

Ziekteverloop neuroblastoom bepaald op

Een recent aan het UZGent ontwikkelde genexpressiesignatuur geeft een betere risico-inschatting van het ziekteverloop bij neuroblastoompatiënten. *Artsenkrant* kon alvast de SIOPEN-studie inkijken.

Neuroblastoom, een tumor van het zich ontwikkelend sympathisch zenuwstelsel, is de meest frequente extracranieële solide maligniteit bij kinderen en zorgt jaarlijks voor 10 à 15 Belgische gevallen. De ziekte komt na het vijfde levensjaar slechts in 10% van alle gevallen voor. Deze solide tumor is de belangrijkste doodsoorzaak door kanker in de leeftijdsgroep van één tot vier jaar en is verantwoordelijk voor ongeveer 15% van de globale kindermortaliteit.

Aan de hand van morfologische, genetische en klinische karakteristieken worden patiënten ingedeeld in risicogroepen waarop een gepaste behandeling wordt voorzien. Hoewel klinische ervaring met dit systeem aan toont dat de huidige therapeutische stratificatie werkt, vertonen kinderen binnen eenzelfde behandelingsgroep soms een heel ander ziekteverloop. Er is dus

nood aan additionele tumor-specifieke merkers.

De nieuwe genexpressiesignatuur van 59 genen heeft, zo blijkt uit de SIOPEN-studie, een goede voorspellende waarde voor het verdere verloop van de aandoening.

Aan het woord is **Joëlle Vermeulen**, pediatriesch oncoloog en tevens de uitvoerder van de studie, die tot stand kwam onder begeleiding van Jo Vandesompele, Frank Speleman en Geneviève Laureys van het UZ Gent.

De test gebeurt in combinatie met het bepalen van biologische en klinische karakteristieken. Zal de test eventueel andere gaan vervangen of vereenvoudigen?

Vermeulen: Onze genexpressiesignatuur werd getest op een groot aantal Europese stalen en is gevalideerd op een onafhankelijke cohorte Amerikaanse stalen. De volgende stap is nu om de signatuur prospectief te gaan testen op

een grote reeks stalen vooraleer deze in de kliniek kan worden geïmplementeerd. Uiteraard zullen de huidige risicofactoren hun rol blijven behouden in de therapeutische stratificatie van de neuroblastoompatiënten en zal de signatuur een additionele rol hebben om de risicogroepen te verfijnen.

In de huidige laagrisicogroepen zouden patiënten die op basis van de genexpressiesignatuur een verhoogd risico vertonen baat kunnen hebben bij een meer intensieve therapie. Ook in de hoogrisicogroepen zien we duidelijk dat de signatuur een onderscheid kan maken tussen patiënten die een goede en slechte prognose hebben. Die laatsten kunnen in aanmerking komen voor nieuwe, zogenaamde 'moleculaire' medicijnen.

De merkgenen zijn gecorrigeerd aan de evolutie van het ziekteproces. Bepaalde genen worden



Ook in de hoogrisicogroepen zien we duidelijk dat de signatuur een onderscheid kan maken tussen patiënten die een goede en slechte prognose hebben.

specifiek tot expressie gebracht in kankercellen van patiënten die het goed doen, en andere genen duiken enkel op in kankercellen van kinderen die een lage overlevingskans hebben. Kan het daarom niet interessant zijn om na te gaan welke moleculaire, inter- en/of intracellulaire processen juist die specifieke genen tot expressie doen brengen, om dan eventueel de onderliggende processen te bestuderen?

In principe reflecteert de expressiesignatuur de biologische sta-

tus van de cel die een weergave is van het cellulair antwoord op omgevingsfactoren (hypoxie, antwoord op cellulaire liganden, cel-cel-interactie, enzovoort) of onderlingende moleculaire gebeurtenissen. Er is bijvoorbeeld aangetoond dat wijzigingen in het aantal DNA-kopieën een sleutelrol spelen in wijziging van genexpressie in kanker. Ook epigenetische veranderingen kunnen aan de basis liggen van wijzigingen in expressie en meer recent werd ook ontdekt dat

qPCR technisch doorgelicht

Testen die gebruikmaken van de moleculaire techniek kwantitatieve real-time polymerase kettingreactie (qPCR) zijn ondertussen goed ingeburgerd in vele labs. Op het afgelopen qPCR-symposium in Gent werd veel aandacht besteed aan technische aspecten. Marijke Raymaekers van het Virga Jesseziekenhuis Hasselt gidst ons door de materie met tekst en uitleg.

De laboratoriumtechniek is bedoeld voor de kwantitatieve bepaling van stukjes genetisch materiaal. Tijdens het qPCR-symposium lag de focus op hoe de verschillende stappen correct dienen te worden uitgevoerd. Want als één ding duidelijk werd, is het wel dat de qPCR-techniek nog dient te worden gestandaardiseerd. En dat mag wel, aangezien de verschillende laboratoria voor hun wetenschappelijk onderzoekswerk eigen procedures hanteren, afhankelijk van wat ze zelf de meest toepasbare methode vinden. Daarmee zijn onderzoeksresultaten moeilijk onderling vergelijkbaar, zeker daar heel wat studies te weinig informatie geven over de technische aspecten van de procedure die werd gebruikt.

Of daardoor alle wetenschappelijke studies die op dergelijke manier tot stand kwamen ineens in mindere of meerdere mate niet te vertrouwen zijn, zoals de eerste spreker Stephen Bustin van het Londense Barts and the London School of Medicine and Dentistry poneert, is waarschijnlijk te extreem gesteld.



Marijke Raymaekers gaf tijdens het symposium uitleg bij de uitgebreide checklist die ze zelf hanteert.

Marijke Raymaekers, wetenschappelijk medewerker werkzaam in het laboratorium voor moleculaire diagnostiek van het Virga Jesseziekenhuis: "Een beetje nuance is op z'n plaats. Het klopt inderdaad dat sommige publicaties te weinig informatie geven over de technische aspecten van de beschreven test maar dat betekent daarom niet dat deze informatie niet voorhanden is. Het maakt de publica-

tie wel minder waardevol. In een aantal publicaties ligt de nadruk vooral op de resultaten die behaald worden met één bepaalde moleculair biologische test en worden de technische karakteristieken van deze test soms niet voldoende gecontroleerd."

Handigheid

De qPCR-techniek heeft ondertussen z'n weg gevonden naar

toepassingen in het onderzoek en in de klinische diagnostiek. Om een real-time PCR juist uit te voeren zijn de laatste jaren een aantal richtlijnen verschenen. Raymaekers gaf tijdens het symposium uitleg bij de uitgebreide checklist die ze zelf hanteert bij de validatie van deze onderzoeken. Hieruit blijkt dat expertise en vaardigheid vereist zijn.

Er is nog weinig of geen internationale standaardisatie van qPCR-testen. De commerciële kits die beschikbaar zijn, zoeken naar een aantal vooraf bepaalde genen, meestal gebruikt voor een welbepaalde aandoening. En als die niet voorhanden zijn, werken labs eigen ontwikkelde, inhouse testen uit. Die zijn mogelijk minder gevalideerd.

Bent u zich doorgaans bewust binnen welke foutenmarge u moet werken, zowel met bestaande kits als bij uw inhouse test? Geeft u de betrouwbaarheidsgraad aan van de uitgevoerde test?

Elke laboratoriumtest heeft zijn beperking in gevoeligheid en specificiteit. De testen worden zo gepositioneerd dat er met die beperkingen op een goede manier wordt omgegaan. Elke test wordt uitgebreid gevalideerd voor een bepaald staaltype en patiëntenpopulatie vooraleer deze in gebruik genomen wordt in het klinisch laboratorium. Van elke

test wordt een validatierapport opgemaakt. Dit beschrijft de performantiekarakteristieken van deze test, maar vermeldt uiteraard ook de beperkingen ervan. Ook het doelwitgen wordt hierin beschreven. Op regelmatige basis wordt er deelgenomen aan een externe kwaliteitsevaluatie waarbij de bekomen resultaten ook vergeleken worden met andere technieken. Verder wordt er regelmatig een literatuurstudie uitgevoerd om te kijken of de test nog actueel is. De kwaliteit van de extracties van het DNA en het RNA wordt nagegaan door vermenigvuldiging van een controlegen. De kwaliteit van het RNA uit weefsels wordt bepaald door de zuiverheid en de fragmentatie te meten.

Waarop moet een arts letten die de resultaten van een test voor zich liggen heeft om zich ervan te vergewissen dat het staal van goede kwaliteit was?

Belangrijke factoren die een impact hebben op de kwaliteit van een staal zijn onder andere correcte afname- en bewaarcondities, en de tijd tussen afname en aankomst op het laboratorium.

Indien DNA of RNA niet van goede kwaliteit is, wordt dit steeds vermeld op het rapport. In sommige omstandigheden kan het, na overleg tussen de klinisch bioloog en de arts, belang-

basis van genexpressie

→ kleine niet-coderende RNA moleculen (microRNA's) hierin een belangrijke rol zouden spelen. Een nadere bestudering van onderliggende mechanismen kan dus interessant zijn met het oog op de ontwikkeling van doelgerichte therapie die inspeelt op het onderliggend genetisch defect. Zo werd recent ontdekt in borstkanker dat één bepaalde microRNA aan de basis zou liggen van de expressieveranderingen van verschillende genen betrokken in de agressiviteit van de kanker.

Ook kan de bestudering van de functie van de genen die hoger of lager tot expressie komen van belang zijn. Zo heeft genexpressie-analyse in acute lymfoblastische leukemie bijvoorbeeld geleid tot de ontdekking van een verhoogde expressie van de receptor tyrosine kinase FLT3 dat als gericht doelwit kan dienen voor inhibitoren. Zodoende kan men tumorgroei doen afnemen.

Is het de bedoeling dit als kit beschikbaar te stellen en geeft commercialisering daarbij een betere kans op een uniforme test-

procedure, bijvoorbeeld omwille van de eenvoud van een kit?

De genexpressiesignatuur en de procedure om die te bepalen is perfect toepasbaar als diagnostische routinematige test. Twee moleculair diagnostische bedrijven in de VS hebben reeds

interesse getoond voor de ontwikkeling van een diagnostische test op basis van deze signatuur.

Het voordeel om een test te commercialiseren is het bekomen van een gecertificeerde en gevalideerde robuuste test die inderdaad op een uniforme manier

kan worden toegepast in eender welke lab ter wereld. Zo werden er recent vier verschillende diagnostische testen voor risico-

klassificatie van borstkankerpatiënten commercieel beschikbaar gesteld.

Patrick De Neve

'Improved Outcome Prediction of Children with Neuroblastoma using a Multigene Expression Signature, a SIOPEX Study', Joëlle Vermeulen et al., manuscript in voorbereiding.

→ rijk zijn dat een analyse uitgevoerd wordt op een staaltype dat niet gevalideerd werd. In dat geval wordt de analyse toch uitgevoerd en wordt op het rapport steeds vermeld dat dit resultaat met voorzichtigheid dient geïnterpreteerd te worden. Verder is het belangrijk dat elk resultaat steeds gecorreleerd wordt met de klinische context en met andere laboratoriumuitslagen.

Uit het symposium kwam naar voor dat de thermocyclers, de apparatuur bedoeld om het genetisch materiaal van het teststaal te vermenigvuldigen, afwijkende resultaten kunnen genereren als tijdens dit proces de temperatuur niet uniform verdeeld wordt over het toestel, waardoor temperatuurverschillen kunnen optreden.

In ons laboratorium worden deze apparaten jaarlijks gecertificeerd. Dit omvat eveneens een temperatuurvalidatie. Wij laten deze meting jaarlijks uitvoeren door een gespecialiseerde firma die hiervoor ook gecertificeerde toestellen gebruiken. Daarnaast verplaatsen we onze controles tijdens elke PCR zodanig dat elke plaats in het toestel regelmatig gecontroleerd wordt.

Patrick De Neve

BRONCHO-VAXOM

Versterkte immuniteit

Volwassenen 10 caps : € 17.03
 Volwassenen 30 caps : € 34.70
 Kinderen 10 caps : € 11.47
 Kinderen 30 caps : € 26.72

BENAMING : BRONCHO-VAXOM. **SAMENSTELLING :** BRONCHO-VAXOM Volwassenen : Een capsule bevat 7,0 mg gelyofiliseerd bacterielysaat van: Haemophilus influenzae - Diplococcus pneumoniae - Klebsiella pneumoniae et ozaenae - Staphylococcus aureus - Streptococcus pyogenes et viridans - Neisseria catarrhalis. Hulpstoffen: Gemodificeerd maïszetmeel, Magnesiumsilicaat, Magnesiumstearaat, Mannitol, Natriumglutamaat, Propylgallaat, Titaandioxide (E171), Indigotine (E132), Gelatine. BRONCHO-VAXOM Kinderen Een capsule bevat 3,5 mg gelyofiliseerd bacterielysaat van : Haemophilus influenzae - Diplococcus pneumoniae - Klebsiella pneumoniae et ozaenae - Staphylococcus aureus - Streptococcus pyogenes et viridans - Neisseria catarrhalis. Hulpstoffen: Gemodificeerd maïszetmeel, Magnesiumsilicaat, Magnesiumstearaat, Mannitol, Natriumglutamaat, Propylgallaat, Titaandioxide (E171), Indigotine (E132), Gelatine. **FARMACEUTISCHE VORM :** BRONCHO-VAXOM Kinderen : capsules formaat n° 3 met opaakblauwe kleur. BRONCHO-VAXOM Volwassenen : capsules formaat n° 3: hoofd met opaakblauwe kleur - lichaam met opaakwitte kleur. **INDICATIES :**

In de preventie en acute fase van alle luchtwegeninfecties



Recidiverende infecties van het ademhalingsstelsel : BRONCHO-VAXOM vermindert het aantal en de ernst van de infectieuze fasen. **POSOLOGIE EN WIJZE VAN GEBRUIK :** Behandeling van de acute fase : Eén capsule per dag, nuchter in te nemen (minimum 10 dagen), totdat de symptomen verdwenen zijn. Behandeling op lange termijn : Eén capsule per dag, nuchter in te nemen gedurende 10 opeenvolgende dagen per maand, gedurende drie maanden. Kinderen : zelfde voorschrift als voor volwassenen. BRONCHO-VAXOM Kinderen bevat de helft van de dosis voor volwassenen. **CONTRA-INDICATIES :** Overgevoeligheid aan het actief bestanddeel of aan één van de excipientia. **ONGEWENSTE EFFECTEN :** De frequentie van de bijwerkingen wordt als volgt gedefinieerd: zeer vaak (> 1/10), vaak (> 1/100, < 1/10), soms (> 1/1000, < 1/100), zelden (> 1/10.000, < 1/1000), zeer zelden, inclusief incidentele meldingen (< 1/10.000), Inductie van gewrichtsreuma, endocarditis en glomerulonefritis is erg onwaarschijnlijk en werd nooit vastgesteld met BRONCHO-VAXOM. **REGISTRATIEHOUDER :** Solvay Pharma N.V. Brg. E. Demunterlaan, 3 - 1090 BRUSSEL. **AFLEVERING :** Op medisch voorschrift. **LAATSTE OPPUNTSTELLING VAN DE BIJSLUITER :** April 2007. Vergunningsnummers : BRONCHO-VAXOM Kinderen : 410 IS 250 F 4. BRONCHO-VAXOM Volwassenen : 410 IS 251 F 4

