

Molekularpathologie - Anforderungsformular

Patient/in Name:	Bemerkungen:
Geb.-Datum:	
Untersuchungsmaterial/Journalnummer:	Eingangsnummer:
Einsendende(r) Ärztin/Arzt:	Eingangsdatum:

Analyse (Bitte ankreuzen)

Mutationsanalysen solider Tumoren

- KRAS** (Codon 12/13): kolorektales Karzinom
- EGFR** (Exon 18-21): Lungenkarzinom
- BRAF** (V600X): malignes Melanom, kolorektales Karzinom, papilläres Schilddrüsen-Karzinom
- NRAS** (Codon 12/13/61): malignes Melanom
- ALK** Rearrangements (z. B. ALK-Fusionen mit EML4) mit Fluoreszenz in situ Hybridisierung (Vysis ALK Break Apart FISH): Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom

Mammakarzinom Diagnostik

- Her2/neu** - Genamplifikation mit PATHVysion® (Fluoreszenz in situ Hybridisierung, FISH)
- uPA/PAI-1** - Bestimmung (Femelle® Test, nur aus **Frischgewebe**)

Magenkarzinom Diagnostik

- Her2/neu**- Genamplifikation mit PATHVysion® (FISH)

Blasenkarzinom Diagnostik

- Nachweis einer Aneuploidie mit UROVysion® (FISH-Centromersonden 3/ 7/ 17, Genlocus p16 [9p21])

Neurologische Tumoren

- MGMT** Methylierungsanalyse: Glioblastom

Erreger Diagnostik

- Borrelia burgdorferi*
- Mycobacterium tuberculosis* und atypische Mykobakterien
- HPV (Subtypenanalyse)

Hämatopathologische Diagnostik

- B-Zell-Klonalitätsanalyse (FR2 und FR3): Lymphome
- T-Zell-Klonalitätsanalyse (TCR): Lymphome
- Jak 2 (V617F): Myeloproliferative Neoplasien

Sonstige Analysen

- DNA Zytometrie:** Prostata-Karzinom, Mundschleimhautbürstenbiopsien, gynäkolog. Tumoren, Graviditätsanalyse

Molekularpathologische Untersuchungen - Information

Personalisierte Medizin rückt zunehmend in den Focus der heutigen Behandlung von Krebspatienten. Vor allem in der Onkologie beeinflussen Kenntnisse über die Unterschiede auf molekularer Ebene die Behandlungsentscheidung und geben Prognosen für deren Erfolg. So ist z. B. für die Therapie von soliden Tumoren mit monoklonalen Antikörpern oder Tyrosinkinase-Inhibitoren der Behandlungserfolg von der molekularen Beschaffenheit bestimmter Schlüsselgene abhängig.

Beim **nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC)** profitieren vor allem Patienten mit primären Mutationen im EGFR-Gen (Exon 18, 19, 20 und 21) zunächst von einer Therapie mit Tyrosinkinase-Inhibitoren (Erlotinib und Gefitinib). Jedoch entwickeln ca. 50% der Patienten, die initial positiv auf eine Therapie mit Gefitinib oder Erlotinib angesprochen haben, eine sekundäre Therapieresistenz, die durch sekundäre Mutationen im EGFR-Gen (z. B. Mutation T790M in Exon 20; Pao et al., 2005) ausgelöst werden. Daher ist die Kenntnis des Mutationsstatus des EGFR-Gens in Exon 18 - 21 vor und nach der initialen Behandlung von großer Bedeutung. Bei Patienten mit EGFR-Wildtyp (nicht mutiert) können weiterhin jedoch Mutationen im KRAS oder ALK-Gen auftreten, da sich die Mutationen dieser Gene wechselseitig ausschließen (Wong et al., 2009). Patienten mit einer Fusion des ALK-Gens mit EML4 profitieren von einer Therapie mit Crizotinib.

Maligne Melanome besitzen bis zu 90% eine Mutation im BRAF-Gen. Patienten mit einer BRAF-Mutation (V600X) profitieren vor allem von einer Therapie mit Vemurafenib.

Im Gegensatz dazu sprechen beim **kolorektalen Karzinom** nur Patienten auf eine Therapie mit monoklonalen Antikörpern (Cetuximab und Panitumumab) an, deren KRAS bzw. BRAF-Gen in der Wildtyp-Form vorliegt. Jedoch gibt es bereits erste Hinweise auf ein unterschiedliches Therapieansprechen bei verschiedenen Mutationen des KRAS-Gens (De Roock et al., 2010), weshalb die Identifizierung der vorkommenden Mutationen unabdingbar ist.

Weiterhin haben nicht nur genetische Veränderungen im Sinne von Mutationen Auswirkungen auf das Zellwachstum, sondern auch epigenetische Abberationen, wie die Methylierung von Genen. Die Untersuchung des Methylierungsstatus des MGMT-Genpromotors bei **Glioblastomen** gibt eine prognostische Aussage über das Ansprechen einer Therapie mit Temozolomid.

Übersicht der molekularpathologischen Untersuchungen

Tumorentität	Gen	Untersuchter Genabschnitt	Therapie
Kolorektales Karzinom	KRAS BRAF	Exon 2 Exon 15	Cetuximab, Panitumumab Cetuximab, Panitumumab
Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom	EGFR ALK	Exon 18 - 21	Erlotinib, Gefitinib Crizotinib
Malignes Melanom	BRAF	Exon 15	Vemurafenib
Glioblastom	MGMT	Promotorregion (Methylierung)	Temozolomid

Material

Paraffinblöcke vom Tumor oder 10 µm-Schnitte (3-5 in Abhängigkeit von der Tumorgroße) aus FFPE-Gewebe und auf Objektträgern fixiert für die molekulare Diagnostik bzw. histopathologische Begutachtung.

Methode

Die entsprechenden Tumorbereiche werden durch die histopathologische Untersuchung markiert und Material für die DNA-Isolierung mikrodissiziert. Durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden bestimmte Genabschnitte amplifiziert. Eine Schmelzkurvenanalyse gibt zunächst Aufschluss über das Vorliegen (k)einer Mutation bzw. Methylierung. Durch Didesoxy-Sequenzierung nach Sanger wird die Mutation bzw. der Methylierungsgrad des Gens identifiziert.

Dauer der Untersuchung

5 Tage

Literatur

De Roock W et al (2010) Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. JAMA 304: 1812-1820
Pao W et al (2005) Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. PLoS Med 2(3): e 73
Wong DW et al (2009) The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from non-smokers with wildtype EGFR and KRAS. Cancer 115: 1723-1733