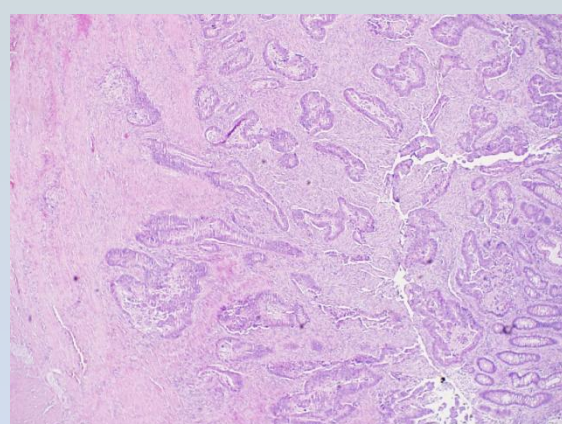


Kristina Štingl, Matea Kos, Tea Grubišić, Arijana Pačić, Iva Škifić, Zorana Lipšanski

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

## UVOD

- Kolorektalni karcinom jedan je od vodećih uzroka pobola i smrtnosti u europskoj i svjetskoj populaciji<sup>1</sup>.
- povećana incidencija nakon 50. godine života



Slika 1: Adenokarcinom debelog crijeva

## ZNAČAJNOST MSI (engl. *Microsatellite Instability*) I MOLEKULARNOG TESTIRANJA KOD PACIJENATA S KOLOREKTALNIM KARCINOMOM

- prediktivni biomarkeri
- na zahtjev onkologa ili prema procjeni patologa
- Imunoterapija je preferirana opcija liječenja kod dMMR/MSI-H kolorektalnog karcinoma koja rezultira dugotrajnim odgovorom na terapiju kod otprilike 40-50% pacijenata<sup>2</sup>.
- Nalaz aktivirajuće mutacije RAS gena povezan je s lošim odgovorom na imunoterapiji blokatorima EGFR dok se kod nepostojanja mutacije očekuje pozitivan učinak terapije<sup>3</sup>.

Rezultati određivanja MSI	
	Broj pacijenata (%)
Stabilni	63 (94)
Nestabilni	4 (6)
<b>Ukupno</b>	<b>67 (100)</b>

Mikrosatelitski nestabilni karcinomi	
	Broj pacijenata (%)
Jedan negativan protein*	1 (25)
Dva negativna proteina**	3 (75)
<b>Ukupno</b>	<b>4 (100)</b>

\* PMS2  
\*\* 2 pacijenta su imala kombinaciju negativnih proteina MLH1 i PMS2, a 1 kombinaciju MSH6 i PMS2

## MATERIJALI I METODE

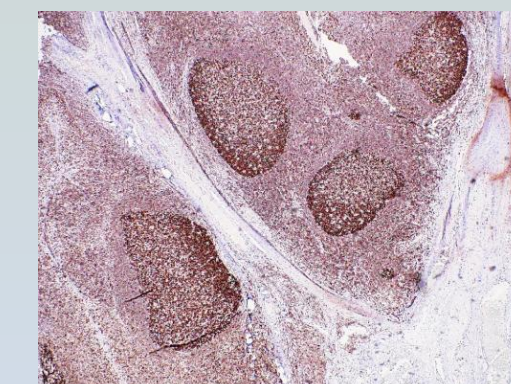
Izabrana je skupina od 67 pacijenata sa dijagnosticiranim kolorektalnim karcinomom kojima je u razdoblju od rujna 2022. do listopada 2023. napravljeno MSI i molekularno RAS/BRAF testiranje

### Određivanje MSI:

- iz parafinskih blokova
- imunohistokemijski na uređaju *Ventana* (Roche)
- protutijela MLH1 (M1), MSH2 (G219-1129), MSH6 (SP93), PMS2 (A16-4)
- potrebna je prisutna pozitivna kontrola (tkivo tonzile)
- negativnost 1 ili dvaju proteina upućuje na mikrosatelitsku nestabilnost karcinoma
- program vanjske kontrole kvalitete (NordIQC)



Slika 2: Uređaj za imunohistokemijsko bojanje i *in situ* hibridizaciju *Ventana* (Roche)



Slika 3: Pozitivno obojeno tkivo tonzile (protutijelo MSH6)

### Molekularna analiza:

- iz parafinskih blokova, staničnih blokova, citoloških razmaza
- real-time PCR metoda na uređaju *Idylla* (Biocartis)
- detekcija BRAF, KRAS, NRAS, EGFR, MET, RET, NTRK, IDH 1 i 2, PIK3 CA mutacija, MSI
- jednostavna priprema i rukovanje testom (u nekoliko koraka), brzi, točni i precizni rezultati
- za provođenje analize potrebno je >10% tumorskih stanica
- program vanjske kontrole kvalitete QUIP (ESP)



Slika 4: Uređaj za real-time PCR *Idylla* (Biocartis)



Slike 5-11 (odozgo prema dolje): Postupak pripreme materijala za analizu na *Idylli*

## REZULTATI

Analiza RAS/BRAF mutacija	
	Broj pacijenata (%)
Bez mutacije	35 (52)
Sa mutacijom	32 (48)
<b>Ukupno</b>	<b>67 (100)</b>

Mutacije gena	
	Broj pacijenata (%)
KRAS	30 (94)
NRAS	0 (0)
BRAF	2 (6)
<b>Ukupno</b>	<b>32 (100)</b>

KRAS mutacije	
	Broj pacijenata (%)
Kodon 12	19 (64)
Kodon 13	3 (10)
Kodon 61	3 (10)
Kodon 117	1(3)
Kodon 146	4(13)
<b>Ukupno</b>	<b>30 (100)</b>

- Kod 2 pacijenta je bila prisutna i mikrosatelitska nestabilnost i KRAS mutacija; jedan pacijent je imao izraženu negativnost PMS2 i mutaciju na kodonu 12, a drugi negativnost MLH1 i PMS2 proteina te također mutaciju na kodonu 12

## ZAKLJUČAK

- Iako je postotak mikrosatelitski nestabilnih karcinoma navedenih u literaturi otprilike 10-15%, postotak od 6% je u našem slučaju proizlazi iz relativno malog broja pacijenata čiji su podaci analizirani
- KRAS mutacija je najzastupljenija mutacija kod kolorektalnog karcinoma (najčešće na kodonu 12). Ta mutacija ima utjecaj na progresiju, rezistenciju na terapiju i rekurenciju samog karcinoma, stoga je testiranje od iznimne važnosti kako bi se pacijentima s pozitivnom mutacijom omogućila ciljana terapija.

## LITERATURA

1. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol.* 2019;14:89-103.
2. Buchler T. Microsatellite Instability and Metastatic Colorectal Cancer - A Clinical Perspective. *Front Oncol.* 2022 Apr 28;12:888181
3. *Annals of Oncology* 0:1-37, 2016.

## IZVOR KLINIČKIH PODATAKA

Svi klinički podaci korišteni za izradu ovog postera su dobiveni iz Laboratorija za imunohistokemiju i molekularne analize Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Dubrava. Sve fotografije prikazane na posteru su autorske.