

**EXPERTISE EN DIENSTVERLENING  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

***AD HOC* EXPERTENCOMITE**

**BENCHMARKING TRIAL**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT  
Next Generation Sequencing (NGS)**

**Case studies**

**Vaste tumoren**

**2019/1**

**Sciensano/NGS benchmarking trial/4-NL**

Expertise en dienstverlening  
Kwaliteit van laboratoria  
J. Wytsmanstraat, 14  
1050 Brussel | België

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

**AD HOC EXPERTENCOMITE**

<b>Sciensano</b>					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Aline Antoniou	Enquêtecöördinator	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	<a href="mailto:Aline.Antoniou@sciensano.be">Aline.Antoniou@sciensano.be</a>		
Vanessa Ghislain	Vervanger enquêtecöördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	<a href="mailto:Vanessa.Ghislain@sciensano.be">Vanessa.Ghislain@sciensano.be</a>		
<b>Experten</b>	<b>Instelling</b>				
Philippe Aftimos	Institut Jules Bordet				
Elke Boone	AZ Delta Hospital				
Laurent Dewispelaere	LHUB-ULB				
Guy Froyen	Jessa Hospital				
Koen Jacobs	AZ-St-Lucas Hospital				
Suzan Lambin	University Hospital Antwerp				
Marie Le Mercier	Universitair Ziekenhuis Antwerpen				
Friedel Nollet	AZ Sint-Jan Brugge-Oostende				
Karl Vandepoele	Ghent University Hospital				
Sara Vander Borgh	UZ Leuven				
Joni Van Der Meulen	Ghent University Hospital				
Stefanie Vermeire	AZ Sint-Jan Brugge-Oostende				
Thomas Delcourt	Sciensano				
Aline Hébrant	Sciensano				
Mohamed Rida Soumali	Sciensano				
Marc Van Den Bulcke	Sciensano				
Philippe Van de Walle	Sciensano				
Els Van Valckenborgh	Sciensano				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experten op: 17/06/2019, 12/07/2019 en 04/09/2019.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het *ad hoc* expertencomité van: 25/06/2019.

**Verantwoordelijkheden:**

Tijdens deze vergadering werd het *ad hoc* expertencomité voor advies geraadpleegd over de inhoud van het globaal rapport, de interpretatie van de resultaten, de evaluatiecriteria en de organisatie van de volgende evaluaties. De verantwoordelijkheid voor de selectie van de gebruikte stalen en het definitieve ontwerp van de studie wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

**Autorisatie verspreiding rapport:**

Door Aline Antoniou, enquêtecöördinator van de NGS-benchmark trial, op 14/10/2019.



Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/nl/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/nl/rapports_annee.htm)

# INHOUDSTAFEL

<b>1. INLEIDING .....</b>	<b>5</b>
1.1. DOEL VAN DE NGS-BENCHMARK TRIAL – CASE STUDIES .....	5
1.2. VRAAG .....	5
1.3. EVALUATIECRITERIA .....	5
<b>2. RESULTATEN .....</b>	<b>6</b>
2.1. DEELNAME AAN DE NGS BENCHMARKING TRIAL .....	6
2.2. OVERZICHT VAN DE METHODEN .....	6
2.3. OVERZICHT VAN DE RESULTATEN .....	7
2.3.1. Casus 1 .....	7
2.3.2. Casus 2 .....	8
2.3.3. Casus 3 .....	10
2.3.4. Casus 4 .....	12
2.3.5. Casus 5 .....	14
2.3.6. Casus 6 .....	16
2.3.7. Casus 7 .....	18
2.3.8. Casus 8 .....	19
2.3.9. Slaagpercentage van de deelnemers .....	20
2.4. OVERZICHT VAN KLINISCHE CONCLUSIES .....	20
<b>3. BIJLAGE .....</b>	<b>21</b>
3.1. KLINISCHE CONCLUSIES .....	21
3.1.1. Casus 1 .....	21
3.1.2. Casus 2 .....	23
3.1.3. Casus 3 .....	25
3.1.4. Casus 4 .....	27
3.1.5. Casus 5 .....	29
3.1.6. Casus 6 .....	31
3.1.7. Casus 7 .....	33
3.1.8. Casus 8 .....	35

## 1. INLEIDING

De organisatie van benchmarking trials maakt deel uit van het nationale proefproject voor de invoering van NGS-technologie in onze gezondheidszorg, dat begon in januari 2016. Het project, dat over een periode van 5 jaar wordt gespreid, heeft als doel om deze nieuwe technologie succesvol in de klinische praktijk te integreren met behulp van concrete acties. Alle informatie over het NGS-proefproject is te vinden in het NGS Roadbook:

<http://www.e-cancer.be/publications/Documents/Roadbook%20PersMed%20NGS%20NL.pdf>

Sinds februari 2018 heeft de ComPerMed een werkgroep opgericht om de interpretatie van varianten en de inhoud van klinische NGS-rapporten te standaardiseren. Dit project beantwoordt aan het verzoek van de experts naar aanleiding van de diversiteit van de antwoorden die werden waargenomen tijdens eerder georganiseerde *benchmarking trials* in 2017.

Deze groep werkt in het bijzonder aan standaardisatie van:

- 1) de nomenclatuur van varianten
- 2) de biologische classificatie van de varianten
- 3) de klinische classificatie van de varianten
- 4) de inhoud van het klinisch rapport

De weerhouden conclusies zullen binnenkort op de Belac website worden gepubliceerd. Een voorlopige versie van de richtlijnen was naar de deelnemers gestuurd.

### 1.1. Doel van de NGS-benchmark trial – case studies

Deze Benchmarking trial heeft als doel de stand van zaken na te gaan betreffende de wijze waarop somatische varianten in vaste tumoren worden geselecteerd en gerapporteerd in het patiëntenrapport naar aanleiding van deze standaardisatiewerkzaamheden uitgevoerd door de ComPerMed.

### 1.2. Vraag

De evaluatie was gebaseerd op de analyse van 8 klinische casussen in hun eerste diagnostische onderzoeksfase en dit van verschillende soorten tumoren. Voor elke klinische casus werden u 1) een klinische context en 2) een lijst van te interpreteren varianten gegeven.

Er werd aan de deelnemers gevraagd:

- Een biologische en een klinische classificatie te kiezen voor elke variant (multiple choice).
- Voor elke classificatie aan te kruisen of die wel of niet door het laboratorium in het definitieve klinische rapport zou worden gerapporteerd.
- Een algemene conclusie te schrijven voor elke klinische casus in de vorm van een vrije tekst.
- De guidelines die werden gebruikt bij het deelnemen aan deze studie te vermelden.

### 1.3. Evaluatiecriteria

In dit rapport worden de resultaten van de deelnemende laboratoria voor elke theoretische casus weergegeven. De resultaten van deze studie worden niet formeel geëvalueerd. Echter, ter informatie werden de antwoorden van de laboratoria gerangschikt als 'verwacht resultaat' (in groen), 'aanvaardbaar resultaat' (in geel), 'niet-aanvaardbaar resultaat' (in rood) en 'niet-geëvalueerd resultaat' (in grijs). Deze categorieën werden door het *ad hoc* expertencomité gedefinieerd door de resultaten van de consensus van de laboratoria te vergelijken met de resultaten die werden verkregen met behulp van de Belgische richtlijnen. Na deze studie is een herziening van de Belgische richtlijnen gepland.

## 2. RESULTATEN

### 2.1. Deelname aan de NGS benchmarking trial

21 Belgische laboratoria hebben zich ingeschreven voor de NGS Benchmarking trial - case studies - vaste tumoren 2019/1. 20 laboratoria reageerden binnen de tijdslimiet van de studie en werden opgenomen in de analyse van de resultaten.

#### Overzicht van de deelnemers

Regio	N	Laboratorium	N
Vlaams Gewest	13	Pathologische anatomie	9
Brussels Hoofdstedelijk Gewest	3	Klinische biologie	9
Waals Gewest	4	Humane genetica	2
Totaal	20	Totaal	20
Laboratorium			N
Geaccrediteerd			14
Accreditatie lopende op het moment van de inschrijving			6
Totaal			20

### 2.2. Overzicht van de methoden

#### Guidelines gebruikt voor de analyse

Gebuurkte guidelines	N
Belgian next generation sequencing guidelines for haematological and solid tumours (BELAC 2-405-NGS Rev 0-2018); NGS report content - december 2018 ; the Belgian variant interpretation algorithm - january 2019	20
Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists, Li et al., JMD, 2017, 19(1), (PMID: 27993330)	3
ACMG-AMP: Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, Richard et al., Genet Med, 2015, 17(5), (PMID: 25741868)	3
Andere	1

## 2.3. Overzicht van de resultaten

### 2.3.1. Casus 1

geslacht	M
geboortjaar	1933
type primaire tumor en histologie	long adenocarcinoom
klinische informatie	stadium IV
anatomische localisatie van het staal	long
staaltipe	biopsie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	15

ALK NM_004304.4 c.3513C>G p.(Ile1171Met) (Allel frequentie: 5%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	1	1
VUS	0	19	19
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	2	2
Tier III: Ongekende klinisch betekenis	1	17	18
Totaal	1	19	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties VUS en Tier III. De classificaties pathogeneen Tier II worden als niet aanvaardbaar beschouwd. In de Belgische richtlijnen: 1) deze variant is niet aanwezig in de tabel 'Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Solid tumors v1'; 2) VUS varianten worden automatisch in Tier III ingedeeld; 3) De classificatie Tier III moet in het klinische rapport worden gerapporteerd. De afwezigheid in het klinische rapport van deze classificatie wordt als aanvaardbaar voor een variant VUS beschouwd. De noodzaak van het rapporteren van de Tier III classificatie zal in de Belgische guidelines worden gepreciseerd.

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 1	Laboratoria
Standaardbehandeling	Geen indicatie voor therapie met EGFR tyrosine kinase inhibitoren	5
	Geen indicatie voor therapie met EGFR of BRAF-MEK tyrosine kinase inhibitoren	1
Klinische studies	Potentiële indicatie van gevoeligheid of resistentie tegen ALK inhibitoren, met of zonder ALK herschikking	5
Prognose-diagnose		0
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met ongekende klinische betekenis gedetecteerd in het ALK gen	12
	Variant in exon 22 van het ALK gen gedetecteerd	2
	Geen mutatie gedetecteerd in het EGFR gen	6
Informatie over de geteste genen	Geen (vermoedelijk) pathogene mutatie gedetecteerd in de geteste genen	7
Technische informatie	Allel frequentie van 5% van de variant ALK vermeld in de conclusie (met of zonder voorbehoud)	6
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		2

### 2.3.2. Casus 2

geslacht	V
geboortejaar	1950
type primaire tumor en histologie	long adenocarcinoom
klinische informatie	stadium IV
anatomische localisatie van het staal	long
staaltipe	biopsie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	>50

ALK NM_004304.4 c.4796C>A p.(Pro1599His) (Allel frequentie: 50%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Vermoedelijk goedaardig	12	1	13
VUS	0	7	7
Totaal	12	8	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier III: Ongekende klinisch betekenis	0	7	7
Tier IV: Vermoedelijk goedaardig variant	13	0	13
Totaal	13	7	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties vermoedelijk goedaardig en Tier IV. De classificaties VUS en Tier III worden als aanvaardbaar beschouwd. Volgens GnomAD is deze variant aanwezig in de Afrikaanse bevolking met een frequentie hoger dan 0,1%. In de Belgische richtlijnen: 1) de varianten worden als goedaardig of vermoedelijk goedaardig geclassificeerd indien aanwezig in de populatie of in een subpopulatie met een frequentie hoger dan 0,1%; 2) de classificatie vermoedelijk goedaardig moet niet in het klinische rapport worden gerapporteerd.

EGFR NM_005228.4 c.2235_2249del p.(Glu746_Ala750del) (Allel frequentie: 29%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	20	20
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	20	20
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties pathogeen en Tier I.



Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 2	Laboratoria
Standaardbehandeling	Indicatie van gevoeligheid aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren	19
Klinische studies		0
Prognose-diagnose		0
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met significant klinisch belang gedetecteerd in het EGFR gen	10
	Variant in exon 19 van het EGFR gen gedetecteerd	14
	Variant met ongekende klinische betekenis gedetecteerd in het ALK gen: potentiëel polymorfisme	4
	Vermoedelijk goedaardig variant gedetecteerd in het ALK gen: polymorfisme	2
	Geen mutatie (vermoedelijk) pathogene mutatie gedetecteerd in de BRAF en ALK genen	1
	Geen mutatie voorspellend voor resistentie tegen EGFR tyrosine kinase inhibitoren gedetecteerd	1
Informatie over de geteste genen		0
Technische informatie	Allel frequentie van 29% van de variant EGFR vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		0

### 2.3.3. Casus 3

geslacht	V
geboortejaar	1953
type primaire tumor en histologie	long adenocarcinoom
klinische informatie	stadium IV
anatomische localisatie van het staal	long
staaltipe	biopsie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	11-50

BRAF NM_004333.5 c.1780G>A p.(Asp594Asn) (Allel frequentie: 15%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	1	1
Vermoedelijk pathogeen	0	17	17
VUS	0	2	2
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	2	2
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	11	11
Tier III: Ongekende klinisch betekenis	0	7	7
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties vermoedelijk pathogeen en Tier III. De classificaties pathogeen en Tier II worden als aanvaardbaar beschouwd. De classificaties VUS en Tier I worden als niet-aanvaardbaar beschouwd. In de Belgische richtlijnen: volgens de tabel 'Variant Classification Scoring Table' verkrijgen de varianten met een Cosmic invoer van  $\geq 50$  een score van 2, die ze automatisch in de vermoedelijk pathogeen categorie classificeert. Deze variant is niet aanwezig in de tabel 'Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Solid tumors v1' maar zijn aanwezigheid in de lijst zal opnieuw bekeken worden tijdens de volgende herziening van de Belgische richtlijnen. De BRAF mutatie is een mutatie van het type "kinase-impaired" en de indicaties voor BRAF inhibitoren zijn momenteel ongekend (PMID: 28947956).

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 3	Laboratoria
Standaardbehandeling	Geen indicatie voor therapie met EGFR tyrosine kinase inhibitoren	2
Klinische studies	Geen indicatie voor therapie met BRAF inhibitoren (monotherapie)	7
	Indicatie voor therapie met BRAF inhibitoren ongekend	2
	Nieuwe BRAF inhibitoren worden in klinische studies uitgetest	3
	Klinische indicatie voor BRAF en MEK inhibitoren ongekend	3
	Potentiële indicatie voor gevoeligheid aan combinatietherapie met BRAF-MEK inhibitoren	2
	Mutatie komt niet in aanmerking voor combinatietherapie met BRAF-MEK inhibitoren (alleen voor V600E)	1
	Aanbeveling immunotherapie (checkpoint inhibitors)	1
	Prognose-diagnose	Mutatie met gunstige prognose bij melanoom
Mutatie met ongunstige prognose		1
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met significant klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	2
	Variant met mogelijk klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	4
	Variant met ongekende klinische betekenis gedetecteerd in het BRAF gen	8
	Variant in exon 15 van het BRAF gen gedetecteerd	5
	Geen mutatie gedetecteerd in het EGFR gen	4
Informatie over de geteste genen	Geen (vermoedelijk) pathogene mutatie gedetecteerd in de geteste genen	2
Technische informatie	Allel frequentie van 15% van de variant BRAF vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		1

### 2.3.4. Casus 4

geslacht	V
geboortjaar	1937
type primaire tumor en histologie	long adenocarcinoom
klinische informatie	stadium IV
anatomische localisatie van het staal	long
staaltipe	biopsie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	30

EGFR NM_005228.4 c.2573T>G p.(Leu858Arg) ( Allel frequentie: 6%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	20	20
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	20	20
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties pathogeen en Tier I.

EGFR NM_005228.4 c.2612C>A p.(Ala871Glu) ( Allel frequentie: 6%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Vermoedelijk pathogeen	0	1	1
VUS	0	19	19
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	2	2
Tier III: Ongekende klinisch betekenis	1	17	18
Totaal	1	19	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn VUS en Tier III classificaties. De vermoedelijk pathogeen en Tier II classificaties worden als aanvaardbaar beschouwd, rekening houdend met de combinatie van de 2 EGFR mutaties die in deze casus aanwezig zijn. De inachtneming van de combinatie van de varianten zal in de volgende versie van de richtlijnen moeten worden gestandaardiseerd. In de Belgische richtlijnen: de Tier III classificatie moet in het klinische rapport worden gerapporteerd. De afwezigheid in het klinische rapport van deze classificatie wordt als aanvaardbaar voor een variant VUS beschouwd. De noodzaak van het rapporteren van de Tier III classificatie zal in de Belgische guidelines worden gepreciseerd.

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 4	Laboratoria
Standaardbehandeling	Indicatie van gevoeligheid aan therapie met EGFR tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de mutatie p.(Leu858Arg)	16
	Aanbeveling voor therapie met derde generatie EGFR tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de 2 gedetecteerde mutaties	1
Klinische studies		0
Prognose-diagnose	(Potentiële) progressie met eerste lijn therapie met EGFR tyrosine kinase inhibitoren gerelateerd aan de aanwezigheid van de 2 gedetecteerde mutaties	3
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant EGFR p.(Leu858Arg) met significant klinisch belang gedetecteerd	10
	Variant EGFR p.(Ala871Glu) met ongekende klinische betekenis gedetecteerd	11
	2 varianten gedetecteerd in het EGFR gen, p.(Leu858Arg) et p.(Ala871Glu), waarvan de associatie een ongekende klinische betekenis heeft	1
	Varianten in exon 21 van het EGFR gen gedetecteerd	6
	Geen mutatie EGFR p.(Thr790M) gedetecteerd	1
	Geen (vermoedelijk) pathogene mutatie gedetecteerd in de BRAF en ALK genen	1
Informatie over de geteste genen		0
Technische informatie	Allel frequentie van 6% van de varianten EGFR vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		2

### 2.3.5. Casus 5

geslacht	V
geboortjaar	1944
type primaire tumor en histologie	colorectaal adenocarcinoom
klinische informatie	niet gecommuniceerd
anatomische localisatie van het staal	colon
staaltype	resectie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	>50

BRAF NM_004333.5 c.1798G>A p.(Val600Met) (Allel frequentie: 17%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	16	16
Vermoedelijk pathogeen	0	4	4
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	4	4
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	12	12
Tier III: Ongekende klinische betekenis	0	4	4
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn pathogeen en Tier II classificaties. De vermoedelijk pathogeen classificatie wordt als aanvaardbaar beschouwd. De Tier I en Tier III classificaties worden niet geëvalueerd. De experts konden niet tot een advies komen hierover.

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 5	Laboratoria
Standaardbehandeling	Indicatie van gevoeligheid aan anti-EGFR therapie gerelateerd aan de afwezigheid van mutatie in de RAS genen	4
	Resistentie of verminderde respons tegen anti-EGFR therapie gerelateerd aan de aanwezigheid van de BRAF mutatie	4
Klinische studies	Indicatie van gevoeligheid aan BRAF inhibitoren	8
	Resistentie of verminderde respons tegen therapie met TKI-BRAF inhibitoren	4
	Potentiële indicatie van gevoeligheid voor combinatietherapie met BRAF-MEK-EGFR inhibitoren	4
	Klinische studies worden voor therapieën tegen BRAF-EGFR-MEK uitgevoerd	2
	Aanbeveling immunotherapie (checkpoint inhibitors)	1
Prognose-diagnose	Mutatie met ongunstige prognose	8
	Aanwezigheid van een BRAF V600E mutatie geeft aan dat de tumor waarschijnlijk niet geassocieerd moet worden met het Lynch-syndroom	2
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met significant klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	2
	Variant met mogelijk klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	5
	Variant met ongekende klinische betekenis gedetecteerd in het BRAF gen	4
	Variant in exon 15 van het BRAF gen gedetecteerd	3
	Geen mutatie gedetecteerd in de KRAS en NRAS genen	6
Informatie over de geteste genen	Geen (vermoedelijk) pathogene mutatie gedetecteerd in de geteste genen	2
Technische informatie	Allel frequentie van 17% van de variant BRAF vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		2

### 2.3.6. Casus 6

geslacht	M
geboortejaar	1960
type primaire tumor en histologie	colorectaal adenocarcinoom
klinische informatie	levermetastase
anatomische localisatie van het staal	lever
staalttype	resectie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	25

KRAS NM_004985.4 c.351A>T p.(Lys117Asn) (Allel frequentie: 10%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	19	19
Vermoedelijk pathogeen	0	1	1
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	18	18
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	2	2
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties pathogeen en Tier I. De classificatie vermoedelijk pathogeen wordt als aanvaardbaar beschouwd. In de Belgische richtlijnen: deze variant is aanwezig in de tabel 'Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Solid tumors v1'. De classificatie Tier II wordt als niet-aanvaardbaar beschouwd gezien het zeer hoge bewijsniveau van deze mutatie: FDA keurt mutaties goed in exonen 2, 3 en 4 voor het KRAS gen (Tier I, level A).

KRAS NM_004985.4 c.38G>A p.(Gly13Asp) (Allel frequentie: 37%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	20	20
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	20	20
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties pathogeen en Tier I.



Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 6	Laboratoria
Standaardbehandeling	Resistentie of verminderde respons tegen anti-EGFR therapie	17
Klinische studies	Resistentie tegen therapie met anti-EGFR antilichamen in combinatie met chemotherapie. De respons op therapie met EGFR tyrosine kinase inhibitoren is op dit ogenblik niet gekend.	2
	Betere respons op anti-EGFR therapie voor patiënten met de mutatie p.(Gly13Asp) dan met andere RAS mutaties, maar respons weinig waarschijnlijk met de aanwezigheid van de 2 mutaties	1
Prognose-diagnose	2 KRAS mutaties gedetecteerd in 1 tumor wijst op tumor heterogeniteit en een meer agressieve tumor	2
	Mutaties met ongunstige prognose	1
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	2 varianten met significant klinisch belang gedetecteerd in het KRAS gen	11
	Varianten in exons 2 en 4 van het KRAS gen gedetecteerd	5
	Geen mutatie gedetecteerd in de BRAF gen	1
Informatie over de geteste genen		0
Technische informatie	Allel frequenties van de gedetecteerde varianten vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		0

### 2.3.7. Casus 7

geslacht	M
geboortejaar	1962
type primaire tumor en histologie	melanoom
klinische informatie	recidief
anatomische localisatie van het staal	huid
staaltype	resectie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	80

BRAF NM_004333.5 c.1798_1799delinsAG p.(Val600Arg) (Allel frequentie: 19%)			
Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	20	20
Totaal	0	20	20
Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?			
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	17	17
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	3	3
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties pathogeen en Tier II. De classificatie Tier I wordt aanvaardbaar beschouwd: FDA keurt alleen de mutaties BRAF V600E en V600K goed maar het bewijsniveau is voldoende om de classificatie Tier I te accepteren. In dit rapport is de cDNA-referentie van deze variant aangepast om de HGVS-nomenclatuur te respecteren. Vervanging van c.1798\_1799GT>AG door c.1798\_1799delinsAG.

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 7	Laboratoria
Standaardbehandeling	Indicatie van gevoeligheid aan BRAF inhibitoren	15
	Indicatie van gevoeligheid aan BRAF en/of MEK inhibitoren	2
	Betere gevoeligheid van p.(Val600Arg) mutatie aan BRAF inhibitoren in vergelijking met andere V600 mutaties	2
Klinische studies	Potentiële gevoeligheid aan BRAF inhibitoren	2
Prognose-diagnose		0
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met significant klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	9
	Variant met mogelijk klinisch belang gedetecteerd in het BRAF gen	1
	Variant in exon 15 van het BRAF gen gedetecteerd	3
	Geen mutatie gedetecteerd in de KRAS en NRAS genen	1
Informatie over de geteste genen		0
Technische informatie	Allel frequentie van 19% van de variant BRAF vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		0

### 2.3.8. Casus 8

geslacht	V
geboortejaar	1964
type primaire tumor en histologie	GIST
klinische informatie	niet gecommuniceerd
anatomische localisatie van het staal	dunne darm
staaltipe	resectie
staal bewaring	FFPE
neoplastische cellen (%)	90

KIT NM_000222.2 c.1676T>G p.(Val559Gly) (Allel frequentie: 32%)			
	Biologische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?		
	Neen	Ja	Totaal
Pathogeen	0	8	8
Vermoedelijk pathogeen	0	12	12
Totaal	0	20	20
	Klinische classificatie te rapporteren in het klinisch rapport?		
	Neen	Ja	Totaal
Tier I: Significant klinisch belang	0	14	14
Tier II: Mogelijk klinisch belang	0	6	6
Totaal	0	20	20

#### Opmerkingen

De verwachte resultaten voor deze variant zijn de classificaties vermoedelijk pathogeen en Tier I. De classificaties pathogeen en Tier II worden als aanvaardbaar beschouwd. In de Belgische richtlijnen: deze variant is niet aanwezig in de tabel "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Solid tumors v1".

Standaardinformatie opgenomen in de algemene conclusie	Specifieke informatie van casus 8	Laboratoria
Standaardbehandeling	Indicatie van gevoeligheid aan tyrosine kinase inhibitoren (imatinib)	13
Klinische studies	Potentiële indicatie van gevoeligheid aan tyrosine kinase inhibitoren	6
	Mogelijk verminderde respons op tweede lijn therapie (sunitinib)	5
Prognose-diagnose	Mutatie in exon 11 met ongunstige prognose	5
Informatie over de genen gerelateerd aan de pathologie	Variant met significant klinisch belang gedetecteerd in het KIT gen	4
	Variant met mogelijk klinisch belang gedetecteerd in het KIT gen	6
	Variant in exon 11 van het KIT gen gedetecteerd	13
	Geen mutatie gedetecteerd in het PDGFRA gen	2
	Geen resistentie mutatie gedetecteerd in het KIT gen	1
Informatie over de geteste genen		0
Technische informatie	Allel frequentie van 32% van de variant KIT vermeld in de conclusie	3
Voorstel van de casus in een multidisciplinaire vergadering		0

### 2.3.9. Slaagpercentage van de deelnemers

20 laboratoria antwoordden 11 biologische classificaties en 11 klinische classificaties (220 antwoorden in totaal).

2 laboratoria antwoordden 1 biologische classificatie beoordeeld als niet aanvaardbaar.

4 laboratoria antwoordden 1 klinische classificatie beoordeeld als niet aanvaardbaar.

1 laboratorium antwoordde 1 biologische classificatie en 2 klinische classificaties beoordeeld als niet aanvaardbaar.

Van de 7 laboratoria die de classificaties niet aanvaardbaar gaven, waren er 6 niet geaccrediteerd op het moment van de inschrijving.

Slaagpercentage	
<b>88,18% van verwacht biologische classificaties</b>	<b>194/220</b>
10,46% van biologische classificaties niet verwacht maar aanvaardbaar	23/220
1,36% van biologische classificaties niet aanvaardbaar	3/220
<b>73,18% van verwacht klinische classificaties</b>	<b>161/220</b>
20,45% van klinische classificaties niet verwacht maar aanvaardbaar	45/220
2,73 % van klinische classificaties niet aanvaardbaar	6/220
3,64% van klinische classificaties niet niet-geëvalueerd	8/220

### 2.4. **Overzicht van klinische conclusies**

De algemene conclusies zijn opgenomen in de bijlage van dit rapport. Deze gegevens werden uit de website <https://qml.wiv-isp.be/NGS/20191/> gehaald. Om geen vertaalfouten te introduceren, werden de conclusies in de taal van het laboratorium behouden.

### 3. BIJLAGE

#### 3.1. Klinische conclusies

##### 3.1.1. Casus 1

<p>Er is reeds heel wat info over Ile1171 mutaties, echter niet specifiek voor p.Ile1171Met. Hieronder een overzicht: p.(Ile1171Asn): De casestudy beschrijft een vrouw met stadium IV NSCLC met ALK-herrangschikking. Ze werd behandeld met crizotinib(gedeeltelijke respons) en alectinib(volledige respons). Metastasen van de lever werden na 12 maanden vastgesteld en gekarakteriseerd met sequentie bepaling die een HIP1-ALK-fusie met een I1171N-variant (PMID: 25393796) aangaf. p.(Ile1171Thr): Meerdere casusrapporten geven aan dat de I1171T missense mutatie in ALK-herschikte niet-kleincellige longkanker (NSCLC) resistentie verleent tegen crizotinib en alectinib maar gevoelig is voor behandeling met ceritinib. p.(Ile1171Ser): De casestudy beschrijft een man met stadium IV niet-kleincellige longkanker met ALK-herrangschikking. Hij kreeg crizotinib(gedeeltelijke respons) waarbij zich hersenmetastasen voordeden. De patiënt ontving vervolgens alectinib(gedeeltelijke respons). Doch werden er na 12 maanden levermetastasen op alectinib gedetecteerd. Sequentie bepaling van deze levermetastase onthulde een EML4-ALK-fusie met een I1171S-variant(PMID: 25393796).</p>
<p>Er is momenteel geen gekende klinische betekenis geassocieerd met aanwezigheid van ALK variant p.(Ile1171Met).</p>
<p>Er werd geen pathogene mutatie aangetoond in EGFR. Dit betekent voor NSCLC in het algemeen geen respons aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren. Tevens geen (vermoedelijk) pathogene varianten in de andere geteste genen.</p>
<p>Er werden geen pathogene mutaties aangetroffen. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): Er werd wel een coderende ALK variant NM_004304.4 c.3513C&gt;G, p.(Ile1171Met) gevonden met lage allelfrequentie van 5%. Vooralsnog is de klinische betekenis van deze variant niet gekend.</p>
<p>Er werden geen pathogene mutaties aangetroffen. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): Er werd wel een coderende ALK variant NM_004304.4 c.3513C&gt;G, p.(Ile1171Met) gevonden met lage allelfrequentie van 5%. Vooralsnog is de klinische betekenis van deze variant niet gekend.</p>
<p>Een mutatie predictief voor gevoeligheid aan doelgerichte behandeling zoals EGFR of BRAF/MEK inhibitoren kan niet worden aangetoond. Evenwel wordt een ALK variant gedetecteerd, c.3513C&gt;G (p.(Ile1171Met)), waarvan de specifieke biologische en klinische betekenis nog onduidelijk is op heden maar die mogelijk optreedt als moleculair resistentiemechanisme aan eerste en tweede-generatie ALK inhibitoren in ALK translocatie positieve niet-kleincellige long tumoren (ALK I1171X variant; Shaw AT et al. ALK resistance mutations and efficacy of Lorlatinib in Advanced Anaplastic Lymphoma Kinase-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. JCO Mar 2019). Deze casus dient voorgelegd te worden aan de wekelijkse Moleculaire MOC om therapeutische opties, waaronder potentiële behandeling met derde generatie TKIs zoals lorlatinib te bespreken.</p>
<p>Interprétations cliniques : La présence d'une mutation dans le domaine tyrosine kinase du gène ALK peut être associée à une résistance aux traitements inhibiteurs de ALK. Dans ce cas-là, un inhibiteur ALK ceritinib pourrait être efficace.</p>
<p>Référence: College of American Pathologists (CAP, Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Non-Small Cell Carcinoma of the Lung, juin 2016).</p>
<p>La mutation p.(Ile 1171Met) du gène ALK n'a pas été décrite dans les adénocarcinomes pulmonaires. Néanmoins, des mutations du codon Ile1171 sont décrites dans COSMIC. Une revue de littérature met en évidence des publications rapportant des mutations dans ce codon comme mécanisme de résistance secondaire au crizotinib et alectinib chez les patients atteints d'un NSCLC ALK réarrangé (Toyokawa et al., 2015 Journal of Thoracic cancer). L'impact clinique de la mutation p.(Ile1171Met) est indéterminé. Ce cas devra être discuté dans un molecular tumor board. NB: la fréquence de la mutation (5%) est proche du seuil de détection validé pour la technique. Seuls les variants présentant un coverage de l'amplicon &gt;250x et un variant coverage &gt;30X ne sont normalement rapportés. Dans le cas présent, nous ne disposons pas de ces informations.</p>
<p>Er werd een ALK ((NM_004304.4): c.3513C&gt;G (p.(Ile1171Met)) missense variant van ongekende biologische betekenis (VUS) geïdentificeerd met een ongekende klinische betekenis (tier III).</p>
<p>Binnen de grenzen van de methode, is er geen mutatie gevonden in exon 2, 18 tem 24 van het EGFR gen. Voor longcarcinomen zonder EGFR mutatie is er een slechte respons voor EGFR TKI therapie.</p>
<p>Er werden géén pathogene of vermoedelijk pathogene mutaties in het ALK gen geïdentificeerd. Wel werd een variant van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, ALK c.3513C&gt;G (p.(Ile1171Met)). Actueel kunnen er geen klinische implicaties aan de detectie van deze VUS gekoppeld worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).</p>
<p>In exon 22 van het ALK gen werd een variant of unknown significance (VUS) gevonden . Momenteel zijn er geen gegevens over de prognostische of predictieve waarde ervan (ongekende klinische betekenis).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant: - ALK c.3513C&gt;G (p.(Ile1171Met)) (allel frequency 5%): variant met onduidelijke betekenis (VUS) zonder gekende klinische implicaties (Tier III). Verder werden géén pathogene of vermoedelijk pathogene mutaties gedetecteerd.</p>
<p>Besluit: Geen (vermoedelijk) pathogene mutaties gedetecteerd. EGFR mutatie negatief. Geen indicatie voor anti-EGFR TKI behandeling bij longtumoren.</p>
<p>Referenties: Rosell R et al. 2012 Lancet Oncology</p>
<p>Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 1 een variant geïdentificeerd in exon 22 van ALK: c.3513C&gt;G (p.(Ile1171Met)) in 5% van de reads voor deze nucleotide positie. Deze specifieke ALK variant werd nog niet gerapporteerd in longadenocarcinoom (COSMIC, Pubmed). Deze variant is een variant van ongekende</p>

klinische significantie.

Er werd reeds aangetoond bij longadenocarcinomen met een ALK translocatie dat varianten die hetzelfde aminozuur Ile1171 muteren naar Asn, Ser en Thr (I1171N, I1171S, I1171T) een verworven resistentie kunnen induceren bij alectinib en crizotinib therapie, maar sensitiviteit geven aan ceritinib en andere next-generation ALK-TKI therapieën (Ou et al. Lung Cancer 2015, Ou et al. Lung Cancer 2016, Lin et al. Clinical Lung Cancer 2016).

Absence de mutation EGFR ou d'autre mutation activable.

Dans ce prélèvement d'adénocarcinome pulmonaire métastasé, pas de variant EGFR, ALK ou BRAF pathogénique ou probablement pathogénique observé (avec la technique NGS utilisée) qui soit d'impact clinique avéré ou potentiel. En particulier pas de variant génique prédictif de sensibilité ou de résistance au traitement par anti-TKI.

-A noter à titre d'information, la présence d'un variant du gène ALK (I1171M) d'impact clinique indéterminé (VUS-Tier III) : NM\_004304.4, ALK c.3513C>G, p.(Ile1171Met) détecté avec une fréquence allélique de 5%.

NB :Vu l'absence d'information sur la qualité de l'échantillon et la faible fréquence allélique observée, un artefact technique est possible.

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

-Une mutation de signification inconnue et d'impact clinique indéterminé a été identifiée dans le gène ALK.

Er werd GEEN activerende EGFR mutatie gedetecteerd. Dit resultaat is voor longcarcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-EGFR TKI.

Présence d'une mutation dans le gène ALK

### 3.1.2. Casus 2

<p>Somatische mutaties in het tyrosinekinasedomein van het epidermale groeifactorreceptor (EGFR) -gen zijn aanwezig in ongeveer 80% van de longadenocarcinomen die reageren op EGFR-remmers van de eerste en tweede generatie (bijvoorbeeld gefitinib, erlotinib en afatinib). Twee soorten mutaties zijn goed voor ongeveer 80-90% van alle EGFR-mutaties: korte in-frame deleties in Exon 19 en een puntmutatie in exon 21 op codon 858 (L858R). Andere minder vaak voorkomende mutaties in exons 18, 20 en 21 worden gevonden in 10-20% van de met EGFR gemuteerde gevallen. EGFR Exon 19-deleties, EGFR Exon 21 L858R en EGFR Exon 18 G719-mutaties zijn sterk gecorreleerd met de gevoeligheid voor specifieke EGFR-remmers. In dergelijke gevallen werd een responsratio tot 80% bekomen. De T790M-mutatie in exon 20 gaat gepaard met resistentie tegen sommige EGFR-remmers. TKI van de derde generatie (bijv. Osimertinib) kan echter specifiek gericht zijn op T790M.</p>
<p>Germline variant. Likely benign polymorphism according to Clinvar. Aanwezigheid van EGFR mutatie p.(Glu746_Ala750del) in deze patiënt is van significant klinisch belang aangezien deze geassocieerd is met verhoogde gevoeligheid voor anti-EGFR TKI therapie.</p>
<p>Er werd een mutatie aangetoond in EGFR. De aanwezigheid van dit type mutatie in NSCLC betekent in het algemeen een verhoogde sensitiviteit aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren.</p>
<p>Tier 1: Pathogene mutatie werd aangetroffen in exon 19 EGFR NM_005228.4 p.(Glu746_Ala750del). Deze relateert met een gunstige respons op thyrosine kinase inhibitoren (PMID:20573926). Tier 3: Een ALK missense variant NM_004304.4 c4796C&gt;A, p.(Pro1599His) werd gevonden, de klinische betekenis van deze variant is nog niet gekend. Dit zou een kiemlijnvariant kunnen zijn.</p>
<p>Tier 1: Pathogene mutatie werd aangetroffen in exon 19 EGFR NM_005228.4 p.(Glu746_Ala750del). Deze relateert met een gunstige respons op thyrosine kinase inhibitoren (PMID:20573926). Tier 3: Een ALK missense variant NM_004304.4 c4796C&gt;A, p.(Pro1599His) werd gevonden, de klinische betekenis van deze variant is nog niet gekend. Dit zou een kiemlijnvariant kunnen zijn.</p>
<p>De hotspotmutatie c.2235_2249del (p.(Glu746_Ala750del)) in EGFR is geassocieerd met gevoeligheid aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren. Varianten in het gen ALK zijn recurrent in NSCLC. De predictieve/prognostische betekenis van de variant c.4796C&gt;A (p.(Pro1599His)) in ALK is niet gekend. Deze variant betreft mogelijk een polymorfisme (Single Nucleotide Polymorphism, SNP).</p>
<p>Interprétations cliniques : Dans les adénocarcinomes pulmonaires, les délétions dans l'exon 19 du gène EGFR confèrent une sensibilité aux inhibiteurs des tyrosine kinases (TKIs).</p>
<p>Référence: College of American Pathologists (CAP, Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Non-Small Cell Carcinoma of the Lung, juin 2016).</p>
<p>Les délétions dans l'exon 19 du gène EGFR sont associées à une sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) anti-EGFR (Mol TS et al., N Engl J Med 2010, 361 :947-57). La mutation p.(Pro1599His) du gène ALK semble correspondre à un polymorphisme présent dans moins de 1% de la population (<a href="http://exac.broadinstitute.org/">http://exac.broadinstitute.org/</a>).</p>
<p>Er werd een pathogene EGFR ((NM_005228.4): c.2235_2249del (p.(Glu746_Ala750del)) in frame deletie variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in long adenocarcinoom heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in het algemeen een verhoogde sensitiviteit voor EGFR tyrosine kinase inhibitoren. Referentie: <a href="https://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/21/">https://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/21/</a></p>
<p>De pathogene variant c.2235_2249del15 p.(Glu746_Ala750del) werd gevonden in het EGFR gen exon 19, deze wordt geassocieerd met een gevoeligheid voor EGFR eerste-, tweede- en derdelijns EGFR TKI's.</p>
<p>Er werd een pathogene mutatie in het EGFR gen geïdentificeerd, EGFR c.2235_2249del (p.(Glu746_Ala750del)). Deze in-frame deletie in exon 19 van het EGFR gen resulteert in ligand-onafhankelijke activatie van EGFR en is een gekende driver mutatie voor niet-kleincellig longcarcinoom. Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I): de aanwezigheid van deze mutatie resulteert in gevoeligheid voor behandeling met EGFR tyrosine kinase inhibitoren (PMID 15118073 en 15118125).</p>
<p>In exon 19 van het EGFR gen werd een pathogene deletie gevonden met gekende gevoeligheid aan bepaalde tyrosine kinase inhibitoren (significant klinisch belang).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant: - EGFR c.2235_2249del (p.(Glu746_Ala750del)) (allel frequency 29%): pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I). Dit betreft een in-frame deletie in exon 19 en is geassocieerd met een goede respons op EGFR TKI therapie (PMID 29088904, 15118073, 15118125).</p>
<p>Sterke klinische significantie: EGFR Exon 19 deletie</p>
<p>Besluit: EGFR mutatie positief. De aanwezigheid van een activerende mutatie is predictief voor respons op anti-EGFR TKI behandeling.</p>
<p>Therapie: Deze mutatie is mogelijks geassocieerd met respons op afatinib, osimertinib, gefitinib, erlotinib, dacomitinib.</p>
<p>Referenties: Rosell R et al. 2012 Lancet Oncology &amp; Siegelin MD et al. 2014 Lab Invest</p>
<p>Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 2 een variant geïdentificeerd in exon 19 van EGFR: c.2235_2249del (p.(Glu746_Ala750del)) in 29% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van deze activerende variant in EGFR wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op EGFR tyrosine kinase inhibitoren (NCCN guidelines lung cancer version 2.2018).</p>
<p>Présence d'une délétion au niveau de l'exon 19 du gène EGFR, conférant une sensibilité aux anti-EGFR TK.</p>

Dans ce prélèvement d'adénocarcinome pulmonaire métastasé, présence d'un variant pathogénique EGFR (E746\_A750del) d'impact clinique avéré (Tier IA) : NM\_005228.4, EGFR c.2235\_2249del, p.(Glu746\_Ala750del) détecté avec une fréquence allélique de 29% (avec la technique NGS utilisée).  
Les délétions de l'exon 19 du gène EGFR sont prédictives de sensibilité aux traitements par inhibiteurs de tyrosine kinase de première, deuxième et troisième génération.  
Pas de variant EGFR détecté qui soit prédictif de résistance aux anti-TKI. Dès lors, en fonction de la clinique, les anti-TKI de première et deuxième génération sont applicables.  
Pas de variant pathogénique ou probablement pathogénique BRAF ou ALK observé ayant un impact clinique avéré ou potentiel.  
-A noter à titre d'information, la présence d'un variant indéterminé du gène ALK (p1599H) d'impact clinique indéterminé (VUS-Tier III) : NM\_004304.4, ALK c.4796C>A, p.(pro1599His) objectivé avec une fréquence allélique de 50%. Remarque : Il s'agit vraisemblablement d'un variant constitutionnel rare (SNP) à confirmer.

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

Une délétion de l'exon 19 d'EGFR a été détectée.

Impact clinique avéré :

La mise en évidence d'une mutation somatique isolée de l'exon 19 du gène EGFR a été corrélée avec une réponse clinique au traitement par inhibiteurs des tyrosine kinases des patients atteints d'un cancer pulmonaire non à petites cellules (Hirsch et al., JCO 2006; Kim et al., The Lancet 2008; Mok et al., NEJM 2009).

Er werd een activerende EGFR mutatie type exon 19 deletie gedetecteerd. Dit resultaat is voor longadenocarcinomen predictief voor een goede respons op anti-EGFR TKI.

Présence d'une mutation dans le gène EGFR



### 3.1.3. Casus 3

<p>BRAF is een lid van de RAF-familie van kinasen die een belangrijke rol spelen in de RAS-RAF-MEK-ERK pathway. BRAF-mutaties komen niet vaak voor in adenocarcinoom van de dunne darm (slechts in 1% tot 13% van de gemelde gevallen). D594 is een sterk geconserveerd aminozuur binnen het kinasedomein van BRAF en mutatie van dit aminozuur lijkt te resulteren in deactivering van het kinase. In vitro onderzoek heeft aangetoond dat de kinase-missende vormen van BRAF een constitutief complex vormt met CRAF in aanwezigheid van geactiveerde RAS leidend tot MEK- en ERK-signalering. BRAF-mutaties komen voor bij ongeveer 50% tot 60% van de cutane melanomen en zijn ook in lagere frequenties aanwezig bij andere melanoomsubtypen. De voorspellende en prognostische betekenis van deze specifieke BRAF-mutatie in adenocarcinoom in de dunne darm moet verder worden bestudeerd. Resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met andere laboratorium- en klinische bevindingen. Somatische mutaties in BRAF zijn gevonden in maximaal 10% van alle NSCLC, meer bepaald bij adenocarcinomen. Klinische correlatie wordt aanbevolen.</p>
<p>Aanwezigheid van BRAF mutatie p.(Asp594Asn) in deze patiënt is van mogelijk klinisch belang. In de literatuur zijn enkele case studies gepubliceerd (PMID: 28947956) waarin deze mutatie wordt geassocieerd met mogelijke verhoogde gevoeligheid aan BRAF- en MEK-inhibitoren. In Melanoma is deze mutatie ook geassocieerd met een goede prognose.</p>
<p>Er werd geen pathogene mutatie aangetoond in EGFR. Dit betekent voor NSCLC in het algemeen een resistentie aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren. Er werd wel een mutatie gevonden in BRAF (zie resultaten). De klinische implicaties van deze BRAF variant zijn momenteel ongekend voor NSCLC. We weten evenwel dat de patiënt spijtig genoeg niet in aanmerking komt voor de combinatie therapie dabrafenib/trametinib omdat het hier niet om de klassieke V600 gaat.</p>
<p>Er werden geen pathogene mutaties aangetoond. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): BRAF: NM_004333.5 c.1780G&gt;A, p.(Asp594Asn). Vooralnog is de klinische betekenis van deze variant niet gekend. Momenteel zijn er voor NSCLC geen gevalideerde studies die het klinisch nut van BRAF-inhibitoren bevestigen.</p>
<p>Er werden geen pathogene mutaties aangetoond. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): BRAF: NM_004333.5 c.1780G&gt;A, p.(Asp594Asn). Vooralnog is de klinische betekenis van deze variant niet gekend. Momenteel zijn er voor NSCLC geen gevalideerde studies die het klinisch nut van BRAF-inhibitoren bevestigen.</p>
<p>Mutaties in het BRAF gen zijn recurrent in longadenocarinomen. De predictieve/prognostische betekenis van de mutatie c.1780G&gt;A (p.(Asp594Asn)) (non-V600) in BRAF en specifiek het effect op de respons op BRAF- en MEK-inhibitoren is tot op heden niet gekend, maar wordt uitvoerig bestudeerd.</p>
<p>Interprétations cliniques : Les mutation D594 sont des mutations inactivatrices et l'utilisation d'un inhibiteur de BRAF pour le traitement pourrait être inefficace. Des études sont en cours pour tenter d'établir l'impact clinique des mutations BRAF autres que V600.</p> <p>Référence: Noeparast et al, 2016. Oncotarget.</p>
<p>Les mutations du gène BRAF sont décrites dans 1 à 4% des NSCLC. Il existe des essais cliniques avec des thérapies ciblant le gène BRAF ou le gène MEK chez les patients atteints d'un cancer pulmonaire et présentant une mutation du gène BRAF. La FDA a récemment approuvé l'utilisation de la combinaison du dabrafenib et du trametinib pour les patients avec un cancer pulmonaire non à petites cellules avec une mutation BRAF V600E. Leur efficacité n'est cependant pas encore avérée pour les patients porteurs d'une mutation BRAF non V600.</p>
<p>Er werd een vermoedelijk pathogene BRAF ((NM_004333.5):c.1780G&gt;A (p.(Asp594Asn)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in long adenocarcinoom heeft mogelijks klinisch belang (tier II).</p> <p>Referentie: Pubmed ID: 29760834</p>
<p>De variant c.1780G&gt;A p.(Asp594Asn) werd gevonden in het BRAF gen exon 15. Deze inactiverende mutatie werd reeds beschreven in melanoma en is geassocieerd met resistentie aan BRAF inhibitoren.</p>
<p>Er werd een vermoedelijk pathogene mutatie in het BRAF gen geïdentificeerd, BRAF c.1780G&gt;A (p.(Asp594Asn)). Deze missense mutatie tast het tyrosine kinase domein aan en vermindert de kinase activiteit van het BRAF eiwit (klasse 3 BRAF mutatie) (PMID 26498038, 28783719 en 30770389). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I): in tegenstelling tot bij activerende BRAF mutaties valt hier géén respons op BRAF inhibitoren te verwachten (PMID 26498038, 28783719 en 30770389). Er is aangetoond dat dit type mutatie voorkomt in tumoren met geactiveerde RAS eiwitten; in het geval van longcarcinoom met een klasse 3 BRAF mutatie is er beperkte evidentie dat de tumor gevoelig kan zijn aan inhibitoren van de receptor tyrosine kinasen die de begeleidende RAS activatie veroorzaken (PMID 28783719 en 30770389).</p>
<p>Een vermoedelijk pathogene variant werd gevonden in exon 15 van het BRAF gen. Momenteel zijn er geen gegevens over de prognostische of predictieve waarde ervan (ongekende klinische betekenis).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- BRAF c.1780G&gt;A (p.(Asp594Asn)) (allel frequency 15%): vermoedelijk pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I). Dit betreft een proteïne kinase domein inhiberende mutatie in exon 15 in het BRAF gen die geassocieerd is met een ongunstig respons op BRAF inhibitor therapie (PMID 26498038, 28783719).</li></ul>
<p>Potentiële klinische significantie: BRAF p.(Asp594Asn)</p> <p>Besluit: BRAF D594 mutaties zijn weinig voorkomende mutaties in exon 15. Deze mutaties veroorzaken een conformationele verandering resulterend in verhoogde BRAF activiteit. Non-V600 mutaties zijn ongevoelig voor klassieke RAF inhibitie (dabrafenib, vemurafenib) doch nieuwe RAF inhibitoren (e.g. PLX8394) zijn onderwerp van klinische studies.</p> <p>Referenties:</p>

Zhang C. et al. Nature 2015 Zhan Yao et al. Nature Medicine 2019
Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 3 een variant geïdentificeerd in exon 15 van BRAF: c.1780G>A (p.(Asp594Asn)) in 15% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van deze variant in BRAF wordt in het algemeen geassocieerd met een ongunstige prognose en een slechte respons op BRAF inhibitoren, maar mogelijke respons op combinatietherapie van BRAF inhibitoren en MEK inhibitoren (de Langen & Smit Ther Adv Med Oncol 2017).
Absence de mutation EGFR. Présence d'une mutation BRAF, probablement pathogène mais actuellement sans signification clinique ou thérapeutique pour la pathologie concernée.
Dans ce prélèvement d'adénocarcinome pulmonaire métastasé, présence d'un variant BRAF (D594N) probablement pathogène et d'impact clinique potentiel (Tier IID) : NM_004333.5, BRAF c.1780G>A, p.(Asp594Asn) observé avec une fréquence allélique de 15% (avec la technique NGS utilisée). Pas de variant EGFR ou ALK pathogène ou potentiellement pathogène détecté. Les mutations BRAF au codon 600 dans les NSCLC constituent des cibles thérapeutiques établies pour divers protocoles associant les anti-BRAF aux anti-MEK avec ou sans immunothérapies, cependant, en ce qui concerne les mutations BRAF (D594N), aucune étude clinique dans les NSCLC ne les a encore reconnues comme prédictives de sensibilité aux anti-BRAF /anti-MEK. Mis à part un cas clinique isolé traité par anti-BRAF (ref M.Mufti et al. World J.Oncol 2018), les recommandations officielles préconisent en première intention pour les NSCLC avec mutations BRAF non-V600, l'usage des checkpoint inhibiteurs. Ce cas est à discuter au comité multidisciplinaire d'oncologie (COM).
Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.  Une mutation a été détectée dans BRAF. Les mutations de BRAF sont rencontrées dans environ 5% des adénocarcinomes pulmonaires (Kandoth et al. Nature 2013). La mutation c.1780G>A est peu décrite dans la littérature (5 occurrences ""lung"" dans la base de données COSMIC). L'impact clinique de cette mutation est par conséquent indéterminé. Les seules données cliniques concernant BRAF dans les adénocarcinomes pulmonaires ont évalué l'impact des mutations V600E et V600K (Gautschi et al., J Thorac Oncol 2012; Robinson et al. Lung Cancer 2014 ; Rudin et al. J Thorac Oncol 2013; Planchard et al. JCO 2017)
Er werd GEEN activerende EGFR mutatie gedetecteerd. Dit resultaat is voor longcarcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-EGFR TKI.  Er werd wel een BRAF mutatie type D594N gedetecteerd. BRAF mutaties komen voor in +/- 5 % van de longadenocarcinomen en zijn dan vaker dan in melanomen van het niet-V600E type. BRAF niet-V600E gemuteerde tumoren zouden niet responsief zijn op BRAF-inhibitoren zoals vemurafenib en dabrafenib. Preklinische data suggereren dat BRAF niet-V600E gemuteerde tumoren sensitief zouden kunnen zijn aan nieuwere BRAF inhibitoren (oa. PLX8394).
Présence d'une mutation dans le gène BRAF

### 3.1.4. Casus 4

<p>Somatische mutaties in het tyrosinekinasedomein van het epidermale groeifactorreceptor (EGFR) -gen zijn aanwezig in ongeveer 80% van de longadenocarcinomen die reageren op EGFR-remmers van de eerste en tweede generatie (bijvoorbeeld gefitinib, erlotinib en afatinib). Twee soorten mutaties zijn goed voor ongeveer 80-90% van alle EGFR-mutaties: korte in-frame deleties in Exon 19 en een puntmutatie in exon 21 op codon 858 (L858R). Andere minder vaak voorkomende mutaties in exons 18, 20 en 21 worden gevonden in 10-20% van de met EGFR gemuteerde gevallen. EGFR Exon 19-deleties, EGFR Exon 21 L858R en EGFR Exon 18 G719-mutaties zijn sterk gecorreleerd met de gevoeligheid voor specifieke EGFR-remmers. In dergelijke gevallen werd een responsratio tot 80% bekomen. De T790M-mutatie in exon 20 gaat gepaard met resistentie tegen sommige EGFR-remmers. TKI van de derde generatie (bijv. Osimertinib) kan echter specifiek gericht zijn op T790M.</p>
<p>Aanwezigheid van EGFR mutatie p.(Leu858Arg) in deze patiënt is van significant klinisch belang aangezien deze geassocieerd is met verhoogde gevoeligheid voor anti-EGFR TKI therapie. Er is momenteel geen gekende klinische betekenis geassocieerd met aanwezigheid van EGFR variant p.(Ala871Glu).</p>
<p>Er werden twee mutaties aangetoond in EGFR. De aanwezigheid van deze combinatie mutaties in NSCLC betekent in het algemeen dat een EGFR behandeling met reversibele tyrosine kinase inhibitoren (TKI) op zijn plaats is maar dat de PFS vermoedelijk korter zal zijn dan wanneer er niet al reeds een resistente subclon aanwezig is. Daarom kan behandeling met derde generatie EGFR TKI overwogen worden.</p>
<p>Tier 1: Er werd een pathogene mutatie aangetroffen in EGFR NM_005228.4 c.2573T&gt;G, p.(Leu858Arg). Deze mutatie is predictief voor gunstige respons op tyrosine kinase inhibitoren (PMID:20573926). Tier 3: Eveneens werd variant in EGFR NM_005228.4 c.2612C&gt;A, p.(Ala871Glu) aangetroffen. De klinische relevantie van deze mutatie is vooralsnog niet gekend</p>
<p>Tier 1: Er werd een pathogene mutatie aangetroffen in EGFR NM_005228.4 c.2573T&gt;G, p.(Leu858Arg). Deze mutatie is predictief voor gunstige respons op tyrosine kinase inhibitoren (PMID:20573926). Tier 3: Eveneens werd variant in EGFR NM_005228.4 c.2612C&gt;A, p.(Ala871Glu) aangetroffen. De klinische relevantie van deze mutatie is vooralsnog niet gekend</p>
<p>De hotspotmutatie c.2573T&gt;G (p.(Leu858Arg)) in EGFR is geassocieerd met gevoeligheid aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren. De predictieve/prognostische betekenis van de variant c.2612C&gt;A (p.(Ala871Glu)) in EGFR is niet gekend.</p>
<p>Interprétations cliniques : Dans les adénocarcinomes pulmonaires, la mutation Leu858Arg du gène EGFR confère une sensibilité aux inhibiteurs des tyrosine kinases (TKIs).</p>
<p>Référence: College of American Pathologists (CAP, Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Non-Small Cell Carcinoma of the Lung, juin 2016).</p>
<p>L'association de la mutation p.(Leu858Arg) et de la mutation p.(Ala871Glu) a été décrite dans un cas cas d'adénocarcinome pulmonaire (Wu et al., 2011 Clin Cancer Res). Cependant, les données sont trop limitées pour conclure quant à son impact sur la sensibilité ou la résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) anti-EGFR. Ce cas devra être discuté dans un molecular tumor board.</p>
<p>Er werd een pathogene EGFR ((NM_005228.4): c.2573T&gt;G (p.(Leu858Arg)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in long adenocarcinoom heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in het algemeen een verhoogde sensitiviteit aan EGFR tyrosine kinase inhibitoren. Bijkomend werd er een EGFR ((NM_005228.4): c.2612C&gt;A (p.(Ala871Glu)) missense variant van ongekende biologische betekenis (VUS) geïdentificeerd met een ongekende klinische betekenis (tier III). Referentie: <a href="https://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/5/">https://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/5/</a></p>
<p>De pathogene variant c.2573T&gt;G p.(Leu858Arg) werd gevonden in het EGFR gen exon 21 dat wordt geassocieerd met een gevoeligheid voor EGFR eerste-, tweede- en derdelijns EGFR TKI's.</p>
<p>Er werd een pathogene mutatie in het EGFR gen geïdentificeerd, EGFR c.2573T&gt;G (p.(Leu858Arg)). Deze missense mutatie in exon 21 van het EGFR gen resulteert in ligand-onafhankelijke activatie van EGFR en is een gekende driver mutatie voor niet-kleincellig longcarcinoom. Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I): de aanwezigheid van deze mutatie resulteert in gevoeligheid voor behandeling met EGFR tyrosine kinase inhibitoren (PMID 15118073 en 15118125). Daarnaast werd een variant van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, EGFR c.2612C&gt;A (p.(Ala871Glu)), waaraan actueel geen klinische implicaties gekoppeld kunnen worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).</p>
<p>in exon 21 van het EGFR gen werd een pathogene mutatie gevonden met gekende gevoeligheid aan bepaalde tyrosine kinase inhibitoren (significant klinisch belang). Tevens werd een variant of unknown significance (VUS) gevonden in exon 21 van het EGFR gen. Momenteel zijn er geen gegevens over de prognostische of predictieve waarde van deze variant (ongekende klinische betekenis). De c.2369C&gt;T:p.(Thr790Met) (T790M) mutatie is niet aanwezig.</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende 2 varianten:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- EGFR c.2573T&gt;G (p.(Leu858Arg)) (allel frequency 6 %): pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I). Het betreft een driver mutatie in het EGFR gen geassocieerd met een gunstig respons op EGFR TKI therapie (PMID 18458038).</li><li>- EGFR c.2612C&gt;A (p.(Ala871Glu)) (allel frequency 6 %) : variant met onduidelijke betekenis (VUS) zonder gekende klinische implicaties (Tier III).</li></ul>
<p>Sterke klinische significantie: EGFR p.(Leu858Arg)</p>
<p>Besluit: EGFR mutatie positief. De aanwezigheid van een activerende mutatie is predictief voor respons op anti-EGFR TKI behandeling.</p>

Therapie:

Deze mutatie is mogelijks geassocieerd met respons op afatinib, osimertinib, gefitinib, erlotinib, dacomitinib.

Referenties:

Rosell R et al. 2012 Lancet Oncology & Siegelin MD et al. 2014 Lab Invest.

Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 4 twee varianten geïdentificeerd in exon 21 van EGFR: c.2573T>G (p.(Leu858Arg)) in 6% van de reads voor deze nucleotide positie en c.2612C>A (p.(Ala871Glu)) in 6% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van de hotspot variant c.2573T>G (p.(Leu858Arg)) in EGFR wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op EGFR tyrosine kinase inhibitoren (NCCN guidelines lung cancer version 2.2018). De variant c.2612C>A (p.(Ala871Glu)) in EGFR is een variant van ongekende klinische significantie. Echter, de combinatie van deze 2 specifieke EGFR varianten werd in literatuur voor 1 case reeds beschreven waarbij een slechte respons op 1e lijn EGFR tyrosine kinase inhibitoren geobserveerd werd (Wu et al. Clinical Cancer Research 2011).

Présence d'une mutation au niveau de l'exon 21 du gène EGFR, conférant une sensibilité aux anti-EGFR TK.

Dans ce prélèvement d'adénocarcinome pulmonaire métastasé, présence d'un variant pathogénique EGFR (L858R) (Tier Ia) : NM\_005228.4, c.2573T>G, p.(Leu858Arg) détecté avec une fréquence allélique de 6% et associé à la présence d'un variant EGFR (A871E) d'impact clinique indéterminé (VUS-Tier III): NM\_005228.4, c.2612C>A, p.(Ala871Glu) détecté avec une fréquence allélique de 6% (avec la technique NGS utilisée). L'association de la mutation activatrice EGFR (L858R) avec le variant EGFR (A871E) de signification indéterminée a été rapportée comme prédictive de progression sous traitement par anti-TKI (ref P.Yeh et al.clin cancer Res.2013).  
Pas de variant BRAF ou ALK pathogénique ou probablement pathogénique objectivé. Cas à discuter en COM.

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

2 mutations ont été détectées dans le gène EGFR :

1) Le variant pathogénique p.(Leu858Arg) a été détecté dans l'exon 21.

Impact clinique avéré :

La mise en évidence d'une mutation somatique isolée de l'exon 21 du gène EGFR a été corrélée avec une réponse clinique (RR, PFS) au traitement par inhibiteurs des tyrosine kinases de première ou de seconde génération des patients atteints d'un cancer pulmonaire non à petites cellules (Hirsch et al., JCO 2006; Kim et al., The Lancet 2008; Mok et al., NEJM 2009, Rosell et al., Lancet Oncol 2012; Sequist et al., J Clin Oncol 2013).

2) Le variant p.(Ala871Glu) dans l'exon 21.

Ce variant est de signification inconnue et d'impact clinique indéterminé.

Er werd een activerende EGFR mutatie type L858R gedetecteerd. Dit resultaat is voor longadenocarcinomen predictief voor een goede respons op anti-EGFR TKI.

Présence de deux mutations dans le gène EGFR

### 3.1.5. Casus 5

<p>Aanwezigheid van een BRAF V600E-mutatie in een microsatelliet onstabiel colorectaal carcinoom geeft aan dat de tumor waarschijnlijk niet geassocieerd moet worden met het Lynch-syndroom (HNPCC). BRAF-mutaties van het valine 600-residu bleken in veel kankertypen wederkerend te zijn. Van de V600-mutaties is V600E het meest onderzocht. V600-mutaties als geheel zijn in verband gebracht met een slechtere prognose bij colorectale kanker. De V600-mutaties zorgen ook voor een hogere gevoeligheid voor de BRAF-remmer dabrafenib. Detectie van BRAF-mutaties kan ook nuttig zijn bij het bepalen of de patiënt in aanmerking komt voor anti-EGFR-behandeling. Ongeveer 8-15% van de tumoren van de colorectale kanker (CRC) bevatten BRAF-mutaties. De aanwezigheid van BRAF mutatie wordt geassocieerd met dikke darmkankers en met een verminderde overlevingskans. Sommige studies toonden aan dat patiënten met gemetastaseerd CRC (mCRC) die BRAF-mutaties bevatten niet reageren op anti-EGFR-antilichammiddelen cetuximab of panitumumab. BRAF V600-gemuteerde CRC's zijn mogelijk niet gevoelig voor op V600E gerichte TKI's. Geneesmiddel: Vemurafenib + Panitumumab, Encorafenib + Binimetinib + Cetuximab, Radiation + Trametinib+ Fluorouracil.</p>
<p>Aanwezigheid van BRAF mutatie p.(Val600Met) in deze patiënt is van mogelijk klinisch belang. In melanoom is aanwezigheid van deze mutatie geassocieerd met verhoogde gevoeligheid aan BRAF-inhibitoren.</p>
<p>Er werd geen KRAS of NRAS mutatie gedetecteerd. Er werd wel een mutatie aangetoond in BRAF (zie microscopie) In geval van gemetastaseerde is dit prognostisch een ongunstige factor. De afwezigheid van een mutatie in de RAS genen betekent dat de patiënt met mCRC in aanmerking komt voor therapie met anti-EGFR antistoffen. Sommige studies vermelden evenwel een verminderde respons van BRAF gemuteerde tumoren op anti-EGFR antistoffen.</p>
<p>Er werden voor dit colorectale weefsel geen pathogene mutaties aangetroffen. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): Er werd wel een variant aangetroffen in BRAF NM_004335.5 c1798G&gt;A, p.(Val600Met). Deze p.(Val600Met) mutatie is predictief voor therapierespons in maligne melanoom, maar de klinische betekenis in colorectaal adenocarcinoma is vooralsnog niet beschreven.</p>
<p>Er werden voor dit colorectale weefsel geen pathogene mutaties aangetroffen. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): Er werd wel een variant aangetroffen in BRAF NM_004335.5 c1798G&gt;A, p.(Val600Met). Deze p.(Val600Met) mutatie is predictief voor therapierespons in maligne melanoom, maar de klinische betekenis in colorectaal adenocarcinoma is vooralsnog niet beschreven.</p>
<p>De afwezigheid van klinisch relevante mutaties in KRAS en NRAS is geassocieerd met gevoeligheid aan anti-EGFR therapieën. De predictieve/prognostische betekenis van de hotspotmutatie c.1798G&gt;A (p.(Val600Met)) in BRAF is niet gekend.</p>
<p>Interprétations cliniques : Les mutations V600 dans le gène BRAF sont associées à une sensibilité aux inhibiteurs BRAF dans d'autres types de cancer (mélanome). Cependant, la mutation V600M n'a pas été testée spécifiquement.</p>
<p>Référence: Mc Arthur GA et al, 2014. Lancet Oncol.</p>
<p>Les mutations du gène BRAF sont décrites dans les cancers colorectaux. Il existe des essais cliniques avec des thérapies ciblant le gène BRAF ou le gène MEK chez les patients atteints d'un cancer colorectal et présentant une mutation du gène BRAF. Leur efficacité n'est cependant pas encore avérée. Ce cas devra être discuté dans un molecular tumor board.</p>
<p>Er werd een pathogene BRAF ((NM_004333.5): c.1798G&gt;A (p.(Val600Met)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in colorectaal adenocarcinoom heeft mogelijks klinisch belang (tier II). De aanwezigheid van deze variant in melanoom is van significant klinisch belang en betekent in het algemeen een verhoogde sensitiviteit aan BRAF inhibitoren. Referentie: Pubmed ID: 23317446</p>
<p>De variant c.1798G&gt;A p.(Val600Met) werd gevonden in het BRAF gen exon 15. Deze activerende mutatie werd reeds beschreven in melanoma en is geassocieerd met gevoeligheid aan BRAF inhibitoren.</p>
<p>Er werd een pathogene mutatie in het BRAF gen geïdentificeerd, BRAF c.1798G&gt;A (p.(Val600Met)). Deze missense mutatie in het tyrosine kinase domein resulteert in een constitutief actief BRAF kinase dat als monomeer tot signaaltransductie leidt (klasse 1 BRAF mutatie) (PMID 30770389). Deze mutatie heeft een mogelijk klinisch belang (Tier II): op basis van preklinische overwegingen en case reports bij patiënten met BRAF p.(Val600Met) mutant melanoom kan gevoeligheid aan BRAF inhibitoren verwacht worden (PMID 25382067 en 29168975). Gezien de context van colorectaal adenocarcinoom, een tumortype waarin BRAF inhibitor monotherapie gekend staat als minder efficiënt, gebeurt een eventueel opstarten van een BRAF inhibitor best in combinatie met een MEK inhibitor of een anti-EGFR monoklonaal antilichaam (PMID 27009213).</p>
<p>Een vermoedelijk pathogene mutatie werd gevonden in exon 15 van het BRAF gen (non V600E). Momenteel zijn er geen gegevens over de prognostische of predictieve waarde van deze variant (ongekende klinische betekenis).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant: - BRAF c.1798G&gt;A (p.(Val600Met)) (allel frequency 17%): pathogene variant met mogelijk klinisch belang (Tier II). Het betreft een gain of function mutatie (BRAF klasse I mutatie) in het BRAF gen waarvan de aanwezigheid in colorectal adenocarcinoom geassocieerd is met een ongunstige prognose (PMID 30976712). BRAF inhibitor therapie in combinatie met MEK inhibitor en/of anti-EGFR therapie dient overwogen te worden (PMID 30976712).</p>
<p>Sterke klinische significantie: BRAF p.(Val600Met)</p>
<p>Besluit: BRAF V600 mutatie geassocieerd met rechtszijdige darmtumoren en een ongunstig klinisch verloop. Mono RAF TK inhibitie is weinig effectief gebleken doch combinatie-therapie van RAF inhibitie, anti-EGFR antilichamen, en MEK inhibitie is het onderwerp van klinische studies.</p>

RAS mutatie negatief. Predictief voor respons op anti-EGFR behandeling bij darmtumoren

Therapie:

Dit mutatie profiel is mogelijks geassocieerd met respons op dabrafenib, vemurafenib, binimetinib, encorafenib, cobimetinib, trametinib, cetuximab, panitumumab.

Referenties:

Corcoran RB et al. Cancer Discovery 2018; Barras D Biomark et al., Cancer 2015  
Douillard JY et al. 2013 NEJM; Berlin J et al. 2013 NEJM ; Bokemeyer C et al. JCO 2010

Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 5 een variant geïdentificeerd in exon 15 van BRAF: c.1798G>A (p.(Val600Met)) in 17% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van deze BRAF variant is in het algemeen geassocieerd met een ongunstige prognose, een slechte respons op BRAF inhibitoren, maar een mogelijke respons op een combinatietherapie bestaande uit BRAF inhibitie en anti-EGFR monoklonale antilichaam behandeling (Hyman et al. NEJM 2015, Yaeger et al. Clin Cancer Res 2015, Corcoran et al. JCO 2015, van Geel et al. Cancer Discov 2017).

Chez les patients avec un KRAS wild-type, la mutation BRAF V600 a un impact négatif au niveau du traitement et de la survie.

Dans ce prélèvement d'adénocarcinome colique dont le stade et le statut MSI n'a pas été précisé, présence d'un variant BRAF (V600M) probablement pathogénique mais d'impact clinique avéré (Tier IA) (s'il s'agit bien d'un stade IV) : NM\_004333.5, c.1798G>A, p.(Val600Met) détecté avec une fréquence allélique de 17%. Dans les stades IV, les mutations BRAF V600 non précisé sont prédictives de résistance au traitement par anti-EGFR et de pronostic défavorable. Cependant, des réponses durables ont été obtenues dans des études de phase II faisant usage d'immunothérapie (check point inhibiteurs dans les cancers coliques métastasés MSI-High et BRAF V600 non précisé mutés (Overman M.J. et al.J, Clin Oncol 2018).

Dans les stades III, le statut BRAF V600E positifs non MSI-H est également prédictif de survie prolongée dans les CCR ayant bénéficié de chimiothérapie adjuvante (Chouhan H. et al. J.Surg.Oncol.2018). Pas de mutation KRAS ou NRAS associée détectée par NGS. Cas à discuter en COM pour inclusion éventuelle tenant compte du statut MSI et de la mutation BRAF Isolée V600M.

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

Nous avons détecté une mutation de type p.(Val600Met) dans le gène BRAF. Les mutations de BRAF sont rencontrées dans 5 à 8% des cancers colorectaux, mais concernent majoritairement la mutation p.(Val600Glu).

Impact clinique potentiel :

Plusieurs études indiquent que la mutation p.(Val600Glu) a un impact négatif sur le traitement à base d'anticorps ciblant EGFR chez les patients atteints d'un adénocarcinome colorectal KRAS-WT (De Roock et al. 2011; Mao et al. 2011; Tol et al. 2010). La mutation p.(Val600Met) n'a pas été incluse dans ces études, mais des données in vitro montrent une activité kinase accrue de BRAF-V600M, bien que plus faible que BRAF-V600E (Yao et al., Nature 2017).

Les patients porteurs d'une mutation V600E de BRAF ont une plus faible probabilité d'être atteints d'un syndrome de Lynch (Bessa et al., Clin Gastroenterol Hepatol 2008). A notre connaissance, il n'y a aucune donnée concernant l'association entre la V600M et un syndrome de Lynch ou une forme sporadique de cancer colorectal.

Er werd GEEN RAS mutatie gedetecteerd. De patiënt kan dus in aanmerking komen voor therapie met anti-EGFR moAb therapie.

Er werd wel een BRAF mutatie type (V600M) gedetecteerd. BRAF mutaties komen voor in +/- 10 % van de colorectale carcinomen (CRC). Het voorkomen van een BRAF mutatie in CRC heeft een negatieve impact op de prognose. De combinatie van encorafenib (BRAF-inhibitor) + cetuximab (anti-EGFR moAb) + binimetinib (MEK-inhibitor) zou goede klinische responsen geven in BRAF positieve CRC.

Présence d'une mutation dans le gène BRAF

### 3.1.6. Casus 6

<p>KRAS is een gen dat codeert voor één van de verschillende eiwitten in de epidermale groeifactorreceptor (EGFR) -signalisatie route die belangrijk is bij de ontwikkeling en progressie van kanker. KRAS kan oncogene mutaties bevatten die een constitutief actief eiwit opleveren. Dergelijke mutaties worden aangetroffen in ongeveer 30% tot 50% van de metastatische colorectale tumoren en komen vaak voor bij andere tumortypen. Mutaties in het KRAS-gen kunnen zorgen voor een slechte prognose en een slechte geneesmiddelenrespons bij therapieën gericht op EGFR. De afwezigheid van een KRAS-mutatie indiceert een grotere responswaarschijnlijkheid op EGFR gerichte therapieën en een verbeterde overleving bij dergelijke behandelingen. De relevante KRAS-mutatie bevindt zich in een van de vijf codons (12, 13, 61, 117 of 146). Indien de KRAS-mutaties zich bevinden in codon 12,13 of 61 is er een hogere kans dat er therapieresistentie optreedt bij therapieën gericht tegen EGFR. Bovendien kunnen mutaties op codons 117 en 146 ook in verband worden gebracht met een verminderde respons op EGFR gerichte therapieën. Resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met andere laboratorium- en klinische bevindingen. Geneesmiddelresistentie: Panitumumab, Cetuximab.</p>
<p>Aanwezigheid van KRAS mutatie p.(Lys117Asn) in deze patiënt is van significant klinisch belang aangezien deze geassocieerd is met verminderde gevoeligheid voor anti-EGFR therapie. Aanwezigheid van KRAS mutatie p.(Gly13Asp) in deze patiënt is van significant klinisch belang aangezien deze geassocieerd is met verminderde gevoeligheid voor anti-EGFR therapie.</p>
<p>Er werden 2 mutaties aangetoond in KRAS. De aanwezigheid van deze mutaties in mCRC betekenen in het algemeen resistentie aan anti-EGFR antistoffen.</p>
<p>Tier 1: 2 pathogene mutaties werden aangetroffen in KRAS (NM_004985.4): c.38G&gt;A, p.(Gly13Asp) en c.351A&gt;T, p.(Lys117Asn). Deze zijn predictief voor het gebrek aan respons op anti-EGFR antibody therapie in combinatie met chemotherapie. De respons op erlotinib en gefinitib (EGFR TKIs) is op dit ogenblik niet gekend. Twee KRAS mutaties in 1 tumor wijst op tumor heterogeniteit en correleert met een meer agressieve tumor (PMID: 23761841).</p>
<p>Tier 1: 2 pathogene mutaties werden aangetroffen in KRAS (NM_004985.4): c.38G&gt;A, p.(Gly13Asp) en c.351A&gt;T, p.(Lys117Asn). Deze zijn predictief voor het gebrek aan respons op anti-EGFR antibody therapie in combinatie met chemotherapie. De respons op erlotinib en gefinitib (EGFR TKIs) is op dit ogenblik niet gekend. Twee KRAS mutaties in 1 tumor wijst op tumor heterogeniteit en correleert met een meer agressieve tumor (PMID: 23761841).</p>
<p>De aanwezigheid van de klinisch relevante mutaties c.351A&gt;T (p.(Lys117Asn)) en c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) in KRAS is geassocieerd met resistentie aan anti-EGFR therapieën.</p>
<p>Interprétations cliniques : Dans les adénocarcinomes colo-rectaux, la présence de mutations dans le gène KRAS est associée à une diminution de la sensibilité aux thérapies anti EGFR.</p> <p>Référence: College of American Pathologists (CAP, Biomarker testing for Carcinoma of the Colon and Rectum, décembre 2014).</p>
<p>Les mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène KRAS sont associées à une résistance aux anti-EGFR (Amado RG et al., J Clin Oncol 2008, 26 :1626-34; Douillard JY et al., N Engl J Med 2013, 369 :1023-34). NB : Les mutations des gènes RAS sont habituellement exclusives. Néanmoins, de rares cas présentant plusieurs mutations différentes du gène KRAS ont été décrits dans les cancers colorectaux (De Roock et al. (2010), The Lancet 11 : 753-762).</p>
<p>Er werd een pathogene KRAS ((NM_004985.4): c.351A&gt;T (p.(Lys117Asn)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in colorectaal adenocarcinoom heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in het algemeen een verhoogde resistentie tegen anti-EGFR monoclonale antilichamen. Referentie: <a href="https://www.mycancergenome.org/content/disease/colorectal-cancer/kras/161/">https://www.mycancergenome.org/content/disease/colorectal-cancer/kras/161/</a> Daarnaast werd er een tweede pathogene KRAS ((NM_004985.4): c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in colorectaal adenocarcinoom heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in het algemeen een verhoogde resistentie tegen anti-EGFR monoclonale antilichamen. Referentie: <a href="https://www.mycancergenome.org/content/disease/colorectal-cancer/kras/39/">https://www.mycancergenome.org/content/disease/colorectal-cancer/kras/39/</a></p>
<p>De pathogene varianten c.38G&gt;A p.(Gly13Asp) en c.351A&gt;T p.(Lys117Asn) werden gevonden in het KRAS gen exon 2 en exon 4 en worden geassocieerd met een resistentie voor EGFR-TKI's en anti-EGFR antibodies.</p>
<p>Er werden twee pathogene mutaties in het KRAS gen geïdentificeerd, KRAS c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) en KRAS c.351A&gt;T (p.(Lys117Asn)). Beide missense mutaties worden recurrent aangetroffen in colorectaal carcinoom en resulteren in een constitutief actief KRAS eiwit (PMID 20147967). Deze mutaties hebben een significant klinisch belang (Tier I): voor elk van beide mutaties, ook voor de vroeger enigszins controversiële KRAS c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) mutatie, is aangetoond dat de aanwezigheid ervan resulteert in resistentie tegen behandeling met anti-EGFR monoklonale antilichamen (PMID 18202412, 24024839 en 26812186; National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: colon cancer, version 1.2019 &amp; rectal cancer, version 1.2019).</p>
<p>In het onderzochte staal werd een activerende KRAS mutatie in exon 2 teruggevonden. Ondanks het feit dat verschillende studies hebben aangetoond dat patiënten met tumoren met activerende mutaties in exonen 2, 3 en 4 van KRAS of NRAS geen baat zullen hebben bij anti-EGFR therapie (Douillard et al., 2013), zijn er recent studies verschenen waarin aangetoond werd dat patiënten met de p.Gly13Asp (G13D) mutatie betere outcomes vertonen met deze therapie, dan patiënten met tumoren met andere RAS-mutaties (Mao et al., Cancer 2013). Het staal bevat echter ook een tweede pathogene KRAS mutatie in exon 4. Verschillende studies hebben aangetoond dat patiënten met tumoren met activerende mutaties in exonen 2, 3 en 4 van KRAS of NRAS geen baat zullen hebben bij anti-EGFR therapie (Douillard et al., 2013). Alle gegevens samengenomen lijkt respons op anti-EGFR therapie bij deze casus weinig waarschijnlijk (significant klinisch belang).</p>

<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende 2 varianten:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- KRAS c.351A&gt;T (p.(Lys117Asn)) (allel frequency 10 %): pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I).</li> <li>- KRAS c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) (allel frequency 37 %): pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I).</li> </ul> <p>Beide mutaties in het KRAS gen zijn geassocieerd met resistentie tegen targeted anti-EGFR therapie (PMID 18202412, 24024389, 26812186).</p>
<p>Sterke klinische significantie:  KRAS p.(Lys117Asn)  KRAS p.(Gly13D)</p> <p>Besluit:  RAS mutatie positief. Geen indicatie voor anti-EGFR behandeling bij darmtumoren.</p> <p>Referenties:  Douillard JY et al. 2013 NEJM &amp; Berlin J. et al. 2013 NEJM &amp; Bokemeyer C et al. JCO 2010</p>
<p>Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 6 twee activerende varianten geïdentificeerd in exon 2 van KRAS: c.38G&gt;A (p.(Gly13Asp)) in 37% van de reads voor deze nucleotide positie en in exon 4 van KRAS: c.351A&gt;T (p.(Lys117Asn)) in 10% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van deze activerende varianten in KRAS wordt in het algemeen geassocieerd met een slechte respons op anti-EGFR monoklonale antilichaam behandeling (Douillard et al. NEJM 2013, NCCN guidelines colon cancer version 1.2018).</p>
<p>Présence de mutations KRAS, conférant une diminution de la sensibilité aux anticorps anti-EGFR.</p>
<p>Dans ce prélèvement d' adénocarcinome rectocolique métastasé, présence de deux variants pathogéniques KRAS d'impact clinique avéré respectivement (G13D) et (K117N) : NM_004985.4, KRAS, c.38G&gt;A, p.(Gly13Asp) et NM_004985.4, KRAS, c.351A&gt;T, p.(Lys117Asn) détecté avec une fréquence allélique de 37% et 10% (avec la technique NGS utilisée).</p> <p>Les mutations KRAS des exons 2, 3 et 4 du gène KRAS sont prédictives de résistance au traitement par anti-EGFR dans les cancers colorectaux métastasés. Pas de mutation BRAF (pronostique) associée.</p>
<p>Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.</p> <p>Deux mutations ont été trouvées dans le gène KRAS. La présence de 2 mutations dans KRAS est rare mais a été décrite dans environ 1% des adénocarcinomes colorectaux (Tong et al., Cancer Biol Ther 2014 ; Macedo et al., Int J Colorectal Dis).</p> <p>Impact clinique avéré : La présence de mutations acquises de l'oncogène KRAS a été corrélée avec l'absence de réponse aux inhibiteurs du récepteur à l'EGF (EGFR), dont le panitumumab (Vectibix®) et le cétuximab (Erbix®), chez les patients atteints de cancer colorectal (CCR) métastatique (Lièvre A et al, 2006 ; Tejpar S et al, 2008).</p>
<p>Er werden twee KRAS mutaties type G13D en K117N gedetecteerd. Dit resultaat is voor colorectale carcinomen predictief voor een gebrek aan respons op anti-EGFR therapie.</p>
<p>Présence de deux mutations dans le gène KRAS</p>



### 3.1.7. Casus 7

<p>B-RAF is een lid van de RAF-familie van kinasen die een belangrijke rol spelen in de RAS-RAF-MEK-ERK pathway. In ongeveer 50% tot 60 % van de gevallen komen BRAF mutaties voor bij cutane melanomen. In lagere frequenties zijn ze ook aanwezig bij andere melanoomsubtypen. Het codon waar de meeste BRAF mutaties voorkomen is codon Val600, meer specifiek p.Val600Glu (V600E). Verschillende B-Raf-remmers (Vemurafenib, Dabrafenib) zijn door de FDA goedgekeurd voor melanoomtherapie. Geneesmiddel: Vemurafenib Dabrafenib Dabrafenib + Tr ametinib Vemurafenib + Cobimetinib Trametinib.</p>
<p>Aanwezigheid van BRAF mutatie p.(Val600Arg) in deze patiënt is van significant klinisch belang aangezien deze geassocieerd is met verhoogde gevoeligheid voor BRAF-inhibitoren.</p>
<p>Er werd een mutatie gedetecteerd in BRAF. De aanwezigheid van deze mutatie betekent in het algemeen een verhoogde sensitiviteit aan BRAF V600 inhibitoren en/of MEK inhibitoren.</p>
<p>Tier 1 (Significant klinisch belang): Er werd een pathogene mutatie aangetroffen in BRAF NM_004333.5 c1798_1799GT&gt;AG, p.(Val600Arg). Deze p.(Val600Arg) mutatie gaat gepaard met een verhoogde gevoeligheid voor BRAF inhibitoren en hebben een betere respons met dabrafenib in vergelijking met andere BRAF Val600 mutanten (PMID: 29148538).</p>
<p>Tier 1 (Significant klinisch belang): Er werd een pathogene mutatie aangetroffen in BRAF NM_004333.5 c1798_1799GT&gt;AG, p.(Val600Arg). Deze p.(Val600Arg) mutatie gaat gepaard met een verhoogde gevoeligheid voor BRAF inhibitoren en hebben een betere respons met dabrafenib in vergelijking met andere BRAF Val600 mutanten (PMID: 29148538).</p>
<p>De hotspotmutatie c.1798_1799delinsAG (p.(Val600Arg)) in BRAF is recurrent in maligne melanoma en kan in aanmerking komen voor doelgerichte therapie met BRAF-inhibitoren.</p>
<p>Interprétations cliniques : Ces mutations BRAF pourraient être associées à une sensibilité aux inhibiteurs de BRAF.</p>
<p>Référence: Klein O et al, 2013. European Journal of Cancer.</p>
<p>Les mutations du codon V600 du gène BRAF sont décrites dans environ 50% des mélanomes. La mutation V600R confère une sensibilité aux inhibiteurs de BRAF (Sosman et al., NEJM 2012, Flaherty et al., NEJM 2012, O. Klein et al., European Journal of Cancer 49 (2013)).</p>
<p>Er werd een pathogene BRAF ((NM_004333.5): c.1798_1799GT&gt;AG (p.(Val600Arg)) variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in melanoom heeft significant klinisch belang (tier I) en geeft in het algemeen een verhoogde sensitiviteit aan BRAF inhibitoren. Referentie: <a href="https://www.mycancergenome.org/content/disease/melanoma/braf/118/">https://www.mycancergenome.org/content/disease/melanoma/braf/118/</a></p>
<p>De pathogene variant c.1798_1799GT&gt;AG p.(Val600Arg) werd gevonden in het BRAF gen exon 15 dat wordt geassocieerd met een gevoeligheid voor BRAF inhibitoren.</p>
<p>Er werd een pathogene mutatie in het BRAF gen geïdentificeerd, BRAF c.1798_1799delinsAG (p.(Val600Arg)). Deze missense mutatie in het tyrosine kinase domein resulteert in een constitutief actief BRAF kinase dat als monomeer tot signaaltransductie leidt (klasse 1 BRAF mutatie) (PMID 15035987, 15046639 en 30770389). Deze mutatie heeft een mogelijk klinisch belang (Tier II): op basis van preklinische studies, case reports en kleine klinische reeksen kan gevoeligheid aan BRAF inhibitoren verwacht worden (PMID 23237741, 23317446, 23463675, 23473613, 27255157 en 29076950).</p>
<p>Een pathogene mutatie p.(Val600Arg)(V600R) werd gevonden in exon 15 van het BRAF gen. Patienten met een melanoma met deze mutatie hebben een verhoogde gevoeligheid aan BRAF inhibitie therapie (significant klinisch belang).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant: - BRAF c.1798_1799delinsAG (p.(Val600Arg)) (allel frequency 19 %): pathogene variant met significant klinisch belang (Tier I). Het betreft een klasse I BRAF mutatie met indicatie voor anti-BRAF inhibitor therapie (PMID 2327741).</p>
<p>Sterke klinische significantie: BRAF p.(Val600Arg)</p> <p>Besluit: BRAF V600 mutatie positief. Predictief voor respons op anti-BRAF TKI behandeling bij melanoom.</p> <p>Therapie: De gedetecteerde mutatie is mogelijks geassocieerd met respons op dabrafenib, vemurafenib, binimetinib, cobimetinib, encorafenib, trametinib.</p> <p>Referenties: Chapman PB et al. 2011 NEJM Klein O et al. 2013 EJC</p>
<p>Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 7 een activerende variant geïdentificeerd in exon 15 van BRAF: c.1798_1799delinsAG (p.(Val600Arg)) in 19% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van deze variant in BRAF wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op BRAF inhibitor behandeling (mycancergenome.org, Klein et al. Eur J Cancer 2013) en op MEK inhibitor behandeling (Kim et al. JCO 2013).</p>
<p>Présence d'une mutation BRAF, associée, au niveau des mélanomes, à une sensibilité aux BRAF-inhibiteurs.</p>
<p>Dans ce mélanome récidivant de stade non précisé, présence d'un variant BRAF (V600R) pathogénique d'impact clinique avéré : NM_004333.5, BRAF, c.1798_1799GT&gt;AG, p.(V600Arg) détecté avec une fréquence allélique de 19%. Les mutations BRAF V600R constituent des cibles thérapeutiques pour les traitements inhibiteurs de kinase combinés ou non ciblant la voie BRAF dans les mélanomes de stade III et IV. Aucune mutation KRAS ou NRAS concomitante n'a été détectée.</p>

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

Une mutation a été détectée dans BRAF.

Les mutations de BRAF sont rencontrées dans 10 à 50% des mélanomes, en fonction du sous-type.

Impact clinique avéré :

La présence d'une mutation du codon 600 du gène BRAF dans les mélanomes métastatiques a été corrélée avec une réponse au traitement ciblé par inhibiteur de cette kinase (Flaherty KT et al, NEJM 2010; Chapman et al, NEJM 2011).

Met NGS werd een pathogene BRAF mutatie gedetecteerd op positie V600, doch van het zeldzame V600R type (niet-V600E). BRAF V600E gemuteerde melanomen vertonen een goede respons op BRAF-inhibitoren zoals vemurafenib en dabrafenib al dan niet in combinatie met MEK-inhibitoren zoals trametinib. Dit zou in het algemeen gelden ook voor andere V600 mutaties zoals V600R al is daar veel minder klinische evidentie rond.

Présence d'une mutation dans le gène BRAF

### 3.1.8. Casus 8

<p>KIT mutaties komen voor bij ongeveer 80% van de patiënten met gastro-intestinale stromale tumoren. De belangrijkste regio van KIT mutatie in GIST bevindt zich in exon 11. (Dit bij ongeveer 65% van de patiënten). KIT exon 11 mutaties zijn activerende mutaties en zijn gevoelig voor de behandeling met Imatinib.</p>
<p>Aanwezigheid van KIT mutatie p.(Val559Gly) is van mogelijk klinisch belang. In een fase II studie (PMID 27371698) is aanwezigheid van deze mutatie geassocieerd met verhoogde gevoeligheid aan tyrosine kinase inhibitoren.</p>
<p>Er werd door de test een mutatie aangetoond in KIT: dit ondersteunt de diagnose van GIST. De aanwezigheid van dit type mutatie in het KIT gen in tumoraal weefsel betekent een verhoogde sensitiviteit aan tyrosine kinase inhibitoren zoals imatinib.</p>
<p>Tier 2: Een vermoedelijk pathogene mutatie werd aangetroffen in KIT NM_000222.2 c.1676T&gt;G, p.(Val559Gly). Deze is recurrent in GIST (PMID: 30362320). De klinische significantie is ongekend. In de meeste gevallen zijn puntmutaties in exon 11 geassocieerd met een hogere gevoeligheid voor imatinib. Patiënten met een exon 11 mutatie hebben een kortere recidiefvrije periode en een slechtere overleving maar hebben de hoogste gevoeligheid voor imatinib met een gemiddelde duur van ongeveer 23 maand. Ze hebben minder kans op gunstige respons op tweedelijns therapie met sunitinib (<a href="http://www.mycancergenome.org">www.mycancergenome.org</a>, PMID: 30362320)</p>
<p>Tier 2: Een vermoedelijk pathogene mutatie werd aangetroffen in KIT NM_000222.2 c.1676T&gt;G, p.(Val559Gly). Deze is recurrent in GIST (PMID: 30362320). De klinische significantie is ongekend. In de meeste gevallen zijn puntmutaties in exon 11 geassocieerd met een hogere gevoeligheid voor imatinib. Patiënten met een exon 11 mutatie hebben een kortere recidiefvrije periode en een slechtere overleving maar hebben de hoogste gevoeligheid voor imatinib met een gemiddelde duur van ongeveer 23 maand. Ze hebben minder kans op gunstige respons op tweedelijns therapie met sunitinib (<a href="http://www.mycancergenome.org">www.mycancergenome.org</a>, PMID: 30362320)</p>
<p>De mutatie c.1676T&gt;G (p.(Val559Gly)) in KIT is recurrent in GIST en is geassocieerd met gevoeligheid aan de tyrosine kinase inhibitor imatinib.</p>
<p>Interprétations cliniques : Dans les GISTs, la présence de mutations dans le gène KIT des exons 9,11, 13 et 17, confèrent une sensibilité aux inhibiteurs des tyrosine kinases (TKIs). De plus, les mutations dans l'exon 11 sont associées à une progression plus rapide et à une survie plus courte (valeur pronostique).</p> <p>Référence: College of American Pathologists (CAP, Biomarker testing for Gastrointestinal Stromal Tumor, février 2015).</p>
<p>Les mutations, insertions et délétions dans l'exon 11 du gène KIT sont associées à une sensibilité à l'imatinib (Debiec-Rychter M. et al., Eur J. Cancer 2006, 45 : 1093-03; Heinrich MC et al., J Clin Oncol 2003, 21 : 4342-49).</p>
<p>Er werd een vermoedelijk pathogene KIT ((NM_000222.2): c.1676T&gt;G (p.(Val559Gly)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in GIST heeft mogelijk klinisch belang (tier II) en geeft mogelijk een verhoogde sensitiviteit aan imatinib, regorafenib of sunitinib Referentie: <a href="https://oncokb.org/gene/KIT/V559G">https://oncokb.org/gene/KIT/V559G</a> (Pubmed ID: 28196207, 18955451, 18235122, 12181401, 17046465, 23177515).</p>
<p>De variant c.1676T&gt;G p.(Val559Gly) werd gevonden in het KIT gen exon 11 en wordt geassocieerd met een gevoeligheid voor imatinib. De PDGFRA, exon 18 variant c.2525A&gt;T p.(Asp842Val) kon niet worden aangetoond.</p>
<p>Er werd een vermoedelijk pathogene mutatie in exon 11 van het KIT gen geïdentificeerd, KIT c.1676T&gt;G (p.(Val559Gly)). Mutaties in het KIT gen worden in ongeveer 80 % van de gastro-intestinale stromale tumoren gedetecteerd. De in deze casus aangetroffen missense mutatie tast het juxtamembranair domein aan en resulteert in een constitutief actief KIT kinase (PMID 12879016 en 15897563). Deze mutatie heeft een mogelijk klinisch belang (Tier II): op basis van preklinische studies, klinische ervaring met vergelijkbare KIT mutaties bij GIST tumoren en een case report bij een patiënt met KIT p.(Val559Gly) mutant melanoom kan gevoeligheid aan imatinib en andere KIT inhibitoren verwacht worden (PMID 12879016, 15897563, 29846513 en 30614559).</p>
<p>In het onderzochte staal werd een mutatie in exon 11 van het KIT gen teruggevonden van significant klinisch belang. Studies hebben aangetoond dat patiënten met KIT exon 11 mutaties, in vergelijking met patiënten met KIT exon9 mutaties en met wild type KIT, een kortere ziektevrrije en totale overleving hebben. Deze tumoren zijn echter het meest gevoelig aan behandeling met imatinib. Patiënten met exon 11 mutaties, hebben minder kans op respons op tweedelijns sunitinib (5% RR; Heinrich et al., 2008).</p>
<p>NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende variant: - KIT c.1676T&gt;G (p.(Val559Gly)) (allel frequency 32 %): vermoedelijk pathogene variant met mogelijk klinisch belang (Tier II). Het betreft een frequent voorkomende variant in GIST tumoren met een vermoedelijke gevoeligheid aan KIT inhibitor therapie (PMID 12879016, 15897563).</p>
<p>Sterke klinische significantie: KIT p.(Val559Gly)</p> <p>Besluit: Predictief voor respons op KIT TKI-behandeling in GIST.</p> <p>Therapie: De gedetecteerde mutatie is mogelijks geassocieerd met respons op imatinib, sunitinib, nilotinib, regorafenib, and sorafenib</p> <p>Referenties: Heinrich et al 2008. Primary and secondary kinase genotypes correlate with the biological and clinical activity of sunitinib in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor Henrich et al. 2008. Correlation of kinase genotype and clinical outcome in the North American Intergroup Phase III Trial of imatinib mesylate for treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor: CALGB 150105 Study by Cancer and Leukemia Group B and Southwest Oncology Group) Klein O et al. 2013 EJC</p>

Wij hebben in het DNA geëxtraheerd uit de tumor van casus 8 een variant geïdentificeerd in exon 11 van KIT: c.1676T>G (p.(Val559Gly)) in 32% van de reads voor deze nucleotide positie. De aanwezigheid van een variant in KIT exon 11 wordt in het algemeen geassocieerd met een goede respons op imatinib behandeling (mycancergenome, NCCN soft tissue sarcoma v2.2018).

Présence d'une mutation au niveau de l'exon 11 du gène KIT conférant, au niveau des GIST, une sensibilité à l'Imatinib mais une diminution de la sensibilité au Sunitinib seconde ligne.

Dans ce prélèvement de tumeur gastro-intestinale stromale (GIST) dont le stade n'a pas été précisé, présence d'un variant probablement pathogénique KIT (V559G) mais d'impact clinique avéré : NM\_000222.2, KIT,c.1676T>G, p.(Val559Gly) observé avec une fréquence allélique de 32%. Les mutations KIT (V559G) de l'exon 11 sont de meilleur pronostic et prédictives de sensibilité au traitement par inhibiteur de kinase (Imatinib) en adjuvantérapie après résection ou dans les cas avancés de GIST. Pas de mutation de résistance KIT ou PDGFRA concomittante objectivée.

Nous avons recherché par séquençage à haut débit des mutations dans plusieurs régions d'intérêt selon les indications de la commission ComPerMed.

Les mutations dans l' exon 11 du gene KIT sont presentes dans 70% des patients atteints d' un GIST muté par KIT.

Impact clinique avéré :

La présence de mutations acquises de l'exon 11 du gène c-KIT est associée à une survie globale et une survie sans rechute raccourcie par rapport aux patients sans mutation ou avec mutation de l'exon 9 de KIT. Toutefois, ces mutations sont associées à une sensibilité élevée à l'imatinib et la durée médiane de bénéfice clinique a été rapportée à 23 mois. Les mutations de l'exon 11 de c-KIT sont considérées comme représentant un facteur pronostic négatif, tout spécialement les délétions entreprenant les codons 557 et 558 du fait de l'intensité du signal prolifératif qu'elles induisent. De plus, les mutations de l'exon 11 sont moins susceptibles de répondre aux inhibiteurs de seconde génération tel que le sunitinib (voir Heinrich et al., 2008).

Er werd een KIT V559G (exon 11) mutatie gedetecteerd. KIT mutaties komen voor in +/- 85 % van de GIST tumoren. Het voorkomen ervan in GIST is predictief voor een goede respons .

Présence d'une mutation dans le gène KIT

---

**EINDE**

---

© Sciensano, Brussel 2019.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.