

Název vyšetření: Kolorektální karcinom a karcinom pankreatu -

NGS panel 13 genů (analýza celých genů, jejich kódujících oblastí a míst sestřihu: APC, BRAF, CTNNB1, KRAS, MLH1, MSH2, MSH6, MYC, PIK3CA, PMS2, PTEN, STK11, TP53)

Kolorektální karcinom (CRC) je nádorové onemocnění trávicího systému postihující tlusté střevo a konečník. Riziko rozvoje onemocnění CRC je asi 4–5 % a toto riziko je spojeno s věkem, chronickými onemocněními a životním stylem. CRC je také způsobeno mutacemi v onkogenech, tumor supresorových genech a genech souvisejících s mechanismy opravy DNA. Podle původu mutace lze kolorektální karcinomy klasifikovat jako sporadické (70 %); vrozené (5 %) a familiární (25 %).

Molekulární patogeneze sporadického karcinomu je heterogenní, protože mutace mohou cílit na různé geny, zejména geny jako c-MYC, KRAS, BRAF, PIK3CA, PTEN mohou být použity jako prediktivní markery pro výsledek pacienta. Přibližně 70 % případů CRC však následuje po specifické posloupnosti mutací, které jsou poté převedeny do specifické morfologické sekvence, počínaje tvorbou adenomu a konče karcinomem. První mutace se vyskytuje v APC, tumor supresorovém genu, spouštějícím tvorbu nemaligních adenomů, nazývaných také polypy. Přibližně 15 % těchto adenomů se během 10 let změni v karcinom. Po této APC mutaci následují mutace v KRAS a TP53.

Vrozené typy rakoviny jsou způsobeny zděděnými mutacemi, které ovlivňují jednu z alel mutovaného genu, což znamená, že bodová mutace v druhé alele spustí vznik nádorové buňky a následně karcinomu. Aby bylo možné vytvořit přesnější klasifikaci vrozených nádorů, byly stanoveny dvě skupiny, polypózní a nepolypózní formy. Polypózní varianta zahrnuje především familiární adenomatózní polypózu (FAP), která je charakterizována tvorbou mnohočetných potenciálně maligních polypů v tlustém střevě. Naproti tomu dědičný nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC) souvisí s mutacemi v mechanismech opravy DNA. Hlavní příčinou HNPCC je Lynchův syndrom, který je způsoben dědičnými mutacemi v jedné z alel kódujících proteiny opravy DNA, jako jsou MSH2, MLH1, MLH6 a PMS2. Lynchův syndrom lze nalézt u 2–3 % všech případů kolorektálního karcinomu, a je proto nejčastějším syndromem ve skupině HNPCC. Familiární kolorektální karcinom představuje přibližně 25 % všech případů a je také způsoben dědičnými mutacemi, ačkoli sám o sobě není klasifikován jako dědičný karcinom, protože nemůže být zahrnut do žádné dědičné varianty karcinomu.

Špatná včasná diagnóza u karcinomu slinivky břišní byla dříve připisována pozdním příznakům. V průběhu let se zlepšila diagnostika rakoviny slinivky břišní, což může být spojeno s pokrokem v zobrazovacích technikách a také s rostoucími znalostmi o genetice. Ke zvýšenému riziku rakoviny slinivky břišní přispívají rizikové faktory: kouření, nadváha, obezita, expozice chemikáliím (benzen, petrochemie, barviva a pesticidy), věk, pohlaví, rasa, rodinná anamnéza, dědičné genetické syndromy, cukrovka, chronická pankreatitida, cirhóza jater, žaludeční problémy, diety, káva a alkohol.

APC - antagonist signalizační dráhy WNT, zapojen také do dalších buněčných procesů jako je migrace, adheze, transkripční aktivace a apoptóza.

BRAF - kóduje kinasu umístěnou v EGFR signální dráze za KRAS.

Nejčastěji mutací BRAF je missense mutace (V600E), která vede k aberantní aktivaci MEK-ERK dráhy a CRC karcinogenezi. Předpokládá se, že v případě nádorů bez mutace (wt) genu KRAS může mít mutace BRAF prediktivní/prognostickou roli v odpovědi na anti-EGFR léčiva.

CTNNB1 - β -Catenin hraje klíčovou roli v signalizaci Wnt kaskáda. β -Catenin je mutován až u 10 % všech sporadický kolorektální karcinom. Bylo zjištěno, že buňky obsahující mutantní APC mají zvýšené hladiny β -kateninu a 80 % případů rakoviny tlustého střeva mají APC mutace.

KRAS - patří do rodiny RAS (retrovirus associated DNA sequences) původně izolovaných z myších sarcoma virů. Sekvence všech RAS genů jsou vysoce konzervovány a mají podobnou exon intronovou strukturu. Proteinovým produktem je p21 protein s vnitřní GTPázovou aktivitou. Je součástí signálních buněčných kaskád, které zprostředkovávají přenos signálů z aktivovaných receptorů do buněčného jádra a tak stimulují buněčnou proliferaci a diferenciaci.

MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 - Lynchův syndrom je autozomálně dominantně dědičný syndrom, který je způsoben zárodečnými mutacemi genů pro reparaci DNA, jako jsou MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2. 90% mutací CRC je v genech MLH1 a MLH2. Gen PMS2 poskytuje instrukce pro tvorbu proteinu, který hraje zásadní roli při opravě DNA (při replikaci DNA).

MYC - indukuje tumorigenezi tím, že obchází kontrolní body buněčné proliferace, apoptózy a/nebo stárnutí. Při supresi MYC jsou tyto bariéry obnoveny, což umožňuje trvalou regresi nádoru.

PIK3CA - katalytická podjednotka PI3K, je mutována v mnoha různých nádorech, včetně CRC. Mutace PIK3CA nalézáme u 10–20 % CRC, asi 80 % mutací nalezených ve dvou hot spotech v exonu 9 a exonu 20. U CRC divokého typu RAS byly mutace PIK3CA spojeny s horším klinickým výsledkem a negativní predikcí odpovědi na cílenou terapii anti-EGFR monoklonálními protilátkami. Mutace PIK3CA se jeví jako slibný prediktivní biomarker.

PTEN - role v supresi PI3K–AKT–mTOR signální dráhy, kterou je regulováno buněčné přežití, proliferace a hospodaření s energií.

STK11 (také nazývaný LKB1) - poskytuje instrukce pro tvorbu enzymu serin/threonin kináza 11. Tento enzym má roli nádorového supresoru.

TP53 - reguluje odpověď na buněčný stres, expresi genů, zahrnutých v zastavení buněčného cyklu, apoptóze a opravě DNA.

Při tvorbě knihovny je používáno amplifikační obohacení. Pokud by se zjistila jakákoliv odchylka, např. nedostatečné množství osekvenovaných readů, jejich horší kvalita, nedostatečné pokrytí jednotlivých úseků, apod., sekvenční běh se opakuje.

V případě nalezení patologické či suspektně patologické varianty analýzou NGS dat, se její přítomnost potvrzuje Sangerovým sekvenováním.

V rámci hodnocení NGS dat jsou filtry nastaveny tak, aby byly analyzovány pouze výše uvedené geny vyžádané lékařem. Nedochozí tedy k sekundárním/nevyžádaným nálezům.

Jednotky: -

Referenční hodnoty:

Nalezené varianty řadíme dle účinku do kategorií: patologická, suspektně patologická, varianta nejasného významu, suspektně benigní a varianta benigní. Nalezené varianty jsou detailněji popsány v závěrečné zprávě.

Varianty suspektně benigní nebo benigní vydáváme ke zprávě na vyžádání.

Odběr:

- Nesrážlivá periferní krev 2x (1x pro verifikaci případného pozitivního výsledku), zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA nebo citrátem sodným
- Krev nesmí být odebrána do heparinu!
- Pro molekulárně genetické vyšetření stačí 2 ml krve v malé zkumavce.
- Odběr není třeba provádět na lačno!
- Odebraný materiál (krev) je třeba skladovat při 4-8°C, pokud není bezprostředně po odběru zaslán do laboratoře. Za těchto podmínek je možné uchovávat biologický materiál 7 dnů. Pokud se předpokládá delší uskladnění před odesláním do laboratoře, je vhodné odebraný biologický materiál zamrazit.

Biologický materiál: 2x nesrážlivá periferní krev

Provádí se: 1 x 45 dnů

Doba odezvy: 45 pracovních dnů