

Multigenové testy – proč ne?

† Jan Novotný

Sunderby sjukhus, Sweden

Souhrn

Nejrůznější multigenové testy jsou široce využívány ve snaze individualizovat léčebná rozhodnutí u pacientek s karcinomem prsu. Teoretickým výstupem provedení analýz pomocí multigenových testů je buď eskalace, nebo naopak deeskalace intenzity léčby u konkrétní pacientky. Přestože jejich první zkoušky začaly probíhat již v roce 2004, nebylo dosud dosaženo tak jednoznačných pozitivních výsledků, aby byly široce akceptovány mezinárodními odbornými společnostmi s vysokou měrou konsenzu mezi panely expertů a také s výstupem „Level of Evidence I“ v mezinárodně uznávaných doporučeních.

Multigenové testy jsou hodnoceny převážně ve studiích s čas-to nevhodným designem. A proto je třeba dalšího důkladného prověření užitečnosti multigenového testování ve srovnání s takovým léčebným plánem, který je navržen podle konvenčních, dlouhodobě používaných rizikových faktorů.

Klíčová slova: multigenové testy, karcinom prsu, rizikové faktory, riziko recidivy

Základní charakteristika

Vznik multigenových testů (panelů, zkratka MGP) byl umožněn před více než 15 lety díky prudkému rozvoji techniky molekulární genetiky, díky kterým bylo v reálném čase proveditelné sekvenování DNA mnoha genů u mnoha pacientů. Tím se otevřela možnost porovnávat průběh léčby, léčebné výsledky a mutační stav vybraných cílových genů. Některé MGP si vytvořili výzkumníci pro svou vlastní potřebu, jiné byly laboratorními společnostmi dotaženy až do podoby komerčně dostupných produktů. Tak se lze dnes setkat s celkem šesti rozšířenějšími MGP pro zpřesňování rozhodovacích procesů u pacientek s časným karcinomem prsu a minimálně se dvěma dalšími pro využití u metastatického onemocnění.

Obecně se předpokládá, že by MGP měly klinickému lékaři pomoci individualizovat a upřesnit rozhodování v několika situacích:

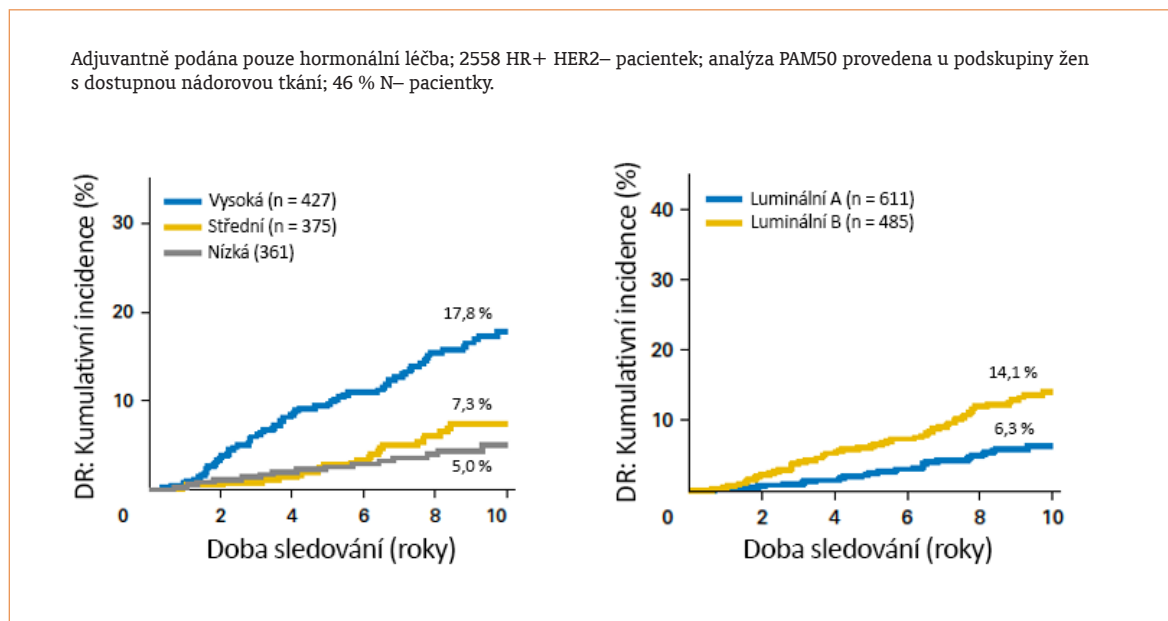
- Identifikace pacientek s časným karcinomem prsu, u nichž je MGP možné predikovat nízké riziko recidivy, a tedy lze se vyhnout podání adjuvantní chemoterapie.
- Identifikace pacientek s časným karcinomem prsu a vysokým rizikem recidivy, u nichž je intenzifikace léčby vhodná.
- Identifikace pacientek, které mají prospěch z prodloužené adjuvance.
- Identifikace terapeuticky ovlivnitelných cílů v případě žen s metastatickým onemocněním.

Protože největší důraz je u MGP kladen na deeskalaci léčby a nepodání chemoterapie prognosticky příznivým pacientkám, omezuje se samozřejmě cílová populace, u níž by MGP vyšetření mělo být provedeno. Bez větší diskuze je totiž třeba vždy počítat s chemoterapií u žen s triple negativním karcinomem prsu, s HER2 pozitivním karcinomem prsu, u žen ve třetím klinickém stadiu a samozřejmě u žen podstupujících neoadjuvantní chemoterapii bez ohledu na vstupní klinické stadium. Tedy, v adjuvantní situaci předpokládáme, že MGP umožní rozdělení žen s hormonálně dependentním, HER2 negativním karcinomem prsu $pT_{1,2} pN_{1,3}$ na pacientky s benefitem chemoterapie a bez něj.

Bohužel překotná snaha firem prosadit MGP do klinické praxe probíhala s větší intenzitou než jejich systematické testování, a tak MGP spíše více otázek vyvolávají, než řeší. To je také důvodem, proč MGP nejsou zastoupeny v doporučeních onkologických společností většiny evropských zemí jako vyšetření, která požadovat musíme, abychom dobře rozhodli (na rozdíl od jasně etablovaných prediktorů, jako jsou estrogenové a progesteronové receptory, HER2 exprese, proliferační index Ki-67, vaskulární a lymfatická invaze, rozsah uzlinového postižení a v některých zemích též uPA/PAI, bez nich se prostě neobejdeme).

Za naprosto základní chybu považují neexistenci toho nejjednoduššího, co by mělo být provedeno a co by mne v případě pozitivního výsledku přesvědčilo k používání MGP. Chybí totiž jednoduchá randomizovaná prospektivní studie

Obrázek č. 1: Ženy s karcinomem prsu diagnostikované 2000–2003



Zdroj: upraveno podle J Clin Oncol 2018; 36: 735 p.

Legenda: DR – distribuční poměr

na dostatečném souboru pacientů, která by randomizovala pacienty mezi ty, jejichž léčba by byla řízena pomocí MGP, a ty, u nichž bychom postupovali konvenčně. A studovali bychom počty recidiv, přežívání, počty pacientů léčených chemoterapií vs. jenom hormonální terapií... a viděli bychom. Místo toho nemáme buď žádné prospektivní studie tohoto designu (PAM50, EndoPredict®), nebo máme prospektivní studie s jedním (MammaPrint®) nebo mnoha (Oncotype DX®) problémy.

PAM50

PAM50 je MGP, která hodnotí stav 58 cílových genů a rozděljuje pacientky na tři prognostické skupiny ve skóre 0–40, 41–60 a > 60. PAM50 chybí prospektivní studie, které by prokázaly jeho funkčnost a užitečnost ve srovnání s léčbou vedenou standardními postupy bez MGP. K dispozici jsou tak jen retrospektivní analýzy dvou starších dánských klinických trialů/kohort a společná analýza studií ATAC a ABCTCG-XIII.

MGP PAM50 rozhodně nelze upřít schopnost odlišit ženy nízkého a vysokého rizika, ale středně riziková kategorie je pro něj problematická. Zatímco ve dvou studiích dává střední riziko shodné predikce četnosti recidiv jako nízké

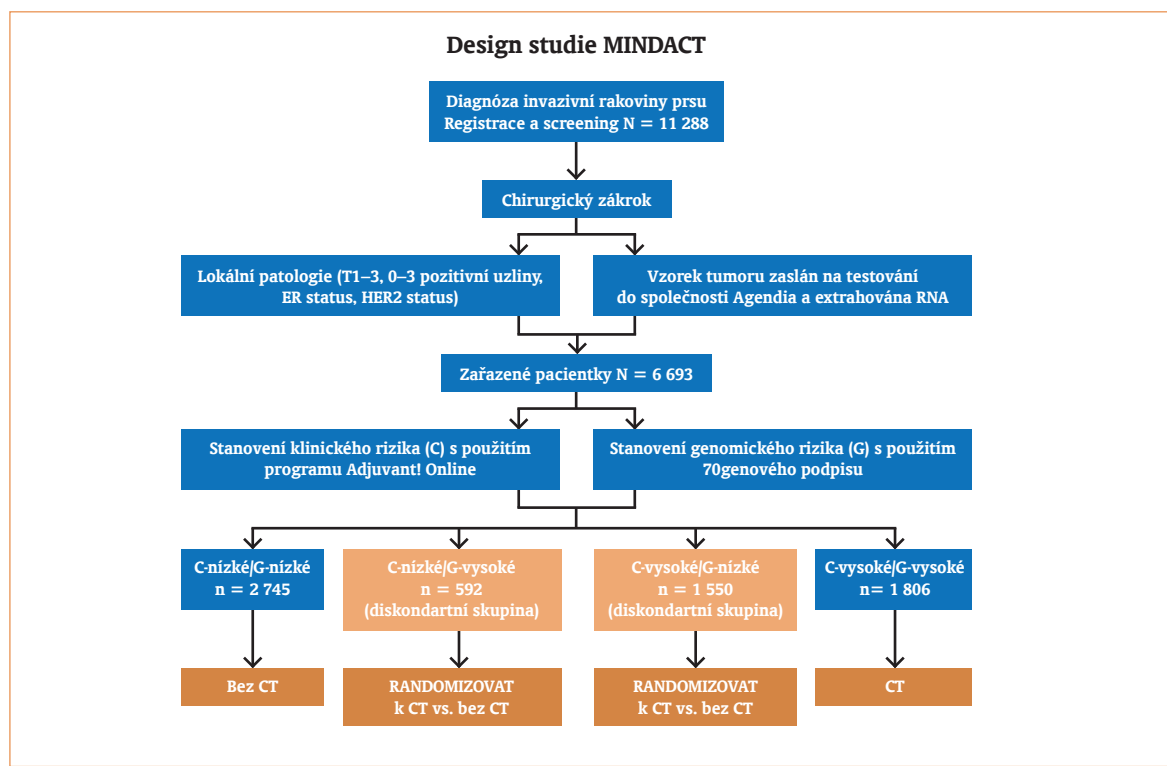
riziko (1, 2), v další naopak jako riziko vysoké (3). Takže jak postupovat u těchto žen?

A ještě jedna zajímavá věc. Pokud se detailně podíváme na analýzu největšího souboru z Dánska (1395 N+ pacientek), pak vidíme, že u 58 % žen vychází nízké a střední riziko dle PAM50, které má jen minimum recidiv. Tudíž bychom u těchto žen nemuseli aplikovat chemoterapii. Jenže u stejně velké populace – u 58 % pacientek – lze najít běžným způsobem bez nutnosti použití panelu PAM50 nádor typ luminální A, těmto pacientkám také nemusíme dát chemoterapii (obrázek č. 1). Takže otázkou je, proč test dělat, když populaci žen, které chemoterapii léčit nechceme, test nerozšíří, a já levněji a snadněji dosáhnou stejného cíle posouzením typu nádoru dle konvenčních kritérií.

MammaPrint®

Při diskuzi o MammaPrint® – 70genovém testu rizika recurence onemocnění – je klíčové rozebrat do hloubky design a výsledky studie MINDACT (obrázek č. 2). Do studie vstoupilo 6693 pacientek, přičemž u každé ženy bylo stanoveno riziko recidivy podle (ne)přítomnosti klinických rizikových faktorů dle aplikace Adjuvant! Online a podle genomického testu MammaPrint® (4).

Obrázek č. 2: Design a výsledky studie MINDACT



Zdroj: Markopoulos C, Hyams DM, Gomez HL, et al. Multigene assays in early breast cancer: Insights from recent phase 3 Studies. Eur J Surg Oncol 2019; doi: 10.1016/j.ejso.2019.10.019

Ženy s nízkým rizikem klinickým i genomickým byly léčeny pouze hormonální léčbou a nebyly randomizovány. Ženy s vysokým rizikem klinickým i genomickým byly léčeny chemoterapií +/- hormonální léčbou a nebyly randomizovány. Ženy s jedním výsledkem „vysoké riziko“ a druhým rizikem „nízké riziko“ byly randomizovány k hormonální léčbě nebo k chemo-hormonoterapii. Sledoval se parametr přežívání bez známek vzdálené recidivy, čas bez známek nemoci i celkové přežívání.

Ze dvou randomizovaných skupin lze dále diskutovat pouze ženy z populace vysokého klinického a nízkého genomického rizika – a to proto, že populace žen druhé skupiny (klinicky nízké, genomicky vysoké riziko) byla rozsahem 4krát menší, než byl rozsah potřebný pro dosažení statistické signifikance, ať už negativní, nebo pozitivní. U žen vysokého klinického a nízkého genomického rizika bylo zjištěno, že četnost recidiv je ve skupině léčené chemo-hormonoterapií stejná jako ve skupině léčené jen hormonálně (distant metastasis free survival,

96,5 vs. 94,0%, 95% CI 0,6–1,06; $p = 0,08$). Tedy, v této studii se **skutečně podařilo docílit toho, že identifikujeme ženy, které chemoterapii dostat nemusí**. Negativně zaměřený investigátor by sice mohl namítnout, že pacientky s lumenálním typem A mají stejné přežívání jako ženy klinicky vysoce rizikové, genomicky níže rizikové, ale zde paralela s PAM50 končí. **U MammaPrint® je totiž skupina žen, které dle MammaPrint® dostat chemoterapii nemusí, mnohem větší, než populace žen s nádory lumenálního typu A (63 vs. 47 %)**. Jediný malý černý puntík ode mne dostává studie MINDACT za to, že při stratifikaci dle klinického rizika nevyužila všechny možnosti konvenční diagnostiky, tedy nezohlednila mezi jinými faktory uPA/PAI nebo Ki-67.

MammaPrint® považují za nejpropracovanější MGP test. V klinické praxi je vhodné o jeho provedení uvažovat u klinicky rizikových žen. Na rozdíl od níže uvedeného testu Oncotype DX® je využitelný i u žen s pozitivitou axilárních uzlin.

Oncotype DX®

Oncotype DX® je MGP, který využívá kombinace analýzy stavu 21 genů k určení rizika vzniku recidivy. Hned v tomto prvním okamžiku se dostáváme do problému – jaká hodnota rizikového skóre (RS) hovoří pro podání chemoterapie a jaká již nikoliv? Odpověď není jednoznačná.

Z retrospektivní analýzy studie SWOG-8814 (5), ve které proběhla randomizace N+ pacientek mezi hormonální léčbu a chemoterapii + hormonální léčbu (ať už sekvenčně, či konkomitantně a sekvenčně) bylo zjištěno, že benefit chemoterapie se dostavil pouze u žen se skóre vyšším než 31. Test byl proveden u 367 pacientek s dostupnou nádorovou tkání.

V prospektivní německé studii Plan B randomizující 2274 pacientek, z nichž 35,2% bylo N-, nebyla chemoterapie podána níže rizikové populaci se skóre 11 a méně. Ostatní ženy dostaly chemoterapii i hormonální léčbu. **Pětiletý čas bez známké invazivní recidivy byl shodný mezi pacientkami s RS 0–11 léčenými hormonoterapií a RS 12–25 léčenými chemoterapií a hormonální léčbou.** S ohledem na výsledky paralelně probíhající studie TAILORx by bylo vhodné znát přesnou míru přínosu chemoterapie ve skupině RS 12–25, ovšem design studie Plan B odpověď na tuto otázku nedává. Pacientky s RS nad 26 měly horší léčebné výsledky i přes podání chemoterapie a hormonální léčby.

Studie TAILORx (6) hodnotila léčebné výsledky u 9719 N- žen. Randomizačními kritérii byla velikost nádoru, adjuvantní chemoterapeutický režim, typ pooperační radioterapie a RS. Tato studie je mnohými mými kolegy i výrobcem MGP považována za racionální základ potvrzující vhodnost použití Oncotype DX® při rozhodování o pooperační léčbě. TAILORx rozdělil pacientky na tři skupiny. Ženy s RS 0–10 byly léčeny výhradně hormonální léčbou. Ženy se skóre 26+ byly léčeny vždy chemoterapií a hormonální léčbou. Ženy intermediální skupiny 11–25 podstoupily randomizaci mezi hormonální vs. chemoendokrinní léčbu. Výsledkem studie je zjištění, že devátý rok od jejího zahájení měly obě randomizované skupiny žen stejnou pravděpodobnost nedostat invazivní recidivu (invasive disease recurrence, hormonoterapie vs. chemo-hormonoterapie: 83,3 ± 0,9% vs. 84,3 ± 0,8 %). Studie je však **bohužel zatížena řadou metodických chyb, které statisticky pozitivní výsledky zpochybňují.** Prvním problémem je samotný design. Stratifikace všech pacientů probíhala podle RS, aniž by byla zodpovězena v této či jiné studii mnohem potřebněj-

ší otázka – jsou léčebné výsledky při standardní metodice rozhodování (rizikové skóre dle St. Gallen apod.) stejné/jiné ve srovnání s experimentálním přístupem při využití MGP v rozhodovacím procesu o pooperační léčbě? Dále – studie nerandomizuje běžnou populaci, neboť skupina žen s vyšším rizikem recidivy je podhodnocena. Za zásadní chybu považují fakt, že více než 12% žen nedostalo léčbu, která jim byla randomizací určena! 185 z 3319 pacientek ze skupiny určené k hormonální terapii obdrželo i chemoterapii. Naopak 608 žen z 3312 pacientek určených k chemoterapii ji nikdy nedostalo. Tedy, v rameni s plánovanou nižší intenzitou léčby (hormonoterapie) byla intenzita léčby zvýšena, ve druhém rameni určeném k intenzivnější léčbě (chemo-hormonoterapii) byla intenzita snížena. Obě chyby tak způsobily možnost maskovat eventuální statistické rozdíly v léčebných výsledcích a vést k nesprávným závěrům a interpretacím. Další problém spočívá v reportování různých počtů zařazených pacientek nebo neseidících součtů pacientek podle určitých podskupin v klíčových tabulkách originální publikace. Souhrnně vzato, tyto výsledky je nutno posuzovat s obezřetností, určitým odstupem a s trochou odborné skepse.

BCI

Breast Cancer Index (BCI) je poměrem exprese dvou genů: genu *HOXB13* ku *IL17BR*. Hodnota nad 0,06 hovoří pro vyšší riziko recidivy. To, zda je možné tímto testem definovat skupinu pacientek, u nichž lze předpokládat benefit prodloužené adjuvantní léčby, bylo studováno na populaci žen podstupujících randomizaci do studií aTTom a MA.17.

Ve studii aTTom bylo 6956 žen randomizováno k pětiletému nebo desetiletému podání tamoxifenu (7). U zkoumané podskupiny 583 žen s axilární pozitivitou byl nalezen vysoký BCI u 49% z nich – a právě tyto ženy měly signifikantní benefit z prodloužené adjuvance. Riziko recidivy u nich bylo sníženo relativně v rozsahu HR 0,35; 95% CI 0,15–0,86; p = 0,027, čemuž odpovídá absolutní redukce o 10,9% dvanáct let po randomizaci. Naopak data u podskupiny N+ BCI_{low} ukazují, že u těchto žen není prodloužená adjuvance přínosná.

Studie MA.17 randomizovala po pětiletém podání tamoxifenu mezi pětileté podání letrozolu nebo placebo. Za dobu sledování souboru žen bylo identifikováno 83 žen s recidivou. Autoři připravili kohortovou studii (8), kdy ke každé ženě s recidivou našly dvě jiné ženy se stejnými klinickými charakteristikami, ale bez recidivy. Vysoká hodnota BCI byla signifikantně spjata s benefitem letrozolu (OR = 0,35;

95% CI 0,15–0,73; $p = 0,006$). Zatímco nemocné s nízkým BCI měly stejné 5leté RFS, ať už byly léčeny, nebo nikoliv (letrozol vs. placebo, 91 vs. 87 %), pro pacientky s vysokým BCI byla zjištěna zásadně lepší prognóza, pokud byly aktivně léčeny (5leté RFS letrozol vs. placebo, 89,5 vs. 73 %). Souhrnně tedy z dat obou studií plyne, že BCI je schopen identifikovat:

- a) skupinu pacientek, kde lze očekávat významnou redukci četnosti recidiv při podání prodloužené adjuvance,
- b) skupinu pacientek, která z prodloužené adjuvance benefit nemá.

Vzhledem k tomu, že s ohledem na extrémně dlouhou délku follow-upu a potřebu rozsáhlé studované populace nelze očekávat tvorbu prospektivních studií v designu s BCI jako stratifikačním parametrem, je vhodné při pochybnostech o nasazení prodloužené adjuvance tento test provést.

MGP pro metastatické onemocnění

Metastatický karcinom prsu je charakteristický dynamickou tvorbou nových klonů nádorových buněk, přičemž každý takovýto klon lze charakterizovat určitým vzorcem exprese, resp. represe některých genů. Proto existuje opodstatněná snaha tyto expresní vzorce stanovovat, a to nejen jednou, ale třeba i opakovaně v průběhu nemoci, a reagovat cílenou terapií v případě, že je nějaký terapeuticky ovlivnitelný cíl nalezen.

Takto se postupuje v rámci prospektivních klinických studií v řadě velkých onkologických center v USA (MDACC, Roswell Park), nebo na národní úrovni – např. v Nizozemí je aktivován Drug Rediscovery Protocol (DRUP) basket trial (NCT02925234), který umožňuje off-label přístup k novým lékům na základě genetické alterace, nikoliv histopatologické diagnózy.

Co je nešťastné, že se takto postupuje i mimo rámec klinických studií, tedy ještě před zodpovězením fundamentální otázky, zda léčba řízená s využitím MGP vede k lepším výsledkům než léčba konvenční. Pacientky tak za vysokou cenu diagnostického testu nejprve získají přehnaná nerealistická očekávání, která jsou vystřídaná skepsí poté, co cíl není nalezen nebo cíl nalezen je, ale dostupnost léku je nulová, nebo nalezený cíl nevede k dosažení léčebné odpovědi.

Právě poslední parametr je něco, nad čím je třeba se pozastavit. Nelze nabízet inhibitor určitého genu bezhlavě

napříč diagnózami, protože stejná alterace může mít v kontextu exprese jiných genů odlišný terapeutický dopad. Dobrým příkladem je např. mutace genu *BRAF V600E*, která má zcela jiný efekt u metastatického melanomu a jiný u metastatického kolorektálního karcinomu. Podobně přítomnost exprese PD-L1 např. v plicním nádoru má jiný efekt než exprese stejného prediktoru u karcinomu žaludku.

Souhrnně, testování MGP u metastatického karcinomu prsu není v tuto chvíli odborně dokončené. Medicína založená na důkazech je v této indikaci zcela upozaděna, i když se nám budou některé společnosti snažit tvrdit opak.

Závěr

Rozhodovací proces u pacientek s časným karcinomem prsu je i v roce 2020 založen na zhodnocení standardních prediktorů, kterými jsou estrogenové a progesteronové receptory, HER2 exprese, proliferační index Ki-67, vaskulární a lymfatická invaze, rozsah uzlinového postižení a v některých zemích též uPA/PAI. Za přesně definovaných okolností můžeme u pacientky indikovat provedení MGP, který má nejvyšší stupeň průkazu – a to MammaPrint®. Naopak **studie s Oncotype DX® jsou zatíženy mnoha metodickými chybami, a proto tento test nelze pro rutinní praxi doporučit.** A totéž platí i pro PAM50 a EndoPredict®. Těmto MGP chybí jakákoliv prospektivní data o tom, že lze z jejich závěrů vycházet.

Pozitivně je třeba hodnotit BCI test. V případě úvahy o prodloužené adjuvanci je namístě zvážit jeho provedení proto, abychom našli vhodnou kandidátku k pokračování léčby.

U pacientek s metastatickým karcinomem prsu je MGP zcela experimentální záležitostí a měl by být nabízen pouze v rámci kontrolované klinické studie bez nutnosti hradit test z prostředků pacientky, jejich blízkých nebo veřejného zdraví.

Multigenové panely musí, až na výjimky, projít dalším klinickým testováním, abychom našli takové jejich místo v našich algoritmech, kde bychom mohli s jistotou říci: zde našim pacientkám pomáhají.

doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D.
Sunderby sjukhus, Sweden
e-mail: onkologie@seznam.cz

Literatura

- GNANT M, SESTAK I, FILIPITS M, et al. Identifying clinically relevant prognostic subgroups of postmenopausal women with node-positive hormone receptor-positive early-stage breast cancer treated with endocrine therapy: a combined analysis of ABCSG-8 and ATAC using the PAM50 risk of recurrence score and intrinsic subtype: *Ann Oncol* 2015; 26: p. 1685–1691.
- LAENKHOLM AV, JENSEN OE, ERIKSEN JO, et al. PAM50 Risk of Recurrence Score Predicts 10-Year Distant Recurrence in a Comprehensive Danish Cohort of Postmenopausal Women Allocated to 5 Years of Endocrine Therapy for Hormone Receptor-Positive Early Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36: p. 735–740.
- JENSEN MB, LAENKHOLM AV, TORSTEN O, et al. The Prosigna gene expression assay and responsiveness to adjuvant cyclophosphamide-based chemotherapy in premenopausal high-risk patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 2018; 20: p. 79–88.
- CARDOSO F, Van VEER LJ, BOGAERTS J, et al. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early stage breast cancer. *N Engl J Med* 2016; 375: p. 17–29.
- ALBAIN KS, BARLOW WE, SHAK S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *The Lancet Oncol* 2010; 11: p. 55–65.
- SPARANO JA, GRAY RJ, MAKOWER DE, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2018; 379: p. 111–121.
- BARLETT JMS, SGROI DC, TREUNER K, et al. Breast Cancer Index and prediction of benefit from extended endocrine therapy in breast cancer patients treated in the Adjuvant Tamoxifen – To Offer More? (aTOM) trial. *Ann Oncol* 2019; 30: p. 1776–1783.
- SGROI DC, CARNEY E, ZARRELLA D, et al. Prediction of Late Disease Recurrence and Extended Adjuvant Letrozole Benefit by the HOXB13/IL17BR Biomarker. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: p. 1036–1042.

12. | *Prague*
ONCO
ONCOLOGY COOPERATION



12. pražské mezioborové onkologické kolokvium

WORLD INTERDISCIPLINARY ONCOLOGY COLLOQUIUM

LÉKAŘI A SESTRY RŮZNÝCH OBORŮ
SPOLEČNĚ PROTI ZHOUBNÝM NÁDORŮM

20.–22. ledna 2021
Clarion Congress Hotel Prague****
Freyova 33, Praha 9, Česká republika

Informace budou průběžně zveřejňovány
na www.pragueonco.cz

POŘADATEL A ORGANIZÁTOR KOLOKVIA

We Make Media, s. r. o. / tel.: +420 778 476 475

e-mail: info@pragueonco.cz / www.pragueonco.cz



we make media