

Tab. 1. Tabulka klíčových genů a molekulárních profilů u primárních nádorů CNS

Typ tumoru	Geny/charakteristicky alterované molekulární profily ^a
astrocytom, IDH mutovaný	IDH1, IDH2, ATRX, TP53, CDKN2A/B
oligodendrogliom, IDH mutovaný s kodelecí 1p/19q	IDH1, IDH2, 1p/19q, TERT promotor, CIC, FUBP1, NOTCH1
glioblastom, IDH wildtype	IDH-wildtype, TERT promotor, chromozomy 7/10, EGFR
difuzní astrocytom, MYB nebo MYBL1 alterovaný	MYB, MYBL1
angiocentrický gliom	MYB
polymorfní low-grade neuroepiteliální tumor mladých	BRAF, FGFR rodina
difuzní low-grade gliom, MAPK dráha alterovaný	FGFR, BRAF
difuzní středočarový gliom, H3 K27 alterovaný	H3 K27, TP53, ACVR1, PDGFRA, EGFR, EZHIP
difuzní hemisferický gliom, H3 G34 mutovaný	H3 G34, TP53, ATRX
difuzní high grade gliom pediatrického typu, H3 wildtype, IDH wildtype	IDH wildtype, H3 wildtype, PDGFRA, MYCN, EGFR, metylom
hemisferický gliom infantního typu	NTRK rodina, ALK, ROS, MET
pilocytický astrocytom	KIAA1549::BRAF, BRAF, NF1
high grade astrocytom s piloidními rysy	BRAF, NF1, ATRX, CDKN2A/B, metylom
pleomorfní xantastrocytom	BRAF, CDKN2A/B
subependymální velkobuněčný astrocytom	TSC1, TSC2
chordoidní gliom	PRKCA
astroblastom, MN1 alterovaný	MN1
ganglionický tumor	BRAF
dysembryoplastický neuroepiteliální tumor	FGFR1
difuzní glioneurální tumor s oligoneurogliomu podobnými rysy a jadernými shluky	chromozom 14, metylom
papilární glioneurální tumor	PRKCA
glioneurální tumor s rozetami	FGFR1, PIK3CA, NF1
myxoidní glioneurální tumor	PDGFRA
difuzní leptomeningeální glioneurální tumor	KIAA1549::BRAF, 1p, metylom
multinodulární a vakuolizující neurální tumor	MAPK dráha
dysplastický cerebrální gangliocyto	PTEN
extraventriculární neurocytom	FGFR (FGFR1::TACC1), metylom
supratentoriální ependymom	ZFTA, RELA, YAP1, MAML2
ependymom zadní jámy	H3 K27me3, EZHIP, metylom
spinální ependymom	NF2, MYCN
meduloblastom, WNT aktivovaný	CTNNB1, APC
meduloblastom, SHH aktivovaný	TP53, PTCH1, SUFU, SMO, MYCN, GLI2, metylom
meduloblastom, non WNT/non-SHH	MYC, MYCN, PRDM6, KDM6A, metylom
atypický teratoidní/rhabdoidní tumor	SMARCB1, SMARCA4
embryonální tumor s vícevrstevnými rozetami	C19MC, DICER1
CNS neuroblastom, FOXR2 aktivovaný	FOXR2
CNS tumor s BCOR interní tandemovou duplikací	BCOR
desmoplastický myxoidní tumor pineální oblasti, SMARCB1 mutovaný	SMARCB1
meningiom	NF2, AKT1, TRAF7, SMO, PIK3CA, KLF4, SMARCE1, BAP1, H3K27me3, TERT promotor, CDKN2A/B
solitární fibrózní tumor	NAB2::STAT6
meningeální melanocytický tumor	NRAS, GNAQ, GNA11, PLCB4, CYSLTR2

Některé z výše zmíněných genů a jejich změny jsou důležité přímo pro určení či zpřesnění diagnózy, zatímco jiné jsou často alterované u dané diagnózy, ale nejsou esenciální pro určení diagnózy.

^a V tomto sloupci jsou nejprve řazeny geny, které jsou důležité pro určení diagnózy. Většina typů nádorů nese specifický metylační profil, avšak „methylom“ je v tomto sloupci uvedeno pouze u typů, u kterých je jeho testování důležité při stanovení diagnózy či rozřazení do subtypů. H3 je tu označena genová rodina, do které spadají především geny H3F3A a HIST1H3B (Louis et al., 2021; upraveno).

tedy můžeme detekovat i případné subklony nádorového onemocnění. Reportují se varianty/mutace s klasifikací patogenní, pravděpodobně patogenní a varianty nejasného významu (Li et al., 2017). Na obrázku 3 jsou

vizualizovány výsledky metod Sangerova sekvencování a NGS genu *IDH1*.

Pro detekci genových fúzí je zapotřebí v prvním kroku izolovat RNA ze vzorku tkáně a ověřit její kvalitu. Následuje buď RT-

-PCR k detekci specifické fúze (např. fúze *ZFTA:C11orf95*, *YAP1:MAMLD1* specifické pro ependymomy, *KIAA1549:BRAF* pro pilocytický astrocytom a difuzní leptomeningeální glioneurální tumor), nebo se využívá metodika NGS pro identifikaci fúzí při zapojení alespoň jednoho genu ve fúzi v cíleném NGS panelu. RNA NGS se využívá k detekci fúzí v různých exonech vyšetřovaného genu, k hodnocení exon „skippingu“ a hladin exprese, např. lze využít Archer FusionPlex NGS panely (Archer/Invitae, Boulder, USA) (Archer FUSIONPlex Pan Solid Tumor v2 panel [online], cit. 21. 12. 2023).

Další metodou, která umožňuje hodnocení počtu kopií genu nebo oblastí DNA (detekce delecí, duplikací, CNV – „copy number variation“), je MLPA („multiplex ligation probe amplification“). Na rozdíl od metody I-FISH se touto metodou vyšetřuje již izolovaná DNA. Výhodou je možnost multiplexní reakce, kdy se může současně analyzovat až 60 cílů v genomu. Limitací metody pro analýzu nádorové tkáně je nutnost mít alespoň 50 % nádorových buněk ve vyšetřovaném materiálu. Pomocí metody MLPA je možné detekovat CNV (např. *PDGFRA* 4q12, *EGFR* 7p11.2, *CDKN2A* 9p21.3), ale i bodové mutace (např. *BRAF-IDH1-IDH2*) nebo metylaci pomocí metylačně specifické MLPA (MS-MLPA) (<https://www.mrcholland.com/> [online], cit. 19. 12. 2023; Schouten et al., 2002).

V rámci diagnostiky a léčebné strategie se u nádorů CNS rozvíjí metylační analýza. Přínosná může být informace o metylaci určitých lokusů (např. metylace promotoru genu *MGMT*) nebo komplexní metylace dané tkáně (tzv. metylační profil). Pro detekci metylace specifických lokusů DNA se může využívat metylačně specifická PCR (kvalitativní metoda) nebo metylačně senzitivní MLPA (MS-MLPA; semi-quantitativní metoda). Na trhu existuje např. komerčně dostupný kit MS-MLPA (MRC Holland, Amsterdam, Netherlands) pro detekci metylace promotoru genu *MGMT* a bodových mutací v genech *IDH1* (p. R132H=c.395G>A a p. R132C=c.394C>T) a *IDH2* (p. R172K=c.515G>A a p. R172M=c.515G>T) v jedné reakci, což představuje zajímavé řešení pro rychlý kombinovaný screening daných prediktivních genů (<https://www.mrcholland.com/> [online], cit. 19. 12. 2023).