

# Komplexní diagnostika pediatrických nádorů CNS a nádorů měkkých tkání

Krsková L<sup>1</sup>., Zápotocký M.<sup>2</sup>, Míšove A.<sup>2</sup>, Váňová K.<sup>2</sup>, Sumerauer D.<sup>2</sup>, Němečková T<sup>1</sup>., Šípalová B.<sup>1</sup>, Zámečník J.<sup>1</sup>, Koblížek M.<sup>1</sup>, Štolová L.<sup>2</sup>, Jenčová P.<sup>2</sup>, Brož P.<sup>2</sup>, Vícha A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF a FN Motol, Praha

<sup>2</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

**Úvod:** Úspěšnost terapie nádorů dětského věku se v posledních desetiletí zvýšila přibližně na 80%. Řada dětí však po terapii nádorového onemocnění může trpět dlouhodobými následky chemoterapie i radioterapie. Klíčovým krokem ve vývoji cílené terapie je odhalení molekulární podstaty pediatrických malignit.

Nádory centrálního nervového systému (CNS) jsou druhou nejčastější skupinou nádorů dětského věku (20–25%). Zahrnují heterogenní skupinu nádorů s různou lokalizací, věkem při prezentaci, histologickými podtypy a klinickým chováním.

Obdobně u nádorů měkkých tkání (STT) molekulární diagnostika napomáhá ke zpřesnění diagnózy. Vzhledem k tomu, že více než polovina dosud popsanych nádorů měkkých tkání je charakterizovaná fúzními geny, má v jejich diagnostice molekulární vyšetření nezastupitelné místo.

**Metody:** V diagnostice nádorů dětského věku využíváme k detekci fúzních genů RT-PCR, popř. RNA sekvenování nové generace (NGS) s využitím ArcherFusion Plex kitů, které jsou vhodné i pro analýzu archivovaného materiálu ve formě FFPE bloků.

Pro mutační analýzy používáme Sangerovu sekvenaci, popř. custom panely NGS. U vzácných typů provádíme celogenomovou metylační array (Illumina InfiniumEPIC) umožňující analýzu epigenetického pozadí a zároveň určení chromozomálních alterací, popř. SNP array k určení chromozomálních alterací jako výchozího bodu dalších molekulárních analýz.

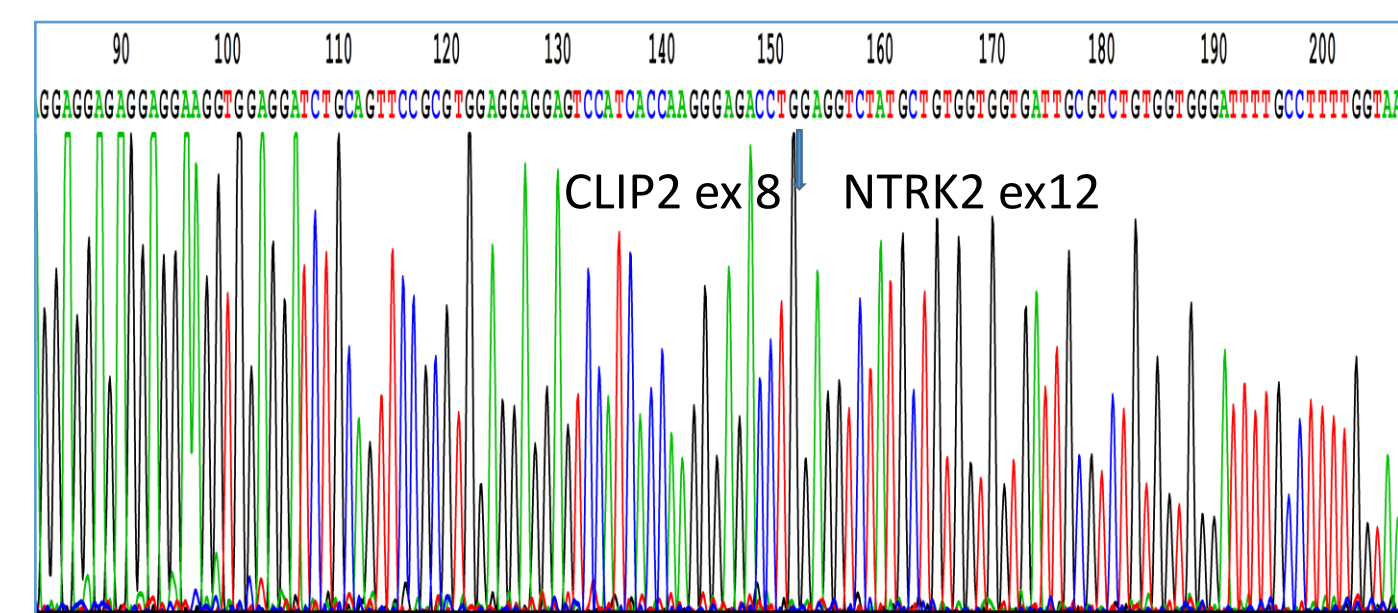
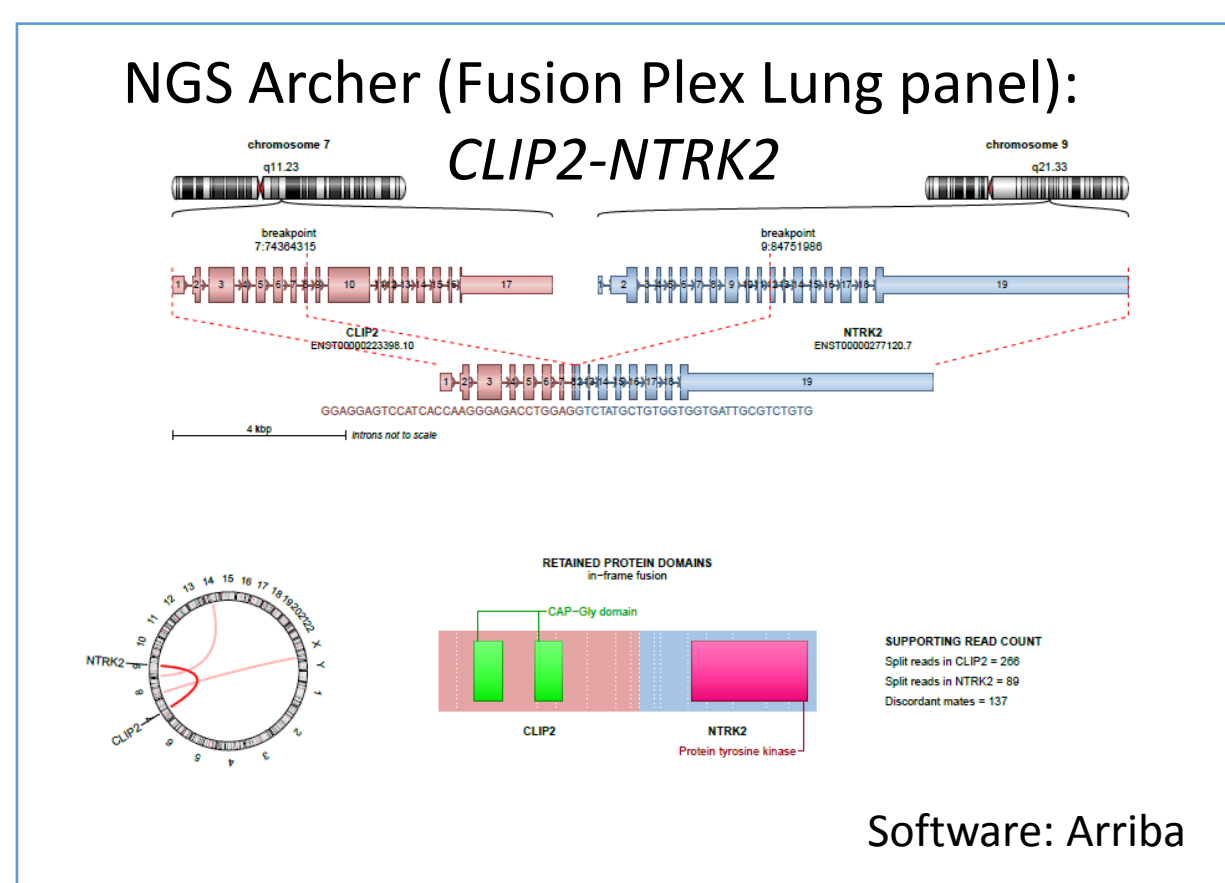
**Výsledky:** Pomocí NGS FusionPlex kitů jsme vyšetřili 104 dětských pacientů s nádory CNS. Fúzní gen jsme detekovali u 60 (58%). U 2 pacientů byla na základě detekce fúzního genu již podána cílená terapie pomocí NTRK inhibitorů. Dále jsme pomocí Archer FusionPlex kitů vyšetřili 51 pacientů se STT a detekovali 28 (55 %) fúzních genů, z nichž 3 dosud nebyly publikované.

**Závěr:** Použití moderních molekulárních technik nám umožňuje vylepšit chápání patogeneze řady nádorů. Zároveň umožňuje potvrdit morfologickou diagnózu, ale poskytuje nám i důležité informace k personalizované terapii a k identifikaci účinných molekulárních biomarkerů.

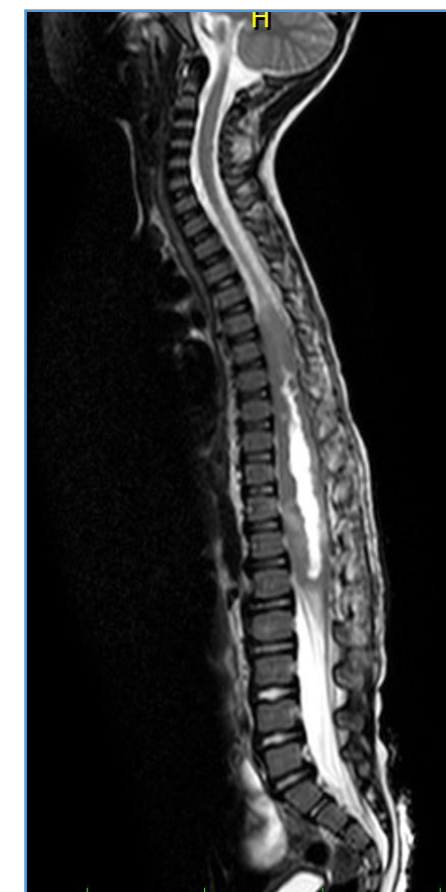
## PŘÍKLADY VYUŽITÍ KOMPLEXNÍ DIAGNOSTIKY V PRAXI

### NÁDORY CNS

#### Anaplastický astrocytom



Intramedulární anaplastický astrocytom 17-letého chlapce  
Primární Dg ve věku 2 let

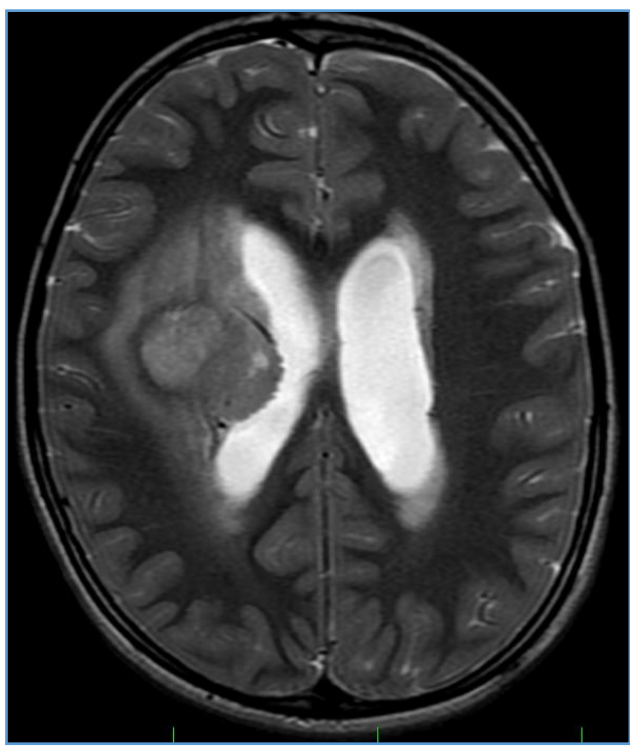
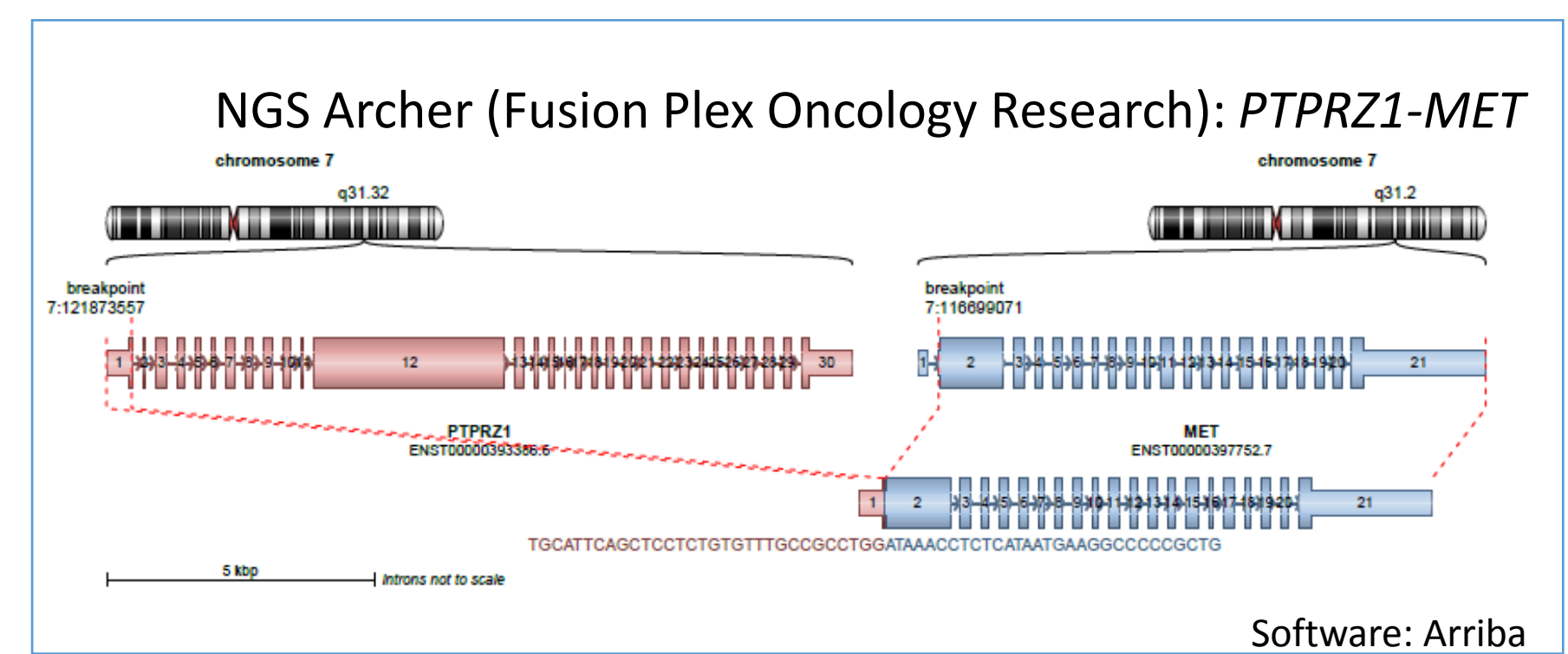


Pooperační MRI 4/2006

#### Archer FusionPlex NGS

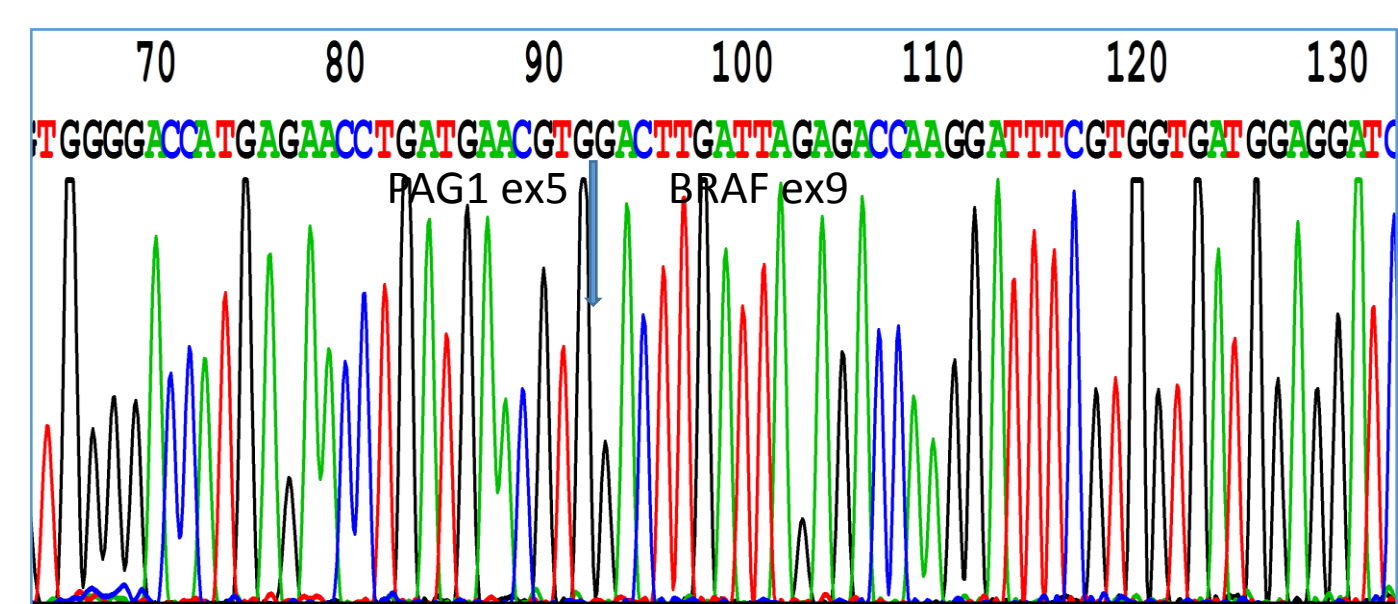
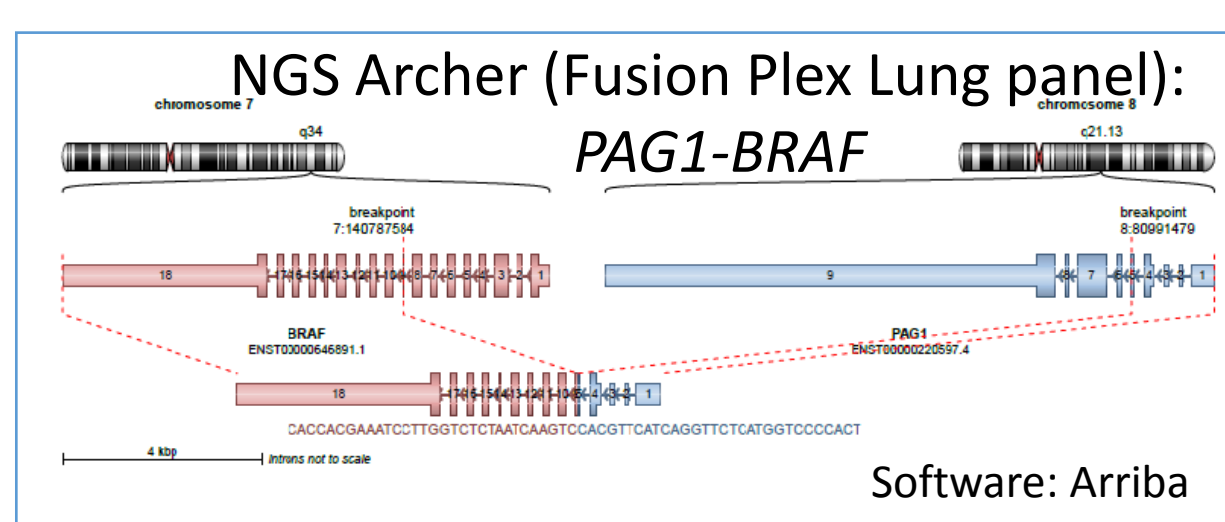
Nádory CNS	Fúzní geny	Nové fúze	SV	QC!
104	60(58%)	9	10(9,6%)	17(16%)
Nádory měkkých tkání				
51	28(55%)	7	1(2%)	3(6%)

#### HGG

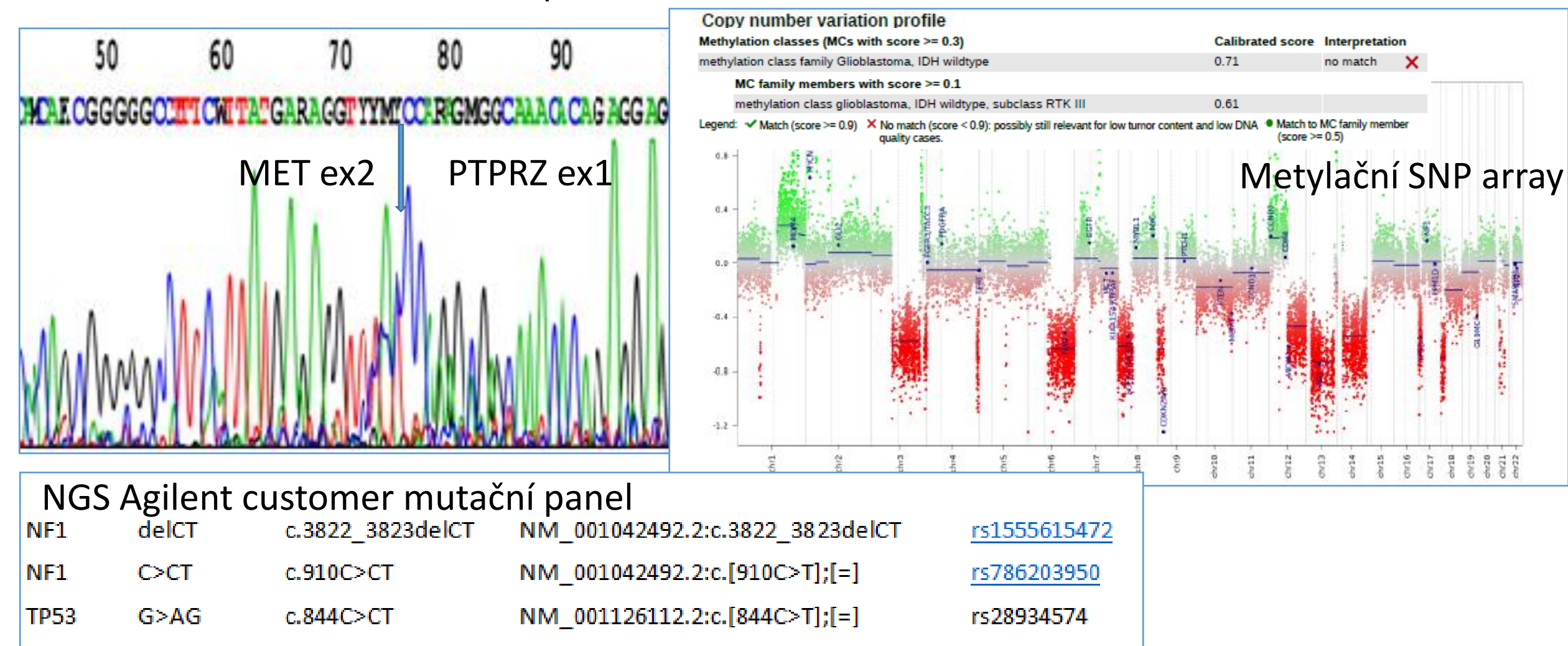


Hemisféralní HGG 13-letého chlapce

#### Hemisféralní LGG

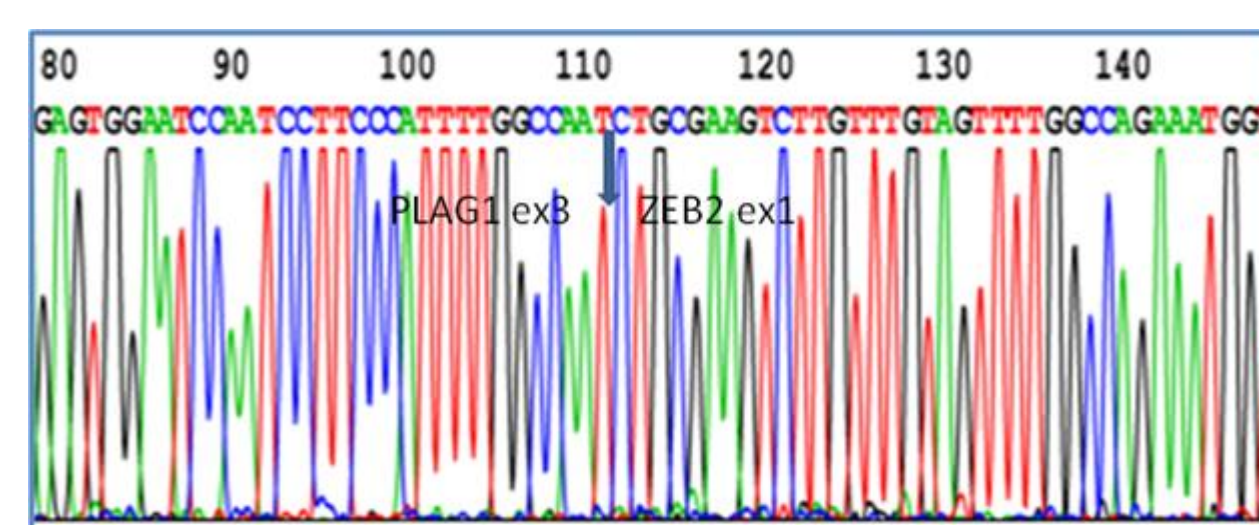
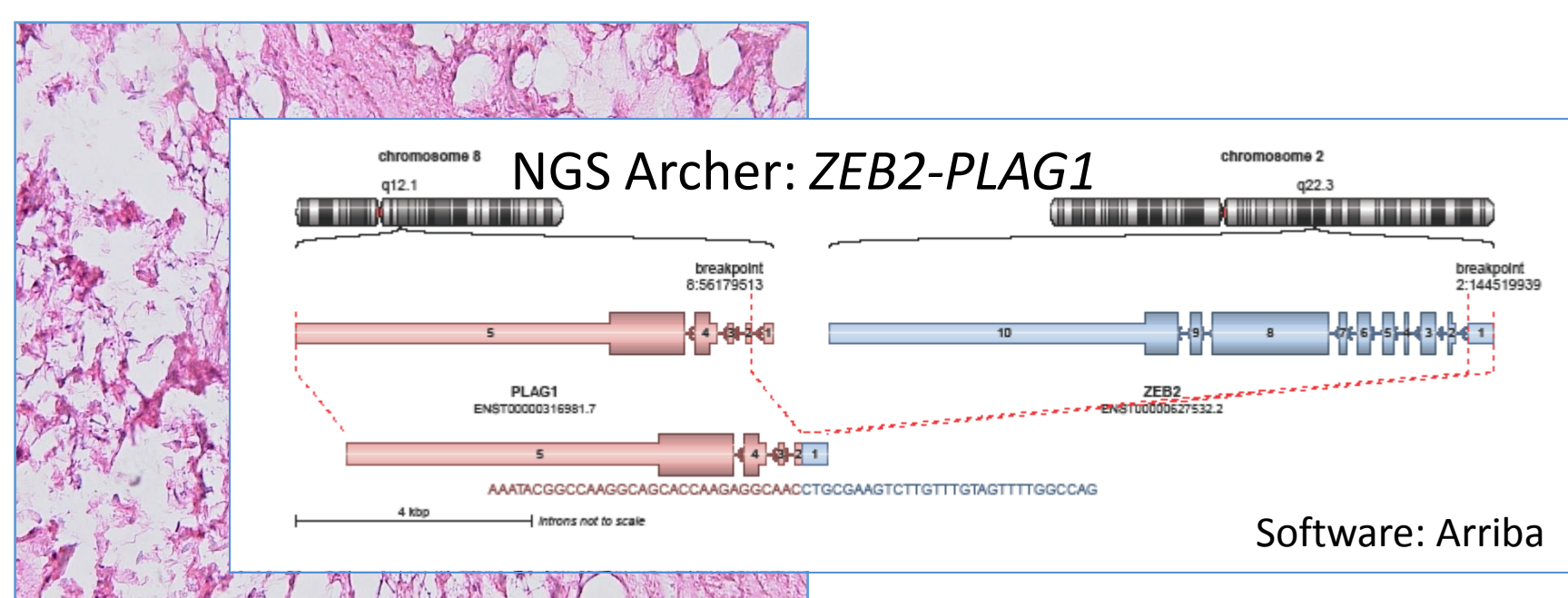


Hemisféralní LGG 14-leté dívky



## NÁDORY MĚKKÝCH TKÁNÍ

#### Lipoblastom



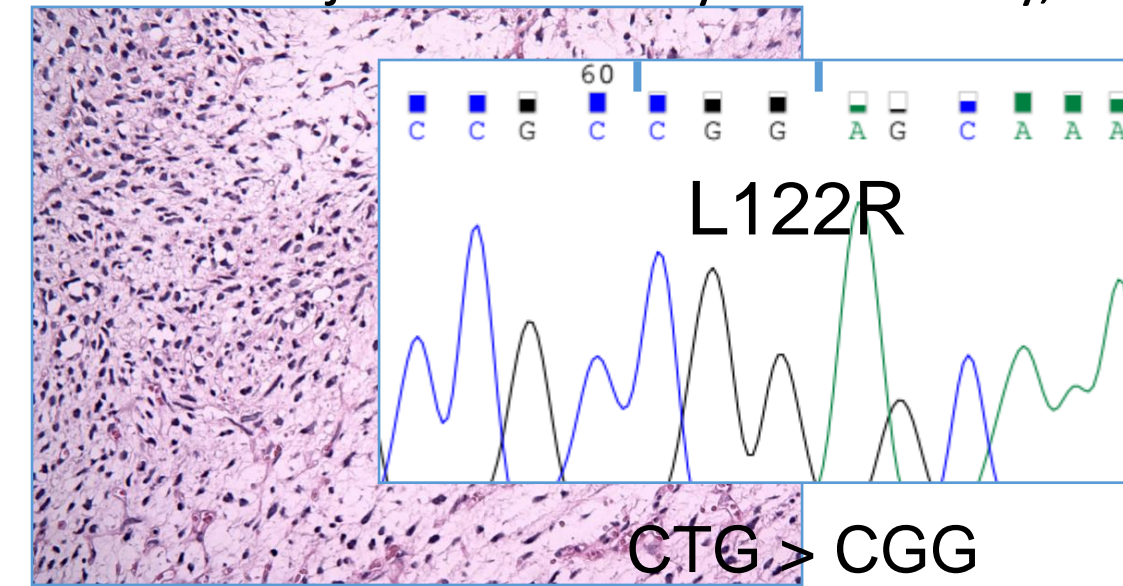
Krsková, Němečková T, Balík J, Brož P and Vícha: Novel ZEB2-PLAG1 Fusion Gene Identified by RNA-Sequencing in a Case of Lipoblastoma. Pediatric Blood and Cancer

Nádor hrudníku 2,5-letého chlapce

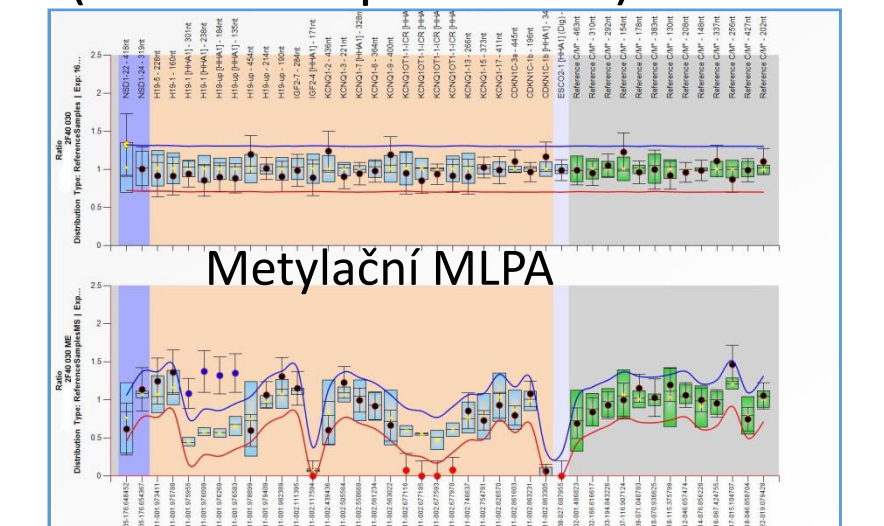
#### Mutace L122R MyoD1 u vřetenobuněčných/sklerotizujících RMS

Mutace L122R v genu *MYOD1* je významným prognostickým faktorem.

Pacienti mají časté recidivy a metastázy, letalita je vysoká (desetileté přežití 0%).



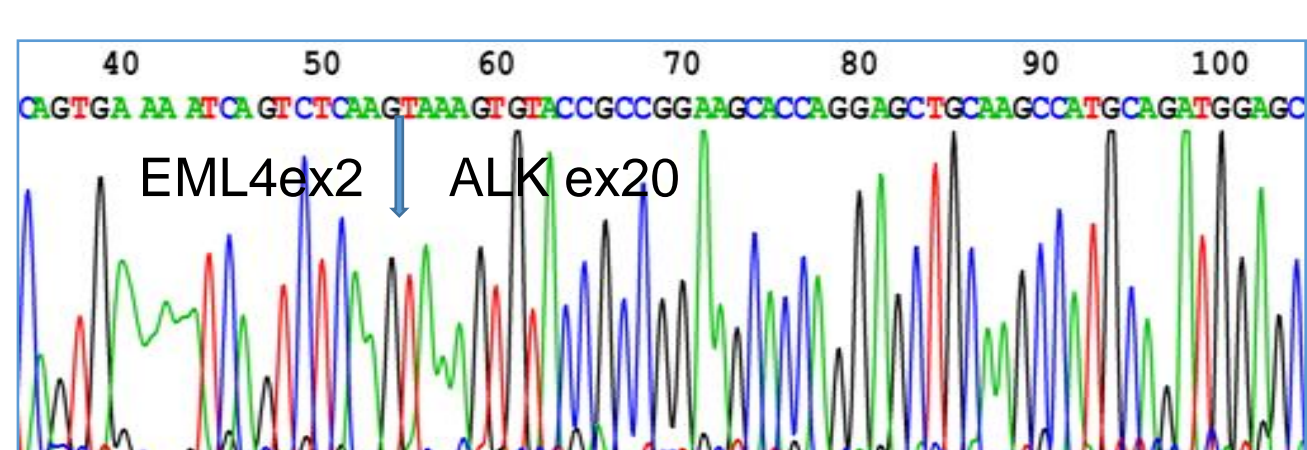
RMS levého stehna 2-letého chlapce



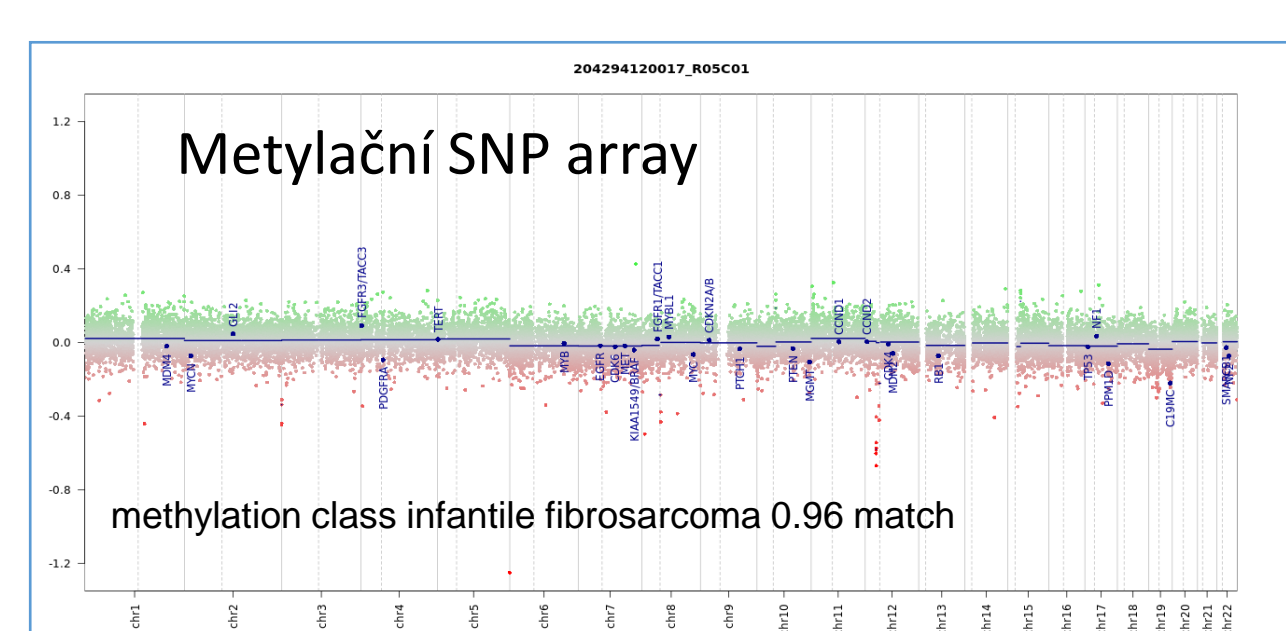
Paternální uniparentální dizomie 11p

#### Kongenitální nádor ledviny

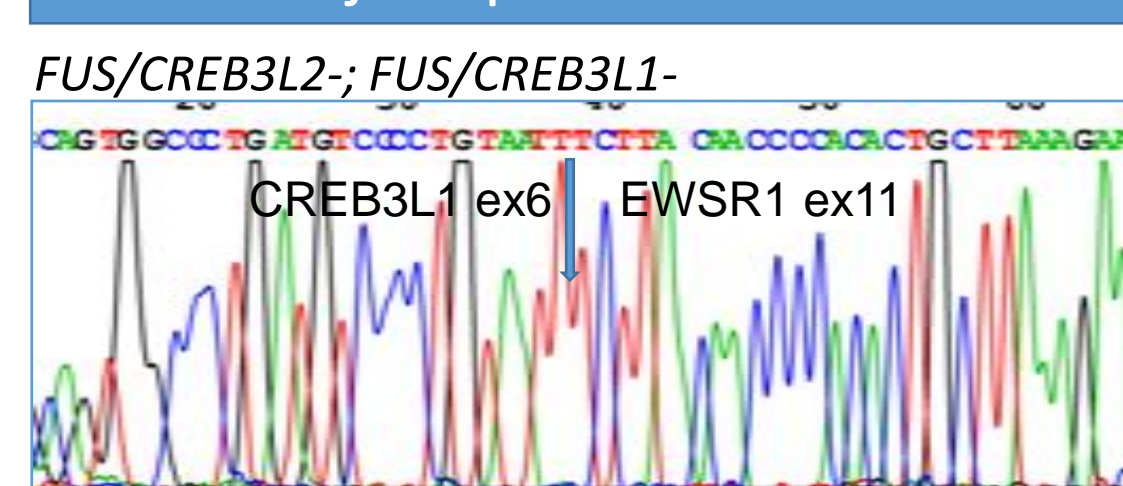
RT-PCR: ITD *BCOR*-, *BCOR/CCNB3*-, *ETV6/NTRK3*-



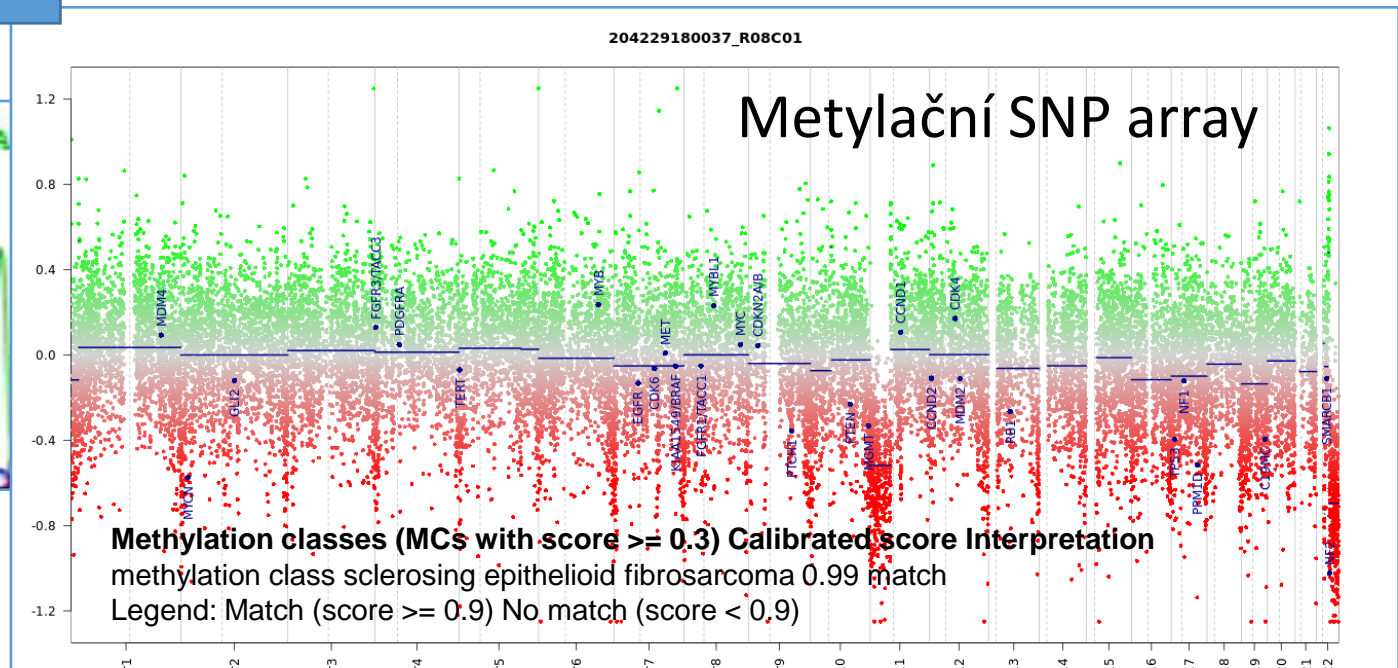
Nádor ledviny 14-denního kojence



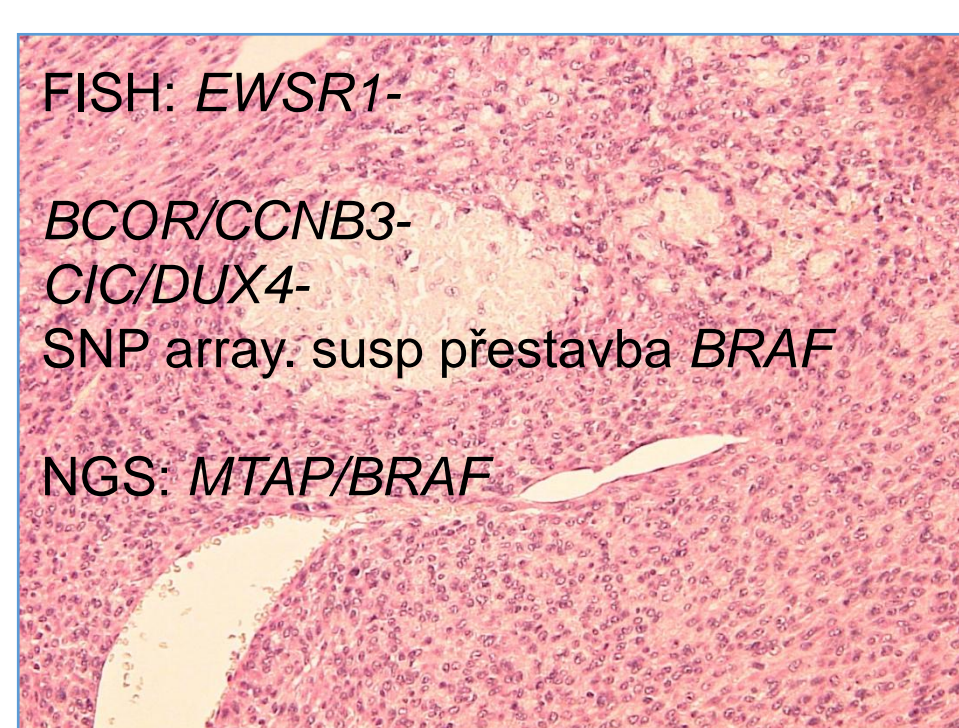
#### Sklerotizující epiteloidní fibrosarkom



4,5-letá dívka s nádorem malé pánve  
Low-grade léze nejspíše fibroblastická

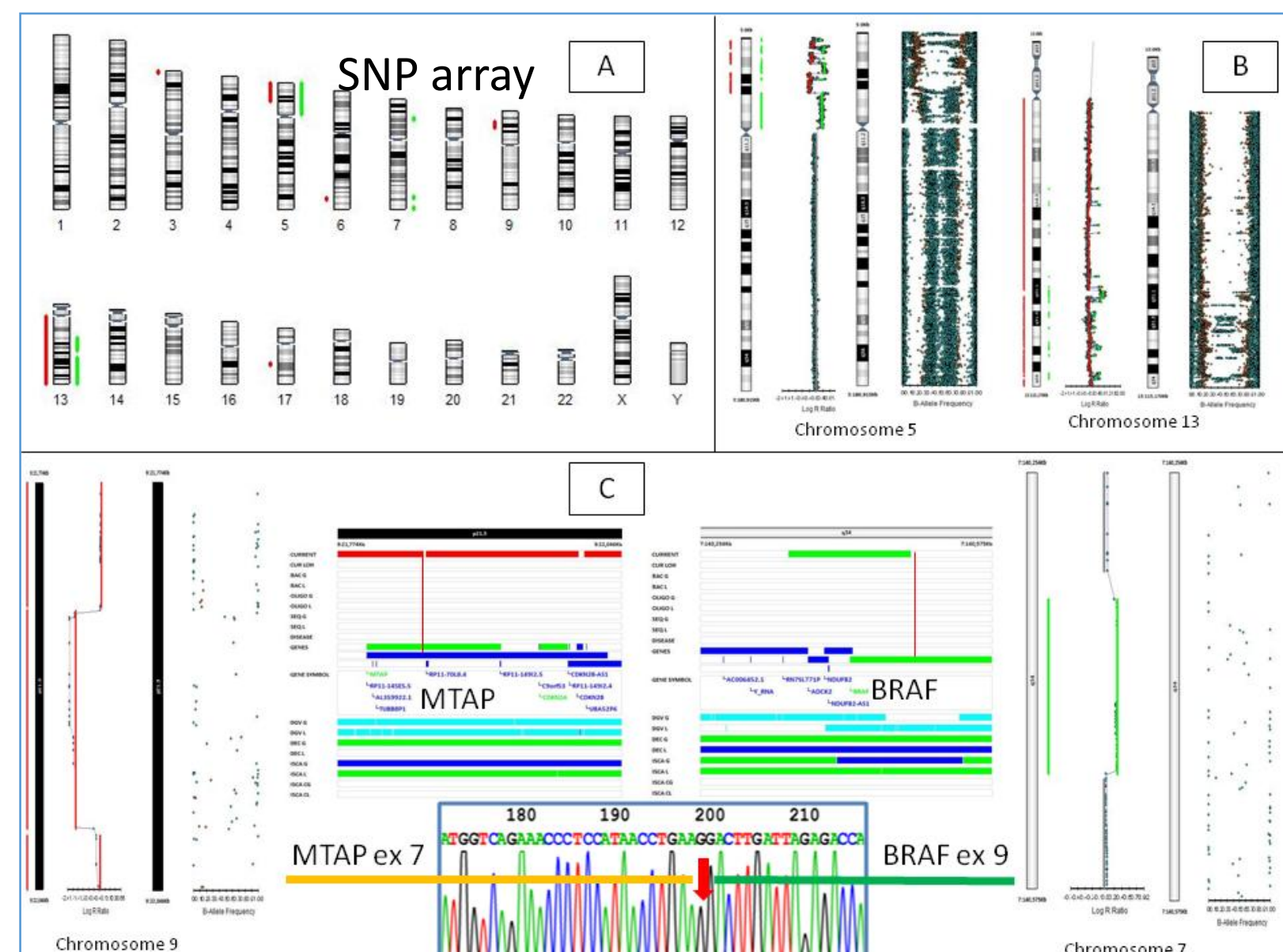
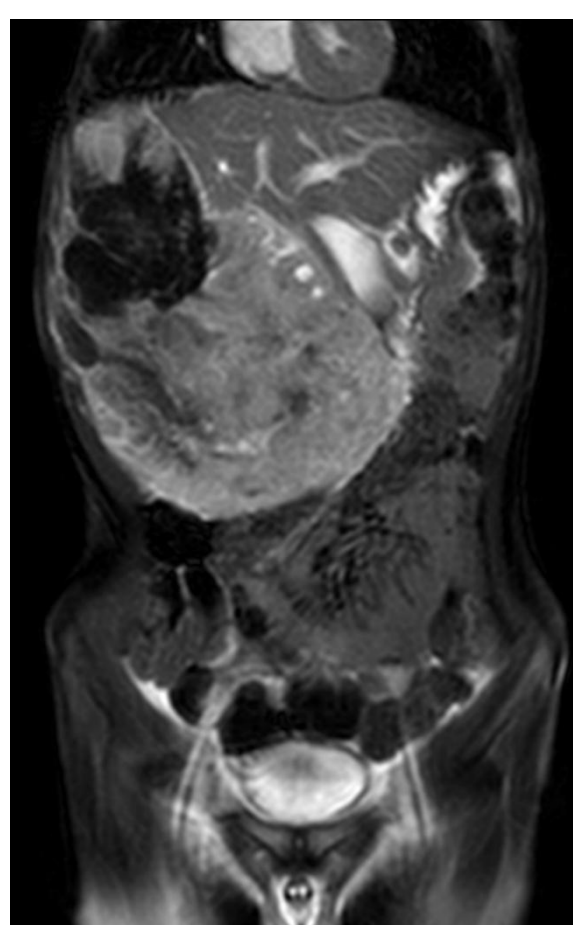


#### Vřetenobuněčný sarkom



4/19 vřetenobuněčný sarkom  
10/19 odstranění plicní meta  
3/20 recidiva

10-letý chlapec s abdominálním nádorem 155 mm x 137 mm x 75 mm



➤ Důležitost komplexní diagnostiky nádorů CNS a nádorů měkkých tkání na úrovni morfologické diagnostiky spolu s širokou škálou molekulárních metod v korelaci se zobrazovacími metodami a klinickým chováním.