



Geachte collega's,

Het is een beetje laat om u nog een gelukkig nieuwjaar te wensen, maar toch... We zijn goed begonnen: een virus ontwricht onze economie (maar hoera, de brandstofprijzen dalen), het begrotingstekort wordt desastreus genoemd (en bijgevolg hebben we geen geld om NGS testen op een ernstige wijze te vergoeden). "En de boer die ploegde voort...". Wij ook.

Vandaar deze nieuwsbrief. Ondanks alles gaan we verder met de ontwikkeling van de moleculaire pathologie. Vandaar dat we u op de hoogte willen brengen van verschillende zaken die uw aanvragen/praktijkvoering kunnen beïnvloeden:

1. De standaardtest voor het detecteren van **microsatelliet instabiliteit** is nog steeds immunohistochemisch onderzoek. Wanneer er MLH1 verlies is (meestal, maar niet altijd gepaard met PMS2 verlies), moeten we nog uitmaken of dit germline (Lynch syndroom) is, dan wel somatisch (niet erfelijk). Als je NGS uitvoert, dan is uiteraard de BRAF status belangrijk. Is BRAF gemuteerd, dan neemt men aan dat deze MSI sporadisch is en is verdere testing overbodig. Indien BRAF niet gemuteerd is gaan we over tot methylatie specifieke MLH1 PCR. Ook als er nog geen NGS werd uitgevoerd, zal methylatie specifieke MLH1 PCR worden gedaan en geen BRAF mutatieanalyse, want in 40% van de gevallen vinden we geen BRAF mutatie en moeten we alsnog een methylatie specifieke MLH1 PCR uitvoeren. In gevallen waar immunohistochemie een onduidelijk resultaat geeft, gaan we over tot Idylla MSI analyse. Let wel: de indicatie voor MSI testing blijft de detectie van Lynch syndroom. Ondanks het feit dat immunotherapie zijn nut heeft bewezen in MSI positieve gemetastaseerde carcinoma, is er geen terugbetaling van deze therapie voor deze indicatie. Vandaag dat we deze testen NIET uitvoeren.

2. Voor **BRCA somatische testing** gebruiken we de Oncomine BRCA Research assay. We testen wekelijks, wat de "turn around time" aanvaardbaar maakt. Er wordt aanbevolen ook bloed af te nemen voor germline testing.

Wil u ook onze andere
nieuwe sbrieven lezen, neem
dan een kijkje op
de **labogids**

Deze bloed gebaseerde analyse gebeurt in een centrum medische genetica. BRCA-testing met het oog op het aanwenden van PARP inhibitoren zijn momenteel geïndiceerd in de volgende tumoren:

- a. Borstcarcinomen met criteria voor testen op BRCA1/2 mutaties voorgesteld door het KCE.
- b. Hooggradige, non-mucineuze carcinomen van ovarium, tuba en peritoneum.
- c. Pancreascarcinomen

In de nabije toekomst zal er ook een rol zijn weggelegd voor BRCA2-testing bij prostaatcarcinomen met het oog op het aanwenden van PARP inhibitoren.

3. Zoals u waarschijnlijk al gemerkt hebt, voeren we binnen het longpanel altijd een **RNA sequencing** uit. Dit om fusiegenen op te sporen. Uiteraard screenen we in eerste instantie al immunohistochemisch voor ALK, ROS en TRK expressie. In het geval van ALK volstaat een duidelijk positieve IHC om Alectinib te verkrijgen. Bij ROS en zeker bij TRK is het nodig om de aanwezigheid van een fusie aan te tonen. RET, FGFR2 en BRAF fusies kunnen momenteel niet immunohistochemisch worden opgespoord. We zijn aangewezen op RNA sequencing. Het verheugt ons te melden dat we op deze manier reeds verschillende ALK, ROS, RET en TRK fusies hebben opgepikt.

4. Sinds meer dan een jaar zult u gemerkt hebben dat bij het vinden van een activerende EGFR mutatie in een longcarcinoom, **expressie van Rb en TP53** wordt bekeken. Wanneer er verlies is van Rb expressie gecombineerd met sterke P53 expressie, is de kans groot dat bij resistentie aan EGFR TKI's er een fenotypische verandering naar small cell lung carcinoma optreedt. Indien er behoud is van Rb expressie en er geen sterke expressie is voor P53 is de kans bijna onbestaande.

5. We hebben ook **STK11** aan ons NGS genenpanel toegevoegd. De rationale daarvoor is dat (minstens) in longkanker een STK11 mutatie, zeker in combinatie met een KRAS mutatie, een primaire resistentie tegen immunotherapie betekent.

6. Op het gebied van **borstkanker** is de rol van moleculair onderzoek de laatste tijd sterk toegenomen. Twee belangrijke puntjes hieromtrent zijn de richtlijnen in verband met HER2-statusbepaling en de rol van NGS. Voor de HER2-status wordt eerst immunohistochemisch gescreend en enkel bij scores 2+ en 3+ dient in situ hybridisatie (ISH) te worden uitgevoerd. ISH wordt in principe niet terugbetaald bij scores 0 en 1+. Er bestaan enkele uitzonderingen hier tegen mits wetenschappelijk onderbouwing. We zouden ook het belang van de HER2-statusbepaling op biopten willen benadrukken, gezien de recente therapeutische ontwikkelingen met betrekking tot de verderzetting van systemisch behandeling na heelkunde na neoadjuvante therapie bij HER2-positieve borstcarcinomen. Indien geen complete pathologische respons wordt bereikt, kunnen deze patiënten TDM-1 toegediend krijgen.

In onze NGS genenpanels bevinden zich 2 belangrijke spelers. Enerzijds gaat het om ESR1, het gen coderend voor α -oestrogenreceptor, en anderzijds om PIK3CA.

Activerende mutaties in beide genen spelen enerzijds een belangrijke rol in het kader van resistentie tegen hormoontherapie en (in mindere mate) tegen CDK4/6-inhibitoren. Bij activerende ESR1-mutaties kan in de therapie een switch naar fulvestrant worden overwogen. Patiënten met activerende PIK3CA-mutaties hebben bovendien volgens de SOLAR-1 studie baat bij de toediening van Alpelisib met fulvestrant.

7. Ook de indicaties voor **PD-L1** IHC zijn uitgebreider dan vroeger.

- Voor longkanker wordt het percentage tumorcellen met membranaire aankleuring bepaald. Internationale studies hebben aangetoond dat voor deze analyse meerdere PD-L1 klonen geschikt zijn (waaronder 22C3, 28-8 en SP263).

- Voor gemetastaseerde blaaskanker moet er een onderscheid worden gemaakt naargelang Pembrolizumab dan wel Atezolizumab zal worden aangewend.

- Voor Pembrolizumab geldt de CPS score (combined positive score) waarbij men de PD-L1 expressie in zowel tumorcellen als het ontstekingsinfiltraat bekijkt. De test wordt uitgevoerd dmv. 22C3 (DAKO) IHC.

- Voor Atezolizumab geldt de immuunscore waarbij men enkel het immuuninfiltraat bekijkt. Daarbij gebruikt men SP142 (Ventana) IHC.

- Voor gemetastaseerde hoofd- en halstumoren gebruikt men de CPS score (22C3 IHC, terugbetaling voor Pembrolizumab).

- Voor gemetastaseerde, triple negatieve borstcarcinomen wordt de immuunscore (met SP142 IHC) uitgevoerd.

- Er is GEEN plaats voor PD-L1 testing in andere tumoren omdat er geen terugbetaling is voor immunotherapie.

8. Op gebied van **liquid biopsy** zijn we in staat NGS uit te voeren (a.d.h.v. de Oncomine cf(D)NA assays). Er is momenteel een PAN-kanker, een borstkanker en een longkankerpanel beschikbaar. Het PAN-kankerpanel kan oncogene mutaties, copy nummer variaties en fusies detecteren terwijl het borstkanker panel beperkt is tot mutaties en copy nummer variaties en het longkanker panel beperkt is tot oncogene mutaties. Helaas hangt hier een prijskaartje aan. Dit kost de patiënt 550-1250 euro, afhankelijk van de omvang van het panel (wat beduidend minder is dan wat de commerciële firma's aanrekenen). Daarom vragen we eerst overleg met de patholoog.

Tot slot nog enkele praktische opmerkingen:

- Er is een nieuw aanvraagformulier beschikbaar waar al deze nieuwe gegevens in verwerkt zijn.

- NGS op 'oude' paraffineblokjes heeft weinig zin (> 3 jaar): de 'failure rate' is te hoog. Men kan zich ook de vraag stellen of een staal van meer dan 3 jaar oud de actuele moleculaire situatie van de tumor weerspiegelt.

- Soms is de hoeveelheid tumor en/of weefsel die we ontvangen erg beperkt. Om de slaagkans van de testen te verhogen is het hierbij aangeraden om jullie HE-coupe mee te sturen. Nodeloos aansnijden van het weefsel wordt hiermee vermeden.

Tenslotte willen we u danken voor het vertrouwen die u in ons schenkt, en de zeer aangename samenwerking.

Met collegiale groeten,

Prof. Dr. Pauwels