

## Molekuláris diagnosztika

Szerző: Tóth Erika, Bödör Csaba

### A minta

A molekuláris diagnosztikában gold standardnak tekintjük a szövetmintát. Emellett cytologiai kenet és sejtblokk is alkalmas molekuláris vizsgálatokra. Amennyiben ezek nem elérhetők, alkalmas lehet a vér vagy egyéb testfolyadék is. Jelenleg inkább a hot spot mutációk, amplifikációk kimutatására alkalmazzuk a liquid biopsziát, de a jövőben nagy fejlődés várható ezen a téren. Vannak olyan klinikai helyzetek, pl. központi idegrendszeri érintettség, amikor nem lehet szövetmintát venni, itt óriási jelentősége van a liquid biopsziának. Az analitikai, klinikai validitás és a klinikai alkalmazhatóság döntő fontosságú a liquid biopszia jövőben való szélesebb körű elterjedése szempontjából.

### Preanalítika

A formalin fixált sejtblokk, biopszia és reszekciós specimenek esetén a hideg ischaemiás idő, a formalin koncentrációja, a formalin fixálás ideje és a paraffin hőmérséklete befolyásolja leginkább a paraffinos mintákból izolált DNS és RNS minőségét.

Az alábbi táblázatban láthatók a DNS, RNS minőségét befolyásoló tényezők.

<b>Hideg ischaemiás idő</b>	Lehetőség szerint rövidebb, mint 20 perc, maximum 1 óra. Vákuumfóliázással 4C-on hosszabb ideig sem károsodik a minta.
<b>Fixálás hőmérséklet</b>	Szobahőmérséklet
<b>Formalin koncentráció</b>	10% neutrális pufferolt formalin
<b>Formalin fixálás ideje</b>	Minimum 6 óra, maximum 48 óra, de 36 órás fixálás után jelentősen károsodik a DNS. A fixálás idejét rögzíteni kell.
<b>Paraffin hőmérséklete</b>	<60C
<b>Fixálószer mennyisége/ szövet méret</b>	15-20:1
<b>Szövet vastagsága a blokkban</b>	Max 4mm
<b>Szövetblokk tárolási hőmérséklete</b>	Szobahőmérséklet ~27C

### Módszerek

A jövőben egyre inkább az NGS (új generációs szekvenálás) alapú módszerek kerülnek előtérbe a monogén vizsgálatokkal szemben. Az NGS alapú diagnosztika lassabb terjedésének elsősorban finanszírozási okai vannak. Egyelőre inkább kisebb célzott panelek (30-50 gén) alkalmazása tűnik realitásnak és második körben a széleskörű genomikai vizsgálat (CGP ~500 génes panelek), de a gyors fejlődést figyelembe véve elképzelhető, hogy hamarosan a CGP lesz az első választandó metodika. Jelenleg a széleskörű genomikai profilozás molekuláris oncoteam döntés alapján történik.

Várhatóan a CGP terjedése a molekuláris diagnosztikát egyre inkább a centralizáció irányába fogja tolni. Jól szervezett, minőségbiztosított centrumokra van szükség, ahol a technikai feltételek és a humán erőforrás egyaránt adott.

### **Patológus-onkológus együttműködése**

Mivel a molekuláris patológia eredményei az optimális terápia kiválasztását szolgálják, alapvetően a klinikus felelőssége, hogy mikor és milyen típusú vizsgálatot kér a patológustól. Ugyanakkor az egyes vizsgálatok végzését befolyásolja a minta típusa, minősége, tehát mindenképpen szoros együttműködésre van szükség az optimális vizsgálat tervezéshez. Ez a szervspecifikus oncoteamben történik meg általában. A CGP indikációja és az eredmények értelmezése a molekuláris tumorboard feladata jelenleg Magyarországon.

Az optimális terápia tervezéshez az a legideálisabb, ha minden beteg esetében az elsővonalas terápia megkezdése előtt megtörténik a molekuláris patológiai vizsgálat. Tüdő adenocarcinómák kezelésének kezdete előtt például ez ma már rutin. Magas kockázatú betegcsoportban, ahol alacsony a gyógyulási esély és magas a relapszus arány, kiemelten fontos, hogy az elsővonalas kezeléssel egyidőben elkezdjék az NGS alapú terápia tervezését. A hatékony, gyors diagnosztika feltétele, hogy az onkológus időben indítsa a kérést és a patológus is tisztában legyen az adott tumor típusban szükséges vizsgálatokkal, mivel ez befolyásolhatja a minta kezelést a szövettani diagnosztika során. Ahhoz, hogy a szövettani feldolgozás mellett biztosan elegendő anyag maradjon molekuláris diagnosztikára, nagyon fontos a jól képzett asszisztencia és a szövettakarékos gondolkodásmód. Daganatok szövettani diagnosztikája során már a kezdetektől szem előtt kell tartani, a szinte ma már minden esetben felmerülő molekuláris vizsgálat anyag szükségletét. A szövettani leletekben érdemes jelezni, mely blokkok alkalmasak molekuláris vizsgálatra, kis biopsziák, cytologiai kenetek esetében a minta tumorsejt tartalmát javasolt megadni. Emellett a minták útját kell megszervezni, hogy megfelelő időben eljussanak a molekuláris diagnosztikát végző centrumokba.

### **Leletátfutás**

A molekuláris patológiai diagnosztikára a szövettani diagnosztikára is érvényes leletátfutási elvárások érvényesek. Általában 10 munkanapban határozzák meg az elvárt leletátfutást. Kisebb génpaneles vizsgálatok esetén, ha validált rendszerekkel dolgozunk ez általában tartható. Ahol első vonalban szükség van a genomikai profilozásra a terápiához, ott nagyon lényeges a jó laborszervezés, illetve centralizálás. Költséghatékonyan, megfelelő leletátfutással csak nagyobb esetszámmal lehet dolgozni, de az NGS alapú vizsgálatok leletátfutási ideje ideális esetben is legalább 12-14 nap. Az immunhisztokémiai vizsgálatok esetén 3-5 nap, a FISH vizsgálatok esetén 5 nap a nemzetközi elvárás.

A vizsgálatkérés során szükséges, hogy a klinikus kollégák feltüntessék a betegség kiterjedtségét, az előzetes terápiákat és molekuláris vizsgálatok eredményét.

### **Irodalom**

1. Compton CC, et al. Arch Pathol Lab Med. 2019;143:1346–1363;
2. Cree IA, et al. J Clin Pathol 2014;67:923–931.