

Molekylærpatologisk diagnostik

Morten Grauslund

I de senere år har den medicinske onkologi oplevet store fremskridt med udviklingen af nye lægemidler til targeteret (personaliseret) patientbehandling. Ved targeteret behandling bliver patienter med samme sygdom behandlet forskelligt alt efter om deres genom har specifikke genetiske ændringer (biomarkører). Fælles for lægemidler til denne type patientbehandling er, at patientens tumorvæv først skal analyseres for specifikke genetiske ændringer som oftest er somatiske mutationer eller genamplifikationer/translokationer i onkogener. Som eksempler på lægemidler med godkendte behandlingsprotokoller til targeteret onkologisk behandling kan nævnes: trastuzumab (metastaserende brystcancer eller ventrikelcancer med overekspression af *HER2* gen), gefitinib, erlotinib og afitinib (ikke-småcellet lungecancer med muteret *EGFR* gen), crizotinib (ikke-småcellet lungecancer med rearrangeret *ALK* eller *ROS1* gener), cetuximab og panitumumab (metastaserende kolorektalcancer med normale *KRAS* og *NRAS* gener), imatinib (gastrointestinale stromal tumor med muteret *KIT* eller *PDGFRA* gener) og vemurafenib (metastaserende melanom med muteret *BRAF* gen). De molekylære analyser for de nævnte gener foretages på patologifdelingen i molekylærpatologisk laboratorium med forskellige molekylærbiologiske teknikker, såsom FISH hybridiseringsteknikken til detektion af strukturelle numeriske genforandringer såsom amplifikationer og translokationer, real-time PCR til detektion af specifikke mutationer eller PCR-baserede sekventeringsteknikker (Sanger- og pyrosekventering samt NGS (næste generationssekventering)) til detektion af somatiske mutationer i tumorvæv. De nævnte molekylærbiologiske teknikker har alle forskelle i hvilke typer af mutationer som kan detekteres samt analysefølsomhed for valide svar (% tumorceller ifht. normale celler i prøven).

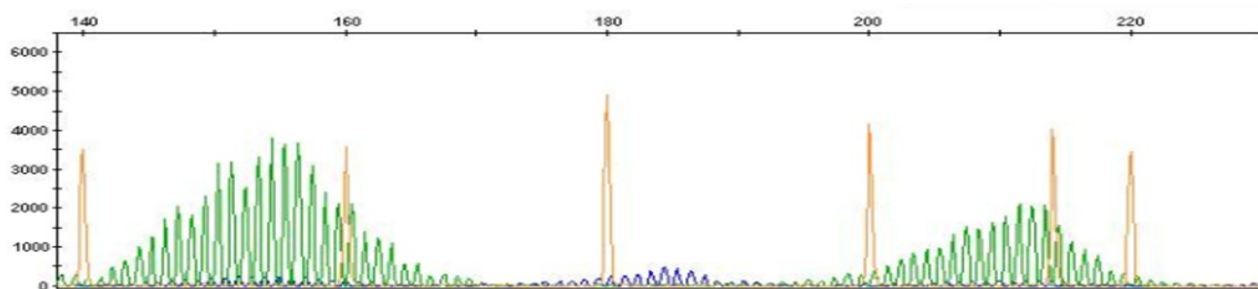
Da solide tumorer ofte er heterogene mht. mængden af tumorvæv og nekrose, er udvælgelse af det rette vævsmateriale et meget vigtigt første trin i en molekylærpatologisk analyse.

Derfor vurderes alle præparaters egnethed først af en patolog inden de kommer til molekylærpatologisk laboratorium. Vævet som analyseres er oftest formalin fixeret og paraffinindskøbt, men cytologisk og frosset væv bruges også ofte. Alle svar fra diagnostiske PCR analyser bliver til slut kodet og integreret i det patientens samlede patologisvar, som er tilgængeligt for de kliniske specialer via det elektroniske journalsystem, OPUS.

Udover molekylærbiologiske analyser med henblik på targeteret patientbehandling, udføres der også en del PCR og

FISH analyser mhp. komplementær diagnostik for en række forskellige sygdomme. Dette drejer sig f.eks. om klonalitätsanalyser (PCR-baserede fragmentanalyser af T-cellereceptorerne og immunoglobuliner til hæmatopatologisk diagnostik), *JAK2* og *KIT* mutationsanalyser (maligne hæmatologiske sygdomme), *EWS-FLI* genfusioner (sarkomer), fragmentanalyser (hjernetumorer), prionanalyser (Kreutzfeldt-Jacobs sygdom) og detektion af mykobakterier i lungevæv.

I 2013 blev der samlet udført >1200 PCR analyser og > 2000 FISH analyser for diagnostiske markører, mhp. komplementær diagnostik eller til selektion af kræftpatienter egnet til targeteret behandling, og f. eks. blev ca. 650 lungecancerpatienters tumorvæv analyseret for mutationer i *EGFR* gen, og i ca. 10% af disse patienter blev der fundet såkaldte "aktiverende mutationer" som gjorde disse patienter til kandidater til targeteret behandling med EGFR-hæmmende lægemidler.



Klonalitätsanalyse af TCR gamma gen for en polyklonal celleprøve