- Patologen bedömer fel

Mesoteliomdiagnostik

Epiteloida celler

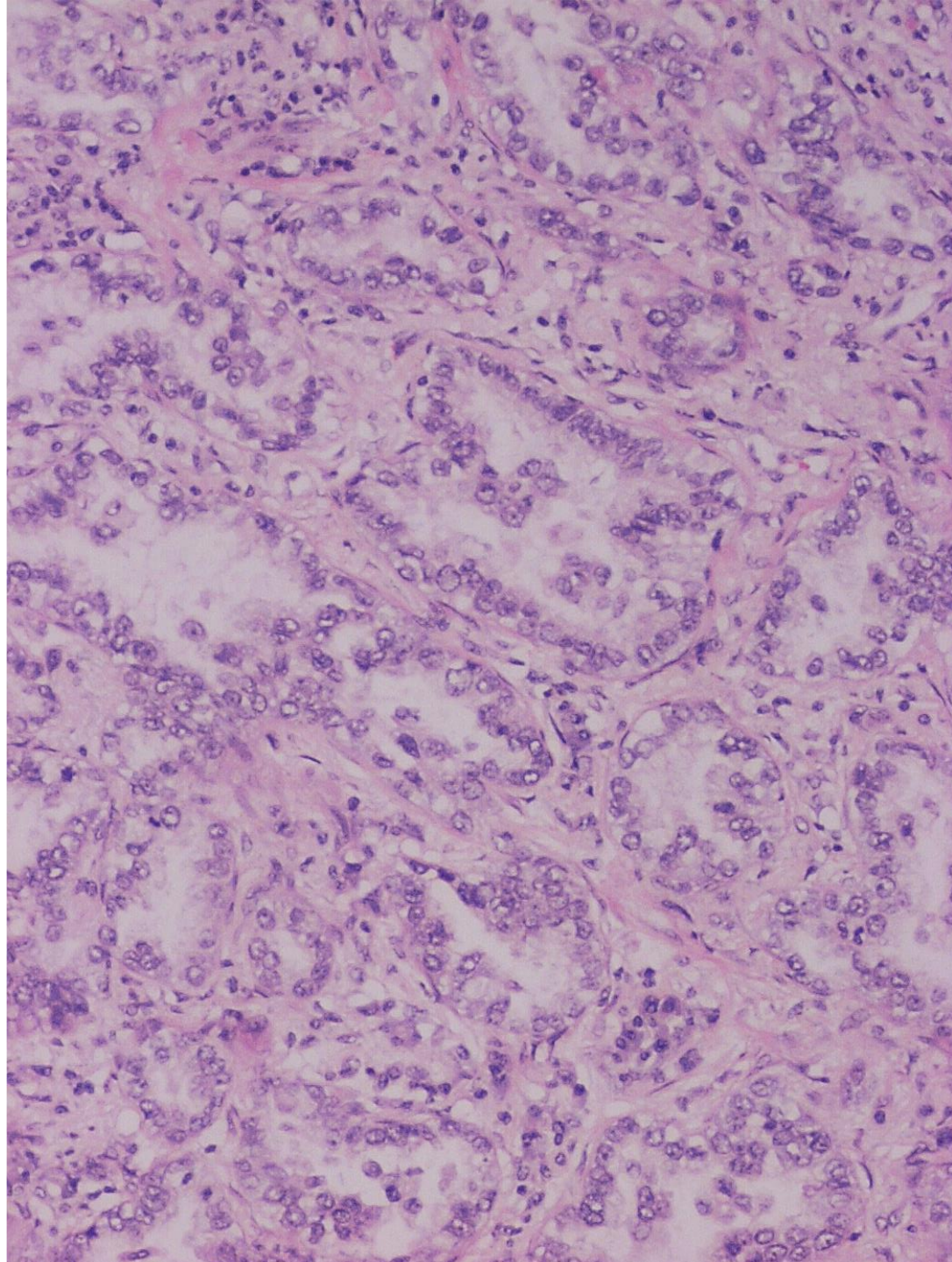
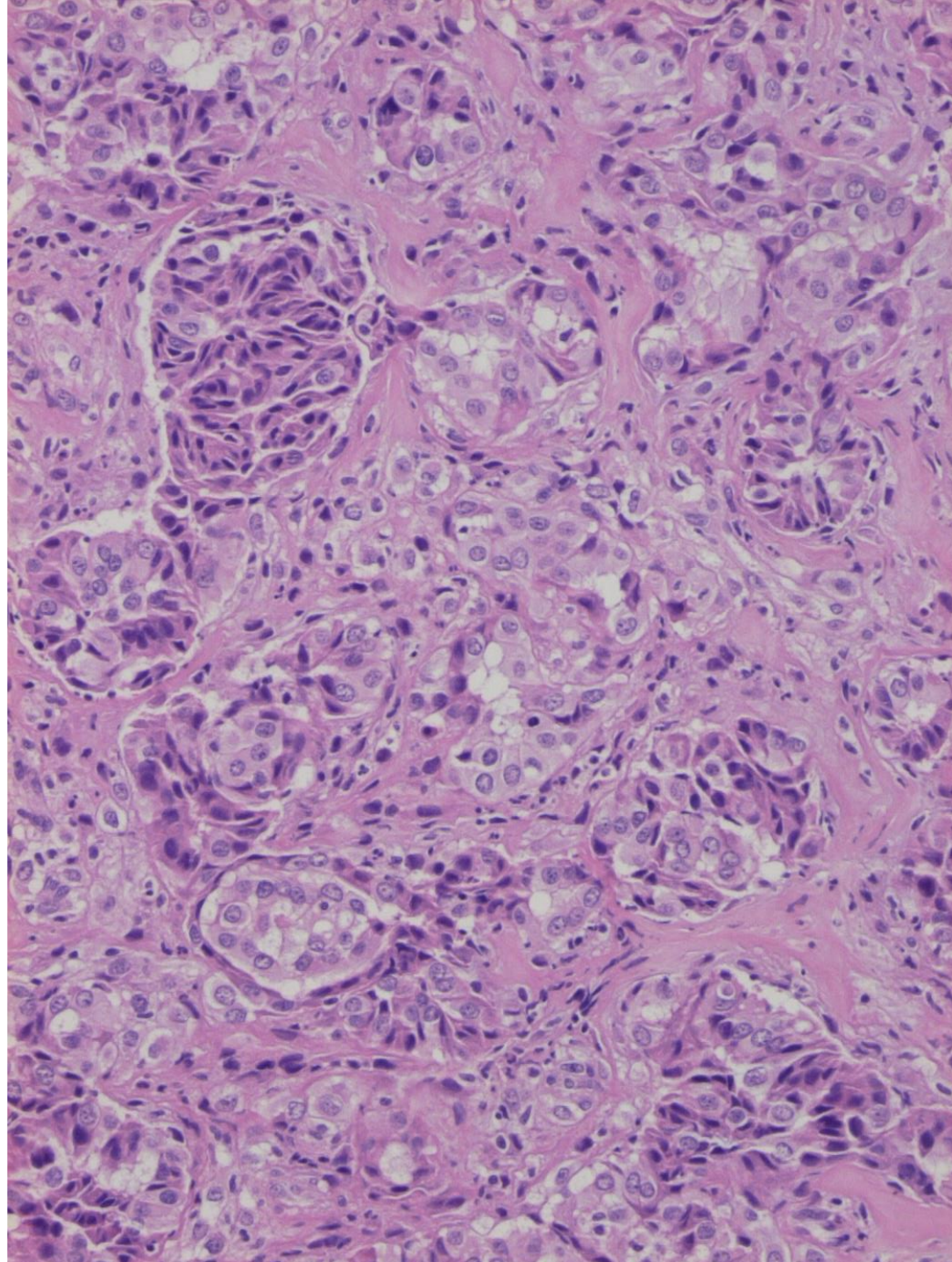
- Epiteloitt mesoteliom
- Lungadenokarcinom
- Adenokarcinom från annat organ
- Reaktiva mesotelceller

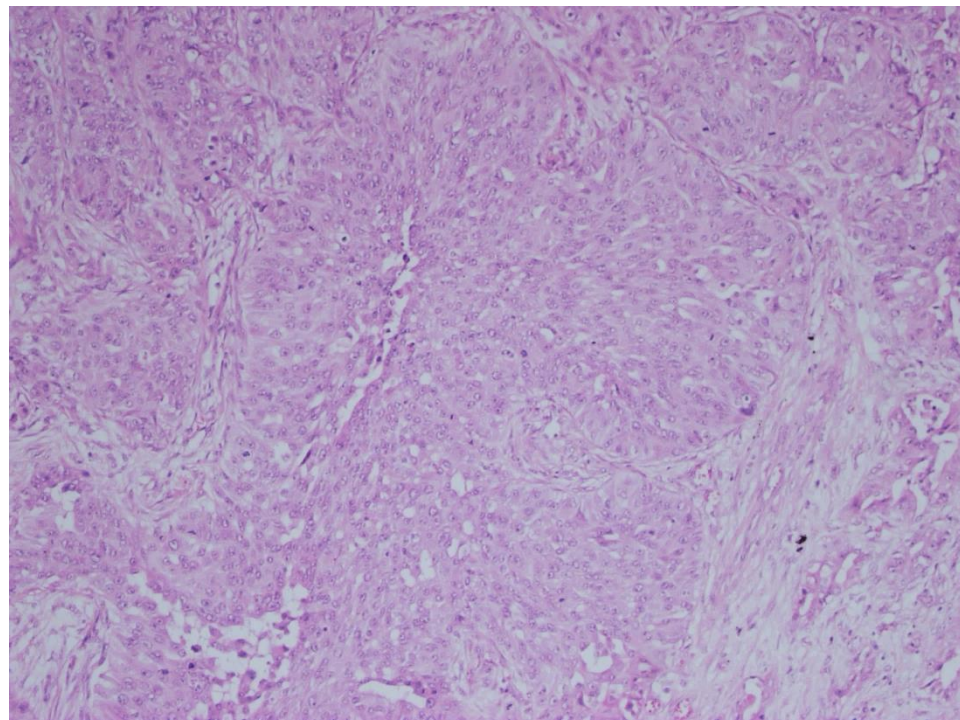
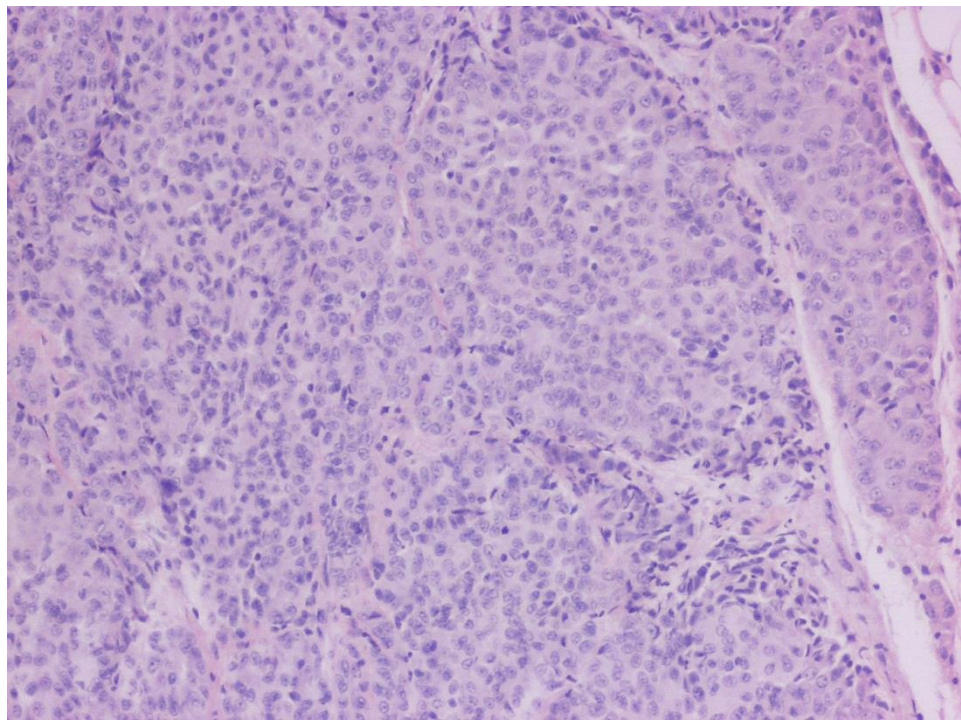
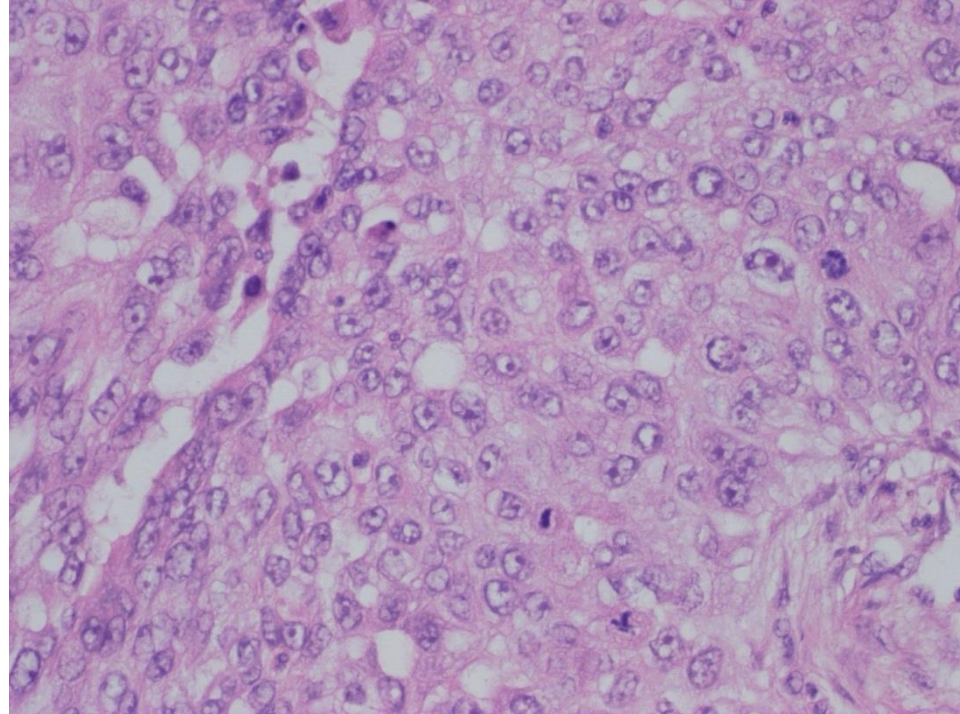
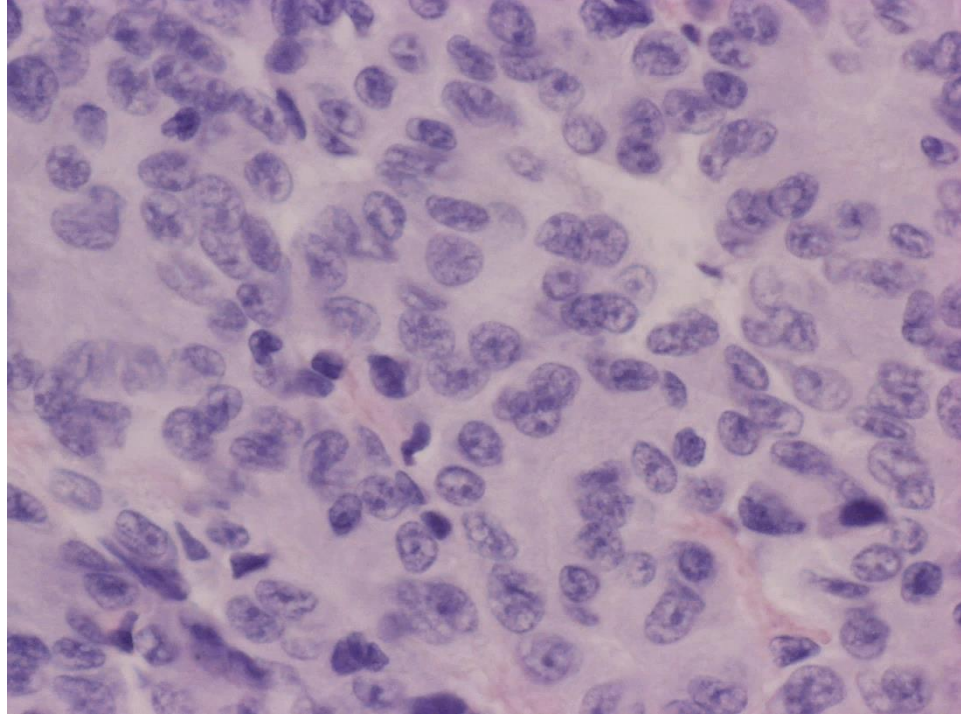
Små celler

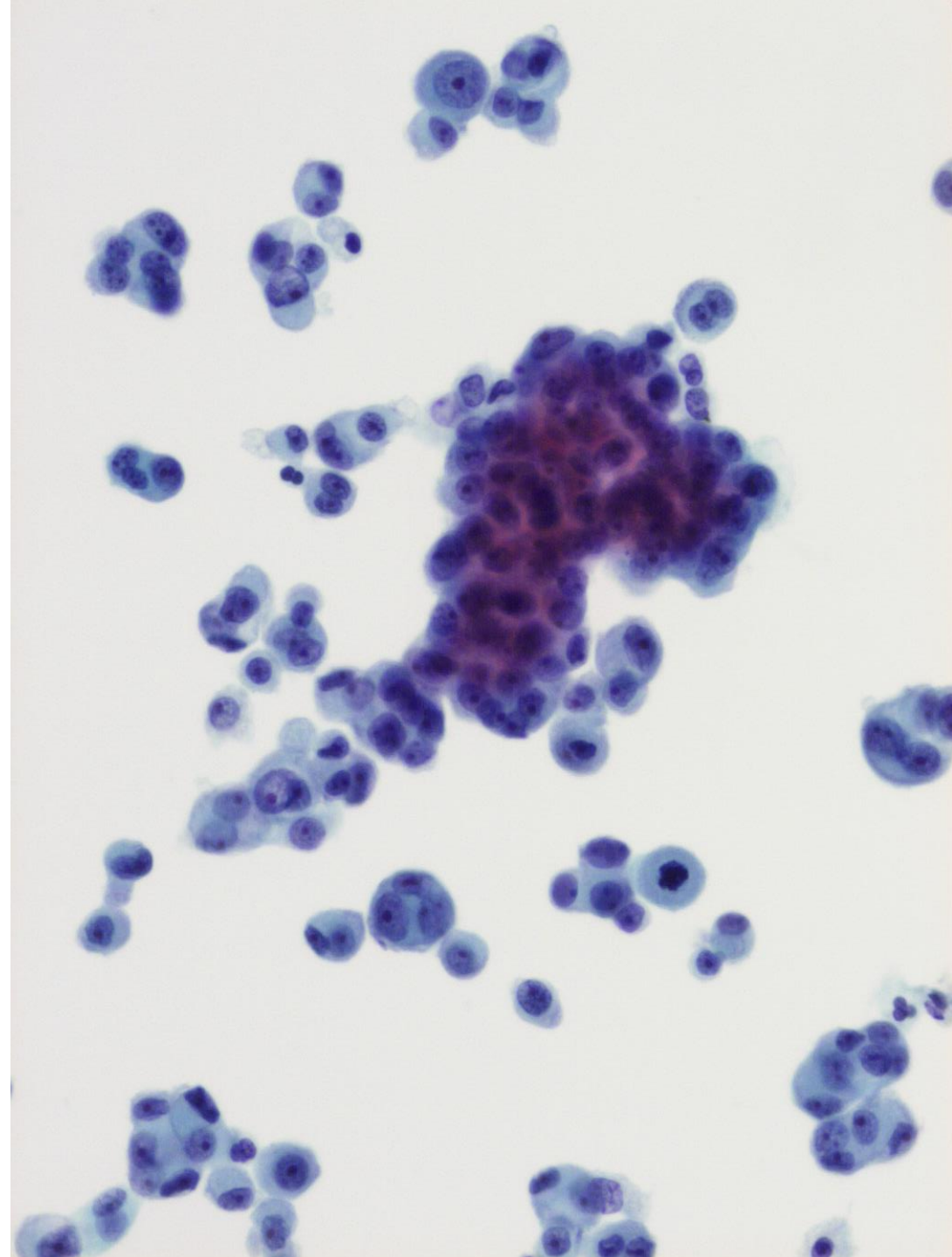
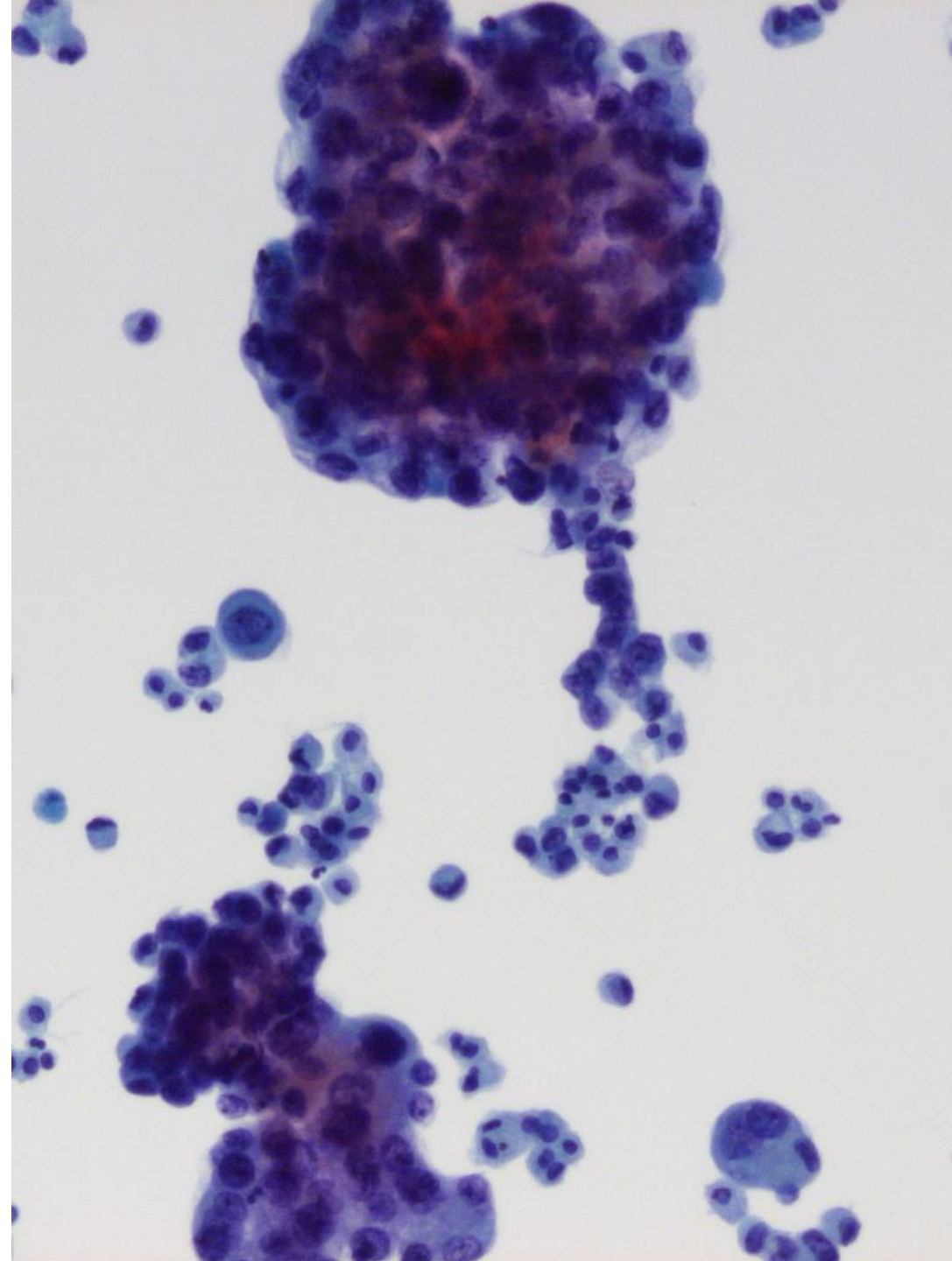
- Lymfocytär inflammation
- Småcellig cancer
- Lymfom

Sarkomatoida celler

- Sarkomatoitt mesoteliom
- Sarkomatoitt karcinom
- Sarkom
- Reaktiva celler (fibroblaster mm)



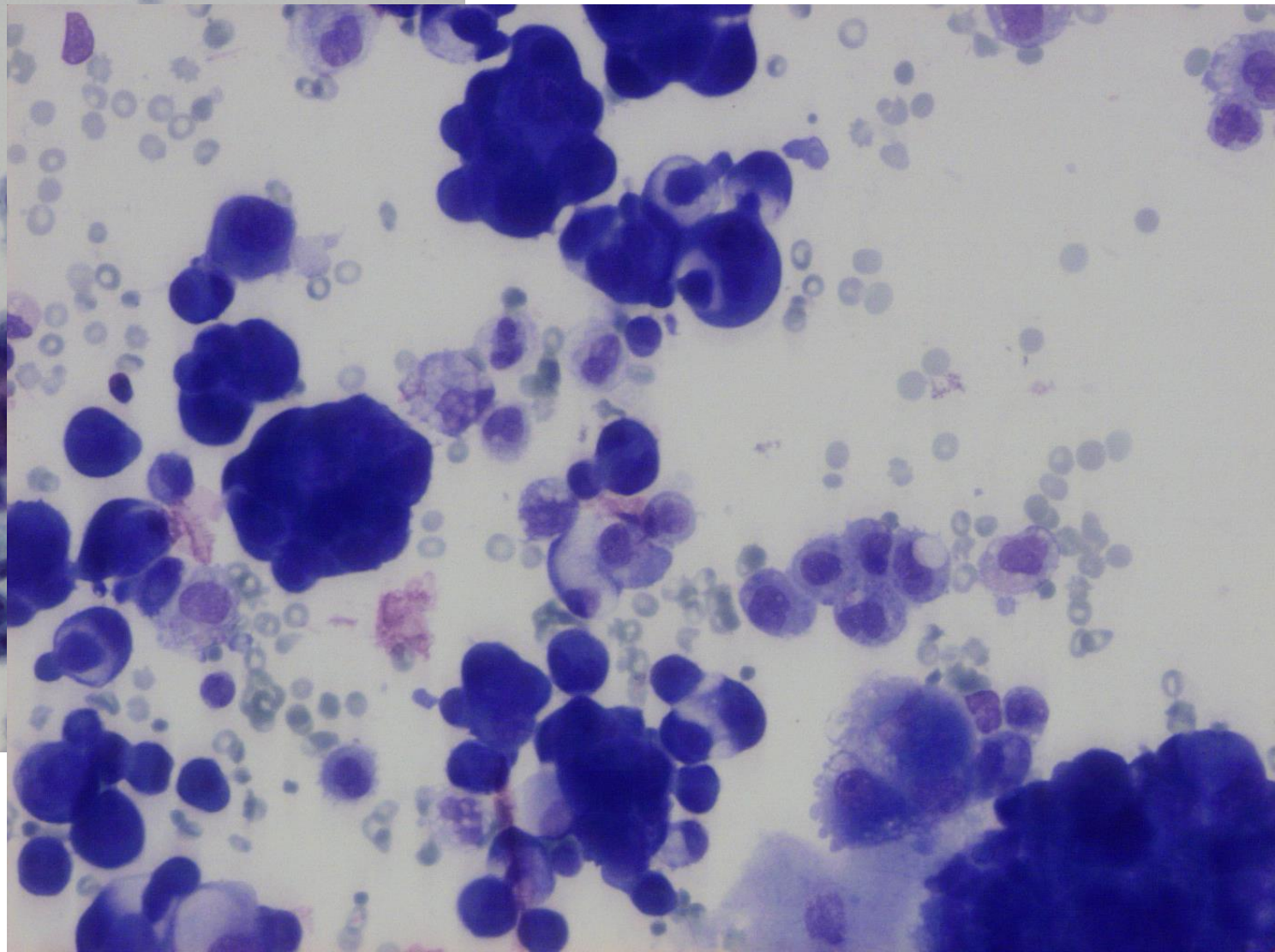
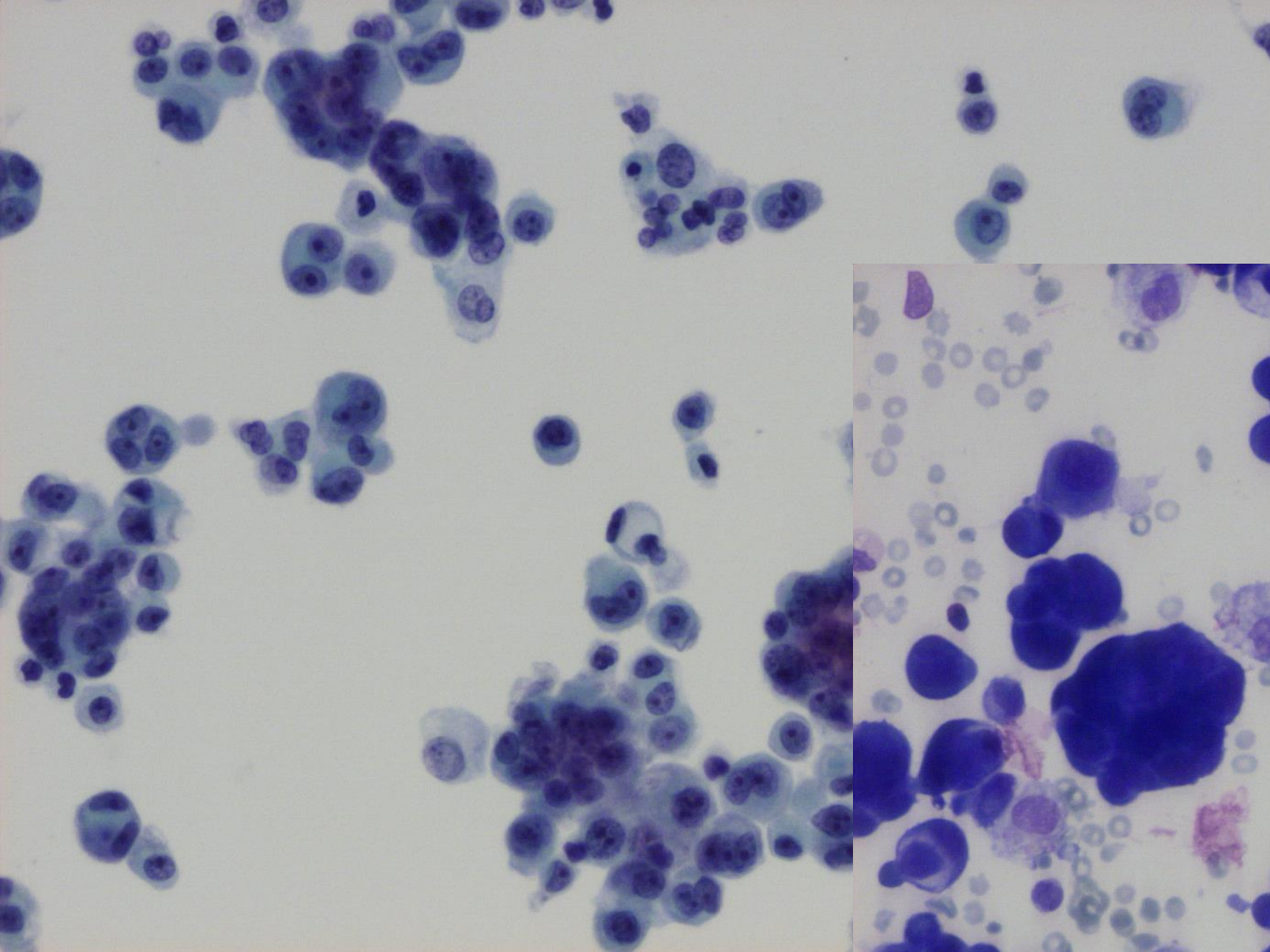




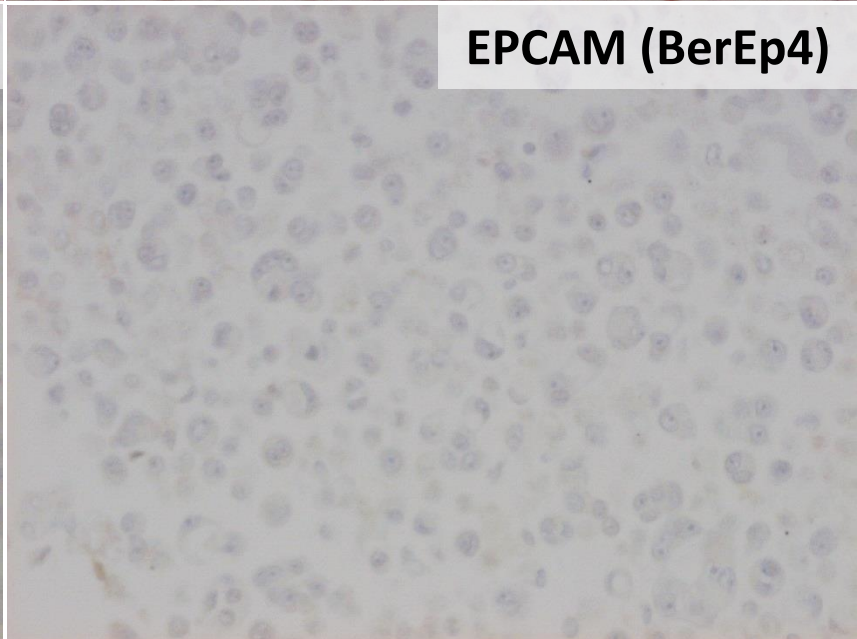
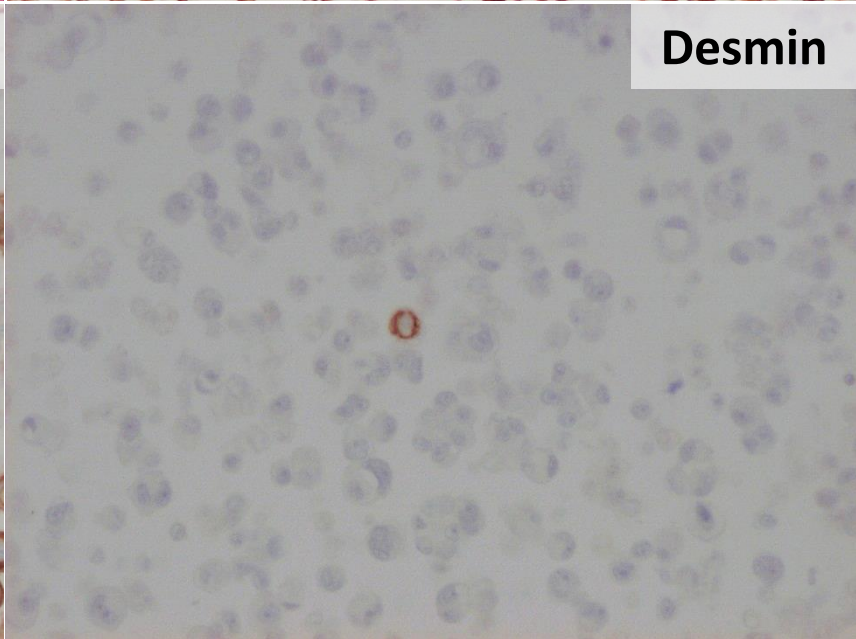
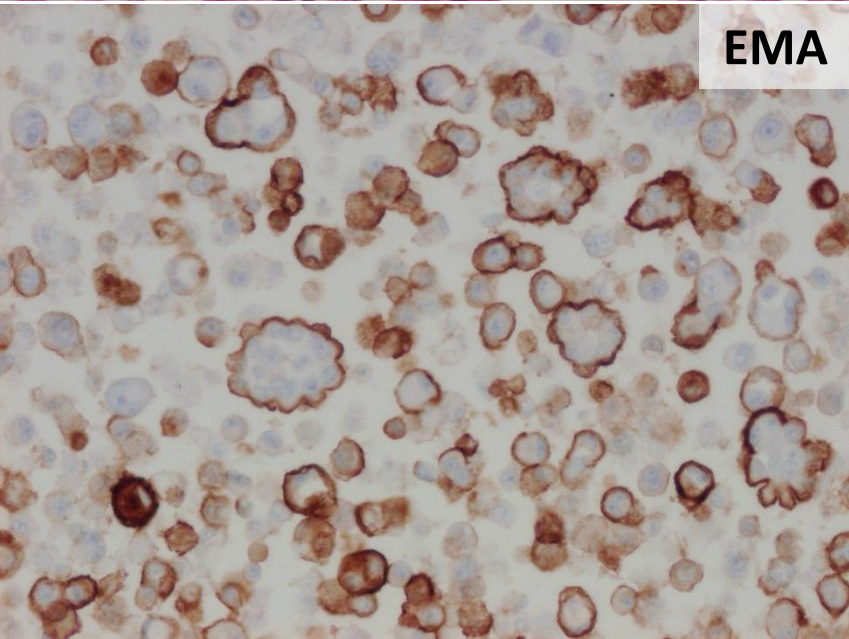
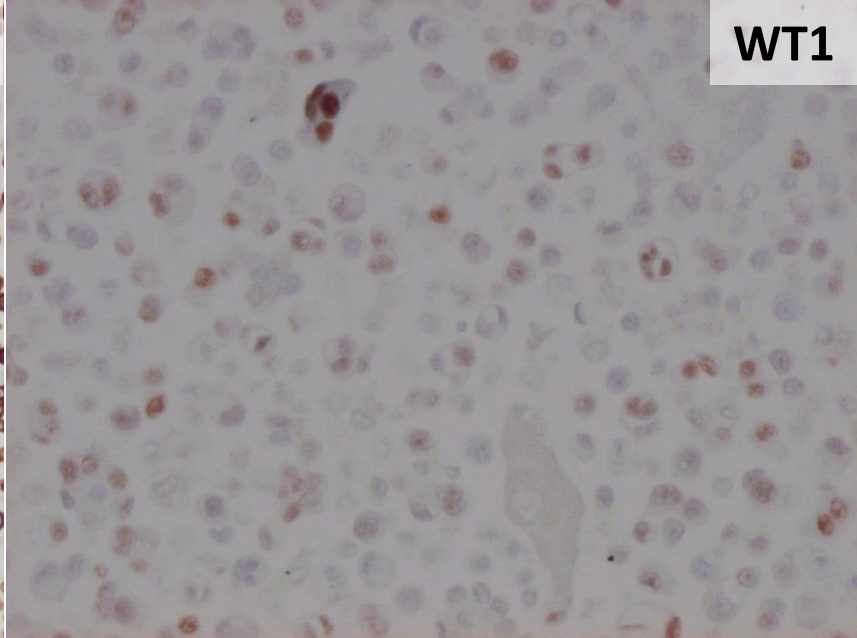
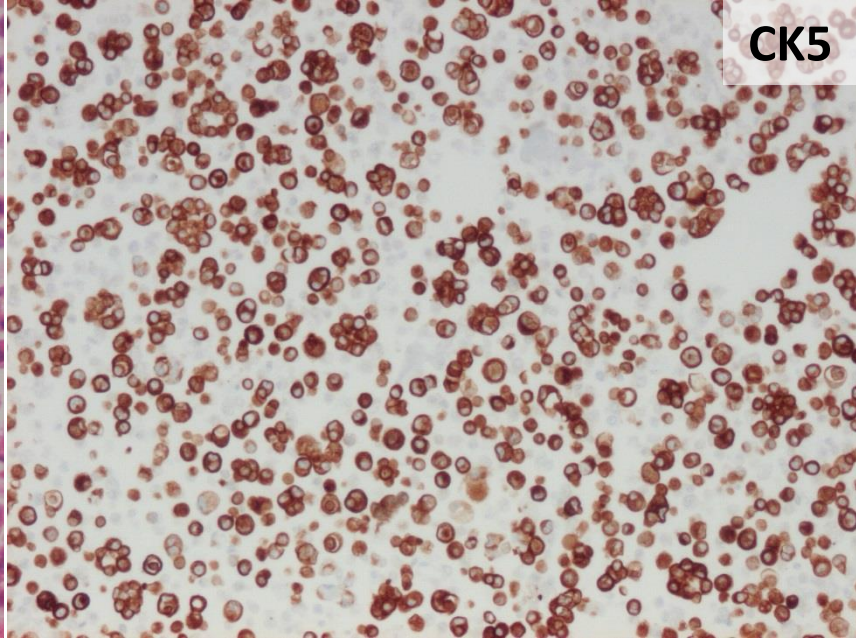
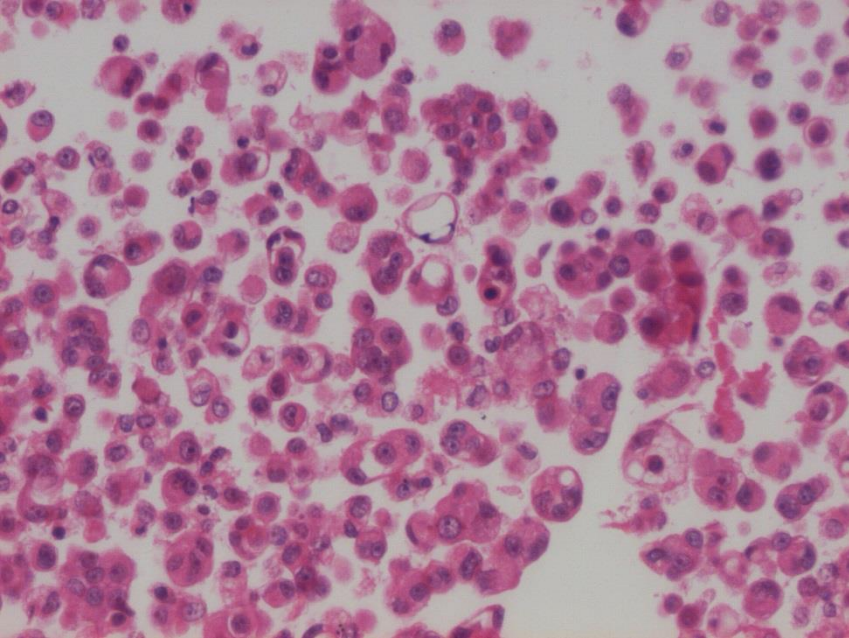
Krav för säker cytologisk mesoteliomdiagnos

- Riklig atypisk mesotelproliferation
- Immunfärgning stödjer mesotelialt ursprung och motsäger karcinom etc
 - Mesotel/mesoteliom CK5, calretinin, podoplanin, WT1
 - Karcinom EPCAM (olika kloner finns), CEA, organspecifika markörer som TTF-1
- Positiv p16-FISH (UroVysion)
- (BAP1, MTAP, EMA, desmin, lösligt hyaluronan kan ge "starkt stöd")
- I praktiken behövs ofta (men inte alltid) upprepad provtagning och biopsi, ibland även upprepad biopsering

Äldre man med riklig
atypisk cellproliferation



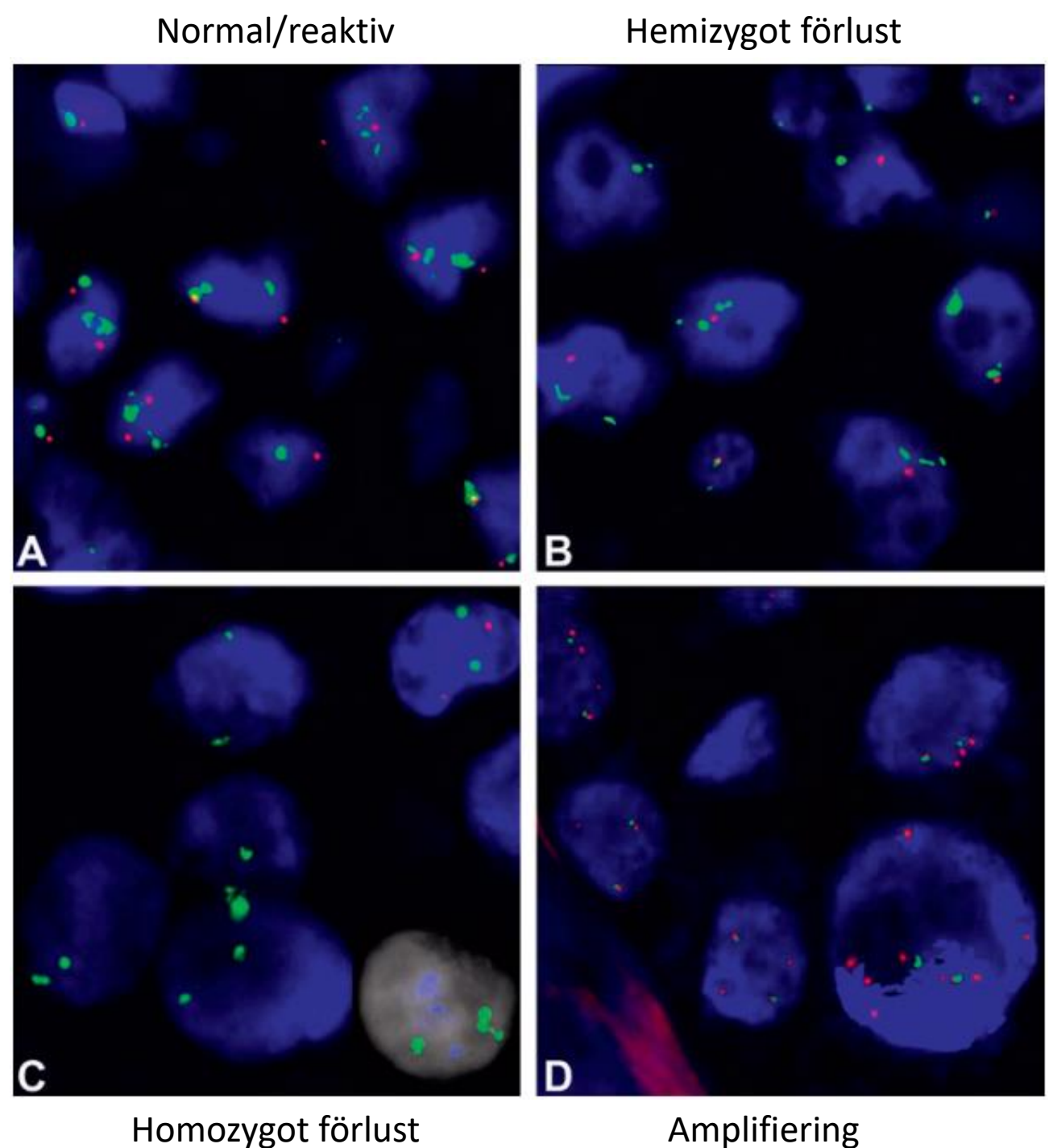
Cellblock pleuravätska (även pos p16-FISH)



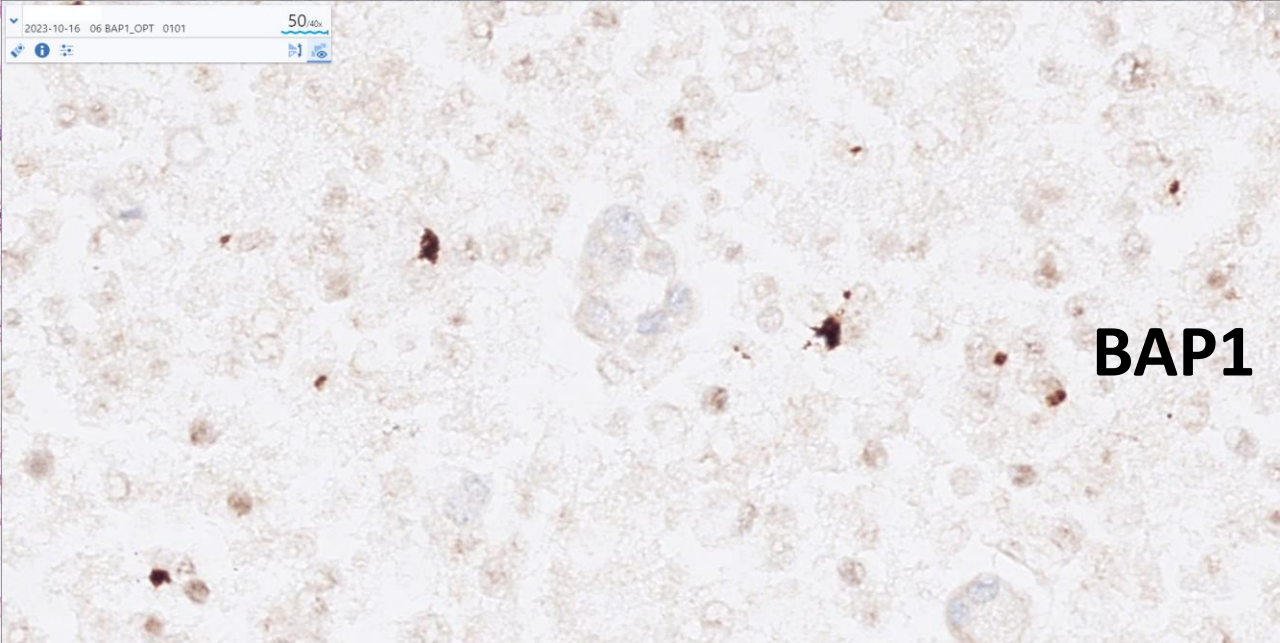
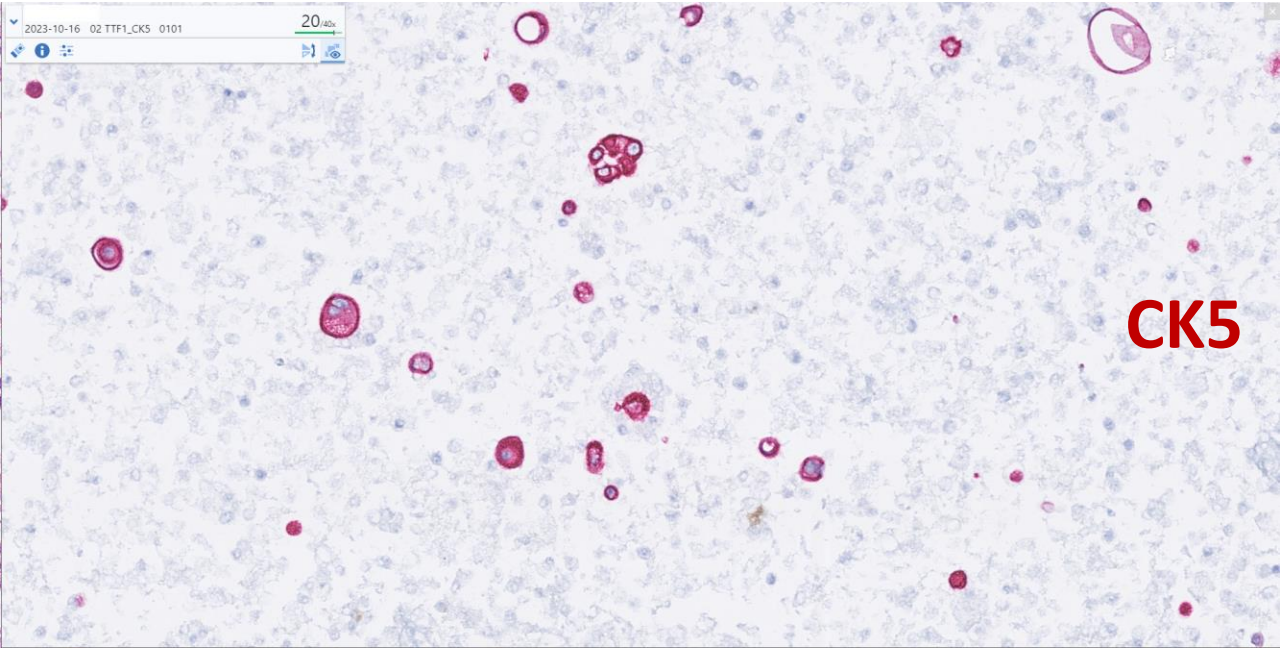
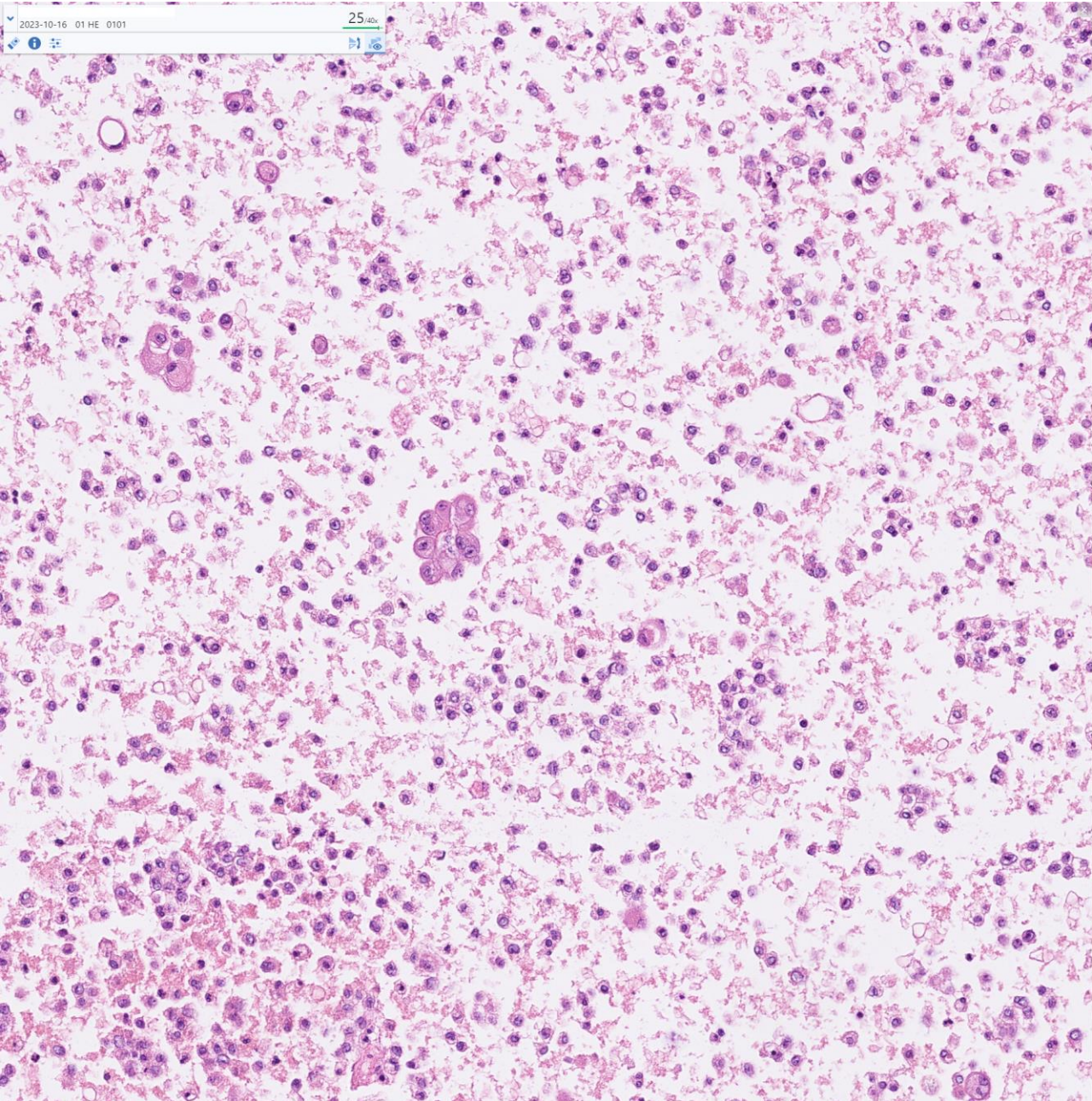
p16-FISH (UroVysion)

- Homozygot förlust av p16/CDKN2A vanligt i mesoteliom
- Analysen ofta bättre på cytologi än histologi
- Men mer sensitiv på sarkomatoid typ

Chung et al, J Clin Pathol 2010



Sparsam atypisk mesotelial cellproliferation med patologisk UroVysion



Sammanfattning diagnostik

- Gott informationsunderlag
- Adekvat tumörmängd/halt (beakta val av provtyp inkl. benbiopsi)
- Kompetent patolog

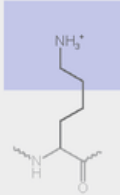
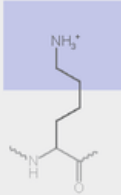
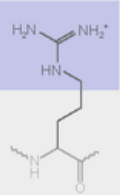
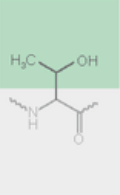
- Ibland ändå bra att ifrågasätta...
- Vissa diagnoser är svåra (LCNEC, mucinöst adenokarcinom, sarkomatoitt mesoteliom, ovanliga tillstånd som SMARCA4-deficient tumör mm)
- Preparation/provhantering och analystillgång inte alltid upp till thoraxpatologen

Molekylärpatologi

- Mutationer
- Fusioner/translokationer
- Amplifieringar
- Proteinöveruttryck

Mutationer

- Punktmutation
 - Substitution
 - Silent, missense, nonsense (stopp)
- Indel/frameshift

	No mutation	Point mutations			
		Silent	Nonsense	Missense	
				conservative	non-conservative
DNA level	TTC	TTT	ATC	TCC	TGC
mRNA level	AAG	AAA	UAG	AGG	ACG
protein level	Lys	Lys	STOP	Arg	Thr
					

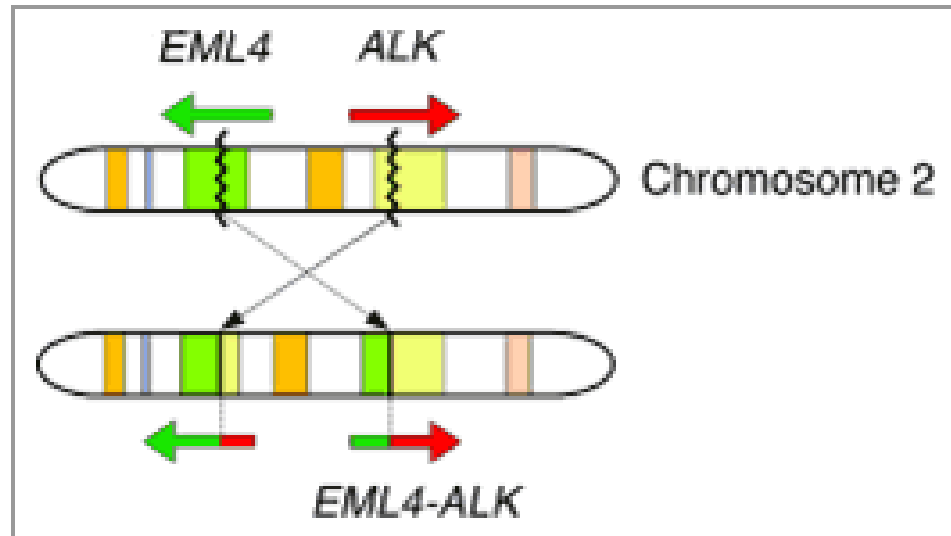
JAG HAR TVÅ BEN

JAN HAR TVÅ BEN

JAX (=stopp)

JAH ART VÅB ENO

Fusioner/translokationer

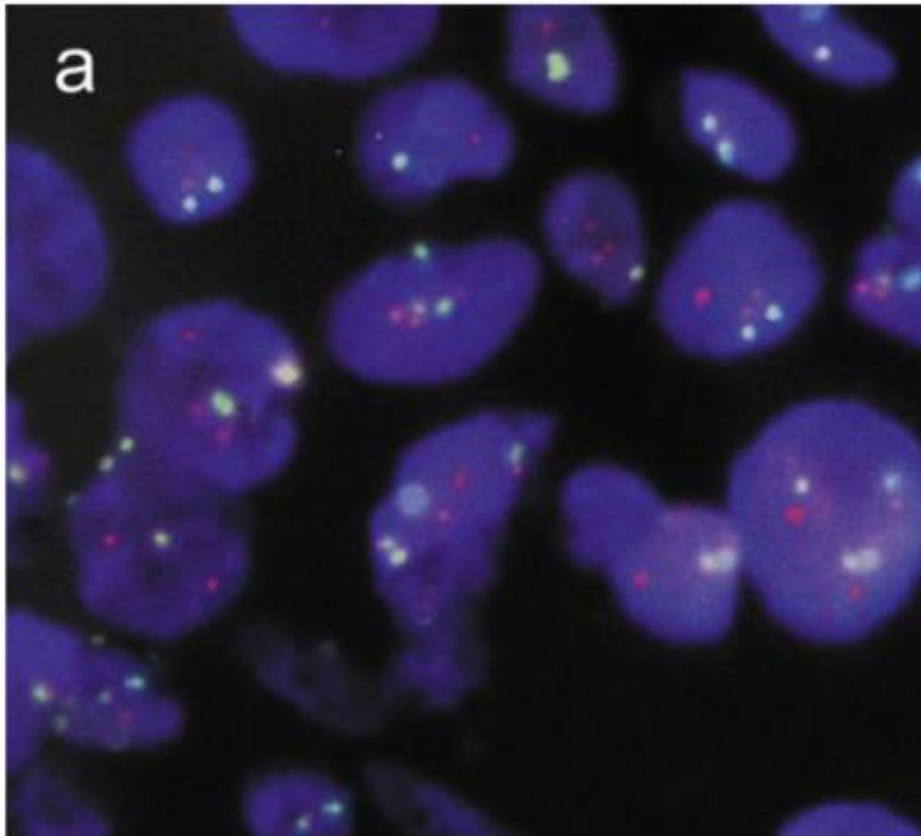


ALK genrearrangemang
(ofta inversion och fusion
med EML4)

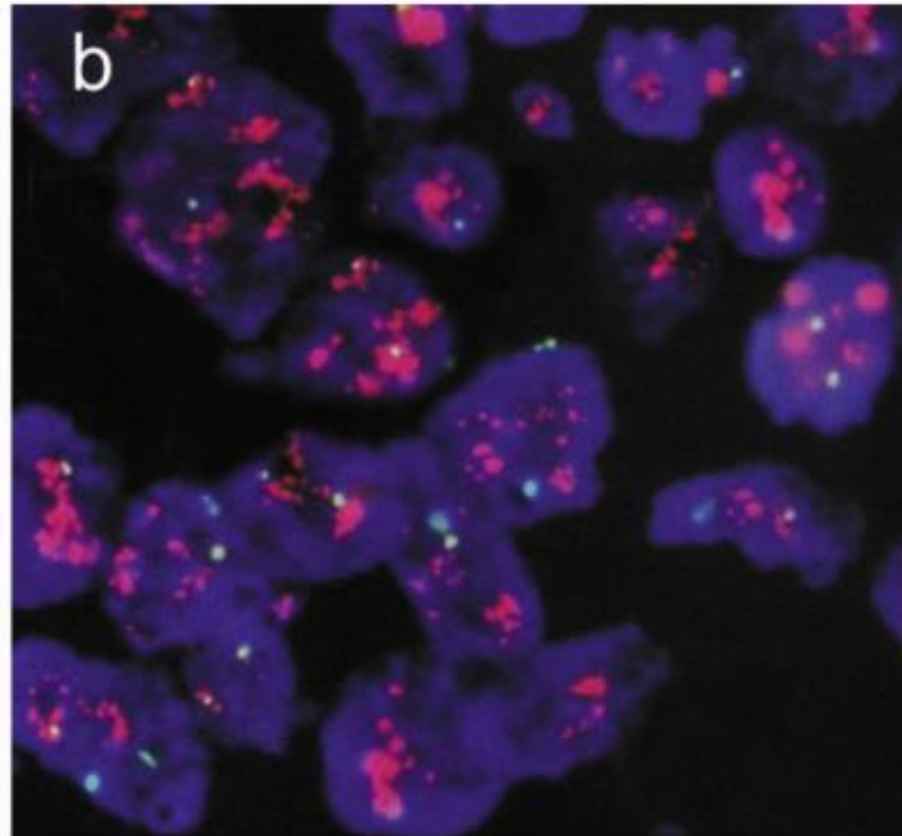
<https://www.jst.go.jp/EN/seika/01/seika18.html>

Amplifiering

Gene copy number increase



A, normal



B, amplifierad (röd/grön-kvot)

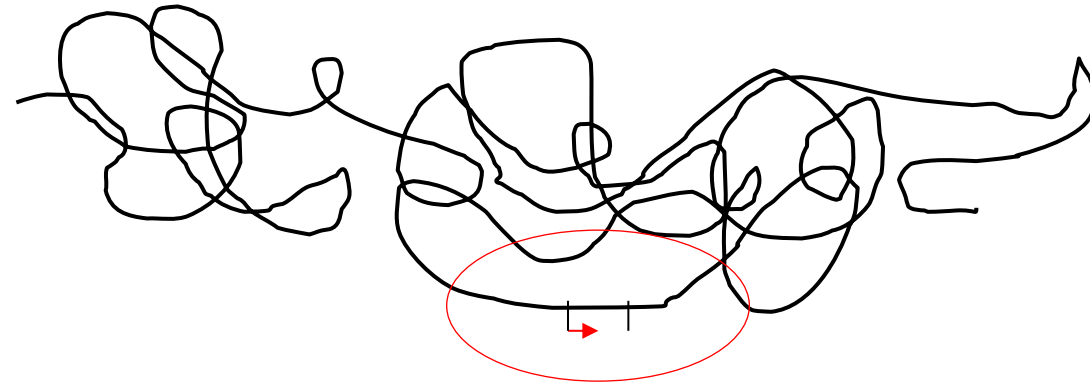
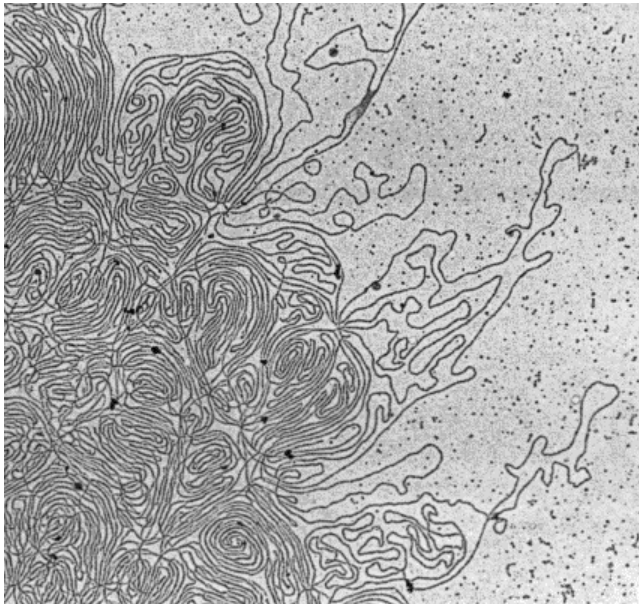
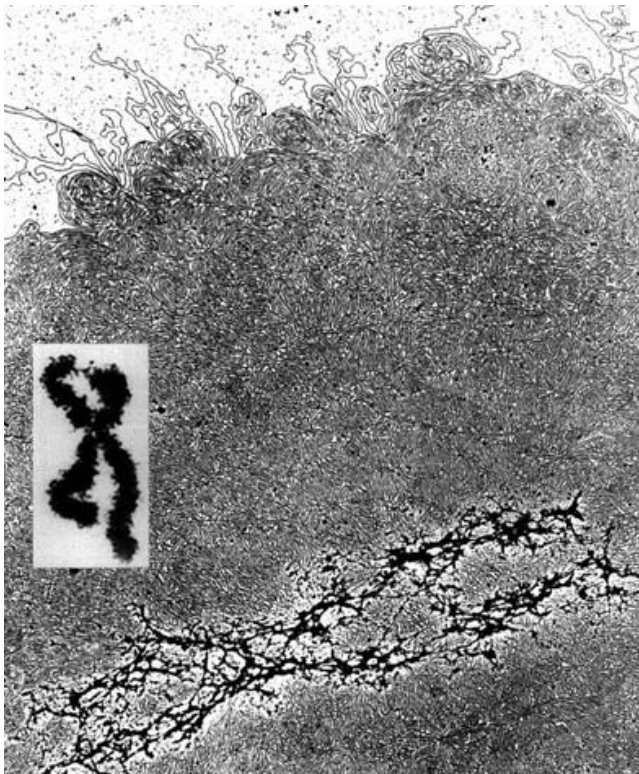
Proteinöveruttryck

- Kopplat till mutation/fusion
 - T.ex. ALK, ROS1, NTRK
- Kopplat till amplifiering
 - T.ex. HER2
- Överuttryck utan genförändring
 - T.ex. PD-L1

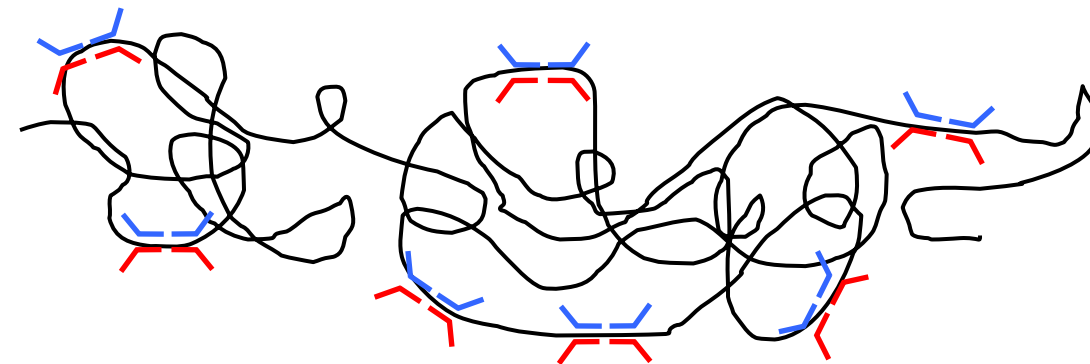
Analysmetoder

Förändring	Metod	Exempel
Mutationer	qPCR NGS (DNA) ddPCR	EGFR, BRAF, KRAS, METex14
Fusioner	NGS (oftast på RNA) NanoString RT-PCR (ofullständig täckning) FISH Immunfärgning (för överuttryck)	ALK, ROS1, RET, NTRK (METex14 skipping)
Amplifieringar	NGS FISH eller annan ISH Immunfärgning (för överuttryck)	MET, EGFR, PIK3CA (resistens) (HER2)
Proteinöveruttryck	Immunfärgning	PD-L1, ALK, ROS1, NTRK

Sangersekvensering vs. NGS



Sekvensering av en liten del av genomet i taget med specifik primer



Specifika prober används för att "fiska upp" de gener man ska undersöka
Indexsekvenser identifierar patient/prov

För- och nackdelar

- NGS – ganska dyrt, ganska långsamt, kräver ganska mycket DNA och RNA , bra täckning
- qPCR – snabbt, billigt, testar enskild eller få förändringar
- FISH – ganska snabbt, billigt, krångligt, testar enskild fusion
- ddPCR – extremt hög sensitivitet, testar enskild förändring

Vilket material går att använda?

	NGS/PCR EGFR	ALK/ROS1 IHC	ALK/ROS1 FISH	PD-L1 IHC
Utstryk cytologi (färgat)	Ja	Nej	Nej, men...	Nej
Cellblock/ cytospin	Ja	Ja, men...	Ja	Ja, men...
Biopsi	Ja	Ja	Ja	Ja
Resektat	Ja	Ja	Ja	Ja
Kommentar	10%+ viabla tumörceller Minst 500 tumörceller?	Minst 50 tumörceller? (helst minst 100)	Minst 50 tumörceller (helst minst 100) gärna väl samlade	Minst 100 tumörceller

Immunfärgning för proteinöveruttryck kopplat till fusioner

ALK-IHC

- D5F3 = CE-IVD-märkt
- 5A4 = inte CE-IVD-märkt
- Komplettera med FISH om ej konklusivt resultat

ROS1-IHC

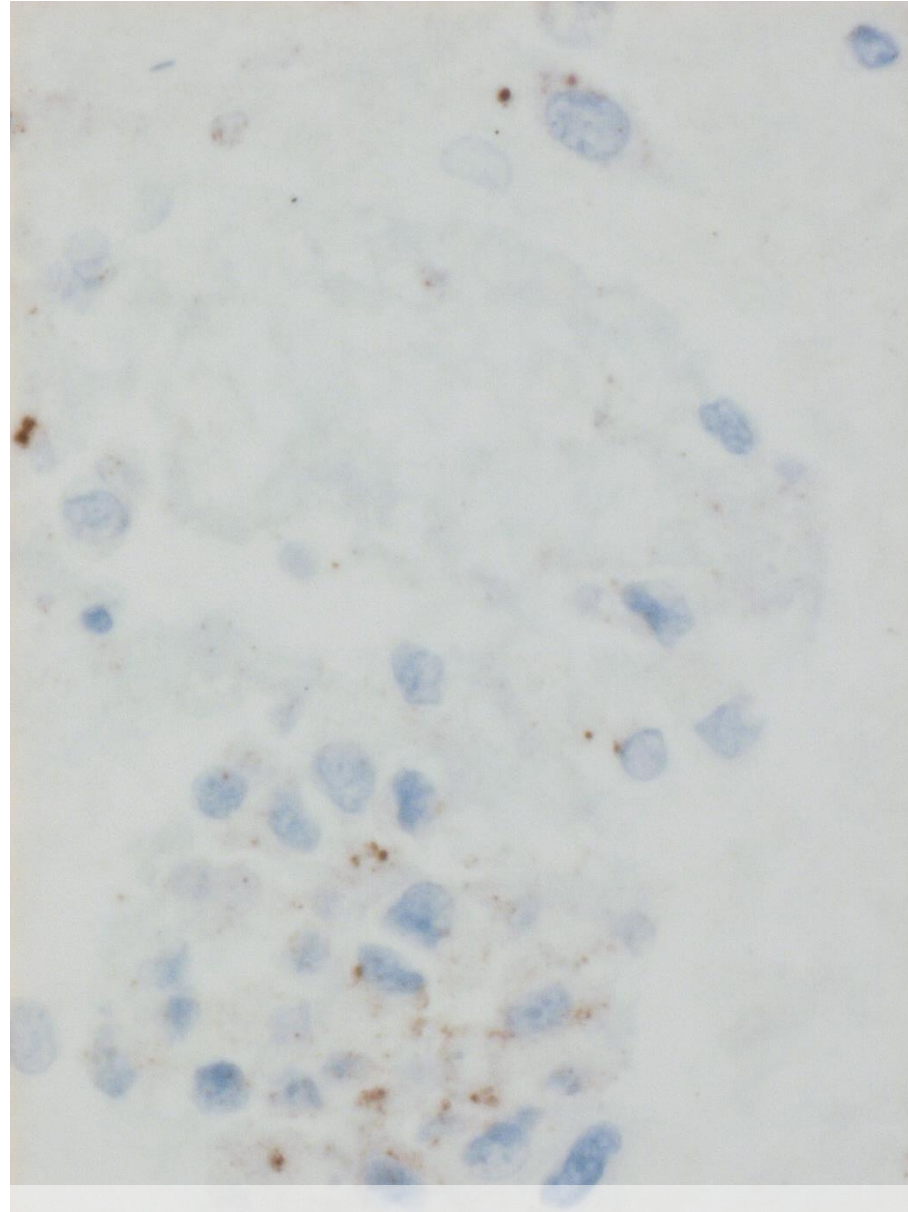
- SP384 = CE-IVD-märkt
- D4D6 = inte CE-IVD-märkt
- Komplettera med FISH om ej konklusivt resultat och sannolikt även om positivt

NTRK-IHC

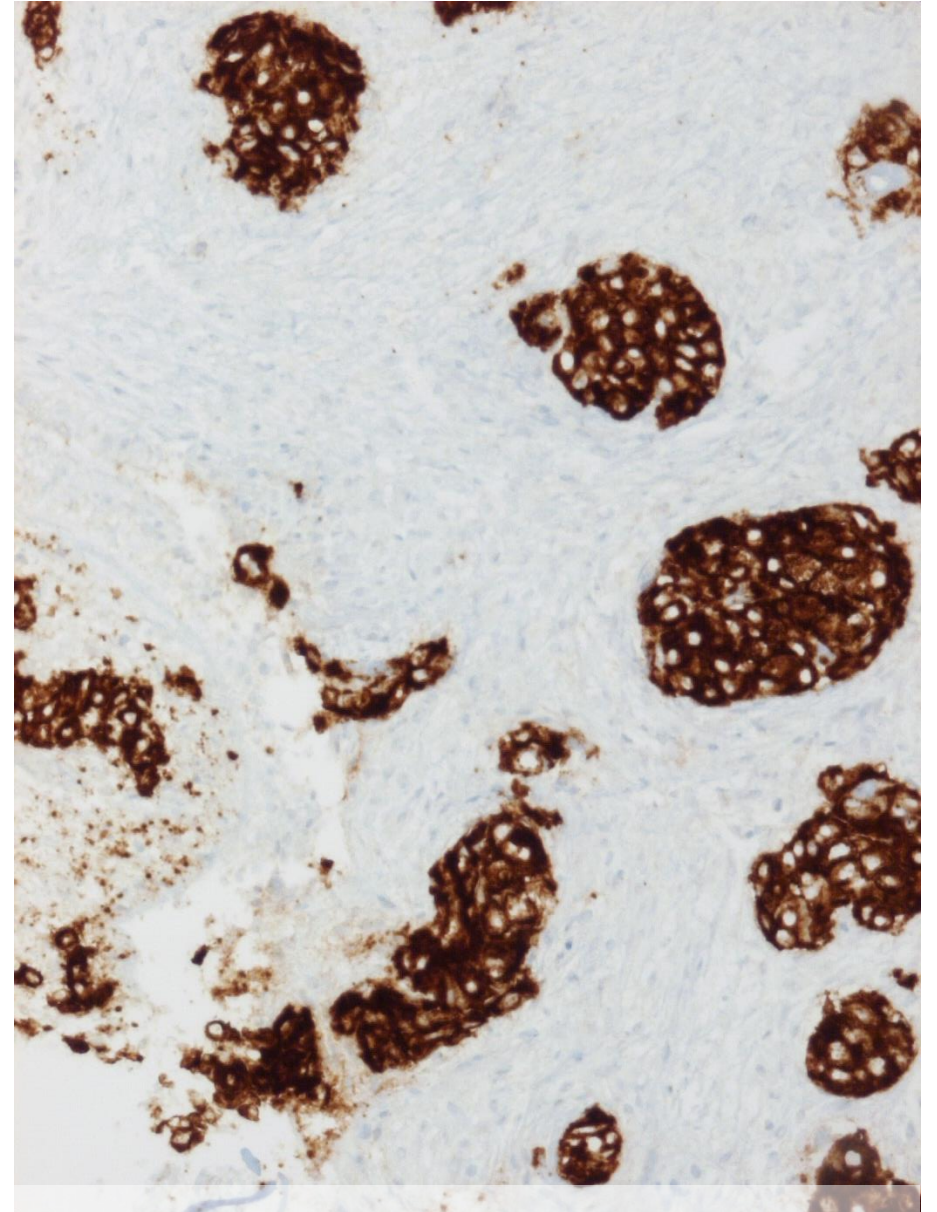
- Immunhistokemi finns (pan-NTRK1/2/3) men bekräftande FISH är obligat

Falskt neg ALK-immunfärgning på metanolfixerad cytologi

Ingen påverkan
på NGS-kvalitet

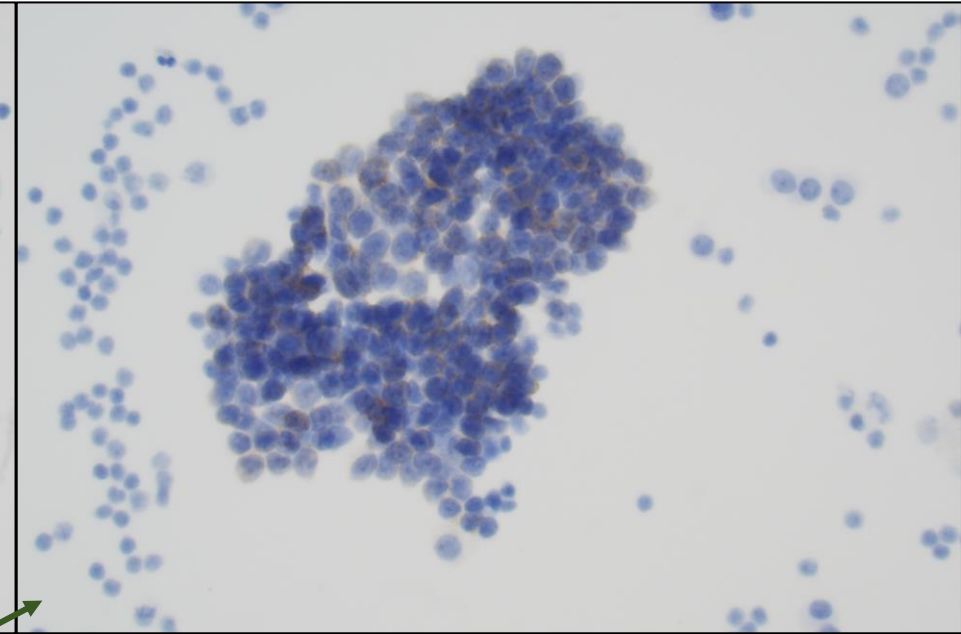
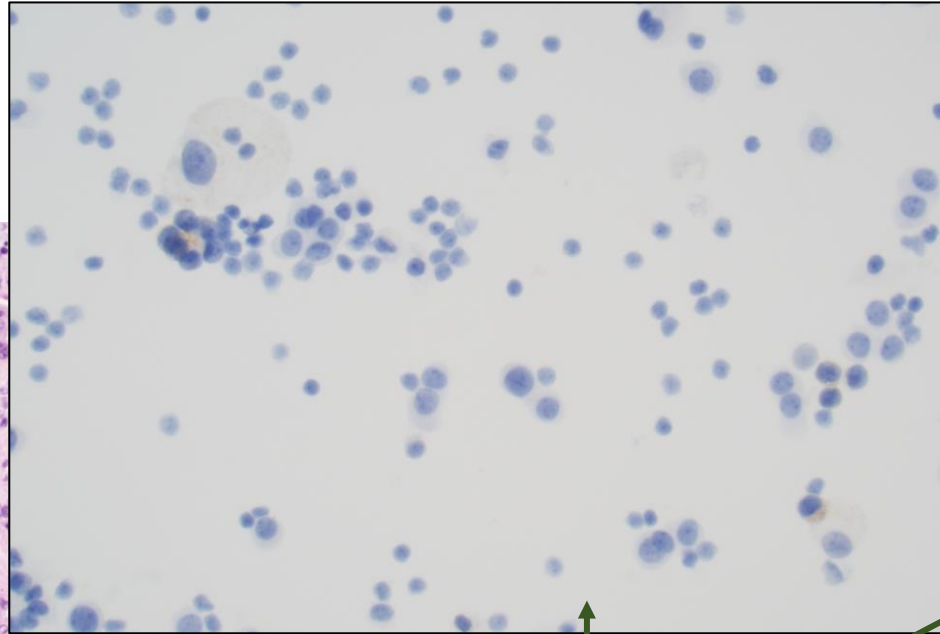
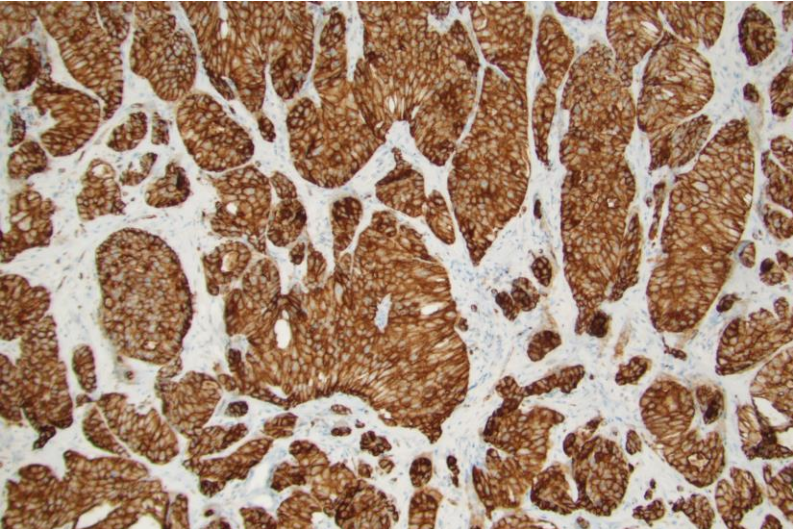
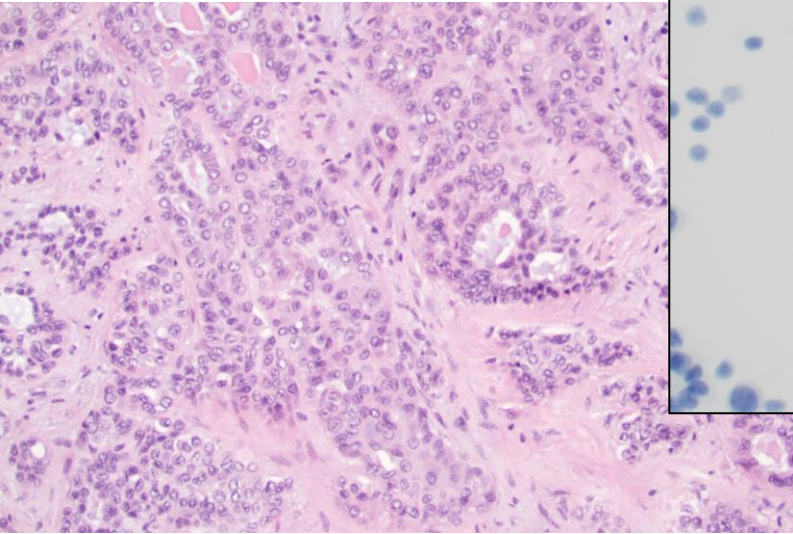


Cytologi



Biopsi

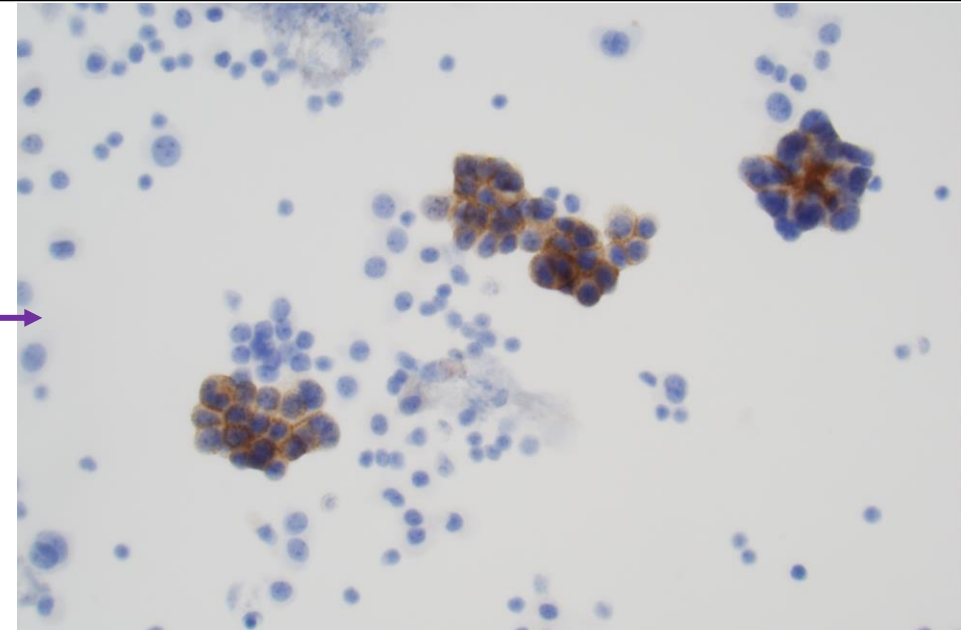
Falskt negativ ALK-IHC på pleuravätska



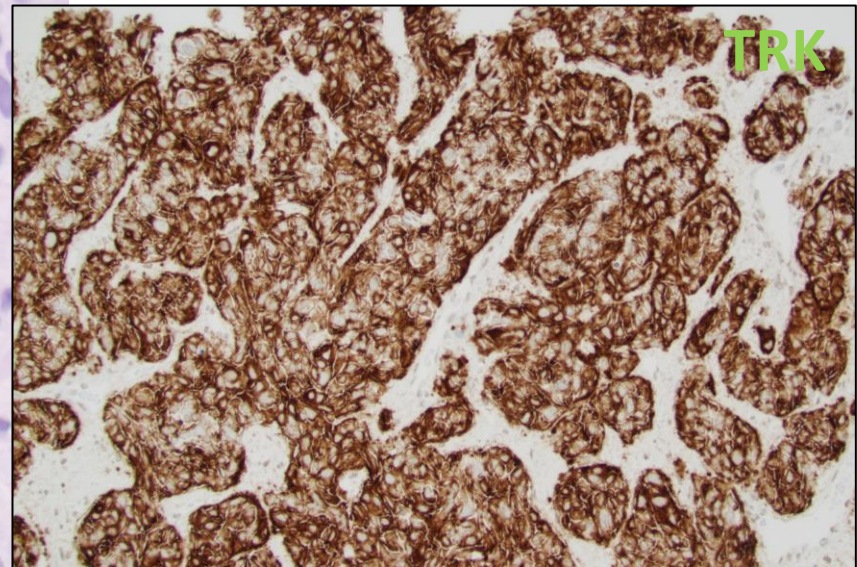
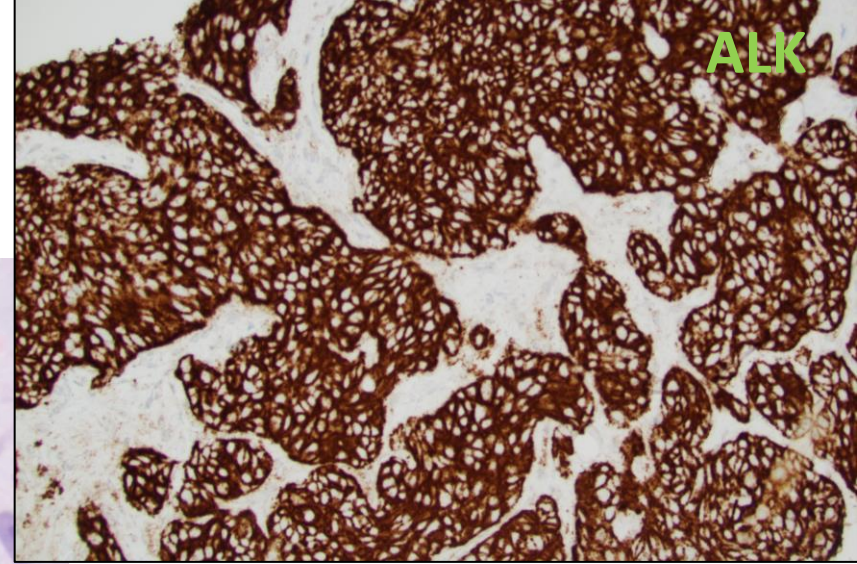
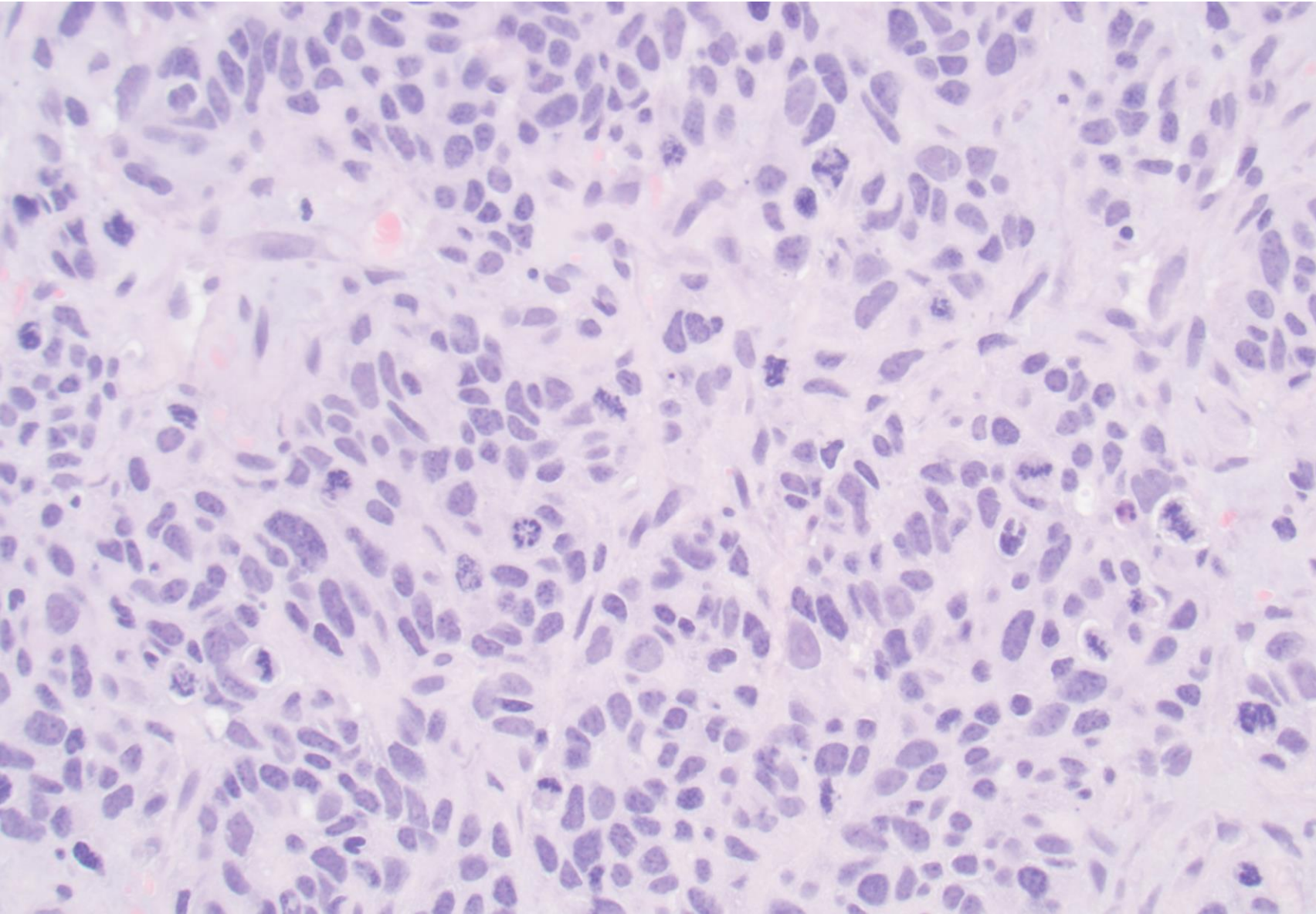
Pleuravätska 1

Pleuravätska 2

Biopsi



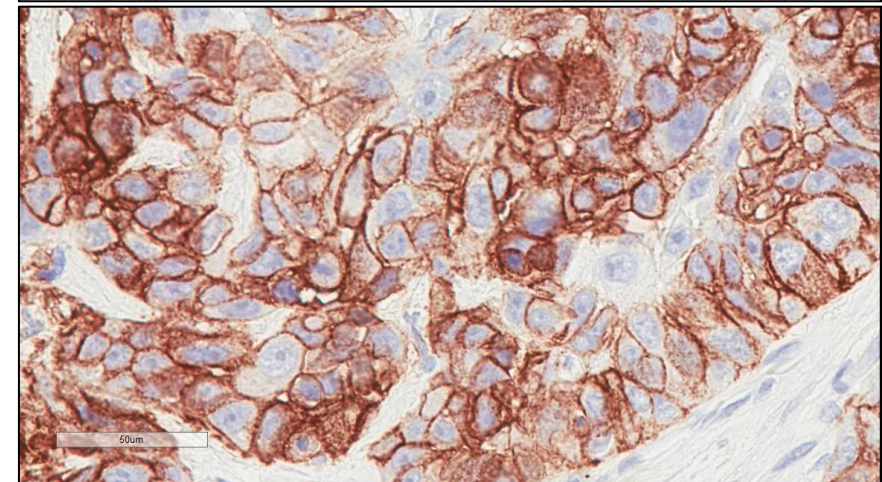
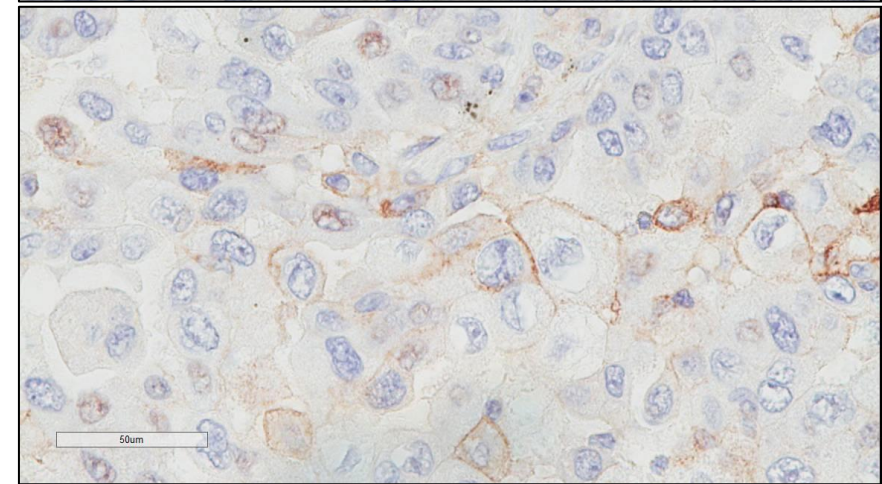
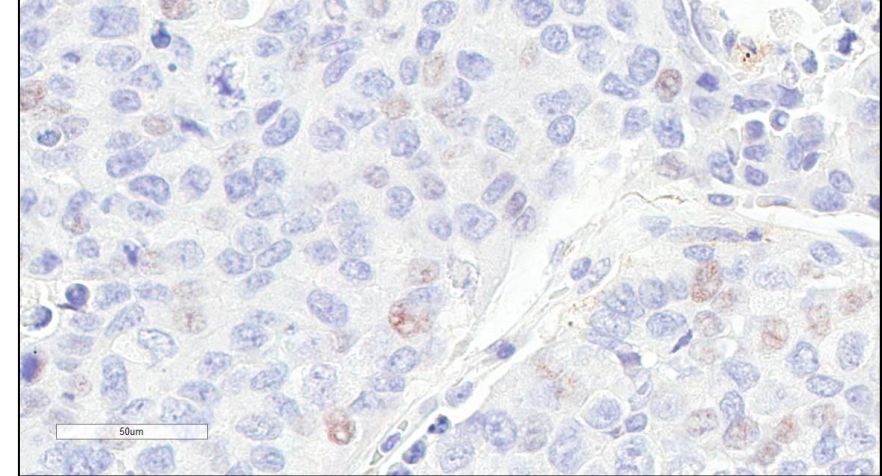
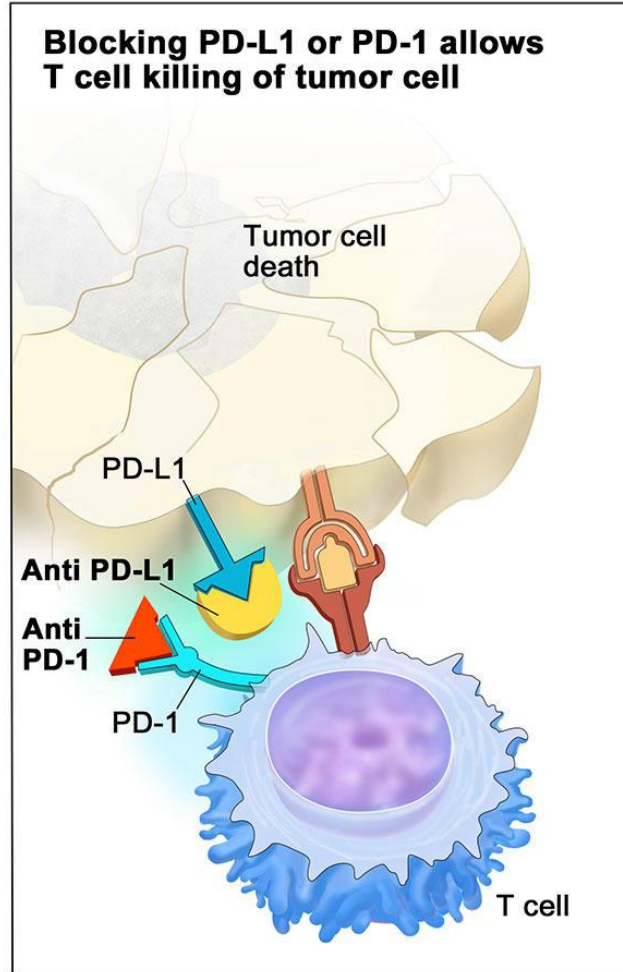
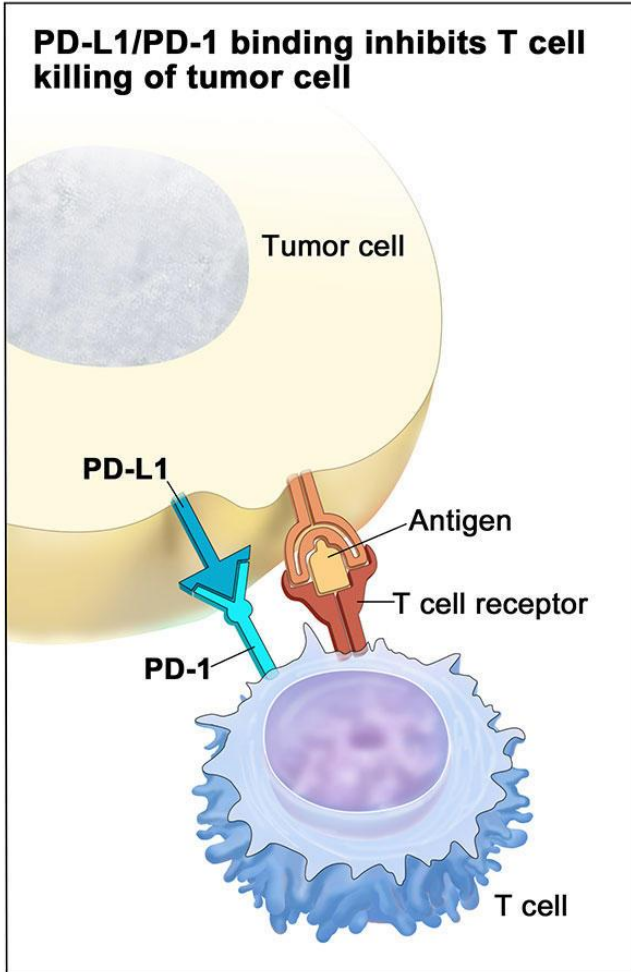
Positiv ALK och NTRK immunfärgning utan fusion i neuroendokrin cancer



Rb1- och TP53-mutation
Ingen ALK- eller NTRK-fusion

PD-L1 proteinuttryck

Bättre svar på
immunterapi



Företag	Läkemedel	PD-L1 klon	Plattform	Cutoff-nivå
BMS	Nivolumab (Opdivo)	28-8	Dako Autostainer Link 48	(≥1%; ≥5%; ≥10%) Neoadjuvant ≥1%
MSD	Pembrolizumab (Keytruda)	22C3	Dako Autostainer Link 48	(≥1%;) ≥50%
Roche/ Genentech	Atezolizumab (Tecentriq) <i>Avancerad</i>	SP142	Ventana Benchmark Ultra (Optiview)	Tumörceller (≥1%; ≥5%;) ≥50% Immunceller (≥1%; ≥5%;) ≥10%
Roche/ Genentech	Atezolizumab (Tecentriq) <i>Adjuvant</i>	SP263	Ventana Benchmark Ultra	≥50%
AstraZeneca	Durvalumab (Imfinzi)	SP263	Ventana Benchmark Ultra (Optiview)	≥1% (≥25%)
Sanofi	Cemiplimab (Libtayo)	22C3	Dako Autostainer Link 48	≥1%; ≥50%

Fet stil = monoterapi; parentes = tidigare undersökta eller rekommenderade cutoff-nivåer

Skillnad PD-L1 tester

- 22C3 = 28-8 \approx SP263

(22C3 < SP263 i vissa studier)

- Alla stor skillnad mot SP142
- Tumörinfiltrerande immunceller kan inte utvärderas på cytologi

PD-L1 på cytologi (metanolfixering i Lund)

Lund (n=47)		Biopsi		
Cytologi	<1%	1-49%	≥50%	
<1%	11	2	1	
1-49%	0	11	4	
≥50%	0	0	18	

Halmstad (n=97)		Biopsi		
Cytologi	<1%	1-49%	≥50%	
<1%	40	12	2	
1-49%	4	10	7	
≥50%	0	6	16	

Liquid biopsies

- Circulating tumor cells (CTC) with circulating tumor DNA (ctDNA) within them
- Cell-/circulating free DNA (cfDNA)
- Cell-/circulating free RNA (cfRNA)
- Extracellular vesicles with micro-RNA (miRNA)
- Tumor-educated platelets (TEP)

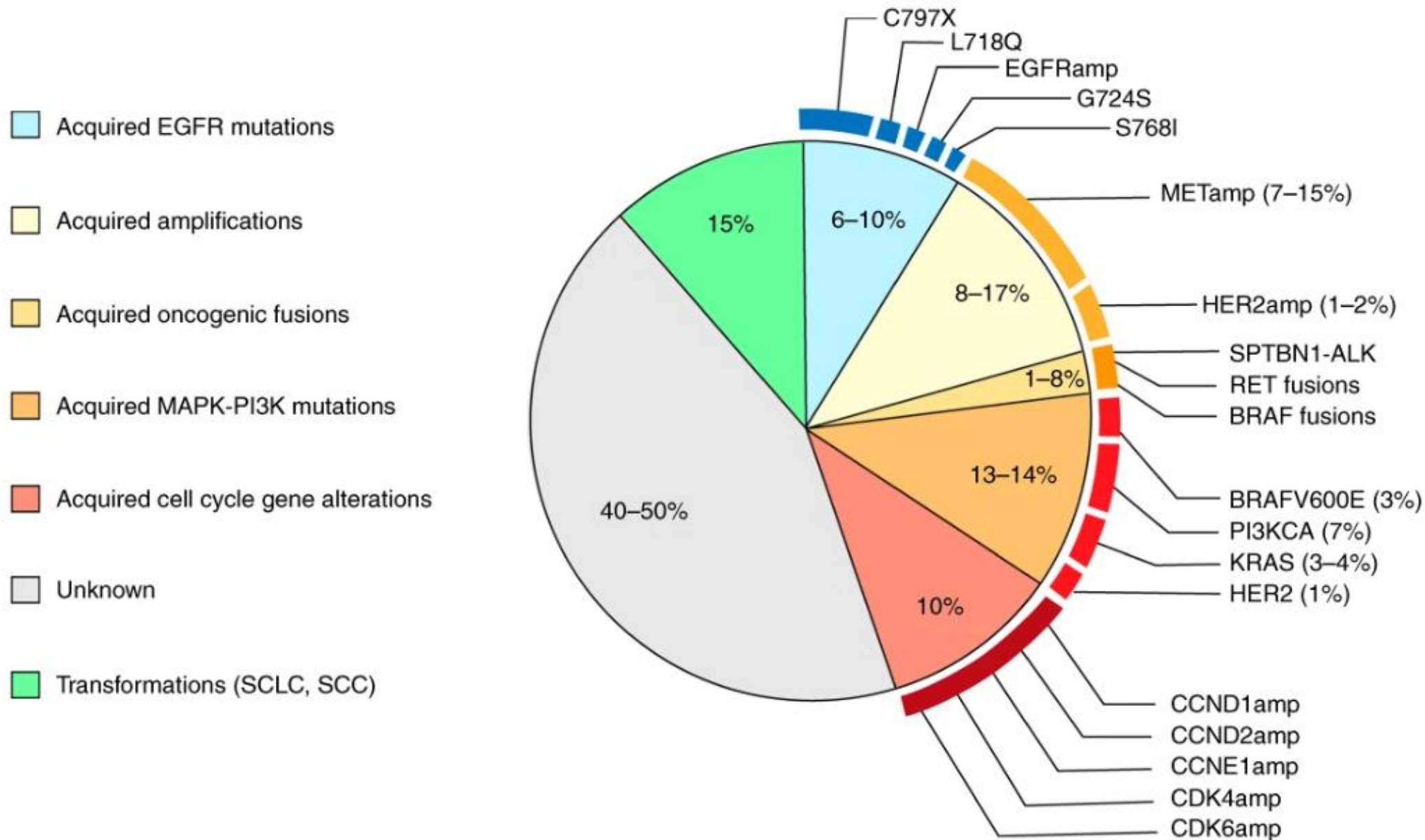
Liquid biopsies

- Upptäcka genetiska förändringar för TKI eller TKI resistens
 - EGFR (ej resistens) sensitivitet 61-68%, specificitet 90-98%
 - Meta-analyser PMID 25201768, 26020382 och 32659150
- Prognostik
- Tidig detektion av cancer

Resistens

- "On-target" resistensförändringar
- "Off-target" resistensförändringar (nedströms/parallella pathways)
- Histologisk transformation

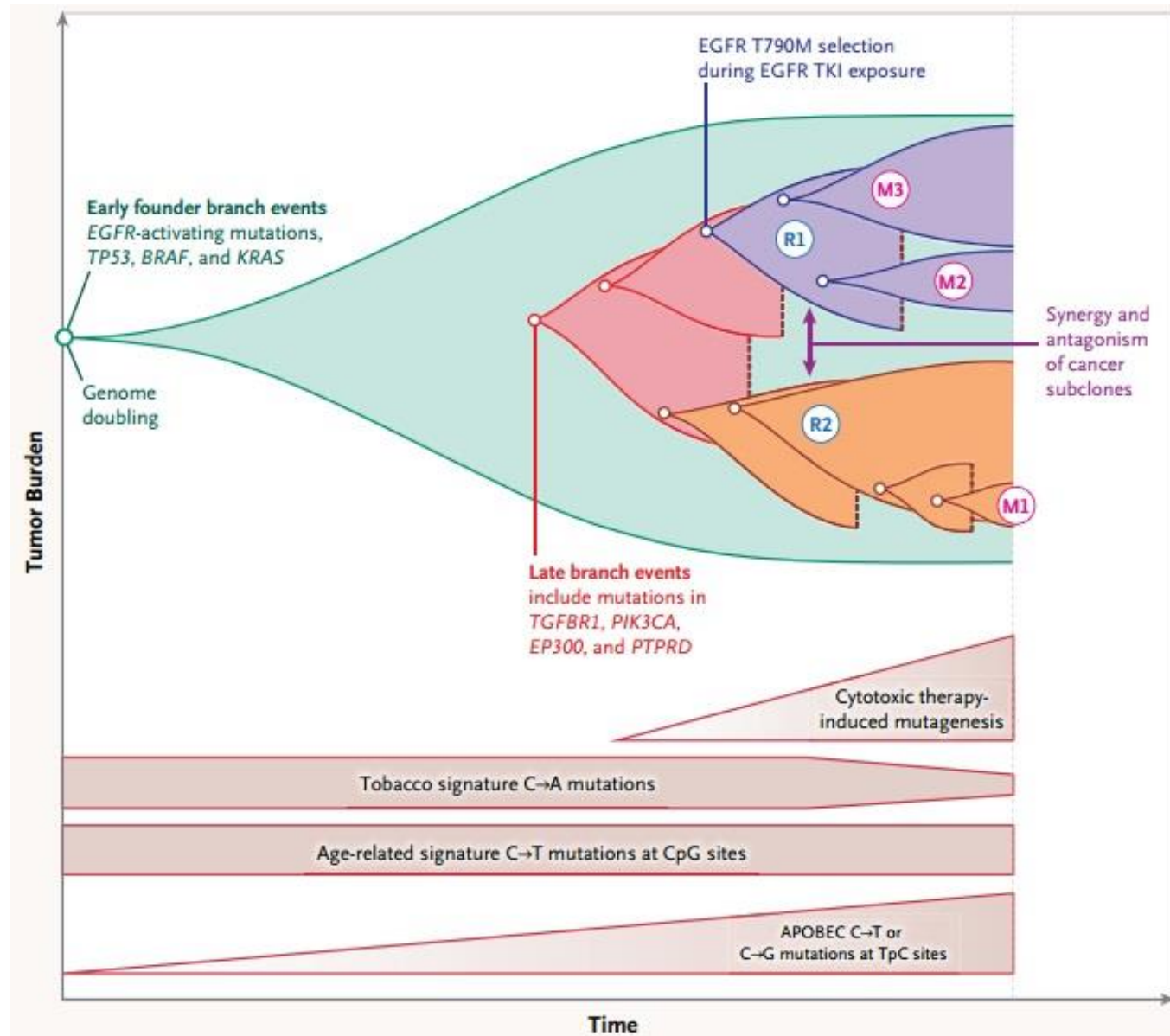
Resistance mechanisms to first-line osimertinib



Exempel

- 2021 lungadenokarcinom vänster ovanlob med spridning mediastinal lgl (4L), skelett (revben), lever, mjälte
- Initialt EGFR L878R och T790M (samt NRAS T124A)
- 2023 progress
- EBUS cytologi: EGFR L878R och T790M (16%) (samt NRAS T124A, KRAS G12R och BRAF G469R)
- Liquid biopsy: EGFR L878R och T790M (2,2%) och C797S (0,7%) (samt KRAS G12R)

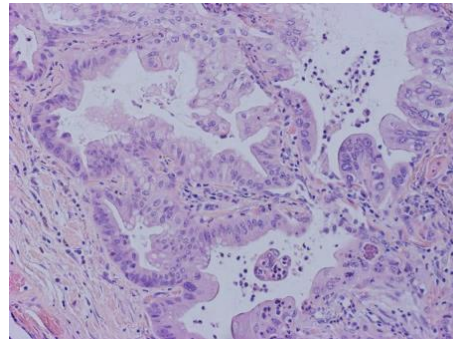
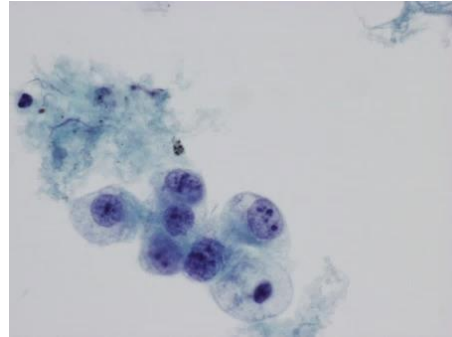
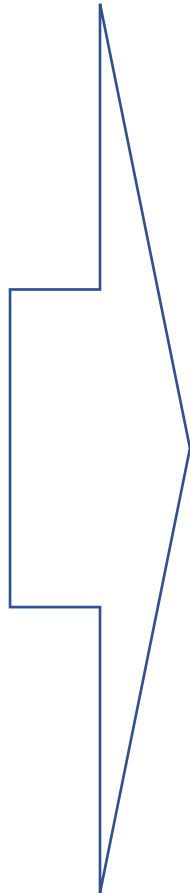
Klonal evolution, trunk- och branch-mutationer



Varför tar det sån tid?

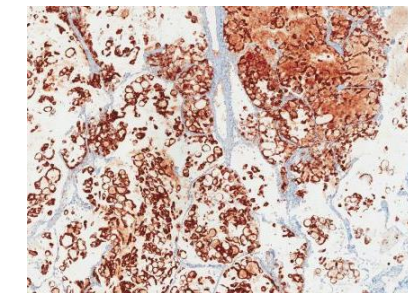
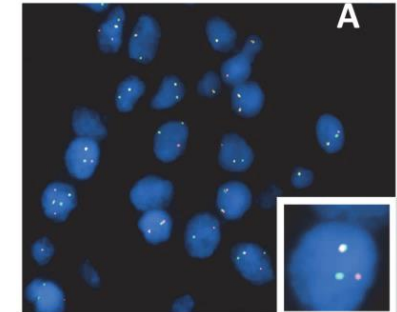
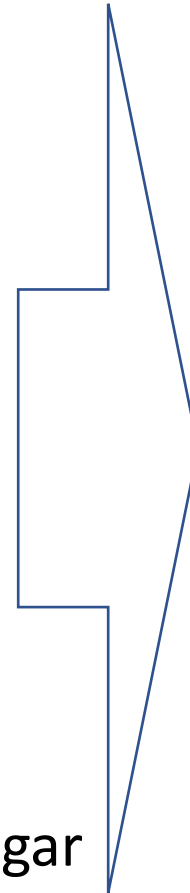


Rekommenderade svarstider



Resektat 14 kalenderdagar

Biopsi/cytologi 4 kalenderdagar inkl. IHC



Biopsi/cytologi 7 eller 14 kalenderdagar inkl. mol

”Optimala” svarstider idag

