

Prediktivní markery léčby NSCLC

Kristýna Němejcová

Ústav patologie

1. lékařská fakulta Universita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Prohlášení o střetu zájmů:

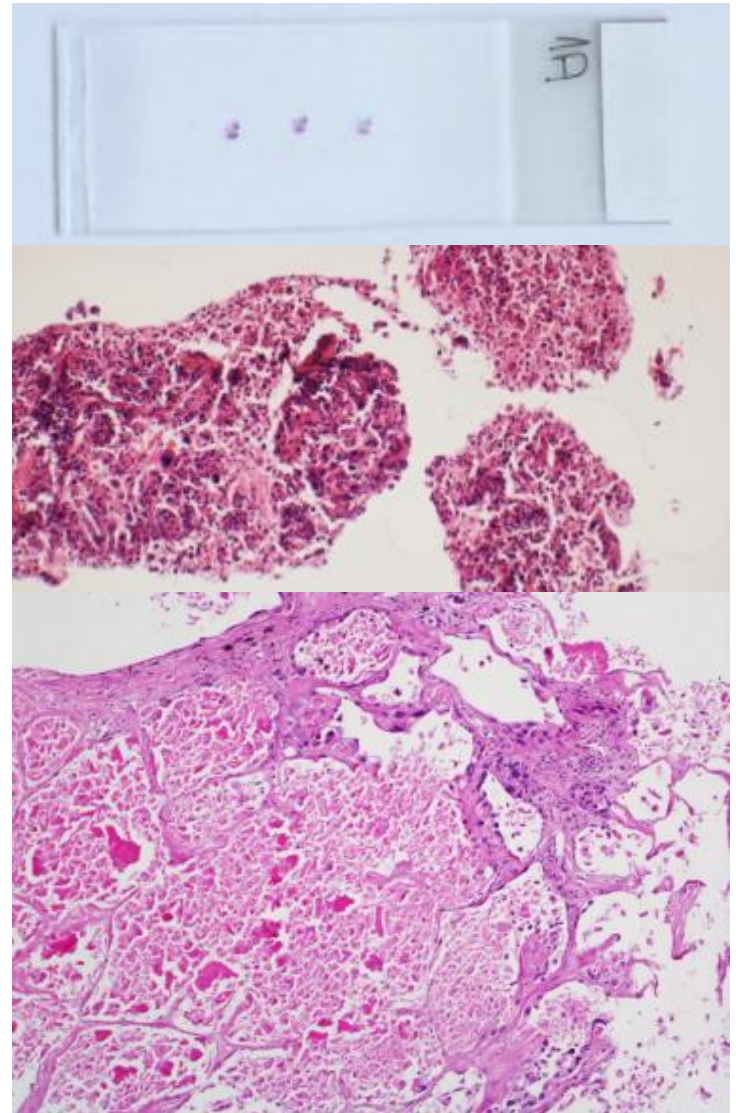
Prohlašuji, že v souvislosti s příspěvkem, jehož jsem autorem, nejsem v žádném střetu zájmů.

Základní principy správného testování

- reprezentativní odběr (dostatečné množství tkáně)
- dodržení podmínek preanalytické fáze (typ a doba fixace)
- správné vyplnění průvodního listu (klinické údaje!)
- při cytologickém vyšetření odebírat materiál i na cytoblok



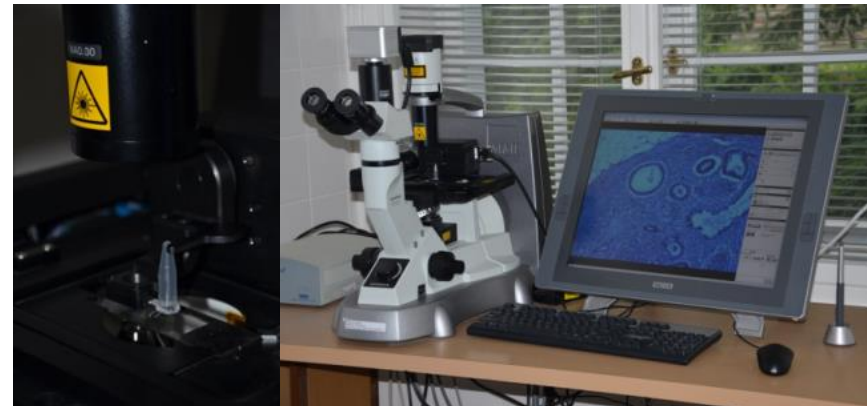
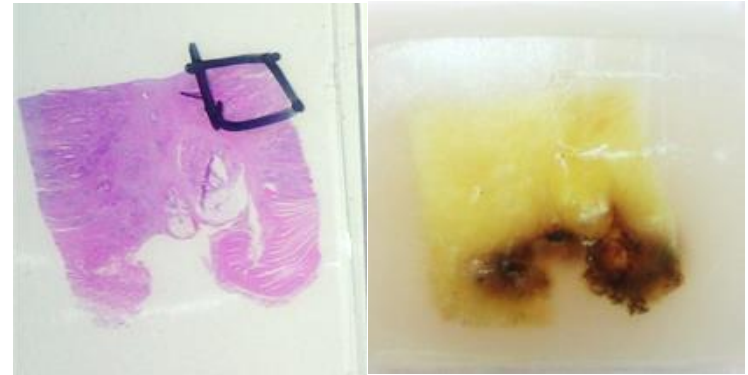
- postup dle guideline (úsporná indikace IHC!)
- šetření tkáně na prediktivní testování



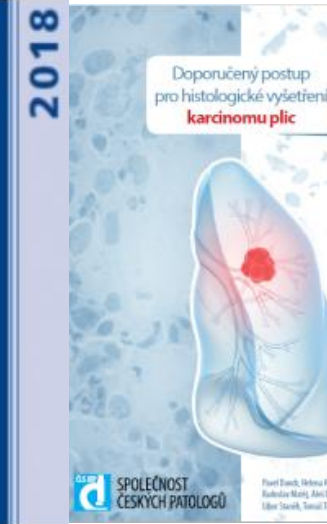
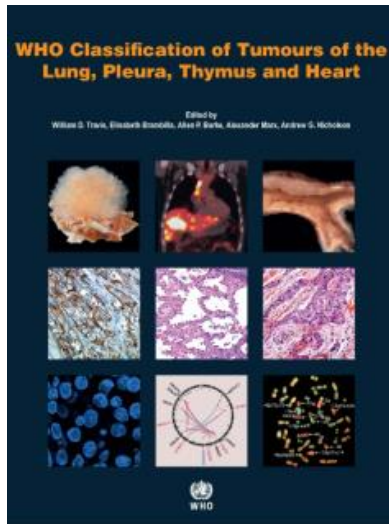
Základní principy správného testování

Prediktivní testování

- indikace dle konsenzu
 - adekvátnost vzorku
 - makrodisekce
 - z celého skla
 - (% nádorových buněk)
 - ↓ % nádorových buněk může vést k falešně negativnímu výsledku
-
- zvýšení % nádorových buněk:
 - manuální
 - laserová mikrodisekce



Doporučené postupy pro histologické vyšetření karcinomů plic v ČR



+ aktualizované výstupy odborných společností

Morfologie	Základní IHC vyšetření*	Vhodnost dalšího IHC vyšetření	Diagnóza	Prediktivní markery**
jednoznačná pro dlaždicobuněčný karcinom	není třeba		dlaždicobuněčný karcinom	
jednoznačná pro adenokarcinom	není třeba		adenokarcinom	EGFR, ALK
jednoznačně dlaždicová i adenokarcinomová diferenciace	není třeba		NSCLC s dlaždicobuněčnou i adenokarcinomovou diferenciací, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK
suspektní z neuroendokrinní diferenciace	TTF-1, CD56, synaptofyzin, chromogranin		neuroendokrinní tumor (viz text)	
nepřiznačná morfologie	p63/p40 pozitivní difúzně na všech buňkách, TTF-1 negativní		NSCLC spíše dlaždicobuněčný karcinom	
nepřiznačná morfologie	p63/p40 negativní, TTF-1 pozitivní difúzně na všech buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK
nepřiznačná morfologie	p63/p40 i TTF-1 pozitivní na stejných buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK
nepřiznačná morfologie	p63/p40 i TTF-1 negativní	vyloučit IHC metastázy a neuroendokrinní tumor	NSCLC NOS	EGFR, ALK
nepřiznačná morfologie	fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciace, jinde nepřiznačná	p63/p40 pozitivní na části buněk, TTF-1 negativní	NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK
nepřiznačná morfologie	fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciace, jinde nepřiznačná	p63/p40 a TTF-1 pozitivní na různých buňkách	NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK

Prediktivní vyšetření solidních nádorů v pneumoonkologii v ČR

PREDIKTIVNÍ VYŠETŘENÍ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

Cílená léčba anti-EGFR (erlotinib, gefitinib, afatinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Provádí se vyšetření mutací v exonech 18-21 genu EGFR. Z malých vzorků, kde je předpoklad nemožnosti vyšetření doplnit v budoucnu vzhledem k jeho malému rozměru (bronchoskopické odběry, transepitoniální biopsie, apod.) automaticky v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom, NSCLC spíše adenokarcinom, NSCLC NOS) v momentě stanovení dg.
- EGFR v resekátech nebo ostatních histologických typech je testováno na vyžádání onkologem
- **Liquid biopsy (detekce mutací EGFR v ctDNA jako prediktoru TKI u ca plicí) – vyšetření z krve** Indikováno u NSCLC ve dvou základních situacích:
 - 1) v případech nemožnosti vyšetření z biopsického materiálu u NSCLC při prvotním stanovení diagnózy
 - 2) u nemocných s recidivou/progresí nádoru při léčbě TKI – detekce rezistenční mutace T790M. Zde závisí na rozhodnutí ošetřujícího onkologa, zda jako metodu první volby pro identifikaci T790M provede novou biopsii nádoru nebo odběr pro liquid biopsii (v případě, že odběr představuje vysoké riziko komplikací pro pacienta a je proto druhou volbou).
- V obou případech (1 i 2) se liquid biopsie testují ve stejné síti RL jako mutace ve tkáni, stejnou metodou,

Poznámky:

- a) prokázána mutace v plazmě má stejnou prediktivní váhu pro indikaci léčby TKI, jako průkaz mutace ve tkáni
- b) negativní výsledek v liquid biopsii nevylučuje přítomnost mutace v nádoru. V případě, že lze provést intervenci a odebrat tkáň, měla by následovat vyšetření ze tkáně.

Cílená léčba inhibitory ALK kinázy (crizotinib, ceratinib, alectinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- ALK

Standardní IHC v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom a spol.) v momentě stanovení dg – automaticky u malých vzorků

případy 3+ jsou pozitivní, dále se neověřují FISH

případy 0 jsou negativní, dále se neověřují FISH

případy 1+ a 2+ jsou nejisté (cca 5% všech testovaných), dále se ověřují FISH, pokud je vyžádáno onkologem

ALK v resekátech nebo u jiných histologických typů je testován na vyžádání onkologem

jiné metody pro stanovení ALK (např. RT-PCR) nejsou LC indikovány

- ROS1

Standardní IHC v RL na vyžádání onkologa v případě, že pro pacienta je dostupná cílená léčba případy s jakoukoli pozitivitou 1+, 2+, 3+ se dále ověřují FISH, jen FISH pozitivní případy jsou považovány za definitivně pozitivní

Cílená léčba anti-EGFR (cetuximab, panitumumab) u kolorektálního karcinomu – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- aktivční mutace genu rodiny RAS (KRAS a NRAS) v exonech 2, 3 a 4 – pacienti nemají odpověď na inhibitory EGFR. Testování se provádí na vyžádání onkologa. Výsledek vyšetření RAS má vždy v závěru obsahovat explicitní vyjádření, zda v nádoru byla či nebyla prokázána mutace genu KRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a genu NRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a zda tak nádor je či není RAS wild type ve smyslu aktuálně platných indikačních kritérií anti-EGFR cílené léčby.

Doporučená vyšetření:

- aktivční mutace genu BRAF u nádorů s RAS wt – pacienti mají obecně horší prognózu. Vyšetření se provádí vyhradně na žádost onkologa.

PREDIKTIVNÍ VYŠETŘENÍ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

- vyšetření mikrosatelitní instability (MSI) analýzou DNA a/nebo „mismatch repair (MMR)“ proteinů imunohistochemicky: pacienti s CRC v klinickém stadiu III s nádory s vysokou MSI (defektní MMR) mají lepší prognózu. Vyšetření se provádí vyhradně na žádost onkologa. (Pozn: problematika testování MMR / MSI není aktuálně s plátcí péče dořešena, a to ani v indikaci onkologické, ani v indikaci genetické.)

Biologická léčba maligního melanomu BRAF inhibitory – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- vyšetření mutace BRAF V600 se provádí vyhradně na vyžádání onkologem v referenční laboratoři.

Biologická léčba gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST)

Doporučená vyšetření:

- vyšetření mutací c-kit v exonech 9, 11, 13, 17,
 - nádory s mutacemi v exonu 11 jsou nejvíce senzitivní k terapii imatinibem,
 - nádory s mutacemi v exonu 9 jsou méně senzitivní k terapii imatinibem, ale mohou odpovídat na léčbu vysokými dávkami imatinibu a na léčbu sunitinibem (v druhé linii).
- vyšetření mutací PDGFRa v exonech 12, 14, 18,
 - nádory s mutací D842V v exonu 18 jsou rezistentní k terapii imatinibem.
 - nádory wild-type – jsou méně senzitivní k terapii imatinibem.

Cílená léčba anti-HER-2 (trastuzumab) u karcinomu žaludku – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- vyšetření HER-2/neu se provádí vyhradně na vyžádání onkologem pouze v referenční laboratoři. IHC výsledek 3+ musí být vždy potvrzován in situ hybridizační metodou (ISH - tj. FISH, CISH nebo SISH). Případy 2+ se ISH zatím nevyšetřují.

Cílená léčba anti-PDL-1 např. diagnostami – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Expres PD-L1, je-li indikována, se vyšetřuje na vyžádání onkologem v jedné z referenčních laboratoří*.
- Pro léčivé přípravky dostupné v současnosti (nivolumab, pembrolizumab) není nezbytné používat odlišné imunohistochemické protilátky (lze použít klon 22C3 nebo 28-8), tan. pro oba léky stejnou metodu vyšetření.
- Výsledek musí být reportován takto:
 - „Negativní – exprese PD-L1 zastižena v < 1% nádorových buněk“.
 - „Pozitivní – exprese PD-L1 zastižena v XY % nádorových buněk“.

Testování somatických mutací BRCA ve tkáňích karcinomu ovaria – Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Bude prováděno v referenčních laboratořích (patologie) na vyžádání onkologem (prediktory pro PARP inhibitory). V současné době je indikováno pouze genetické vyšetření germinálního genomu dle stanovených pravidel (provádí laboratoře lékařské genetiky). Vyšetření somatické BRCA mutace patologiem bude indikováno v momentě dostupnosti hrazené specifické cílené terapie.

Prediktivní vyšetření solidních nádorů v pneumoonkologii ČR



PREDIKTIVNÍ VYŠETŘENÍ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

Cílená léčba anti-EGFR (erlotinib, gefitinib, afatinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu

- Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Provádí se vyšetření mutací v exonech 19 a 21 a případně v exonu 20 doplnit v budoucnu vzhledem k jeho významu pro léčbu s tyrosinkinázovými inhibitory (TKI) u definovaných morfologických subtypů v momentě stanovení dg.
- EGFR v resekátech nebo ostatních histologických typech je stanovováno na vyžádání onkologem

Liquid biopsy (detekce mutací EGFR v ctDNA jako prediktoru TKI u ca plic) - vyšetření z krve indikováno u NSCLC ve dvou základních situacích:

- 1) v případech nemožnosti vyšetření z biopsického materiálu u NSCLC při prvotním stanovení diagnózy
 - 2) u nemocných s recidivou/progresí nádoru při léčbě TKI - detekce rezistenční mutace T790M. Zde závisí na rozhodnutí onkologa, zda jako metodu první volby pro identifikaci T790M provede novou biopsii nádoru nebo pro liquid biopsii (v případě, že odběr představuje vysoké riziko komplikací pro pacienta a je proto druhou volbou)
- V obou případech (1) i 2)) se liquid biopsie testují ve stejné síti RL jako mutace ve tkáni, stejnou metodou,

Poznámky:

- a) prokázaná mutace v plazmě má stejnou prediktivní váhu pro indikaci léčby TKI, jako prokaz mutace ve tkáni
- b) negativní výsledek v liquid biopsii nevylučuje přítomnost mutace v nádoru. V případě, že lze provést intervenční odběr tkáň, mělo by následovat vyšetření ze tkáně

Cílená léčba inhibitory ALK kinázy (crizotinib, ceratinib, alectinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu - Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- ALK

Standardní IHC v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom a spol.) v momentě stanovení dg - automaticky u malých vzorků

případy 3+ jsou pozitivní, dále se neověřují FISH

případy 0 jsou negativní, dále se neověřují FISH

případy 1+ a 2+ jsou nejisté (cca 5% všech testovaných), dále se ověřují FISH, pokud je vyžádáno onkologem

ALK v resekátech nebo u jiných histologických typech je testováno na vyžádání onkologem

jiné metody pro stanovení ALK (např. RT-PCR) nejsou LČ indikovány

- ROS1

Standardní IHC v RL na vyžádání onkologa v případě, že pro pacienta je dostupná cílená léčba případy s jakoukoliv intenzitou 1+, 2+, 3+ se dále ověřují FISH, jen FISH pozitivní případy jsou považovány za definitivně pozitivní

Cílená léčba anti-EGFR (cetuximab, panitumumab) u kolorektálního karcinomu - Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- aktivční mutace genu rodiny RAS (KRAS a NRAS) v exonech 2, 3 a 4 - pacienti nemají odpověď na inhibitory EGFR. Testování se provádí na vyžádání onkologa. Výsledek vyšetření RAS má vždy v závěru obsahovat explicitní vyjádření, zda v nádoru byla či nebyla prokázána mutace genu KRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a genu NRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a zda tak nádor je či není RAS wild type ve smyslu aktuálně platných indikačních kritérií anti-EGFR cílené léčby.

Doporučená vyšetření:

- aktivční mutace genu BRAF u nádorů s RAS wt - pacienti mají obecně horší prognózu. Vyšetření se provádí výhradně na žádost onkologa.

PREDIKTIVNÍ VYŠETŘENÍ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

• vyšetření mikrosatelitní instability (MSI) analýzou DNA a/nebo „mismatch repair (MMR)“ proteinů imunohistochemicky.

• mají lepší prognózu. Vyšetření se provádí v jedné z referenčních laboratoří* a pokud je aktuálně s platící péčí dorešeno, a to v jedné z referenčních laboratoří*

• Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nemalobuněčný karcinom plic - NSCLC

EGFR

ALK

ROS1

PD-L1

Nepodkročitelné minimum:

- vyšetření mutace BRAF V600 se provádí výhradně na vyžádání onkologem v referenčních laboratořích.

Cílená léčba gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST)

• vyšetření:

mutací c-kit v exonech 9, 11, 13, 17,

mutacemi v exonu 11 jsou nejvíce senzitivní k terapii imatinibem,

- nádory s mutacemi v exonu 9 jsou méně senzitivní k terapii imatinibem, ale mohou odpovídat na léčbu vysokými dávkami imatinibu a na léčbu sunitinibem (v druhé linii).

mutací PDGFRa v exonech 12, 14, 18,

mutací D842V v exonu 18 jsou rezistentní k terapii imatinibem.

• d-type - jsou méně senzitivní k terapii imatinibem.

Cílená léčba anti-HER-2 (trastuzumab) u karcinomu žaludku - Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Testování HER-2/neu se provádí výhradně na vyžádání onkologem pouze v referenčních laboratořích. IHC výsledek 3+ musí být potvrzován in situ hybridizační metodou (ISH - tj. FISH, CISH nebo SISH). Případy 2+ se ISH zatím neověřují.

Cílená léčba anti-PDL-1 např. diagnostami - Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Expres PD-L1, je-li indikována, se vyšetřuje na vyžádání onkologem v jedné z referenčních laboratoří*.
- Přípravy dostupné v současnosti (nivolumab, pembrolizumab) není nezbytné používat odlišné imunohistochemické protilátky (lze použít klon 22C3 nebo 28-8), tan. pro oba léky stejnou metodou vyšetření.

musí být reportován takto:

- exprese PD-L1 zastižena v < 1% nádorových buněk*.

- exprese PD-L1 zastižena v XY % nádorových buněk*.

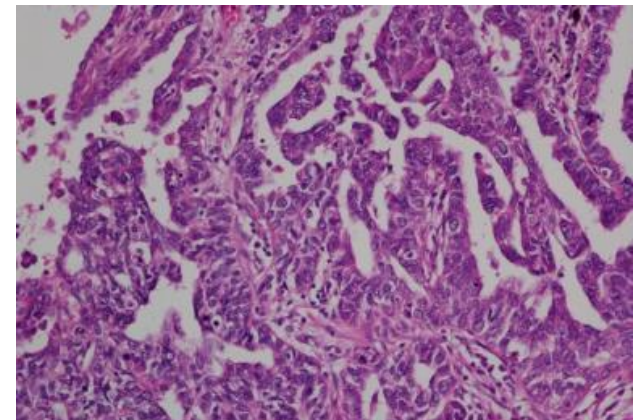
Testování somatických mutací BRCA ve tkáňích karcinomu ovaria - Je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří*

Nepodkročitelné minimum:

- Bude prováděno v referenčních laboratořích (patologie) na vyžádání onkologem (prediktory pro PARP inhibitory). V současné době je indikováno pouze genetické vyšetření germinálního genomu dle stanovených pravidel (provádí laboratoře lékařské genetiky). Vyšetření somatické BRCA mutace patologiemi bude indikováno v momentě dostupnosti hrazené specifické cílené terapie.

EGFR

- Mutace u 10-15 % NSCLC
 - častěji u nekuřáků, žen a mladších pacientů
- Cílená terapie inhibitory tyrozinkináz (TKI), tzv. anti-EGFR terapie
 - erlotinib, gefitinib, afatinib
- Prediktivní i prognostický faktor
- Vyšetření
 - **aktivačních** mutací
 - většina **aktivačních** mutací je lokalizována v **exonech 18-21**, přičemž 80-90 % mutací je v exonech 19 a 21, (delece v exonu 19 nebo bodové mutace L858R v exonu 21). **specifické pro plicní adenokarcinomy**
 - **rezistentní** mutace
 - exon 20: T790M; S768I a inserce v exonu 20



EGFR – algoritmus testování

**Adenokarcinomy, NSCLC spíše adenokarcinomy, NSCLC NOS,
(adenoskvamózní karcinomy)**

„Malé“ biopsie

- automaticky v době diagnózy

Resekáty

- na žádost onkologa

Ostatní histologické typy
na žádost onkologa

Metoda

- jakákoli validovaná
 - aktivační mutace vyskytující se s frekvencí alespoň 1 % nádorových buněk
 - resistantní mutace alespoň v 5 % nádorových buněk

Výsledek

- komentář o charakteru a významu detekovaných mutací

EGFR - liquid biopsie - „tekutá biopsie“

- volná cirkulující DNA (cfDNA) – predikce TKI u NSCLC

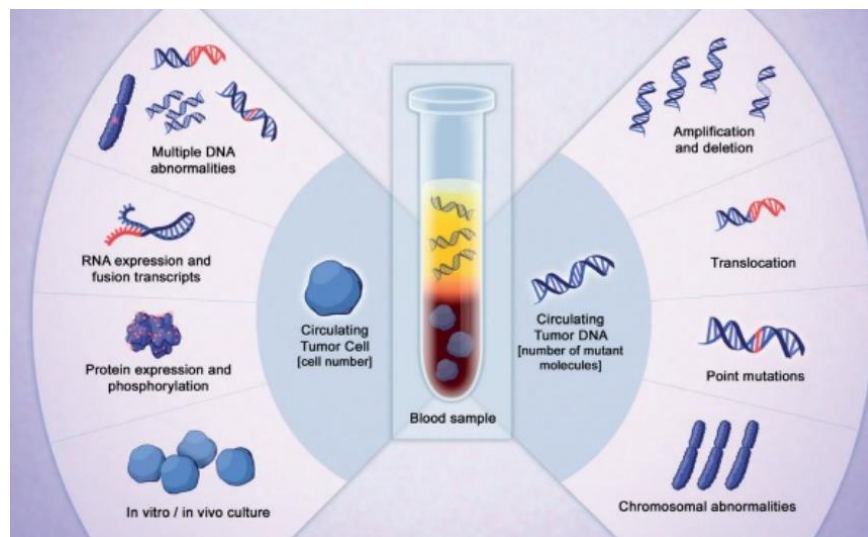
1. primární diagnostika nádorového onemocnění

- není dostupná DNA ze vzorku nádorové tkáně
- výsledek molekulárního vyšetření nebyl informativní

2. recidiva/progrese nádorového onemocnění

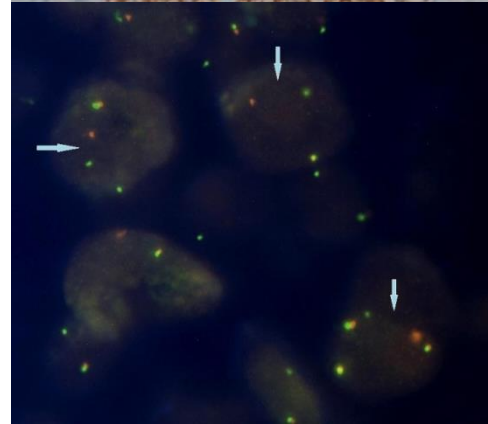
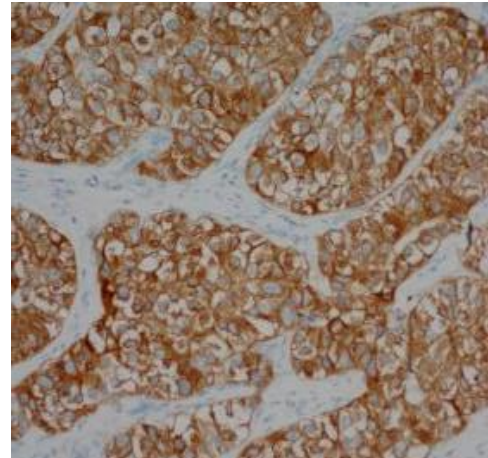
- odběr vzorku nádoru - obtížně proveditelný či nemožný
- rezistenční mutace T790M

!!!! Negativní výsledek přítomnost mutace v nádoru nevylučuje



ALK

- Translokace *ALK* je asociována zejména s **plicními adenokarcinomy**, s anaplastickým velkobuněčným lymfomem a se zánětlivým myofibroblastickým tumorem
- U **3-7 % NSCLC** (častěji u mladších pacientů, nekuřáků nebo bývalých mírných kuřáků)
- Inverze genu *ALK* → fúze s různými partnery
 - nejčastěji fúzní gen *EML4/ALK*
 - pro plicní adenokarcinomy téměř výhradně **specifický**
 - => zvýšená exprese genu *ALK* - **detekce IHC**
- Cytogenetické vyšetření zlomu genu *ALK* - **FISH**
- Prediktivní faktor
 - crizotinib, ceratinib, alectinib, brigatinib...



ALK – algoritmus testování

„Malé“ biopsie

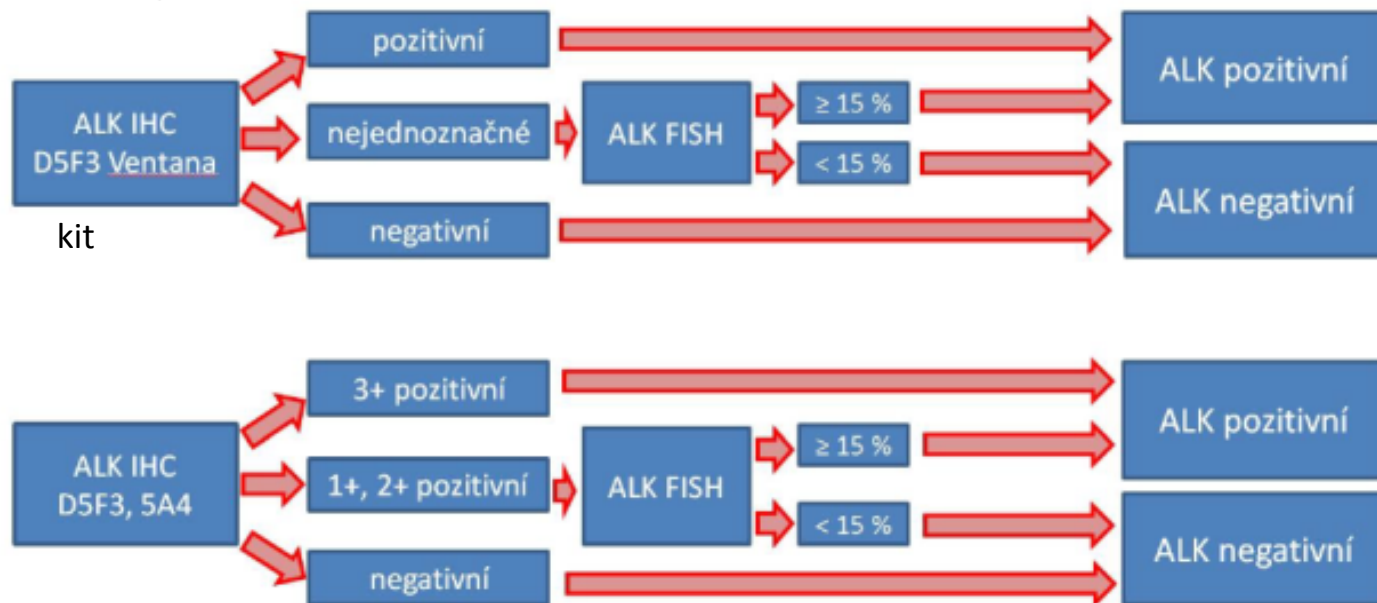
- adenokarcinomy, NSCLC spíše adenokarcinomy a NSCLC NOS
- automaticky v době diagnózy

Resekáty nebo ostatní histologické typy

- na vyžádání onkologem

Metoda

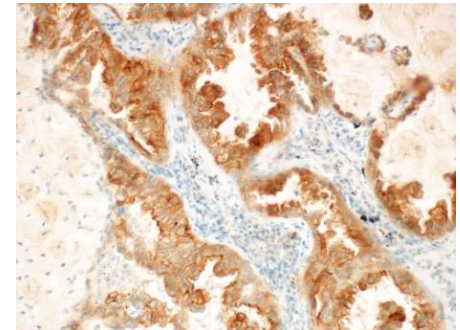
- IHC
- (FISH)
- na vyžádání onkologem



- **ALK pozitivní** – nádory IHC silně pozitivní nebo FISH pozitivní

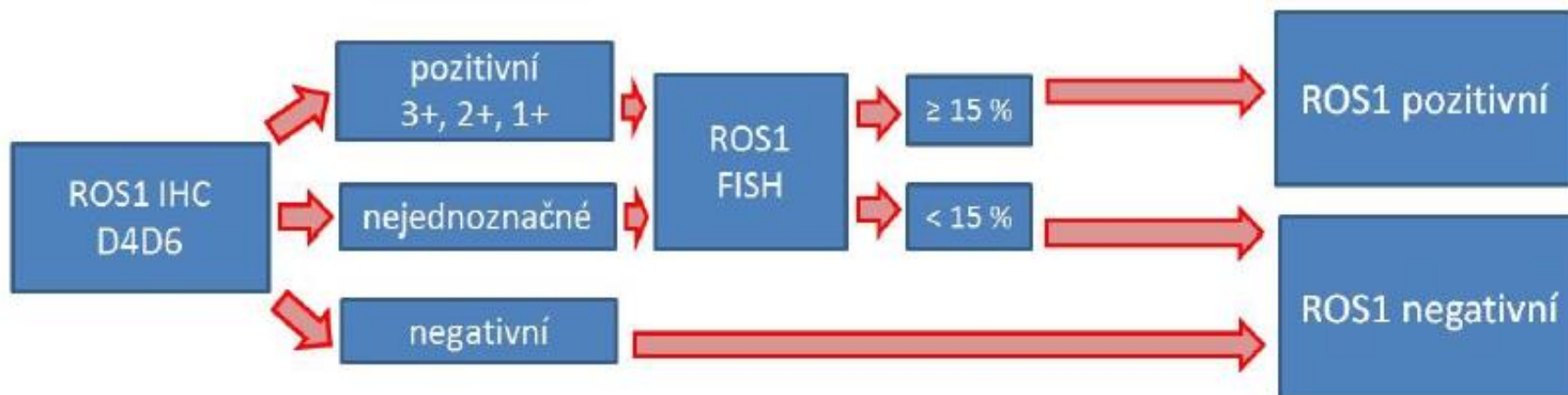
ROS1

- Přestavba onkogenu *ROS1* - u 1-2 % NSCLC
- Častěji u mladších pacientů, nekuřáků nebo bývalých mírných kuřáků, žen
- Pacienti s přestavbou ROS1 profitují ze stejné léčby, jako pacienti s přestavbou *ALK*
- Translokace - množství fúzních partnerů, TK doména zůstává zachována => zvýšená exprese genu *ROS1* - **detekce IHC**
- Cytogenetické vyšetření zlomu genu *ROS1* - **FISH**
- Prediktivní faktor (na cílenou terapii ALK inhibitory)



ROS1 – algoritmus testování

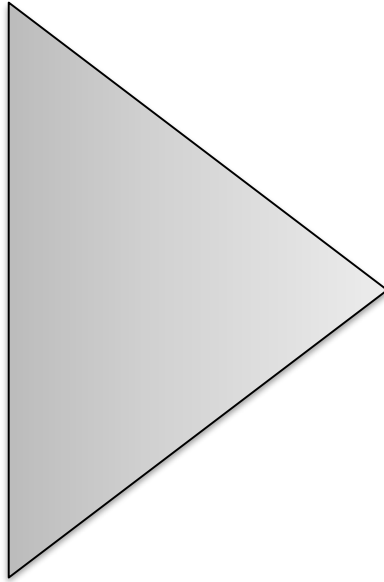
- NSCLC
- na vyžádání onkologa
- primárně **metodou IHC**



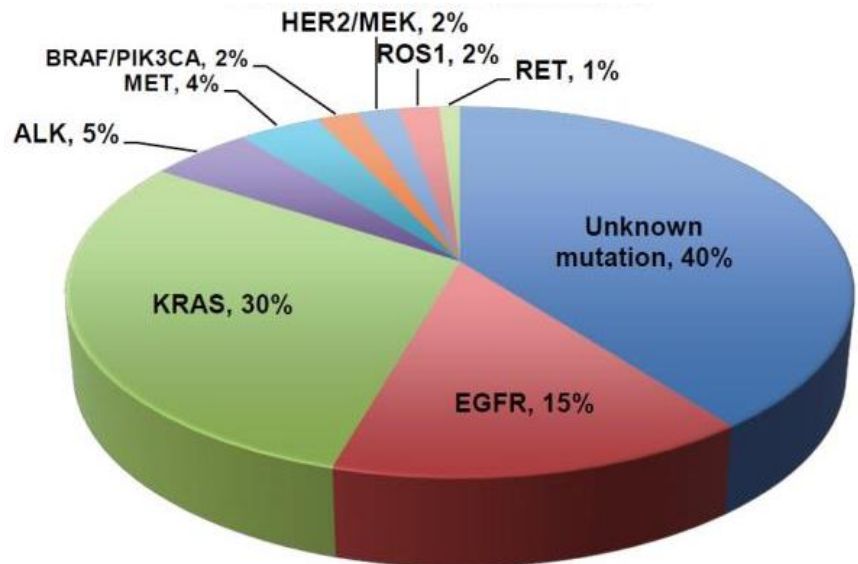
- Všechny IHC pozitivní výsledky musí být ověřeny metodou FISH
- **ROS1 pozitivní – nádory FISH pozitivní**

Testování dalších markerů

RET
HER2
MET
BRAF
KRAS
NTRK1
DDR2
NRG1
FGFR1/3



Testování je možné ! ale v současné době v ČR nepatří mezi rutinní **prediktivní vyšetření**



Testování prediktivních molekulárních markerů NSCLC doporučení ASCO-CAP-IASCL-AMP

ASCO/CAP/IASCL/AMP guideline (3/2018)

VOLUME 36 · NUMBER 9 · MARCH 20, 2018

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

ASCO SPECIAL ARTICLE

Molecular Testing Guideline for the Selection of Patients With Lung Cancer for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/ International Association for the Study of Lung Cancer/ Association for Molecular Pathology Clinical Practice Guideline Update

Gregory P. Kalemkerian, Navneet Narula, Erin B. Kennedy, William A. Biermann, Jessica Donington, Natasha B. Leigh, Madelyn Lew, James Pantelas, Suresh S. Ramalingam, Martin Reck, Anjali Saji, Michael Simoff, Navneet Singh, and Baskaran Sundaram

Kalemkerian GP, et al. J Clin Oncol 36:911-919, 2018

CAP/IASLC/AMP guideline (11/2017)

SPECIAL ARTICLE



Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors



Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology

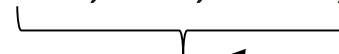
Neal I. Lindeman, MD,^{a,*} Philip T. Cagle, MD,^d Dara L. Aisner, MD, PhD,^e Maria E. Arcila, MD,^f Mary Beth Beasley, MD,^h Eric H. Bernicker, MD,^c Carol Colasacco, MLIS, SCT(ASCP),¹ Sanja Dacic, MD, PhD,³ Fred R. Hirsch, MD, PhD,^k Keith Kerr, MB, ChB,¹ David J. Kwiatkowski, MD, PhD,^b Marc Ladanyi, MD,^g Jan A. Nowak, MD, PhD,^m Lynette Sholl, MD,^g Robyn Temple-Smolkin, PhD,ⁿ Benjamin Solomon, MBBS, PhD,^o Lesley H. Souter, PhD,^p Erik Thunnissen, MD, PhD,^q Ming S. Tsao, MD,^r Christina B. Ventura, MPH, MT(ASCP),¹ Murry W. Wynes, PhD,^s Yasushi Yatabe, MD, PhD^t

Lindeman NI, et al. J Thorac Oncol 13:323-358, 2018

Adenokarcinom nebo komponenta
Neskvamózní, NSCLC
NSCLC s klin. rysy susp. z driver mutace

Všechny

EGFR, ALK, ROS1, BRAF



Větší panely nebo při negativitě

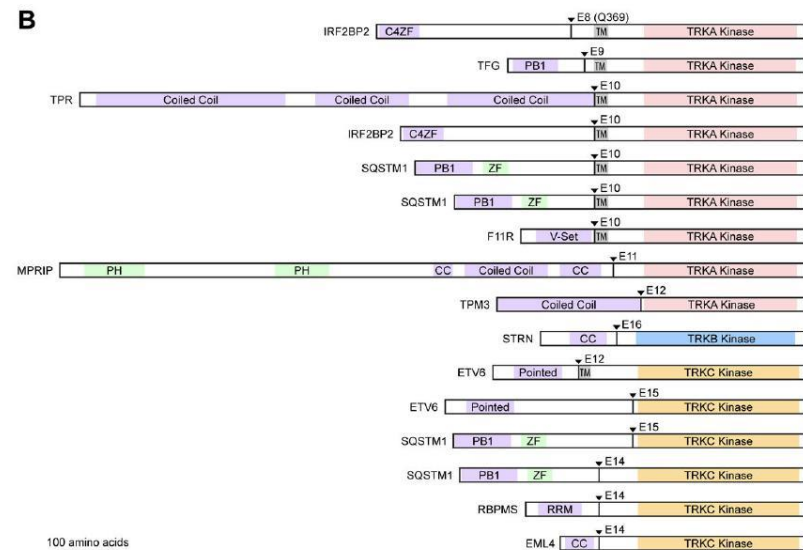
RET, HER2, KRAS, MET

NTRK

- Kódují receptory tropomyosin tyrosinkinázy TRKA, TRKB a TRKC
- Fúze genu NTRK u <1% NSCLC
- Cílená terapie inhibitory tyrozinkináz (TKI) (larotrectinib – TRKA/B/C, entrectinib –TRKA/B/C, ALK a ROS1)
- Klinické studie

Možnosti testování

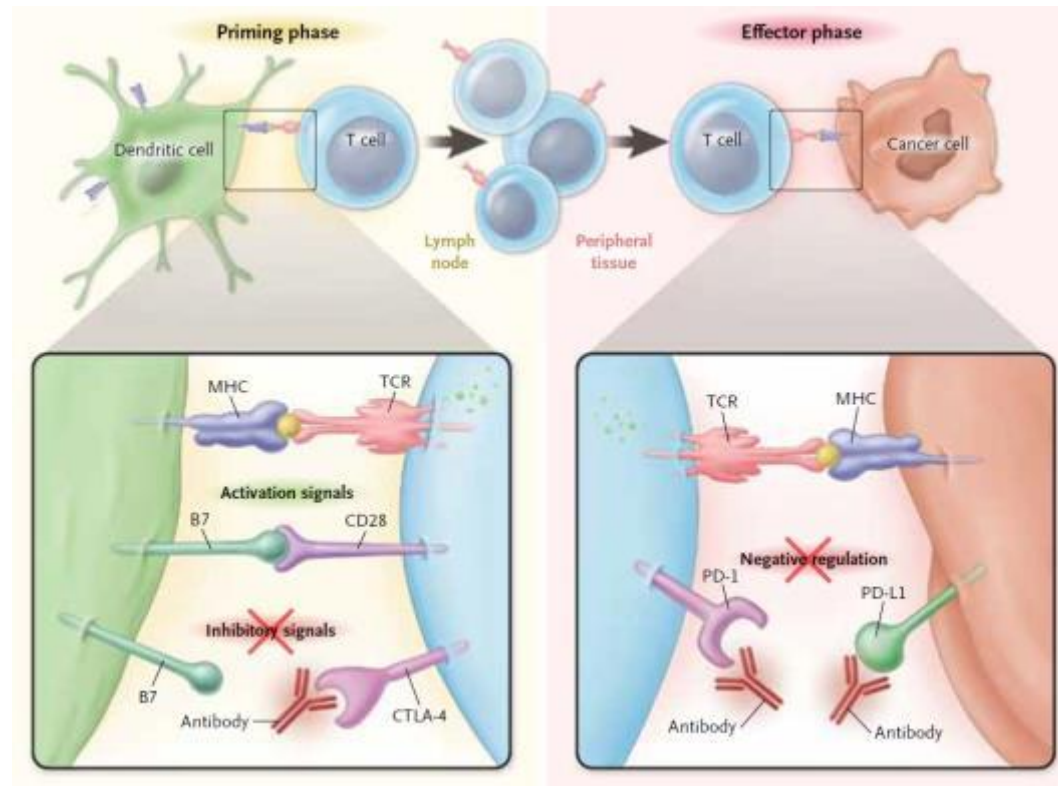
- IHC
 - levné, ale nejsou definovány klony protilátek a algoritmy skórování
- FISH
 - drahé, nutné 3 sondy
- RT-PCR
 - středně drahé, ale nedetekuje neznámého fúzního partnera
- NGS (DNA, RNA)
 - drahé, v současné době nejsou schválené úhradové mechanismy
 - DNA – diskutabilní senzitivita (dlouhé introny – pokrytí)
 - RNA – vysoká senzitivita, náročnost na RNA



Farago AF, et al. JCO Precis Oncol 2018

Prediktivní diagnostika imunoterapie u plicních karcinomů

- inhibice kontrolních bodů imunitní reakce pomocí monoklonálních protilátek blokujících receptor **PD-1**, jeho ligand **PD-L1** a receptor **CTLA-4**
- klinické studie
- první schválené protilátky proti PD-1 pro léčbu NSCLC (nivolumab a pembrolizumab)



Prediktivní význam PD-L1

- PD-L1 - prediktivní biomarker napříč různými nádory
- Potvrzeno metaanalýzou (41 klinických studií, 6664 pacientů) se solidními tumory (28-8, 22C3, SP142, SP263 a 73-10)
- Největší efekt u NSCLC

Programmed Cell Death 1 (PD-1) Ligand (PD-L1) Expression in Solid Tumors As a Predictive Biomarker of Benefit From PD-1/PD-L1 Axis Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. Khunger, M. et al. JCO Precision Oncology 2017:1, 1-15

Ale ! reálná predikabilita – problematická

- Heterogenní a dynamická exprese PD-L1
- Technické rozdíly a variabilní naprahování esejí
 - Nádorové buňky - 22C3, 28-8, SP263, 73-10
 - Nádorové i imununitní buňky - SP142

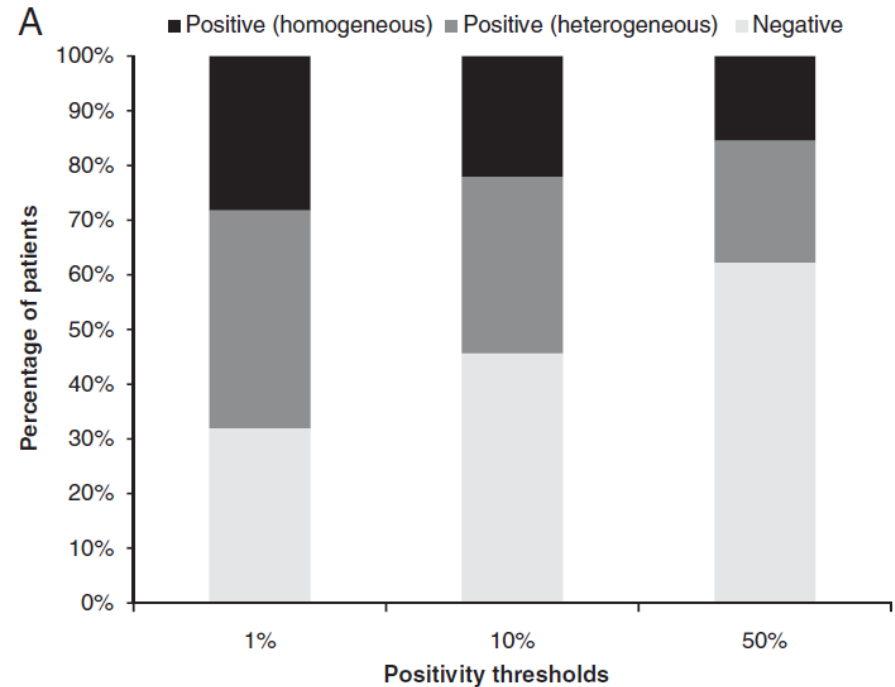
Five-Drug PD-L1 Assay Trial-Validated Combinations

Drug	Company	PD-L1 Diagnostic Ab Clone	Staining Platform	Clinically Relevant Cutoffs ^a
Nivolumab	Bristol-Myers Squibb	28-8 (Dako)	Dako Link 48	TC ≥ 1%, 5%, and 10%
Pembrolizumab	Merck/Merck Sharp and Dohme	22C3 (Dako)	Dako Link 48	TC ≥ 1% and 50%
Atezolizumab	Genentech/Roche	SP142 (Ventana)	Ventana BenchMark	TC ≥ 1%, 5% , and 50%
			ULTRA	IC ≥ 1%, 5%, and 10%
Durvalumab	AstraZeneca	SP263 (Ventana)	Ventana Benchmark	TC ≥ 25%
Avelumab	Pfizer/Merck Serono	73-10 (Dako)	Dako Link 48	TC ≥ 1%, 50%, and 80%

The PD-L1 Immunohistochemistry Biomarker: Two Steps Forward, One Step Back? Kerr KM. J Thorac Oncol. 2018 Mar;13(3):291-294.

Heterogenní exprese PD- L1

- 241 pacientů – adenokarcinom
 - 5 x TMA (1 mm) ○○○○○
- Práh pozitivity
 - 1% - 68% PD-L1 pozitivita
40% - heterogenita
 - 10% - 54% PD-L1 pozitivita
32% - heterogenita
 - 50% - 38% PD-L1 pozitivita
22% - heterogenita



- **26.5% pacientů** by mohlo být **v malých biopsiích falešně negativních**
 - při cut off 50% (a až 55.5% při cut off 1%) ⊖○○○○

Comprehensive Assessment of PD-L1 Staining Heterogeneity in Pulmonary Adenocarcinomas Using Tissue Microarrays: Impact of the Architecture Pattern and the Number of Cores. Gagné A et al. Am J Surg Pathol. 2018 May;42(5):687-694.

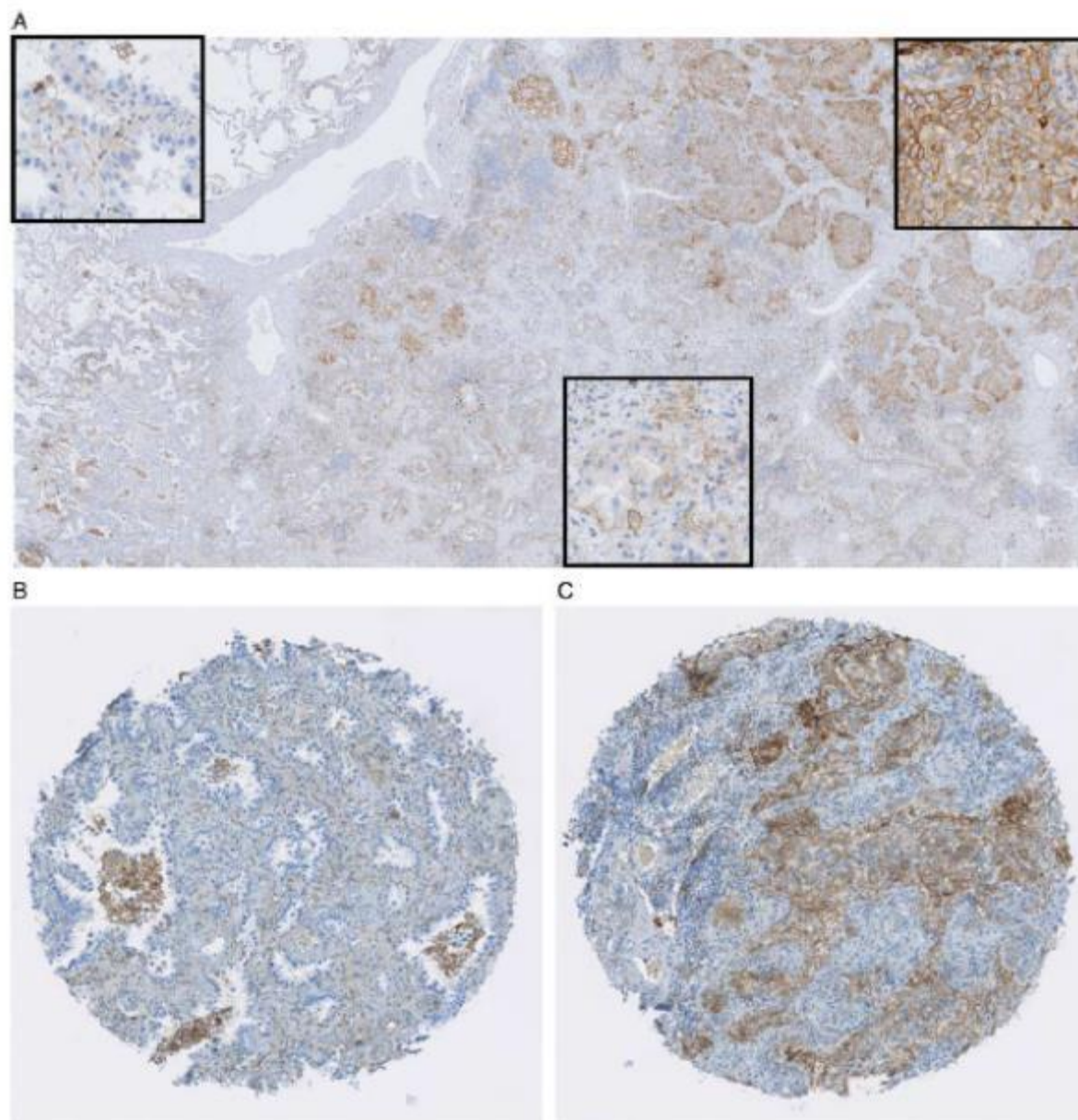
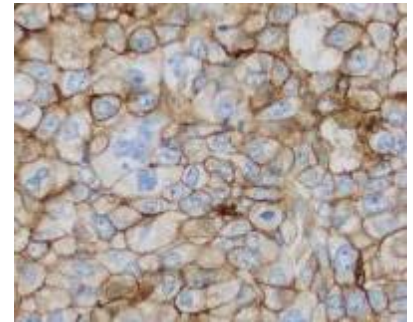
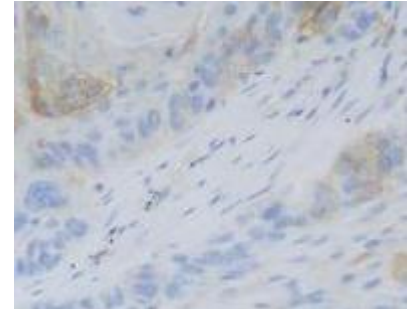


FIGURE 1. A, Representative example of a whole-slide section harboring PD-L1 staining heterogeneity (E1L3N; Cell Signaling Technology) with zooms on a lepidic (upper right insert, no staining), acinar (bottom middle insert, moderate staining), and solid patterns (upper left insert, strong staining). B, Corresponding core with acinar pattern and absence of staining from the same patient. C, Corresponding core with solid pattern and staining in 100% tumor cells from the same patient.

PD-L1 v ČR

Testujeme - NSCLC (u všech histologických typů)

- primodiagnóza - reflexně
- rebiopsie – na žádost onkologa
- dle konsenzu
 - relevantní protilátky klonů - **22C3** a **28-8**
 - **Nivolumab, pembrolizumab**
- minimálně 100 vitálních nádorových buněk
- materiál - bioptický odběr případně cytoblok (ze solidní tkáně)
x NE –výpotek/jiná tekutina ani cytologické nátěry



Jak hodnotíme

TPS (Tumor Proportion Score)

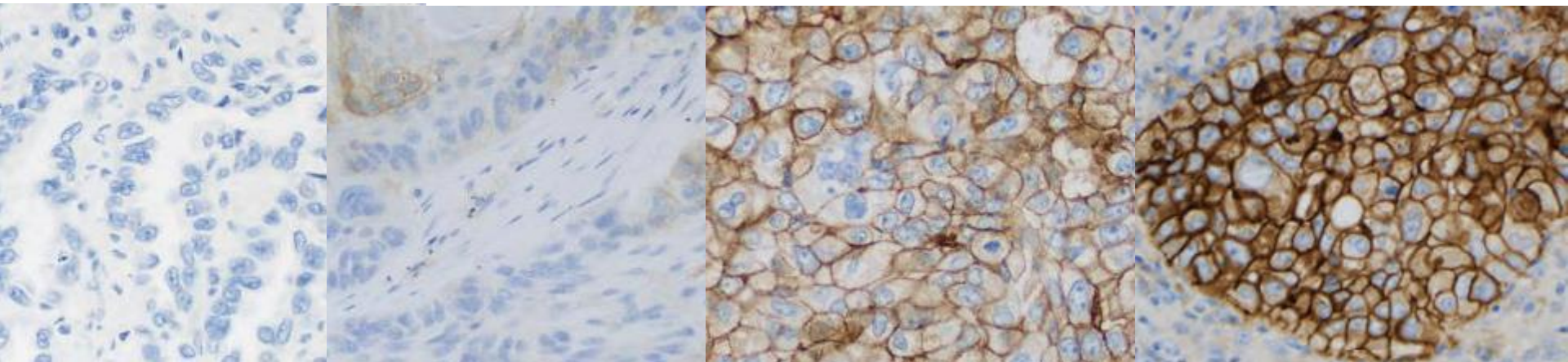
= % vitálních nádorových buněk, které vykazují parciální či kompletní membránovou pozitivitu jakékoli intenzity

- PD-L1 **negativní nádor** = TPS < 1 %
- PD-L1 **pozitivní nádor** = TPS ≥ 1 %.

Závěr ve formátu:

PD-L1 (klon) - **Negativní** – exprese PD-L1 zastižena v < 1 % nádorových buněk

PD-L1 (klon) - **Pozitivní** – exprese PD-L1 zastižena v XY % nádorových buněk



Shrnutí

- Přesná klasifikace karcinomů plic spolu s hodnocením molekulárních (genetických) a cytogenetických změn má zásadní význam při **optimalizaci léčebné strategie**.
- Rozšiřování terapeutických možností však klade stále větší požadavky na počet hodnocených markerů včetně prediktorů, což však může narážet na limity dané často malým množstvím nádorové tkáně, která je pro příslušná vyšetření k dispozici.

Prediktivní testování

	Adenokarcinomy, NSCLC, spíše adenokarcinomy a NSCLC, NOS		Ostatní nádorové typy
	"malé biopsie"	resekáty	"malé biopsie"/resekáty
EGFR	automaticky v době dg.	na vyžádání	na vyžádání
ALK	automaticky v době dg.	na vyžádání	na vyžádání
ROS1	na vyžádání	na vyžádání	na vyžádání
	NSCLC (u všech histologických typů)		Ostatní nádorové typy/recidiva
PD-L1	primodiagnóza - reflexně		na vyžádání