

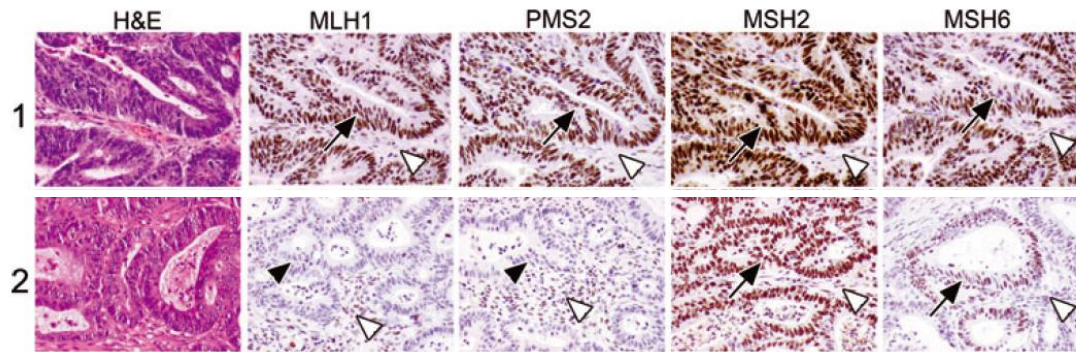
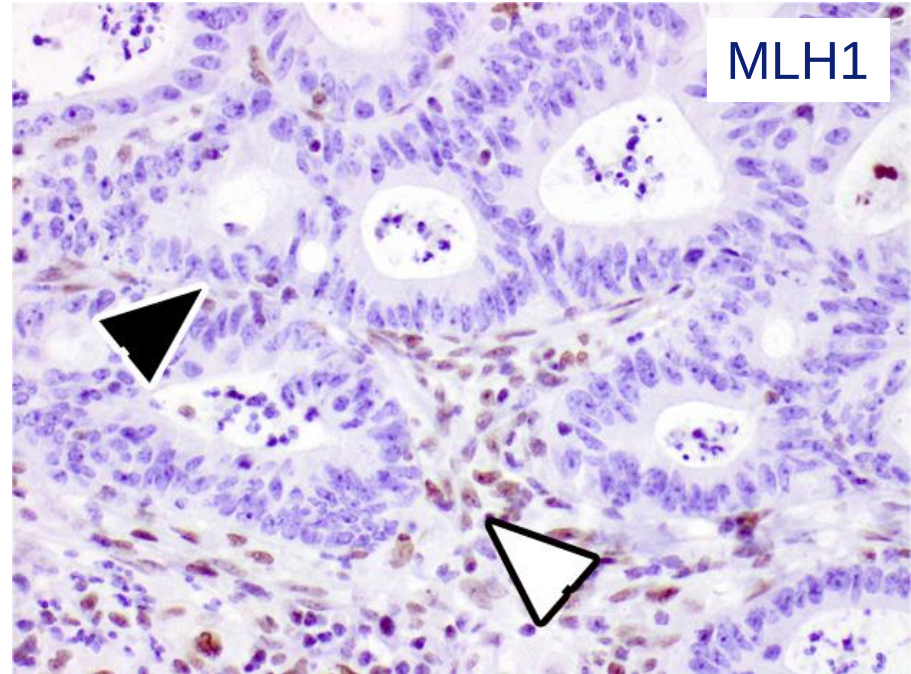
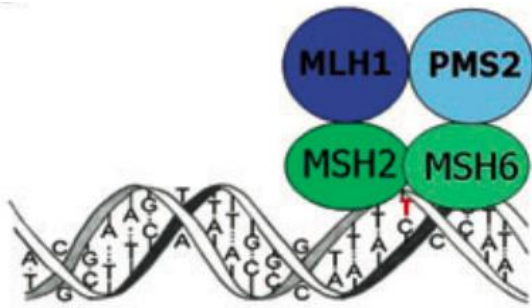
Resultaten Moleculaire Pathologie ronde 2015.2

Additionele moleculaire testen bij MLH1-negatieve tumoren met Lynch syndroom vraagstelling

Albertina Dirkx-van der Velden & Ina Geurts-Giele, KMBPio
afdeling Pathologie
Erasmus MC, Rotterdam

Deelnemersbijeenkomst SKML sectie Pathologie
26-05-2016

Lynch syndroom

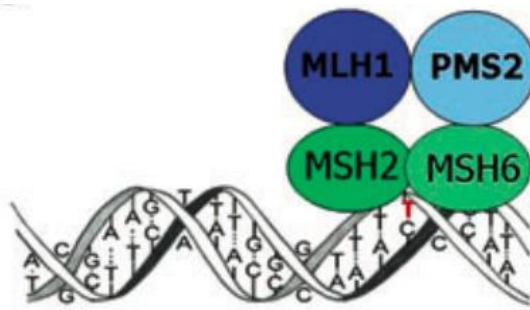


J Cell Mol Med. 2010 Jan;14(1-2):181-97. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00977.x. Epub 2009 Nov 19.

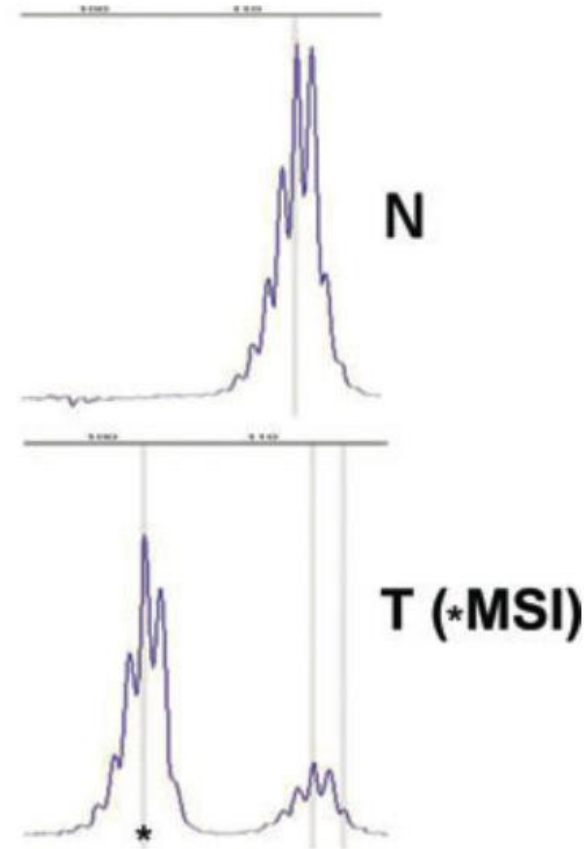
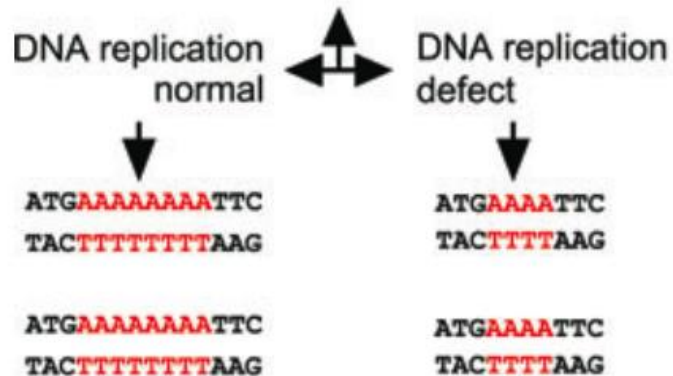
A review on the molecular diagnostics of Lynch syndrome: a central role for the pathology laboratory.

van Lier MG¹, Wagner A, van Leerdam ME, Biermann K, Kuipers EJ, Steyerberg EW, Dubbink HJ, Dinjens WN.

Lynch syndroom



ATGAAAAAAAAATTC
TACTTTTTTTAAG

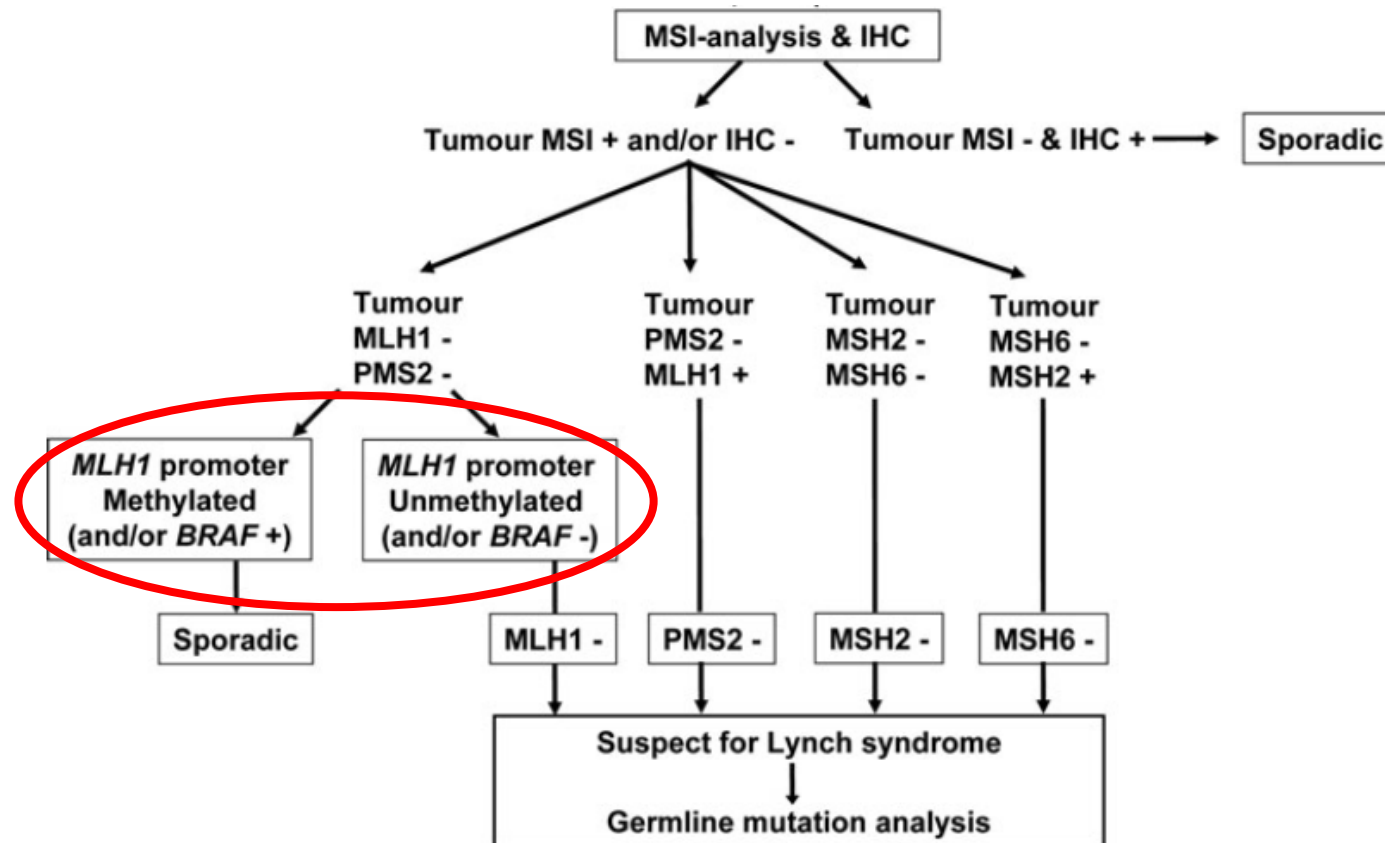


J Cell Mol Med. 2010 Jan;14(1-2):181-97. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00977.x. Epub 2009 Nov 19.

A review on the molecular diagnostics of Lynch syndrome: a central role for the pathology laboratory.

van Lier MG¹, Wagner A, van Leerdam ME, Biermann K, Kuipers EJ, Steyerberg EW, Dubbink HJ, Dinjens WN.

Flowchart for molecular diagnosis of Lynch syndrome



J Cell Mol Med. 2010 Jan;14(1-2):181-97. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00977.x. Epub 2009 Nov 19.

A review on the molecular diagnostics of Lynch syndrome: a central role for the pathology laboratory.

van Lier MG¹, Wagner A, van Leerdam ME, Biermann K, Kuipers EJ, Steyerberg EW, Dubbink HJ, Dinjens WN.

Oncoline - richtlijn diagnostische tests LS (per 31-12-2015)

CRC < 70 IHC MMR eiwitten
MSI analyse bij twijfel IHC of sterke verdenking LS

MLH1 deficiëntie bij patiënten tussen de 40-70
-Somatische hypermethylering MLH1 promoter (N en T testen)
-BRAF mutatie-analyse heeft mindere voorspellende waarde LS

MLH1 deficiëntie zonder MLH1 hypermethylering -> klinische genetica
MSH2, MSH6 of PMS2 deficiëntie

CRC < 40 Altijd verwijzing naar klinische genetica overwegen
CRC > 70 Alleen verwijzen indien zeer belaste familie-anamnese

Rondzending

Drie casus met een MSI fenotype en afschakeling van MLH1 en PMS2
->uitvoeren standaard in de diagnostiek gebruikte additionele testen, om te bepalen of doorverwijzing naar de klinische genetica is geïndiceerd.

	Casus A	Casus B	Casus C
MLH1 promoter gemethyleerd?	Ja	Ja	Nee
BRAF V600E?	Ja	Nee	Nee
Lynch syndroom?	Lage kans	Lage kans	Hoge kans
Verwijzing klinische genetica?	Nee	Nee	Ja

Opmerking van meerdere labs:
geen leeftijd aangegeven!



Rondzending

Drie casus met een MSI fenotype en afschakeling van MLH1 en PMS2
->uitvoeren standaard in de diagnostiek gebruikte additionele testen, om te bepalen of doorverwijzing naar de klinische genetica is geïndiceerd.

	Casus A	Casus B	Casus C
MLH1 promoter gemethyleerd?	Ja	Ja	Nee
BRAF V600E?	Ja	Nee	Nee
Lynch syndroom?	Lage kans	Lage kans	Hoge kans
Verwijzing klinische genetica?	Nee	Nee	Ja

Scores: maximaal 2 punten/vraag/casus

Bij alle vragen iets ingevuld: maximaal 24 punten

Bij drie vragen iets ingevuld: maximaal 18 punten

Uitslagen rondzending

Alleen MHL1-promoter methylering 5 laboratoria

Alleen BRAF mutatie analyse 0 laboratoria

Combinatie beide technieken 4 laboratoria

Beide technieken uitgevoerd 2

Eerst BRAF, bij wt methylering 1

Eerst methylering, bij gemethyleerd BRAF 1

MLH1 methylering: MS-MLPA, MRC-Holland (6x)
LDT (MS-HRM, MS-PCR) (3x)

BRAF mutatie analyse: NGS (3x)
LDT (pyrosequencing) (1x)

Uitslagen rondzending

	Casus A	Casus B	Casus C	
MLH1 promoter gemethyleerd?	Ja	Ja	Nee	✓
BRAF V600E?	Ja	Nee	Nee	✓
Lynch syndroom?	Lage kans	Lage kans	Hoge kans	✓
Verwijzing klinische genetica?	Nee	Nee	Ja	✓

Verwijzing klinische genetica: 1 lab doet geen uitspraak
1 lab verwijst casus B door

Scores:

Bij alle vragen iets ingevuld (max 24 punten): 24 (4), 23 (1), 21 (1)

Bij drie vragen iets ingevuld (max 18 punten): 18 (3)

Verslaglegging Casus A

WMDP-richtlijn verslaglegging moleculaire diagnostiek in de pathologie

Standaard tekst rapportage (oncoline):

De aanwezigheid van hypermethylering van de MLH1 promoter verklaart de afwezigheid van de kernkleuring van MLH1 en PMS2 en maakt de kans op Lynch syndroom (de meest voorkomende vorm van erfelijke darmkanker) klein. Desondanks kan er reden zijn verwijzing naar een klinisch geneticus te overwegen wanneer de familieanamnese hier aanleiding toe geeft of wanneer er sprake is van polyposis.

Verslaglegging casus A		V	+/-	X
Naam lab		8?		
Titel & omschrijving test		5	3 (test niet specifiek)	
Uitgangsmateriaal	Nummer	6	2 (onvolledig)	
	Soort	4		4
Tumorcelpercentage, door wie gecontroleerd	%	6		2
	Patholoog	3		5
Geteste afwijkingen		7		1
Gebruikte methode	Methode	7		1
	<i>Sensitiviteit</i>	3		5
Resultaat (volgens standaardnomenclatuur)		6	2 (geen uitslag normaal)	
Opmerkingen				8
Conclusie	Analytisch	5	3 (mutatie niet gespecificeerd)	
	Klinisch	5	2	1
Ondertekening/ autorisatie		8?		

E. Zafirov

Verslaglegging Casus A

Extra elementen in verslaglegging:

Voorgeschiedenis: MSI, MLH1 en PMS2 negatief (7/8 laboratoria)

Therapieadvies (1 lab)

Revisie microscopie (1 lab)

Herhaling MLH1 IHC (1 lab)

Overwegingen verslaglegging

Bij hoge kans Lynch syndroom: mogelijk andere somatische afwijkingen

Standaard tekst bij lage kans Lynch syndroom: desondanks kan er reden zijn verwijzing naar een klinisch geneticus te overwegen wanneer de familieanamnese hier aanleiding toe geeft of wanneer er sprake is van polyposis.

Conclusies

- Alle deelnemende laboratoria testen MLH1 promoter hypermethylering
 - Alle deelnemende laboratoria genereren de juiste uitslag
 - Verslaglegging divers
-
- Najaar 2016 nieuwe rondzending

Casus C

Table 1. Somatic aberrations for suspected LS patients

Patient	Cohort	M/F	Age [§]	Tumour	Germline analysis	Somatic variants	Class (1–5)	Percentage of variant reads with PGM (variant/total reads)
<i>MLH1</i>								
sLS-19	L	F	62	CRC	A	c.350C>T; p.T117M	5	81% (130/161)

LOH/ROH Sanger	LOH/ROH SNaPshot	Copy number FISH	<i>BRAF</i>	Conclusion somatic MMR aberrations
NE	LOH	2	WT	Pathogenic mutation and LOH

J Pathol. 2014 Dec;234(4):548–59. doi: 10.1002/path.4419. Epub 2014 Sep 30.

Somatic aberrations of mismatch repair genes as a cause of microsatellite-unstable cancers.

Geurts-Giele WR¹, Leenen CH, Dubbink HJ, Meijssen IC, Post E, Sleddens HF, Kuipers EJ, Goverde A, van den Ouweland AM, van Lier MG, Steyerberg EW, van Leerdam ME, Wagner A, Dinjens WN.