



Klinični pomen molekularnih lastnosti Clinical significance of molecular features

doc. dr. Tanja Mesti, dr.med.^{1,2}

1. Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

2. Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Izvleček

V zadnjem desetletju s prihodom novih tarčnih zdravil in imunoterapije z zaviralci imunih kontrolnih točk je bil dosežen preboj tudi pri neodzivnih na sistemsko zdravljenje solidnih rakih. Tako tarčna terapija z malimi molekuli tirozin kinaznih inhibitorjev in imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk v obliki monoklonskih protiteles so privedli do podaljšanje preživetja bolnikom z razsejanim melanomom od manj kot eno leto na šestdeset mesecev. V času personaliziranega sistemskega zdravljenja raka biomarkerji so neizogibno orodje s katerim lahko napovemo odgovor na posamezno terapijo.

Ta pregled se osredotoča na do sedaj opažene možnosti uporabe biomarkerjev pri sistemskem zdravljenju možganskih tumorjev.

Ključne besede: možganski tumorji, molekularne lastnosti, biomarkerji

Abstract

In the past decade, with the advent of new targeted drugs and immunotherapy with immune checkpoint inhibitors, a breakthrough has been achieved even in solid cancers unresponsive to systemic treatment. Both targeted therapy with small molecule tyrosine kinase inhibitors and immunotherapy with immune checkpoint inhibitors in the form of monoclonal antibodies have led to an increase in survival for patients with metastatic melanoma from less than one year to sixty months. In the era of personalized systemic cancer treatment, biomarkers are an inevitable tool that can be used to predict the response to individual therapy.

This review focuses on the possibilities observed so far for the use of biomarkers in the systemic treatment of brain tumors.

Key words: brain tumors, molecular features, biomarkers

1. Uvod

V zadnjem desetletju s prihodom novih tarčnih zdravil in imunoterapije z zaviralci imunih kontrolnih točk je bil dosežen preboj tudi pri neodzivnih na sistemsko zdravljenje solidnih rakih. Tako tarčna terapija z malimi molekuli tirozin kinaznih inhibitorjev in imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk v obliki monoklonskih protiteles so privedli do podaljšanje preživetja bolnikom z razsejanim melanomom od manj kot eno leto na šestdeset mesecev. V času personaliziranega sistemskega zdravljenja raka biomarkerji so neizogibno orodje s katerim lahko napovemo odgovor na posamezno terapijo.

Biomarker definiramo kot "kakršen koli merljiv diagnostični indikator, ki se uporablja za oceno tveganja ali prisotnosti bolezni". Biomarkerje lahko uporabljamo pri diagnozi ali pri samem zdravljenju, imajo napovedni in/ali prognostični pomen.

Ta pregled se osredotoča na do sedaj opažene možnosti uporabe biomarkerjev pri sistemskem zdravljenju možganskih tumorjev.

2. Molekularna diagnostika in sodobni principi sistemskega zdravljenja raka

Sekvenciranje nove generacije (NGS) tumorskih in podedovanih (zarodnih) genomov je tehnologija sekvenciranja DNK. Z NGS je mogoče celoten človeški genom sekvencirati v enem samem dnevu v nasprotju s prejšnjo Sangerjevo tehnologijo sekvenciranja, ki je bila uporabljena za dešifriranje človeškega genoma in je bilo potrebno več kot desetletje, da se zagotovi končni osnutek. NGS je v zadnjih dveh desetletjih revolucioniral in izboljšal zdravljenje raka in je zdaj ključnega pomena za ocenjevanje terapevtskih možnosti pri številnih solidnih in hematoloških malignih obolenjih.

Obstaja več različnih platform NGS, ki uporabljajo različne tehnologije zaporedja, vendar vse platforme NGS izvajajo zaporedje milijonov majhnih fragmentov DNK vzporedno. Bioinformatične analize se uporabljajo za sestavljanje teh fragmentov s preslikavo posameznih odčitkov v človeški referenčni genom. Vsaka od treh milijard baz v človeškem genomu je večkrat zaporedna, kar zagotavlja visoko globino za zagotavljanje natančnih podatkov in vpogled v nepričakovane variacije DNK. NGS se lahko uporablja za sekvenciranje celotnih genomov ali omejitev na določena zanimiva področja, vključno z vsemi 22 000 kodirnimi geni (cel eksom) ali majhnim številom posameznih genov. Trenutno so NGS paneli, vključno z nizi genov, najbolj razširjena metoda za hitro prepoznavanje variacije zaporedja pri bolnikih z rakom. Paneli NGS zagotavljajo informacije za različne namene, vključno z diagnostiko (npr. določitev podtipa sarkoma), oceno tveganja za dedno (npr. Lynchev sindrom), prognozo (npr. mutacije KRAS v pljučnem in kolorektalnem adenokarcinomu) in izbiro zdravljenja (npr. biomarkerji za odzivnost na imunoterapijo, kot je mutacijsko breme tumorja in mikrosatelitsko nestabilnost oz. izraženost PD-L₁; terapevtski izbor za klinično uporabne spremembe, kot je BRAF V600E pri melanomu). Glavna pomanjkljivost NGS v kliničnem okolju je vzpostavitev zahtevane infrastrukture, kot sta računalniška zmogljivost in shranjevanje, ter strokovno znanje osebja, ki je potrebno za celovito analizo in interpretacijo poznejših podatkov.

Delovna skupina ESMO Translational Research and Precision Medicine Working Group je leta 2020 razvila priporočila na podlagi lestvice ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets (ESCAT) za genomske spremembe, ki se pojavljajo pri osmih vrstah raka, ki so odgovorne za največ smrti po vsem svetu, NGS pa je treba redno izvajati pri bolnikih z napredovalim pljučnim adenokarcinomom, metastatskim rakom prostate in jajčnikov ter metastatskim holangiokarcinomom. Na podlagi podatkov, ki so jih predstavili Cobain et al. in drugi, je očitno, da so takšne strategije natančne medicine še posebej uspešne pri vrstah raka brez jasnih standardnih možnosti oskrbe, kot je karcinom neznanega primarnega in drugih redkih tumorjev.

Z novo tehnologijo so prišle nove možnosti zdravljenja, z novimi biomarkerji pa so bile razkrite nove tarče. Prihod novih sodobnejših zdravil, kot je imunoterapija oz. zaviralci kontrolnih točk ali tarčna terapija kot sta BRAF/MEK zaviralci se je preživetje opazno podaljšalo in prvič lahko govorimo tudi o ozdravitvi razsejane rakaste bolezni.

Področje onkologije je nedavno doživelo revolucionarno spremembo z uvedbo imunoterapije (IT) kot standardne možnosti zdravljenja več malignih bolezni. Obseg zdravljenja z IT je precej širok in zajema zdravljenje z onkolitičnimi virusi, zdravljenje s T-celicami s himernimi antigenskimi receptorji (CAR-T), cepiva proti raku, posvojitveno zdravljenje s T-celicami in predvsem še najbolj odmevno zdravljenje z zaviralci imunskih kontrolnih točk (ICI). Imunoterapija, predvsem v obliki zaviralcev imunskih kontrolnih točk (ICI), je bila preboj pri zdravljenju solidnih tumorjev. Pri bolnikih s solidnimi tumorji, kot je maligni melanom, ki so imeli izjemno slabo prognozo in preživetje manj kot eno leto, smo s tovrstno terapijo dosegli dolgoročne odzive in preživetje več kot tri leta. Na žalost se vsi solidni tumorji niso izkazali za tako imunogene in odzivne na imunoterapijo kot maligni melanom in drugi kožni raki. Izkazalo se je, da je visoka imunogenost precej redka pri večini solidnih tumorjev, edina izjema so podkupnine bolnikov, ki imajo solidne tumorje z mikrosatelitno nestabilnostjo (MSI), z visokim deležem tumorskih mutacij (TMB) ali z visoko izraženostjo PDL-1. Solidni tumorji teh podskupin so občutljivi na imunoterapijo in pri teh bolnikih je mogoče doseči dolgotrajne odzive. Odobreni ICI, tako imenovana "prva generacija", vključujejo monoklonska protitelesa, usmerjena proti PD-1 (pembrolizumab, nivolumab, cemiplimab), proti PD-L1 (atezolizumab, avelumab in durvalumab) in proti proteinu citotoksični T-limfocitni antigen 4, CTLA-4 (ipilimumab, tremelimumab). ICI so pridobili veliko pozornost zaradi svojih impresivnih rezultatov zdravljenja pri številnih vrstah tumorjev, vključno s tistimi, ki so nekoč veljali za zelo slabo odzivne na zdravljenje, vključno z nedrobnoceličnim pljučnim rakom (NSCLC) in metastatskim melanomom. Gre za zdravljenje s katerim se v primerjavi s kemoterapijo doseže višja stopnja odgovora, daljše preživetje in ima veliko bolj ugodni profil prenašanja.

Imunoterapija deluje tako, da modulira ali manipulira z imunskim sistemom in posledično aktivira imunski odziv na rakaste celice. Kljub začetnemu optimizmu se je izkazalo, da niso vsi bolniki s solidnimi tumorji dovzetni in odzivni na zdravljenje z zaviralci kontrolnih točk. Izkazalo se je, da je visoka imunogenost solidnih tumorjev pomemben dejavnik pri zdravljenju z ICI – podskupine teh tumorjev so tumorji z visoko mikrosatelitsko nestabilnostjo oz. neustrezno sintezo MMR proteinov (MSI-H/dMMR), visoko izraženostjo PD-L1 na tumorskih celicah oz. v mikrookolju (CPS score) ali z visokim bremenom tumorskih mutacij (TMB).

3. Pomen molekularnih lastnosti pri sistemskem zdravljenju možganskih tumorjev

ESMO smernice iz leta 2014, ki temeljijo na še stari WHO klasifikaciji možganskih tumorjev v ospredju dajejo poudarek treh molekularnih sprememb in to **kodelecija 1p/19q** pri oligodendrogliomih, ki ima ne samo bistven dijagnostični, ampak tudi prognostični in prediktivni pomen, saj nosilci so kemosenzitivni. **MGMT promotor metilacije** je pri glioblastomih ima prognostični in prediktivni pomen glede odzivnosti na zdravljenje s temozolomidom ter **IDH1,2 mutacija** je prisotna le pri sekundarnih glioblastomih.

Z novo **WHO klasifikacijo iz leta 2016** je prišlo do revizije gliomih gradusa II in III glede na molekularnih lastnosti, in tako glioblastomi so bili razdeljeni v tri skupine glede na prisotnost IDH1,2 in/ali kodelecijo 1p/19q. Pomembnost in značajnost je predvsem v prognostičnem pomenu, saj IDH mutacije ni pri primarnih glioblastomih, IDH mutirani glioblastomi imajo drugačne značilnosti in se obnašajo, kot posebna entiteta v primerjavi z IDH nemutiranimi glioblastomi kar se tiče prognoze in občutljivosti na zdravljenje (10). Nenazadnje prihajajo prav na podlagi IDH molekularnih lastnosti tarčna zdravila, ki zavirajo IDH1 mutacijo, tako **IDH1 zaviralec ivosidenib**, v študiji faze 1 že kaže obetavajoče rezultate.

BRAF mutacija je prisotna v 8% in nekaj aktivnosti je že zabeleženih z BRAF zaviralci v monoterapiji ali v kombinaciji z MEK zaviralci, vendar večinoma podatkov prihaja iz retrospektivnih publikacij posameznih onkoloških centrov, nekaj pa iz študij faze 1/2 oz največja študija je bila tipa Basket, kjer je bilo vključenih 11 bolnikov z anaplastičnim astroцитomom oz glioblastomom. Odgovor na BRAF z/brez MEK zaviracev je okoli 10%.

NTRK (NTRK1, NTRK2 or NTRK3) fuzije so pri primarnih gliomih pri odraslih prisotni do 3,1%. Študija s **NTRK zaviralcem larotrektinibom**, ki je vključevala poleg gliome z nizkim tudi z visokim gradusom v Basket študiji faze 2, je pokazala 30% odgovor na zdravljenje, v enem letu pa mediano celokupno preživetje ni bilo doseženo.

Pri gliomih je v manj kot 20% prisotna porušena sinteza MMR proteinov, kar vodi do mikrosatelitski nestabilnosti in posledično imunogenost tumorja, vendar predvsem pri gliomih nižjih gradusov. Imunoterapija oz zaviralci imunih kontrolnih točk - **PD1 zaviralci**, kažejo učinkovitost do 10% in podatki izhajajo bolj iz objav izkušenj posameznih onkoloških centrov, nekaj pa iz študij faze 1 in 2.

4. Zaključek

Molekularna dijagnostika tako kot pri vseh rakih je tudi pri možganskih tumorjih pripomogla k izločitvi skupin, ki zaradi specifičnih molekularnih lastnosti bolj odgovorijo na določene tarčne terapije, vendar gre za počasen napredek in za večjih premikov pri sistemskem zdravljenju bo treba počakati na večje študije. Ne glede na vse, že zdaj prav na podlagi rezultatov molekularnih lastnosti pri določenih podskupinah ob razvoju odpornosti na standardno zdravljenje, lahko bolnike zdravimo tudi s tarčno terapijo in ne nazadnje z zaviraci imunih kontrolnih točk, po presoji multidisciplinarnega konzilija, ki ima bistveno vlogo pri takšnih odločitvah.

Literatura

- Freedman AN, Klabunde CN, Wiant K, et al: Use of next-generation sequencing tests to guide cancer treatment: results from a nationally representative survey of oncologists in the United States. *JCO Precis Oncol* [10.1200/po.18.0016](https://doi.org/10.1200/po.18.0016).
- Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing?. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013;98(6):236-238. doi:10.1136/archdischild-2013-304340.
- Dienstmann R, Dong F, Borger D, et al: Standardized decision support in next generation sequencing reports of somatic cancer variants. *Mol Oncol* 8:859-873, 2014.
- Kamps R, Brandão RD, Bosch BJ, et al: Next-generation sequencing in oncology: Genetic diagnosis, risk prediction and cancer classification. *Int J Mol Sci* 18:E308, 2017 .
- Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: A report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2020.

- Cobain EF, Wu Y, Vats P, et al. Assessment of Clinical Benefit of Integrative Genomic Profiling in Advanced Solid Tumors. *JAMA Oncol.* 2021;7(4):525–533. doi:10.1001/jamaoncol.2020.7987.
- Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell* 2015;27:450–61.
- Le DT, Durham JN, Smith KN *et al.* Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017;357:409–13.
- Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G; ESMO Guidelines Working Group. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014 Sep;25 Suppl 3:iii93-101. doi: 10.1093/annonc/mdu050.
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016 Jun;131(6):803-20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- Mellinghoff IK, Ellingson BM, Touat M, Maher E, De La Fuente MI, Holdhoff M, et al. Ivosidenib in Isocitrate Dehydrogenase 1-Mutated Advanced Glioma. *J Clin Oncol.* 2020 Oct 10;38(29):3398-3406. doi: 10.1200/JCO.19.03327.
- Bouchè V, Aldegheri G, Donofrio CA, Fioravanti A, Roberts-Thomson S, Fox SB, et al. BRAF Signaling Inhibition in Glioblastoma: Which Clinical Perspectives? *Front Oncol.* 2021 Nov 3;11:772052. doi: 10.3389/fonc.2021.772052.
- Doz F, van Tilburg CM, Georger B, Højgaard M, Øra I, Boni V, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in TRK fusion-positive primary central nervous system tumors. *Neuro Oncol.* 2022 Jun 1;24(6):997-1007. doi: 10.1093/neuonc/noab274.
- Brahm CG, van Linde ME, Enting RH, Schuur M, Otten RHJ, Heymans MW, et al. The Current Status of Immune Checkpoint Inhibitors in Neuro-Oncology: A Systematic Review. *Cancers (Basel).* 2020 Mar 4;12(3):586. doi: 10.3390/cancers12030586.