

Bioanalytikerens rolle i den integrerede diagnostik af hjernetumorer – nu og i fremtiden.



AF:
ANMAR OMARA KAFEL
Afdeling for Klinisk
Patologi, Odense
Universitetshospital.

ABSTRACT

Hjernetumorer er historisk blevet diagnosticeret på baggrund af histologiske og morfologiske kriterier. I 2016 blev diagnostikken af hjernetumorer revideret af Verdenssundhedsorganisationen (WHO). Diagnostikken af hjernetumorer baseres nu på en kombination af histo/morfologiske kriterier og molekylærgenetiske analyser – såkaldt integreret diagnostik. På Molekylærpatologisk Laboratorium (MPL), Afdeling for Klinisk Patologi (AKP), Odense Universitetshospital (OUH) tilbydes en række molekylærgenetiske analyser til hjernekræftpatienter, såsom et fokuseret CNS Next Generation Sequencing (NGS) panel samt helgenoms DNA metyleringsprofilering. Disse nye molekylærgenetiske analyser genererer store og komplekse datasæt. På nuværende tidspunkt er der mangel på viden om sammenhængen mellem disse datasæts bioinformatiske indhold og relevans ift. kræftudviklingen. En sådan indsigt er afgørende for at omsætte bioinformatiske data til konkrete analyser til gavn for patienten. Dette skaber et behov for specialbioanalytikere, der har viden og kompetencer til at analysere og fortolke nye molekylærgenetiske fund mhp. diagnosticering og behandling af patienter med hjernekræft vha. targeteret behandling – såkaldt personlig medicin. De kommende år vil byde på en række nye og spændende opgaver for bioanalytikerfaget, hvor professionen kommer til at spille en central rolle i implementeringen af en række nye molekylærgenetiske analyser til gavn for patienterne. Der er brug for videreuddannelse af bioanalytikerne, så de har en dybere forståelse for bioinformatiske og genetiske analyseresultater.

Nøgleord: Gliomer, Centralnervesystemet, histologi, molekylærpatologi, NGS, EPIC 850, Personlig Medicin. Specialbioanalytiker.

I Danmark diagnosticeres omkring 1500 nye tilfælde af hjernetumorer på årlig basis fordelt mellem mænd og kvinder (1). Hjernetumorer er en af de alvorlige kræftsygdomme, hvor den hyppigste hos primært ældre også er den mest aggressive med en gennemsnitlig overlevelsestid på 14 måneder (2). Der findes mere end 100 kendte typer af hjernetumorer, hvoraf de mest forekommende er gliomer, som udgår fra gliaceller (hjernens støttevæv) og meningiomer, som udgår fra meninges (hjernehinder).

Hjernetumorer er hidtil blevet diagnosticeret på baggrund af morfologiske og histologiske kriterier. Disse kriterier kan til tider være problematiske, da en række forskellige typer af hjernetumorer har fælles histomorfologiske karakteristika og derved kan være vanskelige at adskille (3).

I 2016 reviderede Verdenssundhedsorganisationen (WHO) klassifikationen af hjernekræft tumorer, så diagnostikken fremadrettet baseres på en kombination af histologiske og molekylærgenetiske analyser. Nye teknologiske muligheder i

kombination med grundforskning har resulteret i et paradigmeskifte for diagnostik af hjernetumorer. Udviklingen har skabt et nyt begreb i diagnostikken – integreret diagnostik (3). Den integrerede kræftdiagnostik bygger bro mellem den klassiske mikroskopibaserede patologi og de nye molekylærgenetiske analyser i en multidisciplinær indsats, med patienten i centrum. Målet er en præcis diagnose, målrettet behandling og på sigt en styrket forskningsindsats, der kan give endnu bedre og mere effektiv behandling.

Molekylærgenetiske analyser har gennem de seneste 10-15 år vundet større og større indpas i rutinediagnostikken. Nye højtspecialiserede molekylærgenetiske analyser, som Next Generation Sequencing (NGS), helgenoms DNA metyleringsprofilering (EPIC 850) og Pyrosekventering (MGMT status) har efter behov i de senere år været en del af rutinediagnostikken for hjerne-tumor patienter. De nye analyser, der udføres i Molekylærpatologisk Laboratorium på Afdeling for Klinisk Patologi, har udover den forbedrede

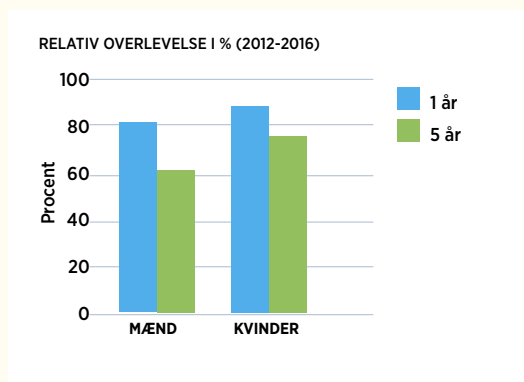
diagnostik også en prædiktiv og prognostisk værdi for patienterne.

TYPER OG KLASSEKATION AF HJERNETUMORER - WHO

Hjernetumorer kan enten være benigne eller maligne. De klassificeres og graderes ifølge WHO i fire grader efter type og væksthastighed/aggressivitet. WHO grad I og II er lav-grads tumorer (Tabel 1). WHO grad III og IV er høj-grads tumorer. Gliomer stratificeres i tre overordnede typer; astrocytomer, oligodendrogliomer og ependymer. Tumorerne kan enten være fokale (afgrænsede) eller diffuse (uafgrænsede). Glioblastom (GBM) er en diffus primær hjernetumor, der graderes som en grad IV tumor. GBM er et højgradsgliom og er den mest aggressive med en gennemsnitlig overlevelse på 14 måneder (2).

Type	WHO-grad	Molekylære markører
Astrocytoma	I-III	IDH 1+2, TP53 og ATRX
Oligodendroglioma	II-III	IDH 1+2, 1p/19q co-deletion og TERT
Ependymoma	I-III	CIorf95-RELA
GBM	IV	IDH 1+2, TERT og MGMT methylering.

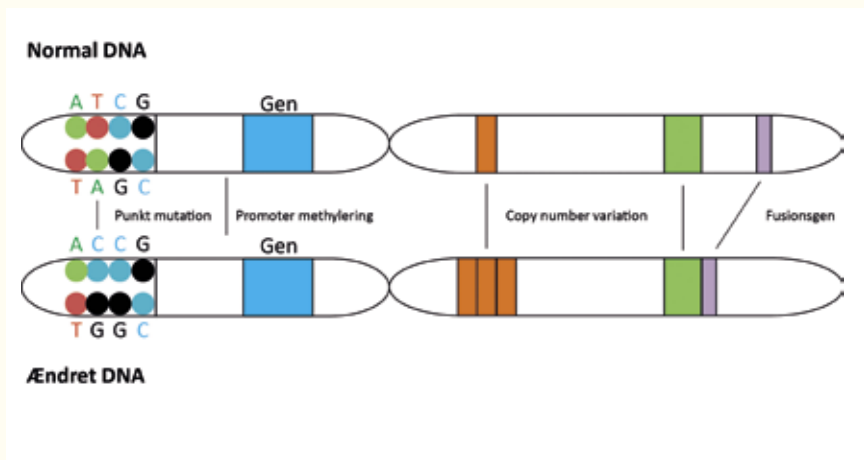
TABEL 1. WHO klassificeringen af hjernetumorer samt de mest almindelige molekylære markører der er involverede i udviklingen af hjernekræft. KILDE: WHO.



FIGUR 1. Den 1- og 5 årige relative overlevelse for hjernekræftpatienter fordelt mellem mænd og kvinder i Danmark i perioden 2012-2016. KILDE: NORDICAN.

GENETISKE FORANDRINGER/ MUTATIONER I HJERNETUMORER

De seneste 30 års intensive forskning i biokemiske, molekylære og genetiske teknikker har givet os en forståelse af, hvordan cellers vækst, stimulering og deling fungerer under normale forhold, og hvordan genmutationer kan føre til tumordannelse. Kortlægningen af molekylære mekanismer har givet os en indsigt i, hvilke gener/mutationer der er involverede i udviklingen af hjernetumorer. Disse molekylære forandringer tæller bl.a. punktmutationer, copynumber variations (CNVs), promoter hypermethylering, genfusioner og translokationer (Figur 2)(4).



FIGUR 2. Skematisk illustration af de forskellige typer molekylære forandringer der kan medføre kræft.

I det følgende afsnit vil to af de specialanalyser, der udføres på Molekylærpatologisk Laboratorium ved Afdeling for Klinisk Patologi, OUH blive gennemgået. Der er tale om et fokuseret CNS NGS panel og helgenoms DNA methyleringsprofilering. Molekylærpatologisk Laboratorium på OUH introducerede som de første i landet helgenoms DNA methyleringsprofilering som et diagnostisk redskab. Disse analyser giver mulighed for at undersøge en bred vifte af mutationer, der har en vigtig prognostisk og prædiktiv værdi ift. prognose og respons på behandlingen.

NEXT GENERATION SEQUENCING - FOKUSERET CNS PANEL

På Molekylærpatologisk Laboratorium, Afdeling for Klinisk Patologi, OUH udføres et fokuseret NGS CNS panel på hjernetumorer, der har til formål at detektere de hyppigst forekommende mutationer involveret i udviklingen af hjernetumorer. CNS panelet "Ion AmpliSeq™ CNS Next Generation Sequencing Panel v1" er blevet udviklet af en gruppe tyske forskere fra henholdsvis Düsseldorf Universitet og German Cancer Research Center (DKFZ) i optakten til WHO revisionen fra 2016(5). CNS panelet er designet til at analysere hele den proteinkodende sekvens i 15 gener, der er impliceret i hjernekræft samt hotspotmutationer (punktmutationer) i yderligere 5 gener.

Det fokuserede NGS CNS panel giver mulighed for at undersøge flere gener på en gang. Derudover giver panelet nye og forbedrede muligheder i forhold til den integrerede diagnostik af hjernetumorer. Panelet har en højere sensitivitet til detektion af punktmutationer i forhold til de klassiske analyser, som f.eks. immunhistokemi. Sensitiviteten for at detektere flere mutationer og varianter er ligeledes højere. Den generelle sensitivitet er mellem 97-100 % for de involverede 20 gener (5).



Fremtidens bioanalytikere har konkret ekspertviden indenfor molekylærgenetiske teknikker, analyser og bioinformatik.



**NEXT GENERATION SEQUENCING
- ARBEJDSFLOW**

CNS panelet udføres som en del af rutinediagnostikken for hjernetumorpasienter. NGS workflow'et på Molekylærpatologisk Laboratorium er veletableret, og der kan foreligge svar på NGS undersøgelsen i løbet af 4 dage fra modtagelsen af materialet, som typisk er biopsier taget på operationsstuen. Ved modtagelsen af materialet på AKP udføres en makroskopisk vurdering af en neuropatolog. Materialet bliver efterfølgende formalinfixeret og indstøbt i paraffin (FFPE) til den videre behandling. Neuropatologen vil vurdere materialet histologisk med hensyn til den procentuelle andel af tumorceller kontra andre celler (normale celler/nekrotiske celler). Ved små biopsier eller lave andele af tumorceller vil en makrodissektion være at foretrække for at få så meget tumorholdigt materiale som muligt til analysen.

DNA ekstraktion og kvantificering

Ekstraktion af DNA fra FFPE påbegyndes, når der er taget stilling til andelen af tumorceller og tumorens placering i vævet. FFPE materialet bliver enten skåret eller makrodissekeret alt efter materialets beskaffenhed og andelen af tumorceller. Materialet bliver efterfølgende afparaffineret og behandlet med en række ekstraktionsvæsker og enzymer for at frigive DNA'et. DNA'et bindes efterfølgende til en silicamembran og elueres til sidst. Prøverne bliver under oprensningen behandlet med enzymet Uracil-N-Glycolase (UNG) for at undgå falsk-positive resultater (C>T) som konsekvens af formalinfixeringen. Det oprensede DNA kvantificeres vha. TaqMan RNase P kittet for at bestemme materialets DNA koncentration.

Biblioteks fremstilling og sekventering

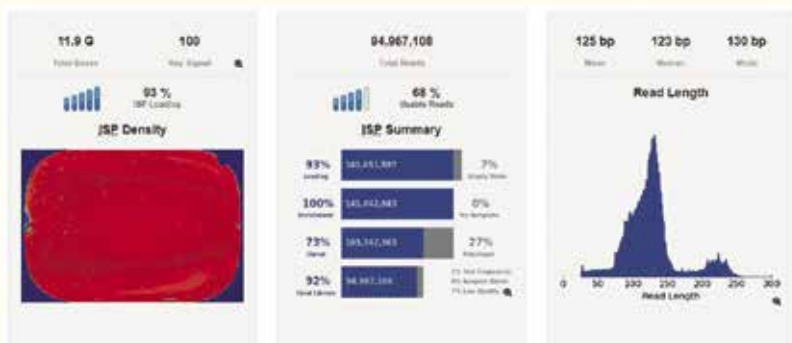
NGS biblioteker fremstilles manuelt med Ion AmpliSeq™ Library 2.0 og CNSv1 gliom panelet (2 pools bestående af 660 amplicons). Der anvendes 10 nanogram genomisk DNA til biblioteks fremstillingen. Amplifikation, ligering af adapter samt mærkning af DNA med IonXpress™ barcodes foregår manuelt. Emulsions-PCR og enrichment foregår enten semiautomatisk på Ion One-Touch™ 2 ved hjælp af Ion PGM™ Hi-Q™ View OT2 Kit eller fuldt automatisk på Ion Chef ved hjælp af Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ Kit-Chef. Sekventeringen foregår enten på Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM™) eller Ion GeneStudio S5 Prime. Ion 316™ og Ion 318™ chip anvendes til sekventering på PGM'erne med 300.000 - 400.000 reads. Ion 510™, Ion 520™ eller Ion 530™ chip anvendes på Ion GeneStudio S5 Prime alt efter, hvor mange biblioteker man ønsker at poole og sekventere, og hvor dybt man ønsker at sekventere (dækningsgraden).



FIGUR 3. NGS arbejdsflowet i Molekylærpatologisk Laboratorium. En typisk NGS opsætning strækker sig over 3 til 4 dage fra modtagelse af materiale til endelig svarafgivelse.

DATABEHANDLING

Amplicon sekvenser genereret efter sekventeringen analyseres ved hjælp af det NGS-baserede software Ion Torrent Suite™. Softwaren anvender en algoritme – Torrent Mapping Alignment Program (TMAP) til at sammenholde og "alignere" store datasæt overfor det humane genom (hg19) i de ønskede target regioner af CNSv1 panelet. Softwaren er i stand til at sammenholde prøvens eksperimentelle sekvenser overfor referencen og på denne måde finde diverse variationer og abnormaliteter i form af single nucleotid-polymorfismer (SNP), multinucleotid polymorfismer (MNP) og insertioner samt deletioner (INDELS). Analysen kan fokuseres yderligere ved at sammenholde data overfor en "Target Region" og en "Hotspot Region", altså genomiske områder, der har interesse.



FIGUR 4. En række kvalitetsparametre såsom loadningsprocent, brugbare reads og ampliconlængde kontrolleres af den ansvarlige bioanalytiker, inden bearbejdning af data påbegyndes. Figuren er et udklip fra ThermoFishers NGS software, Ion Torrent Suite.

DNA METHYLERINGSPROFILERING – NYT DIAGNOSTISK REDSKAB

Epigenetiske markører som DNA methylering og histonmodifikation har for nylig vundet større indpas i diagnostikken af hjernetumorer. Dette skyldes en kombination af en række faktorer, hvoraf de tre vigtigste er: 1) Hjernekræft diagnostik baseret alene på histologi har været udfordrende og til tider kompleks. 2) En række af de forskellige analyser der anvendes til f.eks. bestemmelse af (*MGMT* status), fluorescens in situ hybridisering (1p/19q co-deletion og *EGFR* status) og immunhistokemi (*CTNNB1* og *LIN28A*) har været vanskelige at standardisere (6). Sådanne analytiske variationer er ikke acceptable i den kliniske praksis, hvor standardisering er en afgørende faktor for gyldigheden af analysefortolkningen. 3) Nye teknologiske tiltag – i form af Illuminas Infinium Methylation EPIC microarray chip har banet vejen for at inkludere DNA methylering som led i rutinediagnostikken.

UNIK METHYLERINGSPROFIL FOR HJERNEKRÆFT-TUMORER

Helgenoms DNA methyleringsprofileringer baseret på Illuminasmicroarray chip teknologi. Det er en teknologi, der giver mulighed for at undersøge DNA methyleringsstatus i og omkring udvalgte gener i genomet. Ved DNA methyleringsprofilering genereres en unik profil for de enkelte hjernekræfttumorer fra patienterne. Disse DNA profiler kan efterfølgende sammenholdes og sammenlignes med en referencedatabase fra Heidelberg, Tyskland.

ODENSE SOM DE FØRSTE I DANMARK OG NORDEN

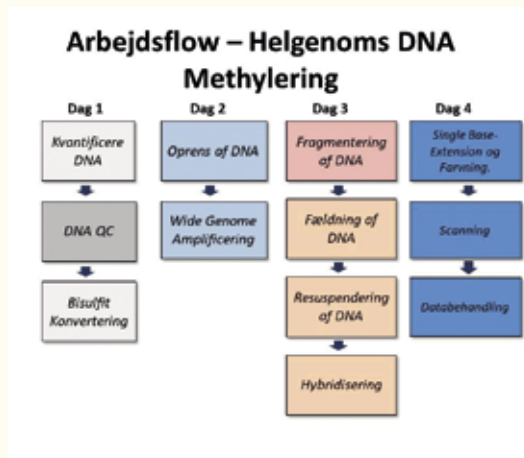
Afdeling for Klinisk Patologi, Molekylærpatologisk Laboratorium har siden 2016 som de første i Danmark og Norden udført Helgenoms DNA methyleringsprofilering som en del af diagnostikken for udvalgte CNS patienter. Denne analyse er særlig anvendelig ved vanskelige cases, hvor de traditionelle analyser, som immunhisto-

kemi og NGS, er utilstrækkelige. Analysen er blevet etableret i tæt samarbejde med neuropatologer fra Universitetshospitalet og Det Nationale Kræftforskningscenter (DKFZ) i Heidelberg. DKFZ's forskere har etableret en database med over 2800 hjernetumor-profiler, som man kan tilgå online og sammenholde egne resultater med.

Helgenoms DNA methyleringsprofilering-arbejdsflow

Helgenoms DNA methyleringsprofilering er en kompleks og tidskrævende analyse, der kræver høj ekspertise at udføre. Protokollen strækker sig over fire dage og indeholder bl.a. følgende trin;

- **Kvantificering** af det oprensede DNA fra FFPE materialet.
- **Kvalitetskontrol** af det oprensede DNA. DNA fra formalinfikseret væv er som regel fragmenteret, og en vurdering af startmaterialet er nødvendig.
- **Bisulfit konvertering.** DNA behandles med natrium bisulfit, hvorved umethyleret cytosin omdannes til uracil (thymin), mens methyleret cytosin forbliver uforandret. På denne måde kan man skelne mellem methyleret og umethyleret DNA.
- **Restoration af DNA.** Fragmenteret/nedbrudt DNA behandles med en blanding af enzymer (DNA polymerase, DNA Repair enzyme og liganse), der er i stand til at genopbygge det fragmenterede DNA til et amplificerbart niveau.
- **Helgenoms Amplifikation.** Denatureret (Bisulfit konverteret) DNA amplificeres vha. isotherm reaktion. DNA udbyttet øges 1000 fold, altså fra nanogram til flere mikrogram.
- **Fragmentering.** Det amplificerede DNA fragmenteres, således at fragmenterne er komplementære med de prober, der anvendes på chippen.
- **Hybridisering.** Det fragmenterede DNA anneraler (binder) til positionsspecifikke prober på chippen. Disse prober har en længde på 50 basepar samt en 23 basepar lang genkendelsessekvens til identifikation af probens lokalisering på chippen.
- **Singlebase Extension og farvning.** DNA'et forlænges med en enkelt base (single base extension) i 3' enden af CpG sitet for at afgøre C/T forholdet, som er afgørende for inkorporeringen af antistoffer. DNA'et fungerer som skabelon, hvorved to forskellige fluorokrom konjugerede antistoffer inkorporeres. Disse fluorokrom konjugerede antistoffer vil ved excitation med laserlys ved forskellige bølgelængder emitere lys ved en anden bølgelængde, der kan omsættes til et digitalt signal.
- **Scanning af chippen.** Chippen scannes vha. Illumina iScan, hvor intensiteten og dermed methyleringsgraden af de enkelte prøver kvantificeres og omsættes til en β -værdi.



FIGUR 5. Arbejdsflowet i helgenoms DNA metyleringsprofilering. En analyse der strækker sig over 4 dage. Kilde: Udklip fra Illuminas Infinium HD Assay Methylation Protocol.

DATABEHANDLING

Behandling af data foregår vha. analysesoftwaren Genome-Studio. Methyleringsgraden af DNA ved en given CpG site beregnes ved at se på signalforholdet mellem methyleret (C) og umethyleret (T) (kaldes for β -værdi). En β -værdi lig med 0 er ensbetydende med, at CpG sitet er umethyleret, mens en β -værdi på 1 er ensbetydende med, at CpG sitet er methyleret.

RESSOURCETUNGE SPECIALANALYSER

De molekylærgenetiske specialanalyser er meget omkostningstunge og tidskrævende for de enkelte laboratorier. Disse specialanalyser stiller høje krav til den faglige ekspertise og den interne organisering. I dag indgår de fleste specialanalyser som en del af de nationale pakkeforløb for kræft med faste svartider. De faste svartider udfordrer laboratorierne på kapacitetsudnyttelsen af personaleressourcer, apparaturer og fysiske forhold. Den teknologiske udvikling giver i disse år nye muligheder for effektivisering af ressourceanvendelse indenfor molekylærpatologien. Dyre apparaturanskaffelser i form af automatiseringsrobotter vil på sigt give en mere effektiv udnyttelse af personaleressourcer. Økonomisk er specialanalyserne omkostningstunge for den enkelte afdeling, men samlet set giver analyserne samfundet en betydelig besparelse. Disse analyser udfaser behovet for singleplex testning.

PERSONLIG MEDICIN – FRA GRUNDFORSKNING TIL IMPLEMENTERING

De seneste års bevågenhed omkring personlig medicin både i Danmark og globalt har ført til en "National Strategi for Personlig Medicin" samt etableringen af Dansk Genom Center. Den nye nationale fælles strategi for personlig medicin kombinerer viden, teknologi og samarbejde på

tværs af faggrupper på en ny og mere effektiv måde til gavn for patienterne.

Grundforskning og klinisk patientnær forskning udvikles løbende og skal over de kommende år styrkes og implementeres i klinisk praksis og diagnostisk øjemed. Bioanalytikerprofessionen er en central aktør i paradigmeskiftet fra standardbehandling til individualiseret og personlig behandling.

DATAANALYSE – BIOANALYTIKEREN SOM DIAGNOSTISK SAMARBEJDSPARTNER

Multidisciplinære Teamkonferencer (MDT) er et nyt obligatorisk tiltag med det formål at give patienten et individualiseret svar på baggrund af patientens individuelle forløb. Til disse MDT konferencer deltager flere faggrupper patologer, radiologer, neurokirurger, onkologer og molekylærbiologer for at drøfte patienterne mhp. at tilbyde individuel behandling. Derudover afholdes en national videokonference månedligt, med deltagelse af andre specialister fra hhv. Rigshospitalet, Århus Universitetshospital og Ålborg Universitetshospital. MDT konferencen skal munde ud i en samlet integreret diagnose, således at behandlingen kan tilpasses den enkelte patient.

Forud for konferencen er der genereret store og komplekse datasæt ifm. NGS analyserne og helgenoms DNA metyleringsprofilering. Disse datasæt skal analyseres, fortolkes og sammenfattes til konkrete svar for onkologerne. Dataanalyseopgaven varetages på nuværende tidspunkt af molekylærbiologerne på landets hospitaler. Denne opgave kan bioanalytikere godt varetage på sigt. Dette kræver en efteruddannelse af nuværende personale, således at de kan tilegne sig ny viden og kompetencer med fokus på bioinformatik (datafortolkning). Derudover skal bioanalytikerne have en dybere teoretisk indsigt i kvalitetssikringsprogrammer til NGS og andre molekylærgenetiske analyser.

Bioanalytikere på landsplan udfører på nuværende tidspunkt en bred vifte af komplekse analyser som pyrosekventering, NGS, helgenoms DNA metyleringsprofilering samt exom- og genomsekventering uden at deltage i fortolkningen og svarafgivelse af disse analyser. Vi skal som faggruppe og profession have forankret ny viden og færdigheder indenfor det bioinformatiske felt over de kommende år. Bioanalytikere skal som faggruppe være i stand til at fortolke og vurdere komplekse datasæt ifm. svarafgivelse. Fremtidens bioanalytikere har konkret ekspertviden indenfor molekylærgenetiske teknikker, analyser og bioinformatik.

Der er brug for flere specialister indenfor bioanalytikerfaget, der har de rette kompetencer til at varetage og opretholde udviklingen af de nye opgaver indenfor bioinformatik. Certificerede

bioanalytikere med speciale i bioinformatik og genetik skal sikre aktuelle og fremtidige krav og målsætninger for faget. Bioanalytikerprofessionen er midt i en rivende udvikling, og det pålægger samtlige bioanalytikere et ansvar for at skabe en endnu stærkere faglig bioanalytikerprofil, der er kendetegnet ved høj faglig viden, ekspertise indenfor det bioanalytiske speciale og være mere synlig som diagnostisk samarbejdspartner på tværs af faggrænser. Fremtiden skabes nu.

ET KIG I KRYSTALKUGLEN: SÅDAN SER FREMTIDENS MOLEKYLÆRPATOLOGI UD

Traditionelle patoanatomiske undersøgelser er i de senere år blevet suppleret med komplekse molekyलगenetiske analyser, især indenfor kræftområdet. Personlig medicin er blevet omdrejningspunktet i forskningsregi og klinikken, hvor målet er at kunne tilbyde individualiseret behandling. Tendensen for de kommende år vil være et kontinuerligt stigende antal komplekse analyser, der skal opfylde nationale retningslinjer om hurtig og præcis kræftdiagnostik.

De kommende år vil byde bioanalytikerprofessionen på en række nye og spændende opgaver samt udfordringer og større omstilling af laboratoriedriften. Bioanalytikerne skal tilegne sig ny viden for at kunne imødekomme behovet for implementering af flere molekyलगenpatologiske analyser. Fokus vil i de kommende år være på implementering af nye NGS paneler, exom og transkriptom analyser, helgenoms DNA metyleringsprofilering, genekspressionsprofilering samt cfDNA analyser på blod. Disse analyser kræver højt specialiserede bioanalytikere med opdateret viden og teknisk indsigt i nyeste molekyलगenpatologiske teknikker. For at opnå kvalifikationerne anbefales det, at en gruppe bioanalytikere efteruddannes til at kunne varetage disse opgaver og være bindeled mellem klinikken og analyselaboratorierne. Derudover anbefales det, at professionsbachelor uddannelsen i bioanalytisk diagnostik styrkes med molekyलगenpatologi, hvor de studerende fra et tidligt stadie får både teoretisk og praktisk indsigt i de kontinuerligt stigende molekyलगenpatologiske analyser og teknikker.

De kommende år vil definere, modernisere samt give professionen en ny faglig profil. Bioanalytikeren vil indtage en central plads i den integrerede diagnostik med tidssvarende viden og indsigt i de teoretiske og praktiske laboratorieprocedurer. Derudover vil bioanalytikerprofessionen blive en central aktør i realiseringen af paradigmeskiftet fra "one-size-fits all" behandlinger til individualiserede behandlinger. Vi er først ved starten af en ny æra, hvor professionen vil udvikles i takt med opgaverne. Dette åbner op for nye muligheder for udvikling og innovation, både professionelt og personligt. ■

REFERENCER

1. NORDCAN, Kræftstatistik: Nøgletal og figurer [Internet]. [henvist 26. juli 2019]. Tilgængelig hos: <http://www-dep.iarc.fr/NORDCAN/DK/StatsFact.asp?cancer=340&country=208>
2. Anbefalinger-for-molekyलगenpatologiske-analyser-af-hjernetumorer-ver.-1.pdf [Internet]. [henvist 26. juli 2019]. Tilgængelig hos: <https://danskpatologi.org/wp-content/uploads/2016/02/Anbefalinger-for-molekyलगenpatologiske-analyser-af-hjernetumorer-ver.-1.pdf>
3. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, m.fl. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1. juni 2016;131(6):803–20.
4. Masui K, Mischel PS, Reifenberger G. Chapter 6 - Molecular classification of gliomas. I: Berger MS, Weller M, redaktører. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. Elsevier; 2016 [henvist 26. juli 2019]. s. 97–120. (Gliomas; bd. 134). Tilgængelig hos: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128029978000062>
5. Zacher A, Kaulich K, Stepanow S, Wolter M, Köhler K, Felsberg J, m.fl. Molecular Diagnostics of Gliomas Using Next Generation Sequencing of a Glioma-Tailored Gene Panel. *Brain Pathol*. 2017;27(2):146–59.
6. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, m.fl. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature*. 22 2018;555(7697):469–74.

Acknowledgements

Jeg vil gerne rette en stor tak til ledende bioanalytiker Annelise Olsen for at give mig muligheden for at udarbejde denne artikel.

Desuden rettes en stor tak til molekyलगenbiolog Henning B. Boldt samt bioanalytikerunderviser Tanja Würtz Jørgensen for gennemlæsning af indhold samt vejledning. Yderligere vil jeg gerne takke Ph.d studerende Stine Asferg Petersson og molekyलगenbiolog Oriane Marie Louise Cédile for teknisk assistance med udarbejdelsen af diverse figurer.