

# ▶ Eurofins PAMM

Elise Bekers, medisch manager 2024



In de oncologie geen behandeling zonder diagnose van pathologie

# Multidisciplinair team



## Vragen aan patholoog

Is de tumor volledig verwijderd ?

Wat voor type tumor is het?

Is er een rol voor chemotherapie of hormoontherapie?

Immuuntherapie?

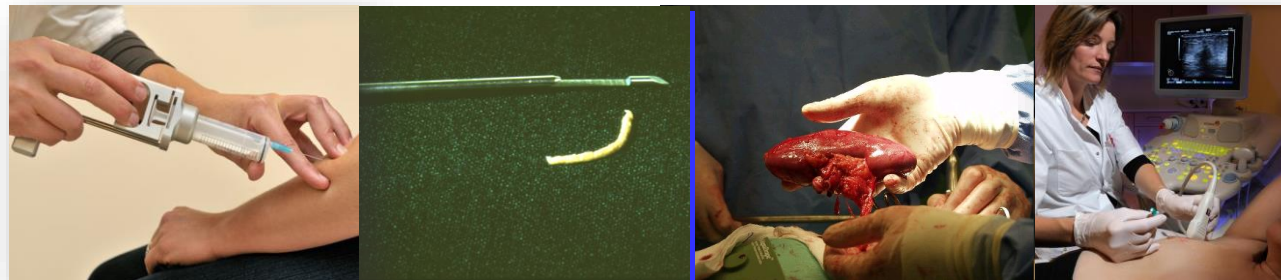


Zijn er redenen om te bestralen?

Zijn er andere biomarkers?

# Antwoord op vragen aan de pathologie?

m.b.v. cel- of weefselmateriaal



# Soorten onderzoek in de pathologie

**Cytologie:** losse cellen

**Histologie:** stukjes weefsel (weefselverband)

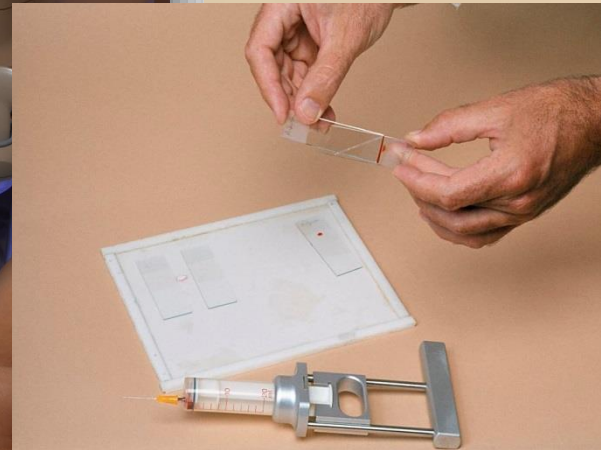
- Vriescoupe, biopten, resecties, obductie (autopsie)

**Speciale technieken**

- (Immuno)histochemie
- Moleculaire biologie (DNA en RNA)



# Cytologie: punctie



# Cytologie

Puncties

Spontaan verkregen  
materiaal

Vochten

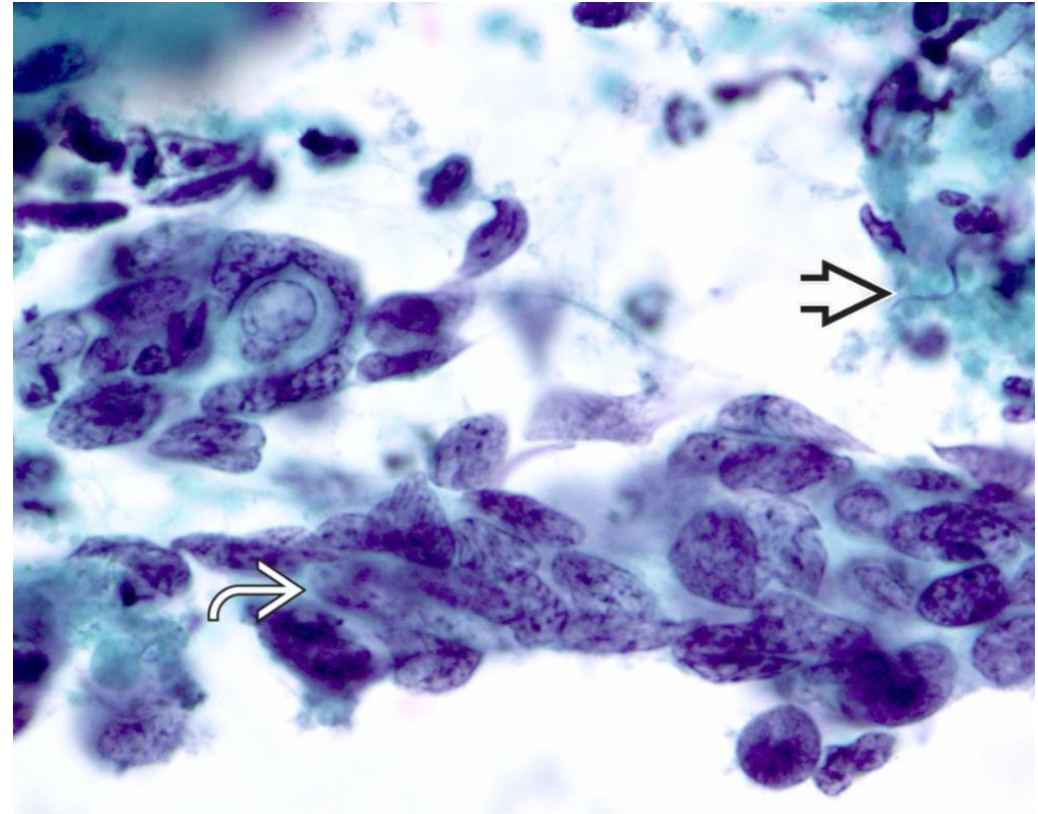
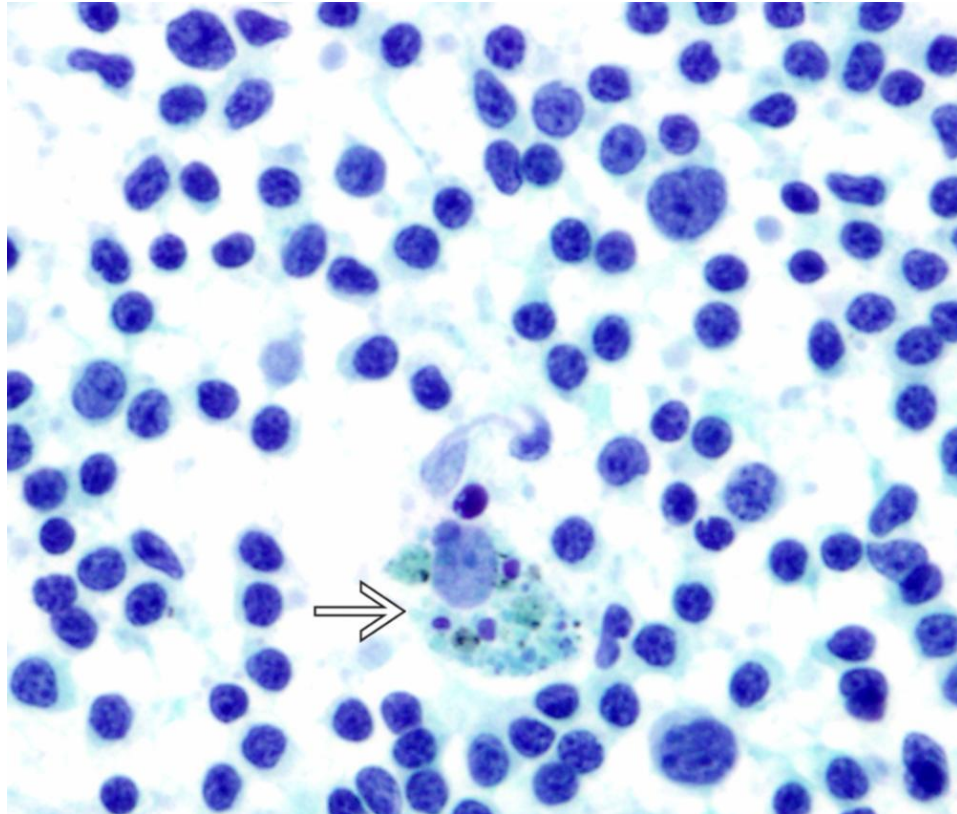
Uitstrijk

→ hele logistiek: ca. 1-2  
dagen

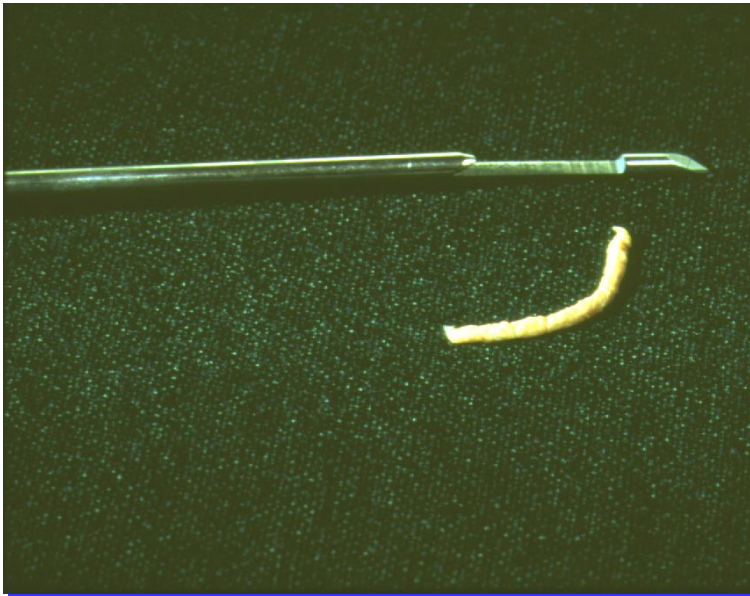




# Losse cellen (cytologie/EBUS)



# Histologie



Biopten



Resectie(operatie) preparaten

# Wat gebeurt er na de operatie of bioptafname

## Ontvangstbalie

- Controleert potjes en aanvraagformulieren
- Materiaal krijgt een C of T-nummer

## Uitsnijkamer

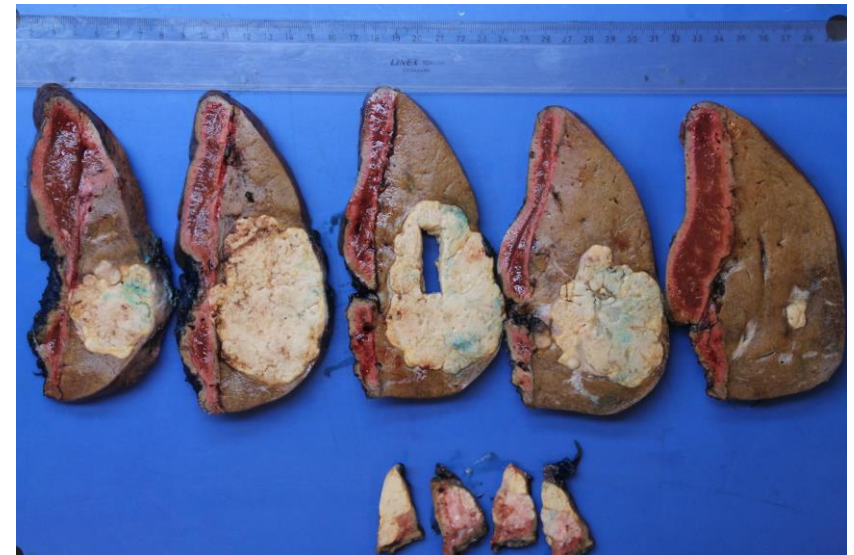
- Vers ontvangst zorgt ervoor dat long wordt ingespoten met formaline (sterk water) ter fixatie (om stevig te worden)
- 24 uur fixeren





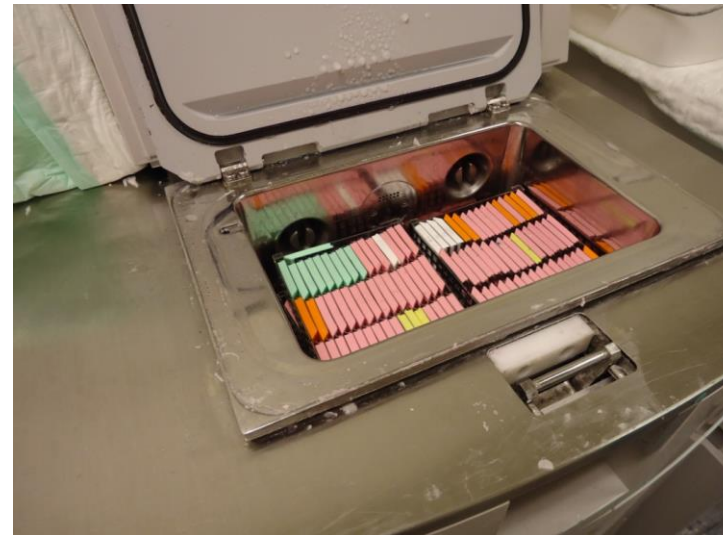
# Uitsnijden (macroscopie)

- Beschrijven wat je ziet
- Tumor/therapie-effecten herkennen
- Materiaal uitnemen (protocollair) voor microscopische beoordeling
- Voor typering
- Voor beoordeling snijvlakken
- Stadiering/TNM classificatie



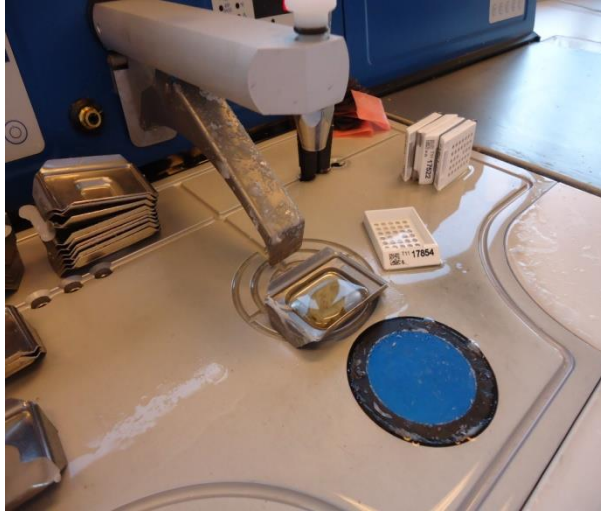


Vervolgens gaat het materiaal in een machine;  
de VIP (vacuüm infiltration processing)  
Dit proces (doorvoeren) gebeurt om het  
weefsel water vrij maken.





# Inbedden in paraffine (kaarsvet)

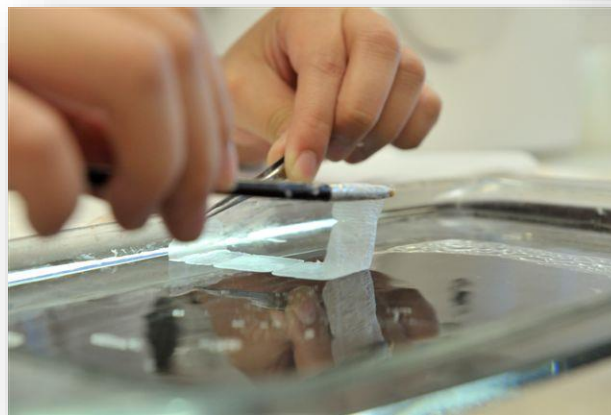
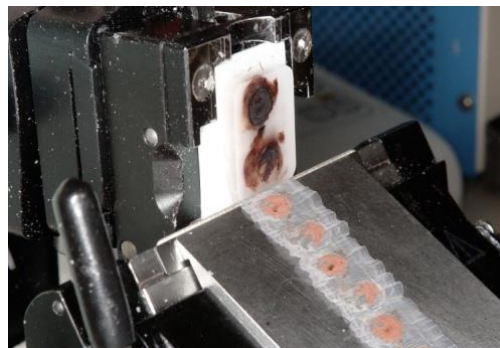


Cassettes met ingebed weefsel

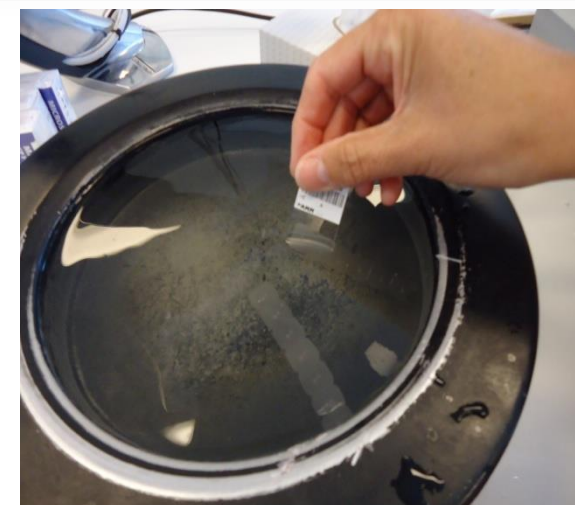


# Maken van coupes/glaasjes

Microtoom  
(fijnsnijder)



Plakken op het glaasje met behulp van  
een warm waterbad



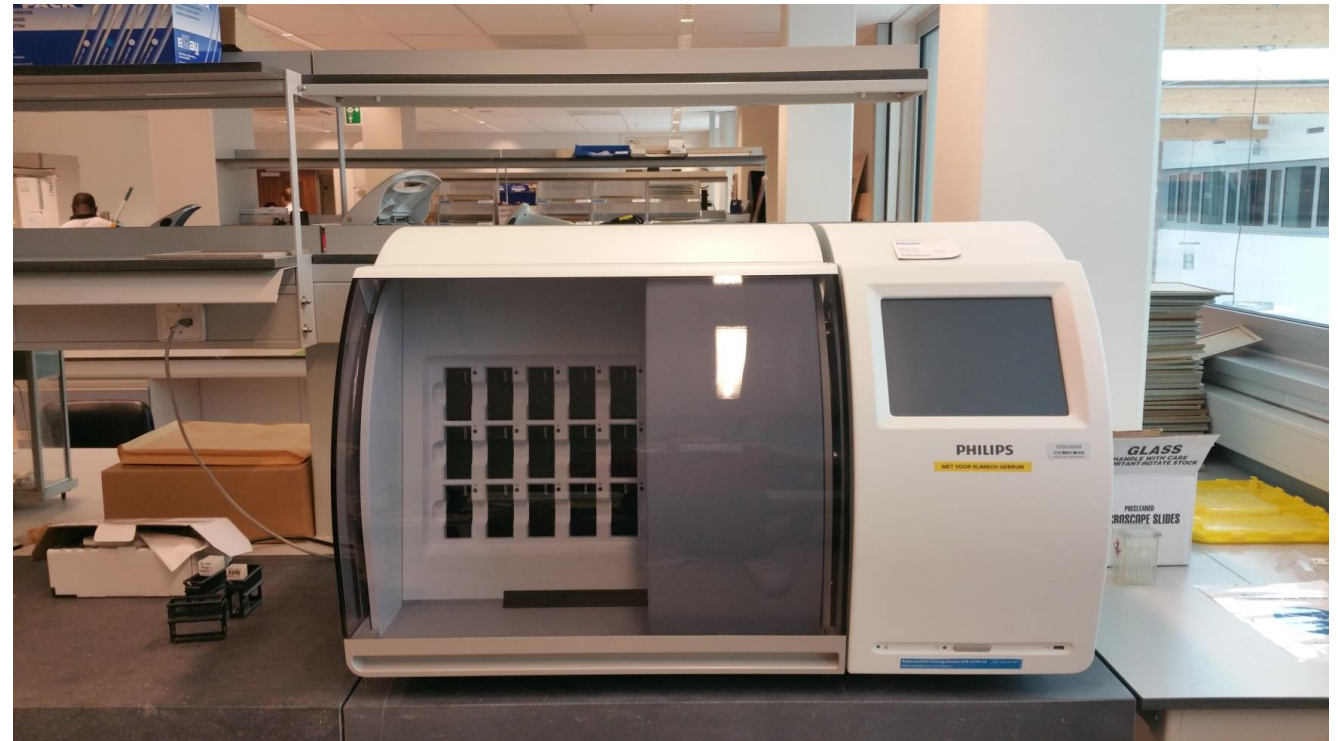


De coupes worden op een glaasje geslept  
en nadat deze gedroogd zijn kunnen deze  
gekleurd gaan worden.

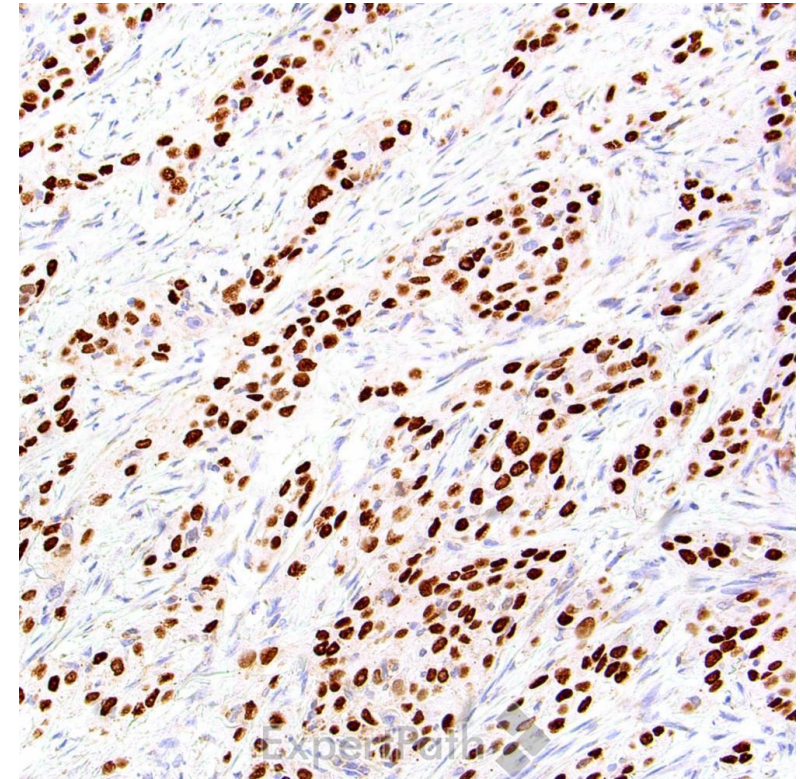
Er zijn verschillende kleuringen mogelijk.



# Digitale pathologie



# Immunologie



Afdeling waar speciale technieken worden toegepast. Dit wordt ingezet als er vervolgonderzoek nodig is. Denk aan PDL1 in het geval van longkanker.



# Moleculair biologisch onderzoek



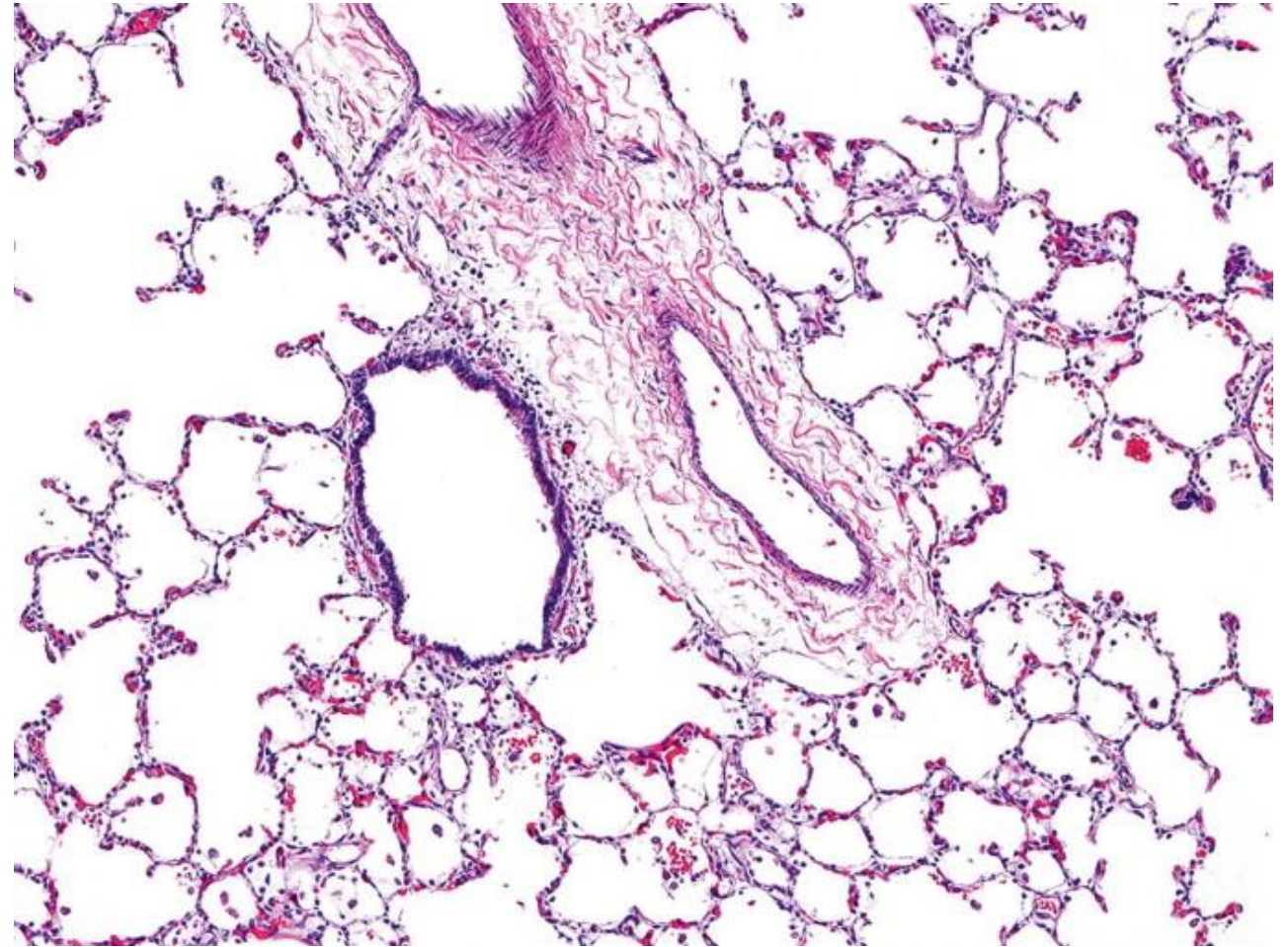
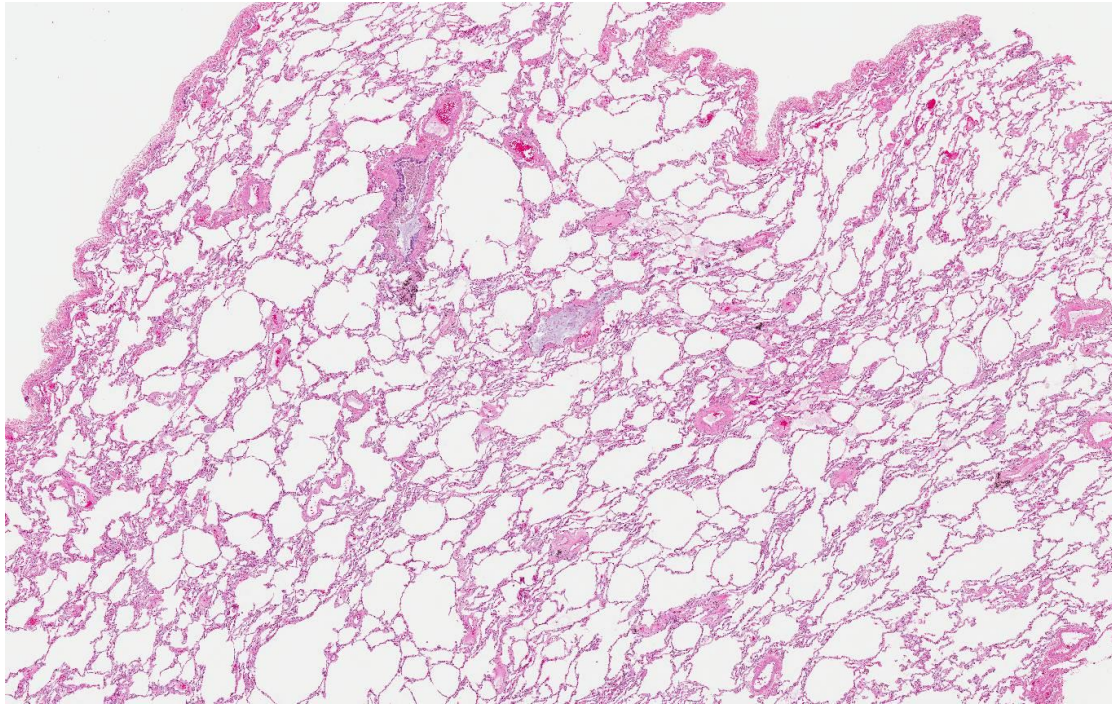
Complexe analyse  
Afwijkingen in DNA of RNA  
Duurt tenminste 5-7 werkdagen

# Vragen aan de patholoog bij tumoren

- Type tumor
- \* classificatie: goedaardig, kwaadaardig, voorstadium
- Indien kwaadaardig:
  - Gradering (hoe goed lijkt de tumor nog op normaal weefsel)
  - Stadiering (uitgebreidheid ziekte)
  - Predictieve analyses (voor welke aanvullende therapie is de tumor gevoelig), bijvoorbeeld PDL1 voor immunotherapie



# Normale long onder de microscoop

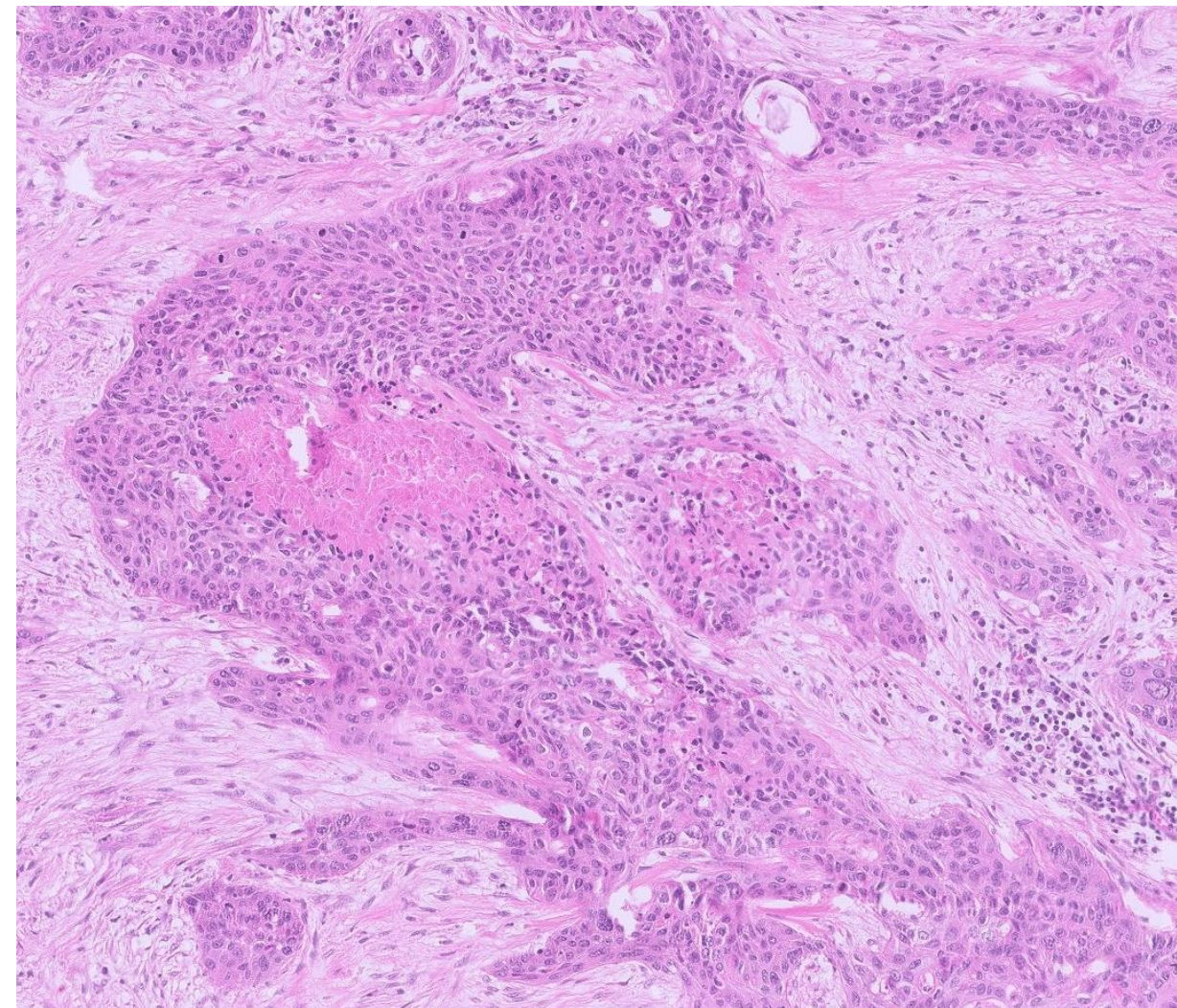
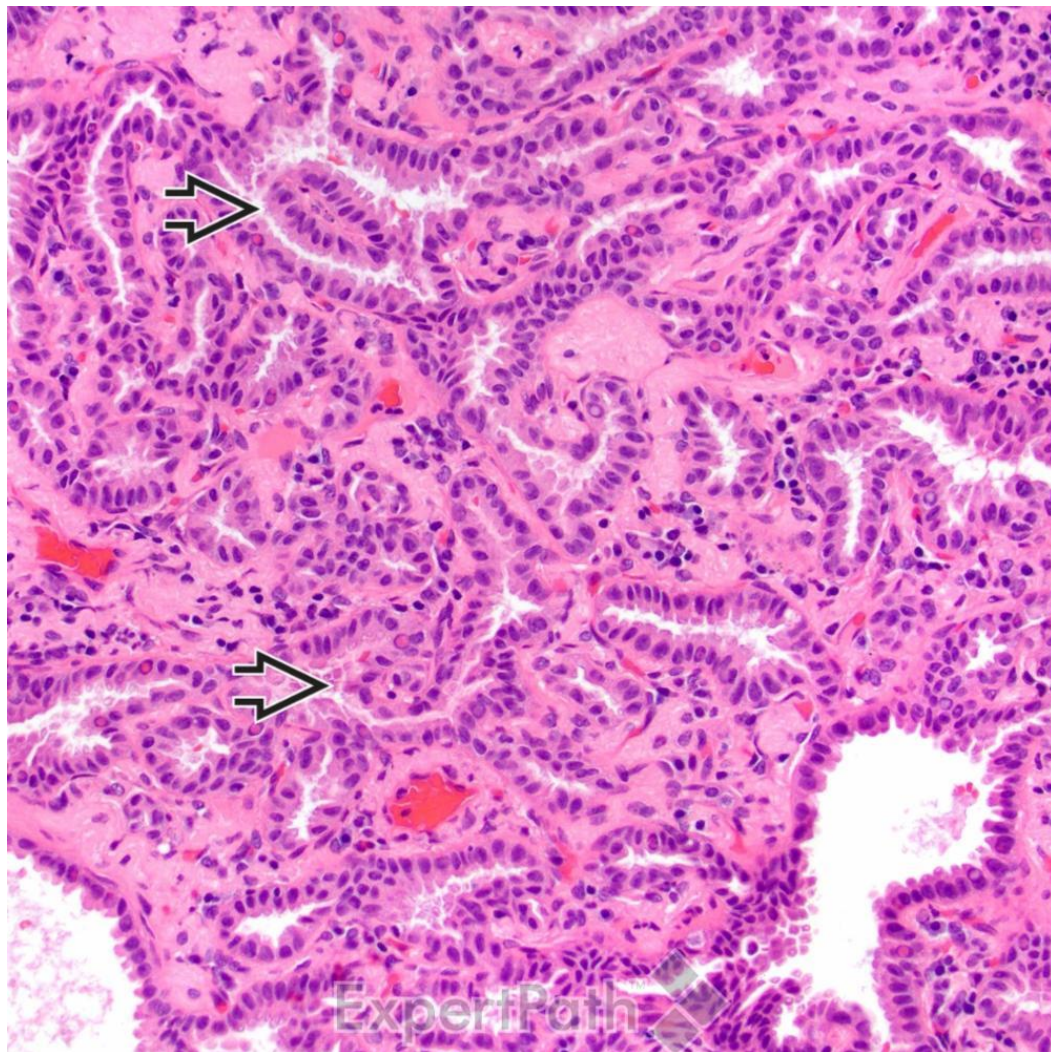




# Longkanker onder de microscoop: niet-kleincellig carcinoom

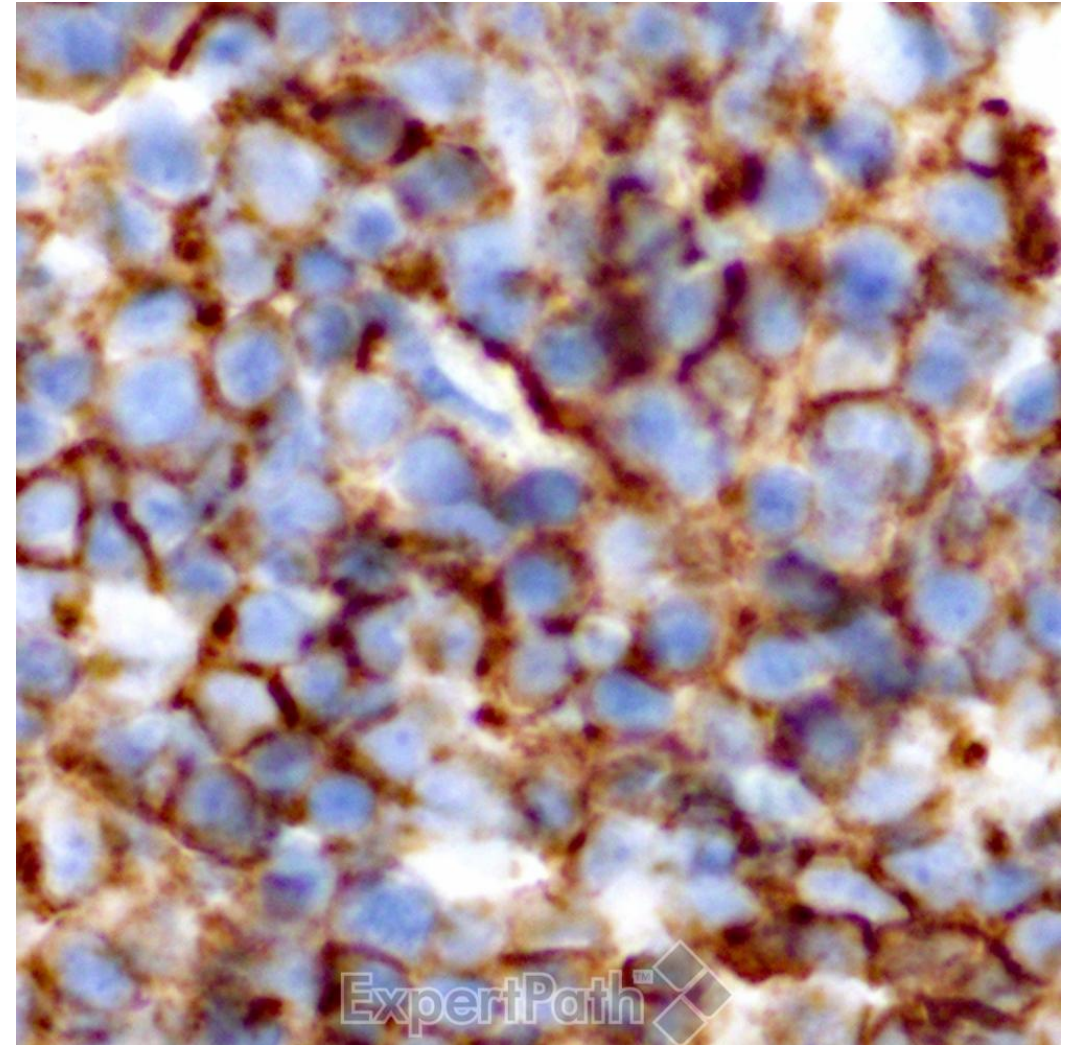
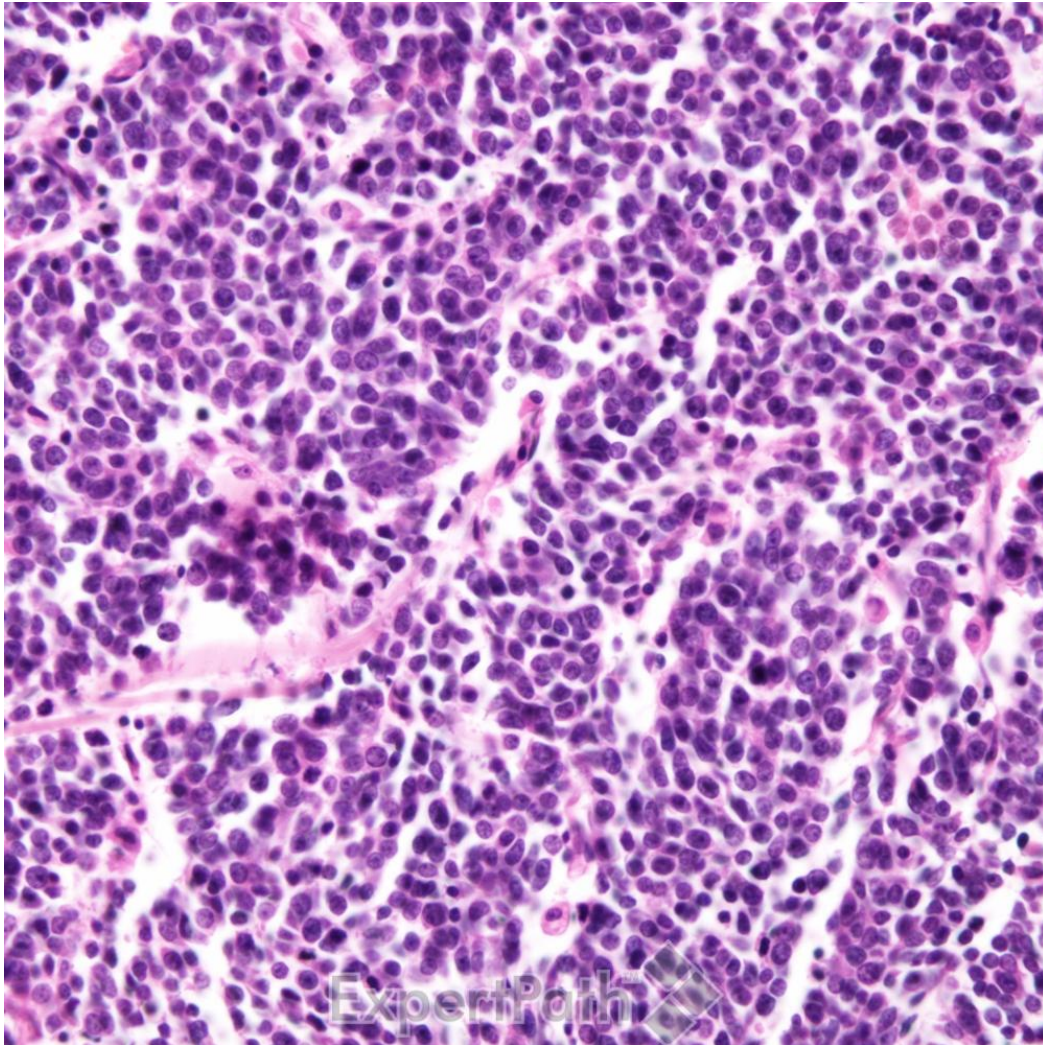
Adenocarcinoom

Plaveiselcelcarcinoom





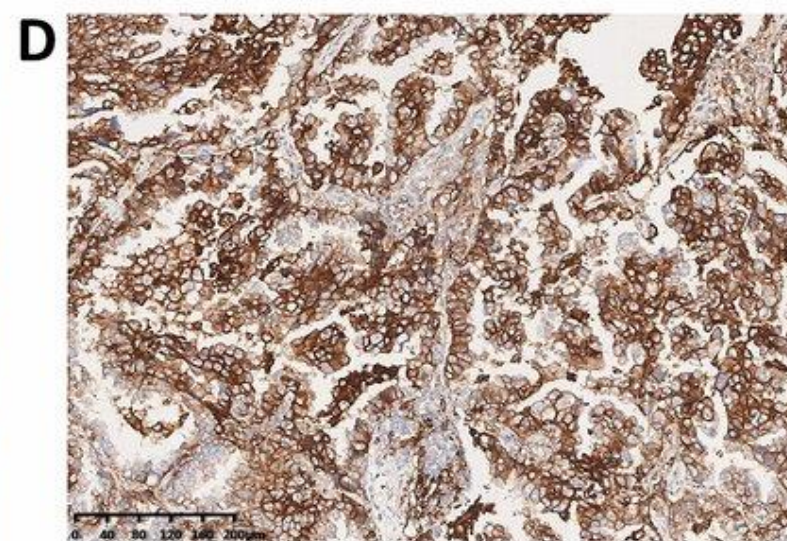
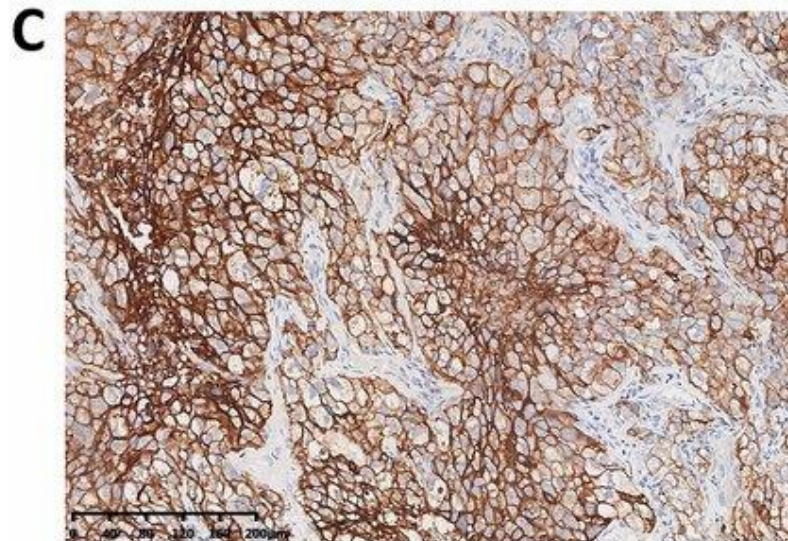
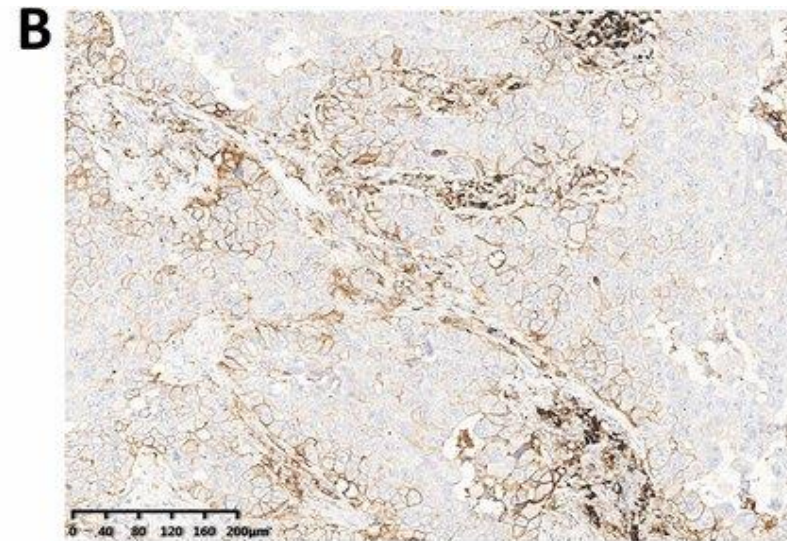
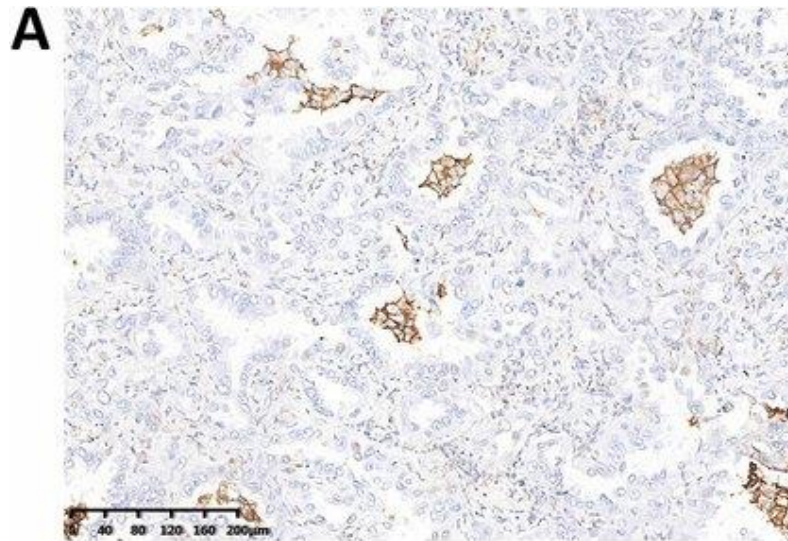
# Kleincelligig carcinoom



Neuro-endocriene marker



# PDL1 kleuring



- Klinische gegevens
- Macroscopie
- Microscopie
- Conclusie
  
- Alle info die longarts nodig heeft om de verdere behandeling te bepalen

## Macroscopie:

I: 1 lymfklier, ti 1b.

II: 2 lymfklieren gehalveerd, ti 1b.

III: Macroscopisch lijkt het de rechter onderkwab te zijn van de long. De long heeft afmetingen van 15 x 15 x 13 cm. Het pleura oppervlak is grijsbruin glad en glanzend en plaatselijk beige ingetrokken vast aanvoelend. Het ingetrokken gebied wordt blauw geinkt. Het dichtstbijgelegen peribronchiaal resectievlak wordt groen geinkt. Het gecreëerd resectievlak wordt zwart geinkt. Op snede wordt onder het pleura-oppervlak een beige glazige tumor aangetroffen met een diameter van 3,6 cm. De tumor ligt op 0,7 cm van groen geinkt peribronchiaal resectievlak. De tumor ligt op 1,6 cm van zwart geinkt gecreëerd resectievlak. De tumor ligt op 2 cm van bronchusresectievlak.

Cassette 1: bronchus en vaatresectievlakken.

Cassette 2: peribronchiale lymfklieren.

Cassette 3: normaal longparenchym op afstand.

Cassette 4-5: Tumor in relatie tot pleura-oppervlak.

Cassette 6: tumor in relatie tot pleura-oppervlak en groen geinkt peribronchiaal resectievlak, gedeeltelijk 6b.

## Microscopie:

[PPM]

Gebaseerd op de richtlijnen kleincellig longcarcinoom versie 1.0 (2011) en niet-kleincellig longcarcinoom versie 2.3 (2015)

### Klinische Gegevens en Macroscopie

Type resectie: lobectomie

Longgedeelte(n): rechteronderkwab

Andere organen: lymfklieren

Tumor zichtbaar: ja

Diameter tumor: 3,6 cm

Lokalisatie tumor: centraal en perifeer

### Microscopie

Type tumor (WHO): grootcellig neuro-endocrien carcinoom (LCNEC) met neuro-endocriene morfologie en neuro-endocriene differentiatie (markers pos)

Gradering neuro-endocriene tumor: niet verricht

Neuro-endocriene morfologie: trabeculair

Obstructie pneumonie/atelectase: afwezig

Pleura visceralis: PL 1: complete doorgroei voorbij de lamina elastica van de pleura visceralis

Grote hilusvaten: vrij

Satelliethaard(en): geen

(Overige) metastasen: geen

Extranodale groei: aanwezig

### Snijvlakken

Bronchussnijvlak: vrij op 0,2 cm

Peribronchiaal longsnijsvlak: niet vrij

Snijvlakken hilusvaten: vrij op => 1 cm

### Aanvullende technieken

Immuno positief: TTF1, Synaptophysine en RB1

Immuno negatief: P40 en Chromogranine A

### Lymfklieren

Peribronchiale lymfklieren: negatief

Station 7: subcarinaal: macrometastase

Station 8: para-oesofageaal (onder carina): macrometastase

Station 9: ligamentum pulmonale: negatief

Extranodale groei: aanwezig

## Conclusie:

Lobectomie rechteronderkwab: voorkeur voor grootcellig neuro-endocrien carcinoom (LCNEC), d.d niet-kleincellig carcinoom met neuro-endocriene differentiatie; diameter tumor 3,6 cm. Perineurale groei aanwezig.

Pleura visceralis: PL 1; grote hilusvaten: vrij.

Snijvlakken: bronchussnijvlak vrij op 0,2 cm; hilusvaten: vrij.

Snijvlakken: peribronchiaal: niet vrij. Het betreft een direct peribronchiaal gelegen tumorfocus, mogelijk vanuit lymfangioinvasieve groei uitgedoeld. Geen directe relatie met de bulk van de tumor, ook geen lymfklier ter plaatse aangetroffen.

Peribronchiale lymfklieren: negatief.

Station 7: subcarinaal: macrometastase.

Station 8: para-oesofageaal (onder carina): macrometastase.

N.B. station 7 en 8 zijn in 1 potje aangeleverd. Slechts 1 van de 2 klieren positief, niet meer te achterhalen of dat station 7 of 8 is.

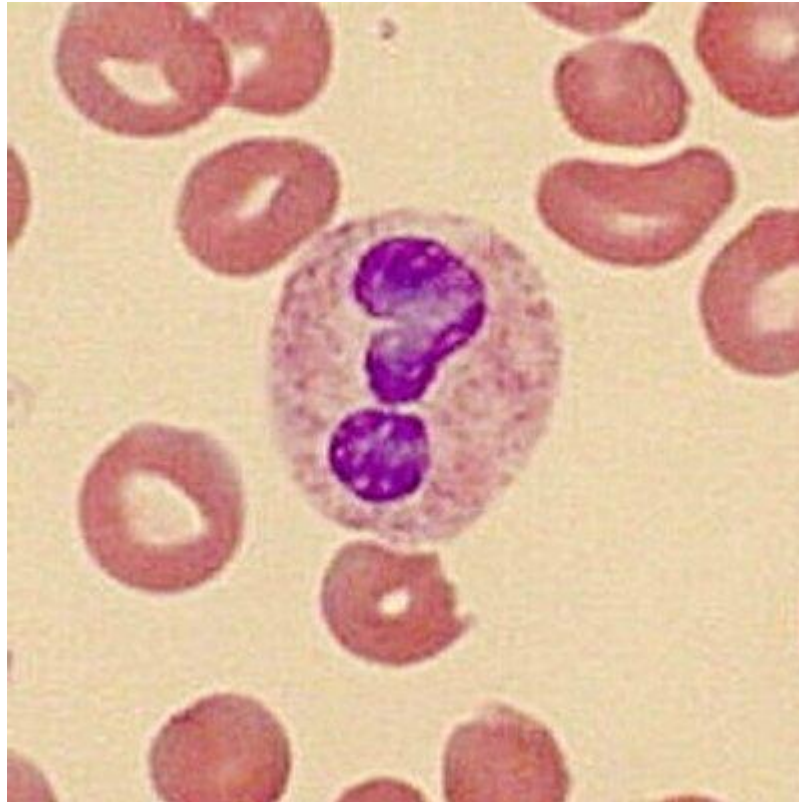
Station 9: ligamentum pulmonale: negatief.

Extranodale groei: aanwezig.

TNM classificatie Long (9e editie UICC): pT2aN2bPL1.



# Vragen?





# ctDNA; de wereld van tumor DNA in het bloed

Passion  
for life.

**Dr. Ben van den Borne, longarts**

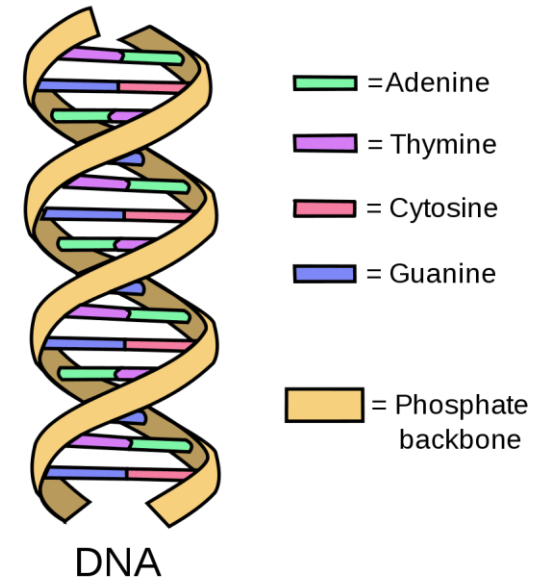
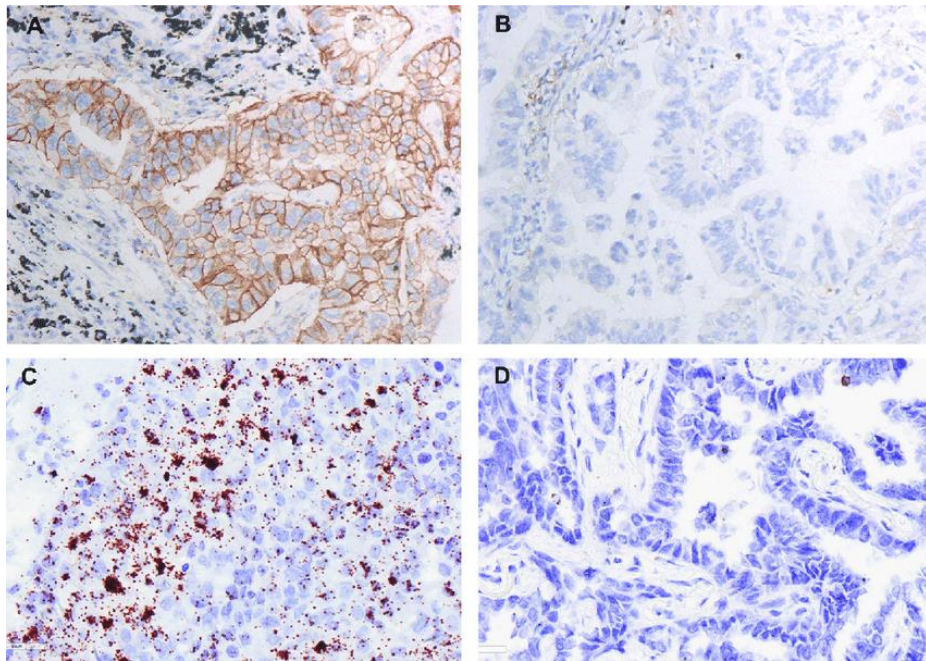
**Prof. dr. Volkher Scharnhorst, klinisch chemicus**

# Behandeling is afhankelijk van stadium

<u>Stadium</u>	<u>Soort behandeling</u>	<u>Doel behandeling</u>
I	Operatie / Bestraling	Genezing (curatief)
II	Chemo + immunotherapie + operatie Operatie + chemotherapie Bestraling	Genezing (curatief)
III	Chemo + immunotherapie + operatie Chemotherapie + bestraling (+/- immunotherapie)	Genezing (curatief)
	Alleen chemotherapie of immuuntherapie	Remming (palliatief)
IV	Alleen chemotherapie Alleen immunotherapie Chemotherapie + immunotherapie Doelgerichte behandeling	Remming (palliatief)

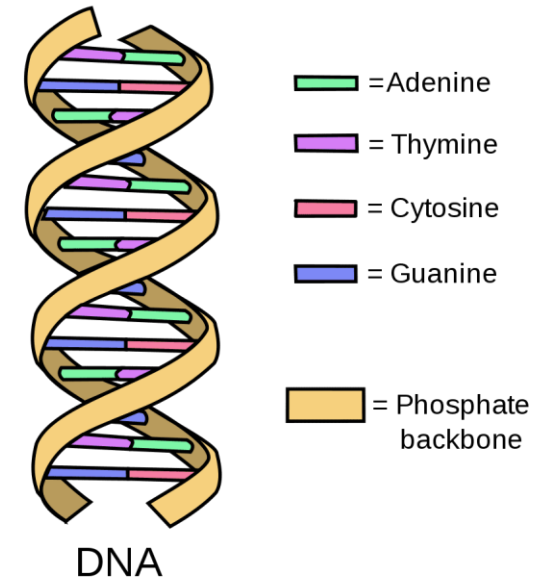


# Behandeling is afhankelijk van andere kenmerken van de tumorcellen

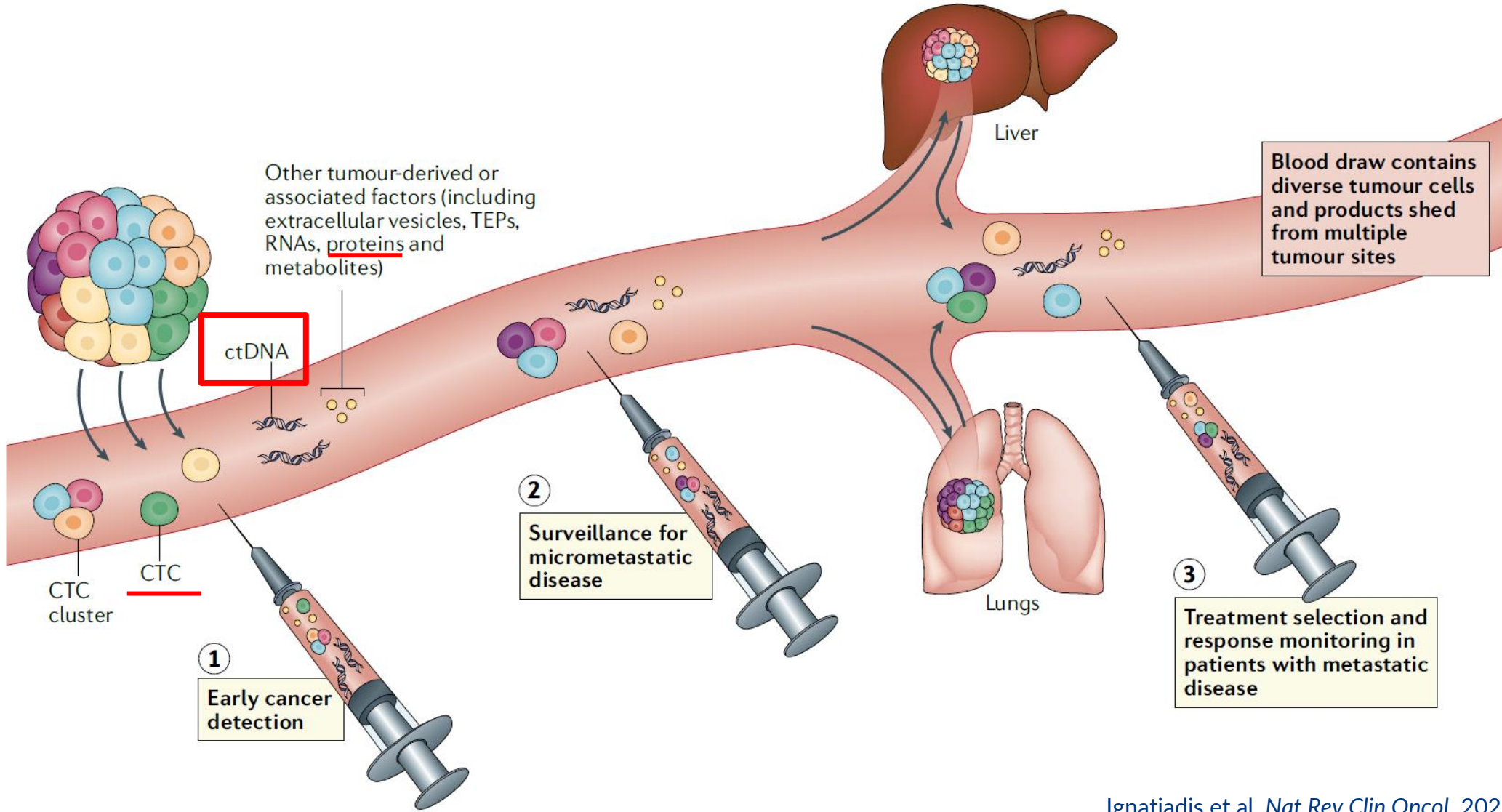


## Indien mogelijk wordt doelgerichte therapie gegeven

- Geeft een beter behandel respons dan overige therapieën
- Heeft vaak minder bijwerkingen
- Onderzoek naar aanwezigheid van DNA afwijkingen in de tumor
- Biopsie materiaal van tumor is niet altijd geschikt voor DNA analyse => dan extra punctie (belasting, vertraging)
- Alternatieve bron van tumor DNA: **Liquid biopsy**



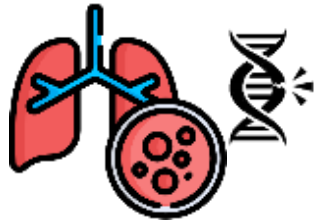
# Wat is liquid biopsy?





# DNA analyse: tDNA-NGS vs. ctDNA-ddPCR

Aanbevolen voor laat stadium niet-plaveiselcelcarcinoom NSCLC patiënten



## Huidige gouden standard: tDNA-NGS

- Mutatie analyse op tumor DNA (weefsel) met NGS (**tDNA-NGS**)
- **NGS**: groter panel van genen

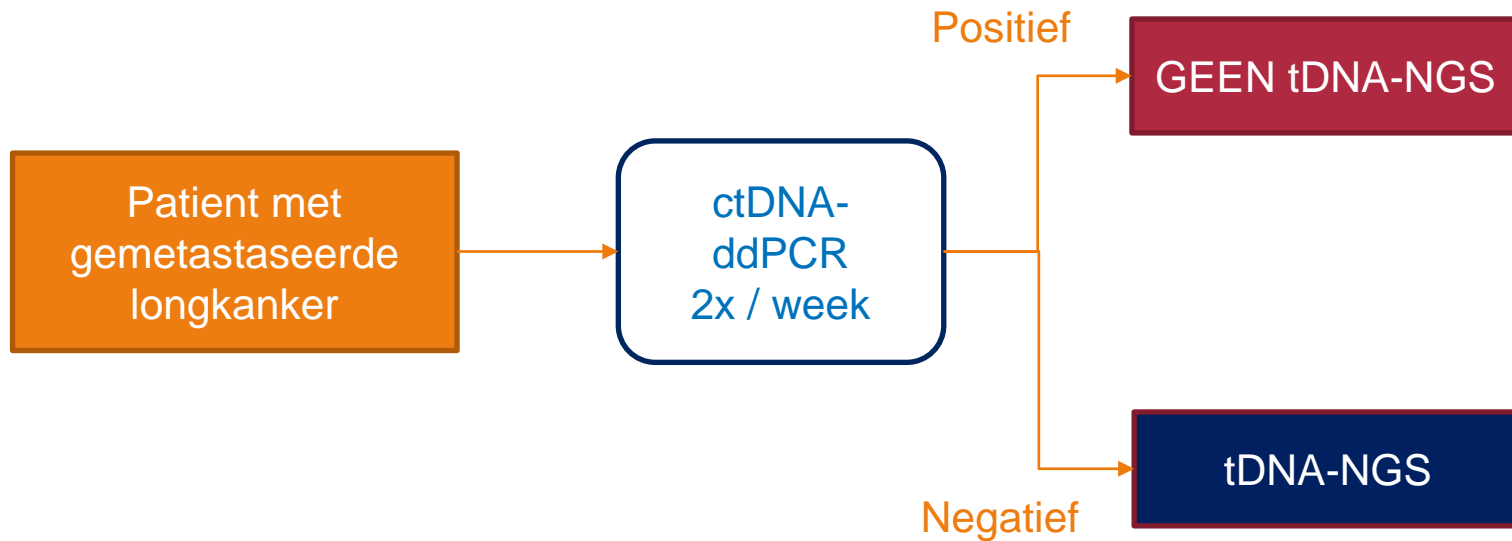


## Minder invasief alternatief: ctDNA-ddPCR

- Mutatie analyse van circulerend tumor DNA (bloed) uit liquid biopsy met droplet digital PCR (**ctDNA-ddPCR**)
- **ddPCR**: Kleinere genen panel, maar wel met veel voorkomende mutaties in:  
*KRAS, EGFR en BRAF V600*

# Huidige routine in Catharina (Anna, MMC, SJG)

sinds november 2021



Eerste bezoek aan poli longen op  
 Maandag → uitslag woensdag  
 Woensdag → uitslag vrijdag

## Voordelen van DNA analyse op bloed

Snel resultaat

Spoort i.c.m. tumor DNA analyse meer mutaties op dan alleen tDNA analyse

Minder belastend voor patiënt

Therapie monitoring m.b.v. hoeveelheid ctDNA in bloed → casus



# Casus 1



## Man, 80 j

Febr 2022: Huisarts belt

80 jarige man met fors gewichtsverlies en op echo abdomen mogelijk lever tumoren.

Voorgeschiedenis:

- Glaucoom
- Hypertensie
- Diabetes mellitus type II
- 2008: 2x TIA doorgemaakt
- 2008: Carotis endarteriëctomie links i.v.m. stenose van meer dan 70%
- 2018: Totale knie prothese links
- 2020: Decompensatio cordis en acute nier insufficiëntie
- 2021: Beginnende vasculaire dementie

Verwezen naar MDL arts → CT-Thorax / Abdomen: verdenking naar lever uitgezaaide longmaligniteit

Vraag HA: **is insturen zinvol ???**

## Man, 80j

**16 februari 2022:**

Bezoek poli longgeneeskunde

A/ Aanhoudende vermoeidheidsklachten, pijnklachten in linker schouder regio en in de rug.

Rookt niet meer, heeft in 't verleden zo'n 25 pack jaren gerookt.

Tevens gewichtsverlies van 11 kg (15%).

LO/ Matige lichamelijke toestand (ECOG 2).



Man, 80j

Conclusie:

Sterke verdenking cT3N0M1c longmaligniteit  
primaire tumor in LBK en  
symptomatische ossale metastasen in Th8,  
L3 en S1.

Echter: Matige conditie, beginnende dementie

Pt twijfelt sterk of hij met een voor hem belastende  
onderzoek en evt behandeling wil beginnen.

Neigen naar geen verdere diagnostiek en behandeling.  
Willen wel graag opties bespreken.



## Hoe verder?

Geen weefsel biopsie gedaan

Wél ctDNA analyse

Uitslag liquid biopsy **18 februari 22:**  
EGFR Ex19 Del positief  
Percentage mutant allel is 27 %.

Behandeling?





Man, 80j

**23 februari 2022**

- Uitslag gesprek in bijzijn van zijn dochters
- Patiënt kiest voor behandeling met EGFR receptor inhibitor Osimertinib (Tablet)
- Voorlichting door case manager over behandeling met **osimertinib**; behandelingschema, bijwerkingen en overige aandachtspunten zijn besproken.

**Dus:**

16 feb. 1<sup>e</sup> poli bezoek → 23 feb. start therapie op basis van kliniek, radiologie en ctDNA zonder weefsel biopsie.

## Verder beloop

Apr '22:

- Partieële respons

Zomer '22:

- 6 maanden vakantie in Marocco

T/m Sept '23:

- radiologische complete respons
- ctDNA ondetecteerbaar

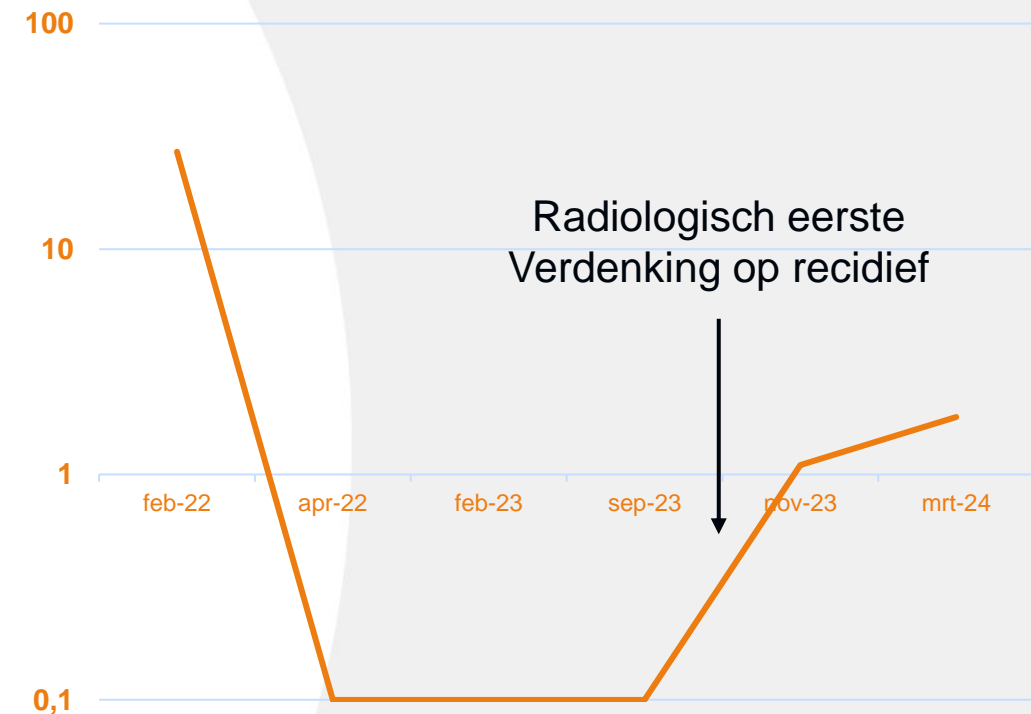
October/Nov '23:

- CT scan verdacht voor recidief
- FA ctDNA 1,1%

Maart '24: Overleden

Het ctDNA beloop geeft de respons van de tumor op de behandeling weer

FA(%) EGFR Ex19 Del



## Casus 2





## Vrouw, 74 jr

Woont in Curaçao

Hypertensie + glaucoom

2019: Stadium IV NSCLC (obv ossale metastase bekken), PDL 15%. **EGFR negatief.**  
Start chemo-immuno therapie (carboplatin/pemetrexed/ pembrolizumab, Miami)

2020: 3e kuur chemo-immunotherapie, nadien geen kuren meer gehad vanwege  
COVID-19 pandemie, geen evaluatie scan verricht

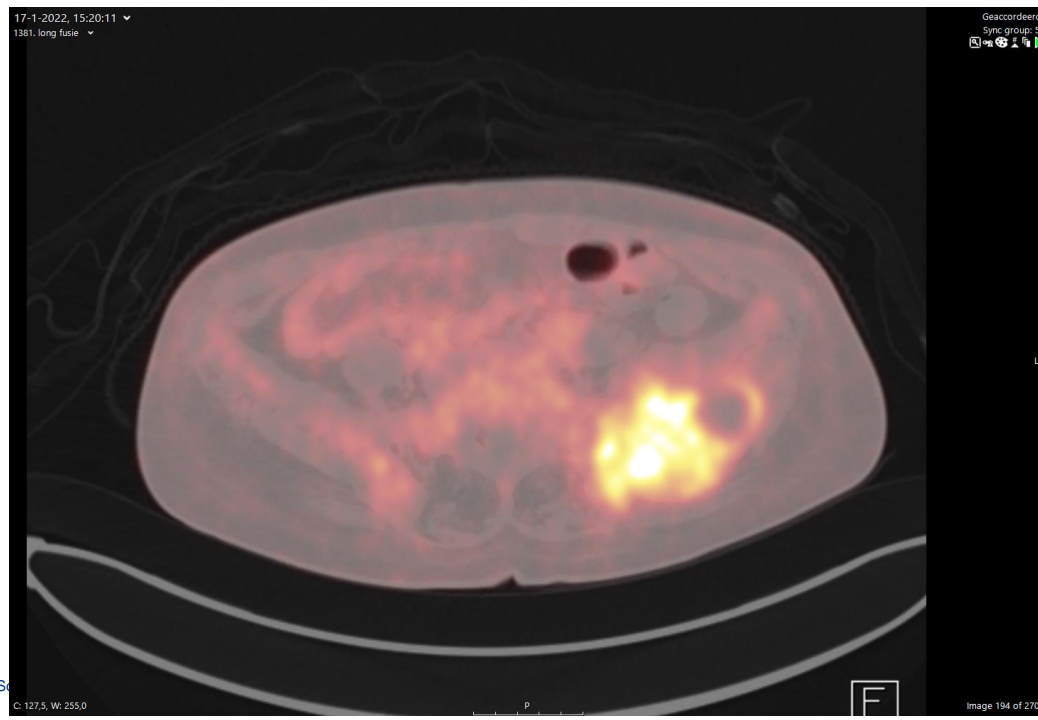
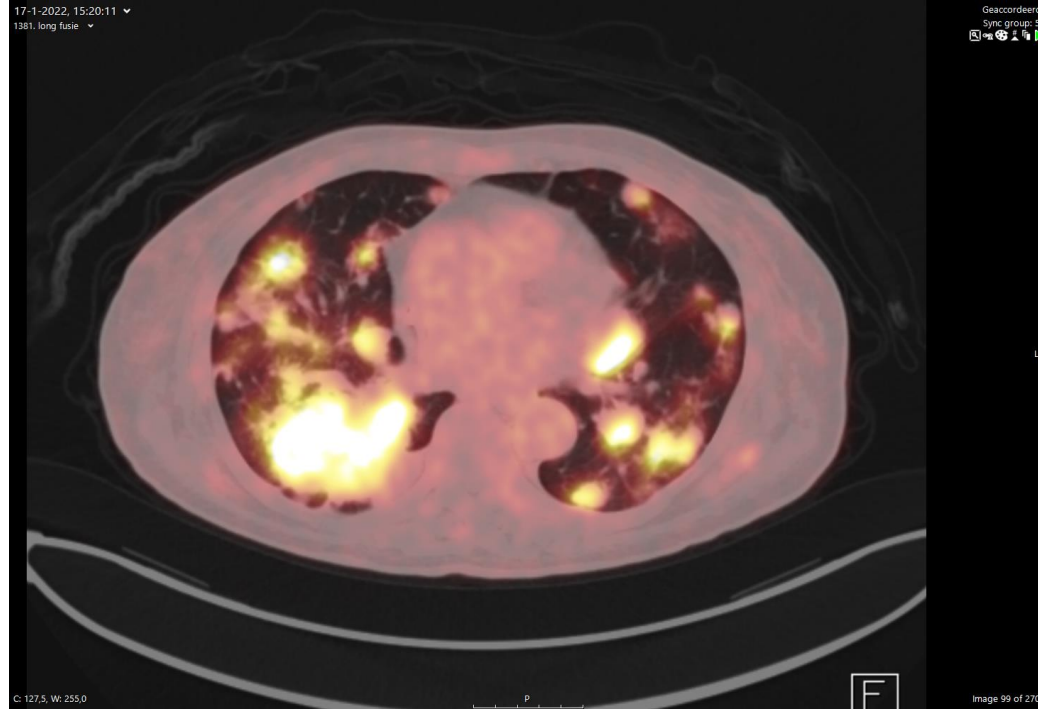
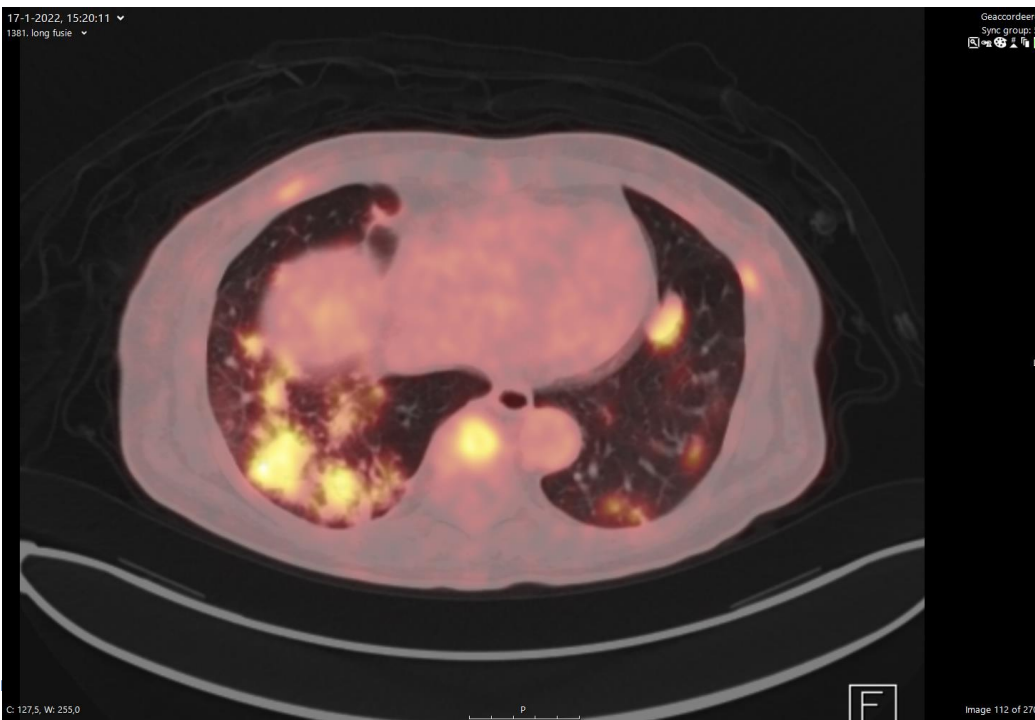
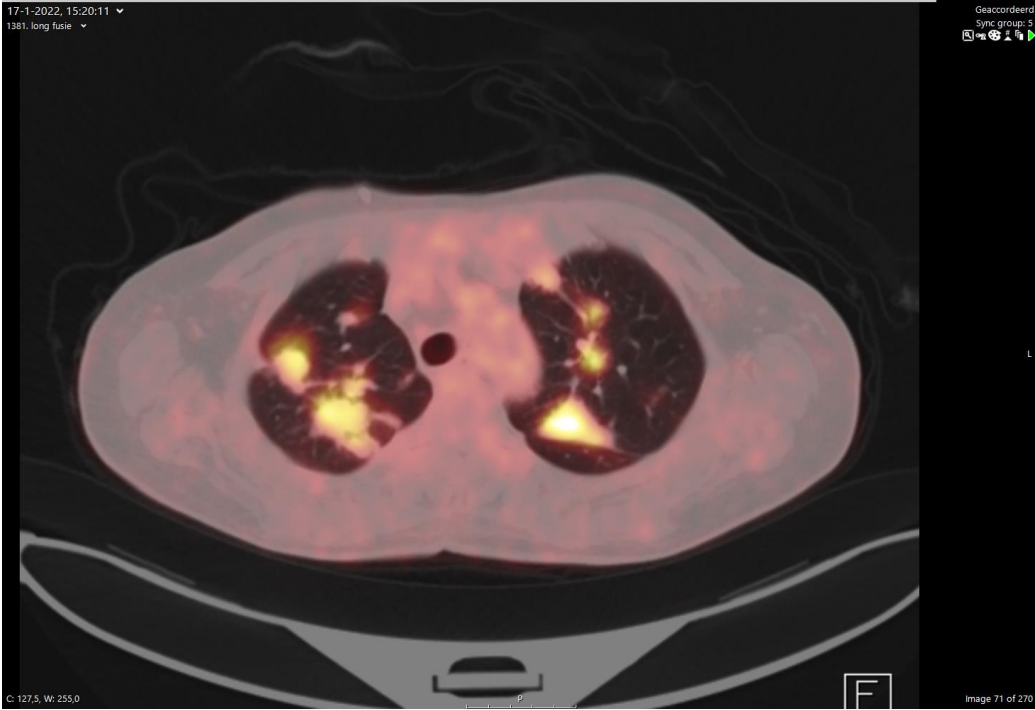
2021: Progressie ziekte wv start carboplatin/pemetrexed op Curacao, na 2 kuren  
behandeling gestaakt gezien hoge COVID incidentie op Curacao.

## Vrouw, 74 jr

Januari '22, over uit Curaçao bij familie in NL

Vermoeidheid neemt toe, ligt veel op de bank  
Toename pijn linker heup/bekken

Door huisarts verwijzing naar longarts CZE voor verdere evaluatie





## Wat nu?

Weefsel biopsie?

Liquid biopsy?



Test	14-01-2022 12:43 Mandig...
<b>Hematologie</b>	
<input type="checkbox"/> Bezinking	33 ^
<input type="checkbox"/> Hemoglobine	8.9
<input type="checkbox"/> Hematocriet	0.46 ^
<input type="checkbox"/> Erythrocyten	4.9
<input type="checkbox"/> MCV	94
<input type="checkbox"/> MCH	1.83
<input type="checkbox"/> Trombocyten	250
<input type="checkbox"/> Leucocyten	6.2
<input type="checkbox"/> Differentiele telling	
<input type="checkbox"/> Neutrofielen	4.0
<input type="checkbox"/> Eosinofielen	0.080 v
<input type="checkbox"/> Basofielen	0.030
<input type="checkbox"/> Lymfocyten	1.5
<input type="checkbox"/> Monocyten	0.60
<b>Chemie</b>	
<input type="checkbox"/> Glucose	9.3 ^
<input type="checkbox"/> Bilirubine Totaal	20 ^
<input type="checkbox"/> Bilirubine Direct	6.2 ^
<input type="checkbox"/> ASAT	23
<input type="checkbox"/> ALAT	11
<input type="checkbox"/> LD	219
<input type="checkbox"/> Alkalische Fosfatase (AF)	144 ^
<input type="checkbox"/> GGT	29
<input type="checkbox"/> Ureum	4.3
<input type="checkbox"/> Kreatinine	51
<input type="checkbox"/> eGFR (CKD-EPI)	>90
<input type="checkbox"/> Kalium	3.9
<input type="checkbox"/> Natrium	141
<input type="checkbox"/> Calcium	2.30
<input type="checkbox"/> Totaal eiwit	69
<input type="checkbox"/> Albumine	38
<input type="checkbox"/> CRP	29 ^
<b>Endocrinologie</b>	
<input type="checkbox"/> TSH	1.4
<input type="checkbox"/> T4 (vrij)	19.0
<b>DNA onderzoek</b>	
<input type="checkbox"/> DNA op ctDNA longCA diagnose	<Memo> [icon]

## → Behandeling met Tyrosine Kinase Inhibitor mogelijk:

- Start Osimertinib
- Mogelijke bijwerkingen, zoals GI en huid tox besproken
- Ter overweging evt. nog verwijzing radiotherapie voor RT ossale laesies, nu vooralsnog van afgezien gezien goed effect van aanpassing pijnmedicatie en mogelijke snelle respons bij start osimertinib
- Tijdens follow up ctDNA vervolgen 6 weken voorafgaand aan beeldvorming.

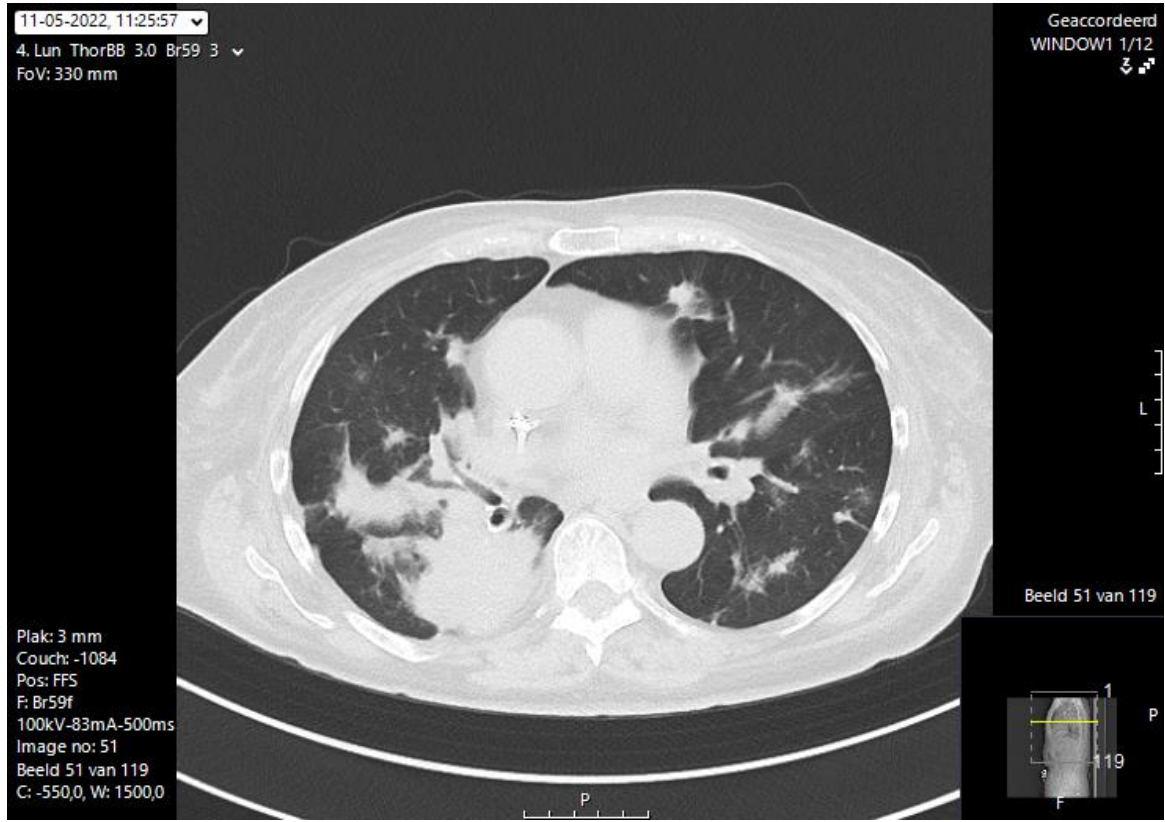
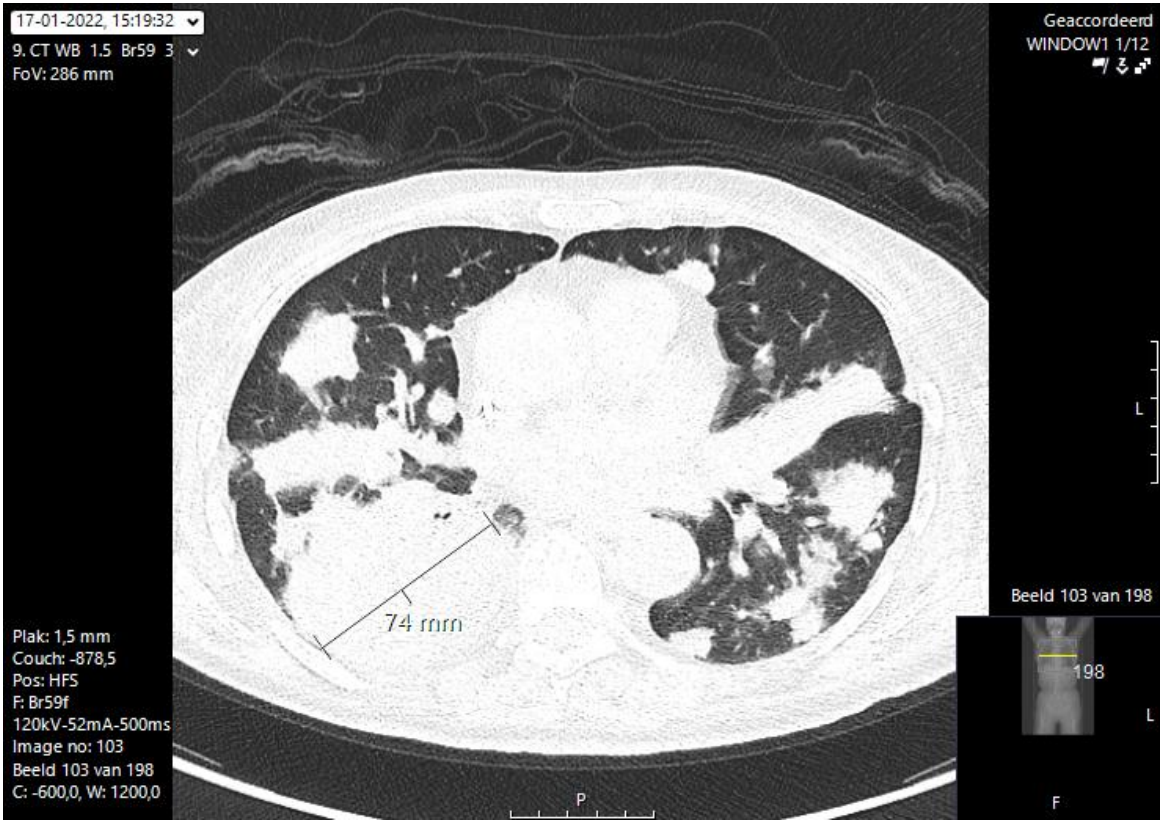
**EGFR L858R positief**  
**Er is een EGFR L858R mutatie aangetroffen; Percentage mutant allel is 2.96%**

## Evaluatie therapie respons

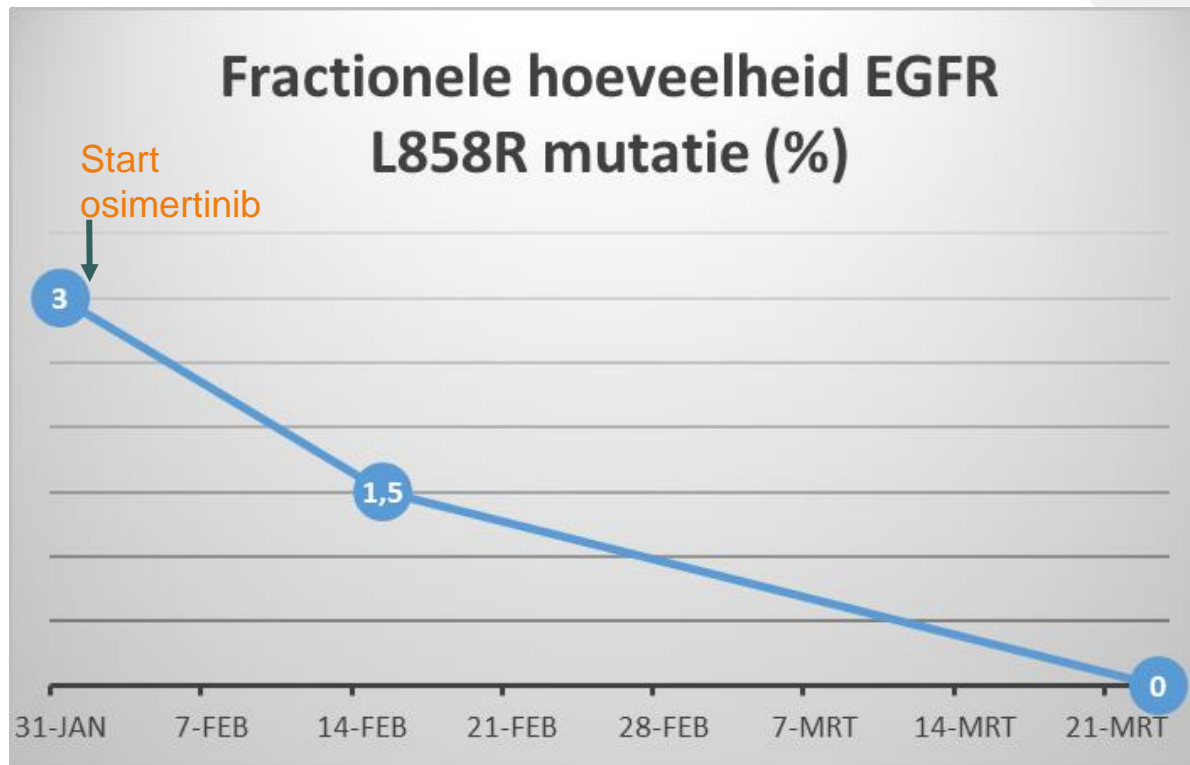
CT scan na ongeveer 3 maanden

Zijn er ook andere manieren van (vroeg) evaluatie van therapie respons?





## Therapie monitoring m.b.v. ctDNA



**Betekenis?**

Kwantitatieve weergave van de hoeveelheid mutant allel in het bloed.

Eerste evaluatie met CT scan staat gepland voor begin mei

# Dank aan alle patiënten en het Longmerker studie team



Remco de Kock



Birgit Deiman



Ben van den Borne



Christi Steendam



Esther Visser



Hao Cao



Volkher Scharnhors



Sylvia Genet



Federica Eduati



Maarten Broeren,  
Maggy Youssef-El Soud



Gerben Stege



Huub Belderbos



Susan van 't Westeinde



Marleen de Saegher

Financieel ondersteund door  
Roche Diagnostics  
Astra Zeneca  
NWO  
Catharina Onderzoeksfonds  
AKL Onderzoeksfonds