

## Laboratoriumsetting

### **Aanbevelingen:**

DNA-mutatieanalyse in de analyse van mogelijk erfelijke darmkanker moet gezien de complexiteit ervan (en het vergunningsgebonden karakter) binnen de gespecialiseerde pathologie en vergunninghoudende genetische laboratoria worden verricht.

Voor het analyseren en interpreteren van hypermethylering van de *MLH1* promoter wordt geadviseerd deze in een gespecialiseerde pathologielaboratorium met nauwe contacten met vergunninghoudende genetische centra te worden verricht. Dit laatste vanwege verregaande consequenties van de uitslag van deze test.

Het vaststellen van een deficiëntie in het DNA mismatch repair systeem met behulp van MMR-immunohistochemie gericht op het opsporen van patiënten met Lynch syndroom kan in ieder pathologie laboratorium worden verricht, indien de kwaliteit en interpretatie van deze kleuringen gewaarborgd is middels participatie in kwaliteitsrondzendingen en beroepsinhoudelijke toetsing. Voor de rapportage van de gegevens wordt bij voorkeur gebruik gemaakt van standaardteksten (zie [Standaard teksten rapportage](#)).

Indien in het vergunninghoudende gespecialiseerde centrum geen onderliggende oorzaak van de afwijkende MMR-immunohistochemie kan aantonen, wordt geadviseerd de MMR-immunohistochemie te herhalen en/of reviseren en het resultaat terug te koppelen met het laboratorium dat deze kleuring initieel heeft verricht.

De immunohistochemie van de MMR eiwitten, de eventuele microsatelliet instabiliteits bepaling en analyse van hypermethylering van de *MLH1* promoter worden uitgevoerd op het materiaal waarop de initiële diagnose wordt gesteld.

In het MDO van het postoperatieve traject worden de consequenties van de resultaten van de immunohistochemie van de MMR eiwitten, de eventuele microsatelliet instabiliteits bepaling en analyse van hypermethylering van de *MLH1* promoter besproken.

### Literatuurbespreking:

Er werd geen literatuur gevonden die de kwaliteit van de uitslag van mutatieonderzoek naar Lynch syndroom, MSI test of immunohistochemische test voor een bepaalde techniek onderzocht in relatie tot de ervaring met die test en de inbedding van het uitvoerende laboratorium in algemene of academische ziekenhuizen, respectievelijk kleinere of grotere laboratoria.

Voor de MSI-analyse zijn standaard markersets beschreven. De uitkomst van de MMR-eiwit immunohistochemie is sterk afhankelijk van details van de gebruikte technieken [Müller 2001<sup>229</sup>, Müller 2004<sup>228</sup>] en is niet altijd eenduidig binnen eenzelfde tumor [Shia 2005<sup>297</sup>]. Er is geen consensus met betrekking tot het gebruik van bepaalde technieken en antilichamen. Wel dient te worden gerealiseerd dat antilichamen onterecht normaal positieve expressie te zien kunnen geven.

### Conclusies:

Er zijn aanwijzingen dat de uitkomst van de MMR-eiwit-immunohistochemie sterk afhankelijk is van details van de gebruikte technieken.

**Niveau 3:** C Müller 2001 <sup>229</sup>; Müller 2004 <sup>228</sup>

Er zijn aanwijzingen dat de uitkomst van immunohistochemie van MMR-eiwitten niet altijd eenduidig is binnen eenzelfde tumor.

**Niveau 3:** C Shia 2005 <sup>297</sup>

### Overwegingen:

DNA diagnostiek naar erfelijke genmutaties is in ons land vergunningsplichtig. Deze vergunningen worden door de overheid tot op heden uitsluitend aan gespecialiseerde centra verleend.

Op dit moment is een multiplex test van de mononucleotide markers BAT25, BAT26, NR21, NR24 en NR27/MONO-27 een veelgebruikte assay voor MSI analyse.

De genmutatieanalyse voor Lynch syndroom is complex door de genetische heterogeniteit (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM), het feit dat verschillende analysetechnieken per gen noodzakelijk zijn (opsporen van missense/nonsense mutaties en van grote deleties/duplicaties, aanwezigheid van pseudogenen), het vinden van unclassified variants (variants of unknown significance (VUS)) en de noodzaak tot uitvoeren van functionele assays, analyse in familieverbanden en organisatie van terugkoppeling naar families bij ter beschikking komen van nieuwe analysetechnieken.

Het is belangrijk dat het resultaat van de immunohistochemische kleuring van de MMR eiwitten en de status van de hypermethylering van de MLH1 promoter reeds beschikbaar zijn bij de bespreking in het MDO van het postoperatieve traject, zodat de uitslag en eventuele verwijzing naar de klinisch geneticus met de patiënt worden gecommuniceerd en omdat bij een deel van deze patiënten de uitslag ook van belang is voor de keuze van adjuvante behandeling.

Gezien de interobserver variatie kan de interpretatie van de immunohistochemische kleuring van MMR eiwitten lastig zijn [Overbeek 2008<sup>415</sup>]. MSI analyse heeft een iets langere doorlooptijd als nadeel, doch kan wel behulpzaam zijn bij twijfel over de interpretatie van de expressieanalyse. Om te waarborgen dat expressie analyse en de interpretatie hiervan correct gebeurt, dienen de individuele laboratoria hierop beroepsinhoudelijk te worden getoetst middels visitaties, dienen de laboratoria te participeren in professionele rondzendingen en kan overwogen worden hiervoor in dit stadium regionale panels in te stellen.

Voor zowel immunohistochemie als MSI bepaling geldt dat de kwaliteit continu moet worden gemonitord aan de hand van de uitkomsten van de mutatie en MLH1-promoter-analyses. Het aantal foutieve immunohistochemische bevindingen kan worden gemonitord door herhaling en/of revisie van de initiële immunohistochemische kleuring nadat geen hypermethylering van de MLH1 promoter, kiembaan of somatische MMR mutatie is aangetoond.

De werkgroep ziet de noodzaak om diagnostiek naar Lynch syndroom in te bedden in een multidisciplinaire setting van gespecialiseerde centra, met onder andere erfelijkheidsadviesing (inclusief analyse op familieniveau), psychosociale begeleiding (met ervaring op het gebied van erfelijke kanker) en een routing

naar mutatieanalyse. Om deze reden kiest de werkgroep voor centralisatie van de opvolgende diagnostiek die er op is gericht de oorzaak van de met immunohistochemie en/of microsatelliet instabiliteitsanalyse aangetoonde deficiëntie van het mismatch repairsysteem te vinden (te weten MLH1 promoter hypermethylering, MMR gen analyse op kiembaan en tumorweefsel) . Daartoe dient de opvolgende analyse in gespecialiseerde pathologie- vergunninghoudende genetische laboratoria plaats te vinden.