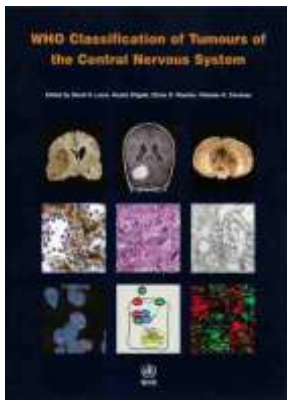


# Gliomien molekyylidiagnostiikkaa

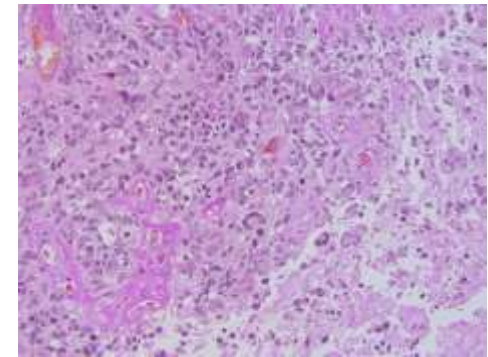
30.8.2013

Maria Gardberg

TYKS-Sapa Patologia / Turun Yliopisto



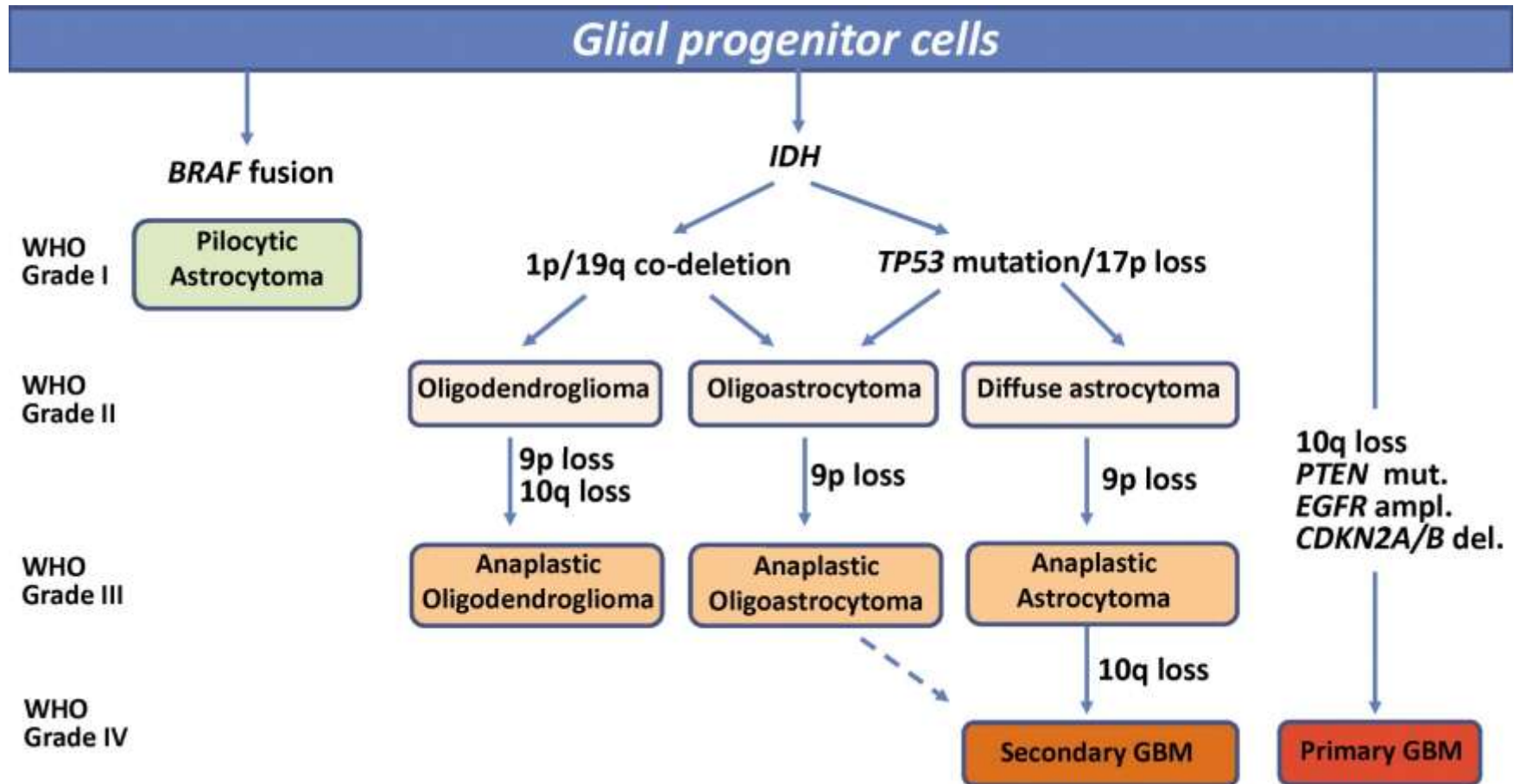
## Gliomien WHO-luokitus on morfologinen



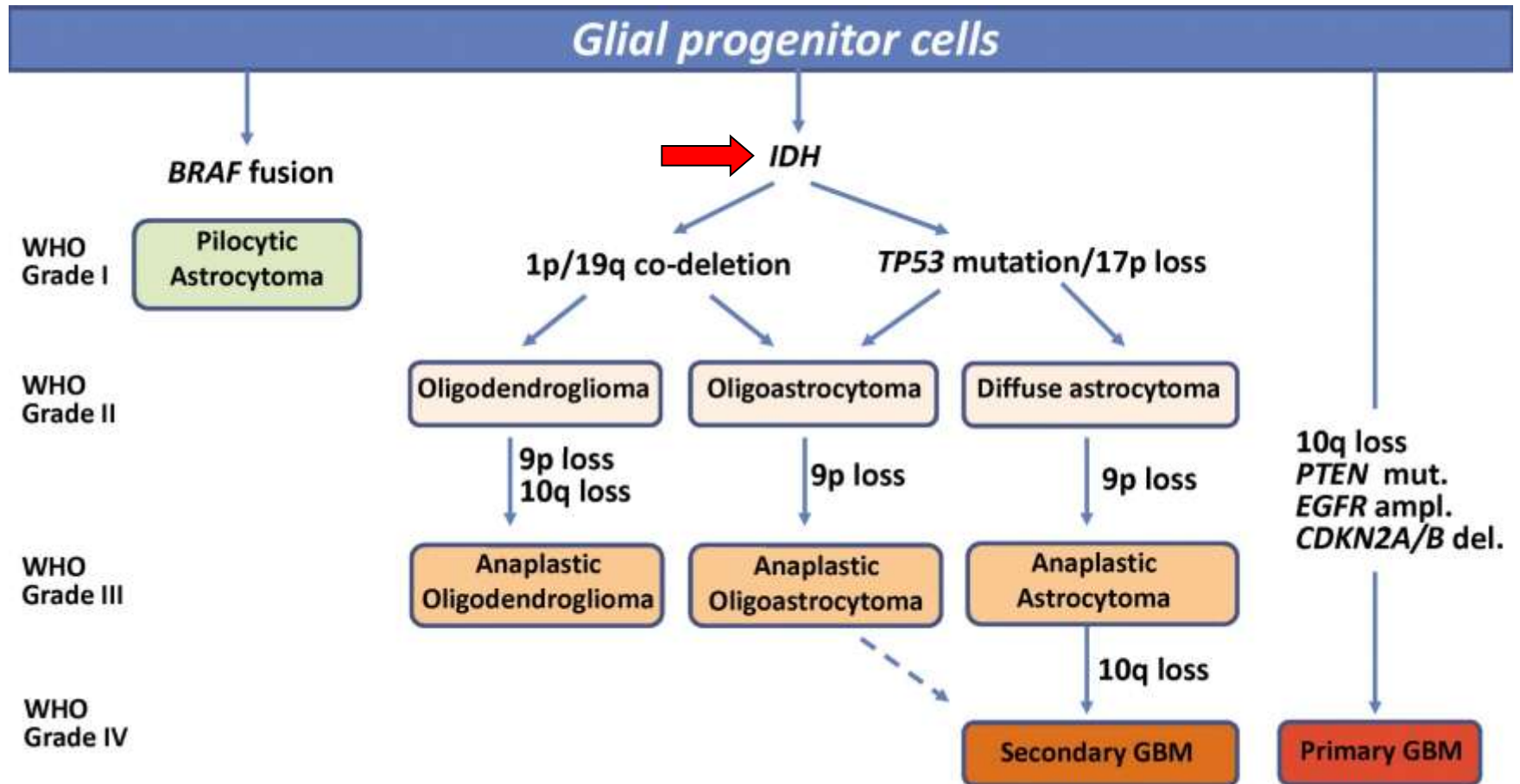
- Gradusten I-IV ryhmittelyyn perustana on toiminut ennusteen huononeminen atypian, solukkuuden, mitoosien, endoteeliproliferaation ja nekroosin myötä
  - I: kirurgisesti parannettavat matalan proliferaation neoplasiat
  - II: diffuusi astrozytoma, oligodendroglioma ja oligoastrozytoma
  - III: anaplastinen astrozytoma, anaplastinen oligodendroglioma ja anaplastinen oligoastrozytoma
  - IV: glioblastoma

Huomioitavaa:

Saman diagnoosin alla on toisistaan poikkeavan molekyyliprofiilin omaavia kasvaimia. Molekyylipatologinen selvittely auttaa sekä diagnostiikassa että ennusteen arvioinnissa

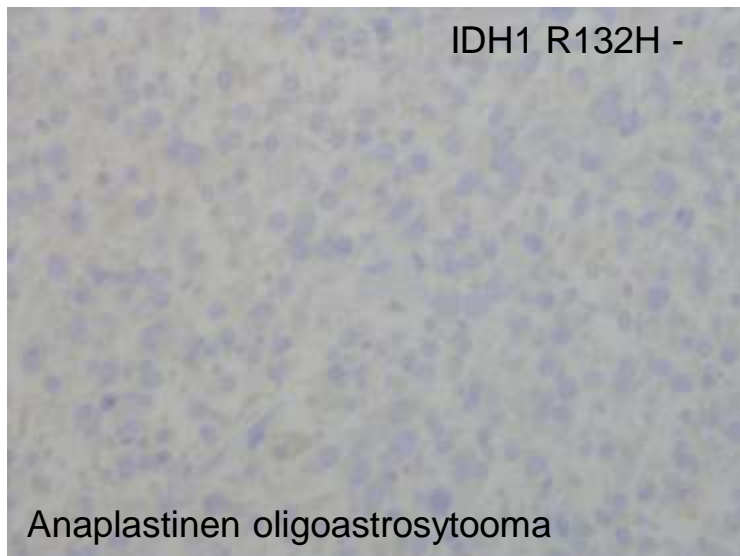
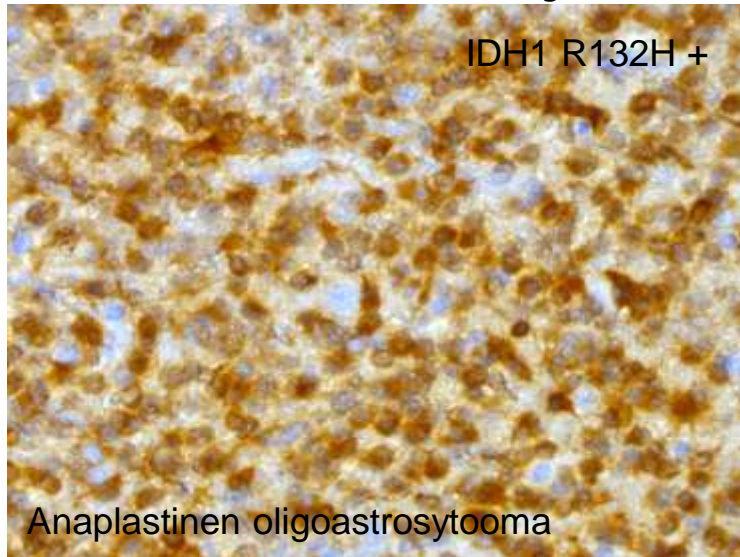


Nikiforova MN, Hamilton RL: Molecular Diagnostics of Gliomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 2011; 135:558-568.

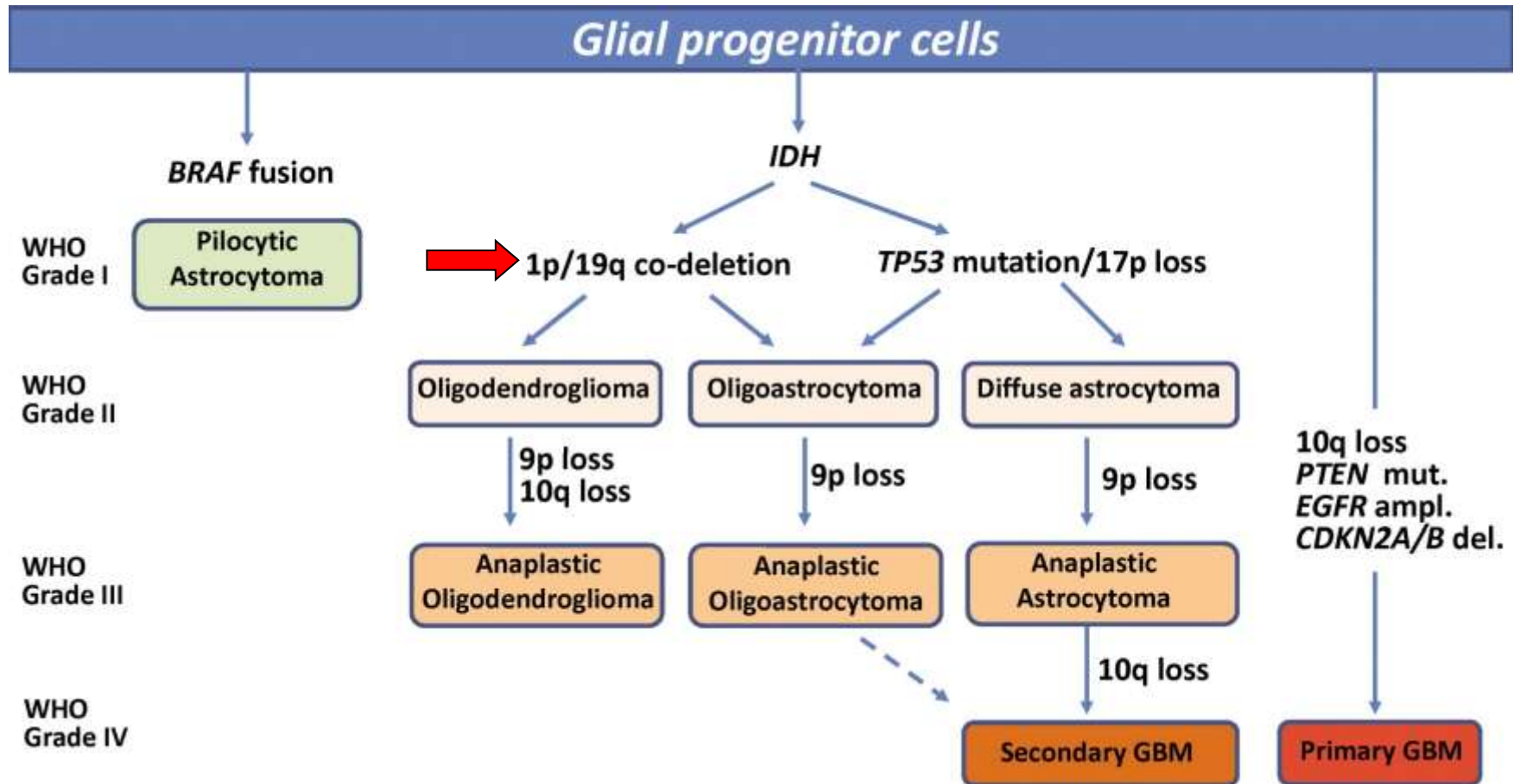


Nikiforova MN, Hamilton RL: Molecular Diagnostics of Gliomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 2011; 135:558-568.

# IDH1 ja IDH2 mutaatiot



- IDH1 mutaatio löydettiin 2008: lähes aina konservoitunut yhden aminohapon vaihtuminen (R132H); johtaa onkometaboliitin kertymiseen
- Todettavissa 70-80%:ssa graduksen II astrocytomeissa, oligodendrogliomeissa ja oligoastrocytomeissa (50-80% graduksessa III)
- Vaihtoehtoinen IDH2 mutaatio n. 5 %:ssa
- IDH1 tyyppimutaatio voidaan todeta immunohistokemiallisesti: diagnostinen ja positiivinen prognostinen merkitys



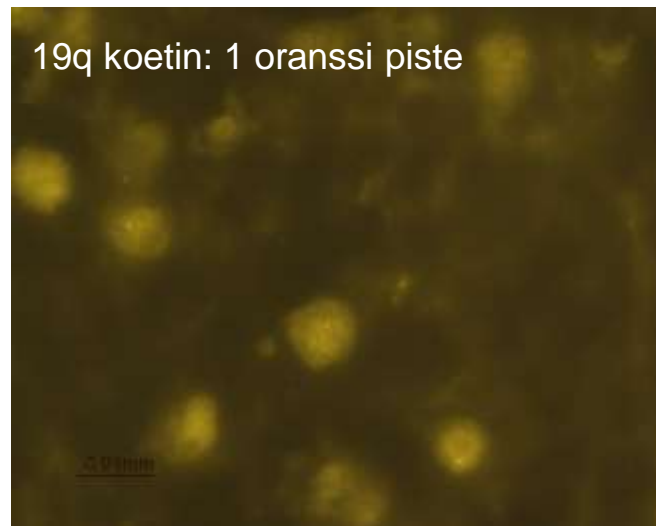
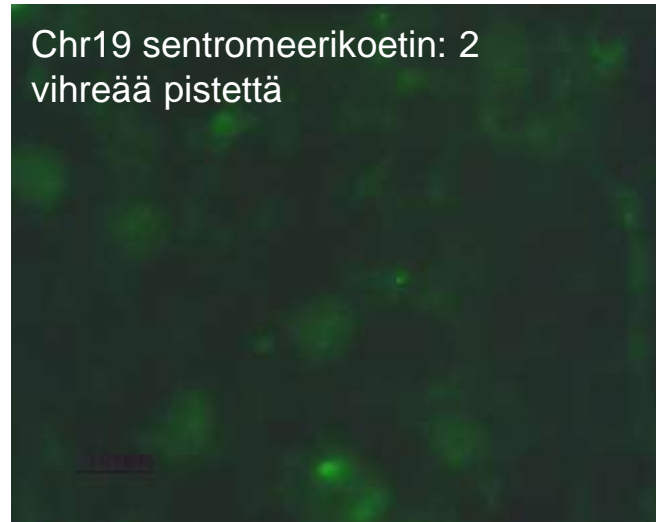
Nikiforova MN, Hamilton RL: Molecular Diagnostics of Gliomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 2011; 135:558-568.

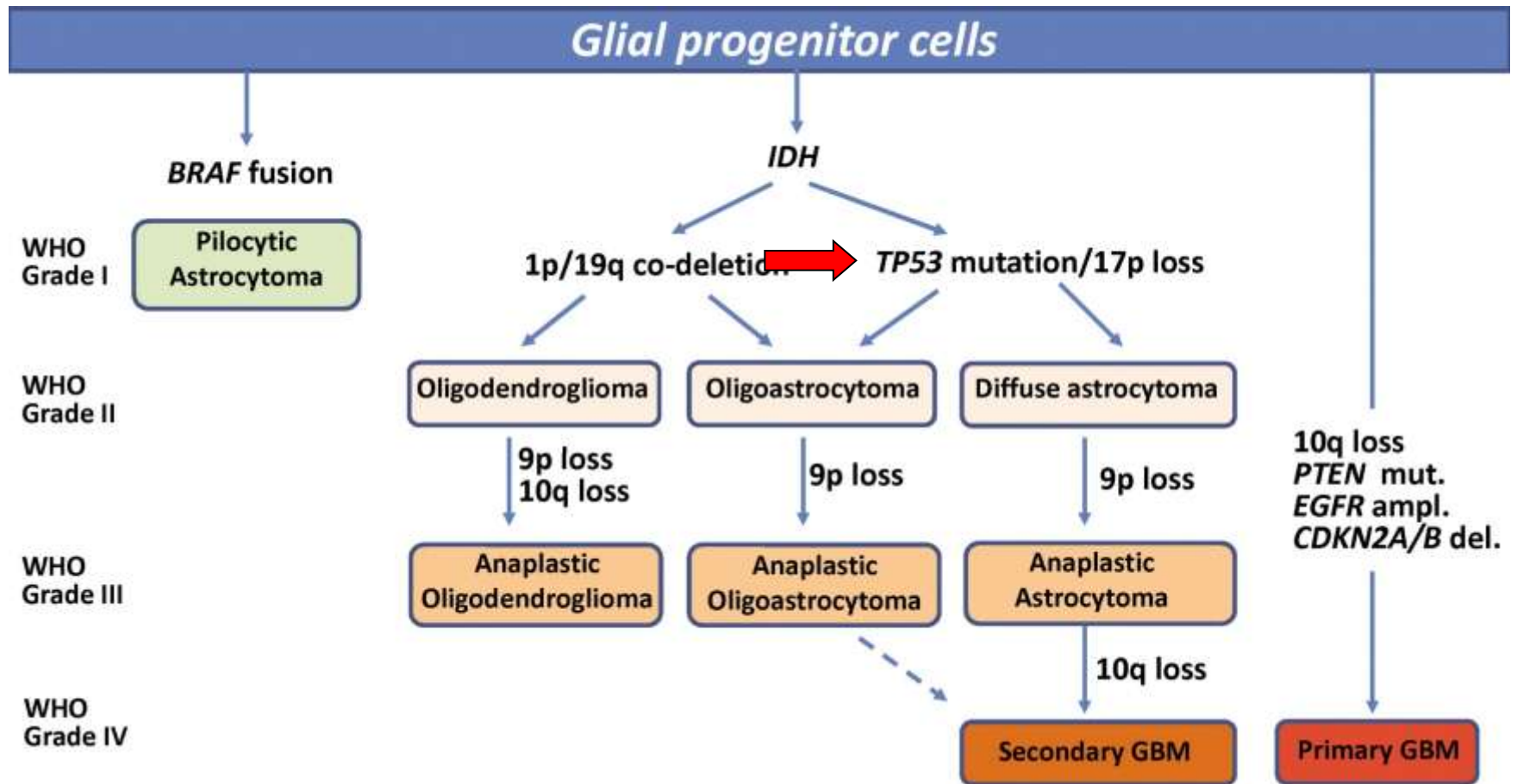


# 1p19q kodeleetio

- Balansoimaton translokaatio – tuumorisupressorigeenien menetys?
- Etabloitunut oligodendroglioomamarkkeri
  - Gradus II: 80-90%
  - Gradus III: 60%
  - Oligoastrozytoomat 30-50 %
  - Astrozytoomat 15 %
- Detektiomenetelmä: FISH (vaihtoehtoisesti VGH tai LOH)
- Deleetion toteaminen graduksen II-III glioomissa auttaa diagnoosin asettamisessa ja merkitsee suotuisampaa ennustetta, ennen kaikkea hyvää lääkevastetta

Oligodendrogliooma G2, 1p19q deleetio +



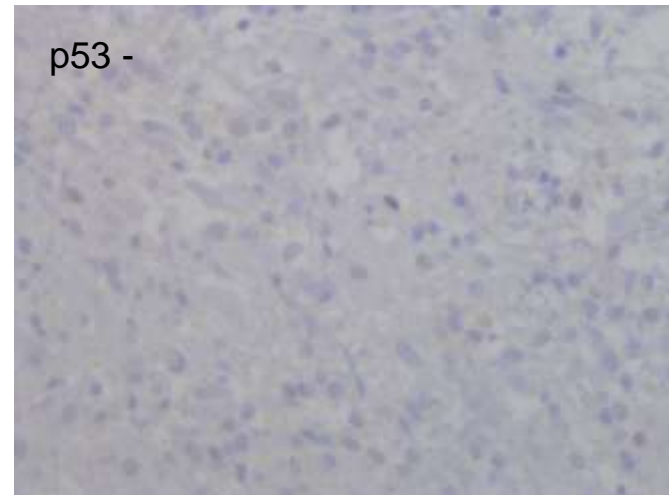
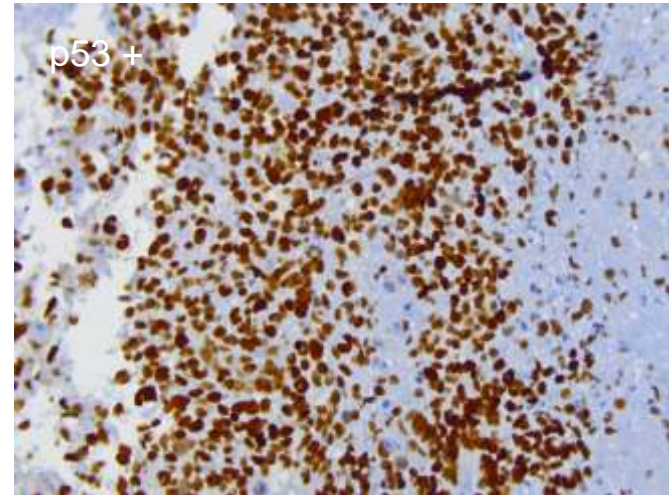


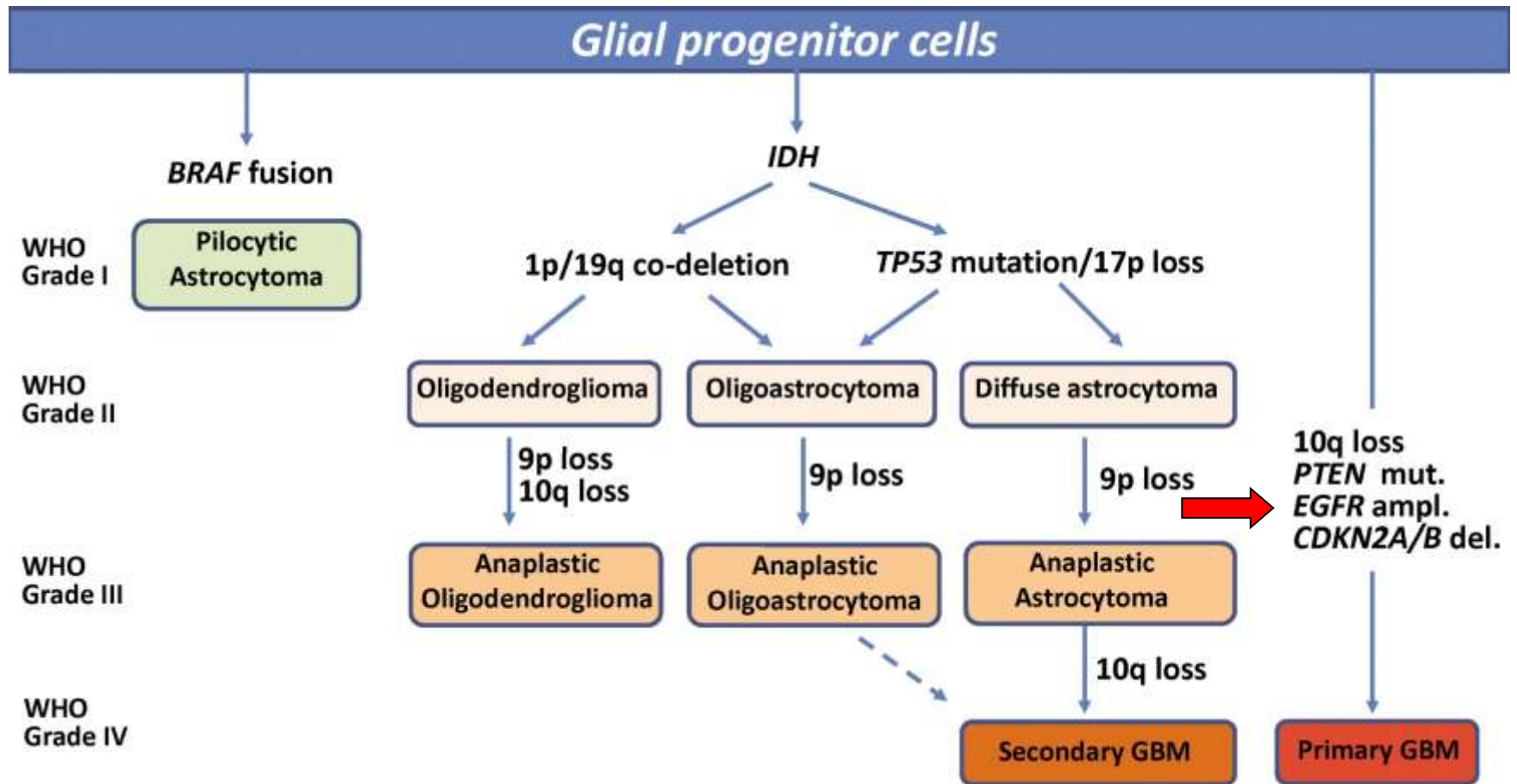
Nikiforova MN, Hamilton RL: Molecular Diagnostics of Gliomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 2011; 135:558-568.



# Tuumori supressori p53 mutaatio

- Todettavissa immunohistokemiallisesti tumavärjäytymisenä
  - Astrozytoomissa 53 %
  - Oligoastrozytoomissa 44 %
  - Oligodendroglioomissa 13 %
  - Sekundaarisissa glioblastoomissa 60 %
  - Primaareissa glioblastoomissa 25 %
- Ei varmaa ennusteellista merkitystä – apuna diagnostiikassa kuitenkin

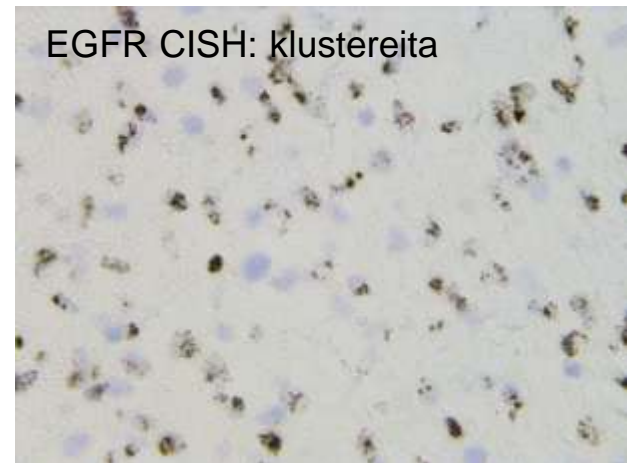
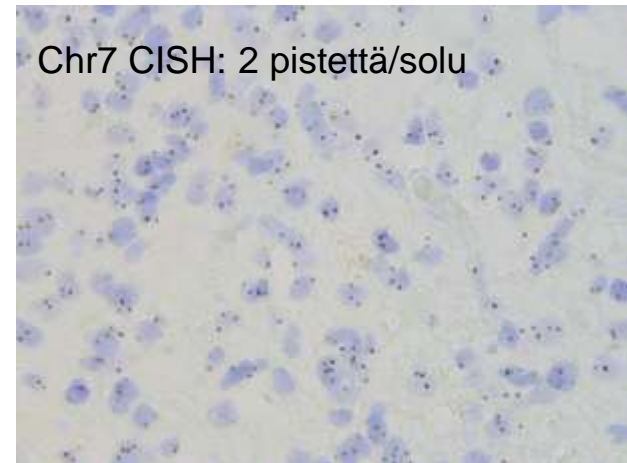




Nikiforova MN, Hamilton RL: Molecular Diagnostics of Gliomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 2011; 135:558-568.

# EGFR-amplifikaatio

- Todettavissa glioblastoomissa (30-40 %), anaplastisissa astrozytoomissa (17 %)
- Menetelmä: CISH
- Ei varmaa ennusteellista merkitystä
- Positiivinen tulos auttaa diagnostiikassa jos näyte on suboptimaalinen (tuumorin reuna-alue)



# Vertaileva genominen hybridisaatio (VGH)

- Tehdään tuumorinäytteestä eristetyistä DNA:sta mikrosirutekniikalla (HUSLAB)
- Auttaa erityisesti kasvaimen graduksen määrittämisessä, jos löytyy malignille taudille tyypillisiä DNA:n kopiomäärän lisäntymis- ja vähenemisalueita
- Selvittää 1p19q-deleetiostatuksen
- Käytetty Turussa harkiten

# Epigenetiikkaa: MGMT metylaatiostatus

- MGMTon DNA-vaurioita korjaava entsyymi (heikentää alkyloivien nukleotidianalogien tehoa)
- MGMT geenin promoottorialueen metylaatio hiljentää geenin ja ennustaa parempaa kemosädehoidon vastetta
- Metylaatiostatus voidaan tutkia parafiinileikkeistä eristetyistä DNA:sta (metylaatiospesifinen PCR + minisekvensointi; HUSLAB)
- MGMT:n metylaatio on positiivinen prognostinen ja prediktiivinen löydös
- MGMT on metyloitunut 40 %:ssa glioblastoomista

**hux lab**  
HUSLAB Genetikarabotatori PL 140 00028 HUS

VSSHP TYKS-SAPA Lähettänyt  
Patologia  
PL 52  
00521 Tiika

**GENETIKAN LAUSUNTO**  
Lähetetty 19.01.2012 klo 12:00  
Lähetettyä ei ole vastaanotettu. Näytä tila

VSSHP TYKS-SAPA, lausunto

**TYKS-SAPA**

**Sattilaudot:**  
Lähettäjä: IISÄÄRI: Gardberg Maria  
P. vastaus: 19.01.2012 11:28

**Lähetetty:**  
19.1.2012

Tu:MGMT-testitulosta käytetään glionnan ensisijaisen arvioinnissa ja glioblastooman kemo- ja sädehoidon tehoa arvioitaessa.  
O6-Metyyliguanosiini-DNA Metyyliguanosyyli (MGMT) on DNA:n korjausentsyymi, jota tulisi käyttää lisääntyä käyttävien alkylivien nukleotidianalogien vaikutusta. Metylaation määrän MGMT:n DNA-korjausaktiivisuus vähenee, mikä seurauksena voidaan saavuttaa parempi lähtöaste. Tutkimus todistaa viiteen tyyppiin.  
C=vaakasuora metylaationa, C1=8832, C1=4893, C1=6819, C=8893, C1=8837, MGMT geenin promoottorilla.

Tulosten perusteella käytetään lähtöasteena kemo- ja sädehoidon tehoa arvioitaessa (Mikro- ja RT-PCR) valmistettua parafiinileikkettä sisältäviä parafiinileikkkeitä, jotka tumorigenettisesti on luokiteltu "O6-Metyyliguanosyyli" vaikutusta. Metylaation määrän ja polymeraasiketjureaktion (PCR) jälkeen sytytämällä määrittämällä.

Tulokset: Tutkittujen C-vaakasuoran keskimääräinen metylaationaste on 40%, mikä parhaiten voidaan olettaa, että MGMT-aktiivisuus on alhainen.

Tutkija: Arto Orymäki  
Keskustelu: Anders Faurie

HUSLAB Genetikarabotatori PL 140 00028 HUS, puhelin 09-4711 Järvenpää 09-47170000 Fax 09-47170000 Sivu 1/1

# Mitä patologi yrittää kertoa lausunnossaan?

	Diagnostinen arvo	Prognostinen/prediktiivinen arvo
GFAP +	Poissulkee metastaasin	
Ki-67-indeksi	Proliferaatio antaa osviittaa graduksesta	
P53 +	Mutaatio puoltaa astrozytooman tai oligoastrozytooman diagnoosia	
1p19q deleetio +	Puoltaa oligodendrogliooman tai oligoastrozytooman diagnoosia	Parempiennusteinen ryhmä; vaikuttaa hoitopäätöksiin
IDH1 +	Varmistaa neoplastisuuden	Parempiennusteinen ryhmä
EGFR amplifikaatio +	Puoltaa malignia diagnoosia	
MGMT metylaatiostatus		Ennustaa vastetta alkyloivalle lääkkeelle; vaikuttaa hoitopäätöksiin (>65 v)

Työkaluna



Gradus II ja III glioomissa

Glioblastoomissa



Lyhenteitä:

FISH: Fluorescent in situ hybridization

CISH: Chromogenic in situ hybridization

VGH: Vertaileva genominen hybridisaatio

IDH: Isocitrate dehydrogenase

EGFR: Epidermal growth factor receptor

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

CDKN2A/B: Cyclin dependent kinase inhibitor 2 A/B

MGMT: O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase

Lukuvinkkejä:

Weller M et al (2013) Molecular neuro-oncology in clinical practice – a new horizon: Lancet Oncol.

Weller M et al. (2012) Personalized care in neuro-oncology coming of age: why we need MGMT and 1p/19q testing for malignant glioma patients in clinical practice. Neuro Oncol.

Goodenberger ML, Jenkins RB (2013) Genetics of adult glioma: Cancer Genet.

Kiitos!

