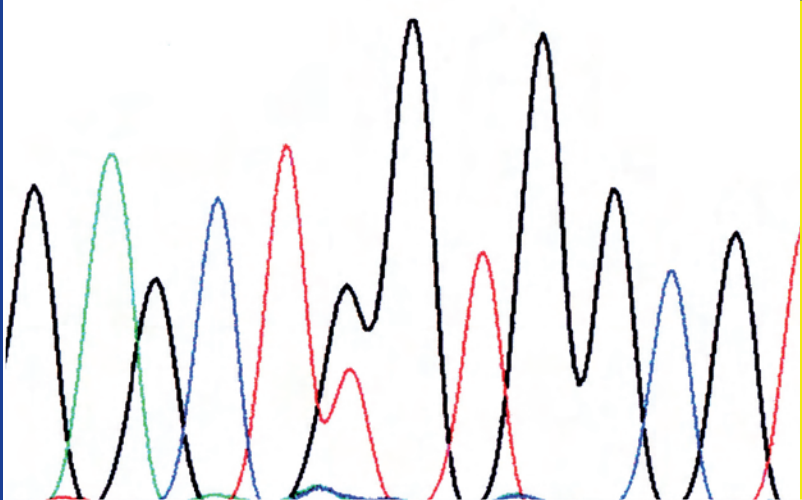


Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie

Informatiebrochure



VU medisch centrum

Amsterdam



Inleiding		3
------------------	--	---

Indicatiegebieden en bijbehorende Moleculaire Diagnostiek:

Colorectaal carcinoom:		
Erfelijkheidsgenotiek	MSI-PCR, IHC en hMLH1-MSP	4

Gemetastaseerd colorectaal carcinoom:		
Voorspellen van respons op therapie	K-ras mutatieanalyse	4

Longcarcinoom:		
Voorspellen van respons op therapie	EGFR / K-ras mutatieanalyse	5

Mammacarcinoom:		
Voorspellen van respons op therapie	Her2Neu amplificatie (IHC; CISH)	5

Metastase vs tweede primaire tumor:		
Differentiaal diagnostiek:	LOH chr. 1/3/9/11	5
	Array CGH analyse	5

Gliale tumoren:	LOH chr. 1p/19q	6
------------------------	-----------------	---

Lymfomen:	B-cel klonaliteitsanalyse	6
	T-cel klonaliteitsanalyse	6

Foetale chromosomale afwijkingen:	Array CGH	6
--	-----------	---

Micro-organismen:		
	Humaan papillomavirus (HPV)	6
	Chlamydia trachomatis (CT)	6
	Humaan herpesvirus 8 (HHV8)	6

Algemene informatie Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie		7
---	--	---

Inleiding Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie

Binnen de patiëntenzorg rijzen steeds vaker vragen als "Is er sprake van een erfelijke vorm van kanker?" of "Zal deze tumor reageren op een specifieke (zogenaamde 'personalized' of 'targeted') behandeling?". Om een antwoord te kunnen geven op deze vragen is moleculaire diagnostiek op histologisch of cytologisch patiëntmateriaal nodig.

'Moleculaire diagnostiek' is een verzamelnaam voor een aantal laboratorium-technieken die gebruik maken van de detectie van nucleïnezuuren (DNA en/of RNA). Deze technieken vormen een belangrijke aanvulling op de reguliere klinische pathologie. De moleculaire diagnostiek kent op dit ogenblik een ruime toepassing in de zoektocht naar de oorsprong van ziekten, in het opsporen en het vervolgen van infectieziekten, alsmede in de keuze van behandelingsmethoden van kanker.

Binnen de afdeling Pathologie van het VUmc is de afgelopen jaren een breed scala aan moleculair diagnostische bepalingen geïmplementeerd voor de meest voorkomende indicaties. Te denken valt aan MSI bepalingen voor erfelijk darmkanker, EGFR en/of K-ras mutatieanalyse voor het voorspellen van respons op therapie bij long- en darmkanker, maar ook microbiologische bepalingen waaronder HPV detectie voor baarmoederhalskanker screening, triage en het natraject op behandeling van CIN laesies.

Moleculaire diagnostiek op de afdeling Pathologie van het VUmc wordt verricht onder een CCKL-geaccrediteerd kwaliteitssysteem. Er wordt gewerkt met een multidisciplinair team van pathologen en moleculair biologen met uitgebreide expertise op het vlak van de clinicopathologie en de moleculaire biologie. Dit team is beschikbaar voor uw moleculaire diagnostiek in de Pathologie.

In deze brochure vindt u de "menukaart" van moleculaire diagnostiek, die de afdeling Pathologie van het VUmc u kan aanbieden.

De contactpersonen aan wie u uw vragen met betrekking tot moleculaire diagnostiek kunt stellen treft u onderstaand.

Klinische Pathologie	Moleculaire Pathologie
Dr. F.B. Thunnissen Klinisch patholoog Tel: (020) 444 4048 e.thunnissen@vumc.nl	Mw. Dr. D.A.M. Heideman Moleculair bioloog Tel: (020) 444 2321 dam.heideman@vumc.nl
Mw. Dr. N.C.T. van Grieken Klinisch patholoog Tel: (020) 444 2731 nct.vangrieken@vumc.nl	Prof. dr. P.J.F. Snijders Moleculair bioloog Tel: (020) 444 4023 pjf.snijders@vumc.nl

Colorectaal carcinoom:

A. Erfelijkheidsdiagnostiek

Bepaling: Microsatelliet instabiliteit (MSI) analyse, immunohistochemie (IHC) voor mismatch-repair eiwitten hMLH1/hMSH6/hMSH2/PMS2 en, zo nodig, hMLH1 promoter methyleringsanalyse

Techniek: IHC en MSI-PCR; eventueel aangevuld met hMLH1-MSP

Indicatie:

1. Coloncarcinoom of endometriumcarcinoom < 50 jaar
2. Dubbel coloncarcinoom < 70 jaar
3. Coloncarcinoom en tegelijkertijd of voorafgaand een andere Lynch syndroom geassocieerde maligniteit < 70 jaar, zoals:
 - a. Endometriumcarcinoom
 - b. Dunne darmcarcinoom
 - c. Ovariumcarcinoom
 - d. Urotheelcelcarcinoom pyelum of ureter
 - e. Maagcarcinoom
 - f. Glioom
4. Op verzoek klinische genetica (bijv. Adenoom met hooggradige dysplasie < 40 jaar; belaste familie anamnese)

Klinische relevantie: Patiënten die voldoen aan bovenstaande criteria hebben een verhoogde kans op Lynch syndroom (vroeger HNPCC). De CBO richtlijn Erfelijke Tumoren (2008) adviseert MSI diagnostiek te verrichten bij genoemde indicaties en bij een positieve test te verwijzen naar een klinisch geneticus.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van zowel tumor als normaal weefsel; tumorpercentage gelieve >70%

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

B. Voorspellen van respons op therapie

Bepaling: K-ras (exon1/2) mutatie analyse

Techniek: High Resolution Melting (HRM) pre-screen analyse met aanvullende sequentieanalyse

Indicatie: Gemetastaseerd colorectaal carcinoom

Klinische relevantie: Patiënten met gemetastaseerd coloncarcinoom komen in aanmerking voor behandeling met monoklonale antilichamen gericht tegen EGFR. Er zijn aanwijzingen dat tumoren met een K-ras mutatie niet goed reageren op deze therapie.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van tumor of cytologisch preparaat; tumorpercentage gelieve >20%

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Longcarcinoom:

Voorspellen van respons op therapie

Bepaling: EGFR (exon 19/20/21) en K-ras (exon1/2) mutatie analyse

Techniek: High Resolution Melting (HRM) pre-screen analyse met aanvullende sequentieanalyse

Indicaties:

1. Patiënten met primair adenocarcinoom van de long, die niet gerookt hebben.
2. Patiënten met recidief adenocarcinoom of TTF1 positief plaveiselcelcarcinoom van de long na 1e lijns behandeling

Klinische relevantie: Indien een EGFR mutatie wordt aangetoond (m.n. exon 19 of 21), is er >75% kans op respons op anti-EGFR therapie. Een middel dat met een pil toegediend kan worden en grofweg minder bijwerkingen heeft dan de standaard chemotherapie.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van tumor of cytologische materiaal (o.a. BAL); tumorpercentage gelieve >20%

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Mammacarcinoom:

Voorspellen van respons op therapie

Bepaling: Her2Neu amplificatie

Techniek: IHC en dual-color CISH

Indicatie: Alle mammacarcinomen (IHC), dual-color CISH (IHC 2+ mammacarcinomen)

Klinische relevantie: Vrouwen met een mammacarcinoom met een Her2Neu amplificatie komen in aanmerking voor behandeling met monoklonale anti-Her2Neu antilichamen (trastuzumab, Herceptin).

Benodigheden: Paraffine materiaal van de tumor

Tijdsindicatie uitslag: 1 week (na ontvangst materiaal)

Metastase vs. tweede primaire tumor:

Differentiaal diagnose

Bepaling: Profiel van chromosomale afwijkingen

Techniek: Micro-Array Comparative Genomic Hybridization (array CGH) en/of Loss-of-heterozygosity (LOH) analyse chromosoom 1/3/9/11

Indicatie: Vraagstelling metastase of 2de primaire tumor

Klinische relevantie: De uitslag is van belang voor het bepalen van het stadium van ziekte en daarmee mede bepalend van de behandeling.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van beide tumoren en normaal weefsel; tumorpercentage gelieve >70%

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Gliale tumoren:

Differentiaal diagnose

Bepaling: Loss-of-heterozygosity (LOH) analyse op chromosoom 1p en 19q

Techniek: PCR met fragmentanalyse uitlees

Indicatie: Differentiatie tussen oligodendroglioom en andere gliomen.

Klinische relevantie: Aanwezigheid van LOH 1p en op 19q duidt op een oligodendroglioom die in vergelijking met astrocytomen vaak langzamer groeit, een betere overleving heeft en andere therapiemogelijkheden.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van tumor met tumorpercentage gelieve >70% en normaal weefsel; als normaal kan dienen een wattenstaafje met wangslimvlies of bloed (anticoagulerend; heparine of EDTA).

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Lymfomen:

Differentiaal diagnose

Bepaling: T- en/of B-cel klonaliteitsanalyse

Techniek: PCR met fragmentanalyse uitlees

Indicatie: Bij verdenking lymfoïde maligniteit; aantonen aan- of afwezigheid van T- en/of B-celklonaliteit.

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van de tumoren of bloed (anti-coagulerend; heparine of EDTA); tumorpercentage gelieve >10%

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Foetale chromosomale afwijkingen:

Differentiaal diagnose

Bepaling: Profiel van chromosomale afwijkingen

Techniek: Micro-Array Comparative Genomic Hybridization (array CGH)

Indicatie: Onduidelijkheid over aanwezigheid van chromosomale afwijkingen, waarbij conventionele technieken (karyotypering) hebben gefaald

Benodigheden: Paraffine of vriesmateriaal van de foetus

Tijdsindicatie uitslag: 2-3 weken (na ontvangst materiaal)

Detectie van micro-organismen:

Bepaling: Detectie van humaan papillomavirus (HPV; mucosaal hoog-risico en/of laag-risico typen)/Chlamydia trachomatis (CT) en/of humaan herpesvirus (HH8)

Techniek: PCR met enzym-immuno uitlees; eventueel aangevuld met genotypering

Indicatie: Verdenking op een rol van micro-organisme bij pathogenese

Benodigheden: Paraffine of vries materiaal van de laesie, of cytologisch materiaal

Tijdsindicatie uitslag: 1-2 weken (na ontvangst materiaal)

Algemene informatie Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie

De afdeling Pathologie VUmc levert u CCKL-geaccrediteerde, kwalitatief hoogstaande moleculaire diagnostiek. Hiervoor zijn de volgende punten van belang:

1. De aanwezigheid van de DNA veranderingen wordt bepaald m.b.v. PCR analyse en bijbehorende uitleessystemen. Ondanks het feit dat deze bepalingen routinematig kunnen worden uitgevoerd, zijn de bepalingen bewerkelijk. Vandaar dat u rekening moet houden met een periode tot de uitslag van ongeveer 2-3 weken na ontvangst van het materiaal op het laboratorium (tenzij anders gespecificeerd).
2. Voor iedere bepaling zijn duidelijke (kwaliteits)criteria vastgesteld waaraan absoluut moet worden voldaan voordat we tot een betrouwbare uitslag kunnen komen. Het kan o.a. zo zijn dat een bepaling meerdere malen per patiënt moet worden uitgevoerd alvorens een betrouwbare uitslag te kunnen afgeven. Hierdoor kan het uitgeven van een uitslag worden vertraagd. Anderzijds kan het zijn dat een bepaling een 'niet te beoordelen' uitslag oplevert wanneer het materiaal van onvoldoende kwaliteit is om de analyse op uit te voeren. Elke uitslag wordt door een moleculaire bioloog op de kwaliteit beoordeeld, alvorens deze wordt afgegeven.
3. De uitslagen worden naar de arts/aanvrager toegestuurd middels een uitslagformulier met daarop de cumulatieve uitslagen van de desbetreffende patiënt en een begeleidende brief.
4. Spoedbepalingen dienen in de context van punt 1 te worden aangevraagd. Indien spoed noodzakelijk is bij een bepaling dient dit telefonisch te worden overlegd met betreffende contactpersonen voor de analyse en dient het duidelijk op het aanvraagformulier genoteerd te worden.
5. Voor een betrouwbare PCR analyse hebben we tenminste 1 cm² coupe-oppervlakte aan patiëntmateriaal met voldoende tumorpercentage nodig en/of 4ml ongedcoaguleerd (EDTA of heparine) bloed met voldoende targetcelfrequentie (zie bovenstaande test specificaties). We raden aan voor vragen over testspecifieke eisen, welke gesteld worden aan het patiëntmateriaal, contact op te nemen met het Laboratorium Moleculaire Pathologie (tst. (020) 444 0843 of (020) 444 4444 en vragen naar tracer *98 6536) alvorens uw materiaal in te zenden.

