

Využití archivovaných parafínových bločků s formalinem fixovanou tkání (FFPE) pro molekulárně genetickou analýzu u difuzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL)

Marie Jarošová, Jana Kučerová, Patrik Flodr, Michaela Mikešová, Vít Procházka, Tomáš Papajík

¹ Hemato-onkologická klinika FN a LF UP Olomouc

² Ústav biologie LF UP Olomouc

³ Ústav klinické a molekulární patologie FN a LF UP Olomouc

SOUHRN

Současně platná molekulárně genetická subklasifikace pacientů s diagnózou difuzního velkobuněčného B lymfomu (DLBCL) do tří prognostických podskupin na základě expresního profilu je cílem mnoha genetických studií. V rutinní klinické praxi je však použití expresní čipové technologie pro většinu pracovišť nedostupné. Včetně potřebné technologie, je v některých případech pro molekulárně genetické laboratoře problémem získat kvalitní materiál, např. čerstvou tkáň, pro izolaci RNA k určení exprese genů. Jednou z možností je určovat expresi genů z RNA získané izolací z parafínových bločků. Cílem pilotní studie bylo provést izolaci RNA z archivovaných parafínových bločků z formalinem fixované tkáně (FFPE) nemocných s diagnózou DLBCL a ověřit možnost využití této RNA pro expresní analýzu 7 vybraných genů. Práce ukázala, že izolace RNA a určení exprese vybraných genů z archivovaného materiálu je možná, avšak naměřená relativní exprese některých genů vykazovala v našem souboru značně variabilní hodnoty pro využití pro jednoznačnou prognostickou klasifikaci. Potvrdili jsme, že při získání dostatečného množství materiálu je možné provést retrospektivní analýzy exprese vybraných genů, a že správná archivace i po 8 letech dovoluje molekulárně biologické analýzy.

Klíčová slova: DLBCL – parafínové bločky – exprese genů – qRT-PCR – genetické změny

Use of archival formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue samples for molecular genetic analysis in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)

SUMMARY

The currently valid molecular genetic subclassification of patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) into three prognostic subgroups based on expression profiling has been the objective of numerous genetic studies. In routine clinical practice, however, expression profiling technology remains unavailable for the most of centers. Apart from the technology, in some cases molecular genetic laboratories have problems obtaining high-quality material, i.e. fresh tissues, for RNA isolation to determine gene expression. One possibility is to determine the gene expression from RNA obtained by isolation from formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue. This pilot study aimed at isolating RNA from FFPE in patients diagnosed with DLBCL and verifying the potential use of such RNA for the expression analysis of 7 selected genes. Although the study showed that it is possible to isolate RNA and determine the expression of the selected genes from archival material, the values of relative expression of some genes in the set were too variable to be used for unambiguous prognostic classification. It was confirmed that retrospective analyses of selected genes may be performed with sufficient material obtained, and that properly archived blocks may be used for molecular biology analyses even after 8 years.

Keywords: DLBCL – FFPE – gene expression – qRT-PCR – genetic changes

Cesk Patol 2014; 50(2): 95-99

Revidovaná druhá verze WHO klasifikace (2008) považuje difuzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL) za heterogenní skupinu

Adresa pro korespondenci:

Prof. RNDr. Mgr. Jarošová Marie, CSc.,
Hemato-onkologická klinika FN a LF UP Olomouc
Hněvotínská 3, 77515 Olomouc
Tel: +420585632876 / Fax: +420588442517
marie.jarosova@fnol.cz

lymfomů a rámcově tento typ lymfomu rozděluje do čtyř hlavních skupin: DLBCL nespecifikovaný (Diffuse large B-cell lymphoma, NOS), podtypy DLBCL (Diffuse large B-cell lymphoma subtypes), jiné velkobuněčné lymfomy (Other lymphomas of large B cells) a hraniční případy (Borderline cases) (1). Členění je založeno na empirických znalostech klinických a morfologických s přihlédnutím k novým poznatkům z oblasti molekulární biologie. Pokroky v porozumění biologii DLBCL ukazují, že existuje několik odlišných podskupin, které jsou odrazem samotného vývojového stádia diferenciaci B lymfocytu, ve kterém