

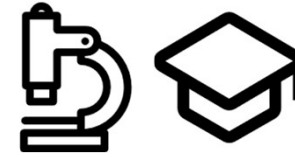
Optimalisatie van de genetische diagnostiek bij Non-Hodgkin Lymfoom

Lymfeklierkanker Vereniging Vlaanderen vzw

12 september 2026

Jolien De Bie, MD PhD

Wie zijn wij?



Genetische diagnostiek – UZ Leuven

Centrum Menselijke Erfelijkheid

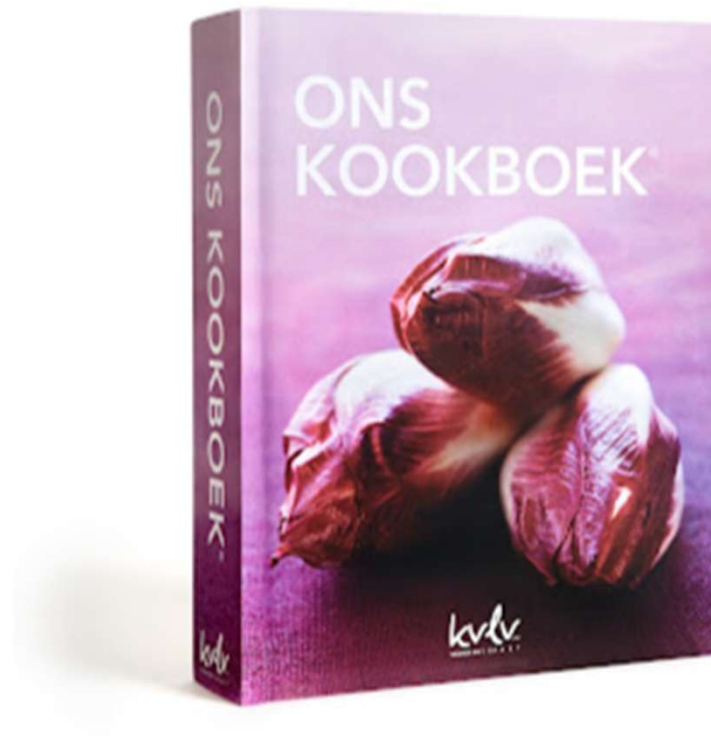
- **Genetische testen** bij diagnose en opvolging
- **Consultatie** bij een **(familiale) voorbeschiktheid**

Genetisch onderzoek – KU Leuven

Departement Menselijke Erfelijkheid

- **Nieuwe technieken** voor diagnostische **implementatie**
- Genetisch **karakteriseren** van bloed- en lymfeklierkankers

Genetica

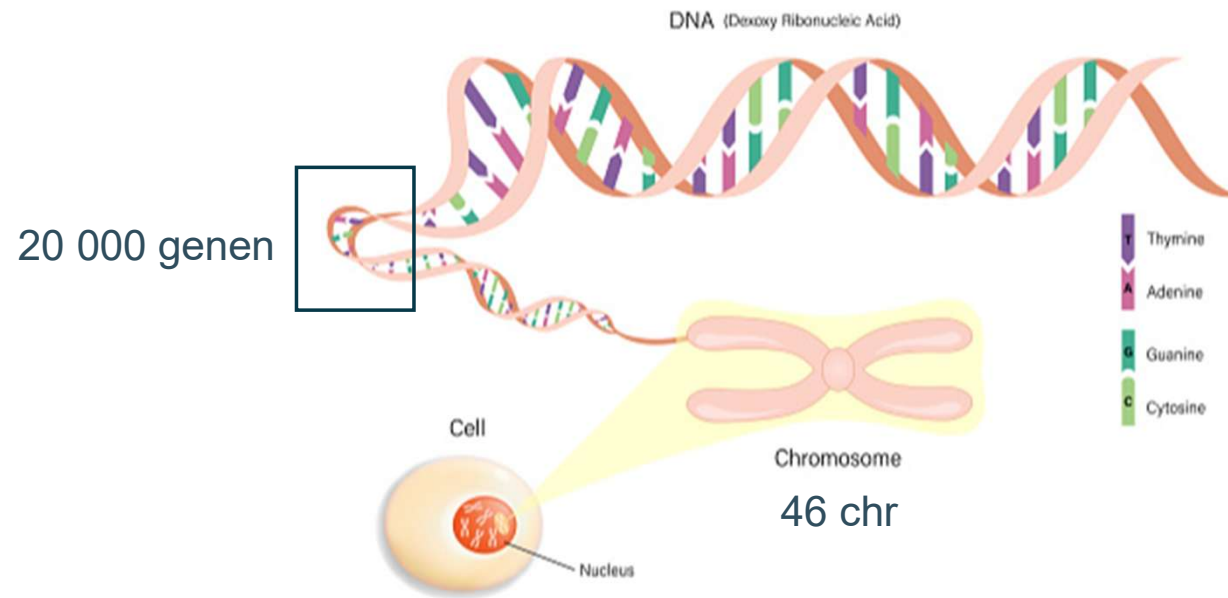


DNA

6 miljard letters (ATGC)
1 500 000 A4 pagina's

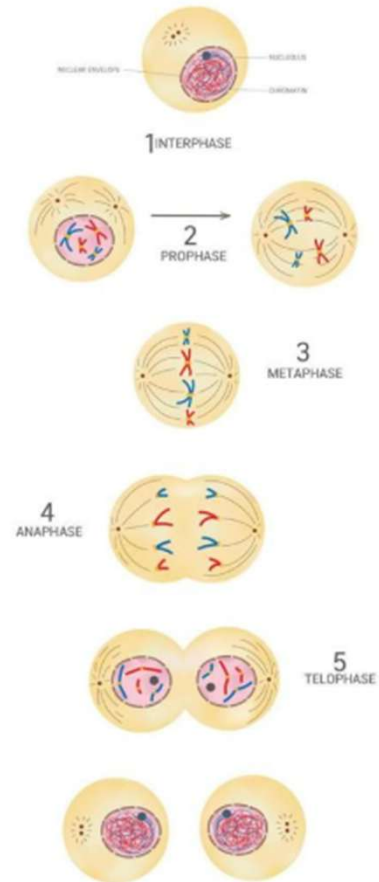
Genetica

GCTTATTAGGCATTAGCG....

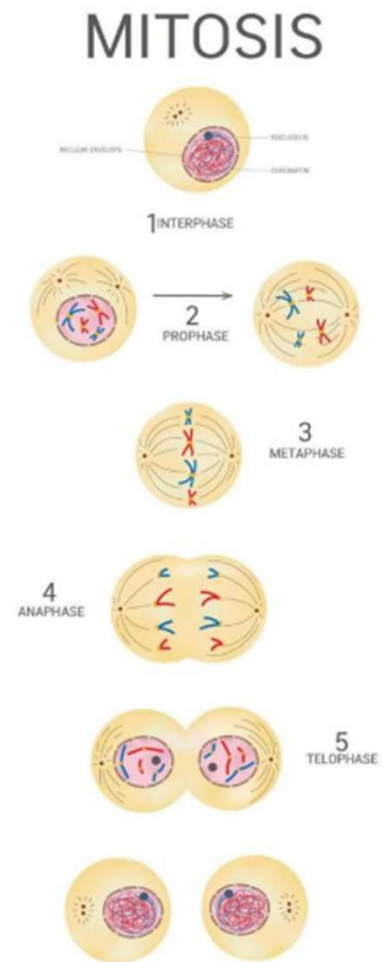


Genetica

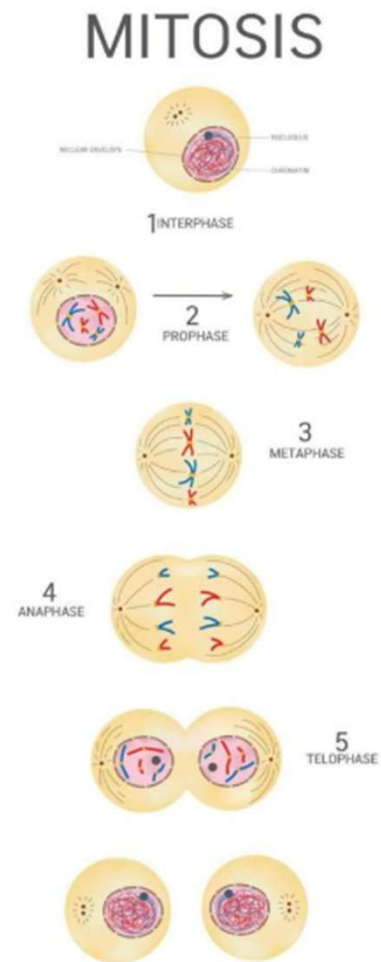
MITOSIS



Genetica

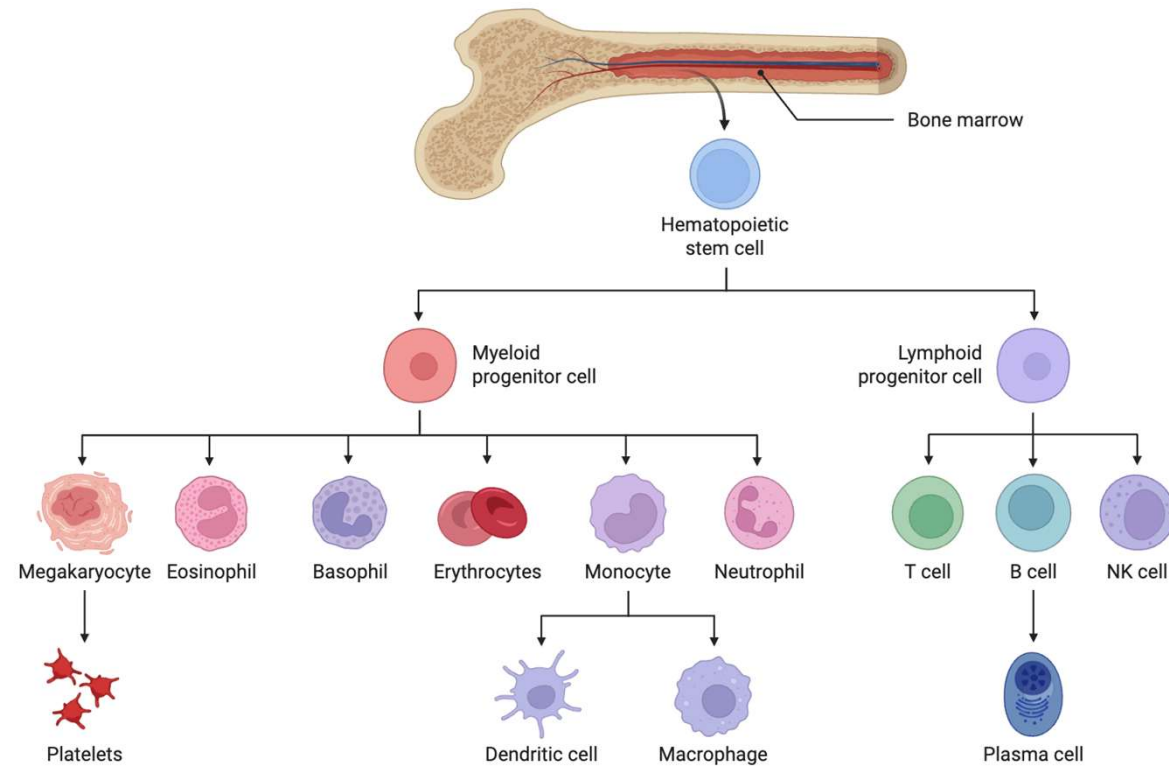


Genetica



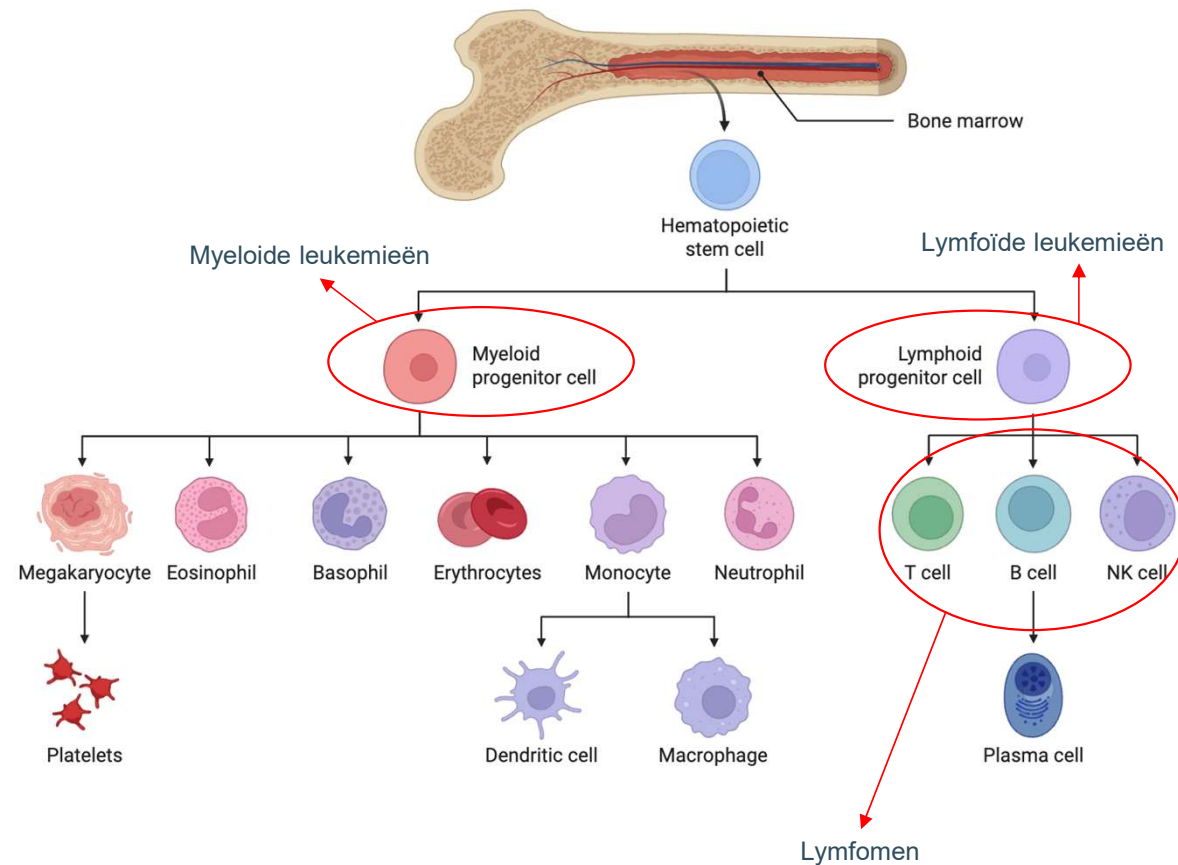
Bloed- en lymfeklierkankers

1. Bloed-/immuuncellen in verschillende ontwikkelingsstadia verwerven genetische afwijkingen
2. Groeien ongecontroleerd uit
3. Leukemieën, lymfomen, myelomen, ...



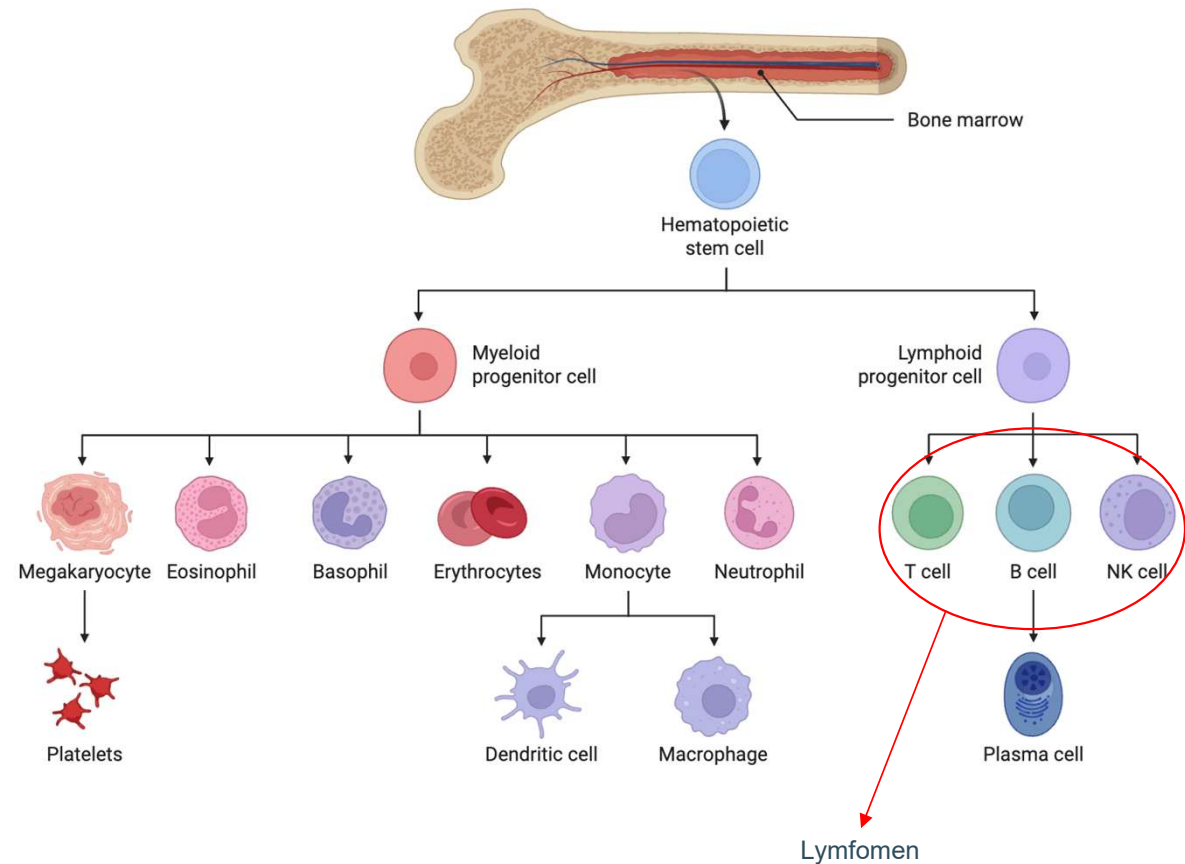
Bloed- en lymfeklierkankers

1. Bloed-/immuuncellen in verschillende ontwikkelingsstadia verwerven genetische afwijkingen
2. Groeien ongecontroleerd uit
3. Leukemieën, lymfomen, myelomen, ...



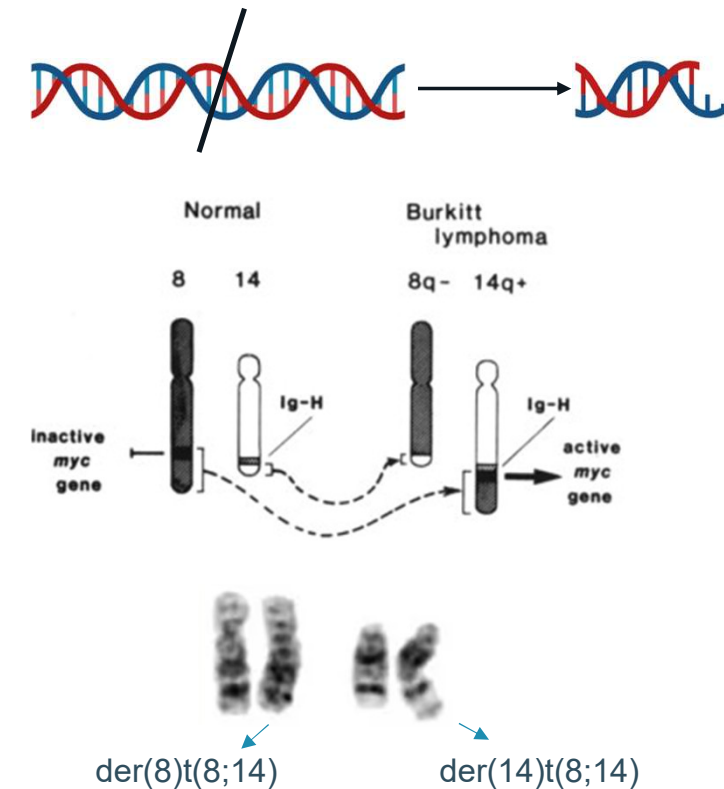
Lymfeklierkankers

- >60 verschillende soorten en subtypes
- Ontstaan in lymfeklieren, bloed, beenmerg of op andere plaatsen
- Genetische afwijkingen kunnen karakteristiek zijn



Genetische afwijkingen in lymfeklierkanker

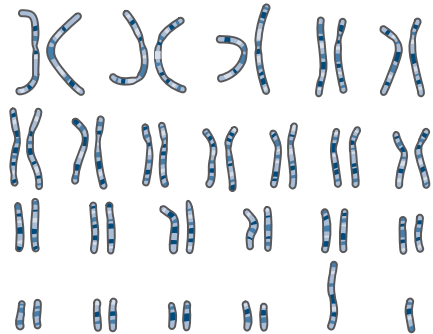
- Afwijkingen in het DNA
- Van één base tot grote chromosomale veranderingen
- Geven informatie:
 - Diagnose (sub)type
 - Prognose patiënt
 - Therapeutisch doelwit



Genetische diagnostiek bij Non-Hodgkin Lymfoom

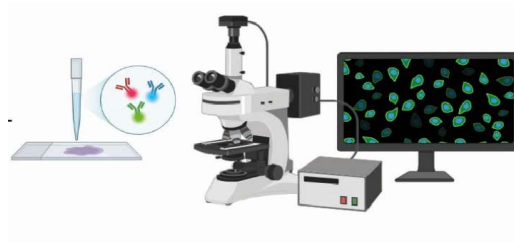
Karyotypering:

Grote structurele en numerieke afwijkingen



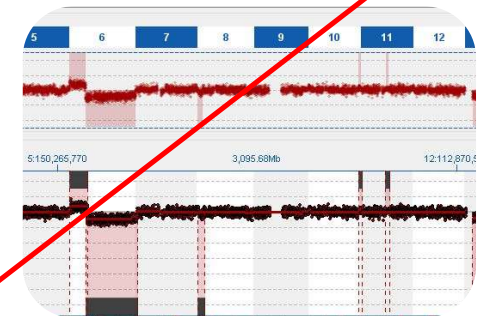
FISH:

Gericht structurele en numerieke afwijkingen



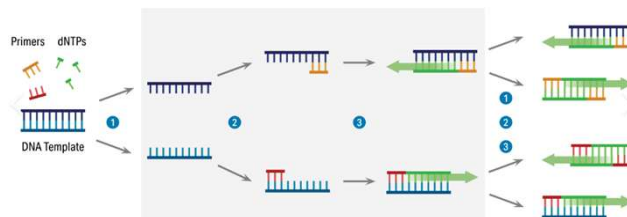
LPS of arrays:

Numerieke afwijkingen



PCR:

Gericht kleine afwijkingen

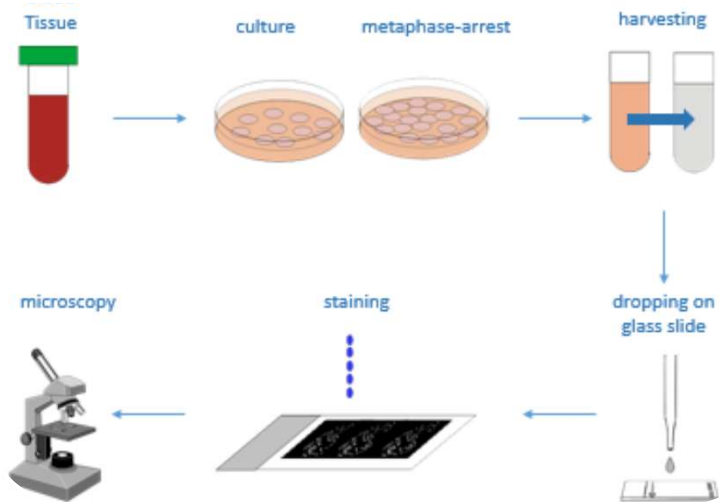


Sequenzen van korte DNA fragmenten:

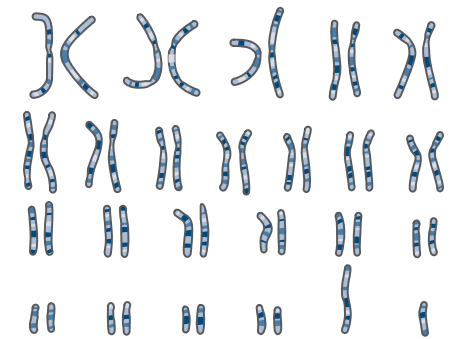
Kleine afwijkingen



Karyotypering



Metafase



Karyogram:
Chromosomen 1->22 en XX/XY

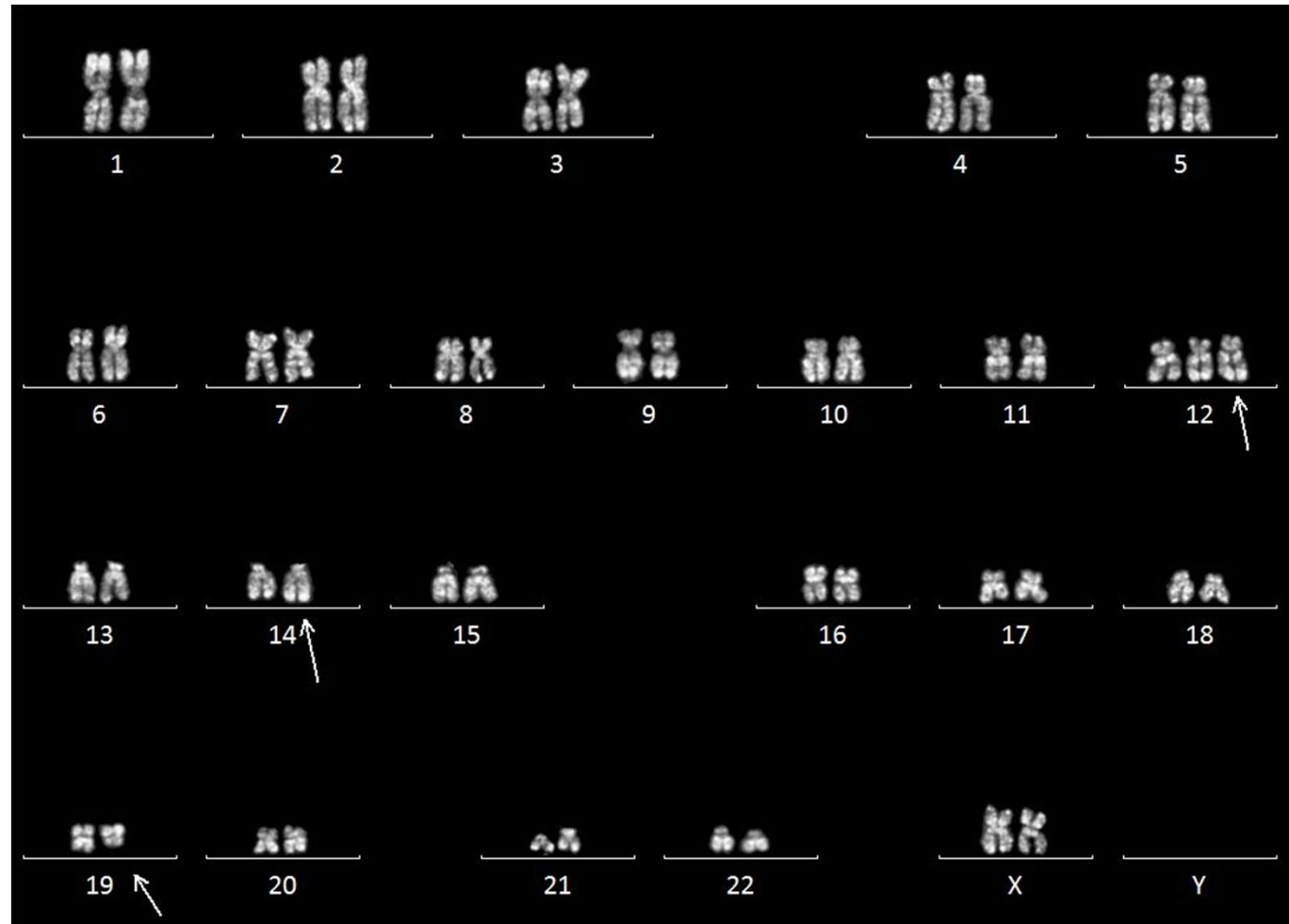
=> Grote structurele en numerieke afwijkingen

Karyotypering - voorbeeld

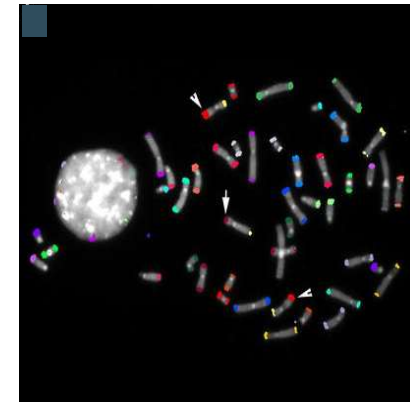
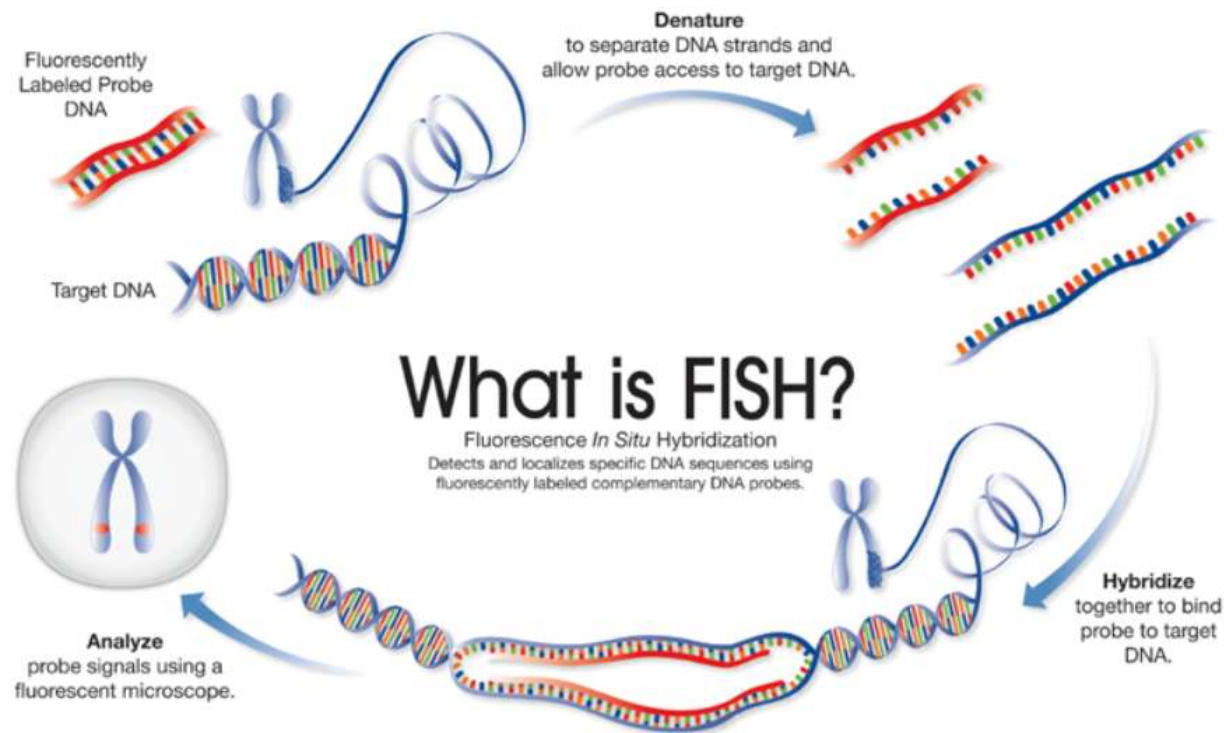
Bekomen informatie:

- Vrouwelijke patiënt
- $t(14;19)/IGH::BCL3$
- Extra chr12
- Recurrent in chronische lymfocyttaire leukemie, maar ook in marginale zone lymfoom, diffuus grootcellig B-cellymfoom e.a.

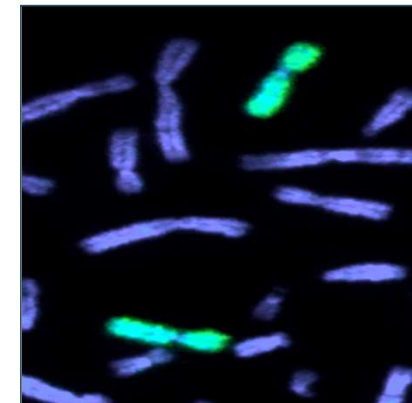
47,XX,+12,t(14;19)(q32;q13)[14]/
46,XX[6]



Fluorescente in-situ hybridisatie

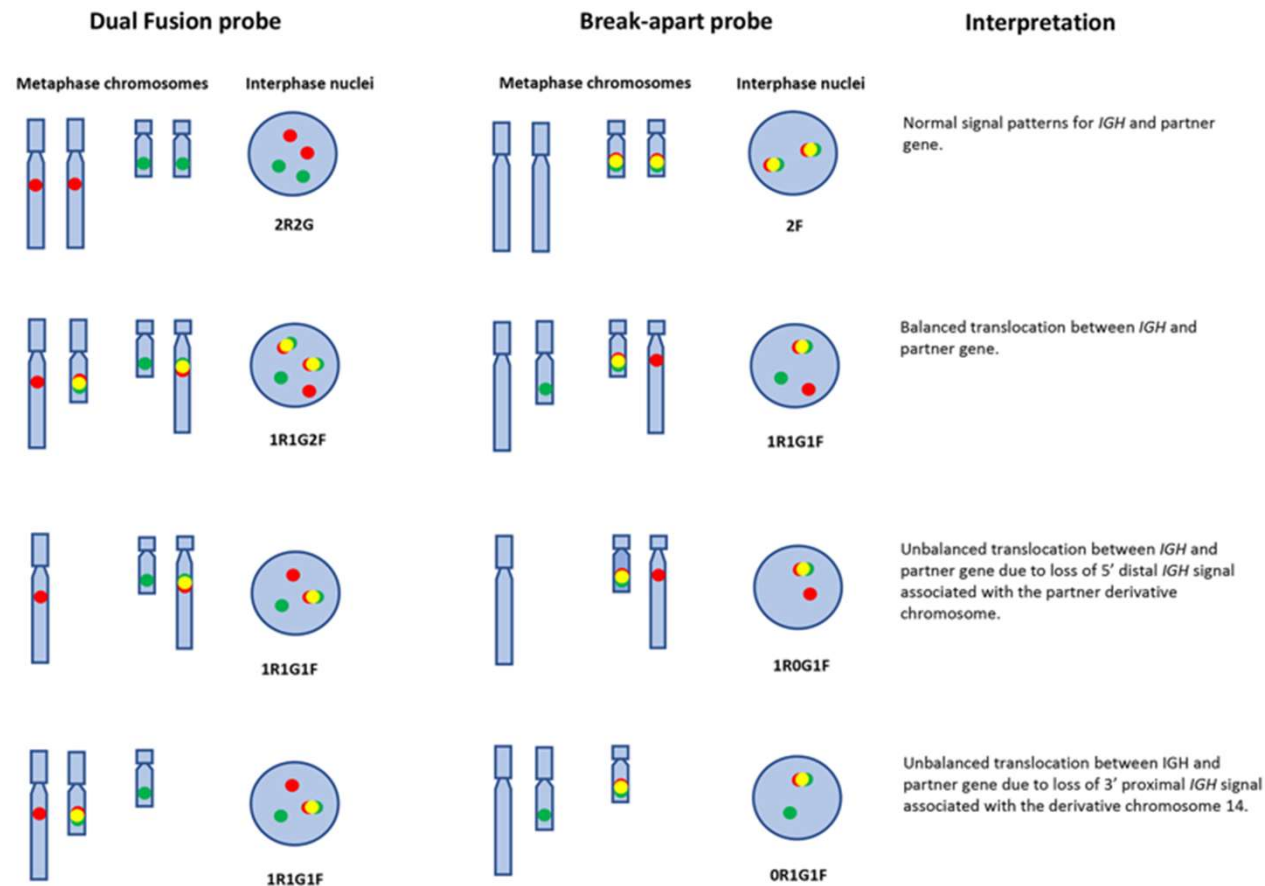


telomeren

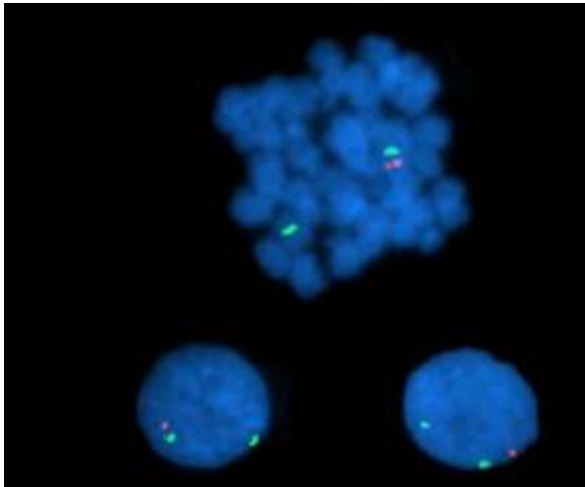


painting

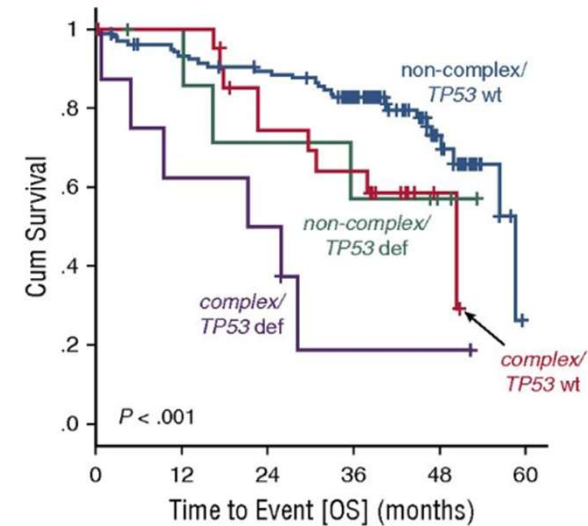
Fluorescente in-situ hybridisatie



Fluorescente in-situ hybridisatie - voorbeeld



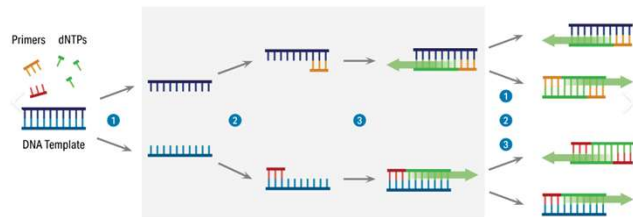
Verlies *TP53* (rood signaal) in CLL/SLL



Voordeel: Kan heel snel ingezet worden

Nadeel: Enkel gericht opsporen van afwijkingen

Gerichte moleculaire testen



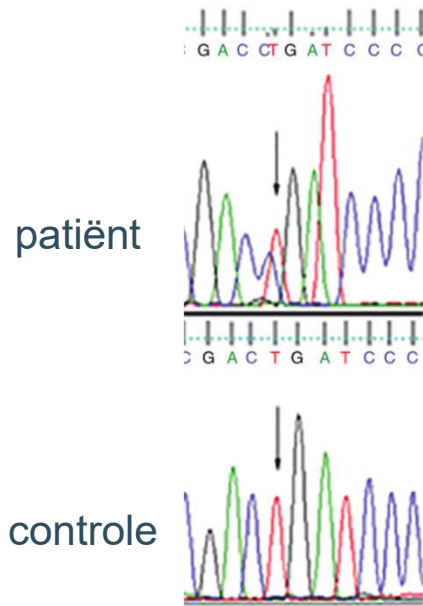
PCR-technieken: gericht opsporen van kleine veranderingen in het DNA (van 1 of enkele letters) in een specifiek gen of een bepaalde regio

Sequencing (DNA, RNA): opsporen van kleine veranderingen in het DNA in meerdere genen/regio's tot zelfs genoomwijd + opsporen van fusietranscripten en nagaan of een bepaalde verandering tot expressie komt



Gerichte moleculaire testen - voorbeeld

PRC-technieken:



MYD88 c.794T>C (p.L265P)

Sequencing:

Test	Recommendations	Clinical utility	Test level	Ref
(Molecular) cytogenetics	CTLA4-CD28 chimeric gene 7p22 and 13q22 amplification (SNP arrays)	D P	3 3	1 1
T cell receptor rearrangement	In case of doubt on clonality or clonal relationship or in case of the need to follow MRD†	D/P/follow-up	2A	2
Variant analysis	DNMT3A, IDH2, RHOA, TET2	D	1	1-5

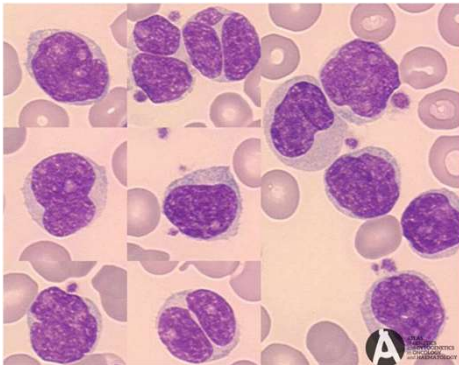
D: Diagnosis; P: Prognosis; T: Therapy

ComPerMed guidelines leggen vast welke genen getest worden + waarom (voor diagnose, prognose of therapie)

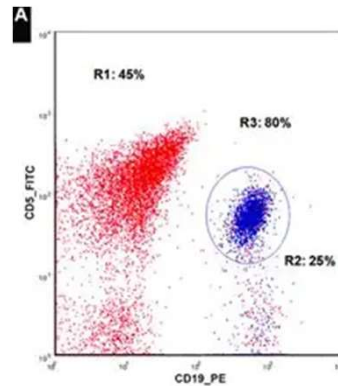
Van biopt tot diagnose (1)



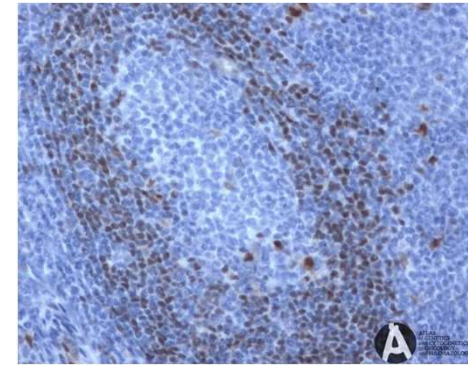
(1)



Meerdere cellen met een onregelmatige kern, CD5+

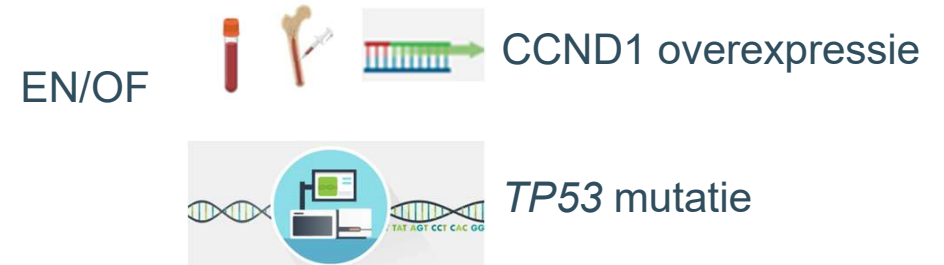
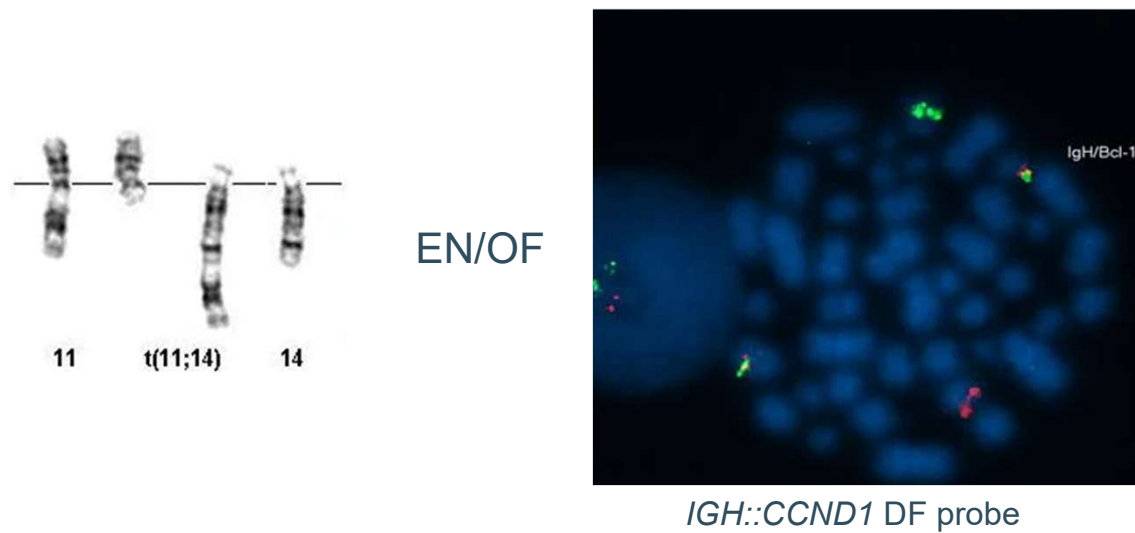
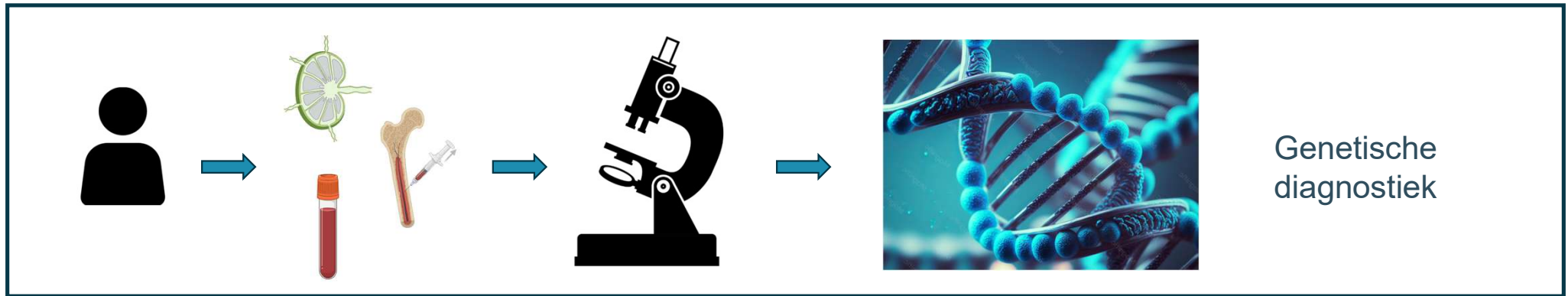


(2)

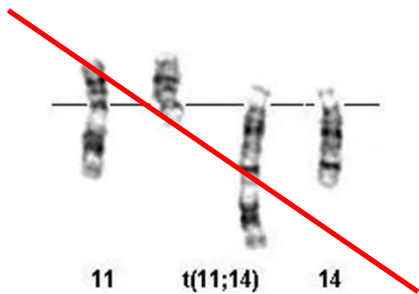
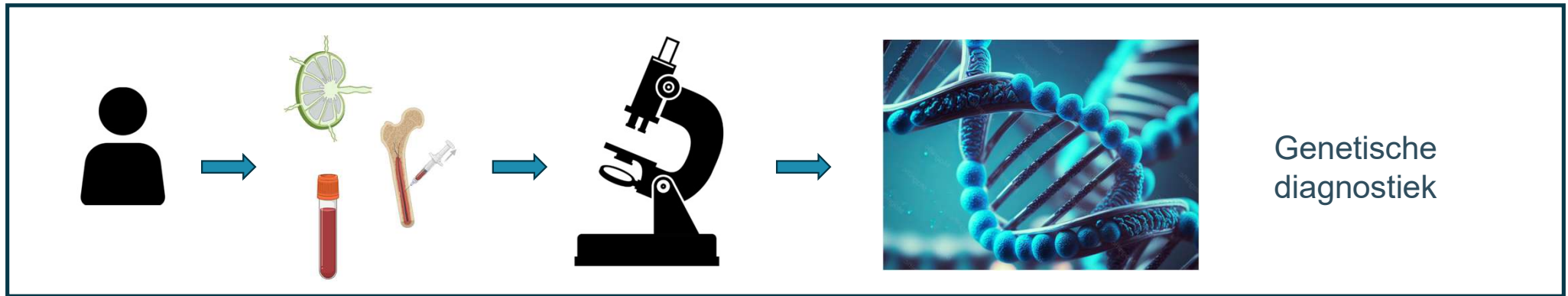


Cellen positief voor cycline D1 in de mantelzone

Van biopt tot diagnose (2)

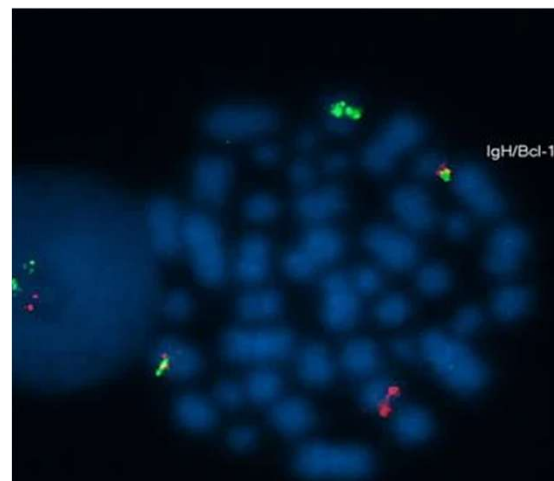


Van biopt tot diagnose – de realiteit



EN/OF

Niet informatief



IGH::CCND1 DF probe

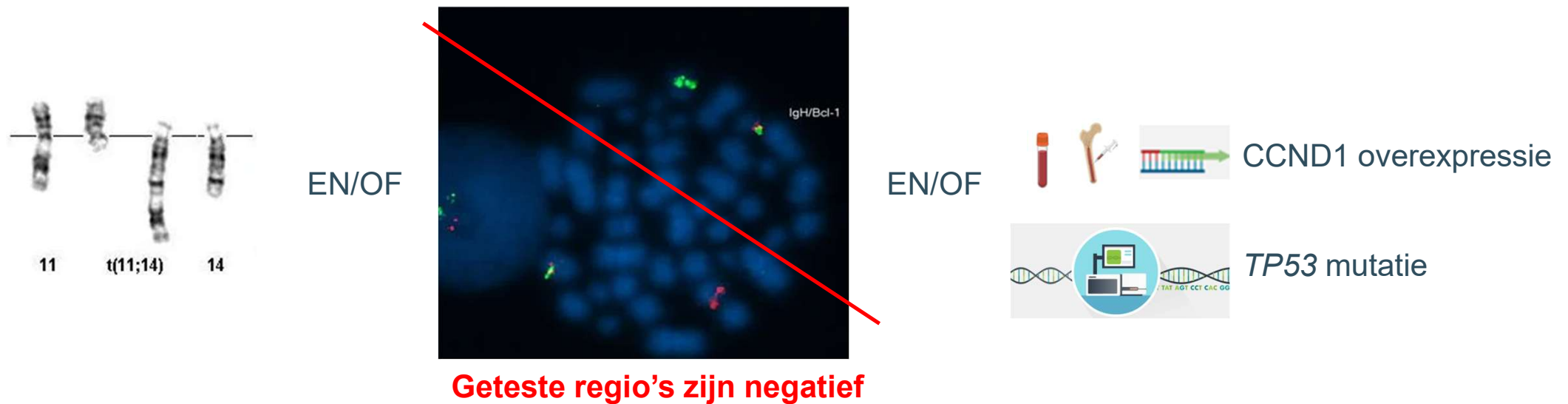
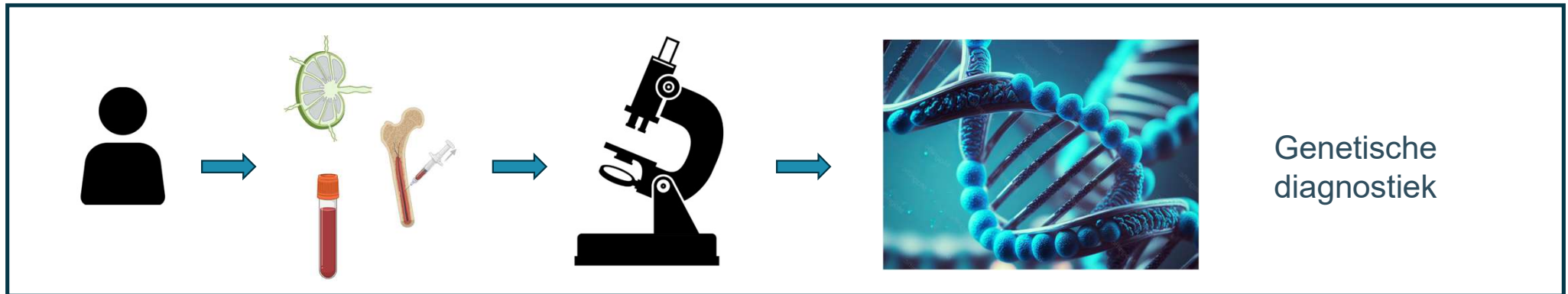
EN/OF



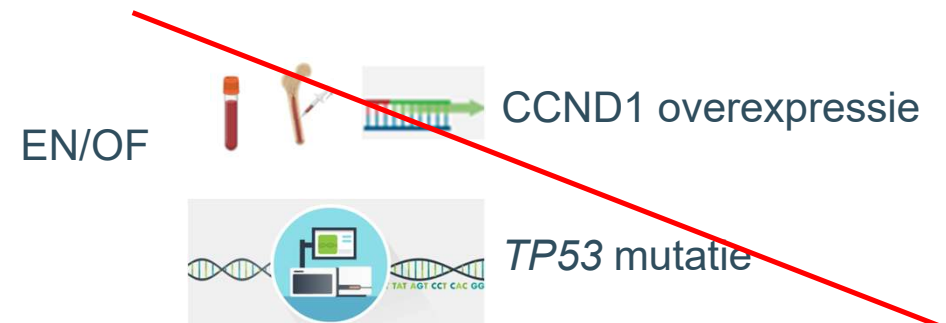
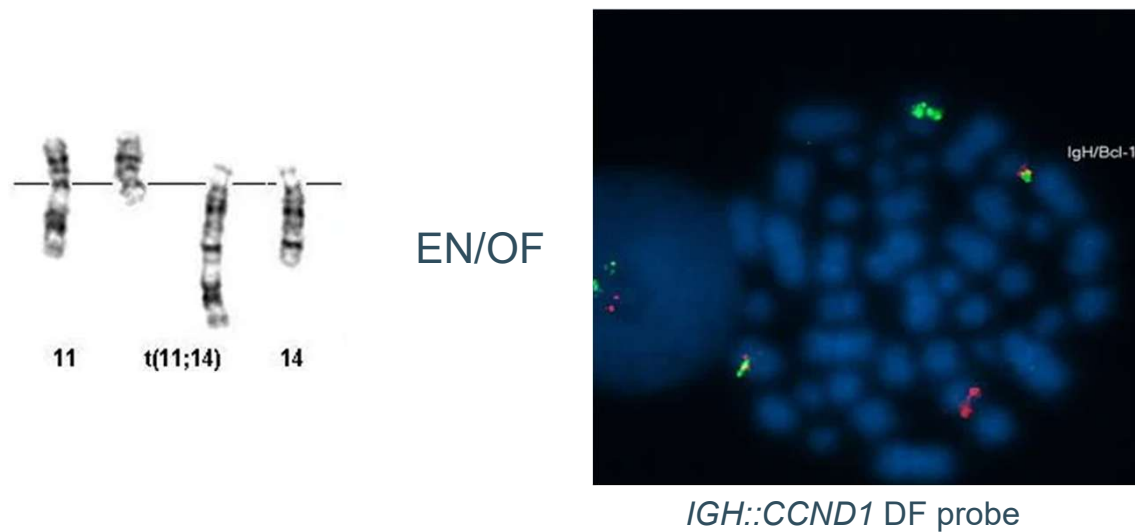
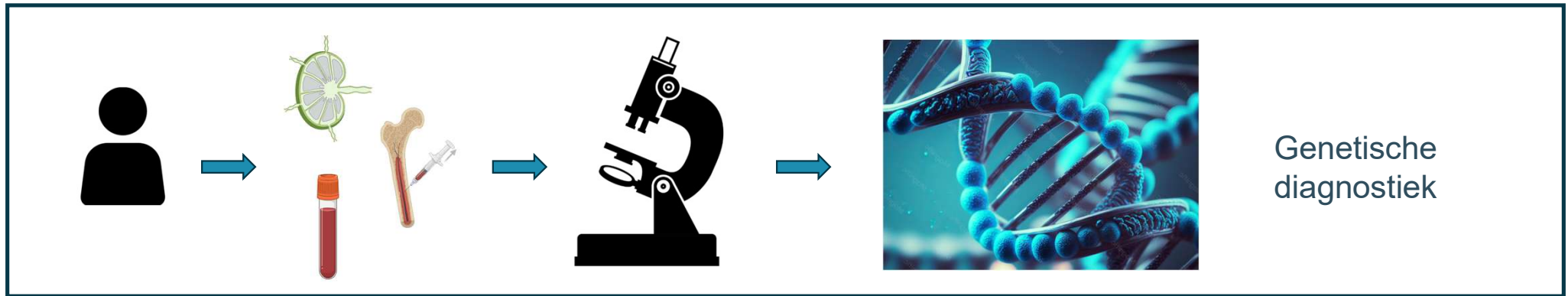
CCND1 overexpressie

TP53 mutatie

Van biopt tot diagnose – de realiteit



Van biopt tot diagnose – de realiteit



Geen moleculaire markers gekend

Genetische diagnostiek – nadelen



Tijd- en arbeidsintensief



Faalt regelmatig



Lage resolutie → mist belangrijke, submicroscopische afwijkingen



Gericht → mist wat niet getest wordt



Niet elke test terugbetaald voor iedereen

Nieuwe technieken in genetische diagnostiek

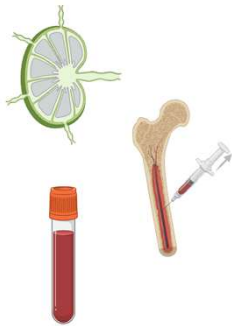
- Optische genommapping
- Sequencing van lange DNA fragmenten

→ Zoektocht naar een geïntegreerde test die **alle mogelijke afwijkingen** kan detecteren, met **hogere slaagkansen** en **betere resolutie**

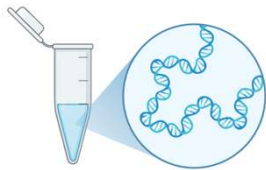
→ Doel: **optimale genetische diagnostiek voor iedereen** met lymfeklierkanker

Nieuwe technieken – optische genomapping

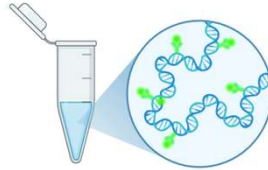
Patiëntenmateriaal verzamelen



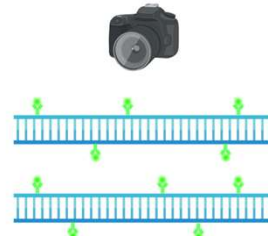
Lange DNA fragmenten extraheren



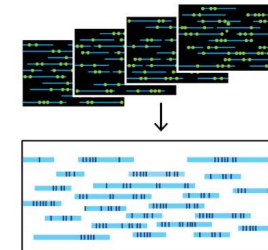
DNA labelen met fluorescent label



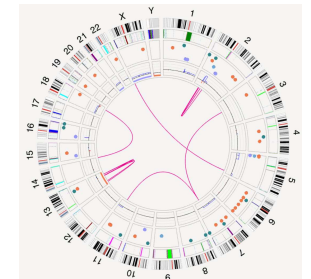
Labelingpatroon vastleggen met hoge resolutie camera



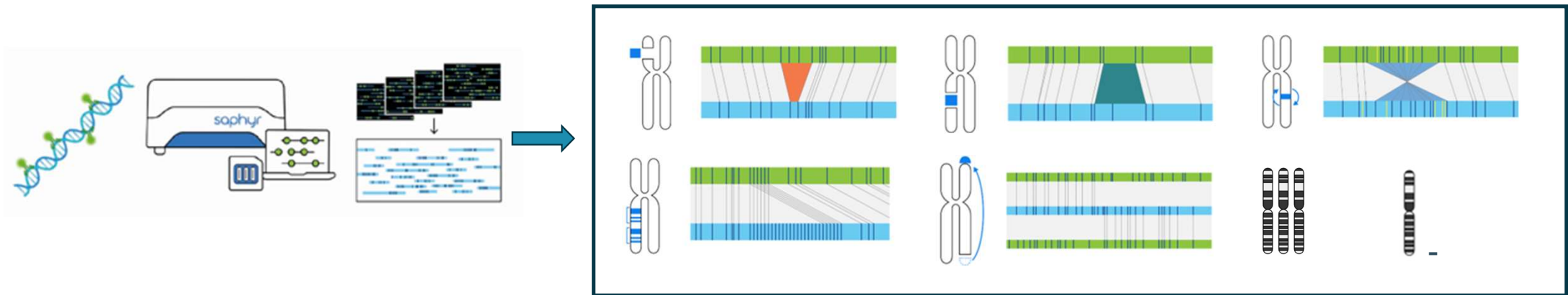
Labelingpatroon omzetten in een optische map



Detectie van afwijkingen per patient door vergelijking met een referentie



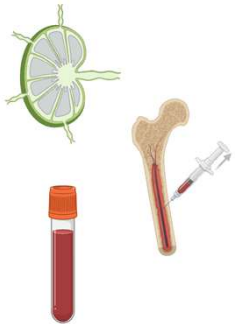
Nieuwe technieken – optische genomica



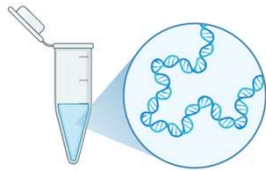
→ Detectie van **structurele en numerieke afwijkingen** over het hele genoom met hoge resolutie

Nieuwe technieken – sequencen van lange DNA fragmenten

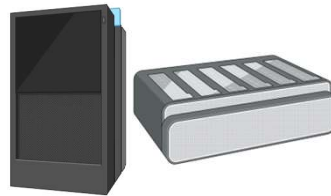
Patiëntenmateriaal verzamelen



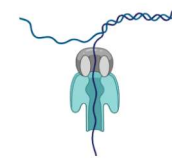
Lange DNA fragmenten extraheren



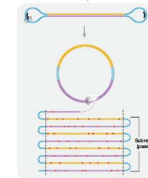
Library voorbereiden voor oxford nanopore sequencing (ONT) of PacBio HiFi (PB) sequencing en laden



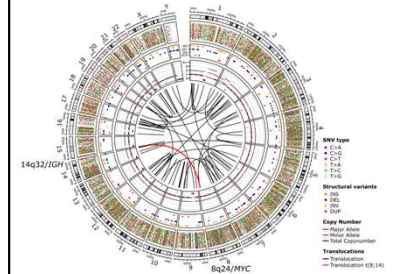
ONT: veranderingen in stroom terwijl DNA door nanoporiën gaat worden geregistreerd en omgezet in een sequentie



PB: Circulair DNA wordt repetitief gesequenced door middel van het toevoegen van bouwstenen met fluorofoor



Detectie van afwijkingen per patient door vergelijking met een referentie

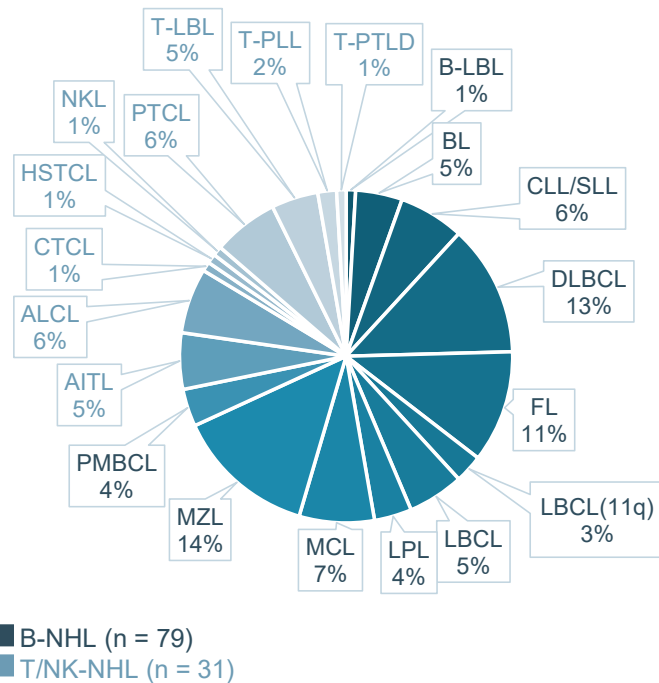


→ Detectie van **structurele en numerieke afwijkingen** over het hele genoom met hoge resolutie

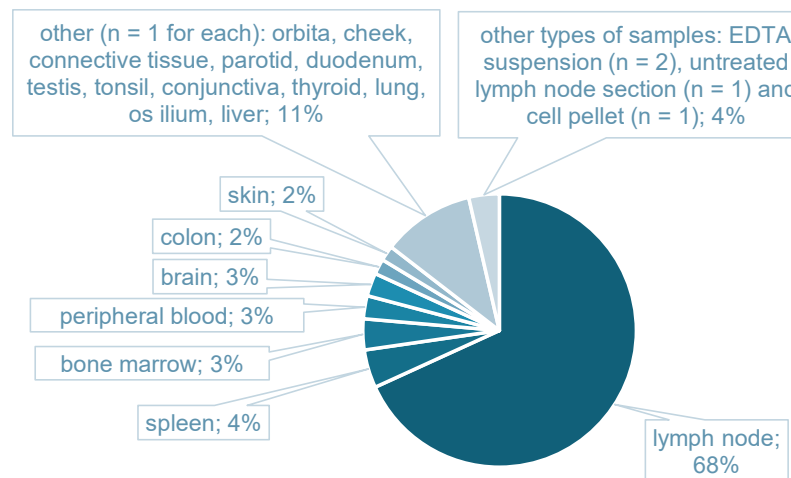
→ Informatie over **kleine varianten en methylatie**

Studieresultaten: optische genommapping (OGM)

Aantal stalen per subtype (n = 110)

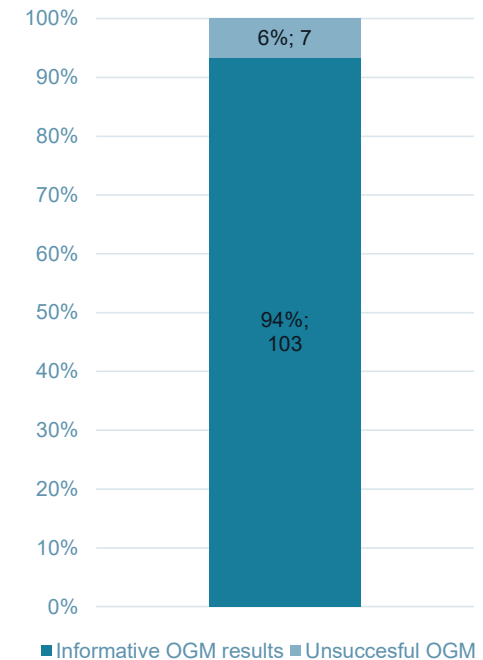


Aantal stalen per weefseltype (n = 110)



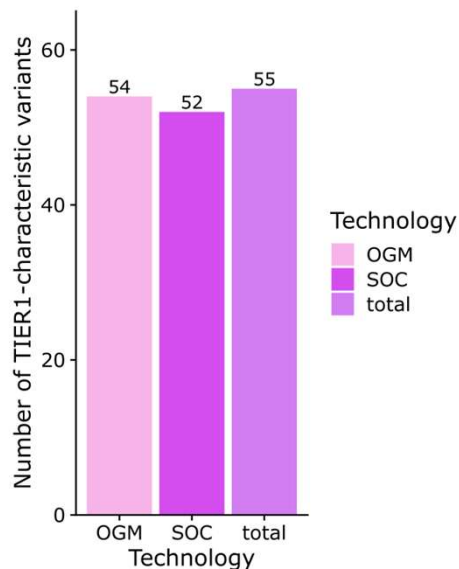
Enkel vers (ingevroren) materiaal,
GEEN gefixeerd materiaal

OGM geeft informatieve resultaten in 94% v.d. casussen

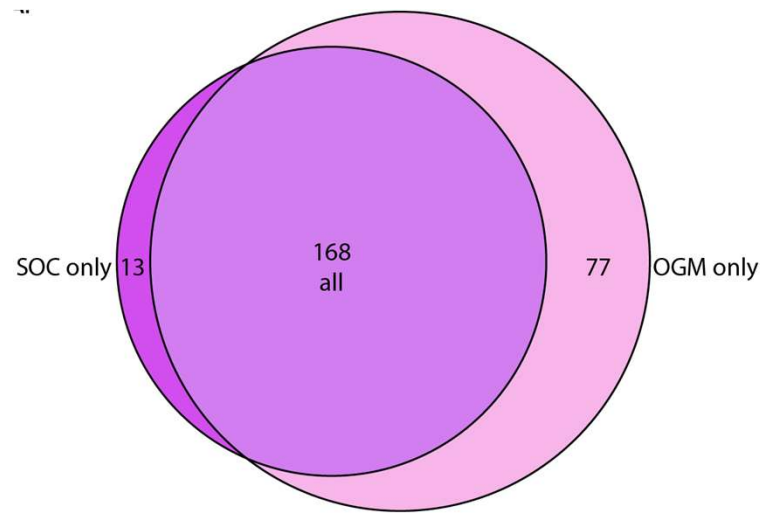


OGM is concordant met de standaard genetische testen en ontdekt extra klinisch relevante informatie (n=110)

OGM detecteert 98% van de karakteristieke afwijkingen



OGM detecteert extra relevante afwijkingen

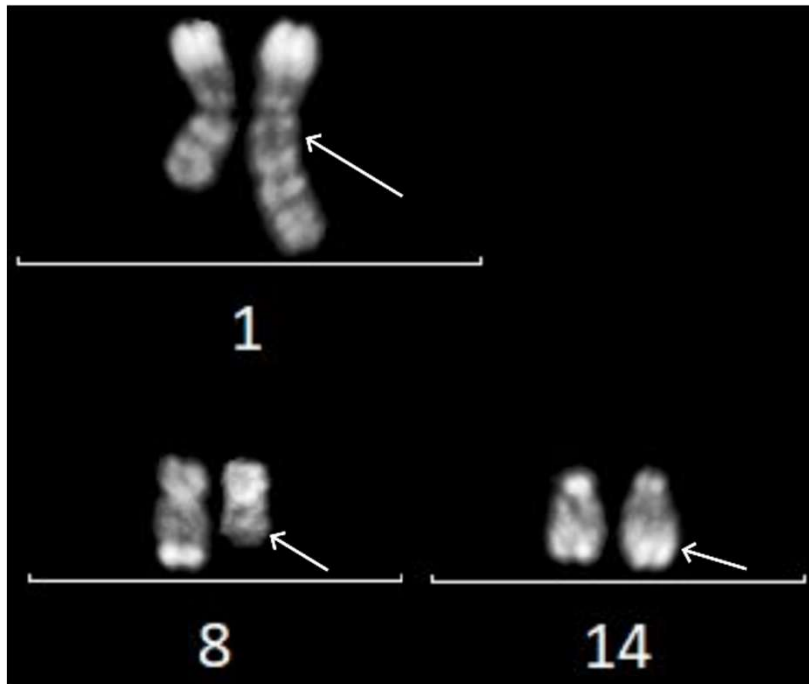


→ Limit of detection OGM ~5-7,5% VAF

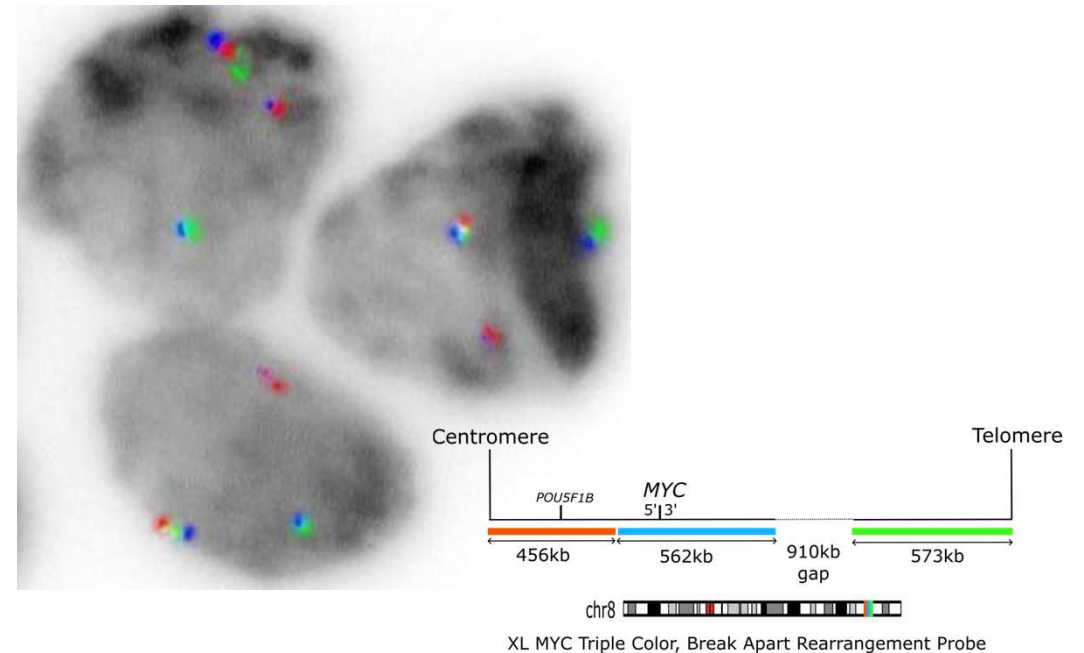
OGM 'redt' 27 v.d. 32 casussen met een niet-informatief karyotype

Studieresultaten: voorbeeldcasus

16-jarige man, ? Burkitt lymfoom

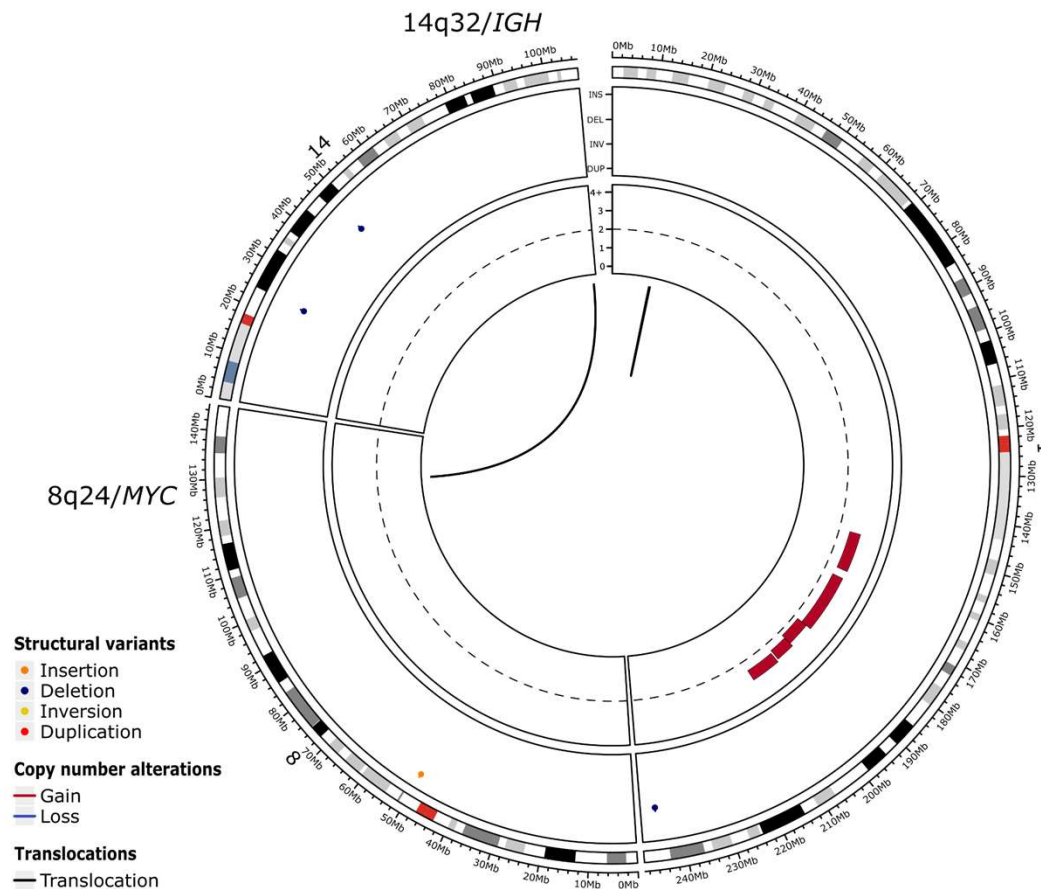


Karyotypering toont een $t(8;14)(q24;q32)$
en winst van 1q22q41



FISH toont een gebalanceerde
herrangschikking van 8q24/MYC

Studieresultaten: voorbeeldcasus

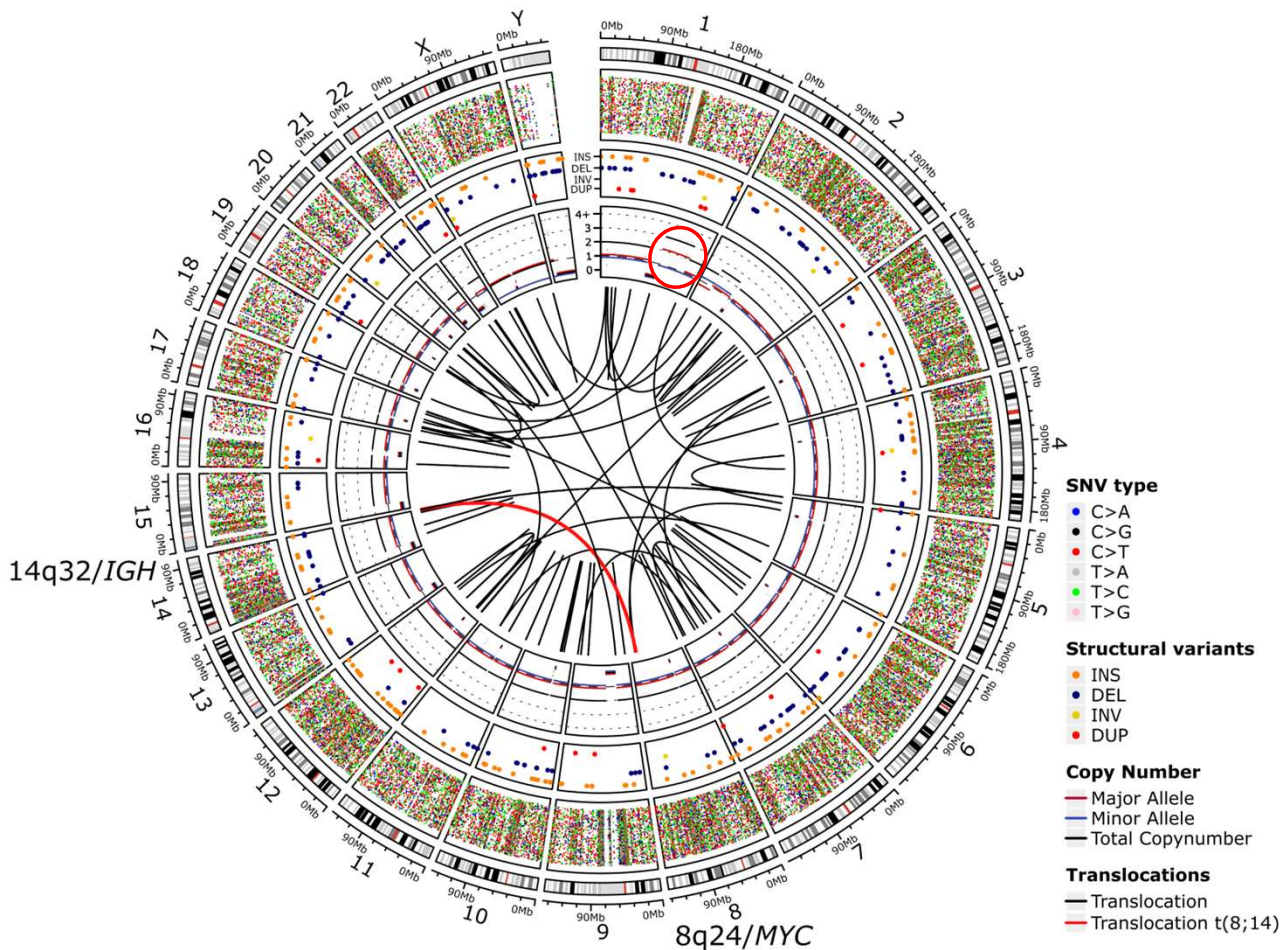


OGM detecteert:

- translocatie $t(8;14)/IGH::MYC$
- Winst van 1q21q41

➔ Idem aan karyotypering en FISH

Studieresultaten: voorbeeldcasus

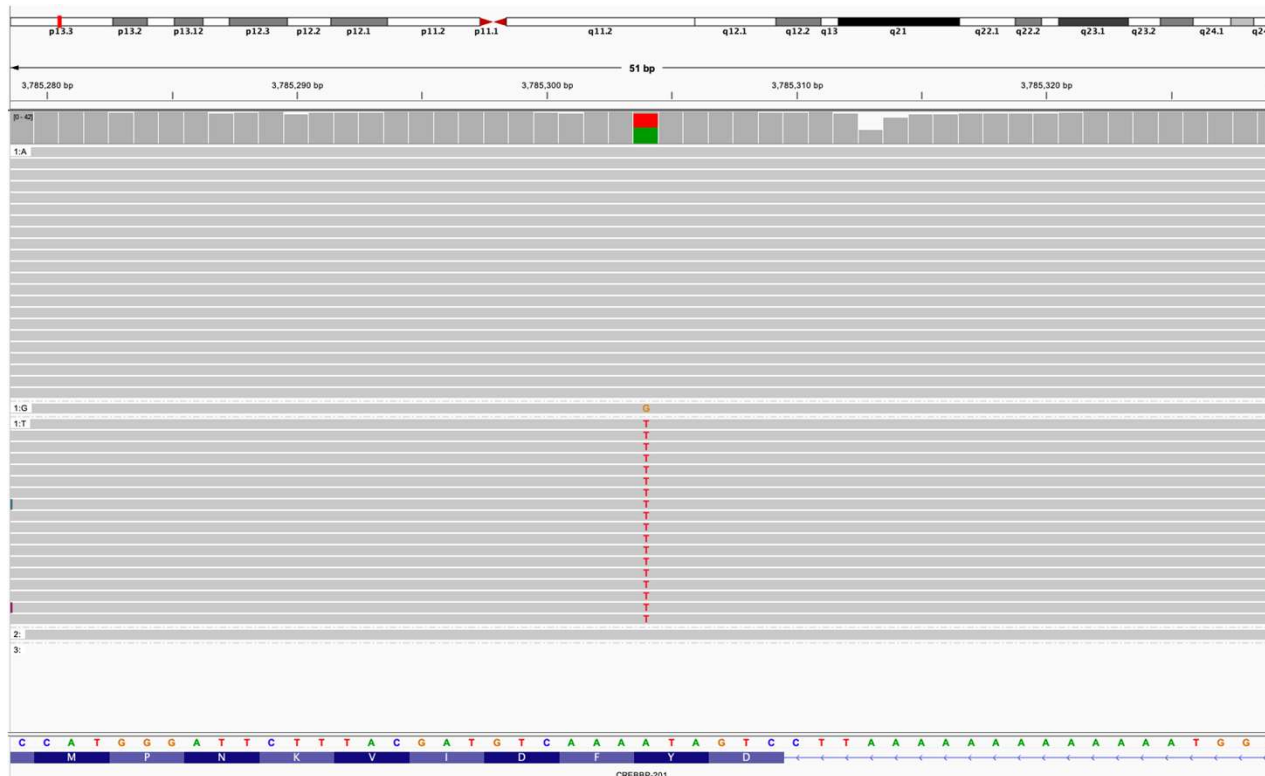


Lange fragment sequencing detecteert:

- translocatie t(8;14)/IGH::MYC
- Winst van 1q21q41

➔ Idem aan karyotypering, FISH en OGM

Studieresultaten: voorbeeldcasus



Lange fragment sequencing detecteert:

- NM_004380.3(*CREBBP*):c.3375A>T, met een verkort of afwezig eiwit tot gevolg.

Dergelijke mutaties zijn frequent bij Burkitt lymfoom.

→ Extra informatie komt beschikbaar.

Klinische impact van implementatie nieuwe technieken

Optische genomapping werd **reeds geïmplementeerd**, sequencing van lange DNA fragmenten kan op termijn als vervanging geïmplementeerd worden



Minder tests nodig + snellere diagnose



Detectie van **extra** klinisch relevante **afwijkingen**

→ Betere diagnose, prognose en therapiebepaling



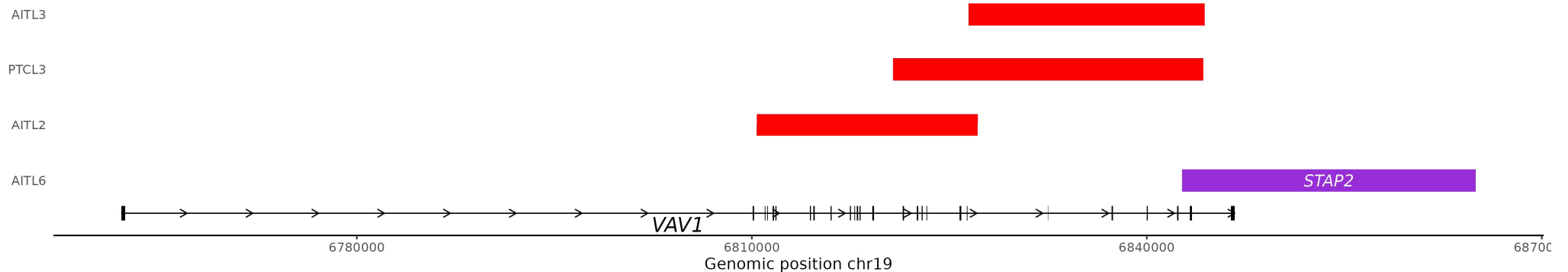
Betere slaagkansen dan bij karyotypering

→ Genetische testing beschikbaar voor meer patiënten

Nieuwe genetische markers

- Niet eerder beschreven afwijkingen
- Aanwezig in **meerdere stalen** van een bepaald subtype
- Genen die **belangrijk** zijn voor de **functie** van hematologische cellen

→ Dragen deze afwijkingen bij tot ontwikkeling van kanker?



Dankwoord

Laboratorium voor Cytogenetica en Moleculaire Diagnostiek
van Verworven Hematologische Maligniteiten, Centrum
Menselijke Erfelijkheid, UZ Leuven

- **Prof. dr. Lucienne Michaux**
- **Dr. Jolien De Bie**
- **Ir. Barbara Dewaele, PhD**
- Katrina Rack, PhD
- Dr. Inge Goovaerts
- Het hele team van laboranten en technisch eindverantwoordelijken



B Koning
Boudewijnstichting



Laboratorium voor Integratieve Kanker Genomica,
KU Leuven-VIB

- **Prof. Jonas Demeulemeester**
- Joris Vandeveld
- Dr. Luuk Harbers
- Dr. Laurens Lambrechts
- De rest van het team

Departement Pathologie, Laboratorium voor Translationeel
Cel- en weefselonderzoek, UZ/KU Leuven

- **Prof. dr. Thomas Tousseyn**
- Johanna Vets

Laboratorium voor Experimentele Hematologie, KU Leuven

- Prof. Marlies Vanden Bempt
- Prof. Dr. Koen Debackere

Alle patiënten en artsen van UZ Leuven!