

Význam molekulárních metod v gynekopatologii

Pavel Dundr

Ústav patologie 1. LF UK a VFN v Praze



Molekulární metody

- 1. diagnostika
- 2. screening hereditárních onemocnění
- 3. prognóza
- 3. predikce

Molekulární metody

- 1. diagnostika
- 2. screening hereditárních onemocnění
- 3. prognóza
- 3. predikce

Nejčastější typy karcinomu ovaria

	HGSC	LGSC	Endometroidní karcinom	Světlobuněčný karcinom	Mucinózní karcinom
Procento všech karcinomů ovaria	70	<5	10	10	3
Rizikový faktor (genetický)	mutace <i>BRCA1/2</i>	?	HNPCC (Lynchův syndrom)	HNPCC (Lynchův syndrom)	?
Prekurzor	STIC	S-BTO	atypická endometrióza	atypická endometrióza	M-BTO
Původ	tubární epitel - endosalpingióza - STIC - povrchový epitel (?)	tubární epitel - endosalpingióza - povrchový epitel	endometrióza (až u 40%)	endometrióza (až u 40%)	teratom mucinózní metaplazie ?
Senzitivita k chemoterapii	vysoká	střední	vysoká	nízká	nízká
Prognóza	špatná	střední	dobrá	střední/špatná	dobrá
Molekulární abnormality	<i>TP53</i> (96%) <i>BRCA1/2</i> (22%) chromozomální instabilita <i>NF1</i> <i>RB1</i> <i>CDK12</i>	<i>BRAF</i> (38%) <i>KRAS</i> (19%) <i>NRAS</i> <i>HER2</i> <i>FGFR2</i>	<i>CTNNB1</i> <i>MSI</i> (12-20%) <i>PTEN</i> (20%) <i>ARID1A</i> <i>KRAS</i> <i>PIK3CA</i>	<i>ARID1A</i> (50%) <i>PIK3CA</i> <i>PTEN</i> <i>mTOR</i> <i>KRAS</i>	<i>KRAS</i> <i>HER2</i>

WHO Classification of tumours of the ovary^{a,b}

Epithelial tumours		Malignant		Germ cell tumours		Wolffian tumour		9110/1
Serous Tumours		Malignant Brenner tumour		Dysgerminoma		Small cell carcinoma, hypercalcaemic type		8044/3*
Benign				Yolk sac tumour		Small cell carcinoma, pulmonary type		8041/3
Serous cystadenoma		8441/0		Embryonal carcinoma		Wilms tumour		8960/3
Serous adenofibroma		9014/0		Non-gestational choriocarcinoma		Paraganglioma		8693/1
Serous surface papilloma		8461/0		Mature teratoma		Solid pseudopapillary neoplasm		8452/1
Borderline				Immature teratoma		Mesothelial tumours		
Serous borderline tumour /				Mixed germ cell tumour		Adenomatoid tumour		9054/0
Atypical proliferative serous tumour		8442/1				Mesothelioma		9050/3
Serous borderline tumour - micropapillary variant / Non-invasive low-grade serous carcinoma		8460/2*		Monodermal teratoma and somatic-type tumours arising from a dermoid cyst		Soft tissue tumours		
Malignant				Struma ovarii, benign		Myxoma		8840/0
Low-grade serous carcinoma		8460/3		Struma ovarii, malignant		Others		
High-grade serous carcinoma		8461/3		Carcinoid		Tumour-like lesions		
Mucinous tumours				Strumal carcinoid		Follicle cyst		
Benign				Mucinous carcinoid		Corpus luteum cyst		
Mucinous cystadenoma		8470/0		Neuroectodermal-type tumours		Large solitary luteinized follicle cyst		
Mucinous adenofibroma		9015/0		Sebaceous tumours		Hyperreactio luteinalis		
Borderline				Sebaceous adenoma		Pregnancy luteoma		
Mucinous				Sebaceous carcinoma		Stromal hyperplasia		
Malignant				Other rare monodermal teratomas				
Mucinous				Carcinomas				
Borderline								
Mucinous								
Malignant								
Mucinous								
Endometrioid								
Benign								
Endometrioid								
Endometrioid								
Borderline								
Endometrioid borderline tumour / Atypical proliferative endometrioid tumour		8380/1		Microcystic stromal tumour		8590/0		
Malignant				Leydig cell tumour		8650/0		
Endometrioid carcinoma		8380/3		Steroid cell tumour		8760/0		
Clear cell tumours				Steroid cell tumour, malignant		8760/3		
Benign				Pure sex cord tumours				
Clear cell cystadenoma		8443/0		Adult granulosa cell tumour		8620/3		
Clear cell adenofibroma		8313/0		Juvenile granulosa cell tumour		8622/1		
Borderline				Sertoli cell tumour		8640/1		
Clear cell borderline tumour / Atypical proliferative clear cell tumour		8313/1		Sex cord tumour with annular tubules		8623/1		
Malignant				Mixed sex cord-stromal tumours				
Clear cell carcinoma		8310/3		Sertoli-Leydig cell tumours				
Brenner tumours				Well differentiated		8631/0		
Benign				Moderately differentiated		8631/1		
Brenner tumour		9000/0		With heterologous elements		8634/1		
Borderline				Poorly differentiated		8631/3		
Borderline Brenner tumour / Atypical proliferative Brenner tumour		9000/1		With heterologous elements		8634/3		
				Retiform		8633/1		
				With heterologous elements		8634/1		
				Sex cord-stromal tumours, NOS		8590/1		

**WHO Klasifikace nádorů ovaria 2014:
83 nádorů s vlastním morfologickým kódem**

^a The morphology codes are from the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) [575A]. Behaviour is coded /0 for benign tumours, /1 for unspecified, borderline or uncertain behaviour, /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia and /3 for malignant tumours; ^b The classification is modified from the previous WHO classification of tumours (1906A), taking into account changes in our understanding of these lesions; *These new codes were approved by the IARC/WHO Committee for ICD-O in 2013.

WHO Classification of tumours of the ovary^{a,b}

Epithelial tumours	
Serous Tumours	
Benign	
Serous cystadenoma	8441/0
Serous adenofibroma	9014/0
Serous surface papilloma	8461/0
Borderline	
Serous borderline tumour / Atypical proliferative serous tumour	8442/1
Serous borderline tumour - micropapillary variant / Non-invasive low-grade serous carcinoma	8460/2*
Malignant	
Low-grade serous carcinoma	8460/3
High-grade serous carcinoma	8461/3
Mucinous tumours	
Benign	
Mucinous cystadenoma	8470/0
Mucinous adenofibroma	9015/0
Borderline	
Mucinous borderline tumour / Atypical proliferative mucinous tumour	8472/1
Malignant	
Mucinous carcinoma	8480/3
Endometrioid tumours	
Benign	
Endometriotic cyst	
Endometrioid cystadenoma	8380/0
Endometrioid adenofibroma	8381/0
Borderline	
Endometrioid borderline tumour / Atypical proliferative endometrioid tumour	8380/1
Malignant	
Endometrioid carcinoma	8380/3
Clear cell tumours	
Benign	
Clear cell cystadenoma	8443/0
Clear cell adenofibroma	8313/0
Borderline	
Clear cell borderline tumour / Atypical proliferative clear cell tumour	8313/1
Malignant	
Clear cell carcinoma	8310/3
Brenner tumours	
Benign	
Brenner tumour	9000/0
Borderline	
Borderline Brenner tumour / Atypical proliferative Brenner tumour	9000/1

Malignant	
Malignant Brenner tumour	9000/3
Seromucinous tumours	
Benign	
Seromucinous cystadenoma	8474/0*
Seromucinous adenofibroma	9014/0*
Borderline	
Seromucinous borderline tumour / Atypical proliferative seromucinous tumour	8474/1*
Malignant	
Seromucinous carcinoma	8474/3*
Undifferentiated carcinoma	
	8020/3
Mesenchymal tumours	
Low-grade endometrioid stromal sarcoma	
	8931/3
High-grade endometrioid stromal sarcoma	
	8930/3
Mixed epithelial and mesenchymal tumours	
Adenocarcinoma of rete ovarii	
	8017/0
Sex cord-stromal tumours	
Microcystic stromal tumour	8590/0
Leydig cell tumour	8650/0
Steroid cell tumour	8760/0
Steroid cell tumour, malignant	8760/3
Pure sex cord tumours	
Adult granulosa cell tumour	8620/3
Juvenile granulosa cell tumour	8622/1
Sertoli cell tumour	8640/1
Sex cord tumour with annular tubules	8623/1
Mixed sex cord-stromal tumours	
Sertoli-Leydig cell tumours	
Well differentiated	8631/0
Moderately differentiated	8631/1
With heterologous elements	8634/1
Poorly differentiated	8631/3
With heterologous elements	8634/3
Retiform	8633/1
With heterologous elements	8634/1
Sex cord-stromal tumours, NOS	8590/1

Germ cell tumours	
Dysgerminoma	9060/3
Yolk sac tumour	9071/3
Embryonal carcinoma	9070/3
Non-gestational choriocarcinoma	9100/3
Mature teratoma	9080/0
Immature teratoma	9080/3
Mixed germ cell tumour	9085/3
Monodermal teratoma and somatic-type tumours arising from a dermoid cyst	
Struma ovarii, benign	9090/0
Struma ovarii, malignant	9090/3
Carcinoid	8240/3
Strumal carcinoid	9091/1
Mucinous carcinoid	8243/3
Neuroectodermal-type tumours	
Sebaceous tumours	
Sebaceous adenoma	8410/0
Sebaceous carcinoma	8410/3
Other rare monodermal teratomas	
Carcinomas	

Wolffian tumour	9110/1
Small cell carcinoma, hypercalcaemic type	8044/3*
Small cell carcinoma, pulmonary type	8041/3
Wilms tumour	8960/3
Paraganglioma	8693/1
Solid pseudopapillary neoplasm	8452/1
Mesothelial tumours	
Adenomatoid tumour	9054/0
Mesothelioma	9050/3
Soft tissue tumours	
Myxoma	8840/0
Others	
Tumour-like lesions	
Follicle cyst	
Corpus luteum cyst	
Large solitary luteinized follicle cyst	
Hyperreactio luteinalis	
Pregnancy luteoma	
Stromal hyperplasia	
Stromal hyperthecosis	
Fibromatosis	
Massive oedema	
Leydig cell hyperplasia	
Others	
Lymphoid and myeloid tumours	
Lymphomas	
Plasmacytoma	9734/3
Myeloid neoplasms	
Secondary tumours	

**14 nádorů „častých“
69 nádorů „vzácných“**

^a The morphology codes are from the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) [575A]. Behaviour is coded /0 for benign tumours, /1 for unspecified, borderline or uncertain behaviour, /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia and /3 for malignant tumours; ^b The classification is modified from the previous WHO classification of tumours [1906A], taking into account changes in our understanding of these lesions; *These new codes were approved by the IARC/WHO Committee for ICD-O in 2013.

Molekulární metody - diagnostika

- **Cytogenetické aberace**

- **LG-ESS**

- t(7;17)(p21;q15) JAZF1 a SUZ12(JJAZ1)
- t(6;7)(p21;p15) PHF1-JAZF1
- t(6;10)(p21;q22;p11) EPC-PHF1
- t(1;6)(p34;p21) MEAF6-PHF1

- **HG-ESS**

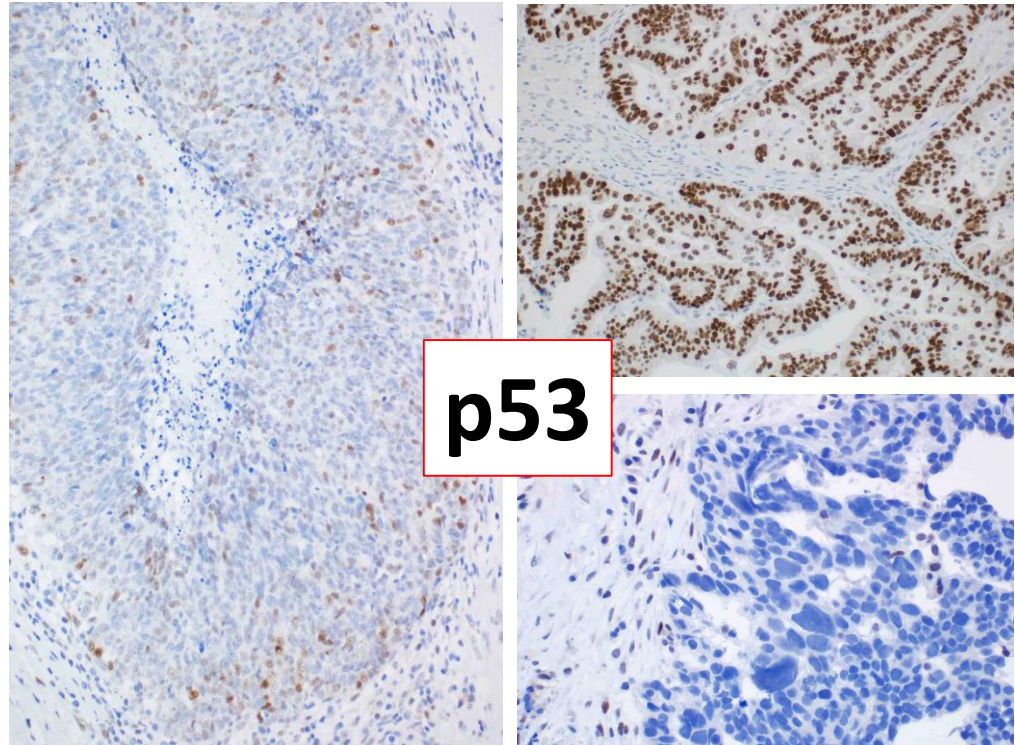
- t(10;17)(q22;p13) YWHAE-FAM22

- **Genetické aberace**

- SMARCA4 (malobuněčný karcinom ovaria, hyperklacemický typ)
- CTNNB1, APC (mikrocystický stromální nádor, signet ring stromal cell tumor)
- FOXL2 (adultní typ nádoru z buněk granulózy)

- Imunohistochemická typizace

	HGSC	EC	CCC	MC	LGSC
WT1, pozitivní	97	10	1	0,6	98
TP53, aberantní	94	15	12	61	0
P16, blokovaná	65	8	17	10	3
Napsin A	1,5	8	92	3,5	0
TFF3, difúzní	1,5	37	0	84	4,5
ER, pozitivní	80	77	19	21	87
PR, pozitivní	30	67	8	16	57
ARID1A, absence	1,3	23	41	3	6
Vimentin, difúzní	16	53	20	3	55



Stanovení histologického typu nádoru

- **Studie z let 1984-1994**
- **(kritéria WHO 1974)**
- - shoda 56-68% (κ 0.46-0.55)

TABLE 5. Validation Set: κ Statistics, and Concordance Rates for Diagnostic Agreement (N = 88)

Comparison	κ	Concordance
Original diagnosis versus local review	0.73 SE 0.06	84% (74/88)
Original diagnosis versus central review	0.69 SE 0.07	83% (73/88)
Local review versus central review	0.89 SE 0.04	94% (83/88)

Nejčastější změna v klasifikaci:
Endometroidní karcinom → HGSC

- IHC
- - shoda 78-94%

105 reklasifikováno (shoda 93,5 %)

Význam IHC (4/6/8 markerů – 88/91/93 %)

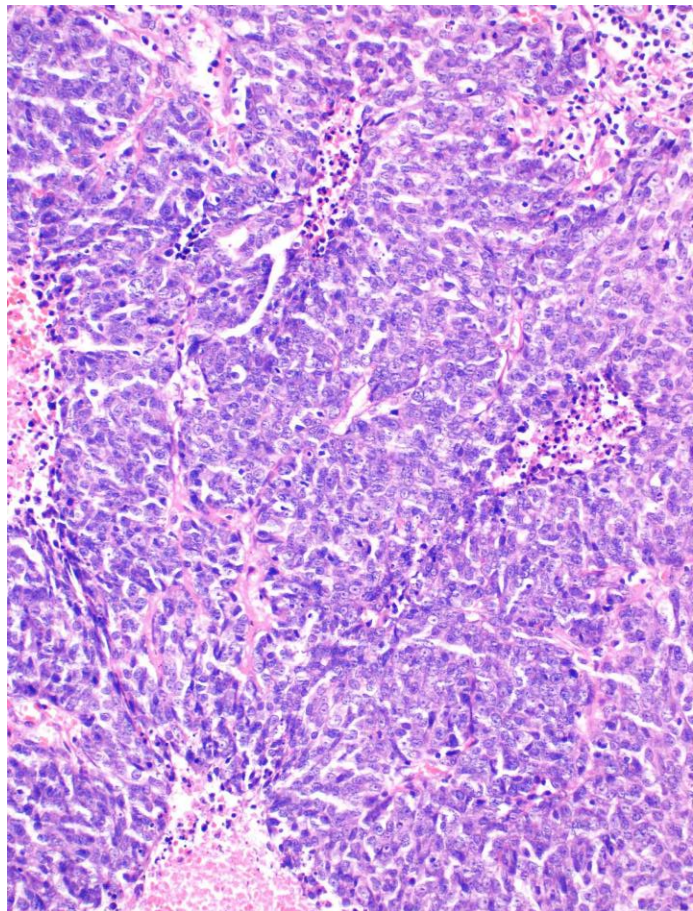
54 případů

8 patologů

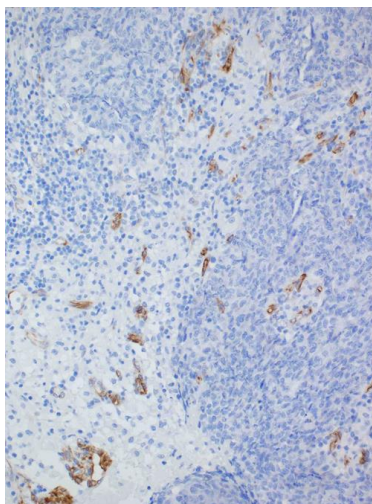
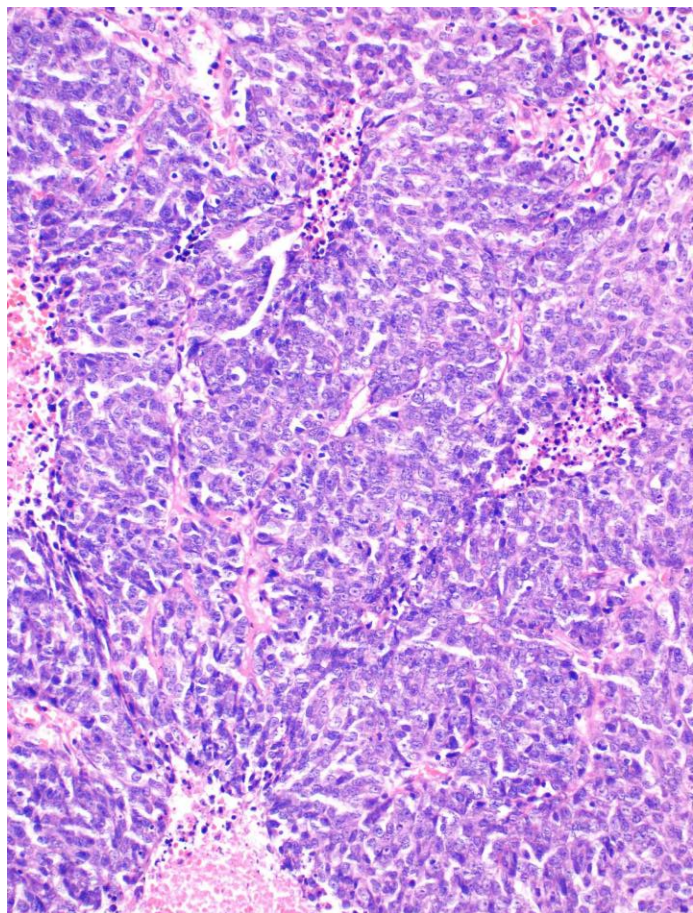
Shoda s centrální dg. v 86 % (90 % s IHC)

Interpersonální shoda – medián 78 % (85 % s IHC)

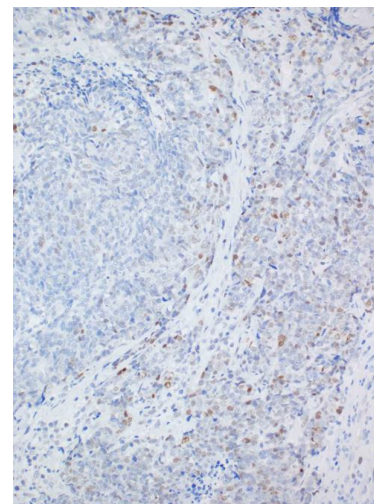
Endometroidní karcinom G3 vs. HGSC



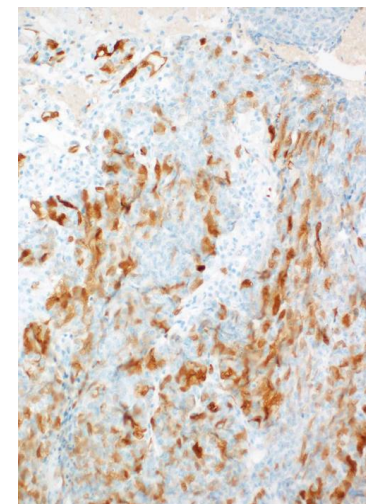
Endometroidní karcinom G3 vs. HGSC



WT-1



p53



p16

Endometroidní karcinom

IHC:

10% WT1+

15% aberantní p53

8% bloková+ p16

< 2% WT1+/aberantní p53

HGSC

IHC:

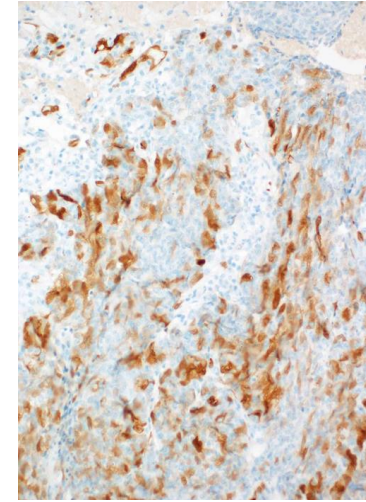
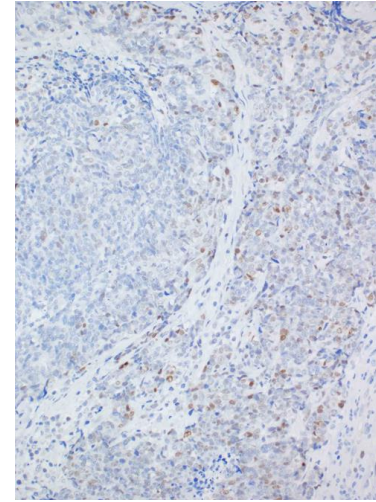
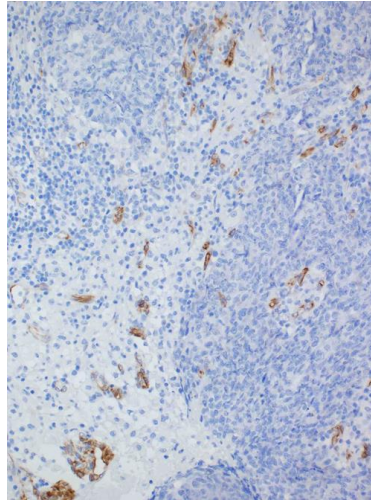
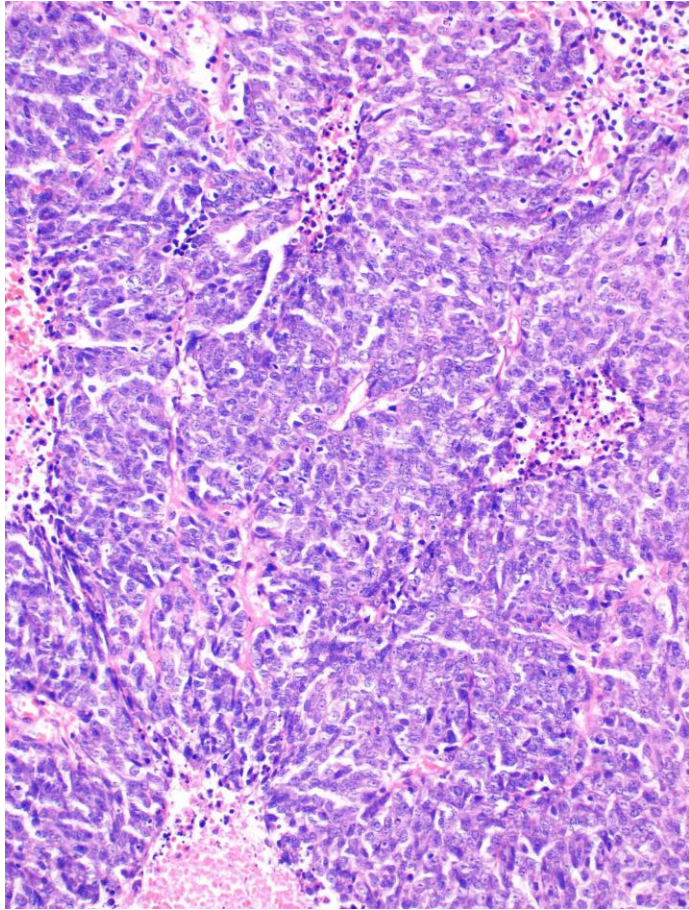
95% WT1+

95% aberantní p53

65% bloková+ p16

92% WT1+/aberantní p53

Endometroidní karcinom G3 vs. HGSC



WT-1

p53

p16

Endometroidní karcinom

IHC:

10% WT1+

15% aberantní p53

8% bloková+ p16

< 2% WT1+/aberrantní p53

HGSC

IHC:

95% WT1+

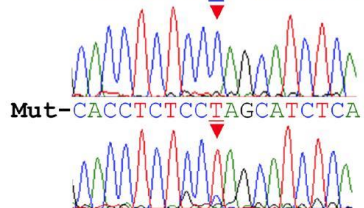
95% aberantní p53

65% bloková+ p16

92% WT1+/aberrantní p53

c.454C>T, p.Gln152X

WT-CACCTCTCCCAGCATCTCA



Endometroidní karcinom

PTEN

CTNNB1

ARID1A

KRAS

MSI

HGSC

TP53

BRCA1/2

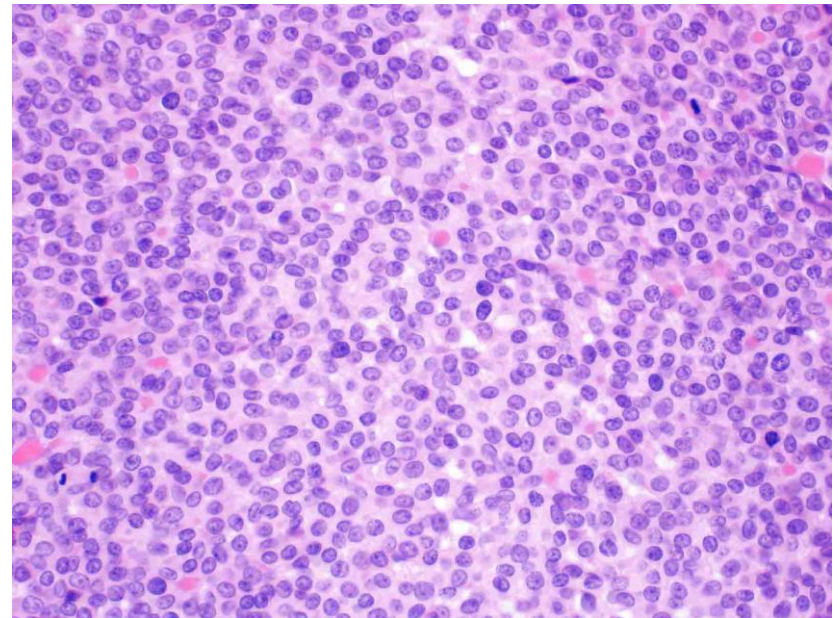
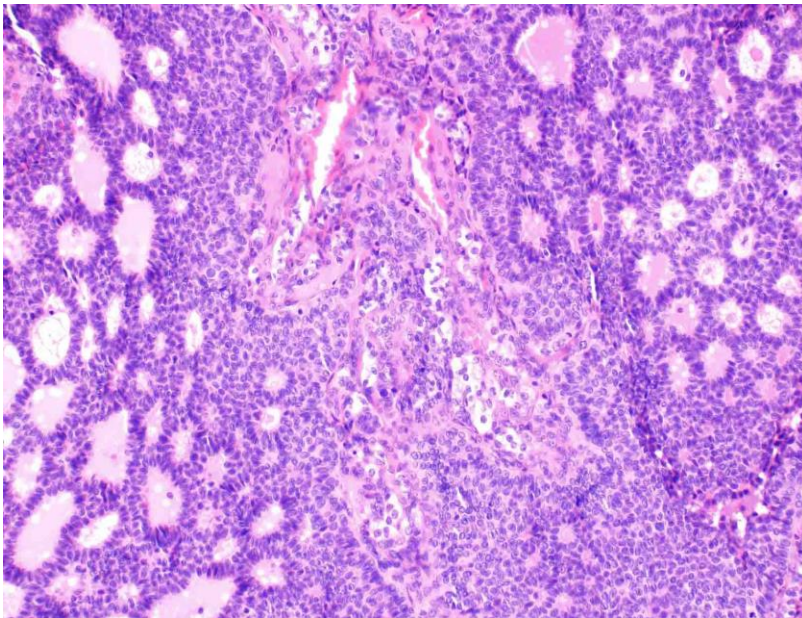
CKK12

NF1

CIN

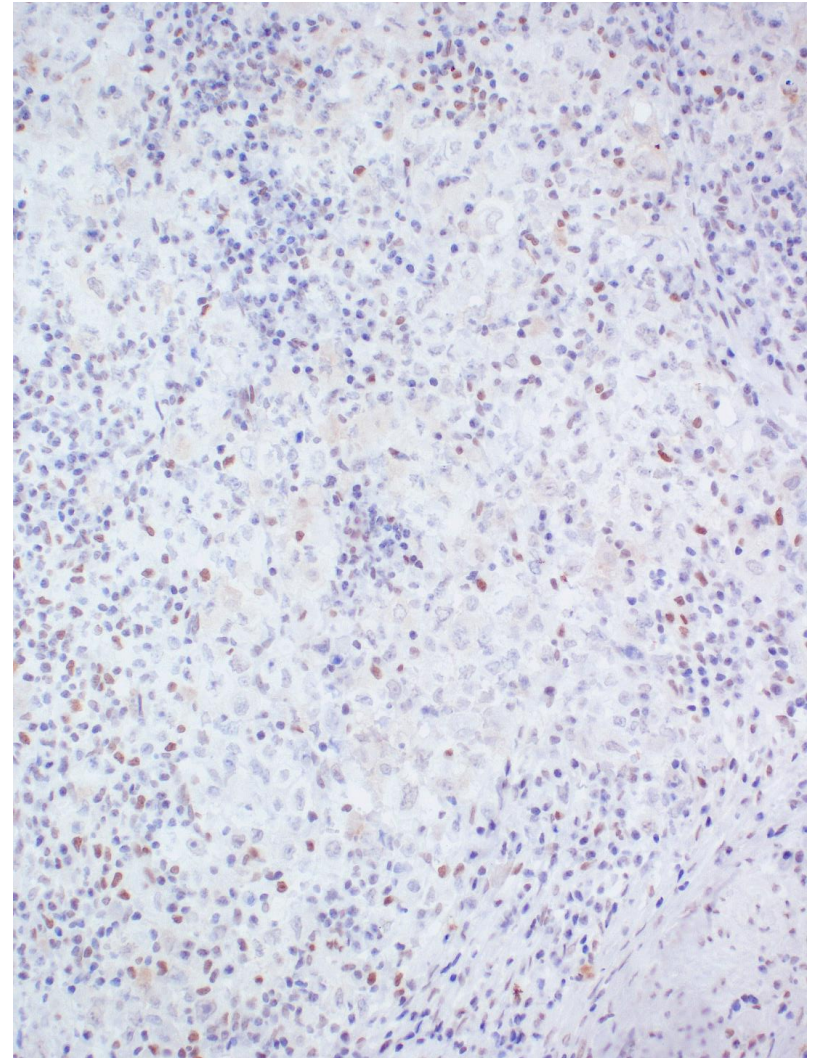
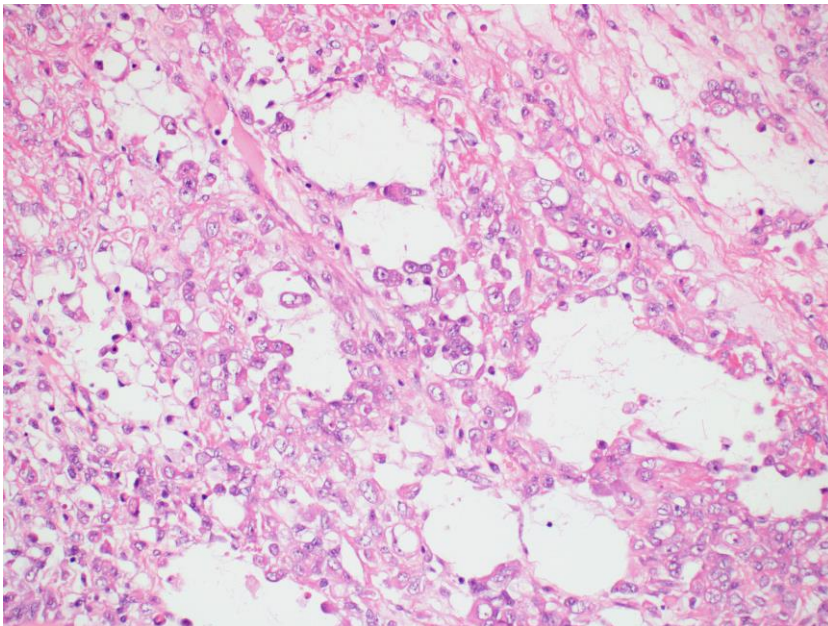
Adultní typ nádoru z buněk granulózy vs. tékom

- Mutace FOXL2 ~ 85 % AGCT
- Vzácně i jiné typy gonadostromálních nádorů
- Nevyskytuje se u tékomů



Malobuněčný karcinom ovaria, hyperkalcemický typ

- mutace SMARCA4
- ztráta exprese Brg1
- maligní rabdoidní nádor ovaria



Molekulární metody

- 1. diagnostika
- 2. screening hereditárních onemocnění
- 3. prognóza
- 3. predikce

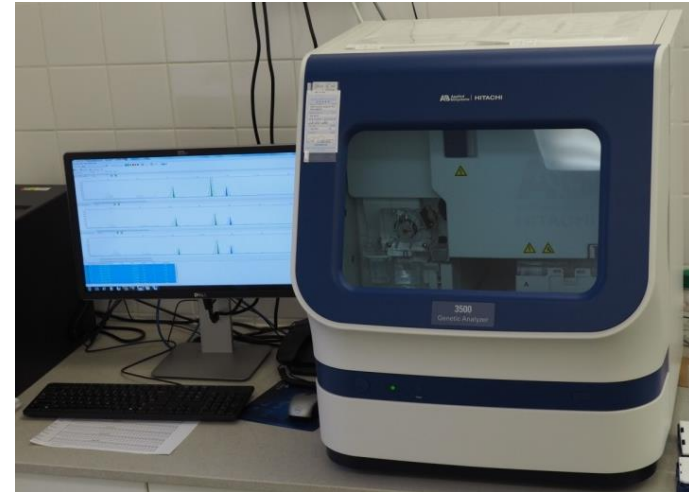
Hereditární onemocnění

- Role patologa ve screeningu, nikoliv diagnostice hereditárních onemocnění *
- Možná manifestace v oblasti ženského genitálu:
 - Mutace *BRCA1/2*
 - Lynchův syndrom (mutace genu *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* nebo *PMS2*)
 - Hereditární leiomyomatóza a renální karcinom (mutace genu *FH*)
 - Mutace genu *SMARCA4*

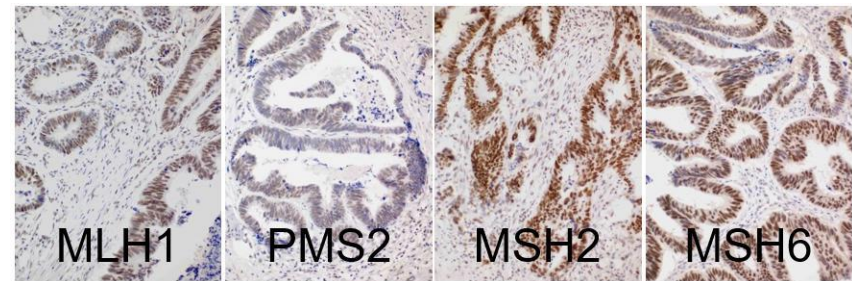
*Pouze klinický genetik je oprávněn provádět příslušná vyšetření (poradenství, testování germinálních mutací)

Lynchův syndrom

- AD onemocnění
- nefunkčnost MMR proteinů
- zvýšené riziko vzniku karcinomu endometria a ovaria
- - endometroidní a světlobuněčný typ
- manifestace v nižším věku než sporadické nádory



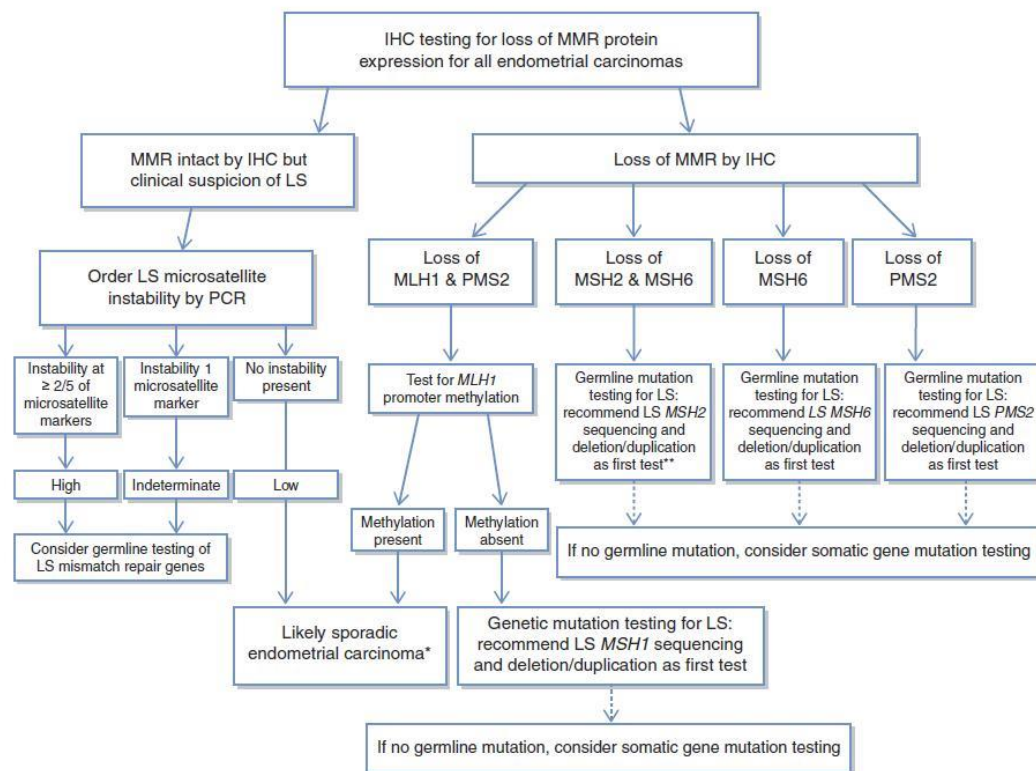
Vysoký stupeň mikrosatelitové nestability	MSI-H (MSI-high)	při polymorfismu u 2 a více zkoumaných markerů
Nízký stupeň mikrosatelitové nestability	MSI-L (MSI-low)	polymorfismus u jednoho mikrosatelitového markeru
Stabilní mikrosatelity	MSS	všechny markery stabilní



Screening Lynchova syndromu Karcinom endometria

Není jednotný přístup:

- univerzální plošný screening
- selektivní testování na podkladě indikačních kritérií (nejsou jednoznačně akceptovaná – věk < 50 let, rodinná/osobní anamnéza)



Screening Lynchova syndromu

Karcinom ovaria

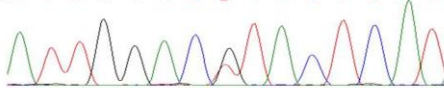
- Není jednotný přístup
- Celoživotní riziko u pac. s Lynchovým sy 12-15 %
- U neselektovaných pacientů je záchyt velmi nízký (HGSC asi u 1 % MSI/dMMR, ale obvykle nesouvisí s Lynchovým sy)
- > 10 % EC, CCC, dediferencovaných ca, MMMT jsou MSI/dMMR
- Testování podle věku (< 50 let) a histologického typu (EC a CCC)
- Reflexně ?

Hereditární leiomyomatóza a renální karcinom

- **AD dědičné onemocnění**
- Zárodečné mutace genu FH pro fumaráthydratázu
- Predispozice ke tvorbě mnohočetných kožních a děložních leiomyomů a renálního karcinomu Asi 75 mutací (není hotspot, v průběhu celého genu)
- **AR – fumarátová acidurie**
- psychomotorická retardace, hypotonie, encefalopatie
- úmrtí v prvních letech života
- Děložní myomy:
 - - často v mladším věku
 - - mnohočetné, větší
 - - leiomyom s bizarními jádry
- Nádory ledvin:
 - - papilární renální karcinom „non l. typu“
 - - i další typy (ze sběrných kanálků, světlobuněčný, ..)

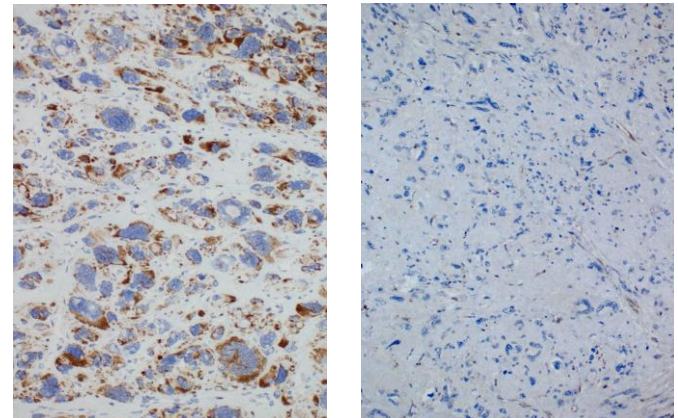
A NM_000143.3: c.698G>T, p.(Arg233Leu); rs121913123 – mutant fraction cca 40%
exon 5

wt: A T T G G A C G T A C T C A T
mut: A T T G G A C ~~G~~ T A C T C A T



B NM_000143.3: c.282delA, p.(Ala95Leufs*5) – mutant fraction cca 60%
+ c.279T>C, p.(Ile93Ile) – mutant fraction cca 50%
exon 3

wt: C C C A G T T A T T A A A G
mut: C C C C A G T T A ~~C~~ ~~T~~ A A G



Fumarát hydratáza

Molekulární metody

- 1. diagnostika
- 2. screening hereditárních onemocnění
- **3. prognóza**
- 3. predikce

Molekulární klasifikace karcinomů endometria

- POLE ultramutated (POLE)
- microsatellite instability high (MSI-H)
- copy number-low (CN-L)
- copy number-high (CN-H)

- high grade EC
- - časté mutace PTEN, ARID1A, genů MMR, KRAS
- serózní karcinom (CN-H)
- - TP53
- - PPP2R1A

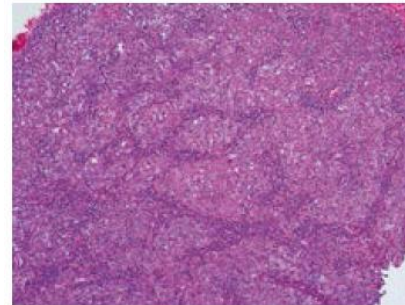


Fig. 1. Proliferation of epithelial tumour cells surrounded by an intense lymphoplasmacytic infiltrate (haematoxylin and eosin, magnification 100×)

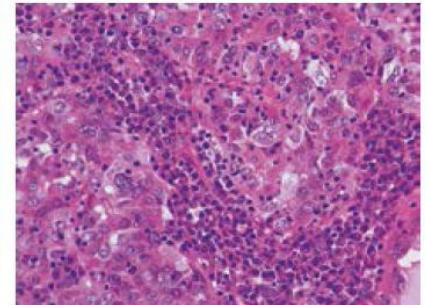


Fig. 2. Poorly defined aggregates of syncytial tumour cells, round nuclei with prominent nucleoli (haematoxylin and eosin, magnification 400×)

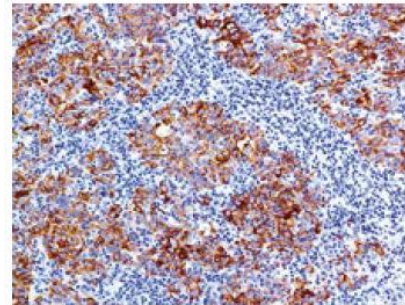


Fig. 3. Diffuse positivity for CK AE1/AE3 in epithelial component (magnification 200×)

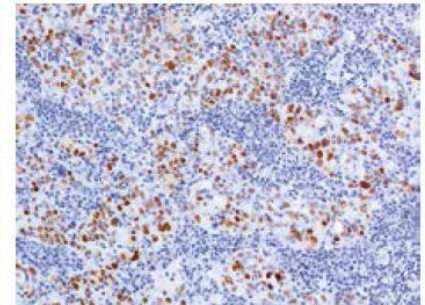


Fig. 4. Aberrant type expression of p53 in epithelial component (magnification 200×)

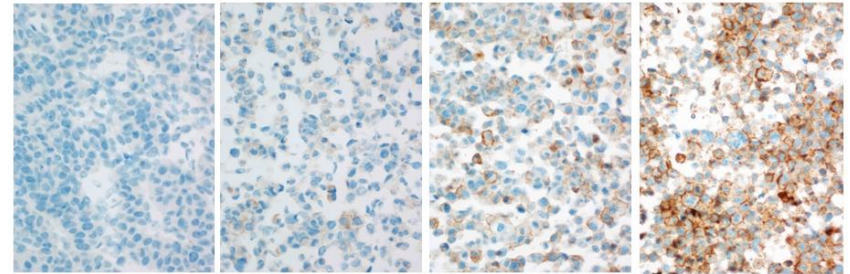
Lymfoepitelioma-like karcinom endometria
– varianta SC?

Molekulární metody

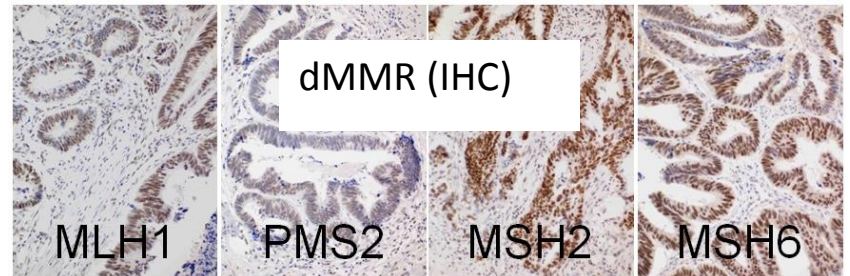
- 1. diagnostika
- 2. screening hereditárních onemocnění
- 3. prognóza
- 3. predikce

Prediktivní testování (imunoterapie)

PD-L1



dMMR/MSI-H



Vysoký stupeň mikrosatelitové nestability	MSI-H (MSI-high)	při polymorfismu u 2 a více zkoumaných markerů
Nízký stupeň mikrosatelitové nestability	MSI-L (MSI-low)	polymorfismus u jednoho mikrosatelitového markeru
Stabilní mikrosatelity	MSS	všechny markery stabilní

MSI-H (PCR, Sanger)

MSI-H/dMMR je první prediktor schválený FDA bez ohledu na typ nádoru (pembrolizumab)

MSI-H/dMMR je prediktor schválený FDA pro léčbu mCRC (nivolumab)

Prediktivní testování (PARP inhibitory)

- Od 1.9.2018 je v ČR z prostředků ZP dostupná léčba olaparibem (Lynparza®) – ve druhé linii léčby
- Pro indikace léčby je u vhodných pacientek splňujících příslušná kritéria nutný průkaz mutace genu BRCA1/2

Seznam referenčních laboratoří a vyšetřovaných markerů, jejichž výsledek je akceptován pojišťovnami jako prediktivní vyšetření pro onkologickou léčbu (aktuální stav k 1.10.2018)

Bioptická laboratoř, Plzeň (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF, BRCA1/2*)

Fingerlandův ústav patologie, Hradec Králové (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF, BRCA1/2*)

Referenční laboratoř LF UP, Olomouc (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF)

Patologicko-anatomické odd., MOÚ Brno (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF, BRCA1/2*)

Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF)

Ústav patologie 1. LF UK a VFN v Praze (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF, BRCA1/2*)

Odd. patologie a molekulární medicíny, Thomayerova nemocnice, Praha (RAS, EGFR, ALK, BRAF)

AeskuLab Patologie (HER2)

FN Brno (HER2, RAS, EGFR, ALK, BRAF)

Laboratoře Agel, Nový Jičín (HER2, RAS, ALK, EGFR, BRAF, BRCA1/2*)

CGB Ostrava (HER2, RAS, ALK, EGFR, BRAF)

*Testování somatických mutací BRCA1/2; Stav k 1.10.2018 – testování nasmlouváno u VZP, pro možnost testování BRCA1/2 u pojištěnců jiných ZP je nutno kontaktovat příslušnou laboratoř, aktuální stav v jednotlivých laboratořích se může lišit.

Pozn.: všechny RL mají možnost testovat expresi PD-L1, pro informaci jestli toto testování nabízí je nutno kontaktovat příslušnou RL

Zárodečné mutace BRCA1/2 u HGSC

Neselektované případy primárního nádoru ovaria

Studie	gBRCA1/2 mutace	pacientů
Walsh et al. (2012)	18%	360
Pennington et al. (2014)	18%	390
Yates et al. (2014)*	15%	263
Alsop et al. (2012)	14%	
Kanchi et al. (2014)	13%	
TCGA Research Network (2011)**	17%	489

22,6 % u HGSC (433 případů)

Platina senzitivní nádory ovaria

Studie	gBRCA1/2 mutace
Dann et al. (2012)	38%
Ledermann et al. (2014)	42%

* Annals of Oncology (2014) 25 (suppl_4)

** Nature (2011) Jun 29;474(7353):609-15.

Indikační kritéria testování BRCA1/2

Tab. 1. Indikační kritéria modifikovaná (dle NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015 [33], schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP).

Sporadické formy

- epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku
- triple negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)
- unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let pokud není známá vůbec rodinná anamnéza)
- dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)
- duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku
- karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku

Familiární formy (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)

3 příbuzní

- alespoň 3 přímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku

2 příbuzní

- 2 přímé příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro přímé příbuzné nad 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme MRI prsou)
- probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky, prostaty)

prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)

TNBC – triple negativní karcinom prsu, HBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria

- Testování pro účely onkologické léčby:

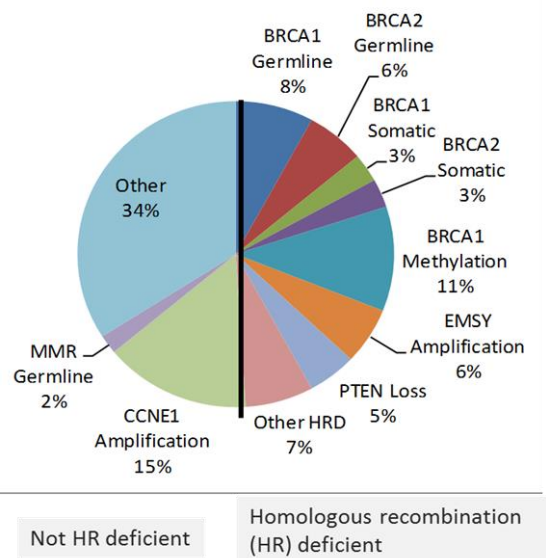
1. Stanovení senzitivity k platinovým derivátům
2. Zařazení léčby PARP inhibitory

- Nejen hereditární, ale i somatické mutace!

Alterované geny u HGSC (TCGA)

- Germinální mutace
- BRCA1 - 9 %
- BRCA2 - 8 %
- Somatické mutace
- BRCA1 - 3 %
- BRCA2 - 3 %
- Hypermethylace promotoru
- BRCA1 - 11 %

EMSY (amplifikace či mutace) - 8 %
PTEN (delece či mutace) - 7 %
RAD51C (hypermethylace) - 3 %
ATM/ATR (mutace) - 2 %
geny Fanconiho anemie (mutace) 5 %



Defekt homologní rekombinace celkem asi 50 % HGSC

Testování NGS – naše pracoviště

Diagnostická knihovna ÚP (56 kbp; 20 genů)

AKT1	BRCA2	ESR1	MAP2K1	POLE
ARID1A	DDR2	FOXL2	MET	PTEN
BRAF	EGFR	HRAS	NRAS	SMAD4
BRCA1	ERBB2	KRAS	PIK3CA	TP53

červeně jsou vyznačeny nekompletní geny, tzn. exony s hotspotovými místy nebo geny osekáné o "nezajímavé" exony

zeleně jsou zvýrazněny geny účastníci se v procesu homologní rekombinace

Testování NGS – naše pracoviště

Výzkumná knihovna 1 ÚP (257 kbp; 89 genů)

AKT1	BRCA2	EGFR	FGFR2	HDAC2	KIT	MITF	NOTCH1	PPM1D
AKT3	BRIP1	ELK1	FH	HIST1H3B	KRAS	MLH1	NRAS	PPP6C
ARID1A	CCND2	ERBB2	FOXL2	HNF1A	MAP2K1	MLH3	PALB2	PTEN
ARID2	CCND3	ERBB3	GNA11	HNF1B	MAP2K2	MRE11A	PDGFRA	RB1
ATM	CDH1	ERBB4	GNAQ	HRAS	MAP2K4	MSH2	PIK3CA	SF3B1
B2M	CDK4	ERCC3	GNAS	IDH1	MAPK1	MSH6	PIK3R1	SMAD4
BAP1	CDKN2A	ESR1	GRB2	IDH2	MAPK3	mTOR	PMS2	SMARCA4
BARD1	CTNNB1	ESR2	H3F3A	JAK1	MDM2	MYC	POLE	SMARCB1
BRAF	CYP19A1	FAM175A	H3F3B	JAK2	MDM4	NBN	POLQ	TP53
BRCA1	DDR2	FBXW7	H3F3C	KDR	MET	NF1	POT1	

červeně jsou vyznačeny nekompletní geny, tzn. exony s hotspotovými místy nebo geny osekáné o "nezajímavé" exony

zeleně jsou zvýrazněny geny účastníci se v procesu homologní rekombinace

Testování NGS – naše pracoviště

ABL1	EMSY	EML4	FGFR2	CHEK1	MAP3K1	NPM1	RAD50	SUFU
ABL2	CCDC6	EPHA3	FGFR3	CHEK2	MAPK1	NRAS	RAD51	SYK
AKT1	CCND1	EPHA5	FGFR4	IDH1	MAPK3	NTRK1	RAF1	TAF1
AKT2	CCND2	EPHA7	FH	IDH2	MCL1	NTRK2	RARA	TBX3
AKT3	CCND3	EPHB1	FOXL2	IGF1R	MDM2	NTRK3	RB1	TERT p.
ALK	CCNE1	ERBB2	FOXP1	IGF2	MDM4	PAK3	RET	TET2
APC	PDL1	ERBB3	GATA1	IKZF1	MED12	PALB2	RICTOR	TGFBR2
AR	CD79A	ERBB4	GATA2	IRF2	MEN1	PAX5	RIT1	TOP1
ARAF	CD79B	ERCC3	GATA3	IRF4	MET	PDGFRA	ROS1	TOP2A
ARID1A	CDH1	ERG	GATA4	IRS2	MITF	PDGFRB	RUNX1	TP53
ARID1B	CDK12	ESR1	GATA6	JAK1	MLH1	PDK1	RUNX1T1	TPM3
ARID2	CDK4	ESR2	GNA11	JAK2	MLH3	PIK3C2B	SDHA	TSC1
ATM	CDK6	EZH2	GNA13	JAK3	MPL	PIK3CA	SDHB	TSC2
ATR	CDK8	FAM175A	GNAQ	JUN	MRE11A	PIK3CB	SDHC	U2AF1
ATRX	CDKN1A	FAM46C	GNAS	KAT6A	MSH2	PIK3CG	SDHD	UGT1A1
AURKA	CDKN1B	FANCA	GRB2	KDM5A	MSH6	PIK3R1	SF3B1	VEGFA
AURKB	CDKN2A	FANCC	GRIN2A	KDM5C	mTOR	PIK3R2	SMAD2	VHL
B2M	CDKN2B	FANCD2	GRM3	KDM6A	MUTYH	PMS2	SMAD3	WISP3
BAP1	CDKN2C	FANCE	GSK3B	KDR	MYC	POLD1	SMAD4	WT1
BARD1	CLTC	FANCF	H3F3A	KEAP1	MYCL1	POLE	SMARCA4	XPO1
BCL2	CREBBP	FANCG	H3F3B	KIF5B	MYCN	POLQ	SMARCB1	ZBTB2
BCL2L1	CTNNA1	FANCL	H3F3C	KIT	NACC2	POT1	SMO	ZNF217
BCL2L2	CTNNB1	FBXW7	HDAC2	KMT2A	NBN	PPM1D	SOX10	ZNF703
BCL6	CYP19A1	FGF10	HGF	KMT2C	NCOA4	PPP2R1A	SOX2	
BLM	DAXX	FGF14	HIST1H3B	KMT2D	NF1	PPP6C	SOX9	
BRAF	DDR2	FGF19	HMGA2	KRAS	NF2	PRKAR1A	SPEN	
BRCA1	DICER1	FGF23	HNF1A	LYN	NFKBIA	PRKCI	SPTA1	
BRCA2	DNMT3A	FGF3	HNF1B	LZTR1	NKX2-1	PRKDC	SRC	
BRD4	DPYD	FGF4	HRAS	MAP2K1	NOTCH1	PTEN	STAT3	
BRIP1	EGFR	FGF6	CHD2	MAP2K2	NOTCH2	PTCH1	STAT4	
BTK	ELK1	FGFR1	CHD4	MAP2K4	NOTCH3	QKI	STK11	

- Používané knihovny („in-house“):
- „Výzkumná“ knihovna 2
- - 271 genů
- - 1016 kbp
- - 12 vzorků v běhu (NextSeq)
- - pokrytí ~300x
- Mutační load (TMB)
- MSI
- Přestavby genů (z DNA)

Závěr

Molekulární testování v onkogynekologii narůstá na významu s ohledem na diagnostiku, stanovení prognózy i predikování odpovědi na léčbu

K diskuzi je screening hereditárních onemocnění

Sporné body (zejména):

- indikace testování
- úhrada od plátců