

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/22853>

Please be advised that this information was generated on 2021-06-23 and may be subject to change.

One problem with certain current dogma's on meta-analysis is that one feels obliged to take 'all data' into account, as if they all really would count. Thereby, one no longer enjoys the old privilege of simply ignoring the corrupt, the stupid, or the impossible (like trials on homeopathy). Cleophas makes one exception: maybe 'small' trials should be ignored. There, I strongly disagree. The role of small trials has been undervalued, and often put in a wrong light by a certain emphasis on 'sample size' and p-values. An amusing discussion on small trials, and the real problem of the type III error: telling that something works when it is actually detrimental (which is different from saying that it works while it has no effect) can be found in the paper by Powell-Tuck et al.¹

LITERATURE

- ¹ Powell-Tuck J, MacRae KD, Healy MJR, Lennard-Jones JE, Parkins RA. A defence of the small clinical trial: evaluation of three gastroenterological studies. *BMJ* 1986;292:599-602.

J.P.VANDENBROUCKE

Leiden, february 1996

Ras-oncogendetectie in feces van patiënten met colorectumtumoren

Met belangstelling lezen wij het artikel van Koornstra et al. (1995;2732-6). Wij zijn het met de auteurs eens dat met de mogelijkheid van detectie van *K-ras*-mutaties in DNA geïsoleerd uit feces goede perspectieven worden geboden voor moleculaire vroege diagnostiek van colorectale tumoren. Toch willen wij een drietal opmerkingen plaatsen.

De auteurs gebruiken allel-specifieke amplificatie (ASA) om *K-ras*-mutaties in feces aan te tonen. Primers werden gekozen aan de hand van de gevonden mutaties in de tumor. Dit impliceert dat alleen dezelfde mutaties als die in de tumor gevonden worden en dat mutaties die niet overeenstemmen met deze tumormutaties worden gemist. De gebruikte ASA-methode is slechts geschikt voor de detectie van alle *K-ras*-mutaties als het totale aantal gebruikte primers correspondeert met het aantal mogelijke mutaties; in het geval van codon 12 en 13 van het *K-ras*-gen zijn dit er in totaal 12 (4 sets van 3).^{1,2} Voorts hebben anderen laten zien dat de ASA-methode ook fout-positieve uitslagen kan opleveren.³ Ook moet gezegd worden dat ASA alleen gebruikt kan worden voor de detectie van bekende, gelokaliseerde puntmutaties; ze is ongeschikt voor de detectie van andere, ook bij de colorectale carcinogenese betrokken, gemuteerde genen met puntmutaties en deleties over een groot gebied in het gen, zoals het *p53*- en het *APC*-gen.

Een tweede opmerking betreft de 5 patiënten uit de groep van 13 met een bewezen *K-ras*-mutatie in het tumorweefsel bij wie de mutatie niet in feces werd gedetecteerd. Onduidelijk blijft of hier wel DNA uit feces kon worden geïsoleerd of dat er sprake was van polymerase-kettingreactie-inhiberende factoren in het DNA-isolaat of dat de hoeveelheid DNA in feces afkomstig uit de tumorcellen beneden de detectiegrens lag.

Ten slotte schrijven de auteurs dat 8 van de 13 fecesmonsters van patiënten met een *K-ras*-mutatie positief worden bevonden. Hierbij geven zij aan dat het in één geval een rechtszijdige tumor betrof, daarmee suggererend dat detectie ook bij proximale tumoren van het maag-darmkanaal mogelijk zou zijn. Behalve de lokalisatie is echter ook de grootte van de tumor van belang, vooral bij de vroege diagnostiek.¹ Deze wordt voor de bestudeerde tumoren niet aangegeven.

Het gebruik van puntmutaties als tumormerker in de vroege diagnostiek van carcinomen lijkt een realistisch toekomstbeeld. Het is evenwel essentieel dat daarbij de juiste methoden worden gebruikt.

LITERATUUR

- ¹ Hasegawa Y, Takeda S, Ichii S, Koizumi K, Maruyama M, Fujii A, et al. Detection of *K-ras* mutations in DNAs isolated from feces of patients with colorectal tumors by mutant-allele-specific amplification (MASA). *Oncogene* 1995;10:1441-5.
- ² Delattre O, Olschwang O, Law DJ, Melot T, Remvikos Y, Salmon RJ, et al. Multiple genetic alterations in distal and proximal colorectal cancer. *Lancet* 1989;ii:353-6.
- ³ Kwok S, Kellogg DE, McKinney N, Spasic D, Goda L, Levenson C, et al. Effects of primer-template mismatches on the polymerase chain reaction: human immunodeficiency virus type 1 model studies. *Nucl Acids Res* 1990;18:999-1005.

D.W.SWINKELS

Nijmegen, januari 1996

J.DE KOK

G.N.P.VAN MUIJEN

J.I.WILLEMS

Wij danken collega Swinkels et al. voor hun reactie op ons artikel. Ten aanzien van het gebruik van allel-specifieke amplificatie (ASA) om *K-ras*-mutaties in feces aan te tonen schetsen zij terecht een aantal beperkingen van deze techniek. De voorname is dat alleen bekende gelokaliseerde puntmutaties gedetecteerd kunnen worden.¹ Voorts is het inderdaad zo dat indien men met ASA alle mogelijke mutaties in codon 12 en 13 van *K-ras* zou willen opsporen, 12 verschillende polymerase-kettingreactie (PCR)-onderzoeken met steeds andere primers noodzakelijk zijn. Deze beperking zou theoretisch gedeeltelijk te ondervangen zijn door bij PCR gelijktijdig meer primers te gebruiken. Eerdere experimenten in ons laboratorium met een dergelijke 'multi-PCR'-opzet waren niet buitengemeen succesvol. Wij zijn het met Swinkels et al. eens dat ASA zeker niet de ideale techniek is om onbekende gemuteerde genen in feces op te sporen. Desondanks is bij alle onlangs gepubliceerde onderzoeken op dit gebied toch ook deze techniek gebruikt.^{2,3}

Van de 5 patiënten met een bewezen *K-ras*-mutatie in het tumorweefsel, bij wie de mutatie niet in de feces kon worden gedetecteerd, is ook ons onduidelijk welke factoren hierbij een rol spelen. Bij hen werd wel DNA uit feces geïsoleerd, maar na ASA kon geen amplificatieproduct worden aangetoond.

Met betrekking tot de grootte van de bestudeerde tumoren zij opgemerkt dat alleen tumoren groter dan 1 cm werden geanalyseerd aangezien de frequentie van *K-ras*-mutaties in adenomen kleiner dan 1 cm namelijk minder is dan 10%.⁴ Dit geldt zowel voor adenomen bij adenomateuze polyposis coli als voor 'sporadische' adenomen.⁵ Inmiddels hebben wij onderzoek verricht naar de opsporing van *K-ras*-mutaties in feces, met een alternatieve techniek zonder de beperkingen van ASA. Zonder vooraf op de hoogte te zijn van de aan- of afwezigheid van een mutatie in de tumor, werden feces van patiënten met (reeds vastgestelde) colorectale tumoren geanalyseerd. De mutaties die met deze methode in de feces werden gevonden, bleken in alle gevallen ook in de overeenkomstige tumoren aantoonbaar. Ten aanzien van eventuele toepassing van deze methode in de moleculair-genetische vroege diagnostiek van colorectale tumoren zijn wij dan ook voorzichtig optimistisch gestemd.

LITERATUUR

- ¹ Bottema CDK, Sommer SS. PCR amplification of specific alleles: rapid detection of known mutations and polymorphisms. *Mutat Res* 1993;288:93-102.
- ² Smith-Ravin J, England J, Talbot IC, Bodmer W. Detection of *c-Ki-ras* mutations in faecal samples from sporadic colorectal cancer patients. *Gut* 1995;36:81-6.
- ³ Hasegawa Y, Takeda S, Ichii S, Koizumi K, Maruyama M, Fujii, et al. Detection of *K-ras* mutations in DNAs isolated from feces of patients with colorectal tumors by mutant-allele-specific amplification (MASA). *Oncogene* 1995;10:1441-5.