

Efektivní schéma využívané v diagnostice nádorů CNS

Lenka Krsková¹, Barbora Šípalová¹, Tereza Němečková¹, Martina Strnadová¹, Tereza Kalendová¹, Alena Kalfusová¹, Alexandra Malkusová¹, Monika Šandová¹, Miroslav Koblížek¹, Jan Balko¹, Aleš Vícha², Petr Brož^{2,3}, Pavla Jenčová², Lucie Štolová², Dagmar Voříšková², Marie Belhajová², Michal Zápotocký², David Sumerauer², Josef Zámečník¹

¹ Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

² Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

³ Bioxsys s. r. o., Ústí nad Labem

SOUHRN

Nová WHO klasifikace nádorů CNS se do značné míry opírá o molekulární diagnostiku, bez které již nelze některé jednotky prakticky diagnostikovat. Snažíme se ukázat racionální přístup k diagnostice nádorů CNS, který se opírá o konvenční molekulární metody jako je RT-PCR, Sangerovo sekvenování, MLPA, rozšířeně o sekvenování nové generace (NGS) a metylační SNP array.

Klíčová slova: WHO klasifikace – nádory CNS – Sekvenování nové generace (NGS) – RT-PCR – MLPA – Metylační SNP array

A rational approach to the CNS tumors diagnostics

SUMMARY

The new WHO classification of CNS tumors is largely based on molecular diagnostic. Without molecular methods some entities can no longer be diagnosed. We are trying to show a rational approach to the CNS tumors diagnostics, which is based on conventional molecular methods such as RT-PCR, Sanger sequencing, MLPA, extended by the next generation sequencing (NGS) and methylation SNP array.

Keywords: WHO classification – CNS tumors – Next Generation Sequencing (NGS) – RT-PCR – MLPA – Methylation SNP array

Cesk Patol 2022; 58(3): 136–138

Nová WHO klasifikace nádorů CNS se ve značném rozsahu opírá o molekulární diagnostiku, bez které již nelze některé jednotky prakticky diagnostikovat (1,2). Z tohoto důvodu vyplývá i důraz na racionální nicméně maximálně efektivní molekulární diagnostiku těchto nádorů.

Na našem pracovišti ve FN Motol máme již několik let zavedenou molekulární diagnostiku nádorů CNS, kdy velmi těsně spolupracuje na molekulární diagnostice Laboratoř molekulární patologie Ústavu patologie a molekulární medicíny s Laboratoří biologie solidních nádorů Kliniky dětské hematologie a onkologie. Společná diagnostika se opírá o morfologický nálezný, který nasměruje molekulárního patologa k tomu, co racionálně vyšetřovat. Důraz klademe na údaj o procentu nádorových buněk ve vyšetřované tkáni, což je údaj pro molekulární vyšetření zcela nezbytný, jelikož se od něj odvíjí limitace řady molekulárních metod (viz Tabulka č. 1).

Dále se diferencially diagnosticky propojují data ze zobrazovacích metod spolu s klinickými údaji, která např. napoví, kde je daný nádor lokalizovaný, zda se nádor sytí po podání kontrastní látky na zobrazení MRI, či zda je v nádoru cystická komponenta apod., a tím může upřesnit další molekulární vyšetření.

✉ Adresa pro korespondenci:

RNDr. Lenka Krsková, Ph.D.

Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84

Praha 5, 15006

Tel: 224435634

Fax: 224435620

Tabulka č. 1. Molekulární metody a jejich limitace.

Metoda	Dolní limit procenta nádorových buněk
Mutačně specifická PCR	cca 1%
Sangerova sekvenace	15-20 %
MLPA	50 %
DNA NGS	25 %, lépe 50 %
RNA NGS	10 %
Metylační SNP array	60 %

U low-grade gliomů (LGG) CNS tedy k diagnostice přistupujeme tak, že vzorek nejprve vyšetříme pomocí PCR a popř. Sangerovy sekvenace a hlavně RT-PCR molekulární změny, které bychom u daného nádoru v dané lokalizaci očekávali. Například u LGG zadní jámy lební vyšetřujeme nejčastěji se vyskytující fúzní gen *KIAA1549::BRAF*. Oproti tomu z našich zkušeností víme, že začít vyšetřování fúze *KIAA1549::BRAF* u nádoru stejné morfologie v hemisferální oblasti, kde se setkáváme s celou řadou jiných a velmi často netradičních fúzních partnerů genu *BRAF*, nemá tato koncepce kýžený přínos.

Nicméně velmi stručně a zjednodušeně u LGG jiných lokalizací než hemisferálních primárně většinou vyšetřujeme fúzní gen *KIAA1549::BRAF* spolu s mutacemi genu *BRAF* a v případě neúspěchu dle morfologie pokračujeme s vyšetřením interní tandemové duplikace *FGFR1* (ITD *FGFR1*) u diagnózy dysembryoplastického neuroepiteliálního nádoru (DNET), mutace genu *BRAF* či *FGFR2* fúzní geny u suspektní diagnózy polymorfního low-grade neuroepiteliálního nádoru mladých (PLNTY), apod.