

Nya läkemedel inom cancervården blir allt mer specifika och därmed effektivare. Men det krävs ofta en molekylärgenetisk analys för att identifiera vilka patienter som har nytta av den kostsamma och verkningsfulla behandlingen. Små förändringar på DNA- och kromosomnivå får stora konsekvenser för patientens behandlingsval och nu öppnas dörren för ännu effektivare analys-tekniker som en viktig pusselbit för en effektivare cancersjukvård.

Vid klinisk molekylär patologi (KMP) på Sahlgrenska universitetssjukhuset (SU) görs dessa analyser, nu med nya tekniken "Next Generation Sequencing" (NGS). KMP är ett litet lab med stor kapacitet och en del är den laboratoriemedicinska verksamheten vid Klinisk patologi och genetik på SU. Uppdragsgivare är kliniker och mottagningar inom bassjukvård och högspecialiserad vård inom främst Västra Götalandsregionen (VGR), med 1,6 miljoner invånare. Här ansvarar man för molekylär karaktärisering av majoriteten av alla solida tumörer inom VG-regionen.

- De flesta nya fall inom regionen, med bröstcancer, koloncancer, lungcancer och malignt melanom m.fl. kommer till

KLINISK MOLEKYLÄR PATOLOGI



— *en viktig partner i framtidens*

vårt laboratorium för analys. Men labbet är inte stort med sina 3,7 laborativa tjänster. Idag är vi fyra BMA, två molekylärgenetiker och två patologer som arbetar här, berättar Carola Andersson molekylärbiolog, Drift- & Utvecklingsansvarig vid KMP.

På Sahlgrenska har antal analyser ökat med ca 10 % per år, de senaste fem åren och man kör fler analyser och undersökningar per remiss.

- Detta hör ihop med att det kommer nya molekylära behandlingar för olika cancerformer. Dessa målinriktade läke-



cancersjukvård

medel kräver att vi gör molekylärgenetisk analys och individ-profilering för att se vilka patienter som kommer svara på behandlingen. Det kan vara specifika genamplifieringar, till exempel HER2 i bröstcancer eller mutationer i specifika gener, exempelvis EGFR i lungcancer. Ibland betyder mutation

LITE ANALYSSTATISTIK FRÅN KMP:
Antalet analyser har ökat med 600-800% på 10 år

- Totalt drygt 1400 analyser/år (ca 15/v)
- ISH: 520
- Sanger-sekvens: 170
- Allel-specifik PCR: 700
- RT-PCR (från RNA för fusionsgener): 55



Ovan till höger: Carola Andersson

att patienten förväntas svara på behandling, andra gånger inte. Allt beror på samspelet mellan gen, typ av mutation och läkemedel. Behandlingarna är dyra men ger ökad överlevnad, ofta höjd livskvalitet samt få biverkningar. Men de är totalt verkningslösa för fel patient, säger Fredrik Enlund, Docent och enhetschef, Genanalys och Cytogenetik.

KMP - ETT DIAGNOSTISKT TEAM

Det är av stor vikt att kompetens inom molekylär patologi finns genom hela analyskedjan. Både patologer och laboratoriepersonal måste samspela utifrån sina roller i analysprocessen, både tekniskt och medicinskt och ha relevanta kunskaper om den medicinska frågeställningen, den morfologiska basen för definition av relevant provmaterial, och molekylärbiologisk förståelse av analysmetoden.

- När i processen molekylär analys kommer in är olika. Det finns alltmer standardiserade paket som körs i samband

"På de 1000-delsmillimeter-tunna snitt med biologiskt material kanske bara en ytterst liten del innehåller cancerceller"

med diagnostik (reflextestning) vid till exempel bröstcancer och lungcancer. Det är naturligtvis bättre ju tidigare vi kommer in, då finns möjligheten att snabbt sätta in behandling om patienten försämras. Idag kostar en molekylär profilering ca 5000-10 000 sek, och jämfört med den målinriktade behandlingen, som inte sällan kostar 300 000-400 000 sek, är kostnaden relativt låg, säger Anders Edsjö, patolog och äm-





nesansvarig för molekylär patologi vid Klinisk patologi och genetik, SU.

Gången från beställning till ett svar från KMP kan se olika ut. Det handlar om veckoarbetsrutiner och preparationsbehandlingar. Som snabbast kan hantering gå på två dagar, men i regel tar det mellan 4-8 arbetsdagar.

TUMÖRCELLSHALTEN ÄR AVGÖRANDE

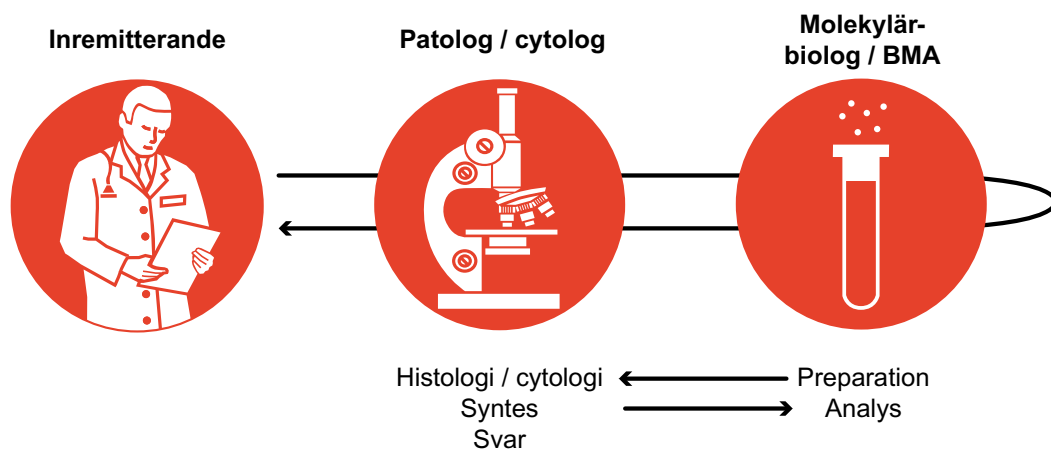
- Efter att patologen, vid första analysen, sett att det finns tumörceller i provet så tar vi fram paraffinklossen med patientens material igen, skär ett ytterst tunt snitt och extrahe-

rar DNA och utför den molekylärpatologiska undersökningen, säger Fredrik Enlund.

Tumörcellshalten i den vävnad som används för DNA-extraktion är av avgörande betydelse för att en mutation ska kunna påvisas.

- Att upptäcka en förvärvad mutation i tumörceller försvåras alltid av utspädning med omuterat DNA från genetiskt normala celler i och omkring tumören. Så på de 1000-delsmillimeter tunna snitt med biologiskt material kanske bara en ytterst liten del innehåller cancerceller, säger Carola Andersson.

KMP - ETT DIAGNOSTISKT TEAM



FRÅN DNA TILL ANALYSSVAR

För att få ut DNA eller RNA som sedan skall undersökas behövs ett rent manuellt mekaniskt handarbete där paraffinbäddade klossar med vävnad snittas tunt. Detta moment är tidskrävande och kräver hög precision och skiljer lab som KMP från andra kliniska molekylära lab.

- Vi har alla förändringar i våra gener men bara vissa ger upphov till cancer. Förändringar kan ses som dubbeltoppar i en sangersekvens, eftersom vi har en normal del och en förändrad, och kallas då heterozygot förändring. Förändringar kan vara att det saknas en bit av genen, har tillkommit en bit av genen eller att en enskild nukleotid har bytts ut. För att detektera eventuella förändringar är det viktigt att hantera preparatet korrekt och försöka utesluta normal vävnad, annars är risken att man missar dem. Sedan är det lika viktigt med analysen och efterarbetet, det vill säga att kunna tolka resultatet korrekt, säger Carola Anderson.

DIAGNOSTISKA- OCH BEHANDLINGSVÄGLEDANDE UNDERLAG

De poängterar att alla laboratorier är serviceenheter och att det således inte är de som bestämmer vilken behandling som skall ges, utan det gör behandlande läkare.

- Vår roll i processen är, utöver att få fram molekylär information, att tolka de fynd vi ser och göra en värdering av fyndens betydelse i förhållande till övriga fynd och till den kliniska frågeställningen. Sedan lägger vi stor vikt vid att hitta informativa och väl avvägda svar för att underlätta ett behandlingsbeslut. Vi ger samtidigt en del av den information som behövs för valet av behandling för den enskilda patienten, säger Anders Edsjö

KMP i Göteborg är med i ett nätverk av nationella molekylär patologiska enheter - Svensk Molekylär Patologi (SMP). Nätverket syftar till att ha ett aktivt informationsutbyte om analystekniker, kvalitetssäkring och inte minst samordning av analyser kring udda tumörtyper eller "svåra fall" som behöver verifieras mellan laboratorier.

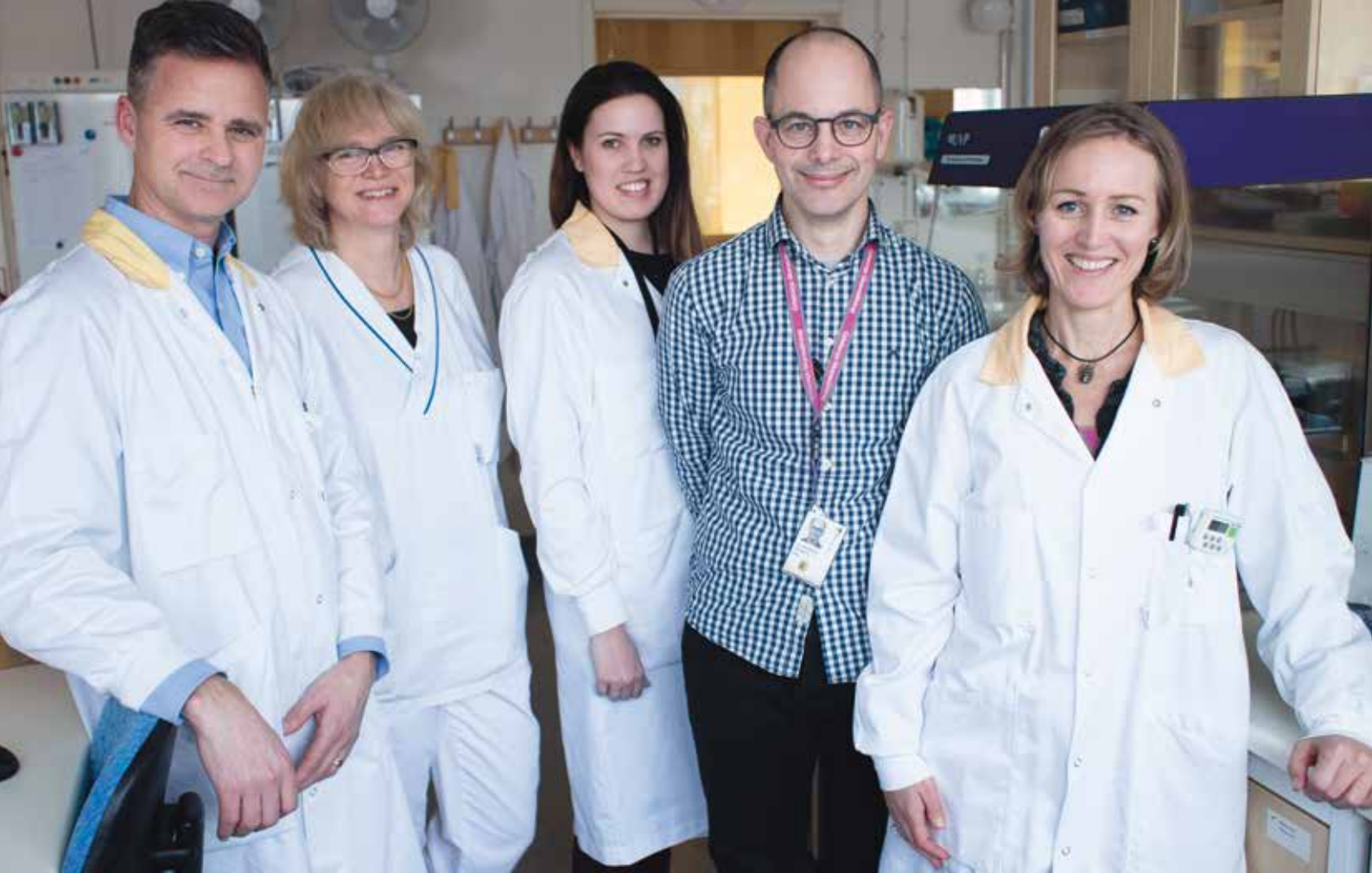
- Nätverket är en enorm styrka och har lett till att vi inom Sverige har en väl fungerande molekylärpatologi" – säger Fredrik Enlund.

NYA TEKNIKER ÖPPNAR FÖR FÖRFINAD KARTLÄGGNING AV PATIENTENS TUMÖR-DNA

I samband med att molekylär testning blivit en allt viktigare del av diagnostiseringen av cancerpatienter, så har genetisk mutationsanalys med så kallad "Next Generation Sequencing" (NGS) inneburit en oändlighet av nya möjligheter. Med ökad precision får kliniska laboratorier nu möjlighet att studera vårt biologiska system på en nivå som inte varit möjlig tidigare.

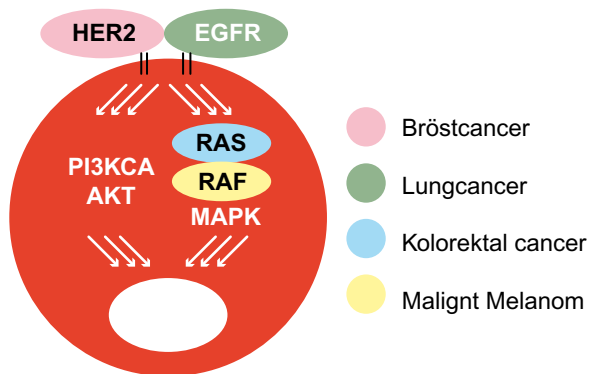
- Det är ett stort tekniskifte med de nya mutationsplattformarna vilket innebär att vi kan undersöka flera cancergener samtidigt. På KMP analyseras idag 22 gener. Varje chip kan analysera tumörmaterial från 8 patienter på 92 olika positioner istället för som tidigare bara en person på en position.





Fredrik Enlund, Christina Ekviden, Josefin Andersson, Anders Edsjö och Carola Andersson.

PREDIKTIV PATOLOGI



Vi kan analysera mycket flera gener och behöver mindre material det vill säga mindre patientvävnad. Detta kan bespara patienten ytterligare provtagningar, säger Carola Andersson.

NGS ETT BIOLOGISKT KRETSKORT

NGS-tekniken används redan idag för klinisk diagnostik på flera ställen i Europa – och har succesivt börjat implementeras på svenska laboratorier inom klinisk molekylär patologi och i år har enheten för klinisk molekylär patologi (KMP) på Sahlgrenska universitetssjukhuset i Göteborg startat sina första kliniska körningar med den nya NGS-tekniken.

- I USA räknar man med att majoriteten av all sekvensbaserad diagnostik redan idag ligger på någon form av NGS-plattform. I Sverige arbetar alla laboratorier inom vårt na-

tionella nätverk SMP med NGS i kliniken eller med validering och uppsättning av tekniken för kliniskt bruk, säger Anders Edsjö.

INSAMLING AV GENETISK DATA – ETT NATIONELLT PROJEKT

För att kunna samla all genetisk data bl.a. från nya NGS-tekniken och koppla den till behandlingsresultat pågår nu ett nationellt projekt, finansierat av Statens Kommuner och Landsting (SKL) och de sex regionala cancercentrum (RCC). Här ska man inledningsvis börja samla och koppla lungcancerdata från genetiska biomarkörer och klinikdata i den s.k. INCA-databasen.

- Det blir ett viktigt steg för att på sikt förstå kopplingen mellan genetiska mutationer och effekt av specifika målstyrda behandlingar – säger Fredrik Enlund.

MOLEKYLÄRPATOLOGIS ROLL - GE VÄGLEDANDE

UNDERLAG

Behovet av att kunna utföra snabba analyser har ökat de senaste åren. Det händer att KMP får akuta förfrågningar från onkologer med svårt sjuka patienter som inte längre svarar på sin medicin och där det är väldigt bråttom att göra en mutationsanalys och få fram exakt genotyp för att se om patienten tillhör den grupp som svarar på en tillräknt målstyrd behandling. Många av preparaten har en direkt effekt på patientens tillstånd. Blir väntan på analysen för lång kanske patienten hinner avlida innan analysen är utförd. Men en akut analysverksamhet ställer förstås ökade krav på bemanning inom verksamheten.

FRAMTIDEN SER LJUS UT

Behovet av molekylärgenetisk analys innan val av behandling har blivit ett krav före ordination av många nya cancerläkemedel som snart når marknaden. Så verksamheten tros expandera framöver och flera olika yrkeskategorier behövs som; patologer, molekylärgenetiker, biomedicinska analytiker och även bioinformatiker. I dagarna anställs den första bioinformatikern, som kommer att hantera den stora mängd data som genereras dagligen, speciellt nu med den nya NGS-tekniken.

- Bioinformatikern kommer att fungera som ett brohuvud för en växande bioinformatik, sätta upp systemanalys och lagring av data, samt samordna vår verksamhet med den vid övriga kliniker som sysslar med liknande verksamhet som vår. Bioinformatiken kommer också vara en viktig del av det nya labbmedicinska centrumet som planeras och är ett gemensamt projekt mellan Sahlgrenska sjukhuset och Göteborgs universitet. säger Anders Edsjö.

- Vår verksamhets uppdrag är att besvara frågeställningar som uppkommer inför behandlingsbeslut. Men många av oss är även engagerade inom forskningen och jag tror att det är en viktig aspekt att hela tiden vara uppdaterad och även att vara en del av utvecklingen av de nya analyser som vi ser kommer att behövas, säger Anders Edsjö.

De menar att klinisk molekylär patologi kommer få en allt viktigare roll i rutindiagnostiken av solida tumörer. Och i takt med att kunskapen växer när det gäller molekylära för-

FRAMTIDA DIAGNOSTIK

- Flera mutationsanalyser på flera gener för olika typer av maligniteter
- Behov att kunna analysera nya typer av förändringar (t ex metyleringar/acetyleringar, miRNA)
- Studera genetiska uttrycksmönster (cellsignalvägar) & bioinformatik
- Rutinmässig, tidig genetisk karakterisering vid diagnos

ändringar i cellerna kommer molekylärbiologisk diagnostik även kunna bidra med värdefull differentialdiagnostisk information. Men utveckling kräver interaktion mellan människor med samma mål och från många olika specialiteter och områden samt förstås laborativa resurser.

SUSANNE WESTERGREN
MEDICINJOURNALIST OCH SKRIBENT



FOTO: ANDERS DEROS