



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA **80** let
years

KATEDRA
ZA
ONKOLOGIJO

Slovensko
Zdravniško
Društvo

16. DNEVI INTERNISTIČNE ONKOLOGIJE

MOLEKULARNA DIAGNOSTIKA ZA KLINIKE

LJUBLJANA
19.-20. november 2020

ZAUSTAVITE NAPREDOVANJE BOLEZNI IN PODALJŠAJTE PREŽIVETJE

Pri bolnikih z mHSPC, zdravljenje samo z ADT ni dovolj.

ZDRAVILO ERLEADA® JE SEDAJ ODOBRENO TUDI ZA ZDRAVLJENJE BOLNIKOV S HORMONSKO OBČUTLJIVIM, METASTATSKIM RAKOM PROSTATE (mHSPC).¹

Zgodnja uporaba zdravila ERLEADA+ADT v primerjavi z ADT pomembno podaljša preživetje bolnikov in zmanjša tveganje za napredovanje bolezni, hkrati pa prihrani druge oblike zdravljenja za kasnejše stadije bolezni.¹⁻³

Skršjan povzetek glavnih značilnosti zdravila ERLEADA*

▽ Za to zdravljenje se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevem neželenem učinku zdravila. Glejte poglavje 4.8 povzetka glavnih značilnosti zdravila, kako poročati o neželenih učinkih.

Ime zdravila: Erleada 60 mg filmsko obložene tablete. **Kakovostna in količinska sestava:** 60 mg apalutamida; pomožne snovi: brezvodni koloidni silicijev dioksid, premreženi natrijev karmelozat, hipromeloza acetat sukcinat, magnezijev stearat, mikrokristalna celuloza, mikrokristalna celuloza (silicijirana), črni in rumeni železov dioksid, makrogol, polivinilalkohol (delno hidroliziran), smukec, titanov dioksid. **Indikacije:** Zdravljenje odraslih moških z nemetastatskim, na kastracijo odpornim rakom prostate (nmCRPC), pri katerih obstaja veliko tveganje za razvoj metastatske bolezni. Za zdravljenje odraslih moških s hormonsko občutljivim metastatskim rakom prostate (mHSPC) v kombinaciji z zdravljenjem z odtegnitvijo androgenov. **Odmerjanje in način uporabe:** Priporočeni odmerek je 240 mg (štiri 60-miligramske tablete) v enkratnem peroralnem odmerku na dan. Med zdravljenjem je treba pri bolnikih, ki niso bili kirurško kastrirani, nadaljevati medicinsko kastracijo z analogom gonadolibarina. V primeru izpuščenega odmerka je treba zdravilo vzeti čimprej še isti dan, naslednji dan pa naj odmerjanje nadaljuje po običajnem razporedu. Dodatnih tablet za nadomestitev pozabljenega odmerka se ne sme vzeti. Če se pri bolniku pojavijo toksični učinki ≥ 3 . stopnje ali nesprijemljivi neželeni učinki, je treba uporabo zdravila prekiniti začasno in ne dokončno, dokler se simptomi ne izboljšajo na ≤ 1 . stopnjo oziroma na začetno stopnjo, nato pa z zdravljenjem nadaljevati z enakim ali manjšim odmerkom (180 mg ali 120 mg), če je potrebno. Starejšim bolnikom, bolnikom z blago do zmerno okvaro ledvic ali jeter odmerka ni treba prilagajati. Pri bolnikih s hudo okvaro ledvic je potrebna previdnost, pri bolnikih s hudo okvaro jeter pa uporaba ni priporočljiva. Tablete je treba pogoltniti cele in se jih lahko jemlje s hrano ali brez nje. Apalutamid ni namenjen za uporabo pri pediatrični populaciji. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov, nosečnice in ženske, ki bi lahko zanosile. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Uporaba zdravila ni priporočljiva pri bolnikih z anamnezo konvulzij ali drugimi predispozicijskimi dejavniki, med drugim tudi pri bolnikih s poškodbo možganov, nedavno kapjo (v zadnjem letu), pri bolnikih s primarnimi možganskimi tumorji ali metastazami v možganih. Pri bolnikih, ki so prejeli apalutamid je prišlo do padcev in zlomov, zato je treba pred uvedbo zdravljenja pri bolnikih oceniti tveganje za zlome in padce, bolnike pa spremljati po ustaljenih smernicah in premisлити o uporabi učinkovin, ki delujejo na kosti. Bolnike je treba spremljati tudi glede znakov in simptomov ishemične bolezni srca in optimizirati obvladovanje dejavnikov tveganja za srčno-žilne bolezni. Sočasni uporabi apalutamida z zdravili, ki so občutljivi substrati več presnovnih encimov ali prenašalcev, se je načeloma treba izogibati, če je terapevtski učinek teh zdravil za bolnika zelo pomemben in njihovega odmerjanja ni mogoče enostavno prilagajati na osnovi spremljanja učinkovitosti ali koncentracij v plazmi. Sočasni uporabi z varfarinom ali kumarinskimi antikoagulansi se je treba izogibati. Če se predpiše apalutamid, je treba pri bolnikih s klinično pomembnimi boleznimi srca in ožilja spremljati dejavnike tveganja kot so hiperholesterolemija, hipertrigliceridemija ali druge srčno presnovne bolezni. Zdravljenje z odtegnitvijo

androgenov lahko podaljša interval QT. **Interakcije:** Apalutamid je induktor encimov in prenašalcev in lahko povzroči povečan obseg odstranjevanja številnih pogosto uporabljenih zdravil. Pri sočasnem odmerjanju tega zdravila s katerim od močnih zaviralcev CYP2C8 ali močnih zaviralcev CYP3A4 začetnega odmerka ni treba prilagajati, premisliti pa velja o zmanjšanju odmerka zdravila Erleada na osnovi prenašanja zdravila. Ni pričakovati, da bi induktorji CYP3A4 ali CYP2C8 klinično pomembno vplivali na farmakokinetiko apalutamida in aktivnih frakcij. Pri sočasni uporabi s substrati CYP2B6 je treba spremljati neželene učinke in oceniti izgubo učinka substrata ter za zagotovitev optimalnih plazemskih koncentracij morda prilagoditi odmerek substrata. Sočasna uporaba z zdravili, ki se primarno presnavljajo s CYP3A4 (kot so darunavir, felodipin, midazolam in simvastatin), s CYP2C19 (kot sta diazepam in omeprazol) ali s CYP2C9 (kot sta varfarin in fenitoin), lahko povzroči zmanjšanje izpostavljenosti tem zdravilom. Pri sočasni uporabi s substrati UDP-glukuronil transferaze je potrebna previdnost. Pri sočasni uporabi s substrati P-gp, BCRP ali OATP1B1 je potrebna ocena obsega zmanjšanja učinka ter za zagotovitev optimalnih plazemskih koncentracij morda prilagoditi odmerek substrata. Ni mogoče izključiti možnosti, da apalutamid in njegov N-desmetil presnovek zavirata prenašalce OCT2, OAT3 in MATE. Pri preiskovancih z mHSPC, ki so prejeli levoprolinjev acetat (analog GnRH), sočasna uporaba apalutamida ni bistveno vplivala na izpostavljenost leuprolidu v stanju dinamičnega ravnovesja. Skrbna presoja je potrebna tudi pri sočasni uporabi z zdravili, za katera je ugotovljeno, da podaljšujejo interval QT, oziroma z zdravili, ki lahko izkovejo Torsades de pointes. **Nosečnost in dojenje:** Ni znano, ali so apalutamid ali njegovi presnovki prisotni v spermi, zato lahko to zdravilo škoduje plodu v razvoju. Bolniki, ki imajo spolne odnose z žensko v rodni dobi, morajo med zdravljenjem in še 3 mesece po zadnjem odmerku zdravila Erleada uporabljati kondome skupaj s še katero od drugih visoko učinkovitih metod kontracepcije. Zdravilo se ne sme uporabljati med dojenjem. **Neželeni učinki:** Hipotiroidizem, hiperholesterolemija, hipertrigliceridemija, disgevizija, konvulzije, ishemična bolezen srca, podaljšanje intervala QT, vročinski oblivi, hipertenzija, driska, kožni izpuščaji, srbenje, zlomi, artralgija, mišični krči, utrujenost, zmanjšanje telesne mase, padci. Za popoln seznam neželenih učinkov glejte Povzetek glavnih značilnosti zdravila. **Imetnik DžP:** Janssen-Cilag International NV, Turnhoutseweg 30, 2340 Beerse, Belgija **Predstavniki imetnika DžP v Sloveniji:** Johnson & Johnson d.o.o., Šmartinska cesta 53, Ljubljana.

Režim izdajanja zdravila: Rp/Spec. **Datum odobritve:** 27. 01. 2020

Povzetek glavnih značilnosti zdravila s podrobnejšimi informacijami o zdravilu je dostopen pri predstavniku imetnika dovoljenja za promet.

Viri:

1. Povzetek glavnih značilnosti zdravila ERLEADA® (apalutamid).
2. Chi KN, et al. N Engl J Med. 2019;81(1):13-24
3. Chi KN, et al. N Engl J Med. 2019;81(1):13-24. Supplementary information.

Janssen Oncology

PHARMACEUTICAL COMPANIES OF Johnson & Johnson

Janssen, farmacevtski del Johnson & Johnson d.o.o., Šmartinska cesta 53, 1000 Ljubljana, tel: 01 401 18 00, e-mail: info@janssen-slovenija.si

Erleada®
(apalutamid) tablete

Strokovni odbor:

znan. svet. dr. Novaković Srdjan, univ. dipl. biol.
prof. dr. Jezeršek-Novaković Barbara, dr.med.
prof. dr. Tanja Čufer, dr.med.
doc. dr. Erika Matos, dr.med.
dr. Simona Borštnar, dr.med.
prof. dr. Janja Ocvirk, dr.med.
doc. dr. Cvetka Grašič-Kuhar, dr.med.

Organizacijski odbor:

prof. dr. Jezeršek-Novaković Barbara, dr.med.
doc. dr. Erika Matos, dr.med.
Marko Boc, dr.med.
Lidija Kristan

Urednika zbornika:

Marko Boc, dr.med.
doc. dr. Erika Matos, dr.med.

Organizator in izdajatelj (založnik):

Onkološki inštitut Ljubljana
Sekcija za internistično onkologijo
Katedra za onkologijo

SODELUJOČI NA 19. DNEVIH INTERNISTIČNE ONKOLOGIJE:

zn. svet. dr. Srdjan Novaković, univ. dipl. biol., specialist laboratorijske medicinske genetike
Oddelek za molekularno diagnostiko, Onkološki inštitut Ljubljana

prof. dr. Tanja Čufer, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Enota za internistično onkologijo, Univerzitetna klinika Golnik
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

prof. dr. Barbara Jezeršek-Novaković, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

prof. dr. Janja Ocvirk, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

doc. dr. Cvetka Grašič-Kuhar, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

doc. dr. Erika Matos, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

doc. dr. Martina Reberšek, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

doc. dr. Boštjan Šeruga, dr.med., specialist internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

dr. Simona Borštnar, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

dr. Breda Škrbinc, dr.med., specialistka interne medicine in internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

dr. Vida Stegel, univ. dipl. biol., specialistka laboratorijske medicinske genetike, specialistka medicinske biokemije
Oddelek za molekularno diagnostiko, Onkološki inštitut Ljubljana

mag. Mojca Unk, dr.med., specialistka internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

Marko Boc, dr.med., specialist internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

Mirjana Pavlova-Bojadziski, dr.med., specialistka internistične onkologije
Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana

Vita Šetrajčič-Dragoš, MSc. Kraljevina Švedska
Oddelek za molekularno diagnostiko, Onkološki inštitut Ljubljana

asist. dr. Lučka Boltežar, dr.med., specializantka internistične onkologije

Katja Leskovšek, dr.med., specializantka internistične onkologije

Ana Erman, dr.med., specializantka internistične onkologije

Rozala Arko, dr.med., specializantka internistične onkologije

Karla Berlec, dr.med., specializantka internistične onkologije

Luka Dobovišek, dr.med., specializant internistične onkologije

Anja Kovač, dr.med., specializantka internistične onkologije

Kaja Cankar, dr.med., specializantka internistične onkologije

Aleksandra Sokolova, dr.med., specializantka internistične onkologije

Loredana Mrak, dr.med., specializantka internistične onkologije

Klara Geršak, dr.med., specializantka internistične onkologije

Ela Markočič, dr.med., specializantka internistične onkologije

Nina Prepeluh, dr.med., specializantka internistične onkologije

Maša Kitner-Tepeš, dr.med., specializantka internistične onkologije

Dijana Babić, dr.med., specializantka internistične onkologije

Jasna Knez-Arbeiter, dr.med., specializantka internistične onkologije

Valentina Jerič-Horvat, dr.med., specializantka internistične onkologije

Luka Čavka, dr.med., specializant internistične onkologije

KAZALO

Novaković S.: Kancerogeneza in imunologija tumorjev.....	6
Čufer T.: Zakaj klinični onkologi potrebujemo opredelitev molekularnih značilnosti tumorjev.....	24
Novaković S., Škerl P.: Osnovni principi molekularne diagnostike.....	39
Stegel V., Šetrajčič-Dragoš V.: Interpretacija izvidov molekularne diagnostike.....	60
Novaković S.: Klinične poti testiranja	86
Grašič-Kuhar C.: ESMO priporočila za določanje molekularnih tarč.....	92
KLINIČNI PRIMERI UPORABE MOLEKULARNIH ZNAČILNOSTI PRI RAZLIČNIH MALIGNOMIH	
Unk M., Sokolova A., Mrak L.: Rak pljuč	113
Reberšek M., Boc M., Arko R., Berlec K.: Rak prebavil	131
Borštnar S., Matos E., Kovač A., Dobovišek L., Cankar K.: Rak dojke	160
Škrbinc B., Babić D., Knez-Arbeiter J.: Rak sečnega mehurja	181
Šeruga B., Jerič-Horvat V., Čavka L.: Rak prostate	207
Jezeršek-Novaković B., Boltežar L., Kitner-Tepoš M.: Limfomi	220
Grašič-Kuhar C., Geršak K., Markočič E., Prepeluh N.: Rak ORL področja	237
Ocvirk J., Pavlova-Bojadziski M., Leskovšek K., Erman A.: Kožni rak	258



Neulasta® Onpro INJEKTOR OMOGOČA BOLJŠI NADZOR NAD ZDRAVLJENJEM VAŠIH BOLNIKOV...

...saj v 97 % injiciranj zagotavlja uporabo pegfilgrastima v ustreznem časovnem okviru v skladu z veljavnimi smernicami.^{1,3}

Optimalno učinkovitost granulocitne kolonije spodbujajočih faktorjev (G-CSF) dosežemo z aplikacijo v času med 24 ur in 72 ur po zadnjem odmerku kemoterapije.^{2,3}

NEULASTA® 6 mg raztopina za injiciranje (pegfilgrastim) – SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

Samo za strokovno javnost. Pred predpisovanjem si preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila.

SESTAVA ZDRAVILA: Ena napolnjena injekcijska brizga vsebuje 6 mg pegfilgrastima v 0,6 ml (10 mg/ml) raztopine za injiciranje. **TERAPEVTSKE INDIKACIJE:** Skrajšanje trajanja nevropenije in zmanjšanje incidence febrilne nevropenije pri odraslih bolnikih, zdravljenih s citotoksično kemoterapijo za maligne bolezni (z izjemo kronične mieloidne levkemije in mielodisplastičnih sindromov). **ODMERJANJE IN NAČIN UPORABE:** Zdravljenje z zdravilom Neulasta® morajo uvedi in nadzorovati zdravniki, izkušeni v onkologiji in/ali hematologiji. Za vsak cikel kemoterapije priporočajo en 6 mg odmerek (eno napolnjeno injekcijsko brizgo) zdravila Neulasta®, ki je dana vsaj 24 ur po citotoksični kemoterapiji. Varnost in učinkovitost zdravila Neulasta® pri otrocih še nista bili dokazani in priporočil o odmerjanju ni mogoče dati. Pri bolnikih z okvaro ledvic in s končno odpovedjo ledvic odmerka ni treba spreminjati. Zdravilo Neulasta® se injicira subkutano z napolnjeno injekcijsko brizgo za ročno injiciranje, ali z napolnjeno injekcijsko brizgo in injektorjem, ki se pritrji na telo, za avtomatično injiciranje. Ročno dane injekcije se morajo dati v stegno, trebuh ali zgornji del roke. Injektor je treba napolniti s priloženo napolnjeno injekcijsko brizgo. Injektor je treba nanesiti na nepoškodovano, nerazdraženo kožo na zadnji strani nadlakti ali na trebuhu. Približno 27 ur po namestitvi injektorja na bolnikovo kožo, bo injektor v teku približno 45 minut injiciral zdravilo Neulasta®.

KONTRAINDIKACIJE: Preobčutljivost na učinkovino ali katerikoli pomožni snov. **POSEBNA OPOZORILO IN PREVIDNOSTNI UKREPI:** **Sledljivost:** Za izboljšanje sledljivosti granulocitne kolonije spodbujajočih faktorjev (G-CSF) je treba v bolnikovi dokumentaciji jasno zabeležiti zaščiteno ime uporabljenega zdravila. Pri bolnikih z de novo akutno mieloidno levkemijo (AML) omejeni klinični podatki kažejo primerljiv učinek pegfilgrastima in filgrastima na čas do okrevanja po hudi nevropeniji. Dolgoročni učinki pegfilgrastima pri AML niso ugotovljeni, zato ga je treba pri tej populaciji bolnikov uporabljati previdno. Varnost in učinkovitost pegfilgrastima nista raziskani pri bolnikih s mielodisplastičnim sindromom, s kronično mieloidno levkemijo in s sekundarno AML, zato ga pri takšnih bolnikih ne smete uporabljati. Posebno pozornost je treba nameniti razlikovanju diagnoze blastne transformacije kronične mieloidne levkemije od AML. Varnost in učinkovitost uporabe pegfilgrastima pri bolnikih z de novo AML, mlajših od 55 let in s citogenetiko t(15;17), nista ugotovljeni. Varnost in učinkovitost pegfilgrastima niso raziskovali pri bolnikih, ki prejemajo kemoterapijo v velikih odmerkih. Težava zdravila ne smete uporabljati za zvečevanje odmerka citotoksične kemoterapije preko uveljavljenih shem odmerjanja. **Neželene reakcije na pljučih:** Bolj ogroženi so lahko bolniki z nedavno anamnezo pljučnih infiltratov ali pljučnice. Pojav pljučnih znakov, kot so kašelj, zvišana telesna temperatura in dispneja v povezavi z radiološkimi znaki pljučnih infiltratov, in poslabšanje pljučne funkcije skupaj z zvečanim številom nevtrofilcev utegnejo biti preliminarni znaki sindroma akutne dihalne stiske (ARDS - 'Acute Respiratory Distress Syndrome'). V takih primerih je treba pegfilgrastim po presoji zdravnika prenehati dajati in poskrbeti za ustrezno zdravljenje. **Glomerulonefritis:** Na splošno so primeri glomerulonefritisa minili po zmanjšanju odmerka ali prenehanju uporabe filgrastima ali pegfilgrastima. Priporočljivo je spremljanje laboratorijskih izvidov urina. **Sindrom kapilarne prepustnosti:** Bolnike, ki se jim pojavijo simptomi sindroma kapilarne prepustnosti, je treba natančno kontrolirati in deležni morajo biti standardnega simptomatskega zdravljenja, ki lahko vključuje potrebo po intenzivni negi. **Splenomegalija in ruptura vranice:** Skrbno je treba spremljati velikost vranice (s kliničnim pregledom, ultrazvokom). Na diagnozo rupture vranice moramo misliti pri bolnikih, ki poročajo o bolečini v zgornjem levem delu trebuha ali v predelu lopatice. **Trombocitopenija in anemija:** Zdravljenje s samim pegfilgrastim ne prepreči trombocitopenije in anemije, ker se hkrati vzdržuje mielosupresivna kemoterapija s polnimi odmerki po predpisani shemi. Priporočilo redno spremljanje števila trombocitov in hematokrita. Posebna previdnost je potrebna med uporabo posameznih kemoterapevtikov ali njihovih kombinacij, za katere je znano, da povzročajo hudo trombocitopenijo. **Napaka pri uporabi zdravila kot posledica odpovedi pripomočka:** V primeru odpovedi ali nepravilnega delovanja injektorja obstaja tveganje za napako pri uporabi zdravila, zlasti za injiciranje le delnega odmerka ali za izpuščen odmerek pegfilgrastima. V primeru delnega ali izpuščenega odmerka obstaja večje tveganje za učinke, kot so nevropenija, febrilna nevropenija in/ali okužbe, kakor bi bilo, če bi bil odmerek pravilno injiciran. Zdravstveni delavec mora poskrbeti, da je bolnik deležen ustreznega usposabljanja o injektorju ter da ve, da se mora v primeru suma na odpoved injektorja ali njegovo nepravilno delovanje nemudoma posvetovati z zdravstvenim delavcem, saj bo morda potreben nadomestni odmerek. Izjema navodila za uporabo za zdravstvene delavce in bolnike so navedena v navodilu za uporabo. Bolnik mora dobiti tudi opozorilno kartico za bolnika. **Srpastocelčna anemija:** Pri bolnikih s srpastocelčno anemijo je bila uporaba pegfilgrastima povezana s srpastocelčno krizo, zato se mora pri teh bolnikih pegfilgrastim predpisovati previdno in spremljati ustrezne klinične parametre in laboratorijske status in biti pozoren na morebitno povezavo tega zdravila z zvečanim vranice in vazokluzivno krizo. **Levkoцитоза:** Zaradi kliničnih učinkov zdravila Neulasta® in zaradi možnosti levkoцитозе je treba med zdravljenjem redno kontrolirati število belih krvničk. Če število levkoцитov po pričakovanem najmanjšem številu preseže 50 x 10⁹/l, je treba nemudoma prenehati z zdravljenjem s tem zdravilom. **Preobčutljivost:** Dokončno prenehajte z zdravljenjem s pegfilgrastim pri bolnikih s klinično signifikantno preobčutljivostjo. Pegfilgrastima ne dajate bolnikom z anamnezo preobčutljivosti na pegfilgrastim ali filgrastim. V primeru resne alergijske reakcije je treba poskrbeti za ustrezno zdravljenje in pazljivo spremljanje bolnika še nekaj dni. **Stevens-Johnsonov sindrom:** V povezavi z zdravljenjem s pegfilgrastim so redko poročali o Stevens-Johnsonovem sindromu (SJS), ki je lahko smrtno nevaren ali smrten. Če se je pri bolniku ob uporabi pegfilgrastima pojavil SJS, se pri tem bolniku nikoli več ne sme ponovno uvesti zdravljenja s pegfilgrastimom. **Imunogenost:** Kot pri vseh terapevtskih beljakovinskih obstaja možnost imunogenosti. Stopenja nastajanja protiteles proti pegfilgrastimu je na splošno nizka. Vežavna protitelesa se pojavijo po pričakovanih pri vseh bioloških zdravilih, vendar jih doslej niso povezali z nevtralizacijskim delovanjem. **Aortitis:** Po dajanju G-CSF zdravim osebam in bolnikom z rakom so poročali o aortitisu. Aortitis so v večini primerov diagnosticirali s slikanjem s CT, na splošno pa je minil po ukinitvi G-CSF. **Ostala opozorila:** Varnost in učinkovitost zdravila Neulasta® za mobilizacijo matičnih krvotvornih celic pri bolnikih ali zdravih dajalcih niso primerno ovrednotili. Pokrovec igle pri napolnjeni injekcijski brizgi vsebuje suho naravno gumo (derivat lateksa), ki lahko povzroča alergične reakcije. Za namestitve injektorja je uporabljeno akrilno leplivo. Bolnikom, ki imajo reakcije na akrilna lepila, lahko uporaba tega pripomočka povzroči alergijsko reakcijo. Povečana hemoptoična aktivnost kostnega mozga zaradi zdravljenja z rastnimi dejavniki je bila povezana s prehodnimi pozitivnimi izvidi pri slikanju kosti, kar je treba upoštevati pri interpretaciji izvidov na podlagi slikanja kosti. Zdravilo Neulasta® vsebuje sorbitol. Bolniki z redko prirojeno motnjo intolerance za fruktozo ne smejo dobiti tega zdravila. To zdravilo vsebuje manj kot 1 mmol (23 mg) natrija na 6 mg odmerka, kar v bistvu pomeni 'brez natrija'. **MEĐSEBOJNO DELOVANJE ZDRAVIL IN DRUGE OBLIKE INTERAKCIJ:** Zaradi možne obrednosti hitro se deliči mieloidnih celic za citotoksično kemoterapijo je treba pegfilgrastim dati vsaj 24 ur po aplikaciji citotoksične kemoterapije. Sočasne uporabe zdravila Neulasta® s katerikoli kemoterapevtskim zdravilom pri bolnikih niso ugotovljeni. **NEŽELENI UČINKI:** Zelo pogosti (≥ 1/10): glavobol, navzea, bolečina v kosteh. Pogosti (≥ 1/100 do < 1/10): trombocitopenija, levkoцитоза, kontaktni dermatitis, mišično-skeletna bolečina (mialgija, artralgija, bolečina v okončinah, bolečina v hrbtu, mišično-skeletna bolečina, bolečina v vratu), bolečina na mestu injiciranja, reakcije na mestu aplikacije, bolečina v prsih, ki ne izvira od srca. Občasni (≥ 1/1.000 do < 1/100): srpastocelčna kriza, splenomegalija, ruptura vranice, preobčutljivostne reakcije, anafilaksija, zvišanje sečne kisline, sindrom kapilarne prepustnosti, sindrom akutne dihalne stiske, pljučne neželene reakcije (intersticijska pljučnica, pljučni edem, pljučni infiltrati in pljučna fibroza), hemoptiza, Sweetov sindrom (akutna febrilna dermataza), kožni vaskulitis, glomerulonefritis, reakcije na mesto injiciranja, zvišanje laktat-dehidrogenaze in alkalne fosfataze, prehodno zvišanje jetrnih funkcijskih testov za ALT ali AST. Redki (≥ 1/10.000 do < 1/1.000): aortitis, pljučna hemoragija, Stevens-Johnsonov sindrom. **NAČIN IN REŽIM PREDPISOVANJA TER IZDAJE ZDRAVILA:** Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept s posebnim režimom: Napolnjena injekcijska brizga – H/Rp, injektor, ki se pritrji na telo – ZZ. **IMETNIK DOVOLJENJA ZA PROMET:** Amgen Europe B.V., 4817 ZK Breda, Nizozemska. Dodatna pojasnila lahko dobite v lokalni pisarni: Amgen zdravila d.o.o., Šmartinska 140, SI-1000 Ljubljana. **DATUM ZADNJE REVIZIJE BESEDILA:** November 2019.

DATUM PRIPRAVE INFORMACIJE: November 2020. Podrobni podatki o tem zdravilu so na voljo na spletni strani Evropske agencije za zdravila <http://www.ema.europa.eu/>. **Literatura:** 1. Metz M. et al. ADMINISTRATION OF PEGFILGRASTIM PROPHYLAXIS VIA PREFILLED SYRINGE (NEULASTA®) OR ON-BODY INJECTOR (OBI). German Cancer Congress 2020: 19 - 22 February, Berlin. Poster number: 458. 2. Burris, H. A. et al. Pegfilgrastim on the Same Day Versus Next Day of Chemotherapy in Patients With Breast Cancer, Non-Small-Cell Lung Cancer, Ovarian Cancer, and Non-Hodgkin's Lymphoma: Results of Four Multicenter, Double-Blind, Randomized Phase II Studies. J. Oncol. Pract. 6, 133-140 (2010). 3. Klastersky, J. et al. Management of febrile neutropenia. ESMO Clinical Practice Guidelines. Ann. Oncol. 27, v111-v118 (2016).

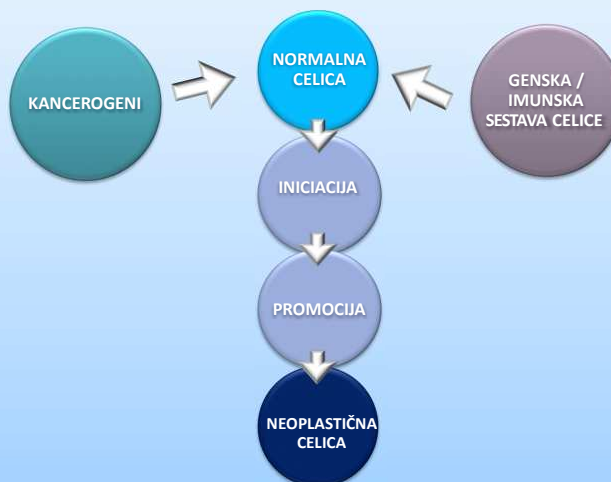


MOLEKULARNI MEHANIZMI NASTANKA RAKA IN IMUNOLOGIJA TUMORJEV

Srdjan Novaković



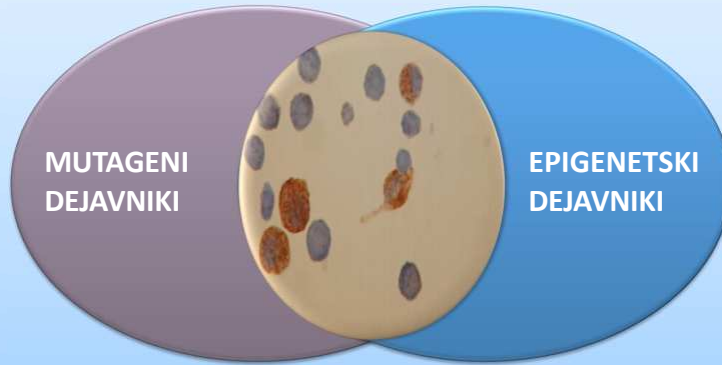
NEOPLASTIČNA PREOBRAZBA CELICE – KANCEROGENEZA



S. NOVAKOVIĆ



KANCEROGENI DEJAVNIKI



S. NOVAKOVIĆ



ŠTEVILO SOMATSKIH MUTACIJ V RAZLIČNIH TUMORJIH

NIH Public Access

Author Manuscript

Science. Author manuscript; available in PMC 2013 August 22.

Published in final edited form as:

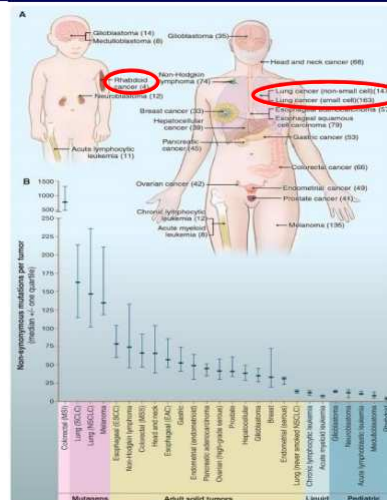
Science. 2013 March 29; 339(6127): 1546-1558. doi:10.1126/science.1235122.

Cancer Genome Landscapes

Bert Vogelstein, Nickolas Papadopoulos, Victor E. Velculescu, Shibin Zhou, Luis A. Diaz Jr., and Kenneth W. Kinzler
The Ludwig Center and The Howard Hughes Medical Institute at Johns Hopkins Kimmel Cancer Center, Baltimore, MD 21287, USA

Abstract

Over the past decade, comprehensive sequencing efforts have revealed the genomic landscapes of common forms of human cancer. For most cancer types, this landscape consists of a small number of "mountains" (genes altered in a high percentage of tumors) and a much larger number of "hills" (genes altered infrequently). To date, these studies have revealed ~140 genes that, when altered by intragenic mutations, can promote or "drive" tumorigenesis. A typical tumor contains two to eight of these "driver gene" mutations; the remaining mutations are passengers that confer no selective growth advantage. Driver genes can be classified into 12 signaling pathways that regulate three core cellular processes: cell fate, cell survival, and genome maintenance. A better understanding of these pathways is one of the most pressing needs in basic cancer research. Even now, however, our knowledge of cancer genomes is sufficient to guide the development of more effective approaches for reducing cancer morbidity and mortality.



S. NOVAKOVIĆ

ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA
 Oddelek za molekularno diagnostiko
INSTITUTE OF ONCOLOGY LJUBLJANA
 Department of Molecular diagnostics

COSMIC

Home Resources Curation Tools Data News Help About Search COSMIC Login

Census Breakdown Abbreviations

The cancer Gene Census is an ongoing effort to catalogue those genes for which mutations have been causally implicated in cancer. The original census and analysis was published in [Nature Reviews Cancer](#) and [supplemental analysis information](#) related to the paper is also available.

The census is not static but rather is updated regularly/as needed. In particular we are grateful to Felix Mitelman and his colleagues in providing information on more genes involved in uncommon translocations in leukemias and lymphomas. Currently, more than 1% of all human genes are implicated via mutation in cancer. Of these, approximately 50% have somatic mutations in cancer, 30% bear germline mutations that predispose to cancer and 10% show both somatic and germline mutations.

Show 10 entries Export: CSV TSV Search:

Gene Symbol	Name	Entrez GeneID	Genome Location	Chr Band	Somatic	Germline	Tumour Types(Somatic)	Tumour Types(Germline)	Cancer Syndrome	Tissue Type	Molecular Genetics	Role Canc
AKAP9	A kinase (PRK4) anchor protein (yt1ao) 9	10142	7:91941100-92110159	7q21-q22	yes		papillary thyroid			E	Dom	oncogeni
AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	202	14:104770341-104792643	14q32.32	yes		breast; colorectal; ovarian; NSCLC			E	Dom	oncogeni
AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2	208	19:40233872-40265267	19q13.1-q13.2	yes		ovarian; pancreatic			E	Dom	oncogeni
ALDH2	aldehyde dehydrogenase 2 family (mitochondrial)	212	12:111766983-111809575	12q24.2	yes		leiomyoma			M	Dom	TSG
ALK	anaplastic lymphoma kinase (ki-1)	238	2:20193224-29920659	2p23	yes	yes	ALL; NSCLC; neuroblastoma; inflammatory myofibroblastic	neuroblastoma	familial neuroblastoma	L; E; M	Dom	oncogeni

ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA
 Oddelek za molekularno diagnostiko
INSTITUTE OF ONCOLOGY LJUBLJANA
 Department of Molecular diagnostics

GENSKE SPREMEMBE PRI RAKU

Tumour genetics

Global cancer genomics project comes to fruition

Marcin Cieslik & Arul M. Chinnaiyan
 A massive international effort has yielded multifaceted studies of more than 2,600 tumours from 38 tissues, generating a wealth of insights into the genetic basis of cancer. PCAWG consortium

- Cancer drivers
- Non-coding changes
- Mutational signatures
- Structural variants
- Cancer evolution
- RNA alterations

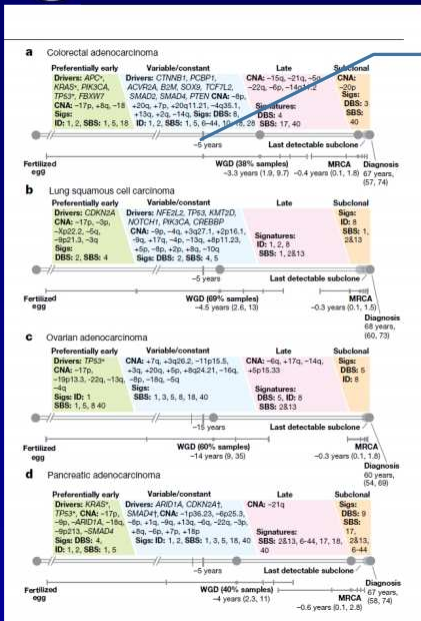
Nature (2020)

Sekvenčirali 2,658 tumorskih genomov in primerjalno prav toliko netumorskih tkiv istih oseb ter 1,188 transkriptomov.

Odkrili so: > 43 milijonov somatskih SNV-jev, > 400.000 somatskih večjedrnih različic, > 2,4 milijona somatskih indel-ov, blizu 290.000 somatskih SV (strukturnih variant – preureditve DNA), > 19.000 somatskih retrotranspozicijskih sprememb in > 8000 de novo mitohondrijskih DNA mutacij.

- Velika heterogenost bremena somatskih mutacij med različnimi tumorji, kakor tudi med tumorji istega tipa.
- V vsakem genomu raka je bilo ugotovljenih v povprečju 4-5 gonilnih mutacij (5% ni imelo gonilnih mutacij).
- Večina gonilnih mutacij so bile v kodirnem območju genoma.
- Vzroci genetskih mutacij lahko pomagajo določiti vrsto raka (kar lahko pomaga v primeru opredeljitve raka neznanega izvora).
 - Gonilne strukturne različice (SV), kot so preureditve velikih delov DNA so bile pogostejše pri adenokarcinomu dojke in jajčnikov.
 - Gonilne točkovne različice (mutacije) so pogoste pri kolorektalnih adenokarcinomih in zrelih B-celičnih limfomih.

S. NOVAKOVIĆ



Nature (2020)

Tumour genetics
Global cancer genomics project comes to fruition
Nature (2020)

Molekularne ure

- Klonski dogodki se pojavijo pred subklonalnimi:**
- Od 47 milijonov točkovnih mutacij v 2583 vzorcih so raziskovalci ugotovili, da je bilo: 22% zgodnjih klonskih dogodkov; 7%, pozni klonski dogodek; 53%, nedoločljivi klonski dogodek; in 17% subklonalno.
 - V panelu s 453 gonilnimi geni za raka so ugotovili 5913 onkogenih točkovnih mutacij, od tega je bilo 29% zgodnjih klonskih, 5% poznih klonskih, 56% nedoločenih klonskih in 8% subklonskih.

Nabor gonilnih genov (n=50)

TP53, KRAS, PIK3CA, TERT, CTNNA1, CDKN2A, PTEN, ARID1A, KMT2D, SMAD4, APC, VHL, BRAF, PBRM1, CREBBP, RB1, ATM, SETD2, NOTCH1, ARID2, SMARCA4, ALB, NF1, FBXW7, NRAS, B2M, MEN1, KMT2C, NFE2L2, IDH1, MAP3K1, ARHGAP35, GATA3, DDX3X, SF3B1, FOXA1, APOB, BAP1, KDM6A, PIK3R1, ACVR2A, EGFR, KDM5C, AXIN1, BTG1, CDH1, SPOB, ATRX, KEAP1, PTCH1

Gonilne mutacije v *KRAS, PIK3CA, TP53* in nekodirajoče gonilne mutacije v *TERT* veljajo za zgodnje dogodke v razvoju raka.

Vzorec mutacij v tumorju se sčasoma spremeni pri 40% tumorjev.

S. NOVAKOVIČ



GENI SOUDELEŽNI PRI KANCEROGENEZI

- protoonkogeni
- tumorski supresorski geni
- geni odgovorni za apoptozo
- geni odgovorni za popravljanje DNA
- geni odgovorni za stabilizacijo kromosomov

S. NOVAKOVIČ

PRIDOBITVE, KI OMOGOČAJO MALIGNO TRANSFORMACIJO

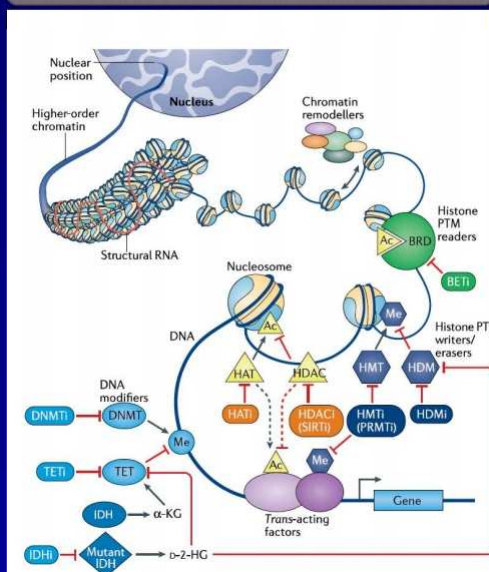
Genomska nestabilnost!

spremembe na nivoju genov ali kromosomov

- **na nivoju genov** - znak za okvare v MMR sistemu so povečane spremembe v mikrosatelitskih regijah in nastanek mikrosatelitske nestabilnosti
pomebnejši geni - MLH1, MSH2, PMS2 in MSH6
- **na nivoju kromosomov** - spremembe v sami organizaciji DNA med formiranjem kromosomov (na nivoju delitvenega vretena in segregacije kromosomov)
za tovrstne spremembe so odgovorni centrosomalni oz. mitotični proteini (npr. aurora A, PTTG1 - obnašajo se kot **onkogeni proteini**)
podobno kot pri regulaciji celičnega ciklusa tudi pri kromosomskih spremembah na nivoju delitvenega vretena lahko govorimo o **tumorskih supresorskih genih** oz. proteinih (BUB kinaze, MAD2 - kontrolirajo pravilnost segregacije kromosomov)

S. NOVAKOVIĆ

OSNOVNI PROTEINI SOUDELEŽENI PRI EPIGENETSKIH SPREMBAH



Nature Reviews/Clinical Oncology (2020)

Delovanje genoma je uravnava z > 800 epigenetskih encimov, ki predvsem spreminjajo organizacijo DNA

„writers“ → „readers“ → „erasers“ → „shapers“

- DNMT („DNA methyltransferases“)
- TET („ten-eleven translocation enzymes“)
- HAT („histone acetyltransferases“)
- HDAC („histone deacetylases“)
- HMT („histone methyltransferases“)
- HDM („histone demethylases“)
- IDH („isocitrate dehydrogenase“)
- Histone PTM („post-translational modifications“)

S. NOVAKOVIĆ



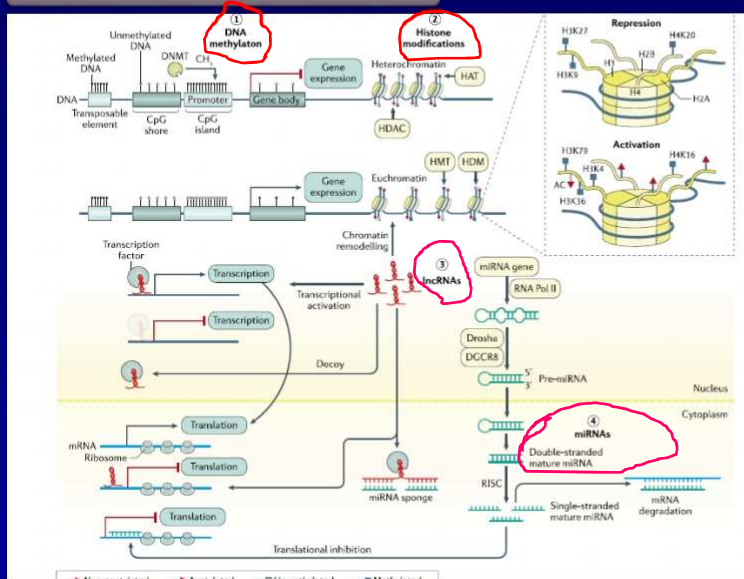
EPIGENETSKI DEJAVNIKI IN KONTROLA GENESKE AKTIVNOSTI

- metilacija DNA
- spremembe v kromatinu:
 - acetilacija
 - fosforilacija
 - metilacija histona

S. NOVAKOVIČ



PRINCIPI EPIGENETIKE



- DNMT („DNA methyltransferases“)
- HAT („histone acetyltransferases“)
- HDAC („histone deacetylases“)
- HMT („histone methyltransferases“)
- HDM („histone demethylases“)

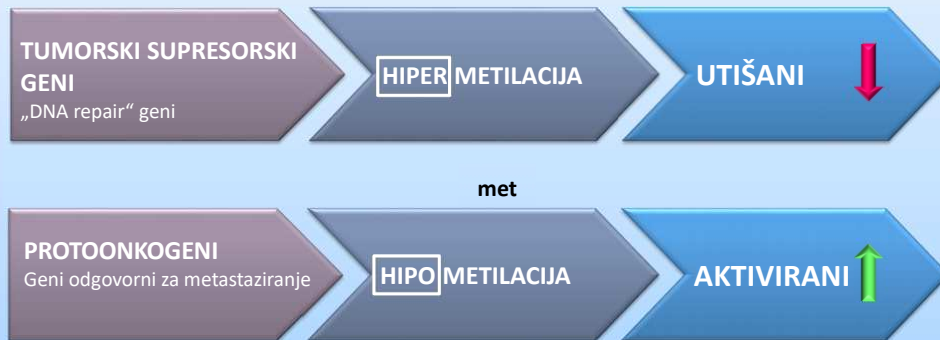
Nature reviews Gastroenterology & hepatology (2020)

S. NOVAKOVIČ



EPIGENETSKI DEJAVNIKI

Metilacija CpG otočkov v promotorskih regijah genov



S. NOVAKOVIĆ



OSNOVNE LASTNOSTI RAKASTIH CELIC

- Samozadostnost za lastno proliferacijo.
- Zavrto delovanje supresorskih proteinov
- Neodzivnost na signale, ki uravnavajo število celičnih delitev.
- Neodzivnost na signale, ki sprožajo apoptozo.
- Spremenjen metabolizem – anaerobna glikoliza (Warburgov efekt).
- Preureditev tvorbe citokinov in izražanja celičnih antigenov.
- Zmožnost prehoda rakastih celic v limfni in krvni obtok.
- Pritrditev v drugih organih in ponovna klonalna rast.

S. NOVAKOVIĆ



SAMOZADOSTNOST ZA LASTNO PROLIFERACIJO

SPODBUJAJO TVORBO RASTNIH DEJAVNIKOV

- avtokrina stimulacija - vsi (ali vsaj večina) potrebnih rastnih dejavnikov za podvojevanje so nadzorovani znotraj same tumorske celice neodvisno od okolja in signalov iz okolja (npr. trombocitni rastni dejavnik - PDGF, transformirajoči rastni dejavnik α - TGF- α)
ali
- parakrina stimulacija - strukture na tumorskih celicah sprožijo v okolnih celicah tvorbo rastnih dejavnikov .

SPREMINJAJO IZRAŽANJE RECEPTORJEV ZA RASTNE DEJAVNIKE

- prekomerno izražanje (npr. HER2/neu, EGFR – receptor za epidermalni rastni dejavnik)
ali
- spremenjena struktura, tako da ne rabijo specifičnih ligandov za aktivacijo (npr. Flt3 tirozin-kinazni receptorji).

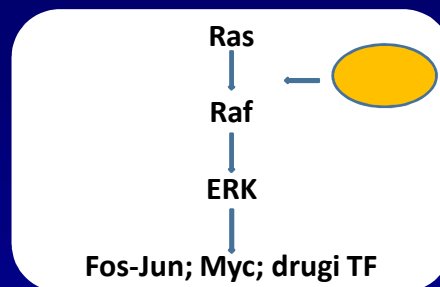
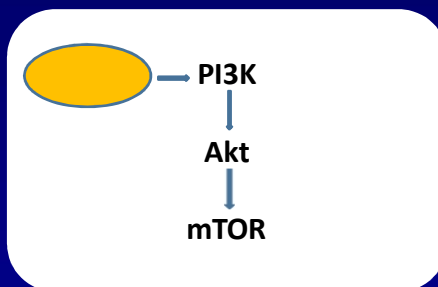
SPREMINJAJO INTRACELULARNE SIGNALNE POTI

največkrat gre za spremenjene proto-onkogene (amplifikacije, mutacije ali translokacije), ki so soudeleženi pri prenosu signalov do jedra (npr. ras, src, raf, crk).

S. NOVAKOVIĆ



PI3K-Akt IN Ras-ERK SIGNALNE POTI



Proliferacija
Rast celic
Preživetje celic

Metabolne spremembe
Celična migracija
Polarnost celic

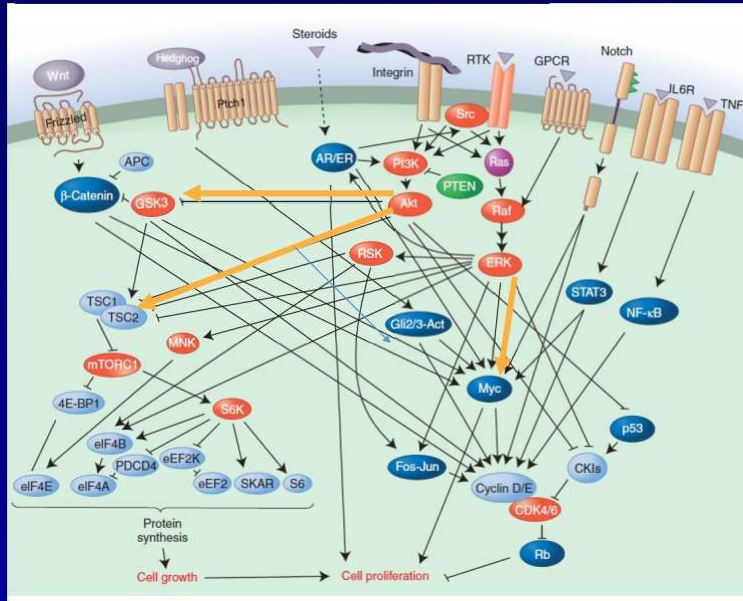
S. NOVAKOVIĆ



SIGNALNE POTI ZA CELIČNO PROLIFERACIJO

ONKOLOŠKI
INSTITUT
LJUBLJANA
Oddelek za
molekularno diagnostiko

INSTITUTE
OF ONCOLOGY
LJUBLJANA
Department of
Molecular diagnostics



Cold Spring Harb Perspect Med (2015)

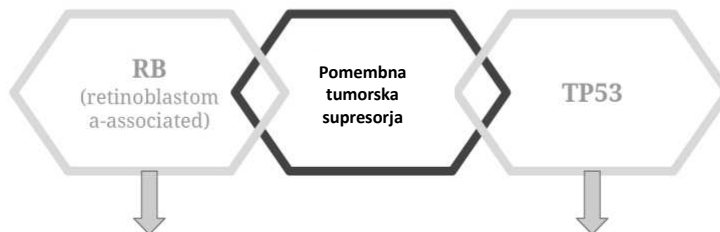
S. NOVAKOVIĆ



ZAVRTO DELOVANJE SUPRESORSKIH PROTEINOV

ONKOLOŠKI
INSTITUT
LJUBLJANA
Oddelek za
molekularno diagnostiko

INSTITUTE
OF ONCOLOGY
LJUBLJANA
Department of
Molecular diagnostics

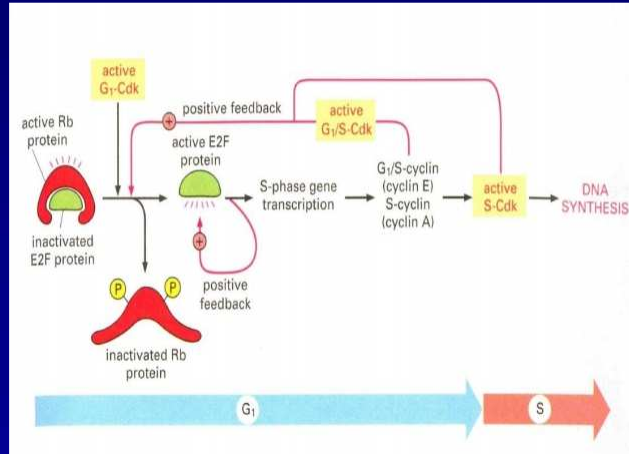
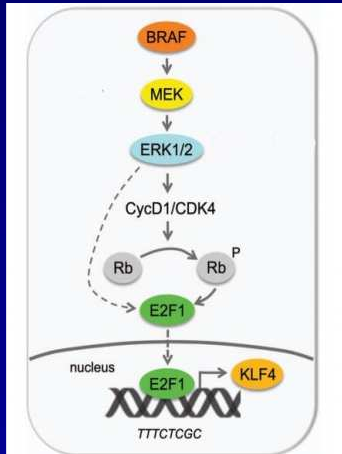


Prenaša inhibitorne signale,
ki so sproženi izven celice,
„odloča“ ali bo celica rasla in se
delila

Prenaša inhibitorne signale iz celice;
vstavi delitev celice, inducira popravljalne
mehanizme ali sproži apoptozo

S. NOVAKOVIĆ

RETINOBLASTOMSKI PROTEIN - RB KOT ZAVORA DELITVE CELIC



The Cell (2002)

S. NOVAKOVIĆ

NEODZIVNOST NA SIGNALNE, KI URAVNAVAJO ŠTEVILO CELIČNIH DELITEV

NORMALNA CELICA

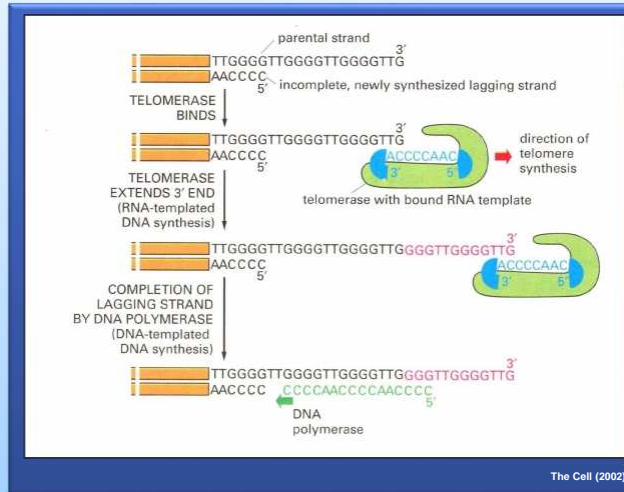
- normalna celica ima v svojem »spominu« določeno število celičnih delitev
- večina zunanjih anti-proliferativnih signalov je posredovana v obliki topnih snovi, ki se vežejo na celične receptorje
- aktivacija sinteze pRb, ki deluje kot zavora za prehod celice iz G1 v S fazo celičnega ciklusa (Rb protein se neposredno veže na E2F protein, ki deluje kot transkripcijski faktor za različne gene – npr. G1/S in S ciklini).

RAKASTA CELICA

- v rakastih celicah delovanje pRb pogosto izostane (zaradi mutacij v genu, metilacije promotorja, nedelovanja signalnih poti), kar omogoči nekontrolirano delovanje E2F in nekontrolirano delitev celice
- ponovna aktivacija genov, ki kodirajo podenote encima telomeraze (npr. TERT), ki je neposredno odgovorna za podaljševanje telomer (obnavljanje telomer - nastanejo pogoji za neskončno delitev celic).

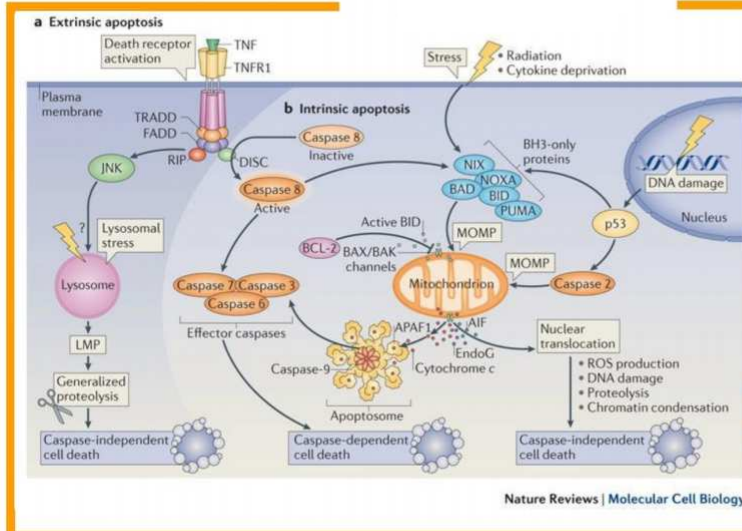
S. NOVAKOVIĆ

POMOŽEVANJE TELOMER



S. NOVAKOVIĆ

NEODZIVNOST NA SIGNALNE, KI SPROŽAJO APOPTOZO



Družina Bcl-2 proteinov – zaviralci apoptoze: Bcl-2, Bcl-XL

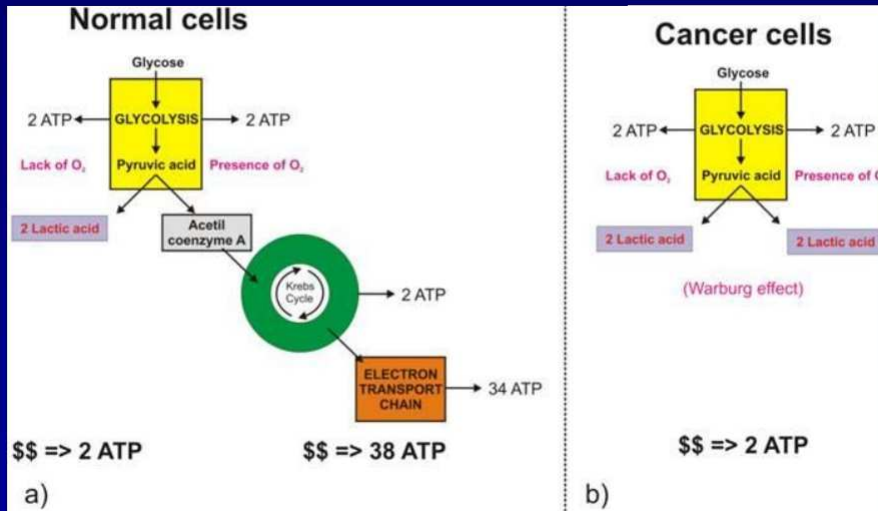
Bax in Bak: Spodbujevalci apoptoze

Citokrom c: aktivacija kaspazne kaskade

BH3-proteini: Spodbujevalci apoptoze, ki neposredno aktivirajo Bax in Bak ali zavirajo delovanje Bcl-2



SPREMENJEN METABOLIZEM - WARBURGOV EFEKT

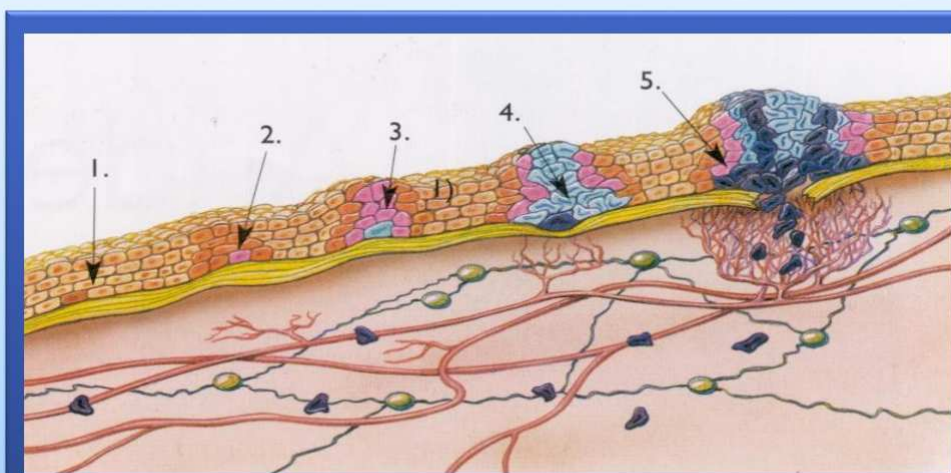


J Cancer (2016)

S. NOVAKOVIĆ



NASTANEK TUMORJA



S. NOVAKOVIĆ



IMUNSKI SISTEM KOT SISTEM ZA PREPREČEVANJE NASTANKA TUMORJEV

S. NOVAKOVIĆ



HLA MOLEKULE

Razred I

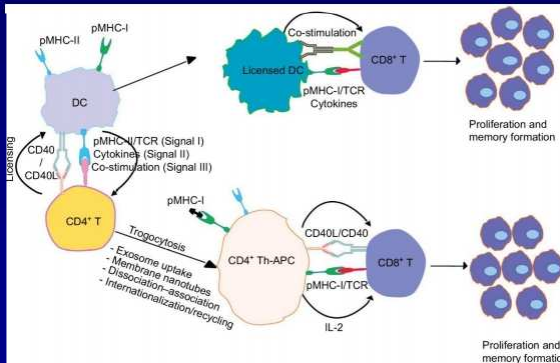
- **Sestava:** polimorfna α veriga in nepolimorfna $\beta 2$ -microglobulin
- **Prisotnost:** HLA razred I je prisoten na skoraj vseh humanih celicah
- **Funkcija:** predstavljanje antigenih peptidov CTL (CD8+)

Razred II

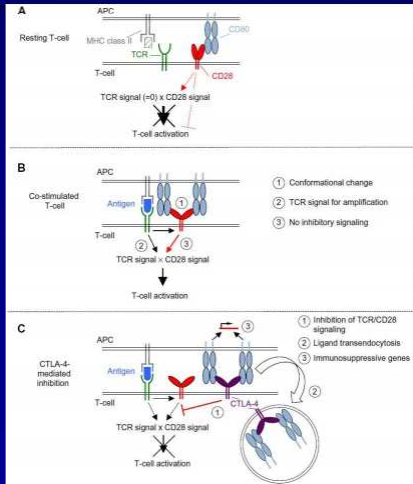
- **Sestava:** polimorfna α veriga in β veriga
- **Prisotnost:** omejena; na antigen predstavitevni celicah - makrofagi, dendrične celice, B limfociti
- **Funkcija:** predstavljanje antigenih peptidov T_H (CD4+) limfocitom

S. NOVAKOVIĆ

APC: AKTIVACIJA T LIMFOCITOV: PREKO CD28/B7 IN CD40



[ImmunoTargets and Therapy \(2019\)](#)



[ImmunoTargets and Therapy \(2015\)](#)

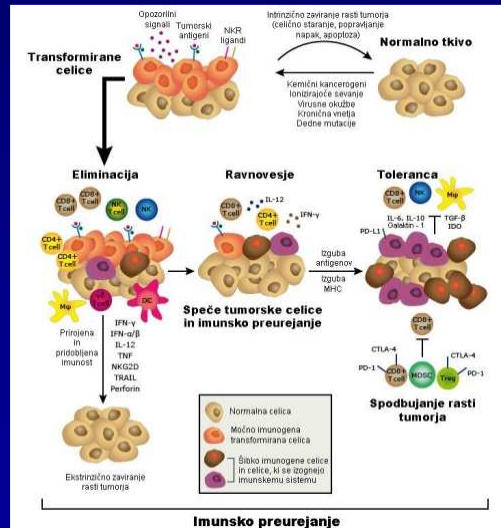
S. NOVAKOVIĆ

PRIDOBITVE, KI OMOGOČAJO NASTANEK TUMORJA IN METASTAZIRANJE

Aktiven vpliv na imunski sistem – imunsko preurejanje!

S. NOVAKOVIĆ

IMUNSKO PREUREJANJE



S. NOVAKOVIČ

STANJE PO ZAKLJUČENEM PROCESU IMUNSKE PREUREJITVE - TOLERANCA

- Koncentracija regulatornih celic:
 - MDSC (CD11b⁺ CD33⁺ HLA-DR⁻),
 - T_{reg} (CD4⁺ CD25⁺),
 - T_H17,
 - B_{reg} (CD25⁺ B220⁺).
- Zmanjšana prepoznavnost tumorskih antigenov (bodisi zaradi sprememb v samih tumorskih celicah ali v efektorskih celicah).
- Inhibicija namnoževanja in diferenciacije T limfocitov.
- Neobčutljivost tumorskih celic za apoptotične in/ali nekrotične signale, ki jih posredujejo efektorske celice (npr. CTL).
- Blokada sinteze aktivacijskih citokinov.

S. NOVAKOVIČ



IMUNSKI SISTEM KOT SPODBUJEVALEC METASTAZIRANJA

S. NOVAKOVIĆ



IMUNSKÉ CELICE KOT SPODBUJEVALKE METASTAZIRANJA

- **Mieloidne celice - MDSC (CD11b⁺ CD33⁺ HLA-DR⁻)**

(monocitne CD14^{hi} CD15⁻, in granulocitne CD14^{low} CD15⁺)

različne podskupine makrofagov („tumor-associated macrophages“ - TAM, „metastasis associated macrophages“ - MAM),

nevtrofilci („tumor-associated neutrophils“ - TAN, „neutrophil extracellular trap“ - NET), mastociti.

- **Limfoidne celice**

nekateri podtipi T limfocitov (CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺), T_H17

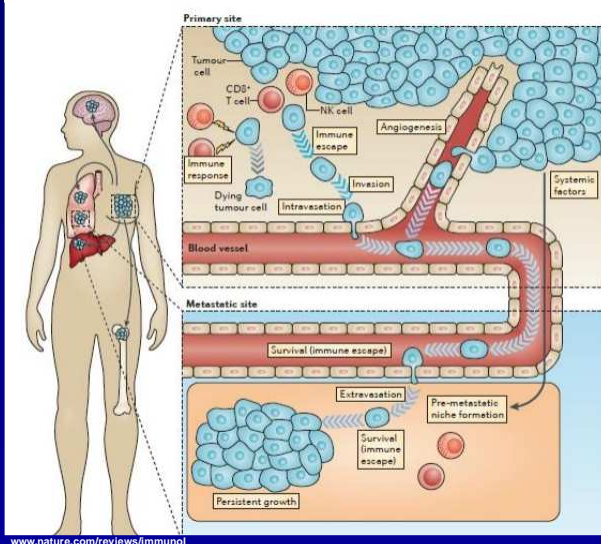
nekateri podtipi B limfocitov (CD25⁺ B220⁺).

- **Trombociti**

S. NOVAKOVIĆ



METASTAZIRANJE – METASTATSKA KASKADA



www.nature.com/reviews/immunol

Razvoj premetastatskih niš

Ločitev tum. celic iz primarnega tumorja

Širitev v lokalna tkiva, kri in limfni sistem

Cirkulacija tumorskih celic

Ekstravazacija

Nastanek novih kolonij

Metastatska razrast in razvoj rezistence na zdravlila

S. NOVAKOVIĆ



IMUNSKÉ CELICE KOT SPODBUJEVALKE METASTAZIRANJA

PRIPRAVA
METASTATSKIH
NIŠ

- Nezrele mieloidne celice - MDSC (CD11b⁺) → CCL2 → CCR2
- CD4⁺ T limfociti

LOČITEV IZ
PRIMARNIH
TUMORJEV

- TAM
- produkcija metaloproteinaz, cistein katepsinskih proteaz in heparanaz
- produkcija ravnih dejavnikov (EGF)
- TAN

INTRAVAZACIJA/
EKSTRAVAZACIJA

- Makrofagi – MAM (CCR2⁺)
- produkcija različnih angiogenih dejavnikov (VEGFA, angioprotein 2 - ANG2)
- Neutrofilci – NET (*neutrophil extracellular trap*)
- Trombociti
- produkcija TGFβ ki sproži dediferenciacijo celic → EMT proces

S. NOVAKOVIĆ

Prva terapija za zdravljenje odraslih bolnikov z metastatskim ali lokalno napredovalim ploščatoceličnim karcinomom kože (PCKK), ki niso kandidati za kurativni kirurški poseg ali kurativno obsevanje.^{1,2}

Zaviralec PD-1:
spodbuja bolnikov imunski protitumorski
odziv za izboljšanje rezultatov zdravljenja³

PD-1, receptor programirane celične smrti 1



Pred predpisovanjem prosimo preberite celoten povzetek glavnih značilnosti zdravila.

SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevem neželenem učinku zdravila.

Ime zdravila: LIBTAYO 350 mg koncentrat za raztopino za infundiranje. **Sestava:** En mililiter koncentrata vsebuje 50 mg cemiplimaba. Ena viala vsebuje 350 mg cemiplimaba v 7 ml raztopine. **Terapevtske indikacije:** Zdravilo LIBTAYO je kot samostojno zdravljenje (monoterapija) indicirano za zdravljenje odraslih bolnikov z metastatskim ali lokalno napredovalim ploščatoceličnim karcinomom kože (mPCKK ali lPCKK), ki niso kandidati za kurativni kirurški poseg ali kurativno obsevanje. **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravljenje mora uvesti in nadzorovati zdravnik, izkušen na področju zdravljenja raka. **Priporočeni odmerek:** Priporočeni odmerek cemiplimaba je 350 mg na 3 tedne v 30-minutni intravenski infuziji. Zdravljenje se sme nadaljevati do napredovanja bolezni ali nesprejemljivih toksičnih učinkov. **Prilagoditve odmerka:** Zmanjšanja odmerka niso priporočena. Glede na varnost in prenašanje pri posameznem bolniku je lahko potrebna odložitve odmerka ali prenehanje uporabe. Za priporočene prilagoditve za obvladovanje neželenih učinkov glejte celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila. **Posebne populacije:** **Pediatrična populacija:** Varnost in učinkovitost zdravila LIBTAYO pri otrocih in mladostnikih, mlajših od 18 let, nista ugotovljeni. **Starejše osebe, okvara ledvic, okvara jeter:** odmerka ni treba prilagoditi. **Način uporabe:** Zdravilo LIBTAYO je namenjeno intravenski uporabi. Daje se v intravenski infuziji v obdobju 30 minut po intravenski liniji, ki vsebuje sterilni, nepirogen filter (v sami liniji ali kot dodatek), ki malo veže beljakovine (velikost por od 0,2 do 5 mikronov). Po isti infuzijski liniji se ne sme istočasno dajati drugih zdravil. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** **Sledljivost:** Za izboljšanje sledljivosti bioloških zdravil je treba čitljivo **hepatitis:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeni hepatitis, opredeljen s potrebo po uporabi kortikosteroidov in brez jasne alternativne etiologije, vključno s primeri s smrtnim izidom. **Imunsko pogojeni pneumonitis:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeni pneumonitis, opredeljen s potrebo po uporabi kortikosteroidov in brez jasne alternativne etiologije, vključno s primeri s smrtnim izidom. **Imunsko pogojeni kolitis:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeno drisko ali kolitis, opredeljena s potrebo po uporabi kortikosteroidov in brez jasne alternativne etiologije. **Imunsko pogojeni endokrinopatije:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojene endokrinopatije, opredeljene kot med zdravljenjem nastale endokrinopatije brez jasne alternativne etiologije. **Ščitnične motnje (hipotiroidizem/hipertiroidizem):** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojene ščitnične motnje. **Hipofizitis:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeni hipofizitis. **Nadledvična insuficienca:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali nadledvično insuficienca. **Sladkorna bolezen tipa 1:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeno sladkorno bolezen tipa 1, vključno z diabetično ketoacidozo. **Imunsko pogojeni neželeni učinki na kožo:** Med zdravljenjem s cemiplimabom so poročali o imunsko pogojenih neželenih učinkih na kožo, opredeljenih s potrebo po uporabi sistemskih kortikosteroidov in brez jasne alternativne etiologije; med njimi so bili hudi neželeni učinki na kožo, na primer Stevens-Johnsonov sindrom (SJS) in toksična epidermalna nekroliza (TEN) (v nekaterih primerih s smrtnim izidom), in druge kožne reakcije, na primer izpuščaj, multiformni eritem in pemfigoid. **Imunsko pogojeni nefritis:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali imunsko pogojeni nefritis, opredeljen s potrebo po uporabi kortikosteroidov in brez jasne alternativne etiologije. **Drugi imunsko pogojeni neželeni učinki:** Pri bolnikih, ki so prejeli cemiplimab, so opažali še druge življenjsko nevarne in smrtne imunsko pogojene neželene učinke, med njimi paraneoplastični encefalomielit, meningitis in miozitis. Zdravljenje s cemiplimabom lahko pri prejemnikih presadkov parenhimskih organov poveča tveganje za zavrnitev. V obdobju po prihodu na trg so pri bolnikih, ki so prejeli druge zaviralce PD-1/PD-L1 obnemem z alogensko presaditvijo hematopoetskih matičnih celic, poročali o primerih boleznih presadka proti gostitelju. **Z infundiranjem povezane reakcije:** Cemiplimab lahko povzroči resne ali življenjsko nevarne z infundiranjem povezane reakcije. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** Uporabi sistemskih kortikosteroidov ali imunosupresivov pred uvedbo cemiplimaba se je treba izogibati – razen fizioloških odmerkov sistemskih kortikosteroidov (≤ 10 mg/dan prednizolona ali enakovredno) – ker lahko motijo farmakodinamično aktivnost in učinkovitost cemiplimaba. Vendar pa je kortikosteroid ali druge imunosupresive mogoče uporabiti po začetku zdravljenja s cemiplimabom za zdravljenje imunsko pogojenih neželenih učinkov. **Plodnost, nosečnost in dojenje:** Ženske v rodni dobi morajo med zdravljenjem s cemiplimabom in vsaj še 4 mesece po zadnjem odmerku cemiplimaba uporabljati učinkovito kontracepcijo. Cemiplimab ni priporočljiv med nosečnostjo in za ženske v rodni dobi, ki ne uporabljajo učinkovite kontracepcije, razen če klinična korist odtehta možno tveganje. Če se ženska odloči za zdravljenje s cemiplimabom, ji je treba svetovati, da med zdravljenjem s cemiplimabom in vsaj še 4 mesece po zadnjem odmerku ne sme dojeti. **Vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev:** Po zdravljenju s cemiplimabom so poročali o utrujenosti. **Neželeni učinki:** **Zelo pogosti:** driska, izpuščaj, pruritus, utrujenost. **Pogosti:** z infundiranjem povezane reakcije, hipotiroidizem, hipertiroidizem, dispneja, stomatitis, hepatitis, artralgija, mišično-skeletna bolečina, artritis, zvišana alanin-aminotransferaza, zvišana aspartat-aminotransferaza, zvišana alkalna fosfataza v krvi, zvišan kreatinin v krvi. **Občasni:** sjirogrenov sindrom, imunsko pogojena trombocitopenična purpura, sladkorna bolezen tipa 1, nadledvična insuficienca, hipofizitis, tiroiditis, praneoplastični encefalomielit, kronična vnetna demielinizirajoča potiradikulonevropatija, encefalitis, meningitis, Guillain-Barréjev sindrom, vnetje osrednjega živčevja, periferna nevropatija, miastenija gravis, keratitis, miokarditis, perikarditis, šibkost mišic, revmatska polimialgija, nefritis. **Preveliko odmerjanje:** V primeru prevelikega odmerjanja naj se bolnike natančno kontrolira glede znakov in simptomov neželenih učinkov in uvede ustrezno simptomatsko zdravljenje. **Način in režim izdaje zdravila:** H-Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept, zdravilo pa se uporablja samo v bolnišnicah. **Imetnik dovoljenja za promet z zdravilom:** Regeneron Ireland Designated Activity Company (DAC), Europa House, Harcourt Centre, Harcourt Street, Dublin 2, Irska. **Datum zadnje revizije besedila:** 07 2020

SAMO ZA STROKOVNO JAVNOST

REGENERON | SANOFI GENZYME 

Sanofi and Regeneron are collaborating in the global development and commercialization for LIBTAYO (cemiplimab).
© 2019 sanofi-aventis Slovenia LLC and Regeneron Pharmaceuticals, Inc. All rights reserved. MAT-SI-2000079-3-0.10/2020

1. Libtayo (cemiplimab) Povzetek glavnih značilnosti zdravila, www.ema.europa.com, datum zadnjega podaljšanja 31.07.2020
2. www.nice.org.uk, technology appraisal guidance TA592, dostop 07.08.2019. 3. www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/pd-1, dostop 07.08.2019

Zakaj potrebuje klinični onkolog opredelitev molekularnih značilnosti tumorja?

Prof. dr. Tanja Čufer
Klinika Golnik
Medicinska fakulteta, Univerza Ljubljana

DIO, Ljubljana 2020

Zakaj potrebuje kliničen onkolog opredelitev molekularnih značilnosti tumorja?

Za ustrezno zdravljenja vsakega posameznega rakavega bolnika!

- Poznavanje molekularnih značilnosti in temu prilagojeno zdravljenje
 - Več ozdravitev, neo-/adjuvantno zdravljenje
 - Daljše zazdravitve in boljšo kvaliteto življenja pri zdravljenju metastatske bolezni

Kaj mora kliničen onkolog vedeti o molekularnih označevalcih ?

1. Ali gre za **somatsko** ali podedovano genetsko spremembo
2. Poznati napovedni pomen posameznega molekularnega označevalca
 - Za potek rakave bolezni = **Prognostičen označevalec**
 - Za odgovor na sistemsko zdravljenje = **Prediktiven označevalec**

Ali je molekularni označevalec **vodilni onkogen** (ang. oncogenic driver) in ali je **tarča za tarčno zdravljenje** raka?

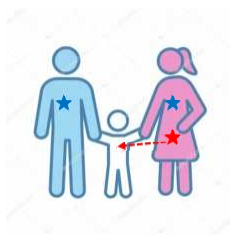
Kaj mora kliničen onkolog vedeti o molekularnih označevalcih ?

4. **Metode določanja** molekularnih označevalcev
 - Optimalna metode določanja posameznega označevalca
 - Občutljivost in specifičnost posamezne metode
5. **Optimalen material in čas** za določanje molekularnih označevalcev
 - Tkivna/tekočinska biopsija; primarni tumor/zasevek
 - Pomen ponovne biopsije tumorja
6. **Razumevanje in interpretacija izvida molekularnih označevalcev!**

Somatske in podedovane genetske spremembe

Somatske spremembe

- Niso prisotne v zarodnih celicah
- Se ne dedujejo
- Nastajajo v rakavih celicah (na novo ali pridobljene tekom zdravljenja)
- Prisotne in določljive v rakavem tkivu in ctDNA
- Tarče za tarčno zdravljenje

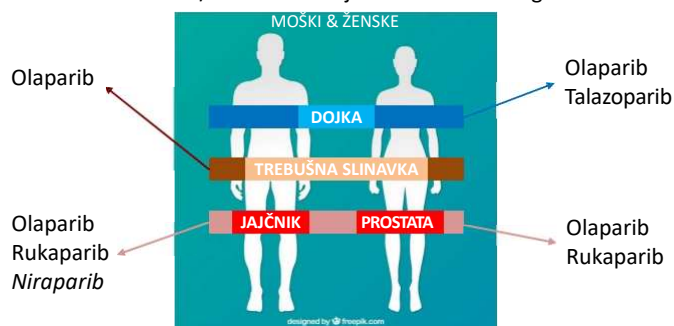


Podedovane spremembe

- Prisotne v zarodnih celicah
- Se dedujejo (okoli 50% tveganje prenosa)
- Prisotne v normalnih celicah
- Pomenijo tveganje za nastanek določenih rakov (dedni raki)
- Pomembni so preventivni ukrepi

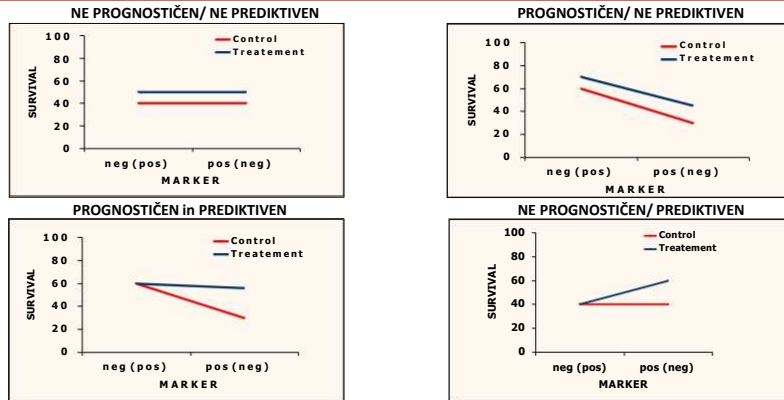
Tudi podedovane genetske spremembe so lahko tarča za zdravlilo

Tarčno zdravljenje bolnikov s podedovanimi BRCA1/BRCA2 mutacijami ali okvari HRR gena



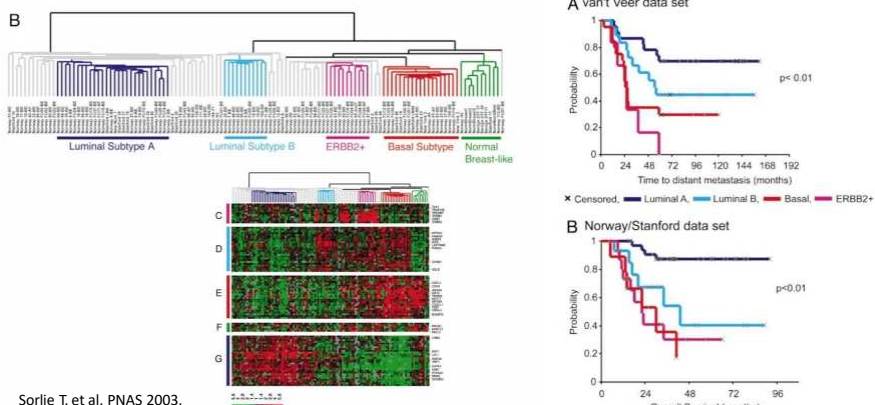
Navedena so s strani FDA ali EMA registrirana zdravila; Oktober 2020.

Prognostičen/Prediktiven molekularni označevalec



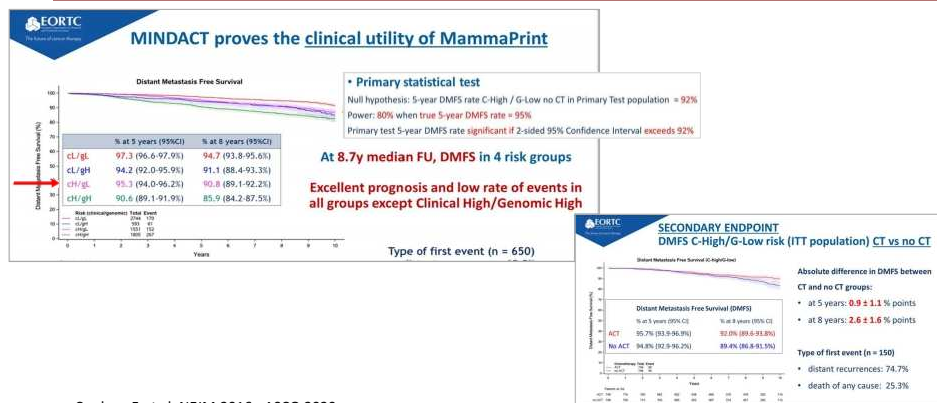
Hamilton A, Piccart M. Ann Oncol 2000.

Prognostičen označevalec Genski podpis raka dojk

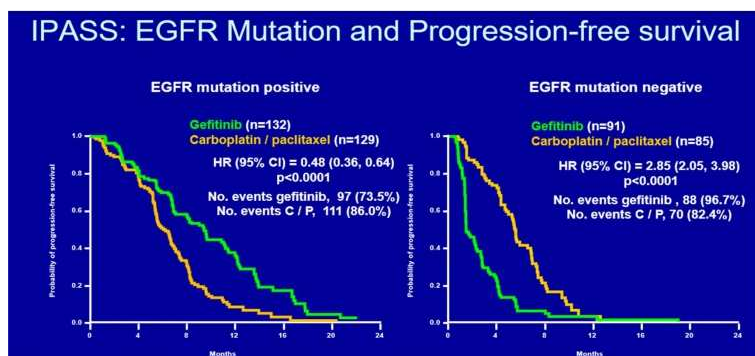


Sorlie T, et al. PNAS 2003.

Prognostičen označevalec s terapevtsko posledico Genski podpis pri operabilnem HR+ raku dojk

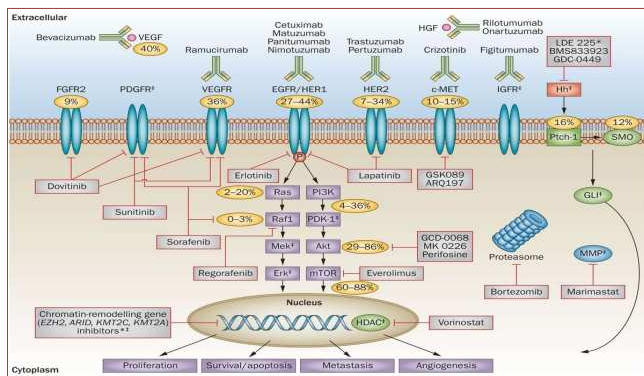


Prediktiven označevalec Aktivirajoče EGFR mutacije pri raku pljuč



Mok TS, et al. NEJM 2009.

Molekularni označevalci raka kot tarče za sistemsko zdravljenje

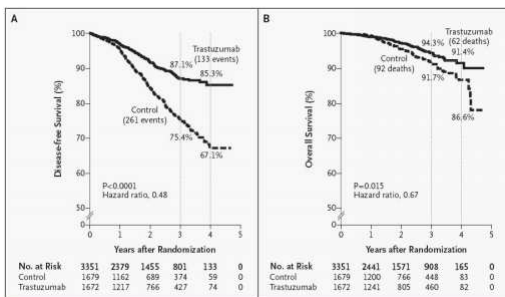


Wadhwa R, et al. Nat Rev Clin Oncol 2013.

- Molekularni označevalci so pogosto tki. onkogeni vozniki raka.
- Predstavlajo tarče za učinkovito tarčno zdravljenje raka
- Tarčno zdravljenje omogoča individualizirano, posameznemu bolniku prilagojeno zdravljenje.

Tarčno zdravljenje HER2 pozitivnega raka dojke

Dopolnilno zdravljenje s trastuzumabom

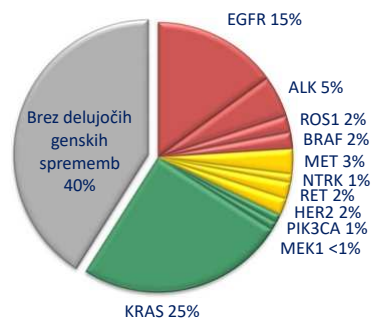


Proti-HER2 usmerjeno zdravljenje napredovalega raka dojke

Analysis Year	Expected: 5-year Survival (%)	Expected: Mean Per-Patient Survival (Months)
1995	9.1	26.6
2000	10.9	28.7
2005	14.2	32.6
2010	18.2	37.3
2015	34.0	50.8

Piccatt M, et al. NEJM 2005; Roth J, et al. ESMO 2017.

Tarčno zdravljenje nedrobnoceličnega raka pljuč



Tarče za katere so že na voljo tarčna zdravila

Molekularno testiranje je obvezno

- EGFR (10-15%)
- ALK (3-6%)
- ROS1 (1-2%)
- BRAF (2-3%)

Tarče za katere so zdravila v razvoju

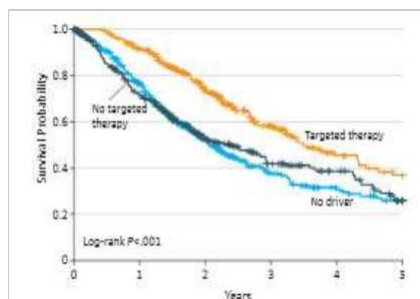
Molekularno testiranje ni obvezno

- MET (3-4%)
- RET (1-2%)
- NTRK (< 1%)
- HER2 (2-3%)
- KRAS (20-30%)

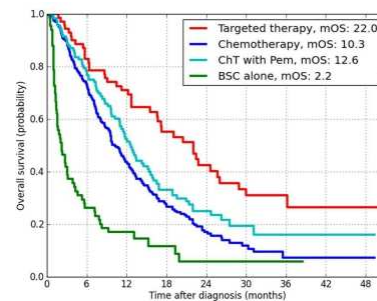
Povzeto po Tsao MS, et al. J Thorac Oncol 2016; Planchard D, et al. Ann Oncol 2018.

Tarčno zdravljenje napredovalega NDRP Podatki iz vsakodnevne klinične prakse

Preživetja bolnikov glede na tarčno zdravljenje
Lung Cancer Mutation Consortium
Kris MG, et al. JAMA 2014.



Preživetja bolnikov glede na prejeta zdravljenje
Hospitalni register Klinika Golnik
Cufer T, et al. CELCC 2014.



Tarčna zdravila za solidne rake in njihove tarče

Zdravila, kjer je zahtevana dokazana prisotnost tarče

TARČA	ZDRAVILO/A	INDIKACIJE
HER2 amplifikacije	Lapatinib, neratinib, pertuzumab, trastuzumab, trastuzumab emtanzin, <i>trastuzumab deruxtekan, tucatinib</i> ,	Rak dojke, rak želodca in gastroezofagalnega prehoda
EGFR mutacije	Afatinib, dakomitinib, erlotinib, gefitinib, osimertinib,	Rak pljuč
ALK genske alteracije	Alektinib, brigatinib, ceritinib, krizotinib, lorlatinib	Rak pljuč
ROS1 genske alteracije	Entrektinib, krizotinib	Rak pljuč
BRAF V600 mutacija	Dabrafenib/trametinib, vemurafenib/kometinib, <i>enkorafenib/binimetinib</i>	Melanom, rak pljuč, <i>kolorektalni rak</i>
RET genske alteracije	<i>Pralsetinib, seliperkatinib</i>	Rak ščitnice, <i>rak pljuč</i>
NTRK genske alteracije	Larotrektrinib, entrektinib	Ni omejeno na lokalizacijo
MET (ex14) mutacije	<i>Kapmatinib</i>	<i>Rak pljuč</i>
PIK3CA mutacije	Alpelisib	Rak dojke
BRCA mutacije	Niraparib*, olaparib, rukaparib, talazoparib	Rak jajčnikov*, rak dojke, rak trebušne slinavke, rak prostate
C-KIT mutacije	Imatinib, regorafenib*, sunitinib*, <i>ripretinib*</i>	GIST
FGFR2/3 genske alteracije	<i>Pemigatinib, erdafitinib</i>	<i>Rak žolčnika, rak mehurja</i>
PDGFRA (ex 18) mutacije	Avapritinib	GIST

*ne zahteva določitve tarče; V ležečem tisku so navedena zdravila in indikacije, že odobrene s strani FDA in še ne pri EMA.

Tarčna zdravila za solidne rake in njihove tarče

Zdravila, kjer ni zahtevana dokazana prisotnost tarče

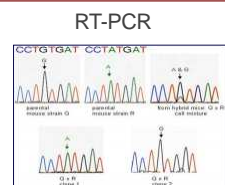
TARČA oz. POT	ZDRAVILO/A	INDIKACIJE
CDK 4/6	Abemaciclib, palbociclib, ribociclib	Rak dojke
VEGFR	Aflibercept, bevacizumab, ramucirumab	Kolorektalni rak, rak dojke, pljuč, ledvic, jajčnikov, materničnega vratu, rak želodca in gastroezofagalnega prehoda, <i>hepatocelularni rak</i>
VEGR in druge tirozinske kinaze	Aksitinib, kabozantinib, lenvatinib, nintedanib, pazopanib, regorafenib, sorafenib, sunitinib	Rak ledvic, hepatocelularni rak, rak endometrija, kolorektalni rak, rak ščitnice, NET (trebušna slinavka)
EGFR	Cetuximab, necitumumab, panitumumab	Kolorektalni rak, rak glave in vratu
mTOR	Everolimus, temsirolimus	Rak dojke, rak ledvic, NET (trebušna slinavka, GIT, pljuča)
Hedgehog	Vismodegib	Bazalnocelični karcinom

V ležečem tisku so navedena zdravila in indikacije, že odobrene s strani FDA in še ne pri EMA.

Pripravljeno v sodelovanju z Leo Knez.

Metode določanja molekularnih označevalcev

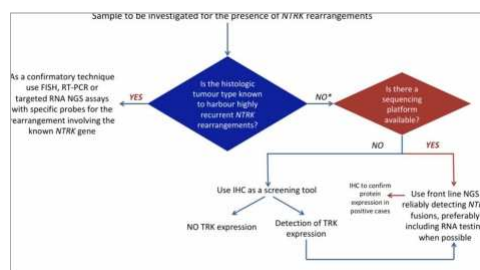
- Genetske spremembe
 - Verižna reakcija s polimerazo v realnem času (RT-PCR)
 - Sekvencioniranje nove generacije (NGS)
- Pomnožitev gena ali dela kromosoma
 - In situ hibridizacija (FISH/CISH/SISH)
- Izraženost receptorja-proteina
 - Imunohistokemija (IHK)
 - ELISA
- Sekvencioniranje nove generacije (NGS)
 - Sekvenciranje celotnega genoma, (DNA) ali transkriptoma (RNA)
 - Epigenetske spremembe



Metoda določanja mora biti validirana, laboratorij pa vključen v kontrolo kvalitete laboratorija!

Posamezni molekularni označevalci zahtevajo za klinično uporabo točno določen način določanja!

- EGFR pozitivnost pri raku pljuč
 - Prediktiven pomen za odgovor na EGFR TKI imajo EGFR mutacije (RT-PCR, NGS), ne pa izraženost receptorja (IHK)
- NTRK fuzije
 - IHC je presejalna metoda, prisotnost mora biti potrjena z FISH ali RT-PCR/NGS
- HER2 pomnožitev pri raku dojke
 - Enak prediktiven pomen izraženost receptorja (IHC) in pomnožitev gena (FISH/SISH); komplementarni metodi v primeru nejasnega statusa
- ALK prerazporeditev pri raku pljuč
 - Enak prediktiven pomen izraženost proteina (IHC) ali prerazporeditev gena (FISH/SISH)
-



Marchio C, et al. Ann Oncol 2019.

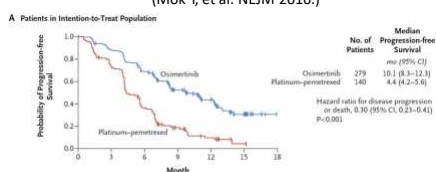
Precizno zdravljenje: Ponovno določanje molekularnega označevalca tekem poteka bolezni

- Rak dojke
 - Ponovna tkivna biopsija in določitev ER/PR in HER2 statusa je standard (ESMO-ABC, NCCN priporočila)
- Rak pljuč
 - Določitev-iskanje T790M rezistenčne EGFR mutacije v tkivu ali ctDNA je standard pri EGFR mutiranem napredovalem NDRP po progresu na EGFR TKI 1. in 2. generacije
- Spremljanje somatskih genetskih sprememb rakavih celic **tekem zdravljenja** in prilagajanje zdravljenja tem spremembam je temelj na molekularni biologiji osnovanega sistemskega zdravljenja – **precizna onkologija!**

Sovpadanje HR in HER2 statusa pri raku dojke (Lindstrom LS, et al. J Clin Oncol 2012.)

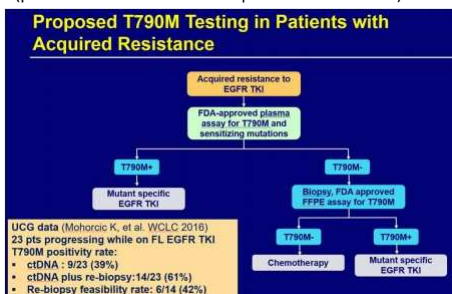
Hormonal and HER2 Status	ER*		PR*		HER2†	
	No.	%	No.	%	No.	%
Primary tumor and relapse						
Local and systemic relapse						
Primary positive/relapse positive	216	47.1	109	25.4	20	19.2
Primary positive/relapse negative	113	24.6	142	33.0	9	8.7
Primary negative/relapse positive	36	7.8	33	7.7	6	5.8
Primary negative/relapse negative	94	20.5	146	33.3	63	60.3
Total	459	100.0	430	100.0	104	100.0

AURA3: Proti T790M usmerjen TKI proti KT (Mok T, et al. NEJM 2016.)



Precizno zdravljenje Podatki iz vsakodnevne klinične prakse

Testiranje na T790M v krvi (ctDNA) ali tkivu tumorja (primer vsakodnevne klinične prakse Klinike Golnik)



Zdravljenje EGFRm bolnikov (vsakodnevna klinična praksa Klinike Golnik)



Novi izzivi

Določanje molekularnih označevalcev z NGS

Prednosti

- Omogoča **določitev velikega števila genetskih sprememb** (paneli molekularnih označevalcev) ▪
Določitev večjega števila označevalcev na 1 vzorcu z 1 preiskavo, **racionalna poraba tkiva in časa** ▪
V primeru zahteve po določanju večjega števila molekularnih tarč je preiskava lahko stroškovno učinkovitejša

Izzivi

- Smiselnost uporabe NGS-ja v vsakodnevni klinični praksi
 - **Klinična vrednost**/pomen zaznanih molekularnih označevalcev
 - Dostop do tarčnih zdravil v primeru potrjene tarče
- **Interpretacija** izvida in **razumevanje izvida** s strani klinika

Kliničen pomen molekularnih označevalcev



Stopnja klinične uporabnosti molekularnih označevalcev ESCAT

- Od I (primeren za rutinsko klinično uporabo, klinična dobit potrdjena v KR) do V (ni podatkov o pomembni klinični dobiti)
- Še vedno so redki označevalci s stopnjo I klinične uporabnosti!

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT
EGFR	Common mutations (Del19, L858R)	15% (50%–60% Asian)	IA
	Acquired T790M exon 20	60% of EGFR mutant	IA
	Uncommon EGFR mutations (G719X in exon 18, L861Q in exon 21, S768I in exon 20)	NSCLC 10%	IB
	Exon 20 insertions	2%	IB
ALK	Fusions (mutations as mechanism of resistance)	5%	IA
MET	Mutations ex 14 skipping	3%	IB
	Focal amplifications (acquired resistance on EGFR TKI in EGFR-mutant tumours)	3%	IB
BRAP ^{WT/MSI}	Mutations	2%	IB
ROS1	Fusions (mutations as mechanism of resistance)	1%–2%	IB
NTRK	Fusions	0.23%–3%	IC
RET	Fusions	1%–2%	IC
KRAS ^{G12C}	Mutations	12%	IB
ERBB2	Hotspot mutations Amplifications	2%–5%	IB
BRCA 1/2	Mutations	1.2%	IIIA
PIK3CA	Hotspot mutations	1.2%–7%	IIIA
NRG1	Fusions	1.7%	IB

NGS testiranje pri razsejanih rakih ESMO priporočila 2020

Tumour types	General recommendations for daily practice	Recommendation for clinical research centres	Special considerations for patients NSGLC
Lung adenocarcinoma	Tumour multigene NGS to assess level 1 alterations. Larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy (drug included ³) and if they report accurate ranking of alterations. NGS can either be done on RNA or DNA, if it includes level 1 alterations in the panel.	It is highly recommended that clinical research centres perform multigene sequencing in the context of molecular screening programmes in order to increase access to innovative drugs and to speed up clinical research. This is particularly relevant in breast, pancreatic and hepatocellular cancers where level 1-3 alterations are numerous.	Using large panels of genes could lead to few clinically meaningful responses, not detected by small panels or standard testing. In this context and outside the diseases where large panels of genes are recommended, ESMO acknowledges that a patient and a doctor could decide together to order a large panel of genes, pending no extra cost for the public health care system, and if the patient is informed about the low likelihood of benefit.
Squamous cell lung cancer ¹	No current indication for tumour multigene NGS		
Breast cancers	No current indication for tumour multigene NGS		
Colon cancers	Multigene tumour NGS can be an alternative option to PCR if it does not result in additional cost.		
Prostate cancers	Multigene tumour NGS to assess level 1 alterations. Larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy and if they report accurate ranking of alterations.		
Gastric cancers	No current indication for tumour multigene NGS		
Pancreatic cancers	No current indication for tumour multigene NGS		
Hepatocellular carcinoma	Multigene tumour NGS could be recommended to assess level 1 alterations. Larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy (drug included ³) and if they report accurate ranking of alterations. RNA-based NGS can be used.		
Cholangiocarcinoma	Multigene tumour NGS could be recommended to assess level 1 alterations. Larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy (drug included ³) and if they report accurate ranking of alterations. RNA-based NGS can be used.		
Others	Tumour multigene NGS can be used in ovarian cancers to determine isomeric BRCA1/2 mutations. In this latter case, larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy (drug included ³) and if they report accurate ranking of alterations. Large panel NGS can be used in sarcoma of unknown primary. It is recommended to determine TRSB in cervical cancer, uterine cancer, thyroid cancer, medullary thyroid cancer, neuroendocrine tumours, vulvar cancer, pending drug access (and in TMB-high endometrial and SCL cancers if anti-PD1 antibody is used as a biomarker).		

Lung adenocarcinoma Tumour multigene NGS to assess level 1 alterations. Larger panels can be used only on the basis of specific agreements with payers taking into account the overall cost of the strategy (drug included³) and if they report accurate ranking of alterations. NGS can either be done on RNA or DNA, if it includes level 1 fusions in the panel.

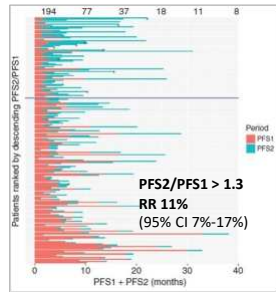
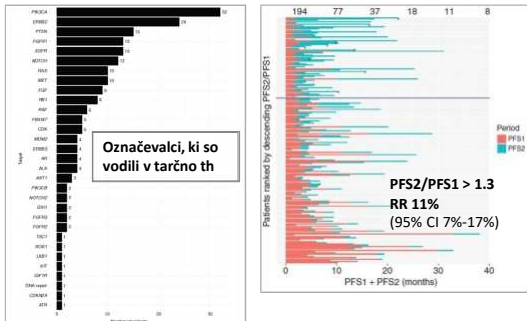
Mosele F, et al. Ann Oncol 2020.

Dostop do tarčnega zdravljenja na podlagi NGS in posledična dobrobit zdravljenja

Klinična raziskava, MOSCATO 01

843 bolnikov z napredovalimi solidnimi raki

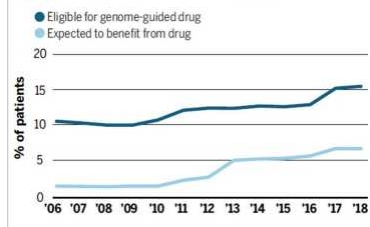
Delujoče gen. spremembe 411/843 (49%); Tarčna th 199/843 (23%)



Vsakodnevna praksa

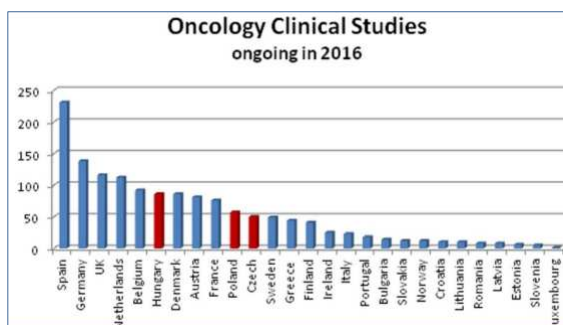
A lucky few

The portion of U.S. advanced cancer patients who can be matched with a Food and Drug Administration-approved drug based on their tumor's genome is growing slowly, and only some will see their cancer shrink.



Massard C, et al. Cancer Discov 2016; Kaiser J. Science 2018.

Dostop do kliničnih raziskav v Evropi



Rdeča barva: CEE države, ki se uvrščajo med prvo desetico.

www.sgs.com/en/news/2016/12/oncology-clinical-trials-in-central-and-eastern-Europe;
Accessed October, 2020).

Interpretacija izvida in razumevanje izvida s strani kliničnega onkologa



REZULTAT	Tkivni blok B3, adenokarcinom apikalnega segmenta levega zgornjega pljučnega režnja:
Tkivni blok A2, adenokarcinom desnega zgornjega pljučnega režnja: TOČKOVNE MUTACIJE NA -HOT SPOT+ MESTIH Tip spremembe Ekson Nukleotidna sprememba Aminokislinska sprememba EGFR ni mutacije BRAF ni mutacije KRAS ni mutacije HER2 ni mutacije AMPLIFIKACIJE MET ni prisotna HER2 ni prisotna FUZIJE ALK ni prisotna ROS1 ni prisotna MET prisotna je fuzija MET(13)-MET(13)-MET(13) RET ni prisotna Ostale zaznane spremembe MET prisotna je sprememba 14	Tkivni blok B3, adenokarcinom apikalnega segmenta levega zgornjega pljučnega režnja: TOČKOVNE MUTACIJE NA -HOT SPOT+ MESTIH Tip spremembe Ekson Nukleotidna sprememba Aminokislinska sprememba EGFR prisotna je mutacija 18 c.2156G>C p.Gly719Ala (p.G719A) BRAF ni mutacije KRAS ni mutacije HER2 ni mutacije AMPLIFIKACIJE MET ni prisotna HER2 ni prisotna
INTERPRETACIJA V adenokarcinomu desnega zgornjega pljučnega režnja (tkivni blok A2) je prisotna fuzija v genu MET: MET(13)-MET(13) (delecija eksona 14). Delecija eksona 14 gena MET aktivira signalno pot receptorja MET (Kang-Beltran et al., Cancer Research, 2006) in se pojavlja v 3-4% pljučnih adenokarcinomov (Frampton et al., Cancer Discovery, 2015). Prisotnost delecije eksona 14 v genu MET je pozitiven prediktivni dejavnik za zdravljenje z nekaterimi zaviralci tirozinskih kinaz (npr. MET inhibitorji) (Frampton et al., Cancer Discovery, 2015; Paik et al., Cancer Discovery, 2015). Diagnostični, prognostični in prediktivni pomen nukleotidne spremembe c.3029C>T, p.Thr1010Ile (p.T1010I) v genu MET ni poznan. V adenokarcinomu apikalnega segmenta levega zgornjega pljučnega režnja (tkivni blok B3) je prisotna aktivirajoča mutacija c.2156G>C, p.Gly719Ala (p.G719A) v eksonu 18 gena EGFR. EGFR je tirozin-kinazni receptor, ki aktivira različne celične poti, vpletene v celično preživetje in proliferacijo. EGFR-aktivirajoče mutacije so prisotne v 10-15% pljučnih adenokarcinomov. Prisotnost EGFR-aktivirajoče mutacije je pozitiven prediktivni dejavnik za zdravljenje z nekaterimi zaviralci tirozinskih kinaz (npr. gefitinib, erlotinib in afatinib) (Mok et al., New England Journal of Medicine, 2009; Langer et al., Journal of Clinical Oncology, 2013). Diagnostični, prognostični in prediktivni pomen nukleotidne spremembe c.3029C>T, p.Thr1010Ile (p.T1010I) v genu MET ni poznan.	

Interpretacija izvida genetskih različic in razumevanje izvida s strani kliničnega onkologa

How to Further Improve 1L Therapy for EGFRm NSCLC EGFR TKIs for Uncommon EGFR Mutations

EGFR TKI	Response Rate (%)	Median PFS (months)	Median OS (months)
First-gen ¹ (erlotinib, gefitinib)	42	7.7	17.2
Second-gen ² (afatinib)	71	10.7	19.4
Third-gen ³ (osimertinib)	50	8.2	NR

- Atypical EGFRm are not uncommon, accounting for 10-20% of all EGFR sensitizing mutations.
- Observational trials demonstrated that atypical mutations in exon 18 and exon 21 (G719, S768, L861Q) do not respond well to 1st gen EGFR TKIs, but high RR and mPFS was achieved by 2nd gen EGFR TKI afatinib.

1. Chiu CH, et al. J Thorac Oncol 2015; 2. Yang, et al. Lancet Oncol 2015; 3. Cho, et al. J Clin Oncol 2020.

MET+ NSCLC Efficacy of MET Inhibitors

Agent/Study	Phase	N	Drug	MET alteration	ORR, %	mPFS
Profile 1001 ¹	I	65	Crizotinib	METex14 alterations	32%	7.3 m
AcSAP	II	28 24	Crizotinib	MET mutations MET amplifications	40% 32%	2.6 m 3.4 m
VISION ²	II	152	Tepotinib	METex14 mutations	46%	8.5 m
GEOMETRY mono-1 ⁴	II	69 (>1. line) 25 (1. line)	Capmatinib	METex14 mutations	39% 72%	5.4 m 9.5 m

1. Dillon A, et al. WJCO 2019 Abstr 13453; 2. Moro-Sibón O, et al. WJCO 2018, Abstr 12597; 3. Paik PK, et al. N Engl J Med 2020; 4. Wolf J, et al. ESMO 2018, Abstr LB452.

Molekularni konzilij je obvezen del procesa določanja molekularnih označevalcev z NGS



Molekularni konzilij

- Onkolog
- Patolog
- Molekularni biolog
- Genetik
- Genetski svetovalec
- Bioinformatik

Virtualni molekularni konziliji

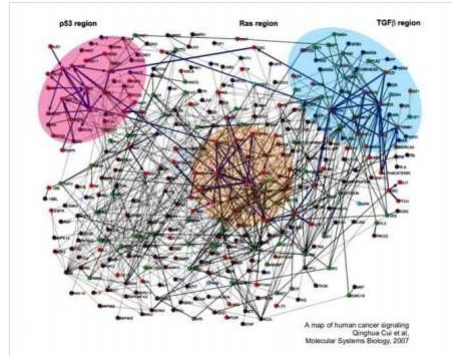
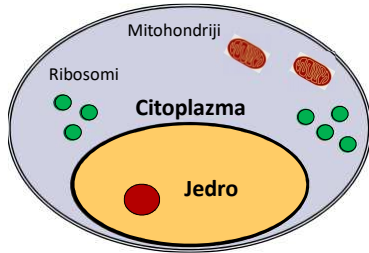
- Multicentričen
/Strokovnjaki več centrov
- Mednarodni
/Strokovnjaki več držav

Resource Name	Primary Institute	Member	Focus ¹	Evidence	Preclinical Evidence	Diagnostic Evidence	Prognostic Evidence	Variant Emphasis	Data Access	Web Address
BCDA Exchange	GAIGI	X	X	X	X			Germine	Free	http://bcdaexchange.org/
CCDL	Ohio State University/ James Cancer Hospital	X	X	X				Somatic	Free	http://ccdl.osu.edu/
CGI	Institute for Research in Biomedicine, Barcelona, Spain	X	X	X				Somatic	Free for noncommercial research use	http://www.carcinogenomicscenter.org/home
ChnGen Knowledge Base	ChnGen				X			Germine	Free	http://www.chngenome.org/repositories/
CMC	Washington University School of Medicine	X	X	X	X	X	X	Majorly somatic	Free	https://cmc.wustl.edu/
ClinVar	National Center for Biotechnology Information			X	X			All variants	Free	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
COADIC Drug Resistance Cancer	Wellcome Trust Sanger Institute	X	X					Somatic	Free for noncommercial research use	http://saros.sanger.ac.uk/copycat/eg_resistance
Gene Drug Knowledge Database	Synapse	X	X	X		X	X	Somatic	Free	https://www.synapse.org/#/Synapse/eg/2370773/keywords
JAX-CKB	The Jackson Laboratory	X	X	X	X	X	X	Somatic	Partial content free for noncommercial research use	https://ckb.jax.org/
My Cancer Genome	Vanderbilt University		X	X		X	X	Somatic	Free for noncommercial research use	http://www.mycanongenome.org/
OncoPrint	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center	X	X	X				Somatic	Free for noncommercial research use	https://oncoprint.skg.org/
Personalized Cancer Therapy Database	The University of Texas MD Anderson Cancer Center	X	X	X	X	X	X	Somatic	Free for noncommercial research use	https://pctdb.mdanerson.org/#home
PharmDB	Stanford University		X					Germine	Free	https://www.pharmdb.org/
PMDB	Weill Cornell Medical College	X	X	X	X	X	X	Somatic	Free	https://www.well.comell.edu/
HMDB	Institute of Medical Genetics in Cardiff			X				Germine	Partial content free for noncommercial research use	http://www.ebi.ac.uk/efp/

Povzeto po Rao S, et al. JCO Clin Cancer Inform 2020.

Hvala za pozornost !

Znanje o celični zgradbi 1980.....2020.....



Osnovni principi molekularne diagnostike

Srdjan Novaković



Materiali in metode na Oddelku za molekularno diagnostiko

Vrste materiala

- Polna venska kri
- V formalinu fiksirano in v parafin vključeno tkivo - FFPE
- Sveže, zmrznjeno tkivo
- Punktati izlivov, kostnega mozga
- Aspiracijske biopsije s tanko iglo

Metode

- PCR, Q-PCR
- Metoda hkratnega pomnoževanja od ligacije odvisnih sond – MLPA
- Neposredno sekvenciranje
- Sekvenciranje naslednje generacije - NGS

DNA ali RNA → metode za izolacijo

Tekočinske biopsije

- krožeče tumorske celice,
- prosta DNA
- eksosomi

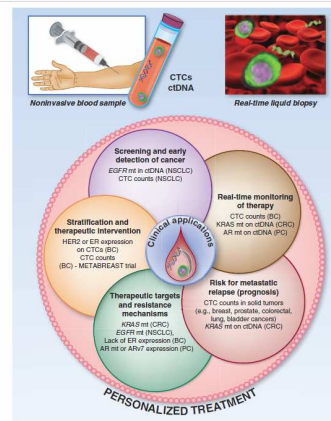
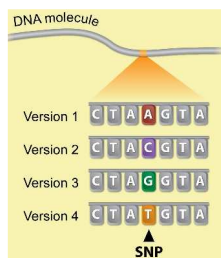


Figure 1. Clinical applications of CTCs and ctDNA as liquid biopsies for personalized medicine. Blood samples can be sampled repeatedly to predict relapse in M_0 patients or metastatic progression in M_1 patients, monitor the efficacy of therapies and understand potential resistance mechanisms. Before therapy, patients can be stratified to the most effective drugs, whereas after initiation of treatment persistence to increases of CTCs/ctDNA indicates resistance to therapy, and this information may allow an early switch to a more effective regimen before the tumor burden is excessive and incurable. mt, mutation; BC, breast cancer; PC, prostate cancer; CRC, colorectal cancer.

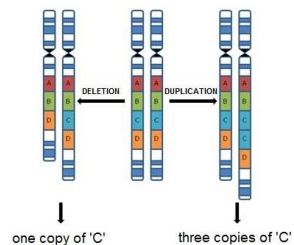
Kakšne spremembe na DNA/RNA lahko zaznamo z metodami molekularne diagnostike?

Spremembe znotraj enega gena

- Sprememba posameznega nukleotida – SNP (Single Nucleotide Polymorphisms)



- Manjše delecije in/ali insercije – INDEL (1-50 nukleotidov)



- Spremembe števila kopij posameznih genov ali njihovih delov (Copy Number Variations CNV)

Velike delecije ali insercije (>100 nukleotidov)

Medgenske spremembe

○ Fuzije strukturnih delov genov in nastanek himernih proteinov

Rezultat večine fuzij med različnimi geni znotraj istega ali dveh različnih kromosomov so himerni geni oz. himerni proteini. V tovrstnih fuzijah najpogosteje sodelujejo geni iz dveh skupin – tisti, ki nosijo zapis za tirozinske kinaze ali za transkripcijske faktorje.

○ Fuzije, ki spremenijo regulacijo izražanja normalnih genov

Fuzija regulatornih regij (kot so promotorske regije in ojačevalna zaporedja) s kodirajočimi regijami protoonkogenov.

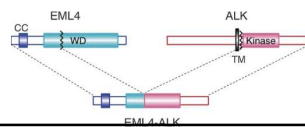


Table 1. Selected Examples of Chromosomal Rearrangements.*

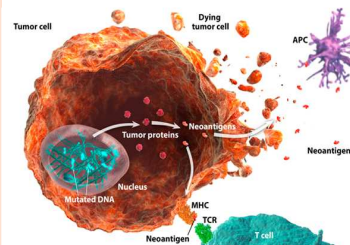
Genetic Change [†]	Gene Fusion	Disease	Targeted Therapy [‡]
Formation of chimeric fusion genes			
Involving tyrosine kinases			
inv(2)(p22-p21p23)§	EML4-ALK	Non-small-cell lung cancer	
t(2;5)(p23;q35)	ALK-NPM1	Anaplastic large-cell lymphoma	
t(4;14)(p16.3;q32.33)§	WHSC1-IGHG1	Multiple myeloma	
del(4)(q12;q21)	FIP1L1-PDGFRB	Myeloid neoplasm associated with eosinophilia	Imatinib
t(5;12)(q31;q32p31)	PDGFRB-ETV6	Myeloid neoplasm associated with eosinophilia	Imatinib
t(9;22)(q34.1;q11.23)	BCR-ABL1	Chronic myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, acute myeloid leukemia	Imatinib, dasatinib, nilotinib
epiome(9q34.1)§	NUP214-ABL1	Acute lymphoblastic leukemia	Imatinib
inv(10)(q11.2q11.2)§	RET-NCOA4	Papillary thyroid cancer	
inv(10)(q11.2q21)	RET-CCDC6	Papillary thyroid cancer	
t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3	Various cancers	
Involving transcription factors			
t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL2	Acute megakaryoblastic leukemia	
t(2;3)(q12-q14p25)	PAX8-PPARG	Follicular thyroid cancer	
t(7;11)(p15-p14p15.5)	NUP98-HOX9	Myelodysplastic syndrome, acute myeloid leukemia	
t(8;21)(q22;q22.3)	RUNX1-RUNX1T1	Acute myeloid leukemia	
t(9;11)(p22;q23)	MLL-MLL3	Acute myeloid leukemia	
t(11;22)(q24.1;q24.3q22.2)	FLI1-EWSR1	Ewing's sarcoma	
t(12;21)(p13;q22.3)§	ETV6-ROR1	Acute lymphoblastic leukemia	
t(15;17)(q22;q21)	PML-RARA	Acute promyelocytic leukemia	All-trans retinoic acid, arsenic trioxide
inv(16)(p13.11q22.1)	CBFB-MYH11	Acute myeloid leukemia	
t(21;22)(q22.3;q12.2)	ERG-EWSR1	Ewing's sarcoma	
Deregulated expression of structurally normal genes			
t(8;14)(p24.1;q22.33)	MFC-IGHG1	Burkitt's lymphoma	
t(1;14)(q11;q32.33)	CCND1-IGHG1	Mantle-cell lymphoma	
t(12;13)(p13;q12.3)	ETV6-CDK2	Acute myeloid leukemia	
t(14;18)(q32.33;q21.3)	IGHG1-BCL2	Follicular lymphoma	
del(21)(q22.3q22.3)§	TMPRSS2-ERG	Prostate cancer	

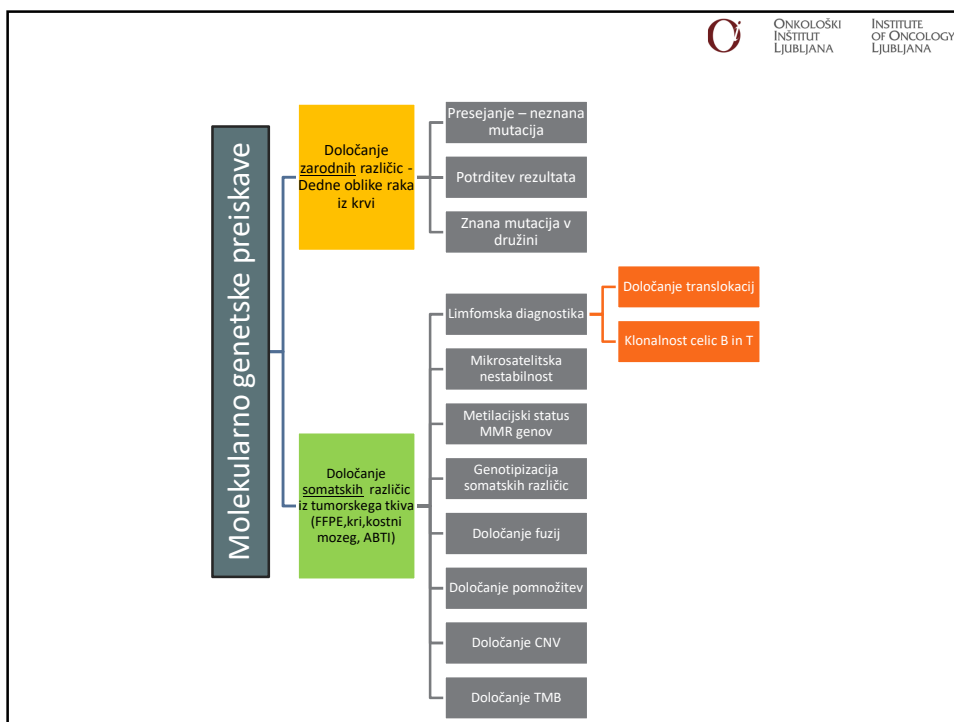
* The full names of all genes that are listed according to their abbreviations appear in a glossary in the Supplementary Appendix.
[†] Chromosomal localizations are in accordance with the genome mapping data provided in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) Map Viewer: Build 38.3: www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/.
[‡] Imatinib has not been approved for treatment of myeloid neoplasms associated with eosinophilia and NUP214-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia, but therapeutic efficacy is predicted on the basis of preclinical studies. The other drugs listed have been approved for treatment of the indicated tumor types.
[§] This cryptic alteration is cytogenetically invisible.

N Engl J Med 2008

Druge spremembe, ki jih lahko opredelimo z molekularno diagnostiko

- MSI (microsatellite instability) - Mikrosatelitska nestabilnost
- TMB (tumor mutational burden) - Število mutacij v tumorju (mutacijsko breme v tumorju)
- Metilacijski status posameznih genov
- Izguba heterozigotnosti za določene regije





Spletna stran OIL:

Zdravstvena dejavnost
v
Diagnostična dejavnost
v
Oddelek za molekularno diagnostiko
v
Naročanje preiskav in pošiljanje vzorcev

LAK. Št. VZORCA

NAPOTNICA ZA MOLEKULARNO GENETSKO PREISKAVO – GENOTIPIZACIJA DEDNIH SPREMENB

PODATKI O BOLNIKU

Primek in ime: Spol: ženski moški

Datum rojstva: Datum napotnice:

Š. popisa: Datum odvzema vzorca:

Š. družine: Vrsta vzorca: Kri (do 10 ml epurirana z EDTA) Kri in stabiliziran gen (RNA-Tempax) drugo:

Klinična diagnoza: Prednostna obravnava:

RAZLOG NAPOTITVE

01. Sindrom dednega raka doje in/ali jajčnikov	02. Sindrom Lynch	03. Polipoza	04. Adenomatozna polipoza	05. Inevitabilna polipoza	06. Dedni difuzni rak želodca	07. Sindrom Peutz-Jeghers	08. Sindrom Li-Fraumeni	09. Sindrom Cowden	10. Sindrom Von Hippel-Lindau	11. Maligni melanom	12. Rak prostate	13. Rak trebušne slinavke	14. Rak ledvic	15. Nevrofibromatoza	16. Endometriozis/pangangliom	17. Multiple primarne tumorji	18. Drugo:
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

neznana različica
 znana patogena/verjetno patogena različica v družini gen, različica
pri testiranju v družini/testiranju sorodnikov

potrditev rezultata
Št. prejšnjega izvoda:

reanaliza
Št. prejšnjega izvoda:

mRNA analiza
gen, različica, št. prejšnjega izvoda:

Opombe:

Primek in ime napotnega zdravnika: Pošiljatelj napotnega zdravnika:

Datum prejema napotnice: Datum prejema materiala:

Priglasitev: Priglasitev:

OPZORILCI: Dokumenti so obdelovani elektronsko. Veljavnost dokumenta preverite v aplikaciji GovernmentConnect.
OBR – 707 – 1070 – MD-STO Verzija 8 / 18.12.2019 Stran 24 iz 24 stranic aplikacije.

Panelsi genov glede na vrsto raka

rak dojka	rak jajčnikov	rak debelega črevesa in danke	rak trebušne slinavke	melanom	rak želodca	NSCLC	GIST	rak prostate	rak mehurja
AKT1	AKT1	AKT1	ATM	AKT3	ATM	ACTN4	KIT	ATM	FGFR2
ALK	ARID1A	ALK	BRCA1	BAP1	CDH1	CDH1	PDGFRA	BRD1	FGFR3
ARID1A	ATR	APC	BRCA2	BRAF	EPCAM	AKT2	BRAF	BRCA1	NTRK1
ATM	BRCA1	ATM	STK11	BRCA2	ERBB2	ALK	NF1	BRCA2	NTRK2
ATR	BRCA2	BMP1A	NTRK1	CCND1	ERBB3	ARAF	NTRK1	BRIP1	NTRK3
BRCA1	BRIP1	BRAF	NTRK2	CDK4	FGFR2	AXL	NTRK2	CDK12	
BRCA2	EPCAM	EGR	NTRK3	ERBB4	MET	BCL2L1	NTRK3	CHEK1	
CDKN2A	MAP2K4	EP300		GNA11	MET	BRAF		CHEK2	
CDK6	MLH1	EPCAM		GNAQ	MLH1	CCND2		FANCL	
CHEK2	MSH2	ERBB2		JAK1	MSH2	CREBBP		PALB2	
ERBB2	MSH6	ERBB3		KIT	RHOA	CRKL		RADS1B	
ERBB3	NOTCH3	FBXW7		MAP2K1	NTRK1	DDR2		RADS1C	
ESR1	PMS2	HRAS		MAP2K2	NTRK2	EGFR		RADS1D	
FGFR1	PTEN	IGF2		MDM4	NTRK3	EP300		RADS4L	
FGFR2	RADS1C	KDR		NRAS		ERBB2		PPP2R2A	
KDR	RADS1D	KRAS		RAC1		ERBB3		NTRK1	
MAP3K1	STK11	MLH1		RAF1		ERBB4		NTRK2	
NF2		MSH2		NTRK1		IGF1R		NTRK3	
NOTCH1		MSH6		NTRK2		KEAP1			
NOTCH2		MUTYH		NTRK3		MAP3K1			
PALB2		NOTCH1				MET			
PIK3CA		NRAS				NFE2L2			
PTEN		PIK3CA				NRG1			
STK11		PMS2				NTRK1			
TP53		PTEN				PIK3R2			
NTRK1		SMAD4				POLD1			
NTRK2		STK11				POLE			
NTRK3		TP53				PRKCI			
		NTRK1				RET			
		NTRK2				ROSI			
		NTRK3				SMARCA4			
						STK11			
						NTRK1			
						NTRK2			
						NTRK3			

Določanje somatskih različic – IZVID TST170

ISKANJE:

Po: 1369/15

ISCI: (IZPRAZNI)

Bioliki

- Sprejemi
- Diagnoze
- Narčisa
- Pošta
- Zapiski
- Diktati
- Diagnostika**
- Laboratorij
- Laboratorij - PKM
- Laboratorij - staro
- Izpusti
- Radiologija
- Radiologija - staro
- Citologija
- Patologija
- Molekularna diagnostika
- Telesarsija
- Rehabilitacija
- Zdravila
- Digitalni izvid**
- ODS 11.12 MDS
- ODS 11.19 MDS

IZVID GENOTIPIZACIJE SOMATSKIH MUTACIJ IZ TUMORSKEGA TKIVA

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE

BRISNA ODBE

PREISKOVANI GENI



ONKOLOŠKI
INŠTITUT
LJUBLJANA

INSTITUTE
OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Oddelek za molekularno diagnostiko



ONKOLOŠKI
INŠTITUT
LJUBLJANA

INSTITUTE
OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Dnevnik zunanjih kontrol

Tabela datumov dejavnosti, povezanih z zunanjimi kontrolami rezultatov, v letu: 2020

Zunanja kontrola	Certifikat /pilota shema	Rok prijave testnih shem	Prijava testnih shem	Rok za plačilo predpisana	Plačilo predpisana	Olvirno obdobje pošiljanja vzorcev	Prejem vzorcev	Rok za pošiljanje rezultatov	Pošiljanje rezultatov	Prejem ocene rezultatov	Poročilo o zunanji oceni
EMQN (dedni raki)											
HBOC (panel 9876) Lynchov sindrom Polypsosis sx	certifikat	12.09.2019 do 30.11.2019	04.11.2019	01.10.2020	01.10.2020	Januar 2020	09.01.2020	13.03.2020	12.03.2020	29.08.2020 29.08.2020 (post-appeals)	09.09.2020 (Petra)
EMQN Variant Classification	certifikat	do 28.03.2020	23.03.2020			September 2020	16.09.2020	16.10.2020	16.10.2020	Se ni	Se ni
EMQN (sporadni raki)											
Melanom	certifikat	12.09.2019 do 28.02.2020	04.11.2019	01.10.2020	01.10.2020	Junij 2020 – zamak zaradi COVID-19	09.09.2020	23.10.2020 (08.11.2020)	22.10.2020	Se ni	Se ni
Colorectal cancer (sporadic)	certifikat	12.09.2019 do 28.02.2020	04.11.2019	01.10.2020	01.10.2020	Junij 2020 – zamak zaradi COVID-19	09.09.2020	23.10.2020 (08.11.2020)	22.10.2020	Se ni	Se ni
Ovarijski karcinom BRCA (Ovarijalni karcinom ySomatic)	certifikat	12.09.2019 do 28.02.2020	04.11.2019	01.10.2020	01.10.2020	September 2020	30.09.2020	13.11.2020	Se ni	Se ni	Se ni
EMQN rak dojke PIK3CA	pilota	02.09.2019 do 28.02.2020	03.03.2020	01.10.2020	01.10.2020	September 2020	09.09.2020	23.10.2020	22.10.2020	Se ni	Se ni
EMQN (tehnična shema)											
DNA sekvenciranje - NGS (ySomatic)	certifikat	12.09.2019 do 28.02.2020	04.11.2019	01.10.2020	01.10.2020	September 2020	30.09.2020	13.11.2020	Se ni	Se ni	Se ni
EMQN Mikrosatelitna nestabilnost (MSI)	pilota	/	02.12.2019	01.10.2020	01.10.2020	Junij 2020	09.09.2020	23.10.2020	22.10.2020	Se ni	Se ni
RCPA klonalnost	Ne sodelujemo v letu 2020 (predvideno za leto 2021)										

OPOZORILO: Dokumenti so obvladovani elektronsko. Veljavnost dokumenta preverite v aplikaciji GovernmentConnect. Samo za interno uporabo.

EL - 201 - 1070 - MD-ORG Verzija 5/01.03.2018

1/1



The European Molecular Genetics Quality Network

Certificate of Participation 2019

This is to certify that
Institute of Oncology Ljubljana (Dept. for Molecular Diagnostics)

Participated in 2019 in the following European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) external quality assessment schemes:

Scheme	Genotyping	Interpretation	Clerical	Result
DNA SEQUENCING - NGS (v Somatic)	2,00			Satisfactory
FAP	2,00	2,00	2,00	Satisfactory
HBOC (Panel Testing)	2,00	1,83	2,00	Satisfactory
LYNCH	2,00	2,00	2,00	Satisfactory
MELANOMA	2,00	2,00	2,00	Satisfactory
OVARIAN CANCER (v Somatic)	2,00	2,00	2,00	Satisfactory

The laboratory participated in 6 schemes and passed 6 of them. The detailed performance data are given on the individual Laboratory Report (LR). When viewing the certificates, you should ensure that 6 schemes are listed.

Key: > Scheme Mean < Scheme Mean Poor performance
 NRS: No Results Submitted
 WFS: Withdraw From Scheme

Signed by:

Prof. David Barton
EMQN Chairman

Dr. Simon Patton
EMQN Director

EMQN is a not for profit organisation which provides external quality assessment schemes for genetic testing laboratories. EMQN is a UKAS accredited provider of EQA services and is based at the Manchester Centre for Genetic Medicine, 20 Wytheville, Manchester, UK.

Copyright © EMQN 2020

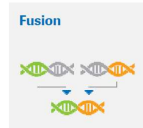
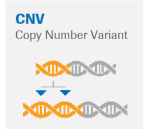
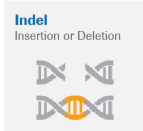
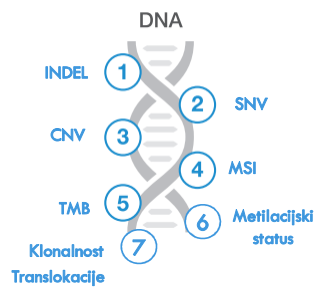
Page 1 of 1

OSNOVNI PRINCIPI MOLEKULARNE DIAGNOSTIKE

PETRA ŠKERL

Molekularna diagnostika

- Na nivoju DNA in/ali RNA



Vrsta vzorca

Vrsta vzorca	Priporočljiva količina	Vsebnik	Izolacija
Periferna kri, plazma	10 ml	Epruveta z EDTA	DNA
Periferna kri	3 ml	Epruveta s stabilizatorjem RNA	RNA
Punktat kostnega mozga	1-3 ml	Epruveta z EDTA	DNA
Aspiracijska biopsija	1-3 ml (10^4 - 10^6 celic)	Epruveta s spiralno tekočino (PBS, 4N NaOH, 5% EDTA, 20% BSA, garamicin, penicilin); RNAlater	DNA in RNA
Tkivo vklopljeno v parafin FFPE	6 rezin debeline 5 μ m	Epice ali stekelca	DNA in RNA
Sveže ali zmrznjeno tkivo	25-50 mg	Epruveta s fiziološko raztopino	DNA in RNA
Tekočinska biopsija	10 ml	Epruveta s stabilizatorjem cfDNA	cfDNA
Drugo (ascites, bris ustne sluznice, lasni mešički, likvor...)		Epruveta s spiralno tekočino (PBS, 4N NaOH, 5% EDTA, 20% BSA, garamicin, penicilin)	DNA in RNA

Izolacija DNA in/ali RNA iz različnih vzorcev

- prvi korak pred izvedbo testiranja
- uporaba različnih komercialno dostopnih kompletov za izolacijo DNA in/ali RNA iz različnih vzorcev
- Ročna izolacija (ne avtomatično)
- Kvantifikacija in ocena kakovosti izolirane DNA/RNA:
 - spekrofotometrično in fluorimetrično
- Priprava DNA/RNA za nadaljnje postopke

Kakovost izolirane DNA/RNA odvisna od vrste vzorca!

Vzorci FFPE:

- Razgrajena DNA/RNA
- Prisotnost inhibitorjev PCR
- Artefakti (deaminacije, oksidacije)
- Omejena količina DNA/RNA

GENOTIPIZACIJA NI MOGOČA!



Čas za izvedbo: 4-16 ur

Molekularno diagnostične metode

- Verižna reakcija s polimerazo - PCR
- PCR v realnem času – RT-PCR
- Od ligacije odvisno hkratno pomnoževanje sond – MLPA
- Metilacijsko specifični MLPA
- Sekvenciranje po Sangerju
- Sekvenciranje naslednje generacije – NGS

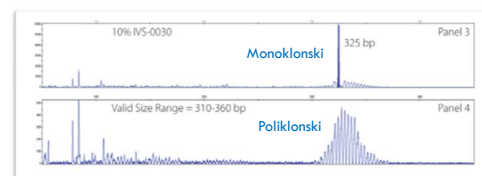
Standardizirane in/ali validirane metode, postopki

Zunanja kontrola kakovosti

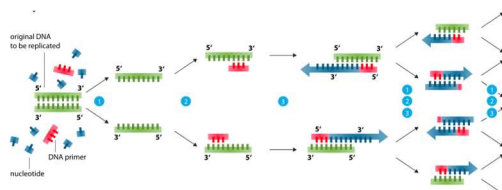
Metoda PCR – verižna reakcija s polimerazo

- Določanje klonalnosti limfocitov B in T
- Določanje translokacij t(14;18) in t(11;14)
- Določanje mikrosatelitske nestabilnosti – MSI
- Od ligacije odvisno hkratno pomnoževanje sond - MLPA
- Metilacijsko specifični MLPA - MS-MLPA

- Fluorescenčno označeni oligonukleotidni začetniki oz. primerji
- Nastanek različno velikih PCR produktov



Primer rezultata pri določanju klonalnosti limfocitov B.



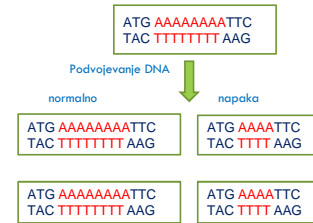
Analiza PCR produktov:

- Kapilarna elektroforeza
- Poliakrilamidna gelska elektroforeza

Določanje mikrosatelitske nestabilnosti (MSI) z metodo PCR

Značilnosti:

- Pomnoževanje mikrosatelitskih markerjev – homopolimerov z metodo PCR in detekcija fluorescenčno označenih PCR produktov s kapilarno elektroforezo.
- 96.1% občutljivost in 97.1% specifičnost, če je spremenjen ≥ 1 označevalec MSI.
- Potrebujemo normalno tkivo (netumorsko tkivo ali periferna kri) za primerjavo s tumorskim tkivom.



Omejitve:

- Manj zanesljiv rezultat, če nimamo normalnega tkiva za primerjavo (markerji se pri posamezniku lahko razlikujejo od povprečja).
- Specifičnost metode je višja za tumorje debelega črevesa in danke kot za druge tipe tumorjev (endometrijski, urotelni, ovarijski, rak želodca).

Uporaba:

- Različni solidni tumorji, najpogosteje tumorji raka debelega črevesa in danke.

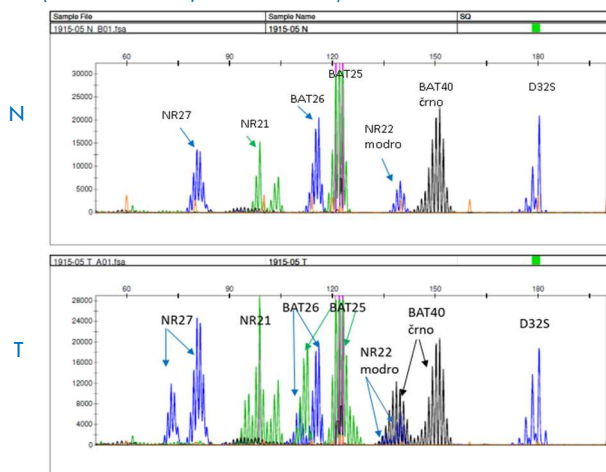
6 različnih mononukleotidnih označevalcev (markerjev) + 1 dinukleotidni označevalec za kontrolo

Marker	Sense primer (5' - 3')	Antisense primer (5' - 3')	Label	Allele size* (bp)
BAT25	TGGCCTCAAGAAATTAAGT	TCTGCATTATACATATGGCTC	VIC	122-124
BAT26	TGACTACTTTTGACTTCAAGC	AACGATTACACATTTTAAAGCC	6FAM	116-117
BAT40	AGTCCATTATATCTCCAGC	GTACAGCAGAGCACCCTTG	NED	142-143 and 145-146
NR21	TAAATGTATGTCTCCCTGG	ATTCTACTCCGCAATCA	VIC	98-99
NR22	GAGGCTGTCAAGACATAA	AATTCGGATCCATCAAGTT	6FAM	138-140
NR27	AACCATCTTGGAAACCACT	CGATAATACTAGCAATGACC	6FAM	86-87
D3S1260	CTACCAAGGAGCACTGTAG	CATGTACCTGAGCACCCTAGT	6FAM	171-189

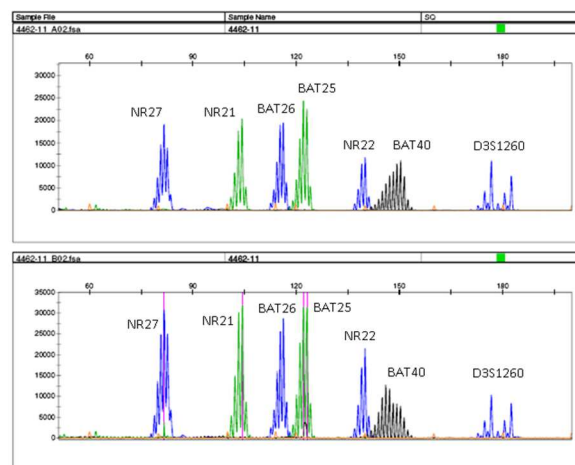
- Uporaba specifičnih oligonukleotidnih začetnikov z vezanimi barvili.
- Posamezen marker MSI ima določeno barvo in območje velikosti produkta PCR.

Določanje MSI - primer rezultata

(N = normalno tkivo; T = tumorsko tkivo)



Grafični prikaz fragmentne analize MSI posameznih markerjev pri pozitivnem rezultatu – MSI-H.



Grafični prikaz fragmentne analize MSI posameznih markerjev pri negativnem rezultatu – MSI-S.

MLPA – od ligacije odvisno hkratno pomnoževanje sond

Značilnosti:

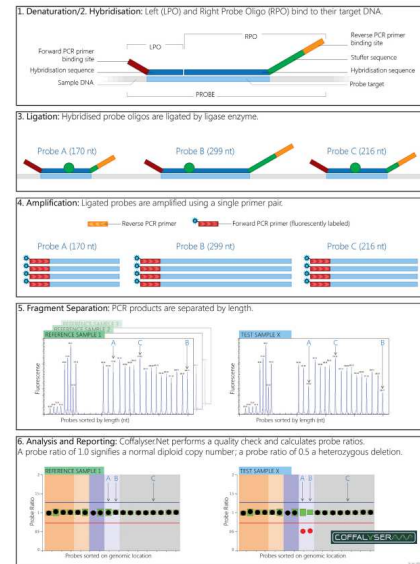
- Določanje CNV – števila kopij gena in delecij/duplikacij posameznih eksonov.
- Metoda PCR z univerzalnim parom oligonukleotidnih začetnikov in z uporabo specifičnih hibridizacijskih sond ter detekcija s kapilarno elektroforezo.

Omejitve:

- Manj uporabno za vzorce FFPE – razgrajena DNA (veliki PCR produkti).
- Časovno zamudna metoda.

Uporaba:

- potrjevanje zarodnih delecij/duplikacij eksonov/genov po NGS
- testiranje znanih patogenih različic v družinah
- potrditev rezultata pri dednih rakih
- validacija



Vir: MRC-Holland

Določanje metilacijskega statusa genov MMR z MS-MLPA

Značilnosti:

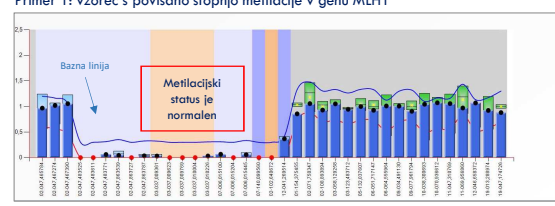
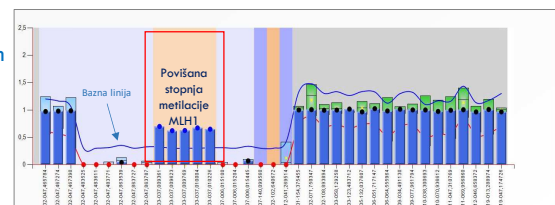
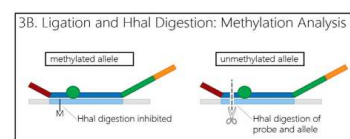
- Metoda MS-MLPA (metilacijsko specifična metoda hkratnega pomnoževanja od ligacije odvisnih sond) temelji na pomnoževanju od 60 različnih metilacijsko specifičnih sond v reakciji PCR, ki ji sledi fragmentna analiza fluorescenčno označenih PCR produktov na kapilarni elektroforezi.
- Metilirane sekvence DNA so zaščitene pred razrezom z encimom HhaI, kar se kaže kot prisoten PCR produkt po ligaciji sond in PCR pomnoževanju.
- Povišana stopnja metilacije je določena glede na referenčne vzorce s pomočjo programskega orodja Coffalyser.

Omejitve:

- Ne zazna sprememb v metilaciji izven tarčnih sekvenc metilacijsko specifičnih sond.

Uporaba:

- Izključitev Lynchevega sindroma
 - Rak debelega črevesa in danke
 - Rak endometrija



Določanje znanih klinično pomembnih različic v tumorju z RT-PCR

Značilnosti:

- Določanje „hot-spot“ različic v tarčnih genih z uporabo za alel-specifičnih sond in RT-PCR.
- Molekularna tarča/različica je znana.
- komercialno dostopni kompleti Entrogen (CE-IVD).
- Meja detekcije: 0,5 – 10% mutiranih alelov (odvisno od posamezne različice).
- Hitrejši in cenejši v primerjavi z NGS.

Omejitve:

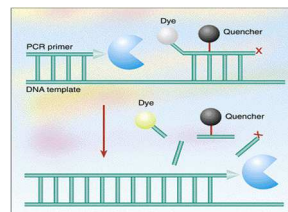
- Omejeno število molekularnih tarč.
- Detekcija „hot-spot“ različic, ni drugih informacij.

Uporaba:

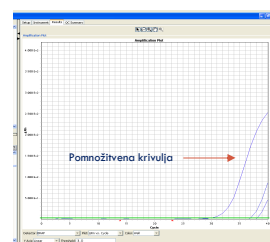
- Rak debelega črevesa in danke: *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*
- Maligni melanom: *BRAF*, *C-KIT*, *NRAS*
- Rak dojke: *PIK3CA*
- GIST: *PDGFRA*, *C-KIT*



Čas za izvedbo: 2 – 3h



Fluorescenčna detekcija signala ob prisotnosti patogene različice.



Primer rezultata za *BRAF* V600E.

Sekvenciranje po Sangerju – sekvenciranje prve generacije

- Sekvenciranje = določanje zaporedja nukleotidov v DNA (Frederick Sanger, 1977)

Značilnosti:

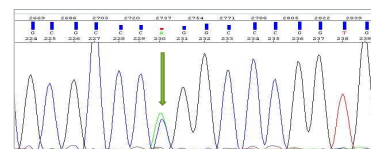
- določanje SNVs, manjših delecij/insercij v DNA
- minimalna alelna frekvenca: 15-20%
- velikost tarčne DNA: 150 – 1000 bp

Omejitve:

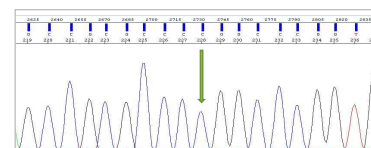
- sekvenciranje vsakega fragmenta posebej (npr. *BRCA1* in *BRCA2*: 120 Fragmentov/bolnika)
- časovno zamudno
- manj uporabno za vzorce FFPE – razgrajena DNA, inhibitorji
- premajhna občutljivost (15-20% VAF) za zaznavanje alelov z nizko frekvenco v tumorjih

Uporaba:

- potrjevanje zarodnih različic po NGS
- testiranje znanih patogenih različic v družinah
- potrditev rezultata pri dednih rakih
- sekvenciranje genov *KIT* in *PDGFRA* pri GIST
- validacija

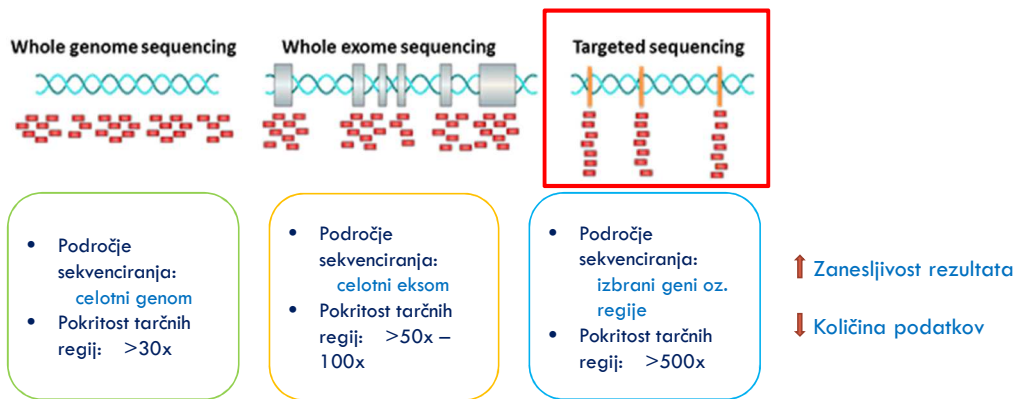


Patogena različica je dokazana.



Patogena različica ni dokazana.

Sekvenciranje naslednje generacije - NGS



Vir: <http://www.genomesop.com/somatic-mutations/>

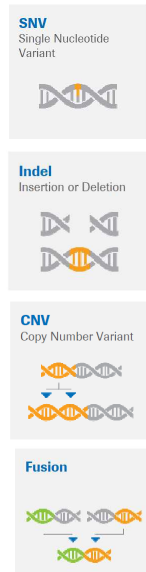
Tarčno sekvenciranje - NGS

Značilnosti:

- Paralelno sekvenciranje – določamo nukleotidno zaporedje **več milijonov fragmentov DNA hkrati, paralelno.**
- V eni analizi je vključenih več bolnikov hkrati.**
- Različni genski paneli, ki vključujejo >500 genov
 - določanje SNVs, manjših delecij/insercij v DNA
 - določanje števila kopij genov (CNV)
 - določanje fuzij (RNA)
 - določanje TMB
 - določanje MSI

Omejitve/izzivi:

- Dolžina prebranega fragmenta (angl. read) – so kratki (101 bp, 151 bp)
(lahko zgrešimo Indel >50 bp; napake pri naleganju v GC-bogatih regijah).
- Zahtevna analiza.
- Velika količina podatkov, shranjevanje podatkov.



Paneli pri testiranju dednih rakov

TruSight Hereditary (Illumina)

- **113 genov**
- **125 SNPs**
- (77 za določanje PRS - polygenic risk scoring).

TruSight Cancer (Illumina)

- **94 genov**
- **284 SNPs**

- Geni značilni za dedne sindrome, ki so povezani z različnimi vrstami raka.
- Paneli sestavljeni glede na NCCN smernice.

SNV Single Nucleotide Variant



Indel Insertion or Deletion



CNV Copy Number Variant



- Vzorec: periferna kri (DNA).
- 40-50x minimalna pokritost tarčnih genov
- Občutljivost in specifičnost: 100% pri alelni frekvenci 50%.

V analizo je vključenih 24-96 bolnikov/preiskovancev.

- Seznam genov je dostopen na spletni strani: https://www.onko-i.si/dejavnosti/zdravstvena_dejavnost/diagnostica_dejavnost/oddelek_za_molekularno_diagnostiko

Paneli pri testiranju tumorjev

TruSight Tumor 170 (Illumina)

- **170 genov**
 - 55 genov za fuzije

TruSight Oncology 500 (Illumina)

- **523 genov**
 - 55 genov za fuzije

- Določanje TMB (Tumor Mutation Burden)
- Določanje MSI (mikrosatelitska nestabilnost)
- Določanje fuzij genov (znani in neznani fuzijski transkripti)
- Določanje splice različic na nivoju RNA

SNV Single Nucleotide Variant



Indel Insertion or Deletion



CNV Copy Number Variant



Fusion



- Vzorec: FFPE (DNA in RNA)
- 500-1000x minimalna pokritost tarčnih genov
- Meja detekcije: 5% VAF; 5 kopij/ng RNA za fuzije; 2.2x za število kopij gena
- Analitična občutljivost: 95% pri 5% VAF

V analizo je vključenih 12-15 bolnikov.

POMEMBEN JE DELEŽ TUMORSKIH CELIC V VZORCU!

- Seznam genov je dostopen na spletni strani: https://www.onko-i.si/dejavnosti/zdravstvena_dejavnost/diagnostica_dejavnost/oddelek_za_molekularno_diagnostiko

Določanje fuzij

Archer FusionPlex Sarcoma Kit

- 26 genov z znanimi in neznanimi partnerji

ALK	FUS	NTRK3	TCF12
CAMTA1	GLI1	PDGF8	TFE3
CCNB3	HMGA2	PLAG1	TFG
CIC	JAZF1	ROS1	USP6
EPC1	MEAF6	SS18	YWHAE
EWSR1	MKL2	STAT6	
FOXO1	NCOA2	TAF15	

- Vzorec: FFPE, kri, zmrznjeno tkivo (RNA)
- Mesta prelomov niso vnaprej opredeljena
- V tabeli so podani vodilni partnerji

Archer FusionPlex Lymphoma Kit

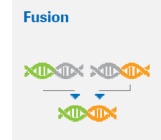
- 125 genov z znanimi in neznanimi partnerji

AICDA	CBFB	CREBBP	IGFBP1	LTS1	NRAS	RSANBP1
AKT3	CCDC30	CTLA4	FCBP1	MAL	P2RY8	RHOA
ALK	CCND1	CHIR2	ITIH3	MAML1	PIK3	S1PR2
ALB13	CCND2	DEK	IGH1	MAML3	POCD1	SERPINA9
BATF3	CCND3	DENND3	IGH2	MKL1	POCD1L2	SF81
BAK	CD274	DLEU1	IL16	MLF1	POGFRA	SH3BP5
BCL2	CD44	DNMT3A	IRF4	MLL10	PRM1	STAT3
BCL2A1	CD79B	DNMT3B	IRF8	MME	PRK2	STAT3B
BCL3	CD25A	DNIT	IRF8B	NUC1	PLCG1	STAT6
BCL6	CD86	DLSP22	JAK1	MYBL1	PLCG2	STIL
BICR	CDKN2A	E2F2	JAK2	MYC	PPAT	STRBP
BIRC3	CDKN2B	EIF4A1	JAK3	MYD88	PRDM16	TCF3
BLNK	CEBPD	ENTPD1	KIAA1011	NFKB	PRKAR2B	TNFRSF13B
BMF	CEBPE	ETV6	KMT2A	NFKB1	PPIA1	TNFSF4
BMP7	CEBPB	ESOC2	KRAS	NFKB2	PIPC1	TNFSF25
BRAF	CHC2	EZH2	LMO1	NME1	RAB29	WT1
BTX	CITA	FAM216A	LMO2	NOTCH1	RAG1	XPO1
CARD11	CREBL2	FBXW7	LIMP	NOTCH2	RAG2	

Legend
 ● 50% or more
 ● Expression
 ● Fusion, splicing or exon skipping

V analizo je vključenih 8 bolnikov.

- Seznam genov je dostopen na spletni strani: https://www.onko-i.si/dejavnosti/zdravstvena_dejavnost/diagnosticna_dejavnost/oddelek_za_molekularno_diagnostiko



Postopek izvedbe tarčnega sekvenciranja - NGS

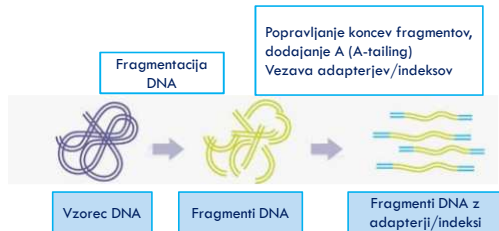
1	2	3	4	5
Priprava vzorca	Priprava knjižnice	Sekvenciranje	Analiza podatkov	Interpretacija in priprava izvida
Isolacija DNA/RNA	Obogatitev (enrichment) tarč <ul style="list-style-type: none"> • Hybrid capture • PCR-based 	MiSeq Dx NextSeq 550	Local App BaseSpace Variant Studio Alamut Visual	Baze podatkov In-silico orodja Smernice ACMG, ASCO-AMP, ESMO



Čas za izvedbo: do 10 dni

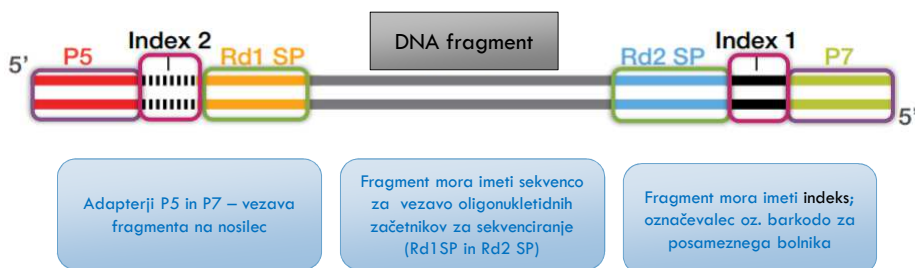
Čas do izvida: 21 dni → 14-15 dni

Priprava knjižnice (angl. Library Prep)



- Fragmentacija/razrez DNA z encimi (TruSight Hereditary Panel)
- Mehanska fragmentacija DNA z ultrasonifikatorjem (TST170, TSO500)
- Prepis RNA v cDNA

Vezava adapterjev/indeksov



Adapterji P5 in P7 – vezava fragmenta na nosilec

Fragment mora imeti sekvenco za vezavo oligonukletidnih začetnikov za sekvenciranje (Rd1 SP in Rd2 SP)

Fragment mora imeti indeks; označevalec oz. barkodo za posameznega bolnika

Vir slike: Illumina

Obogatitev tarč (angl. Target Enrichment)

- Fragmenti DNA z izbranimi tarčnimi regijami (tarčni geni), ki jih želimo sekvencirati.

Hibridizacijske sonde (angl. Hybrid Capture)

Enoveržni oligonukleotidi, ki se specifično vežejo na tarčne regije, fragmente

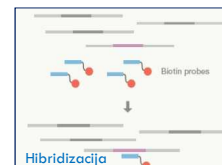
- Večja uniformnost – enakomerna pokritost tarčnih regij.
- Večja uspešnost priprave knjižnic pri slabši kvaliteti DNA (bolj razgrajenih vzorcih FFPE).
- Večja zanesljivost (manj artefaktov, manj izgub enega alela).

- TruSight Hereditary Panel
- TruSight Tumor 170
- TruSight Oncology 500

Hibridizacija za tarče specifičnih sond

Pomnožitev obogatene knjižnice s PCR

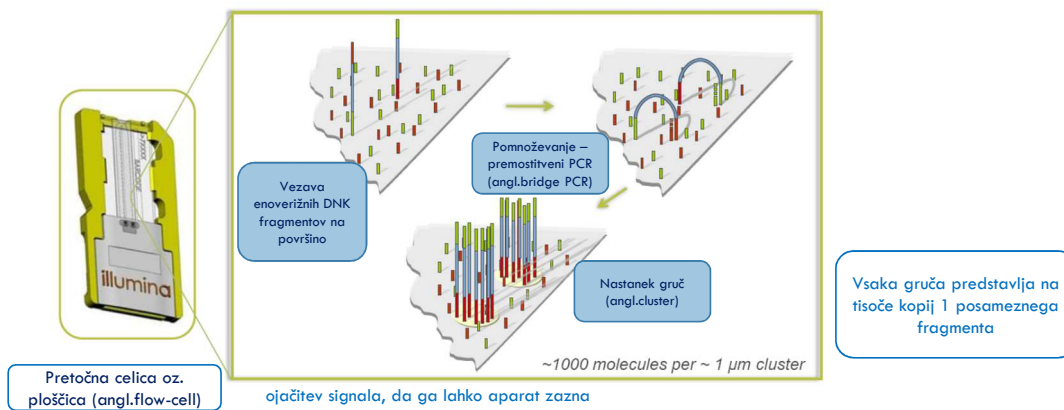
Kvantifikacija in normalizacija knjižnice



Vir slike: Illumina

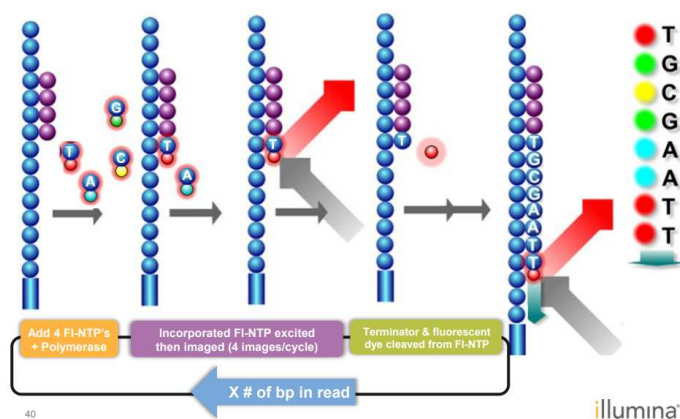
Sekvenciranje

- Pred sekvenciranjem združimo posamezne knjižnice.
- Vsak fragment namnožimo s PCR – nastanek gruč (angl. Cluster).



Vir slike: Illumina

Sekvenciranje



Poteka sekvenciranja obeh koncev fragmenta t.i. paired-end sequencing:

- omogoča večjo zanesljivost, predvsem pri določanju INDEL, genomskih preureditev, fuzij, novih transkriptov

1 gruča = 1 prebrano zaporedje fragmenta (angl. read)

Vir slike: Illumina

Aparata za NGS na OIL

MiSeq Dx, Illumina



www.illumina.com

NextSeq550, Illumina

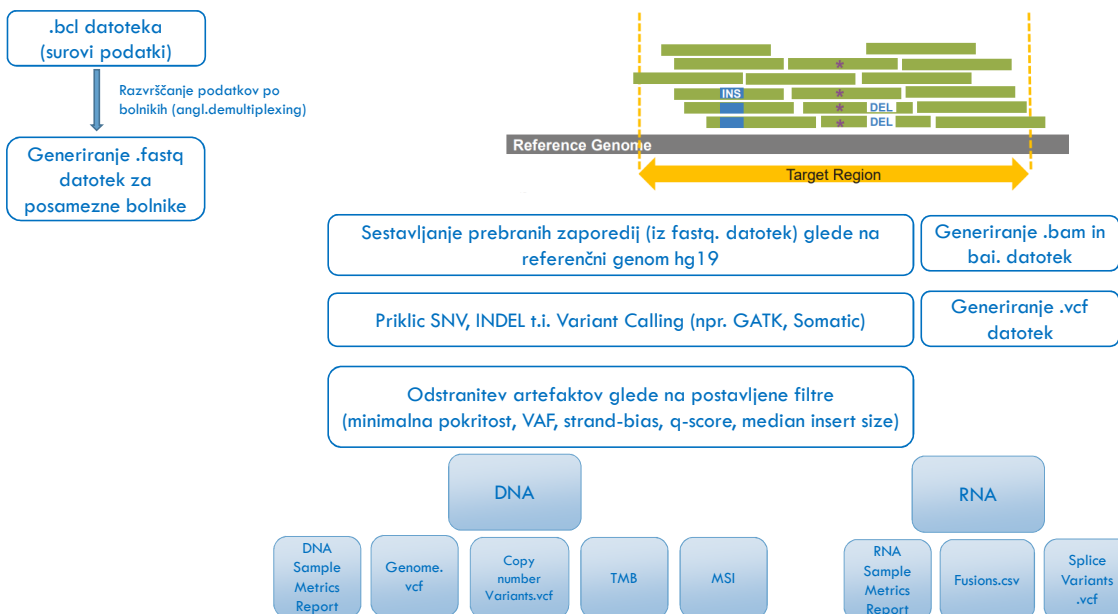


www.illumina.com

Analiza podatkov

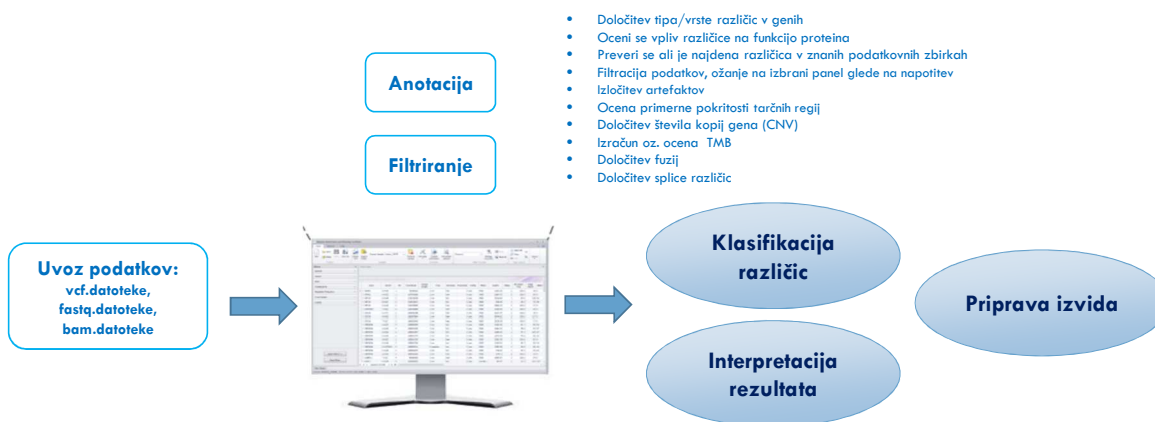
<p>1</p> <p>Primarna analiza</p>		 <p>Sestavljanje zajetih slik, določitev baz .bcl datoteke (surovi podatki)</p>	<p>Ocena kakovosti podatkov (Q-scores)</p> <ul style="list-style-type: none"> • intenziteta signala • gostota gruč • izločanje podatkov iz gruč neustrezne kakovosti • določitev baz (angl. Base-calling) • Sintetični plazmid PhiX - kontrola
<p>2</p> <p>Sekundarna analiza</p>	 <p>MiSeq Reporter Local Run Manager LocalApp</p> 	 <p>Naleganje na referenčni genom hg19 .fastq, .vcf, .bam, .bai datoteke</p>	<p>Priprava in razvrščanje podatkov</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sestavljanje prebranih zaporedij • Razvrščanje podatkov po posameznih bolnikih • Priklic različic v DNA (angl. Variant Caller)
<p>3</p> <p>Obdelava podatkov</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Illumina Variant Studio • JSI SeqNext • Alamut Visual • Integrative Genomics Viewer (IGV) 	 <p>Anotacija, filtriranje, klasifikacija s pomočjo različnih računalniških programov in bioinformatičnih orodij</p>	<p>Obdelava podatkov</p> <ul style="list-style-type: none"> • Določitev vrste različic • Pregled baz podatkov • Filtriranje podatkov • Izločanje artefaktov • Klasifikacija • Interpretacija rezultatov

Razvrščanje podatkov in naleganje na referenčni genom



Obdelava podatkov

- poteka s pomočjo računalniških programov in bioinformatičnih orodij
 - Variant Studio Illumina
 - SeqNext, JSI Medical Systems
 - Integrative Genomics Viewer (IGV)
 - Alamut Visual





Interpretacija izvidov molekularne diagnostike genotipitacija tumorjev

Vida Stegel

Oddelek za molekularno diagnostiko

Spremembe na nivoju DNA in RNA



- Posamezne različice na nivoju DNA in RNA
 - Eno-nukleotidne zamenjave
 - Manjše delecije in insercije (nekaj nukleotidov)
 - Delecije/duplikacije znotraj gena (delecije 1-več eksonov)
 - Delecije/ duplikacije celih genov (amplifikacije)
 - Večje preureditve genoma (večgenske delecije/insercije, translokacije, možen nastanek fuzijskih transkriptov)
- Ne osnovi opazovanja večjega števila različic
- Breme somatskih mutacij v tumorju -TMB (število/gostota pridobljenih različic v kodirajočih regijah tumorskega genoma)
- Vzorci somatskih mutacij v tumorju (specifični vzorci pridobljenih nukleotidnih različic angl. mutational signatures")
 - MSI
 - HRD
- Epigenetske spremembe
- Spremenjeni vzorci ekspresijskih profilov na nivoju RNA:
 - MamaPrint, Oncotype DX, Prosigna
 - različni razlogi
 - Epigenetske spremembe (spremembe v metilaciji, modifikaciji kromatina)
 - Nukleotidne različice v regulatornih regijah genov
 - Večje preureditve-translokacije, ki vplivajo na izražanje genov



Poročanje posameznih nukleotidnih različic pri genotipizaciji tumorjev

Vpliv posameznih nukleotidnih različic na funkcijo proteina

- Aktivacijske različice – običajno missense pr. “mutacije” KRAS,
- Različice, ki povzročijo izgubo funkcije proteina, pr. “mutacije” BRCA

Uporaba različnih programskih orodij:

- Alamut (združuje info več orodij hkrati)
- In silico orodja
- Prisotnost različice v splošni populaciji (GnomAD)
- Prisotnost različice v bazah zarodnih mutacij (HGMD, ClinVar, LOVD)
- Prisotnost različice v bazah somatskih mutacij (COSMIC)
- Opis funkcionalnega pomena različic (OncoKB baza, CIViC, različni članki)



Uporabna vrednost različic za obravnavo bolnika

Nukleotidna različica ≠ klinično pomembna različica za določeno (preiskovano) vrsto raka

- Napovedni dejavnik odgovora na zdravljenje
- Prognostični dejavnik
- Diagnostični dejavnik
- Potencialno zarodne različice – pomembne za zgodnje odkrivanje raka

Katere različice poročamo na izvidu pri posamezni vrsti raka?

Smernice:

- NCCN smernice
- ESMO smernice

Preverjanje kliničnega pomena različic v bazah podatkov:

- OncoKB
- ClinicalTrials

Klasifikacija različic glede na njihov klinični pomen

Smernice za klasifikacijo različic (genotipizacija tumorjev)

NAMEN

Omogočiti razlikovanje med najdbami, ki so dokazano klinično pomembne, najdbami z možnim kliničnim pomenom in najdbami, ki so brez znanega kliničnega pomena.

The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 19, No. 1, January 2017



Annals of Oncology 28: 1850–1862, 2017
doi:10.1093/annonc/mdw032
Published online 21 August 2017

SPECIAL ARTICLE

A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT)

SPECIAL ARTICLE

Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer



A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists

J. Mateo¹, D. Chakravarty², R. Dienstmann¹, S. Jasti³, A. Gonzalez-Perez⁴, N. Lopez-Bigas^{4,5}, C. K. Y. Ng⁶, P. L. Bedard⁷, G. Tontonoz⁸, J.-Y. Douillard⁹, E. M. Van Allen¹⁰, N. Schultz¹¹, C. Swanton¹², F. Andre¹³ & L. Pusztai¹⁴

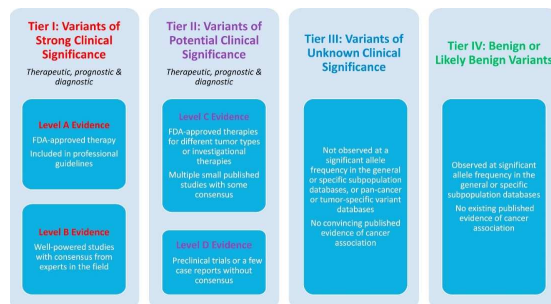
¹Val d'Audun Institute of Oncology (IHO), Barcelona, Spain; ²National Cancer Institute Cancer Center, New York, USA; ³European Society for Medical Oncology (ESMO), Barcelona, Spain; ⁴Barcelona Supercomputing Center, Barcelona, Spain; ⁵Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neoplásicas, Madrid, Spain; ⁶University of Toronto, Toronto, ON, Canada; ⁷University of Toronto, Toronto, ON, Canada; ⁸University of Toronto, Toronto, ON, Canada; ⁹University of Toronto, Toronto, ON, Canada; ¹⁰University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA; ¹¹University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA; ¹²University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA; ¹³University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA; ¹⁴University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA



Uporaba različnih klasifikacij nukleotidnih različic/vzorcev

Joint Consensus Recommendation by AMP, ASCO and CAP

Različice, ki imajo vpliv na izbiro zdravljenja, prognostični ali diagnostični pomen



Jo trenutno uporabljamo na MD izvidih

ESMO Scale of Clinical Actionability for molecular Targets (ESCAT)

Različice, ki imajo vpliv na izbiro zdravljenja (napoved odziva na zdravljenje)

Tier I – tarče (genetske različice), ki so direktno uporabne v rutinski diagnostiki, za katere obstaja zdravilo, ki dokazano učinkuje pri določeni vrsti tumorja (validirano v prospektivnih kliničnih študijah)

Tier II – potencialno tarče, za katere retrospektivne ali vsaj ena prospektivna študija faze I/II nakazujejo populacijo bolnikov z določeno vrsto tumorja, ki bi lahko imeli korist od zdravljenja s tarčnimi zdravili. Za zanesljivo validacijo so potrebne dodatne preiskave.

Tier III – tarče, ki vplivajo na izbiro zdravljenja pri drugih vrstah tumorja.

Tier IV – tarče s hipotetičnim vplivom na osnovi predkliničnih študij. Različice, ki povzročajo rezistenco na zdravljenje niso klasificirane

Različice z znanim kliničnim pomenom

Joint Consensus Recommendation by
AMP, ASCO and CAP

AMP/ASCO Različice razreda I (Tier I)

- **A – nivo**
 - Različica/biomarker, ki napove odziv ali **rezistenco** na EMA /FDA ali v strokovnih smernicah odobreno zdravilo pri preiskovanem tipu raka
 - **diagnostično/prognostično pomemben biomarker** opisan v smernicah
- **B – nivo**
 - različica je biomarker, ki napove odziv ali **rezistenco** na zdravilo odobreno s strani "expert consensus" + večje klinične študije
 - **diagnostični/prognostični pomen** **podkrepljen** z večjimi študijami
- **Patogene (dokazano) germinalne različice**

Tier I: Variants of Strong Clinical Significance
Therapeutic, prognostic & diagnostic

Level A Evidence
FDA-approved therapy
Included in professional guidelines

Level B Evidence
Well-powered studies
with consensus from experts in the field

diagnostični/prognostični biomarkerji
SO zajeti

ESMO Scale of Clinical Actionability for molecular Targets (ESCAT)



ESCAT Različice razreda I (ESCAT Tier I)

- **A in B – nivo**
 - **različica/biomarker, ki napove odziv** na določeno zdravilo pri preiskovanem tipu raka – dokazano s prospektivnimi randomiziranimi kliničnimi študijami (A-nivo) ali s prospektivnimi ne-randomiziranimi kliničnimi študijami (B-nivo).
- **C – nivo**
 - **različica/biomarker, ki napove odziv** na določeno zdravilo pri različnih vrstah raka - (pr. NTRK inhibitorji, anti-PD1 inhibitor pri MSI-H)

ESCAT različice razreda II (ESCAT Tier II)

- **različica/biomarker, ki napove odziv** - z retrospektivnimi študijami dokazana pomembna korist za bolnika zdravljenega z določenim zdravilom, če je ima njegov tumor to specifično genetsko različico (tarčo)

diagnostični/prognostični biomarkerji in različice, ki povzročajo rezistenco NISO zajeti

Različice z možnim kliničnim pomenom

Joint Consensus Recommendation by
AMP, ASCO and CAP

ESMO Scale of Clinical Actionability
for molecular Targets (ESCAT)



Tier II: Variants of Potential Clinical Significance
Therapeutic, prognostic & diagnostic

Level C Evidence
FDA-approved therapies for different tumor types or investigational therapies
Multiple small published studies with some consensus

Level D Evidence
Preclinical trials or a few case reports without consensus

AMP/ASCO Različice razreda II (Tier II)

C – nivo – Različica/biomarker, ki napove odziv ali rezistenco na FDA, EMEA, NCCN odobreno zdravilo za drugo lokalizacijo tumorja, vključevanje v klinične študije faze 2 in 3.

D – nivo- Različica/biomarker, ki napove možen klinični vpliv različice (preklinične študije,)

Različice razreda III (Tier III)

- Genetska različica, pri kateri je pri drugem tipu raka jasno dokazana korist uporabe določenega zdravila

Različice razreda IV (Tier IV)

- **A - nivo:**
 - Preklinične študije kažejo na potencialno uporabnost specifične genetske spremembe kot tarče za zdravilo
- **B – nivo:**
 - Spremembe v signalni poti, ki bi po „in silico“ predikcijskih orodjih povzročila spremembo občutljivosti na določeno zdravilo

diagnostični/prognostični biomarkerji
SO zajeti

diagnostični/prognostični biomarkerji in različice, ki napovedujejo rezistenco NISO zajeti

Različice z neznanim kliničnim pomenom

Joint Consensus Recommendation by
AMP, ASCO and CAP

ESMO Scale of Clinical Actionability
for molecular Targets (ESCAT)

Tier III: Variants of
Unknown Clinical
Significance

AMP/ASCO Različice razreda III (Tier III)

ESCAT Različice razreda X (ESCAT Tier X)

Različice z neznanim kliničnim pomenom

Različice z neznanim kliničnim pomenom

Not observed at a
significant allele
frequency in the general
or specific subpopulation
databases, or pan-cancer
or tumor-specific variant
databases
No convincing published
evidence of cancer
association

Genetske spremembe pri metastatskem raku debelega črevesa in danke (spremembe ESCAT razred I/II/III)

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT
KRAS	Mutations (resistance biomarker)	44%	Not applicable
NRAS		4%	
BRAF ^{V600E}	Mutations	8.5%	IA
	MSI-H	4%–5%	IA
NTRK1	Fusions	0.5%	IC
ERBB2	Amplifications	2%	IIB
PIK3CA	Hotspot mutations	17%	IIIA
ATM	Mutations	5%	IIIA
MET	Amplifications	1.7%	IIIA
AKT1 ^{E17K}	Mutations	1%	IIIA
	TMB-high in MSS	1%	IIIA
RET	Fusions	0.3%	IIIA
ALK	Fusions	0.2%	IIIA

AMP/ASCO razred

AMP/ASCO različica razreda I

AMP/ASCO različica razreda II

Niso opisane v NCCN smernicah
za rak debelega črevesa

Mosele F 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 Aug 24:S0923-7534(20)39971-3. doi: 10.1016/j.annonc.2020.07.014. Epub ahead of print. PMID: 32853681.

Rezultati:

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE

Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	AF(%)	Učinkovina	Priljubljen odgovor
KRAS	različica razreda I	c.35G>T p.(Gly12Val) G12V	54	anti-EGFR	neobčutljiv - večjino ne odgovori na zdravljenje
Različice razreda I so različice z znanim kliničnim pomenom. Različica razreda I c.35G>T p.(Gly12Val) v genu KRAS povzroči zamenjavo aminokislinske ter posledično aktivacijo proteina. Klinično pomembne različice (mutacije) v genih KRAS in NRAS bolnikov z metastatskim rakom debelega črevesa in danke večjina povzročijo rezistenca na zdravljenje z inhibitorji receptorjev za epidermalni rastni dejavnik (EGFR).					
NRAS	nemutiran				
BRAF nemutiran					
V primeru, da v tumorju ni dokazana klinično pomembna različica (mutacija) v genu BRAF in je dokazana mikrosatelitska nestabilnost, je priporočljivo napotiti pacienta na posvet s specializirano klinično genetiko in testiranje za sindrom Lynch. Klinično pomembne različice V600E - p.(Val600Glu), V600K - p.(Val600Lys), V600D - p.(Val600Asp), V600R - p.(Val600Arg), V600M - p.(Val600Met) in V600G - p.(Val600Gly) v genu BRAF zvišajo aktivnost proteina BRAF in so močan pokazatelj sporedne oblike raka debelega črevesa in danke. Klinično pomembne različice (mutacije) v genu BRAF so skoraj vedno prisotne v MSI-H, CIMP+ tumorjih debelega črevesa in danke.					
ERBB2	nepomožen			zavrtilci HER2	neobčutljiv - večjino ne odgovori na zdravljenje
Gen ERBB2 ni pomožen. Bolnik z rakom debelega črevesa in danke brez pomožne gena ERBB2 najverjetneje ne odgovorijo za zdravljenje z zaviralci HER2.					
NTRK1	fuzija ni dokazana			zavrtilci NTRK	neobčutljiv - večjino ne odgovori na zdravljenje
NTRK2	fuzija ni dokazana			zavrtilci NTRK	neobčutljiv - večjino ne odgovori na zdravljenje
NTRK3	fuzija ni dokazana			zavrtilci NTRK	neobčutljiv - večjino ne odgovori na zdravljenje
Bolniki brez dokazane fuzije v genih NTRK1, NTRK2 ali NTRK3 večjino ne odgovorijo na zdravljenje z zaviralci NTRK proteinov.					

Z genotipizacijo DNA smo dokazali klinično pomembne različice.
Z genotipizacijo RNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.

DRUGE NAJDBE

Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	AF(%)
PIK3CA	različica razreda II	c.1624G>A p.(Glu542Lys)	24
PIK3CA	različica razreda II	c.1633G>A p.(Glu543Lys)	17
Različice razreda II so različice z močnim kliničnim pomenom. Različica razreda II c.1624G>A p.(Glu542Lys) in c.1633G>A p.(Glu543Lys) v genu PIK3CA povzročita zamenjavo aminokislinske ter posledično aktivacijo proteina. Bolniki z napredovalim ali metastatskim HR-, HER2- rakom dojke in s prisotno klinično pomembno različico (mutacija) v genu PIK3CA, so primarni za zdravljenje z zaviralci fosfatidil inozitol 3-kinaze. Pri raku debelega črevesa in danke so mutacije v genu PIK3CA eden od vključitvenih kriterijev v dveh različnih kliničnih študijah faze II, ki preučujata AKT inhibitor (ClinicalTrials.gov identifier: NCT01186705) ali glutaminazni inhibitor (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02881300).			
SMAD4	različica razreda II	c.1081C>T p.(Arg361Cys)	19
Različica razreda II so različice z močnim kliničnim pomenom. Različica razreda II c.1081C>T p.(Arg361Cys) v genu SMAD4 povzroči zamenjavo aminokislinske ter posledično nastanek odprtega ali spremeničenega proteina. Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih od zaronih različic. Zaronde patogene različice v genu SMAD4 so povezane z dednim sindromom juvenilne polipoze. V primeru, da klinična slika ustreza sindromu juvenilne polipoze, je pacienta priporočljivo napotiti na posvet s specializirano klinično genetiko.			

Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	AF(%)
TP53	različica razreda II	c.588C>T p.(Leu194Phe)	48
Različice razreda II so različice z močnim kliničnim pomenom. Različica razreda II c.588C>T p.(Leu194Phe) v genu TP53 povzroči zamenjavo aminokislinske ter posledično nastanek odprtega ali spremeničenega proteina. V tumorju dednega sindroma zvišane občutljivosti patogene različice v genu TP53 so pogosto somatskega izvora. Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih od zaronih različic. Zaronde patogene različice v genu TP53 so povezane s sindromom Li-Fraumeni. V primeru, da klinična slika ustreza sindromu Li-Fraumeni, je pacienta priporočljivo napotiti na posvet s specializirano klinično genetiko.			
SMAD4	različica razreda III	c.1407T>A p.(Leu536Gln)	20
Različice razreda III so različice najmanjega kliničnega pomena. Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih od zaronih različic.			

Opomba: TMB preučevan na eno miljo bazov (1Mb) je 14 različic. Za testiranje so upoštevali vse večjino somatske različice v celotnem panelu TruSight Tumor 170 DNA, razen glukostranskripcij in tih (silenciranih) različic.

PREISKOVANI GENI

AKT1, ALK, APC, ATM, BRAF, CHEK2, EGFR, EP300, ERBB2, ERBB3, FBXW7, HRAS, KDR, KRAS, MET, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NOTCH1, NRAS, PIK3CA, PMS2, PTEN, SMAD4, STK11, TP53

Izvid genotipizacije tumorja debelega črevesa

Klinično pomembne različice za pacientov tip raka AMP/ASCO razred I

Druge najdbe
Različice z možnim kliničnim pomenom – AMP/ASCO razred II
Različice z neznanim kliničnim pomenom – AMP/ASCO razred III

Ocena TMB
Seznam tarčno analiziranih genov*

OPIS METODE

Zaključevanje druge generacije (angl. Next Generation Sequencing, NGS) s kompleksom TruSight Tumor 170 – DNA (illumina) za tarčno sekvenciranje. Pri genotipizaciji zaronih spremenjeh je zagotovljena >24x pokritost preiskovanih tarčnih regij, pri genotipizaciji somatskih spremenjeh pa z 230-kratno pokritost preiskovanih tarčnih regij za 33.8% tarčnih regij. Na nivou DNA so sekvenirani geni opisan v Tabeli TruSight Tumor 170 – DNA. Specifične informacije o tarčnih regijah v preiskovanih genih so v priložbenem opisu produkta TruSight Tumor 170 DNA Manifest File. Analiza podatkov (genični nukleotidni različici, analiza števila kopij in/ali priključitvenih transkriptov), ki so rezultat sekvenciranja klinični TruSight Tumor 170, je bila izvedena s programskim orodjem TruSight Tumor 170 Local App v2.0 ali TruSight Tumor 170 App BaseSoftware v2.0 (priloga k illumina). Validacija metode za pomembnejše gene ERBB2 in VEGF je bila izvedena na vzorcih raka oči, ki so bili predhodno testirani z metodo FISH in IHC. Uplojenost je bila 94% ujemane med metodami.

Zaključevanje druge generacije (angl. Next Generation Sequencing, NGS) s kompleksom TruSight Tumor 170 (illumina) za tarčno sekvenciranje. Kislotična detekcija različnih transkriptov (označi v Tabeli TruSight Tumor 170 – RNA) je vključena v informacije o tarčnih regijah v preiskovanih genih so v priložbenem opisu produkta TruSight Tumor 170 RNA probe list. Analiza podatkov (genični nukleotidni različici, analiza števila kopij in/ali priključitvenih transkriptov), ki so rezultat sekvenciranja klinični TruSight Tumor 170, je bila izvedena s programskim orodjem TruSight Tumor 170 Local App v2.0 ali TruSight Tumor 170 App BaseSoftware v2.0 (priloga k illumina).

OMEJITVE METODE

V preiskovanih genih so lahko prisotne spremembe v regulatornih regijah ali v regijah, ki jih ni možno zaznati z uporabljenimi metodami. Prisotnost prisotnosti in/ali zmanjšane detekcije različic in velikih delecij/insercij v asociiranih genih. Prisotnost različic na mestih, kjer niso vključene v tabeli in Q-Capture regije v asociiranih genih lahko zmanjšajo detekcijo različic v tem genu. Z metodo NGS je na nivou DNA možno zaznati enonuklotidne različice (SNV), manjše delecije in insercije. Meja detekcije je 5% mutirane DNA v ožadi nemutirane genome DNA. Občutljivost in specifičnost metode za zaznavanje SNV in manjših delecij in insercij je vsaj 5% azno frekvenca v vzorcu zba 35% pri zagotovljeni pokritosti tarčnih regij. Metoda NGS na nivou RNA (genični cDNA) omogoča detekcijo fuzijskih transkriptov v specifičnih tarčnih regijah preiskovanih genov. Metoda ne omogoča detekcije vseh možnih fuzijskih transkriptov v preiskovanih genih ter ne omogoča detekcije (transkripcij), pri katerih ne nastajajo fuzijski transkripti.

DODATNE OPOMBE

Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih različic od zaronih različic. Mutacijski status se lahko razlikuje tako znotraj tumorja kot tudi med primarnim tumorjem in metastazami. Negativen rezultat zabeleži, ni vsebuje manj kot 20% tumorjskih celic, ne vključuje prisotnosti somatskih mutacij. Specifične informacije o tarčnih regijah so v tabeli. Seznam genov pri solidnih tumorjih na spletni strani: http://www.onco-tissue.com/stratifikacija/seznam_dijagnostičnih_različic_molekularno_dijagnostiko_sporodno_aktivno_raka_za_nagajanje_in_anotacije_uporabljene_referenčni_dovetki_genom_hg_19. Spremembe so opisane v skladu z nomenklaturo HGVS v 1.9.01. O število 1 je označilo 1. multični start kodona ATG cDNA. Nukleotidne različice so klasificirane v 5'er razrede, glede na klinično pomembnost (Li et al., 2017). Na levici so navedene različice z znanim kliničnim pomenom (razred I), različice z možnim kliničnim pomenom (razred II) in različice najmanjega kliničnega pomena (V.U.S. razred III). Veščino besilne različice in besilne različice (razred IV) niso navedene na levici, saj niso klinično pomembne.

Literatura

Li, M. M. et al. (2017) Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. The Journal of molecular diagnostics. JMD, 19(1), pp. 4-23. doi: 10.1016/j.jmoldx.2016.10.002.

Tabela TruSight Tumor 170 - DNA.

GEN	REFERENČNA SEKVENCA GENA	GEN	REFERENČNA SEKVENCA GENA	GEN	REFERENČNA SEKVENCA GENA	GEN	REFERENČNA SEKVENCA GENA
ACT1	LRG_7211	CHEK1	NM_011141222	FDPF7	NM_002008.3	MET1	LRG_4801
ACT2	NM_002008.3	COP2	LRG_3201	FDPF8	NM_002008.3	MET2	LRG_4802
ACT3	NM_002008.3	COP3	NM_002008.3	FDPF9	NM_002008.3	MET3	LRG_4803
ACT4	LRG_4801	COP4	NM_002008.3	FDPF10	LRG_4801	MET4	LRG_4804
ACT5	LRG_1381	COP5	LRG_1381	FDPF11	LRG_4801	MET5	LRG_4805
ACT6	NM_002008.3	COP6	LRG_1381	FDPF12	LRG_4801	MET6	LRG_4806
ACT7	LRG_4801	COP7	LRG_1381	FDPF13	LRG_4801	MET7	LRG_4807
ACT8	LRG_4801	COP8	LRG_1381	FDPF14	LRG_4801	MET8	LRG_4808
ACT9	LRG_4801	COP9	LRG_1381	FDPF15	LRG_4801	MET9	LRG_4809
ACT10	LRG_4801	COP10	LRG_1381	FDPF16	LRG_4801	MET10	LRG_4810
ACT11	LRG_4801	COP11	LRG_1381	FDPF17	LRG_4801	MET11	LRG_4811
ACT12	LRG_4801	COP12	LRG_1381	FDPF18	LRG_4801	MET12	LRG_4812
ACT13	LRG_4801	COP13	LRG_1381	FDPF19	LRG_4801	MET13	LRG_4813
ACT14	LRG_4801	COP14	LRG_1381	FDPF20	LRG_4801	MET14	LRG_4814
ACT15	LRG_4801	COP15	LRG_1381	FDPF21	LRG_4801	MET15	LRG_4815
ACT16	LRG_4801	COP16	LRG_1381	FDPF22	LRG_4801	MET16	LRG_4816
ACT17	LRG_4801	COP17	LRG_1381	FDPF23	LRG_4801	MET17	LRG_4817
ACT18	LRG_4801	COP18	LRG_1381	FDPF24	LRG_4801	MET18	LRG_4818
ACT19	LRG_4801	COP19	LRG_1381	FDPF25	LRG_4801	MET19	LRG_4819
ACT20	LRG_4801	COP20	LRG_1381	FDPF26	LRG_4801	MET20	LRG_4820
ACT21	LRG_4801	COP21	LRG_1381	FDPF27	LRG_4801	MET21	LRG_4821
ACT22	LRG_4801	COP22	LRG_1381	FDPF28	LRG_4801	MET22	LRG_4822
ACT23	LRG_4801	COP23	LRG_1381	FDPF29	LRG_4801	MET23	LRG_4823
ACT24	LRG_4801	COP24	LRG_1381	FDPF30	LRG_4801	MET24	LRG_4824
ACT25	LRG_4801	COP25	LRG_1381	FDPF31	LRG_4801	MET25	LRG_4825
ACT26	LRG_4801	COP26	LRG_1381	FDPF32	LRG_4801	MET26	LRG_4826
ACT27	LRG_4801	COP27	LRG_1381	FDPF33	LRG_4801	MET27	LRG_4827
ACT28	LRG_4801	COP28	LRG_1381	FDPF34	LRG_4801	MET28	LRG_4828
ACT29	LRG_4801	COP29	LRG_1381	FDPF35	LRG_4801	MET29	LRG_4829
ACT30	LRG_4801	COP30	LRG_1381	FDPF36	LRG_4801	MET30	LRG_4830
ACT31	LRG_4801	COP31	LRG_1381	FDPF37	LRG_4801	MET31	LRG_4831
ACT32	LRG_4801	COP32	LRG_1381	FDPF38	LRG_4801	MET32	LRG_4832
ACT33	LRG_4801	COP33	LRG_1381	FDPF39	LRG_4801	MET33	LRG_4833
ACT34	LRG_4801	COP34	LRG_1381	FDPF40	LRG_4801	MET34	LRG_4834
ACT35	LRG_4801	COP35	LRG_1381	FDPF41	LRG_4801	MET35	LRG_4835
ACT36	LRG_4801	COP36	LRG_1381	FDPF42	LRG_4801	MET36	LRG_4836
ACT37	LRG_4801	COP37	LRG_1381	FDPF43	LRG_4801	MET37	LRG_4837
ACT38	LRG_4801	COP38	LRG_1381	FDPF44	LRG_4801	MET38	LRG_4838
ACT39	LRG_4801	COP39	LRG_1381	FDPF45	LRG_4801	MET39	LRG_4839
ACT40	LRG_4801	COP40	LRG_1381	FDPF46	LRG_4801	MET40	LRG_4840
ACT41	LRG_4801	COP41	LRG_1381	FDPF47	LRG_4801	MET41	LRG_4841
ACT42	LRG_4801	COP42	LRG_1381	FDPF48	LRG_4801	MET42	LRG_4842
ACT43	LRG_4801	COP43	LRG_1381	FDPF49	LRG_4801	MET43	LRG_4843
ACT44	LRG_4801	COP44	LRG_1381	FDPF50	LRG_4801	MET44	LRG_4844
ACT45	LRG_4801	COP45	LRG_1381	FDPF51	LRG_4801	MET45	LRG_4845
ACT46	LRG_4801	COP46	LRG_1381	FDPF52	LRG_4801	MET46	LRG_4846
ACT47	LRG_4801	COP47	LRG_1381	FDPF53	LRG_4801	MET47	LRG_4847
ACT48	LRG_4801	COP48	LRG_1381	FDPF54	LRG_4801	MET48	LRG_4848
ACT49	LRG_4801	COP49	LRG_1381	FDPF55	LRG_4801	MET49	LRG_4849
ACT50	LRG_4801	COP50	LRG_1381	FDPF56	LRG_4801	MET50	LRG_4850
ACT51	LRG_4801	COP51	LRG_1381	FDPF57	LRG_4801	MET51	LRG_4851
ACT52	LRG_4801	COP52	LRG_1381	FDPF58	LRG_4801	MET52	LRG_4852
ACT53	LRG_4801	COP53	LRG_1381	FDPF59	LRG_4801	MET53	LRG_4853
ACT54	LRG_4801	COP54	LRG_1381	FDPF60	LRG_4801	MET54	LRG_4854
ACT55	LRG_4801	COP55	LRG_1381	FDPF61	LRG_4801	MET55	LRG_4855
ACT56	LRG_4801	COP56	LRG_1381	FDPF62	LRG_4801	MET56	LRG_4856
ACT57	LRG_4801	COP57	LRG_1381	FDPF63	LRG_4801	MET57	LRG_4857
ACT58	LRG_4801	COP58	LRG_1381	FDPF64	LRG_4801	MET58	LRG_4858
ACT59	LRG_4801	COP59	LRG_1381	FDPF65	LRG_4801	MET59	LRG_4859
ACT60	LRG_4801	COP60	LRG_1381	FDPF66	LRG_4801	MET60	LRG_4860
ACT61	LRG_4801	COP61	LRG_1381	FDPF67	LRG_4801	MET61	LRG_4861
ACT62	LRG_4801	COP62	LRG_1381	FDPF68	LRG_4801	MET62	LRG_4862
ACT63	LRG_4801	COP63	LRG_1381	FDPF69	LRG_4801	MET63	LRG_4863
ACT64	LRG_4801	COP64	LRG_1381	FDPF70	LRG_4801	MET64	LRG_4864
ACT65	LRG_4801	COP65	LRG_1381	FDPF71	LRG_4801	MET65	LRG_4865
ACT66	LRG_4801	COP66	LRG_1381	FDPF72	LRG_4801	MET66	LRG_4866
ACT67	LRG_4801	COP67	LRG_1381	FDPF73	LRG_4801	MET67	LRG_4867
ACT68	LRG_4801	COP68	LRG_1381	FDPF74	LRG_4801	MET68	LRG_4868
ACT69	LRG_4801	COP69	LRG_1381	FDPF75	LRG_4801	MET69	LRG_4869
ACT70	LRG_4801	COP70	LRG_1381	FDPF76	LRG_4801	MET70	LRG_4870
ACT71	LRG_4801	COP71	LRG_1381	FDPF77	LRG_4801	MET71	LRG_4871
ACT72	LRG_4801	COP72	LRG_1381	FDPF78	LRG_4801	MET72	LRG_4872
ACT73	LRG_4801	COP73	LRG_1381	FDPF79	LRG_4801	MET73	LRG_4873
ACT74	LRG_4801	COP74	LRG_1381	FDPF80	LRG_4801	MET74	LRG_4874

Breme somatskih mutacij v tumorju (angl. tumor mutational burden- TMB)

- „Tumor mutational burden“ (TMB) je število ali gostota pridobljenih različic v kodirajočih regijah tumorskega genoma.
- TMB korelira s številom neo-antigenov in napoveduje odgovor na zdravljenje z imunoterapijo z zaviralci PD-1, PD-L1, CTLA-4 (“immune-checkpoint inhibitors”)

V različnih študijah je TMB podan kot:

- Gostota mutacij - število pridobljenih (somatskih) mutacij na 1 megabazo (no./Mb) (1×10^6 baznih parov DNA)
- celokupno število pridobljenih (somatskih) mutacij na eksom (no. per exome)

Metode določanja TMB – Next generation sequencing NGS

- Sekvenciranje celega genoma (WGS) ali eksoma (WES) – referenčna ocena TMB
- Sekvenciranje večjih večgenskih panelov genov (>1Mb) – pr. TSO500
- Sekvenciranje “manjših” večgenskih panelov genov (cca 0.5Mb) – preračun – ocena TMB – pr.TST170

Razlikovanje med zarodnimi in somatskimi različicami:

- Sekvenciranje tumorskega in normalnega tkiva – referenčna ocena TMB
- Izolčanje verjetno zarodnih različic (če so opisane v GnomAD, ClinVar kot zarodne), izolčanje “hot spot” mutacij - s pomočjo bioinformatičkih orodij in podatkovnih baz

TABLE 1 Methodology for published key trials demonstrating TMB as a biomarker of clinical response to immune checkpoint inhibitors

Study name (NCT number)	Tumor type and therapy agent	Methodology	Reporting	Cutoff for High TMB
KEYNOTE-001 ¹⁶ (NCT01295827)	NSCLC Pembrolizumab	WES • SureSelect All Exon v2 • Illumina HiSeq 2000 • VAF $\geq 40\%$	Somatic coding nonsynonymous mutations per exome	≥ 178 mutations
FORLAR, FIR, and BIRCH ¹⁷ (NCT02001456 NCT01846416 NCT01903993)	NSCLC Atezolizumab	FoundationOne assay ¹⁸ • 315 genes assessed • 1.1 Mb coverage	Somatic coding SNVs (synonymous and nonsynonymous) and indels per megabase	≥ 798 percentile (≥ 13.5 mut./Mb for first line and ≥ 17.1 mut./Mb or ≥ 15.8 mut./Mb for second line populations)
CheckMate 024 ¹⁸ (NCT02041533)	NSCLC Nivolumab	WES • AllPrep DNA isolation (tumor tissue)/QiAmp DNA isolation (blood) • SureSelect All Exon v5 • Illumina HiSeq 2500	Total somatic missense mutations per sample (tumor and blood)	Upper tertile (≥ 243 mutations)
KEYNOTE-012 and KEYNOTE-028 ^{19,20} (NCT01848834 NCT01954890)	Solid tumors Pembrolizumab	WES Details not specified	Somatic coding nonsynonymous mutations per exome	≥ 102 mutations
IMvigor 210 ^{21,17} (NCT02108652)	UC Atezolizumab	FoundationOne assay-based panel • 315 genes assessed	Somatic coding SNVs (synonymous and nonsynonymous) and indels per megabase	≥ 16 mut./Mb
FORLAR and OAK ^{20,24} (NCT01903993 NCT02008227)	NSCLC Atezolizumab	BTMB assay (based on the FoundationOne assay) ¹⁸ • 394 genes assessed • 1.1 Mb coverage • Illumina HiSeq 4000 • VAF $\geq 0.5\%$	Total somatic SNVs (synonymous and nonsynonymous) per assay	≥ 14 mut./Mb
CheckMate 022 ²¹ (NCT01928394)	SCLC Nivolumab + ipilimumab	WES • AllPrep DNA isolation (tumor tissue)/QiAmp DNA isolation (blood) • SureSelect All Exon v5 • Illumina HiSeq 2500	Somatic missense mutations per exome	Upper tertile (≥ 248 mutations)
CheckMate 012 ²² (NCT01454102)	NSCLC Nivolumab + ipilimumab	WES • SureSelect All Exon v2 v4, or Nextera Rapid Capture Exome kit • Illumina HiSeq 2000, 2500, or 4000 • VAF $\geq 3\%$	Nonsynonymous mutations (SNVs or indels) per exome	Upper tertile (not specified); median (> 158 mutations), or upper quartile (≥ 207 mutations)
CheckMate 030 ²³ (NCT01621490)	Melanoma Nivolumab + ipilimumab	WES • SureSelect All Exon v2 • Illumina HiSeq 2000 or 2500 • Allele read count ≥ 5	Nonsynonymous mutations (SNVs or indels) per exome	100 mutations
CheckMate 275 ²⁴ (NCT02879994)	UC Nivolumab	WES Details not specified	Somatic missense mutations per sample	Upper tertile (≥ 147 mutations)
CheckMate 227 and CheckMate 552 ^{25,22} (NCT02477626 NCT02495099)	NSCLC Nivolumab and ipilimumab	FoundationOne CDV assay ¹⁸ • 324 genes assessed • 0.8 Mb coverage • Illumina HiSeq 4000 • VAF $\geq 5\%$	Somatic SNVs (synonymous and nonsynonymous) and indels per megabase	≥ 10 mut./Mb
B-FIRST ^{25a} (NCT02849451)	NSCLC Atezolizumab	BTMB assay (based on FoundationOne) ¹⁸ • 394 genes assessed • 1.1 Mb coverage • Illumina HiSeq 4000 • VAF $\geq 0.5\%$	Total somatic SNVs (synonymous and nonsynonymous) per assay	≥ 14 mut./Mb

Različno podajanje TMB

število mutacij na megabazo (no./Mb) (1×10^6 baznih parov DNA)

število mutacij na eksom (no. per exome)

Različno vključevanje različnih vrst somatskih različic v TMB:

- “missense” = zamenjava/delecija/insercija aminokislina
- vse ne-sinonimne
- vse ne-sinonimne in sinonimne

Določanje TMB z WGS ali WES - Referenčna TMB:

- Določanje z genomskim (WGS) ali eksomskim sekv. (WES)
- Izločanje zarodnih mutacij z primerjavo tumor/normal (referenca) ali z bioinformatičkim orodjem (dražje in časovno zahtevno)

Določanje TMB z večjimi večgenskimi paneli:

- (ceneje in časovno ugodno)
- ocene se lahko med seboj razlikujejo
- zaradi različnega nabora genov
- zaradi različnega protokola izračunavanja TMB

Stenzinger A, et al., Tumor mutational burden standardization initiatives: Recommendations for consistent tumor mutational burden assessment in clinical samples to guide immunotherapy treatment decisions. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019 Aug;58(8):578-588. doi: 10.1002/gcc.22733. Epub 2019 Mar 7. PMID: 30664300; PMCID: PMC6618007. Friends of Cancer Research (Friends) and the Quality Assurance Initiative Pathology (QuIP)

Breme somatskih mutacij v tumorju (TMB) Kje je meja TMB, pri kateri je pričakovan odgovor na zdravljenje z imunoterapijo?

LETTERS

NATURE GENETICS

WES- št. mutacij na exon:

- cca 100-178 per exome (nonsyn)

Določanje z večjimi paneli (min 0.8Mb):

Meja cca 10 – 13 mut/MB (syn+nonsyn)
(ekvivalent 200 mut per exon
(syn+nonsyn) za solidne tumorje

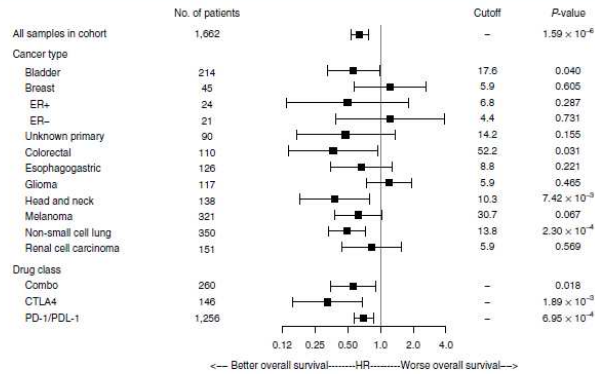


Fig. 2 | Effect of nonsynonymous mutational load on overall survival after ICI treatment, by cancer subtype and drug class. Forest plot for all patients in the identified cohort or individual cancer subtypes. Indicated are the number of patients and HR comparing overall survival after ICI in patients in the highest twentieth-percentile TMB within each histology. Bars represent the 95% CI. The cutoff defining the top 20% of normalized mutational burden from MSK-IMPACT for each cancer type is shown, as well as the two-sided log-rank *P* value for the comparison of high and low mutational burden survival curves. ER, estrogen receptor. All cancer types in analysis are displayed.

Samstein, R.M., Lee, CH., Shoushtari, A.N. *et al.* Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet* 51, 202–206 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8>

Vzorci mutacij v tumorju (angl. mutational signatures)

- so posledica različnih eksogenih in endogenih procesov

Vzorec mutacij je rezultat:

- poškodb in/ali modifikacij DNA
- popravljanja DNA
- podvojevanja DNA
- Vzorec mutacij v genomu tumorja (oz. rakave celice) je lahko seštevek več mutacijskih procesov in je lahko sestavljen in več različnih vzorcev mutacij.
- Za nekatere vzorce mutacij je znan vzrok (etiologija)

Vzorci mutacij v tumorju

Vzorci mutacij so v grobem opredeljeni glede na opazovani tip spremembe:

1. Vzorci mutacij na osnovi zamenjave nukleotidnih baz (1 ali 2)(base substitutions)
2. Vzorci mutacij na osnovi malih delecij in insercij (indel)
3. Vzorci mutacij na osnovi genomskih preureditev in sprememb v številu kopij (vzorci strukturnih sprememb)

Testi za določanje vzorcev mutacij:

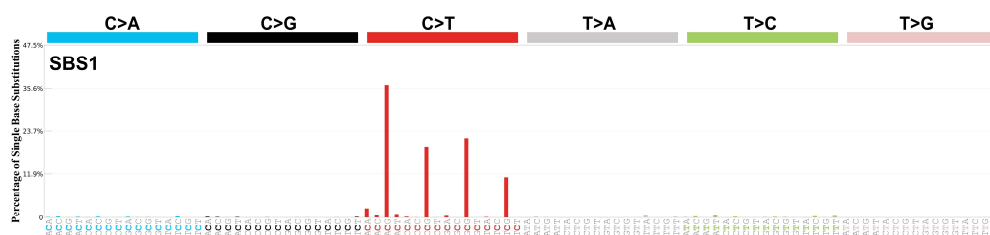
- Na osnovi sekvenciranja celotnega genoma (WGS) ali eksoma (WES)
- Na osnovi sekvenciranja večjega večgenskega panela (omejeno)
- Specifični testi za detekcijo točno določenega vzorca mutacij
 - Fragmentna analiza PCR produktov, ki pomnožijo mikrosatelite (MSI)
 - SNP-mikromreže ali dugi testi ocene CNA in alelnega neravnovesje (določanje HRD)

1A. Vzorci mutacij, ki temeljijo na menjavi ene nukleotidne baze SBS – angl. single base substitutions signatures

Po klasifikaciji v COSMIC bazi:

Temeljijo na **deležu pojavljanja 6 menjav pirimidinskih baz**: C>A, C>G, C>T, T>A, T>C, T>G znotraj različnih **trinukleotidov**.

- Trinukleotide tvorijo poleg C in T baz, še zraven ležeče baze na 5' in 3' koncu trinukleotida, na ta način nastane 96 možnih kombinacij trinukleotidov in s tem 96 možnih vzorcev.

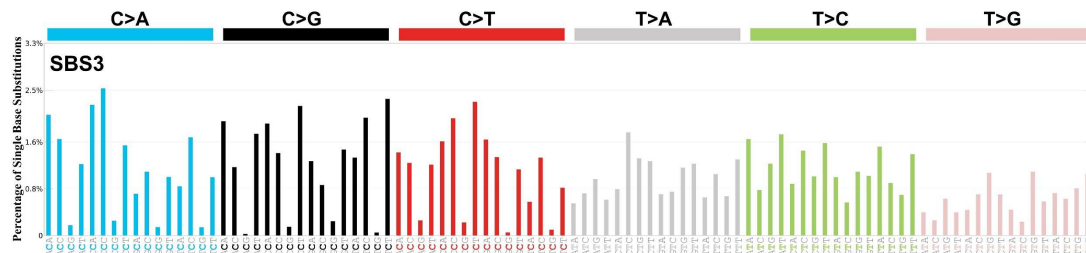


Pr. SBS1- deaminacija 5-metilcitozina v timin (spontana ali encimska)-Korelira s starostjo, mitotska ura

<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures/SBS/SBS1.tt>

Pr. SBS3- okvara homologne rekombinacije

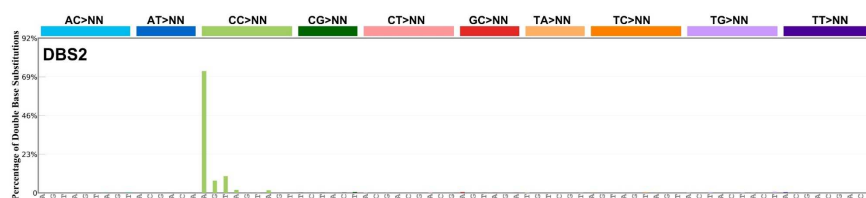
okvara homologne rekombinacije (popravljalni mehanizem DNA), ki se sicer večinoma manifestira v malih indel-ih in genoskih preureditvah vendar se lahko manifestira kot „base substitution signature“



<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures/SBS/SBS3.tt>

1B. Vzorci mutacij ki temeljijo na menjavi dveh nukleotidnih baz DBS – angl. doublet base substitutions signatures

- Nastanejo s sočasno menjavo dveh zaporednih baz
- Možnih je 78 DBS vzorcev
- Se pojavljajo redkeje kot SBS

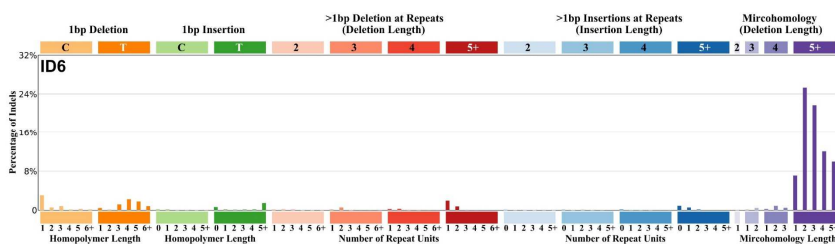


Pr. DBS2 – kajenje tobaka in drugi endo ali eksogeni mutageni npr (acetaldehid)

<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures>

2. Vzorci mutacij, ki temeljijo na manjših insercijah in delecijah ID –vzorci

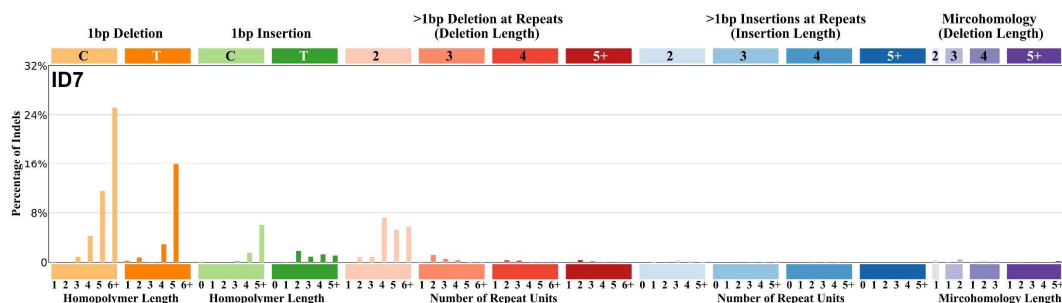
- ID se preferenčno pojavljajo na repetitivnih elementih, in dolžina ponovitev vpliva na verjetnost pojavljanja ID v njej.
- Pogosteje se pojavljajo se v **homopolimernih, repetitivnih in mikrohomoloških** regijah
- Kategoriziranih je 83 razredov ID mutacijskih vzorcev.



Pr. ID6 - okvara homologne rekombinacije

<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures/ID.tt>

Pr. ID7 - okvara MMR popravljalnega mehanizma DNA rezultat je mikrosatelitna nestabilnost (MSI)



<https://cancer.sanger.ac.uk/signatures/ID7>

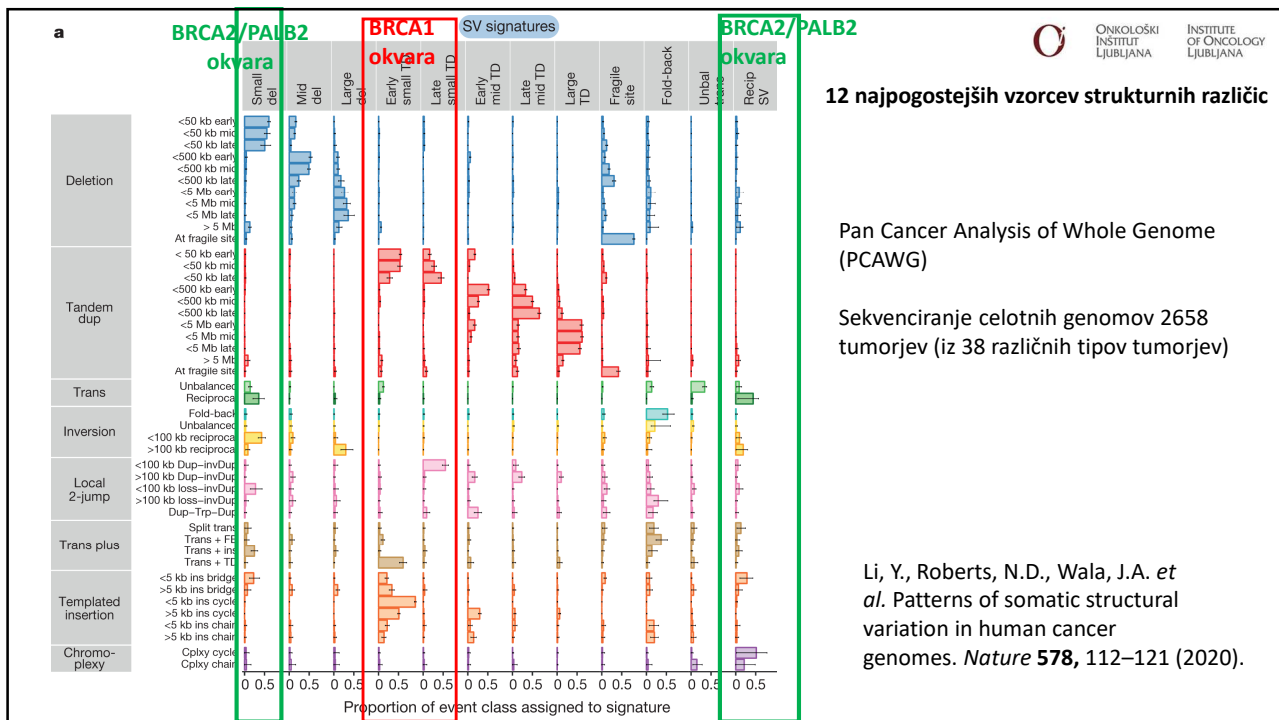
3. Vzorci struktutnih različic



ONKOLOŠKI
INŠTITUT
LJUBLJANA

INSTITUTE
OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

- Vzorci mutacij na osnovi genomskih preureditev in sprememb v številu kopij
- mutacijski proces, ki povzroča preureditve, delecije, amplifikacije, reorganizacijo genomskih fragmentov v velikostnem razredu od ene kilobaze do celotnega kromosoma.
- Li *in sod.* so opisali 16 vzorcev genomskih preureditev
- Preureditve so lahko enostavne ali kompleksne
- Lahko gre za „copy and paste“ – pr. Tandem duplication
- ali pa za „cut and paste“



Določanje HRD in občutljivost na PARP inhibitorje ESMO

- Trije osnovni tipi testov za določanje HRD:
 1. Določanje okvar (mutacij ali metilacije) v HRR genih (**BRCA1, BRCA2, RAD51C, RAD51D, PALB2,...**)
 2. Specifični testi za detekcijo genomskih strukturnih sprememb, ki se nakopičijo v tumorjih z okvaro HRR (LST, LOH, NtAI, GIS)
 3. Funkcionalni testi okvare HRR (teoretično bi nudili vpogled v trenutno stanje HRR – tudi če je prišlo ponovne obnove HRR)

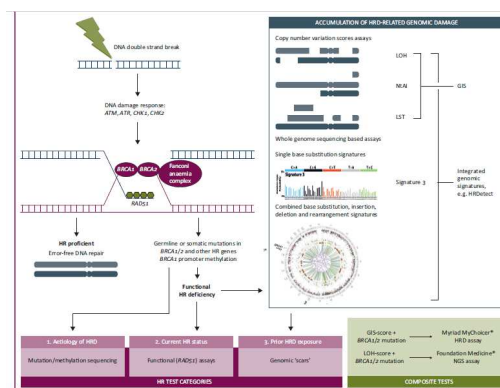


Table 1. Summary of critical evidence review of homologous recombination deficiency (HRD) tests

HRD test	Test LOE	Clinical validity	Clinical utility 1st line maintenance	Clinical utility platinum sensitive relapsed disease
Germline BRCA mutations	I	Good	Good	Good
Tumour BRCA mutations	I	Good	Good	Good
Somatic BRCA mutations	I/II	Good/fair	Good	Good
Non-BRCA mutations HRR genes	II	Marginal	No evidence	Marginal
HR genomic scar assays:				
GIS	I	Good	Good	Good
LOH	II	Good	No evidence	Good

For each HRD test, where relevant, the level of evidence (LOE) as per Simon criteria¹⁰ (Supplementary Table 3, available at <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2102>) and evidence of genomic instability in ovarian and pancreatic (EPAN) cancers¹¹ is provided. For EPAN evidence, data are only included in absence of evidence of PARP

Miller RE, et al., ESMO recommendations on predictive biomarker testing for homologous recombination deficiency and PARP inhibitor benefit in ovarian cancer. Ann Oncol. 2020 Sep 28;S0923-7534(20)42164-7. doi: 10.1016/j.annonc.2020.08.2102. Epub ahead of print. PMID: 33004253.

Poročanje vzorcev mutacij pri genotipizaciji tumorjev – MD - OIL

- Trenutno na izvidu poročamo le mikrosatelitno nestabilnost
- Poročanje mutacij v genih vpletenih v HR (BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, RAD51C, ...)

Izvid določanja mikrosatelitske nestabilnosti genetskih označevalcev v tumorskem tkivu

Preiskovani material (tumorsko tkivo)	Kontrolni material (netumorsko tkivo)
Laboratorijska št. vzorca: 728/20	Laboratorijska št. vzorca: 725/20
Prejeto iz: Oddelek za patologijo, OIL	Prejeto iz: Oddelek za patologijo, OIL
Datum prejema vzorca: 16.03.2020	Datum prejema vzorca: 16.03.2020
Vrsta vzorca: parafinski blok	Vrsta vzorca: parafinski blok
Vzorec odvzet iz: tubularni adenom	Vzorec odvzet iz: netumorskega tkiva
Številka biopsije: 2000/20-3 (BL 1698/19-C, neoznačeno)	Številka biopsije: 2000/20-2 (BL 1698/19-B, obkroženo)

Pri analizi smo uporabili sledeče metode:
 Ekstrakcija nukleinskih kislin:
 Tumorsko tkivo: QIAamp DNA FFPE Tissue kit (Qiagen)
 Netumorsko tkivo: QIAamp DNA FFPE Tissue kit (Qiagen)
 Pomnožitev genetskih označevalcev s PCR in fragmentna analiza na kapilarni elektroforezi*

Rezultati:	Rezultat:	Delež genetskih označevalcev, ki kažejo nestabilnost:
Tip testa:		
Mikrosatelitna nestabilnost-MSI:	MSI-H (nestabilen vzorec)	5/6
Obrazložitev:		
Mikrosatelitna nestabilnost tumorskega tkiva je pokazatelj okvare delovanja mehanizmov za popravljanje neujemaj nukleotidnih baz na nivou DNA (angl. mismatch repair-MMR). Nagnostiteje gre za okvaro delovanja oz. izražanja proteinov MLH1, MSH2, MSH6 ali PMS2. V primeru dokazane mikrosatelitne nestabilnosti je priporočeno testiranje vzorca na prisotnost mutacij v genu BRAF in/ali določanje metilacijskega statusa MLH1 promotorskega mesta.		

Ocena MSI

Analizo izvedel: VESNA VOGRič, univ. dipl. mikrobiol.
Izvid avtoriziral: zn. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIČ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.
Vodja Odsejka za molekularno diagnostiko: zn. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIČ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.

Princip in omejitve metode:
 (A) **Princip metode.** Metoda temelji na pomnoževanju genetskih označevalcev s PCR metodo v tumorskem in kontrolnem (netumorskem) tkivu, ki ji sledi fragmentna analiza fluorescenčno označenih PCR produktov na kapilarni elektroforezi. Za oceno mikrosatelitne nestabilnosti metoda uporablja 6 označevalcev z mononukleotidnimi ponovitvami (BAT25, BAT26, BAT40, NR21, NR22, NR27). Za interno kontrolo ujemanja se uporablja visoko polimorfni označevalcev z dinukleotidnimi ponovitvami (D3S1260). Mikrosatelitna nestabilnost (MSI) je ocenjena kot visoka (MSI-H), kadar se pojavi nestabilnost vsaj v 3 od 6 označevalcev, MSI je ocenjena kot nizka (MSI-L), če je nestabilnost dokazana v 1 ali 2 od 6 označevalcev. Vzorec je mikrosatelitno stabilen, če pri nobenem od označevalcev ni dokazana nestabilnost (MSI-S).
 (B) **Senzitivnost in specifičnost metode.** Senzitivnost metode je 96,1% in specifičnost 97,2%, če je spremenjen ≥ 1 označevalcev MSI. Senzitivnost metode je 85,7% in specifičnost 100%, če so spremenjeni ≥ 3 označevalcev MSI (Pagin et al. *British Journal of Cancer* (2013) 108, 2079-2087).
 (C) **Omejitve metode.** Specifičnost metode je višja za tumorje debelega črevesa in danke (CRC-tumorji) kot za druge tipe tumorjev (endometrijski, ovarijski, uratelni, tumorji želodca – ne-CRC). Senzitivnost metode se razlikuje tudi glede na to, kateri od MMR proteinov je okvarjen. Senzitivnost metode je v primeru okvare MSH6 nižja kot v primeru okvare MLH1, MSH2 ali PMS2. Število zaznanih nestabilnih označevalcev je v primeru okvare MSH6 nižje (Pagin et al. *British Journal of Cancer* (2013) 108, 2079-2087).

Interpretacija genetskih izvidov: testiranje zarodnih različic

Vita Šetrajčič Dragoš
 Oddelek za molekularno diagnostiko, OIL

© American College of Medical Genetics and Genomics | **ACMG STANDARDS AND GUIDELINES** | Genetics inMedicine

Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

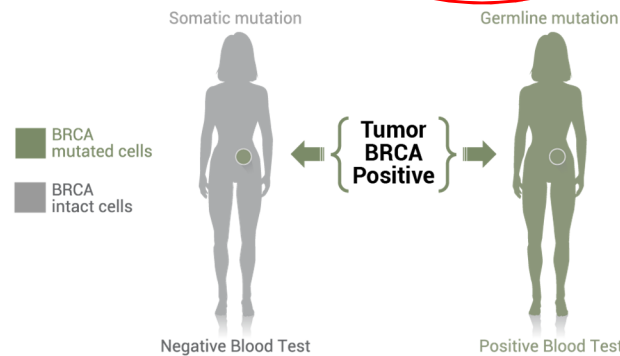
Sue Richards, PhD¹, Nazneen Aziz, PhD²⁻¹⁶, Sherri Bale, PhD², David Bick, MD⁴, Soma Das, PhD⁵, Julie Gastier-Foster, PhD⁶⁻⁹, Wayne W. Grody, MD, PhD^{10,11}, Madhuri Hegde, PhD¹², Elaine Lyon, PhD¹³, Elaine Spector, PhD¹⁴, Karl Voelkerding, MD¹⁵ and Heidi L. Rehm, PhD¹⁵; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

Molekularno genetsko testiranje



Somatske različice iz tumorja

Zarodne (germinalne) različice iz krvi



Zarodne različice so prisotne v vseh celicah v telesu, tudi v tumorju.

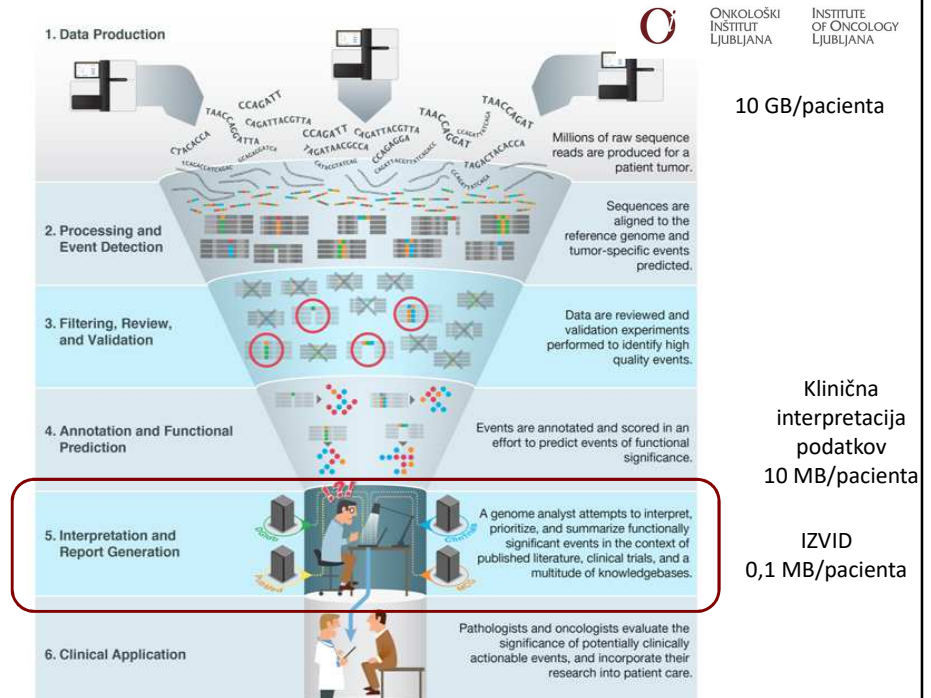
Somatske (tumorske) različice so prisotne le v tumorju.

Genetsko testiranje na zarodne okvare

Ugotavljanje nosilcev genetskih okvar, ki so bolj ogroženi, da zbolijo za rakom.

Predikcijski dejavnik za zdravljenje s tarčnimi zdravili (npr. BRCA1, BRCA2)

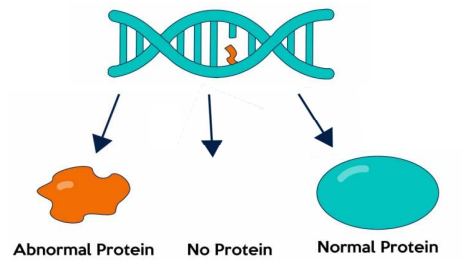
NGS



Ozko grlo genetskega testa je interpretacija genetskih različic!

Za vse različice, ki jih odkrijemo na nivoju DNK nas zanima njihov **vpliv na protein:**

- Okvarjen protein
- Protein se ne sintetizira
- Ni vpliva na protein



Zapis različic

BRCA1 gen

c.16T>C
16 – zaporedna številka nukleotida v genu
T – referenčni nukleotid (wild type)
C – spremenjen nukleotid

p.(Leu6Pro)
6 – zaporedna številka aminokislina v proteinu
Leu – referenčna aminokislina (wild type)
Pro – spremenjena aminokislina

Reference human genome sequence

Each line of letters is one 'read' from the sequencing machine – approx. 150 letters long

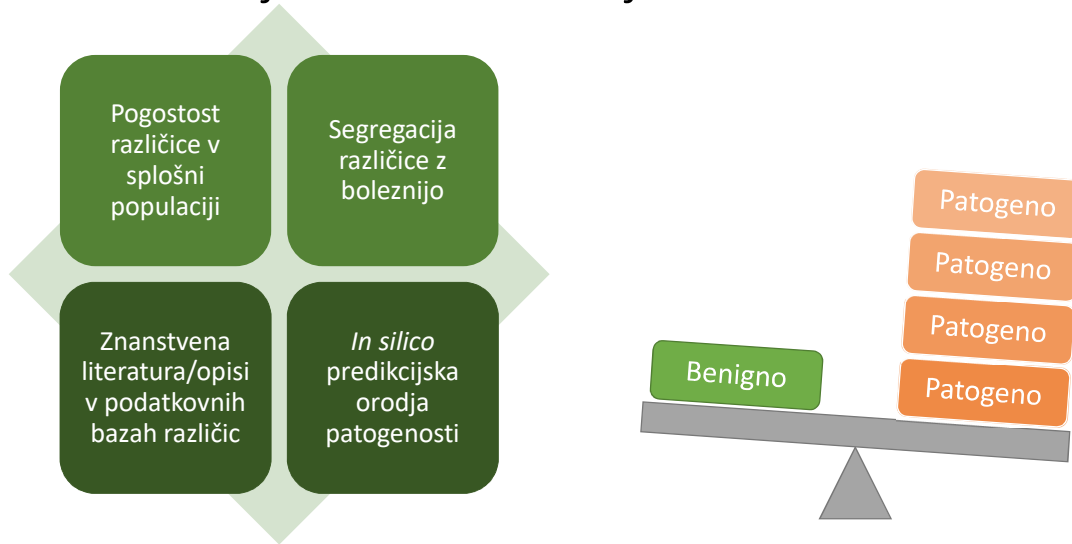
```

123... 16
ATAATTATTTAGTTTGGCCAATCTGATGGGGAAGGAACCCCTTGGCCCCACCCCTCCCACTGAT
Cys Gly Lys Lys Leu
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTG
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGG
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGA
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAG
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCA
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCA
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGA
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT
ATAGTCATTCTCAGC TGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT
CTGCCAACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT
AACCTGTATGGGGAAGGACACCCCTTGGCCCCACCCCTTCCCACTGAT

```

A red letter indicates a difference to the reference sequence

Klasifikacija različic temelji na:

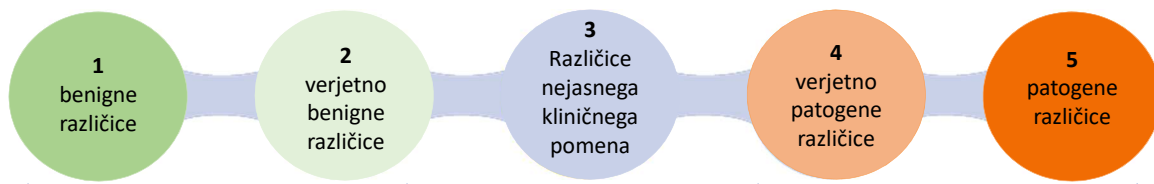
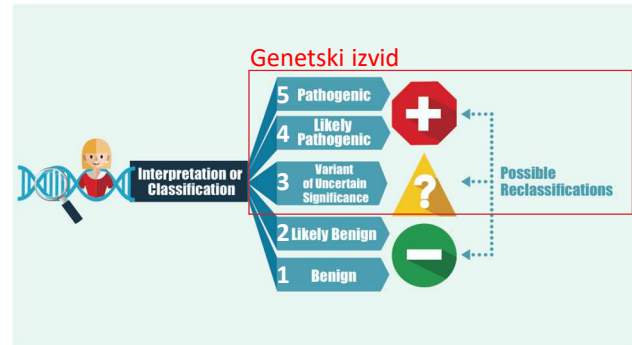


Spletna orodja za pomoč pri klasifikaciji različic

The screenshot displays a web-based variant analysis tool interface. The main window shows a genomic track for the BRCA1 gene, with a variant (NM_007294.3(BRCA1)c.181T>G) highlighted. The variant details panel on the left includes information such as gDNA, cDNA, location (Exon 5), and classification (Class 5 - Certainly pathogenic). The right side of the interface shows sequence alignment tracks for the variant, with the reference sequence (GATTTC...TGGTGAAGCAACCAAGTAGGA) and the variant sequence (GATTTC...TGGTGAAGCAACCAAGTAGGA) displayed. The interface also includes a 'Report and Export' section at the bottom.

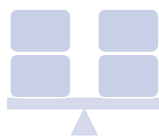
ACMG in AMP:

- 5 razredov patogenosti
- Zbiranje dokazov v prid patogenosti ali benignosti



Klinično nepomembne različice:
Benigne in verjetno benigne različice – ne povišajo ogroženosti za nastanek raka

Različice nejasnega kliničnega pomena:
Ni dovolj podatkov, da bi jih uvrstili med klinično pomembne ali nepomembne različice.



Klinično pomembne različice:
Patogene in verjetno patogene različice ovzročijo okvaro proteina. Če je ugotovljena klinično pomembna različica se pacientu ponudijo:

- preventivni ukrepi in nadaljnje spremljanje
- tarčno zdravljenje (če je okvarjen gen predpogoj za zdravljenje npr. BRCA1 & PARPi)

Različice nejasnega kliničnega pomena

angl. Variants of uncertain significance (VUS)



Ni dovolj podatkov, da bi jih uvrstili med klinično pomembne ali nepomembne različice.

Vpliv na protein je neznan.

Neznan vpliv na ogroženost za nastanek raka.

Na podlagi VUS-a, se ne izvaja preventivnih ukrepov (upošteva se družinska anamneza).

Ne vemo ali je protein okvarjen – **tarčno zdravljenje na osnovi VUS-a ni indicirano** (npr. v BRCA genih).

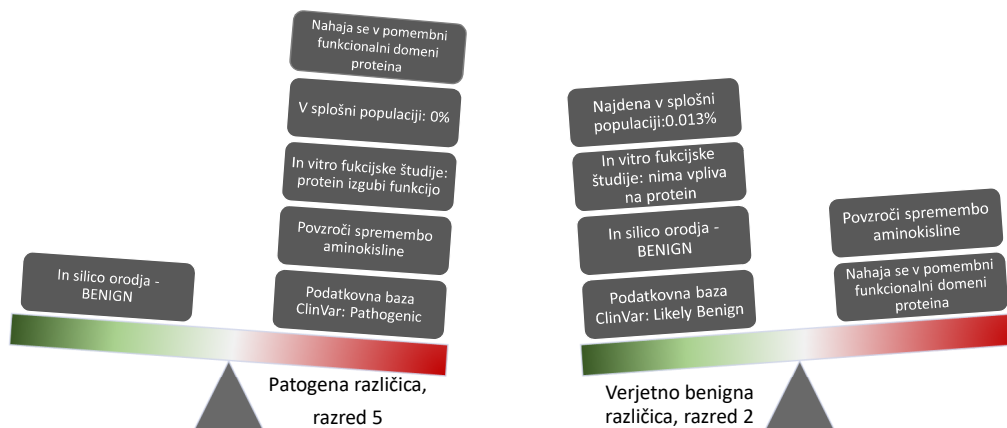
Na izvidu napisane kot dodatne ugotovitve.

Klasifikacija se lahko spremeni glede na nova dognanja

Primer klasifikacije različic

BRCA1:c.192T>G (p.Cys64Trp)

BRCA1:c.199G>T p.(Asp67Tyr)



Kriteriji s težo

Izbereš (več) kriterije(v), glede na pridobljene dokaze, da prideš do končne klasifikacije

Kriteriji za klasifikacijo patogenih variant

- Very strong (PVS1)
- Strong (PS1-4)
- Moderate (PM1-6)
- Supporting (PP1-5)

Kriteriji za klasifikacijo benignih variant

- Stand alone (BA1)
- Strong (BS1-4)
- Supporting (BP1-6)

© American College of Medical Genetics and Genomics
ACMG STANDARDS AND GUIDELINES
Genetics in Medicine

Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards, PhD¹, Nazneen Aziz, PhD^{2,3,4}, Sherri Bale, PhD¹, David Bick, MD¹, Soma Das, PhD¹, Julie Gastier-Foster, PhD^{5,6,7}, Wayne W. Grody, MD, PhD^{8,9,10}, Madhuri Hegde, PhD¹¹, Elaine Lyon, PhD¹², Elaine Spector, PhD¹³, Karl Voelkerding, MD¹⁴ and Heidi L. Rehm, PhD¹⁵; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

Dokazi za patogenost

Evidence of pathogenicity	Category
Very strong	<p>PVS1 null variant (nonsense, frameshift, canonical ±1 or 2 splice sites, initiation codon, single or multiexon deletion) in a gene where LOF is a known mechanism of disease</p> <p>Caveats:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Beware of genes where LOF is not a known disease mechanism (e.g., GFAP, MYH7) • Use caution interpreting LOF variants at the extreme 3' end of a gene • Use caution with splice variants that are predicted to lead to exon skipping but leave the remainder of the protein intact • Use caution in the presence of multiple transcripts
Strong	<p>PS1 Same amino acid change as a previously established pathogenic variant regardless of nucleotide change</p> <p>Example: Val→Leu caused by either G→C or G→T in the same codon</p> <p>Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level</p> <p>PS2 De novo (both maternity and paternity confirmed) in a patient with the disease and no family history</p> <p>Note: Confirmation of paternity only is insufficient. Egg donation, surrogate motherhood, errors in embryo transfer, and so on, can contribute to nonmaternity.</p> <p>PS3 Well-established in vitro or in vivo functional studies supportive of a damaging effect on the gene or gene product</p> <p>Note: Functional studies that have been validated and shown to be reproducible and robust in a clinical diagnostic laboratory setting are considered the most well established.</p> <p>PS4 The prevalence of the variant in affected individuals is significantly increased compared with the prevalence in controls</p> <p>Note 1: Relative risk or OR, as obtained from case-control studies, is >5.0, and the confidence interval around the estimate of relative risk or OR does not include 1.0. See the article for detailed guidance.</p> <p>Note 2: In instances of very rare variants where case-control studies may not reach statistical significance, the prior observation of the variant in multiple unrelated patients with the same phenotype, and its absence in controls, may be used as moderate level of evidence.</p>
Moderate	<p>PM1 Located in a mutational hot spot and/or critical and well-established functional domain (e.g., active site of an enzyme) without benign variation</p> <p>PM2 Absent from controls (or at extremely low frequency if recessive) (Table 6) in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium</p> <p>Caveat: Population data for insertions/deletions may be poorly called by next-generation sequencing.</p> <p>PM3 For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant</p> <p>Note: This requires testing of parents (or offspring) to determine phase.</p> <p>PM4 Protein length changes as a result of in-frame deletions/insertions in a nonrepeat region or stop-loss variants</p> <p>PM5 Novel missense change at an amino acid residue where a different missense change determined to be pathogenic has been seen before</p> <p>Example: Arg156His is pathogenic; now you observe Arg156Cys</p> <p>Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level.</p> <p>PM6 Assumed de novo, but without confirmation of paternity and maternity</p>
Supporting	<p>PP1 cosegregation with disease in multiple affected family members in a gene definitively known to cause the disease</p> <p>Note: May be used as stronger evidence with increasing segregation data</p> <p>PP2 Missense variant in a gene that has a low rate of benign missense variation and in which missense variants are a common mechanism of disease</p> <p>PP3 Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc.)</p> <p>Caveat: Because many in silico algorithms use the same or very similar input for their predictions, each algorithm should not be counted as an independent criterion. PP3 can be used only once in any evaluation of a variant.</p> <p>PP4 Patient's phenotype or family history is highly specific for a disease with a single genetic etiology</p> <p>PP5 Reputable source recently reports variant as pathogenic, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation</p>

Dokazi za benignost

Table 4 Criteria for classifying benign variants

Evidence of benign impact	Category
Stand-alone	BA1 Allele frequency is >5% in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium
Strong	BS1 Allele frequency is greater than expected for disorder (see Table 6)
	BS2 Observed in a healthy adult individual for a recessive (homozygous), dominant (heterozygous), or X-linked (hemizygous) disorder, with full penetrance expected at an early age
	BS3 Well-established in vitro or in vivo functional studies show no damaging effect on protein function or splicing
	BS4 Lack of segregation in affected members of a family Caveat: The presence of phenocopies for common phenotypes (i.e., cancer, epilepsy) can mimic lack of segregation among affected individuals. Also, families may have more than one pathogenic variant contributing to an autosomal dominant disorder, further confounding an apparent lack of segregation.
Supporting	BP1 Missense variant in a gene for which primarily truncating variants are known to cause disease
	BP2 Observed in <i>trans</i> with a pathogenic variant for a fully penetrant dominant gene/disorder or observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant in any inheritance pattern
	BP3 In-frame deletions/insertions in a repetitive region without a known function
	BP4 Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc.) Caveat: Because many in silico algorithms use the same or very similar input for their predictions, each algorithm cannot be counted as an independent criterion. BP4 can be used only once in any evaluation of a variant.
	BP5 Variant found in a case with an alternate molecular basis for disease
	BP6 Reputable source recently reports variant as benign, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation
	BP7 A synonymous (silent) variant for which splicing prediction algorithms predict no impact to the splice consensus sequence nor the creation of a new splice site AND the nucleotide is not highly conserved

IZVID MOLEKULARNO GENETSKE PREISKAVE: GENOTIPIZACIJA DEDNIH SPREMEMB

POZITIVEN IZVID

Primek in ime: Datum rojstva: Št. popisa: Spol: **Identifikacijska št. izvida:** Datum izvida:

Podatki o napotivi na preiskavo
Datum prejema napotnice: Napotni zdravnik: Ambulanta za genetsko svetovanje OIL
Diagnoza: maligna neoplazma dojke
Razlog napotitve: osebna anamneza za sindrom dednega raka dojke in/ali jajčnikov

Preiskovani material
Laboratorijska št. vzorca: Prejeto iz: Oddelek za laboratorijsko dejavnost, OIL
Datum odvzema vzorca: 04.09.2020
Datum prejema vzorca: 04.09.2020
Vrsta vzorca: kri

Rezultati:

Klinično pomembna različica je dokazana.
»Klinično pomembna različica« je definirana kot genetska sprememba, ki je povezana s povečano ogroženostjo za nastanek raka.

Gen	Patogena različica	Razred	Interpretacija
TP53 (LR0_321H)	c.535C>T p.(His179Tyr)	heterozgot	5 Visoka ogroženost za nastanek rakov povezanih s sindromom Li-Fraumeni.

Obrazložitev:
Patogena različica c.535C>T p.(His179Tyr) v genu TP53 povzroči zamenjavo aminokislinske ter posledično nastanek okrnjenega ali spremenjenega proteina. Nosilci patogenih in verjetno patogenih različic v genu TP53 so bolj ogroženi, da zbolijo za raki povezanimi s sindromom Li-Fraumeni, kot splošna populacija (NCCN, 2021).
Rezultat je veljaven, ko je potrjen z analizo ponovno odvzetega vzorca.

Opomba:
Svetujemo vam, da se o rezultatu molekularne genetske preiskave in nadaljnjih priporočilih posvetujete s specialistom klinične genetike. Rezultat testa je lahko pomemben tudi za vaše sorodnike.
Vsi sorodniki preiskovanca/ke v prvem kolenu imajo 50 % verjetnost, da so nosilci enake zgoraj navedene patogene različice. Svetujemo jim posvet s specialistom klinične genetike.
Obrazložitev različic po razredih je podana na hrbtni strani izvida.

Analizo izvedel: VITA SETRAJČIĆ DRAGOS, MSc, Krajevina Švedska
Izvid avtoriziral: znan. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIĆ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.
Vodja Oddelka za molekularno diagnostiko: znan. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIĆ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.

NEGATIVEN IZVID

Primek in ime: Datum rojstva: Št. popisa: Spol: **Identifikacijska št. izvida:** Datum izvida:

Podatki o napotivi na preiskavo
Datum prejema napotnice: Napotni zdravnik: Ambulanta za genetsko svetovanje OIL
Diagnoza: maligna neoplazma dojke
Razlog napotitve: osebna anamneza za sindrom dednega raka dojke in/ali jajčnikov

Preiskovani material
Laboratorijska št. vzorca: Prejeto iz: Oddelek za laboratorijsko dejavnost, OIL
Datum odvzema vzorca: 15.09.2020
Datum prejema vzorca: 15.09.2020
Vrsta vzorca: kri

Rezultati:

Klinično pomembna različica ni dokazana.
»Klinično pomembna različica« je definirana kot genetska sprememba, ki je povezana s povečano ogroženostjo za nastanek raka.

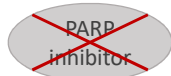
Obrazložitev:
V preiskovanih genih so lahko prisotne genske spremembe, ki jih zaradi omejitve uporabljenih metod ni možno zaznati. Klinično pomembne različice so lahko prisotne tudi v drugih genih, ki niso bili preiskovani.

Gen	Različica	Razred	Interpretacija
BRCA1 (LR0_200I)	c.993G>C p.(Arg331Ser)	heterozgot	3 Neznani vpliv na ogroženost za nastanek raka.
BRCA1 (LR0_202I)	c.932C>G p.(Ile31Met)	heterozgot	3 Neznani vpliv na ogroženost za nastanek raka.

Obrazložitev:
VUS (gen., variants of uncertain significance)

Opomba:
Svetujemo vam, da se o rezultatu molekularne genetske preiskave in nadaljnjih priporočilih posvetujete s specialistom klinične genetike. Rezultat testa je lahko pomemben tudi za vaše sorodnike.
Vsi sorodniki preiskovanca/ke v prvem kolenu imajo 50 % verjetnost, da so nosilci enake zgoraj navedene patogene različice. Svetujemo jim posvet s specialistom klinične genetike.

Analizo izvedel: ANJA ZAGOŽEN KLASINC, univ. dipl. mikrobiol.
Izvid avtoriziral: znan. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIĆ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.
Vodja Oddelka za molekularno diagnostiko: znan. svet., dr. SRDJAN NOVAKOVIĆ, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen.



IZVID MOLEKULARNO GENETSKE PREISKAVE: GENOTIPIZACIJA DEDNIH SPREMEMB METODE

Izolacija DNA: QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen)

NGS sekvenciranje^a s kompletom TruSight Hereditary^b (MiSeqDx, Illumina): vseh eksonov in ob-eksonskih regij (+/- 25 nt stran od eksona); uporabljen referenčni genom hg19. Pri ≥ 95% analiziranih regij genov je zagotovljena ≥ 40-kratna pokritost posameznih baz. Laboratorijska občutljivost in specifičnost metode glede na sekvenciranje po Sangerju za patogene različice v genih *BRCA1* in *BRCA2* je 100%. Prisotnost večjih delecij/duplikacij smo analizirali s programskim orodjem SeqPilot, modul SeqNext (JSI Medical Systems).

Usmerjeno smo analizirali in interpretirali različice v sledečih genih: *BRCA1_5UTR* (LRG_292t1), *BRCA2_5UTR* (LRG_293t1), *ATM* (LRG_135t1), *BRCA1* (LRG_292t1), *BRCA2* (LRG_293t1), *BRIP1* (LRG_300t1), *CDH1* (LRG_301t1), *CHEK2* (LRG_302t1), *EPCAM* (LRG_215t1), *MLH1* (LRG_216t1), *MSH2* (LRG_218t1), *MSH6* (LRG_219t1), *NF1* (LRG_214t1), *NBN* (LRG_158t1), *PALB2* (LRG_308t1), *PMS2* (LRG_161t1), *PTEN* (LRG_311t1), *RAD51C* (LRG_314t1), *RAD51D* (LRG_516t1), *STK11* (LRG_319t1), *TP53* (LRG_321t1).

^a Omejitve uporabljenih metod: v genu so lahko prisotne redke genske spremembe kot so specifične insercije, inverzije in variacije v regulatornih regijah, ki jih ni možno zaznati z uporabljenimi metodami. Prisotnost pseudogenov lahko zakrije detekcijo redkih različic in velikih delecij/insercij v določenih genih. Prisotnost redkih polimorfizmov na mestih, kjer nalegajo primerji in GC-bogate regije v določenih genih lahko zmanjšajo detekcijo različic v tem genu. Pri bolnikih s hematološkimi obolenji in pri osebah, ki so prejele alogeno transplantacijo kostnega mozga (KM), rezultati testiranja vzorca krvi ne odražajo realnega germinalnega statusa preiskovanca - rezultat molekularno genetske preiskave je lahko odraz sprememb v KM darovalca.

^b Seznam vseh genov vključenih v komplet je dosegljiv preko spletne strani OIL (<http://www.onko-i.si/>) ali na Oddelku za molekularno diagnostiko.

Dodatne opombe:

Nukleotidne različice so klasificirane v pet razredov, glede na klinično pomembnost (Plon *et al.*, 2008; Richards *et al.*, 2015). Na izvidu so navedene patogene različice (razred 5), verjetno patogene različice (razred 4) in različice nejasnega kliničnega pomena (VUS, razred 3). Klinično nepomembne različice: verjetno benigne različice (razred 2) in benigne različice (razred 1) niso navedene na izvidu, saj po podatkih iz literature in podatkovnih baz, ne povšajajo ogroženosti za nastanek raka pri posamezniku.

Literatura:

Plon, S. E. *et al.* (2008) 'Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results.', Human mutation, 29(11), pp. 1282-1291. doi: 10.1002/humu.20880.
Richards, S. *et al.* (2015) 'Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology', Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics, 17(5), pp. 405-424. doi: 10.1038/gim.2015.30.

Analizirani geni.

Če je izvid negativen, nismo odkrili klinično pomembnih različic v enem izmed teh genov.

Naključne najdbe:

patogene različice, ki niso neposredno povezane z razlogom napotitve za testiranje in so bile odkrite med analizo rezultatov testiranja

okvare v genih pri katerih so znani preventivni ukrepi

na izvidu naključne najdbe navedene le patogene ali verjetno patogene različice – ne VUS-i.

Phenotype	OMIM identifier	Reviewers entry	Typical age at onset	Gene	OMIM gene	Inheritance	Variants to report
Hereditary breast and ovarian cancer	604370 612755	2005425	Adult	BRCA1 BRCA2	113700 600185	AD	KP and EP
Li-Fraumeni syndrome	151423	2001488	Childhood	TP53	191150	AD	KP and EP
Peutz-Jeghers syndrome	175200	2005443	Childhood	STK11	603216	AD	KP and EP
Lynch syndrome	120435	2001390	Adult	MLH1 MSH2 MSH6 PMS2	120436 603209 606078 602739	AD	KP and EP
Familial adenomatous polyposis	175100	2005159	Childhood	APC	613191	AD	KP and EP
APC-associated polyposis, attenuated, multiple colonic, FAP type 2, conventional adenomatous polyposis, attenuated, with adenomatous colonic mucosa	608456 132900	2303301	Adult	MTYR	604933	AR	KP and EP
von Hippel-Lindau syndrome	180300	2005456	Childhood	VHL	608237	AD	KP and EP
Multiple endocrine neoplasia type 1	131100	2005170	Childhood	MEN1	613733	AD	KP and EP
Multiple endocrine neoplasia type 2	171400 162500	2005434	Childhood	RPT	164761	AD	KP
Familial medullary thyroid cancer*	1552401	2005434	Childhood	RET	164761	AD	KP
Pheochromocytoma tumor syndrome	155480	20051661	Childhood	PTEN	601728	AD	KP and EP
Neurofibromatosis	180200	2005426	Child	NF1	616261	AD	KP and EP
Hereditary paraganglioma, pheochromocytoma syndrome	168000 601650 602121 605373 602131 113310 602418 185470	20051715	Childhood	SND1 SDHAF2 SDHC SDHB	602690 613019 602413 185470	AD	KP and EP
Tubercous sclerosis complex	181100 613234	2001399	Child	TSC1 TSC2	605284 191092	AD	KP and EP
WT1-related Wilms tumor	194030	2001421	Child	WT1	607102	AD	KP and EP
Neurofibromatosis type 2	191100	2001380	Childhood	NF2	607379	AD	KP and EP
Elliptocytosis	130050	20051667	Childhood	COL3A1	120180	AD	KP and EP
Myotonic dystrophy type 1	157000	2001510	Childhood	DM1	134797	AD	KP and EP
Marfan syndrome, long QT syndrome, and familial thoracic aortic aneurysm and dissection	609192 608267 610168 610388 611992 611788	2001312 2001299	Childhood	TGFBR1 TGFBR2 SMAD3 ACTA2	190181 190182 603109 158320	AD	KP and EP
Hypertrophic cardiomyopathy, obstructive cardiomyopathy	115197 192000 601494 615990 151196 608751 612098 608058 307500 608758 115200	20011725	Childhood	MYBPC3 MYH7 TNNT2 MYOZ2 TNXB3 TNNT1 MYL3 ACTC1 PRKG2 GLA	600958 160190 191045 191044 191010 160790 102540 602143 300644	AD	KP and EP
Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia	654772		Childhood	RYR2	189092	AD	KP
Arrhythmogenic right-ventricular cardiomyopathy	609400 604403 614476 607650 601144	20051310	Childhood	PKP2 DSP DSG2 TMS64Z	602861 129647 126449 612048	AD	KP and EP
Brugada syndrome	608000		Childhood	SCN5A	600140	AD	KP and EP
Long QT syndrome	155500 601144 608758	2001308	Childhood	KCNQ1 KCNJ2 SCN5A	602542 152427 600140	AD	KP and EP
Familial hypercholesterolemia	144800 602376	No GeneReviews entry	Childhood	LDLR APOB	606495 107730	SO	KP and EP
Malignant hyperthermia susceptibility	145600	2001325	Childhood	RYR1	607786	AD	KP

Genetics in Medicine
ACMG STATEMENT

Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics

Sarah S. Kalia, SM, Kathy Adelman, Sheri J. Bale, PhD, Wendy K. Chung, MD, PhD¹, Christine Eng, MD, James P. Evans, MD, PhD, Gill E. Herman, MD, PhD, Sophia B. Huftagel, MD, Teri E. Klein, PhD², Bruce R. Korf, MD, PhD³, Kent D. McKelvey, MD^{4,5}, Kelly E. Ormond, MS⁶, C. Sue Richards, PhD⁷, Christopher N. Viegas, PhD⁸, Michael Watson, PhD⁹, Christa L. Martin, PhD¹⁰, David T. Miller, MD, PhD¹¹, on behalf of the ACMG Secondary Findings Maintenance Working Group

Naključne najdbe, primer izvida

IZVID MOLEKULARNO GENETSKE PREISKAVE: GENOTIPIZACIJA DEDNIH SPREMEMB							
Primek in ime:	Identifikacijska št. izvida: - 1						
Datum rojstva:	Datum izvida:						
Št. popisa:							
Spol:							
Podatki o napotivi na preiskavo	Preiskovani material						
Datum prejema napotnice:	Laboratorijska št. vzorca:						
Napoti zdravnik:	Prejeto iz: Oddelek za laboratorijsko dejavnost, OIL						
Diagnoza: Ambulanta za genetsko svetovanje OIL, karcinom in situ dojke	Datum odvzema vzorca: 25.02.2020						
Razlog napotitve: pozitivna družinska anamneza za sindrom dednega raka dojke in/ali jajčnikov, osebna anamneza za sindrom dednega raka dojke in/ali jajčnikov	Datum prejema vzorca: 25.02.2020						
	Vrsta vzorca: kn						
Rezultati:							
<p>Klinično pomembna različica je dokazana.</p> <p>»Klinično pomembna različica« je definirana kot genetska sprememba, ki je povezana s povečano ogroženostjo za nastanek raka.</p>							
<p>Naključna najdba:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Gen</th> <th>Verjetno patogena različica, razred 4</th> <th>Interpretacija</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CDKN2A (LR6_111)</td> <td>c.142C>A p.(Pro48Thr)</td> <td>heterozigot Visoka ogroženost za nastanek malignega melanoma in raka trebušne slinavke.</td> </tr> </tbody> </table> <p>Obrazložitev: Verjetno patogena različica c.142C>A p.(Pro48Thr) v genu CDKN2A povzroči zamenjavo aminokisliline ter posledično nastanek okrnjenega ali spremenjenega proteina. Nosilci patogenih in verjetno patogenih v genu CDKN2A so bolj ogroženi, da zbolijo za melanomom in rakom trebušne slinavke, kot splošna populacija (NCCN, 2020a, 2020b).</p> <p>*Patogena ali verjetno patogena različica v genu, ki ni neposredno povezan z razlogom napotitve za testiranje in je bila odkrita med analizo rezultatov testiranja. Rezultat je veljaven, ko je potrjen z analizo ponovno odvzetega vzorca.</p> <p>Opombe: Svetujemo vam, da se o rezultatu molekularno genetske preiskave in nadaljnjih priporočilih posvetujete s specialistom klinične genetike. Rezultat testa je lahko pomemben tudi za vaše sorodnike. Vsi sorodniki preiskovanca/ke v prvem kolenu imajo 50 % verjetnost, da so nosilci enake zgoraj navedene patogene različice. Svetujemo jim posvet s specialistom klinične genetike.</p>		Gen	Verjetno patogena različica, razred 4	Interpretacija	CDKN2A (LR6_111)	c.142C>A p.(Pro48Thr)	heterozigot Visoka ogroženost za nastanek malignega melanoma in raka trebušne slinavke.
Gen	Verjetno patogena različica, razred 4	Interpretacija					
CDKN2A (LR6_111)	c.142C>A p.(Pro48Thr)	heterozigot Visoka ogroženost za nastanek malignega melanoma in raka trebušne slinavke.					



Zaključki

- Zdravljenje je indicirano le na podlagi klinično pomembnih različic.
- Tarčno zdravljenje ni indicirano na podlagi različice neznanega kliničnega pomena – VUS – razred 3
- Med genetskih testom lahko najdemo različice, ki niso povezane s pacientovo klinično sliko = naključne najdbe.

Klinične poti testiranja

Srdjan Novaković

NAMEN PREDSTAVITVE

Spodbuditi sodelovanje med kliničnimi oddelki in Oddelkom za molekularno diagnostiko.



DEFINICIJA KLINIČNIH POTI

Klinične poti so standardizirani, na dokazih temelječi multidisciplinarni načrti delovanja, ki opredelijo ustrezno zaporedje kliničnih posegov, časovne okvire, mejnike in pričakovane izide za homogeno skupino bolnikov.

CILJI KLINIČNIH POTI

Pomoč pri izvajanju z dokazi podprte klinične prakse
Izboljšati klinične procese z zmanjšanjem tveganja
Zmanjšati podvajanje z uporabo standardiziranih protokolov
Zmanjšati razlike v izvajanju zdravstvenih postopkov.

„Clinical pathways are standardised, evidence-based multidisciplinary management plans, which identify an appropriate sequence of clinical interventions, timeframes, milestones and expected outcomes for an homogenous patient group (Queensland Health Clinical Pathways Board definition 2002).
Clinical pathways aim to support the implementation of evidence-based practice improve clinical processes by reducing risk reduce duplication through the use of a standardised tool reduce variation in health service process delivery.“



DEFINICIJA KLINIČNIH POTI

Klinična pot je kompleksna obravnava, ki vključuje odločanje in organizacijo postopkov oskrbe za natančno določeno skupino bolnikov v točno določenem obdobju.

Klinična pot vključuje: izrecno navedbo ciljev in ključnih elementov na dokazih temelječe oskrbe, dobre klinične prakse ter pričakovanj pacientov in njihovih značilnosti; **olajšanje komunikacije med člani ekipe** ter s pacienti in družinami; usklajevanje oskrbnega procesa z usklajevanjem vlog in zaporedjem dejavnosti multidisciplinarnega tima za obravnavo, pacientov in njihovih svojcev; dokumentacijo, spremljanje in vrednotenje odstopanj in rezultatov ter opredelitev ustreznih virov

“A care pathway is a complex intervention for the mutual decision making and organisation of care processes for a well-defined group of patients during a well-defined period. Defining characteristics of care pathways include: An explicit statement of the goals and key elements of care based on evidence, best practice, and patients’ expectations and their characteristics; the facilitation of communication among team members and with patients and families; the coordination of the care process by coordinating the roles and sequencing the activities of the multidisciplinary care team, patients and their relatives; the documentation, monitoring, and evaluation of variances and outcomes, and the identification of the appropriate resources” (The European Pathways Association - EPA, 2018a).

CILJI KLINIČNIH POTI

Klinične poti so orodja, ki se uporabljajo za usmerjanje na z dokazi podprtega zdravstvenega varstva. Njihov cilj je prenesti priporočila smernic v klinične procese oskrbe upoštevajoč kulturne in okoljske dejavnike v kateri deluje zdravstvena ustanova. Klinična pot predstavlja strukturiran multidisciplinarni načrt oskrbe z naslednjimi značilnostmi: (1) uporablja se za prenos/uporabo smernic ali potrjenih dejstev v lokalne strukture; (2) podrobno opisuje korake med zdravljenjem ali načrte o oskrbi, poteh, algoritmih, smernicah, protokolih ali drugih „dokumentiranih ukrepih“; (3) namen klinične poti je je poenotiti oskrbo za določen klinični problem, postopek ali del zdravstvenega varstva za določeno populacijo.

Clinical pathways (CPWs) are tools used to guide evidence-based healthcare. Their aim is to translate clinical practice guideline recommendations into clinical processes of care within the unique culture and environment of a healthcare institution. A CPW is a structured multidisciplinary care plan with the following characteristics: (1) it is used to translate guidelines or evidence into local structures; (2) it details the steps in a course of treatment or care in a plan, pathway, algorithm, guideline, protocol or other "inventory of actions"; and (3) it aims to standardize care for a specific clinical problem, procedure or episode of healthcare in a specific population.

POT NAROČANJA ZA DOLOČANJE POGOSTH MUTACIJ V PIK3CA PRI BOLNIKAH S ER+, HER2- RAKOM DOJK

INDIKACIJA: kot prediktivni marker za zdravljenje z apfelsibom + fulvestrantom pri bolnikih s ER+, HER2- razsejanim rakom dojke po progresu na zdravljenje z zaviralci CDK4/6+AI.

IDENTIFIKACIJA BOLNIKA



POSLATI NAPOTNICE NA ODDELEK ZA PATOLOGIJU:

- Modra napotnica za patologijo (opremljena z nalepko bolnika)
- Napotnica za molekularno diagnostiko (opremljena z nalepko bolnika)

Na napotnici za patologijo označiti:

- Določitev mutacije PIK3CA na primarnem tumorju (Bx, xyz) ali
- Določitev mutacije PIK3CA na metastazi (v tem primeru napotnici izročiti bolniku v roke, če bo izvedena UZ vodena DIB; radiolog ju priloži biopsijskemu vzorcu)

Na napotnici za molekularno diagnostiko označiti: Klinično diagnozo, razlog napotitve in v predelku Določanje genotipov pod Druge neoplazme PIK3CA ter napotnega zdravnika.



Patolog pripravi tkivo in ga skupaj z napotnico za Molekularno diagnostiko dopolnjeno s potrebnimi podatki o vzorcu, pošlje na Oddelek za molekularno diagnostiko.



Molekularna diagnostika v 14 dneh sporoči izvid napotnemu internistu onkologu in ga vnese v bolnišnični informacijski sistem.

REVIEW ARTICLE

Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group
Table 6. List of genomic alterations level I/II/III according to ESCAT in advanced prostate cancer

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT	References
BRCA1/2	Somatic mutations/deletions	9%	IA	De Bono J, et al. <i>N Engl J Med</i> . 2020 ⁷¹
	MSI-H	1%	IC	Cortes-Ciriano I, et al. <i>Nat Commun</i> . 2017 ⁷⁶ Abida W, et al. <i>J Clin Oncol</i> . 2018 ⁷⁸ Marcus L, et al. <i>Clin Cancer Res</i> . 2019 ⁷⁷
PTEN	Deletions/mutations	40%	IIA ^a	Abida W, et al. <i>Proc Natl Acad Sci</i> . 2019 ⁷⁸ De Bono J, et al. <i>Clin Cancer Res</i> . 2019 ⁷⁷ NCT03072238 ¹⁰⁰
ATM	Mutations/deletions	5%	IIA	De Bono J, et al. <i>N Engl J Med</i> . 2020 ⁷¹
PALB2	Mutations	1%	IIIB	Mateo J, et al. <i>N Engl J Med</i> . 2015 ⁷⁵ De Bono J, et al. <i>N Engl J Med</i> . 2020 ⁷¹
PIK3CA	Hotspot mutations	3%	IIIA	Crumbaker M, et al. <i>Cancers</i> . 2017 ¹⁰³
AKT1 ^{47/78}	Mutations	1%	IIIA	Crumbaker M, et al. <i>Cancers</i> . 2017 ¹⁰³

ESCAT, European Society for Medical Oncology (ESMO) Scale for Clinical Actionability of molecular Targets; MSI-H, microsatellite instability-high; PTEN, phosphatase and tensin homologue.

^a A press release suggests that AKT inhibitors could work specifically in PTEN-mutant prostate cancers. PTEN could be upgraded to IA depending on the magnitude of benefit and peer review assessment of the report.

Limited data suggest that prostate tumors with ductal or intraductal histology have increased genomic instability.⁵⁶⁻⁵⁸ In particular, tumors with these histologies may be more likely to harbor somatic and/or germline MMR gene alterations than those with adenocarcinoma histology.^{59,70} In addition, limited data suggest that germline homologous DNA repair gene mutations may be more common in prostate tumors of ductal or intraductal origin^{71,72} and that intraductal histology is common in germline *BRCA2* mutation carriers with prostate cancer.⁷⁴ Overall, the panel believes that the data connecting histology and the presence of genomic alterations are stronger for intraductal than ductal histology at this time. Therefore, patients with presence of intraductal carcinoma on biopsy should have germline testing as described below.

Genetic Testing Recommendations

Germline Testing Based on Family History, Histology, and Risk Groups
The panel recommends inquiring about family and personal history of cancer at time of initial diagnosis. Based on the data discussed above, the panel recommends germline genetic testing, with or without pre-test genetic counseling, for patients with prostate cancer and any of the following:

- A positive family history (see definition in the guidelines above)
- High-risk, very-high-risk, regional, or metastatic prostate cancer, regardless of family history
- Ashkenazi Jewish ancestry
- Intraductal histology

Germline testing, when performed, should include *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, and *PMS2* (for Lynch syndrome) and the homologous recombination genes *BRCA2*, *BRCA1*, *ATM*, *PALB2*, and *CHEK2*. Cancer predisposition next-generation sequencing (NGS) panel testing, at a minimum including *BRCA2*, *BRCA1*, *ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, and *PMS2*, can be considered. Additional genes may be appropriate depending on

clinical context. For example, *HOXB13* is a prostate cancer risk gene and, whereas there are not currently clear therapeutic implications in the advanced disease setting, testing may be valuable for family counseling.^{74,75}

Somatic Tumor Testing Based on Risk Groups

Tumor testing recommendations are as follows:

1. Tumor testing for somatic homologous recombination gene mutations (eg, *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *FANCA*, *RAD51D*, *CHEK2*) can be considered in patients with regional or metastatic prostate cancer.
2. Tumor testing for MSI or dMMR can be considered in patients with regional or metastatic prostate cancer.
3. Multigene molecular testing can be considered for patients with low and favorable-intermediate-risk prostate cancer and life expectancy ≥ 10 years (see *Tumor Multigene Molecular Testing*, below).
4. The Decipher molecular assay can be considered as part of counseling for risk stratification in patients with PSA resistance/recurrence after radical prostatectomy (category 2B; see *Tumor Multigene Molecular Testing*, below).

If mutations in *BRCA2*, *BRCA1*, *ATM*, *CHEK2*, or *PALB2* are found, the patient should be referred for genetic counseling to assess for the possibility of HBOC.

If MSI testing is performed, testing using an NGS assay validated for prostate cancer is preferred.⁷⁶⁻⁷⁸ If MSI-H or dMMR is found, the patient should be referred for genetic counseling to assess for the possibility of Lynch syndrome. MSI-H or dMMR indicate eligibility for pembrolizumab in second and subsequent lines of treatment for CRPC (see *Pembrolizumab*, below).

Version 2.2020 © 2020 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®). All rights reserved. NCCN Guidelines® and this document may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

MS-5

Updates in Version 2.2020 of the NCCN Guidelines for Prostate Cancer from Version 1.2020 include:
PROS-16 and PROS-16A
Systemic therapy for M1 CRPC: Adenocarcinoma

- Added olaparib for HRm to be useful in certain circumstances treatment options under subsequent therapy as a category 1 recommendation with the following footnote: **Olaparib is a treatment option for patients with mCRPC and a pathogenic mutation (germline and/or somatic) in a homologous recombination repair gene (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BRCA1*, *BRIP1*, *CDK7*, *CHEK2*, *CHEK1*, *FANCA*, *PALB2*, *RAD51D*, *RAD51B*, *RAD51C*, or *RAD51A*), who have been treated with androgen receptor-directed therapy. Patients with *PPP2R2A* mutations in the PROfound trial experienced an unfavorable risk-benefit profile. Therefore, olaparib is not recommended in patients with a *PPP2R2A* mutations. (see Discussion).**
- Changed the Category of Evidence and Consensus for olaparib from a category 2B to a category 1 recommendation as a second-line treatment option post abiraterone/enzalutamide.
- Added rucaparib for BRCAm to be useful in certain circumstances treatment options under second-line treatment and subsequent therapy as a category 2A recommendation with the following footnote: **Rucaparib is a treatment option for patients with mCRPC and a pathogenic *BRCA1* or *BRCA2* mutation (germline and/or somatic) who have been treated with androgen receptor-directed therapy and a taxane-based chemotherapy. If the patient is not fit for chemotherapy, rucaparib can be considered even if taxane-based therapy has not been given.**



GENETSKE SPREMEMBE PRI METASTATSKEM RAKU PROSTATE

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT	References
BRCA1/2	Somatic mutations/deletions	9%	IA	De Bono J, et al. N Engl J Med. 2020 ⁹³
	MSI-H	1%	IC	Cortes-Ciriano I, et al. Nat Commun. 2017 ⁹⁵ Abida W, et al. J Clin Oncol. 2018 ⁹² Marcus L, et al. Clin Cancer Res. 2019 ⁹⁷
PTEN	Deletions/mutations	40%	IIA ³	Abida W, et al. Proc Natl Acad Sci. 2019 ⁹⁵ De Bono J, et al. Clin Cancer Res. 2019 ⁹⁹ → NCT03072238 ¹⁰⁰
ATM	Mutations/deletions	5%	IIA	De Bono J, et al. N Engl J Med. 2020 ⁹³
PALB2	Mutations	1%	IIB	Mateo J, et al. N Engl J Med. 2015 ⁹⁵ De Bono J, et al. N Engl J Med. 2020 ⁹³
PIK3CA	Hotspot mutations	3%	IIIA	Crumbaker M, et al. Cancers. 2017 ¹⁰¹
AKT1 ^{E17K}	Mutations	1%	IIIA	Crumbaker M, et al. Cancers. 2017 ¹⁰¹

AMP/ASCO/CAP
razred

AMP/ASCO različica
razreda I

Ni opisa v NCCN smernicah;
AMP/ASCO različica razreda
II

AMP/ASCO različica razreda
I

AMP/ASCO različica razreda
II

Mosele F 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 Aug 24;S0923-7534(20)39971-3. doi: 10.1016/j.annonc.2020.07.014. Epub ahead of print. PMID: 32853681.



OncKB

Precision Oncology Knowledge Base

682
Genes

5425
Alterations

56
Tumor Types

96
Drugs

Search Gene / Alteration / Drug

Level 1
FDA-approved drugs
42 Genes

Level 2
Standard care
12 Genes

Level 3
Clinical evidence
29 Genes


Level 4
Biological evidence
19 Genes

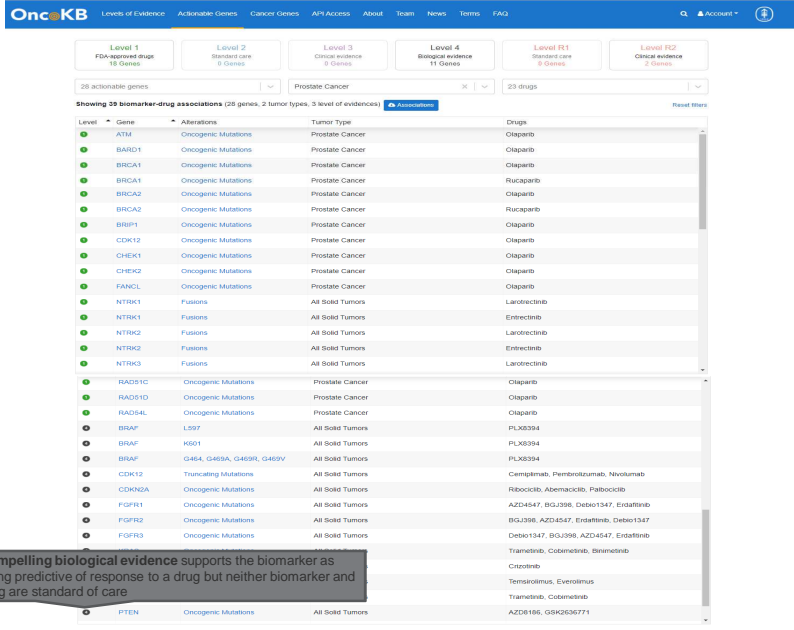
Level R1/R2
Resistance
12 Genes

Powered by the clinical expertise of Memorial Sloan Kettering Cancer Center
When using OncKB, please cite: Chakravarty et al., JCO PO 2017.


Please review the [terms of use](#) before continuing.
When using OncKB, please cite: Chakravarty et al., JCO PO 2017.
MSK CP | CMO CP | cBioPortal CP | OncoTree CP







Level	Gene	Alterations	Tumor Type	Drugs
Level 1	ATM	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	BARD1	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	BRCA1	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	BRCA1	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Rucaparib
Level 1	BRCA2	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	BRCA2	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Rucaparib
Level 1	BRIP1	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	CDK12	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	CHEK1	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	CHKE2	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	FANCL	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	NTRK1	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
Level 1	NTRK1	Fusions	All Solid Tumors	Entrectinib
Level 1	NTRK2	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
Level 1	NTRK2	Fusions	All Solid Tumors	Entrectinib
Level 1	NTRK3	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
Level 1	RAD51C	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	RAD51D	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	RAD54L	Oncogenic Mutations	Prostate Cancer	Claparib
Level 1	BRAP	L597	All Solid Tumors	PLX8394
Level 1	BRAP	K901	All Solid Tumors	PLX8394
Level 1	BRAP	G464, G465A, G469H, G469V	All Solid Tumors	PLX8394
Level 1	CDK12	Truncating Mutations	All Solid Tumors	Camptelab, Pembrolizumab, Nivolumab
Level 1	CDKN2A	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Ribociclib, Abemaciclib, Palbociclib
Level 1	FGFR1	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	AZD4547, BGJ398, Debio1347, Erdafitinib
Level 1	FGFR2	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	BGJ398, AZD4547, Erdafitinib, Debio1347
Level 1	FGFR3	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Debio1347, BGJ398, AZD4547, Erdafitinib
Level 1	PTEN	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Trametinib, Cobimetinib, Binimetinib, Crizotinib, Temsirolimus, Everolimus, Trametinib, Cobimetinib, AZD8186, GSK2636771



CILJI PREDSTAVITVE

- Ustrezna umestitev molekularne diagnostike v onkološke smernice.
- Opredelitev tarčnih genskih panelov, ki v realnem času imajo klinično uporabno vrednost: za diagnostiko in zdravljenje.
- Dogovoriti ustrezne algoritme za neposredno napotovanje bolnikov na molekularno-genetske preiskave.
- Opredeliti katere bolnike je potrebno pošiljati na NGS konzilij pred naročanjem molekularno-genetskih preiskav.
- Predvideti ustrezne/sprejemljive/mogoče časovne intervale za izdelavo izvidov.
- Opredeliti dostop do izvidov, ki se nanašajo na zarodne spremembe in ravnanje s temi izvidi oz. bolniki.

ESMO priporočila za določanje molekulatnih tarč

DOC.DR. CVETKA GRAŠIČKU HAR, DR. MED.

Konflikt interesov

Svetovalni odbori ali predavanja: Roche, MSD, Amgen, Pfizer, Lilly, Merck, Novartis

Pregled predavanja

- Ozadje potrebe za implementacijo izsledkov ,precision medicine' v klinično prakso
- Namen izdelave ESMO priporočil za klinično uporabo izsledkov molekularnega testiranja (ESCAT)
- Predstavitev ESCAT klasifikacije
- ESMO priporočila glede ESCAT klasifikacije po posameznih rakih
- Primer
- Zaključek

DIO 2020

3

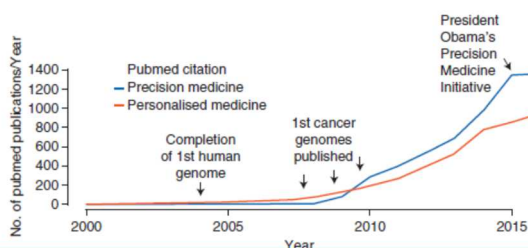
Precision/personalised medicine

Annals of Oncology 29: 30–35, 2018
doi:10.1093/annonc/mdx707
Published online 13 November 2017

The European Society for Medical Oncology (ESMO) Precision Medicine Glossary

Precision medicine:
izvajanje th. intervencij
prilagojeno individualnim
značilnostim bolnika in
njegovega tumorja

Precision medicine is preferred to personalised medicine



Zakaj ne personalizirana medicina:

-zmota, da je th. narejena samo za enega bolnika
-pri odločanju vplivajo bolnikove preference,
kognitivni aspekti, komorbidnosti (le biomarker!)
-'precision medicine' bolje odraža visoko natančno
tehnologijo, ki omogoča do baznega para natančno
analizo genoma raka

4

Mechanisms of decision

Precision medicine

Pharmacogenomics.

Stratified medicine.

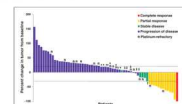
Molecular tumour board.

Characteristics of molecular alterations

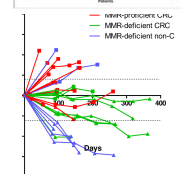
Tumour characteristics

Clinical trials and statistics

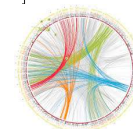
Research tools



Waterfall plot



Spider plot.



Circos plot.

Annals of Oncology 29: 30–35, 2018
doi:10.1093/annonc/mdx707
Published online 13 November 2017



ERBB3	različica razreda III	c.1008_1010delinsCCA p.(Gly337Gln)	32.36
ERG	različica razreda III	c.400G>C p.(Val134Leu)	20.91
FGFR4	različica razreda III	c.1463G>C p.(Gly488Ala)	50.48
GRIN2A	različica razreda III	c.390delC p.(Ala131Hisfs*3)	15.54
MAPK1	različica razreda III	c.1040T>A p.(Ile347Asn)	16558
MDC1	različica razreda III	c.1263G>C p.Glu421Asp	47.33
NAB2	različica razreda III	c.499G>C p.(Gly167Arg)	16.64
NCOR1	različica razreda III	c.4372G>A p.(Val1458Ile)	24.35
NRAS	različica razreda III	c.317C>G p.(Ser106Trp)	32.57
RECQL4	različica razreda III	c.2082C>T p.?	29.37
ROS1	različica razreda III	c.1954A>C p.(Ser652Arg)	28157
CCNE1	različica razreda III	potnožen	
FGF2	različica razreda III	potnožen	

Ozadje potrebe za implementacijo izsledkov 'precision medicine' v klinično prakso

- Povečuje se znanje o biologiji raka
- Povečuje se dostopnost do tehnologij za sekvencioniranje genoma
 - Namesto nekaj 'hotspot' analiz se naredi širokospektralno sekvencioniranje ali celo sekv. celotnega genoma
 - Vedno več bolnikov opravi sekvencioniranje tumorja
- Uveljavlja se zdravljenje raka na podlagi genomskih sprememb
- Tveganja: interpretacija rezultatov
 - Ločevanje med rezultati: ki imajo preliminarni klinični ali predklinični pomen od hipotetičnih ujemanj molekularne tarče in potencialnega zdravila
 - Riziko precenjevanja potencialne dobiti
- Tveganje za bolnika: pomanjkanje jasne prioritizacije (kaj je klinično pomembno)
 - Lahko bi prejel neučinkovito zdravilo, ki potencialno ustreza molekularni tarči (ki še klinično ni bila preizkušena)
 - Spremembe s kliničnim pomenom pa bi bile spregledane

DIO 2020

7

Bariere za implementacijo genomskih rezultatov v klinično prakso

SPECIFIČNE ZA RAKA

Evolucija raka
Prostorska heterogenost
Otežena biopsija metastate
Dominirajo LOF vs. onkogenim dogodkom
Majhni biopsijski vzorci, fragmentirana DNK

ANALIZA

Analitska validacija
Klinična kvantifikacija
Bioinformatika

DOSTOPNOST TEHNOLOGIJE

Neenaka dostopnost v različnih zdrav. sistemih
Finančna toksičnost (zavarovalnice)
Testiranje 1 biomarkerja ali multiple

INTERPRETACIJA PODATKOV

Ni standardiziranih interpretacijskih sistemov za somatske variante
Odkrivanje novih somatskih variant
Izmenjava podatkov
Pomanjkanje ekspertize na konzilijih (MTD)

DIO 2020

8

ESMO projekt: ESCAT priporočila

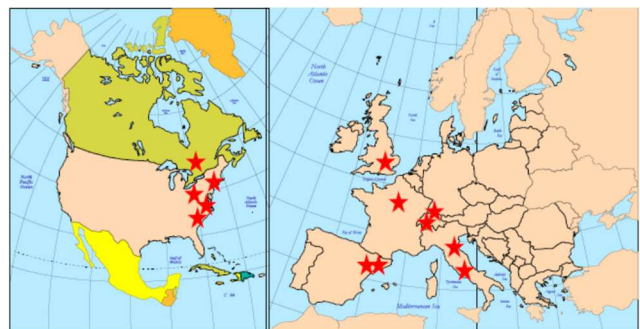
□ projektna skupina znotraj Translation Research and Precision Medicine Working Group

□ Enoten okvir za klasifikacijo molekularnih tarč glede na dokaze za klinično uporabnost

□ Enoten jezik za zdravnike in odločevalce za zdravlila

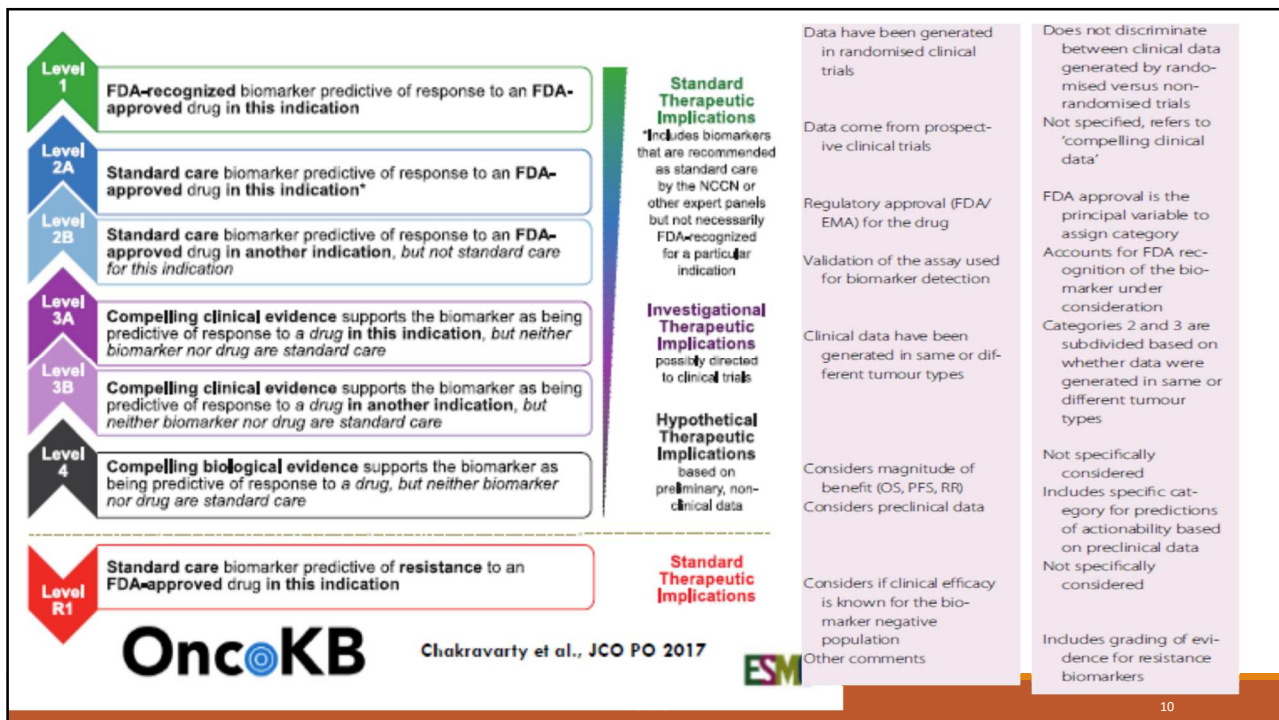
□ Dinamičnost razvrščanja:

- Ko bodo novi rezultati kliničnih raziskav, se bodo tarče premikale iz enega nivoja v drugega
- Tarče bodo pri različnih rakih na različnem nivoju (glede na klinični pomen)



DIO 2020

9



10

ESCAT: ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets

- **6 stopenj (ESCAT tiers)** dokaza klinične učinkovitosti molekularne tarče: glede na pomen za zdravljenje bolnikov

Clinical utility class

- ESCAT Tier 1: tarče so primerne za rutinsko uporabo v klinični praksi, priporoča se specifično zdravlilo, če se zazna specifična molekularna sprememba
- ESCAT Tier 2: tarča v raziskavah v populaciji bolnikov z verjetno koristjo od tarčne terapije; potrebni so dodatni podatki
- ESCAT Tier 3: klinična korist je bila predhodno dokazana pri drugem tipu raka ali za sorodne tarče
- ESCAT Tier 4: predklinični dokazi za delovanje ('actionability')
- ESCAT Tier 5: dokazi o relevantni antitumorski aktivnosti, vendar brez klinično pomembnega benefita v samostojnem zdravljenju, vendar možen razvoj kot ko-tarčni pristop
- ESCAT Tier 6: ni dokaza za delovanje ('no actionability')

DIO 2020

11



Annals of Oncology 29: 1895–1902, 2018
doi:10.1093/annonc/mdy263
Published online 21 August 2018

SPECIAL ARTICLE

A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT)

J. Mateo¹, D. Chakravarty², R. Dienstmann¹, S. Jezdic³, A. Gonzalez-Perez⁴, N. Lopez-Bigas^{4,5}, C. K. Y. Ng⁶, P. L. Bedard⁷, G. Tortora^{8,9}, J.-Y. Douillard³, E. M. Van Allen¹⁰, N. Schultz², C. Swanton¹¹, F. André^{12*} & L. Pusztai¹³

DIO 2020

12

	ESCAT tier	Potrebna stopnja dokaza	Klinični pomen razreda	Klinična implikacija
Primerno za rutinsko klinično uporabo	Tier/stopnja 1: <input type="checkbox"/> Ujemanje molekularne spremembe in zdravila <input type="checkbox"/> je povezano z izboljšanjem izida v klinični raziskavi	I-A: prospektivna randomizirana raziskava: specifični tip tumorja, klinično pomembno izboljšanje izida - PREŽIVETJA I-B: prospektivna, nerandomizirana raziskava, dokaz: klinično pomemben benefit glede na ESMO MBCS 1.1. v biomarker-selekcijirani populaciji I-C: klinične raziskave pri različnih tumorjih ali 'basket' raziskavah, podoben benefit je bil pri različnih tumorjih	Izboljšanje klinični izid v prospektivni raziskavi	Dostopnost zdravila mora biti standard zdravljenja

ESMO MBCS evaluation

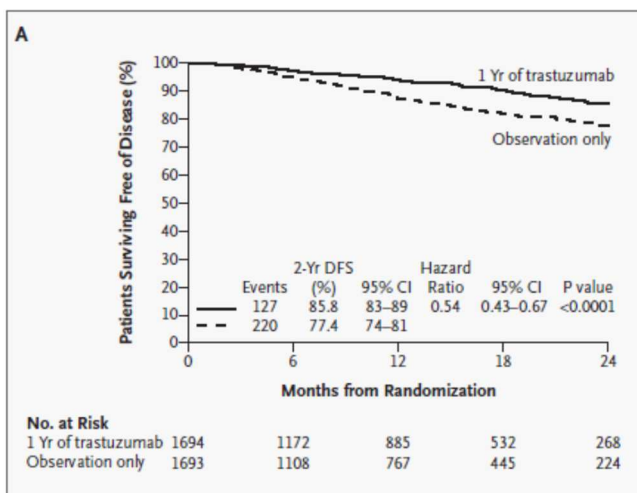
Curative-Evaluation form 1: for new approaches to adjuvant therapy or new potentially curative therapies

Non-curative-Evaluation forms 2a, b or c: for therapies that are not likely to be curative

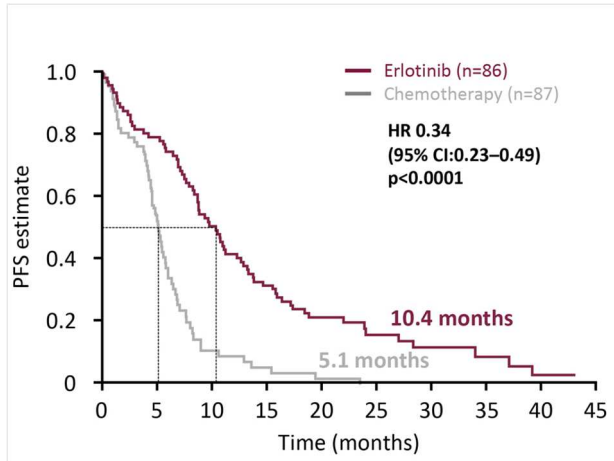
Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer

N Engl J Med 2005;353:1659-72.

Tier IA



Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial
 Dr Rafael Rosell et al., 2012. DOI:https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70393-X

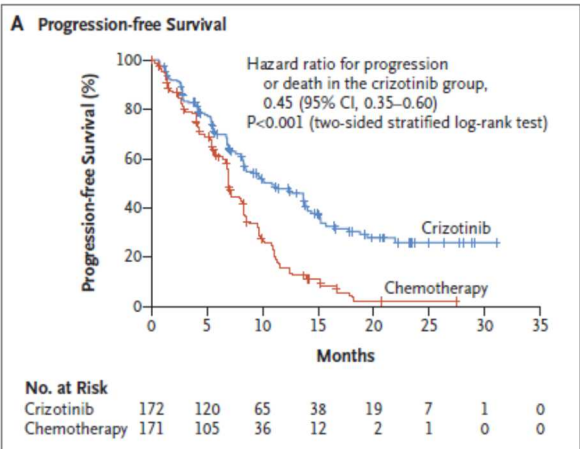


Tier IA

First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer

Benjamin J. Solomon, M.B., B.S., Ph.D., Tony Mok, M.D.,

Tier IA



Open-Label, Multicenter, Phase II Study of Ceritinib in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring ROS1 Rearrangement

Sun Min Lim, Hye Ryun Kim, Jong-Seok Lee, Ki Hyeon Lee, Yun-Gyoo Lee, Young Joo Min, Eun Kyung Cho, Sung Sook Lee, Bong-Seog Kim, Moon Young Choi, Hyo Sup Shim, Jin-Haeng Chung, Yoon La Choi, Min Jeong Lee, Maria Kim, Joo-Hang Kim, Siraj M. Ali, Myung-Ju Ahn, and Byoung Chul Cho

Best Response	All Patients, No. (%)	Crizotinib-Naïve Patients, No. (%)
No. of patients	32	30
CR	1 (3)	1 (3)
PR	19 (59)	19 (63)
SD	6 (19)	6 (20)
PD	2 (6)	2 (7)
Not evaluable*	4 (12)	2 (7)
ORR, % (95% CI)	62 (45 to 77)	67 (48 to 81)
DCR (CR + PR + SD), % (95% CI)	81 (65 to 91)	87 (70 to 95)

Abbreviations: CR, complete response; DCR, disease control rate; ORR, overall response rate; PD, progressive disease; PR, partial response; SD, stable disease. *As a result of early death (n = 3) or withdrawal (n = 1) before first response evaluation.

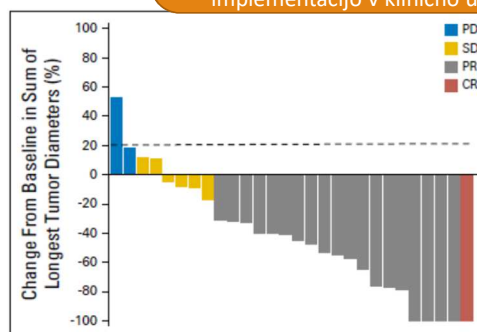


Fig 1. Best percentage change from baseline in tumor volume in patients with at least one postbaseline measurement. CR, complete response; PD, progressive disease; PR, partial response; SD, stable disease.

ROS1 rearrangement: 1-2% NSCLC
Tier IB: ROS1 rearrangement in NSCLC: eligibility for crizotinib or ceritinib therapy

Crizotinib in ceritinib inhibirata ALK, ki se je izkazal za tier IA tarčo pri NSCLC. Glede na redkost ROS1 velika randomiz. študija ne bi bila izvedljiva v doglednem času, zato je velik klinični benefit dovolj za implementacijo v klinično uporabo.

klasifikacija v ESCAT tier IC: klinične raziskave pri multiplih tumorjih ali 'basket' raziskavah, podoben benefit je bil pri različnih tumorjih

NTRK

- NTRK ima višjo prevalenco pri zelo redkih rakah
- Faze III raziskave ne bodo nikoli izvedene
- Pri običajnih pogostih rakah je nizka prevalenca NTRK fuzije
- Pri basket študijah je bil vidna podobna dobrobit pri različnih vrstah tumorjev
- Trajanje odgovora je dolgo
- (v nerandomiziranih raziskavah je težko evaluirati OS)

MMR deficient cancers

- Anti-PD-L1 terapija s pembrolizumabom je bila učinkovita ne glede na histološki tip
- agnostična indikacija

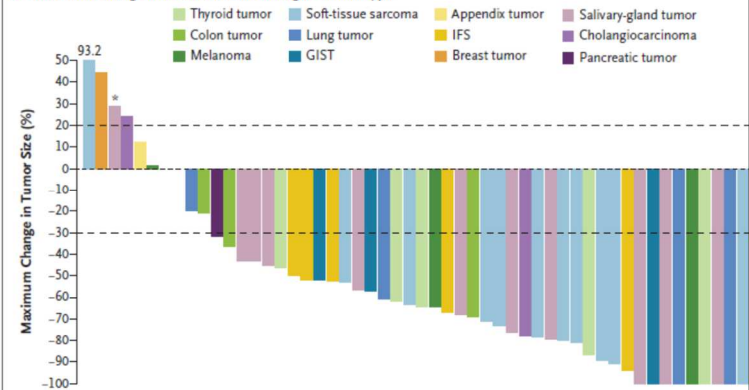
Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children

A. Drilon, T.W. Laetsch, S. Kummar, S.G. DuBois, U.N. Lassen, G.D. Demetri,

Table 2. Overall Response Rate, According to Investigator and Central Assessment.*

Response	Investigator Assessment (N=55)	Central Assessment (N=55)
	percent	
Overall response rate (95% CI) †	80 (67–90)	75 (61–85)
Best response		
Partial response	64 ‡	62
Complete response	16	13
Stable disease	9	13
Progressive disease	11	9
Could not be evaluated	0	4

A Maximum Change in Tumor Size, According to Tumor Type

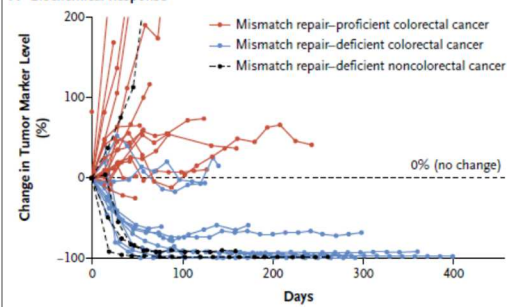


N Engl J Med 2018;378:731-9.

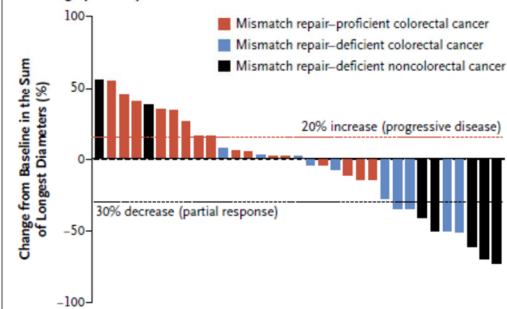
DIO 2020

19

A Biochemical Response



B Radiographic Response

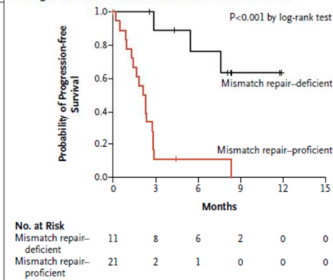


PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency

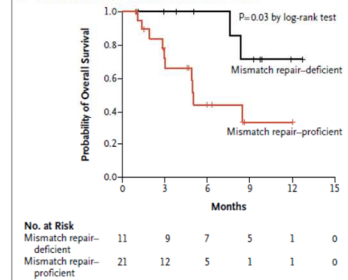
D.T. Le, J.N. Uram, H. Wang, B.R. Bartlett, H. Kemberling, A.D. Eyring,

Mismatch Repair-Deficient Colorectal Cancer (N=11) Mismatch Repair-Proficient Colorectal Cancer (N=21) Mismatch Repair-Deficient Noncolorectal Cancer (N=9)

A Progression-free Survival in Cohorts with Colorectal Cancer



B Overall Survival in Cohorts with Colorectal Cancer



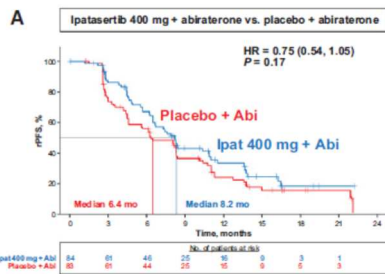
DIO 2020

20

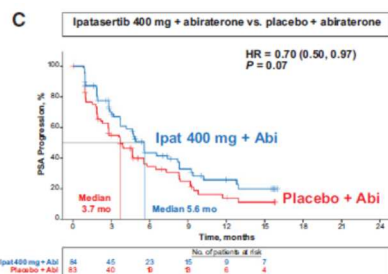
	ESCAT tier	Potrebna stopnja dokaza	Klinični pomen razreda	Klinična implikacija
Raziskovalno zdravilo	Tier/stopnja II tarča -zdravilo <input type="checkbox"/> JE POVEZANA z antitumorskim učinkom <input type="checkbox"/> stopnja dobrobiti (benefita) ni znana	II-A: retrospektivne raziskave s specifično alteracijo pri specifičnem tumorju: klinično pomemben benefit z zdravilom glede na tiste brez alteracije II-B: prospektivne klinične raziskave pri specifičnem tumorju: POVEČAN ODGOVOR , ni pa še podatka o PREŽIVETJU	Zdravilo aplicirano v populaciji z molekularno pomankljivostjo verjetno izboljša klinični izid pri določenem tumorju. Potrebni so dodatni podatki.	Priporoča se zdravljenje in spremljanje učinkovitosti v okviru <input type="checkbox"/> prospektivnega kliničnega registra ali <input type="checkbox"/> prospektivne klinične raziskave

Randomized Phase II Study Evaluating Akt Blockade with Ipatasertib, in Combination with Abiraterone, in Patients with Metastatic Prostate Cancer with and without PTEN Loss

Johann S. de Boer¹, Ugo De Giorgi², Daniel Nava Rodrigues¹, Christophe Massard³,



40% napred. rakov prostate:
PTEN loss



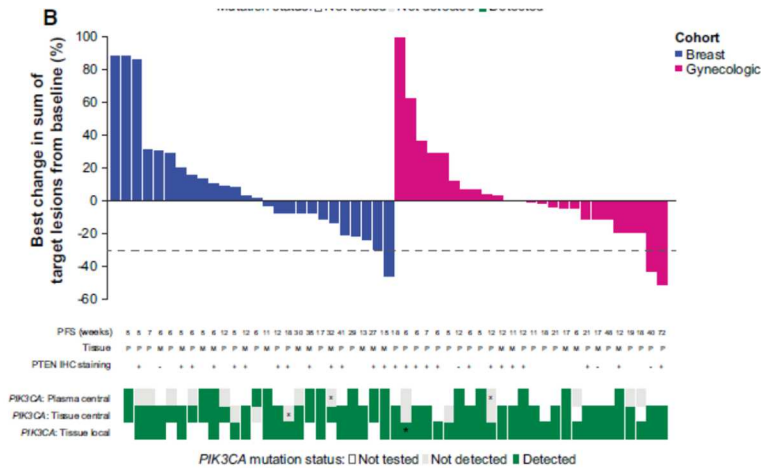
Splošna populacija: ni podaljšan PFS:
Retrospekt. analiza pa pokaže značilno zmanjšanje rizika radiološkega progressa pri PTEN loss populaciji

Tier II A

Poteka prospektivna faza III raziskava; če+: Tier I

A Phase I Open-Label Study to Identify a Dosing Regimen of the Pan-AKT Inhibitor AZD5363 for Evaluation in Solid Tumors and in *PIK3CA*-Mutated Breast and Gynecologic Cancers

Tier IIB



Potrebne nadaljnje raziskave, ali povečan RR pomeni daljše preživetje

Clin Cancer Res; 24(9); 2050-9. ©2017 AACR.

DIO 2020

23

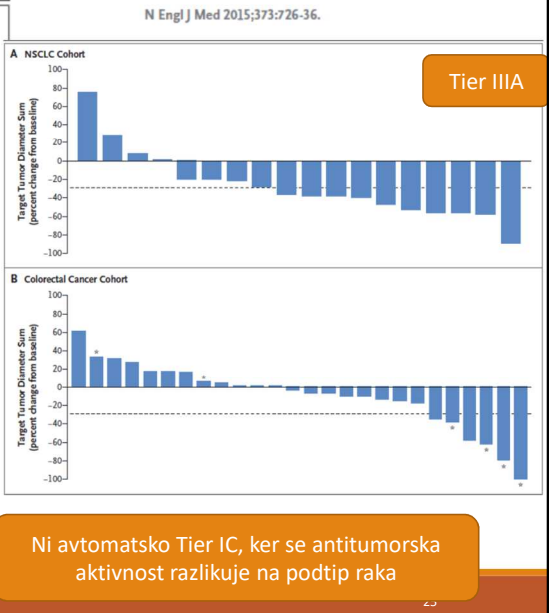
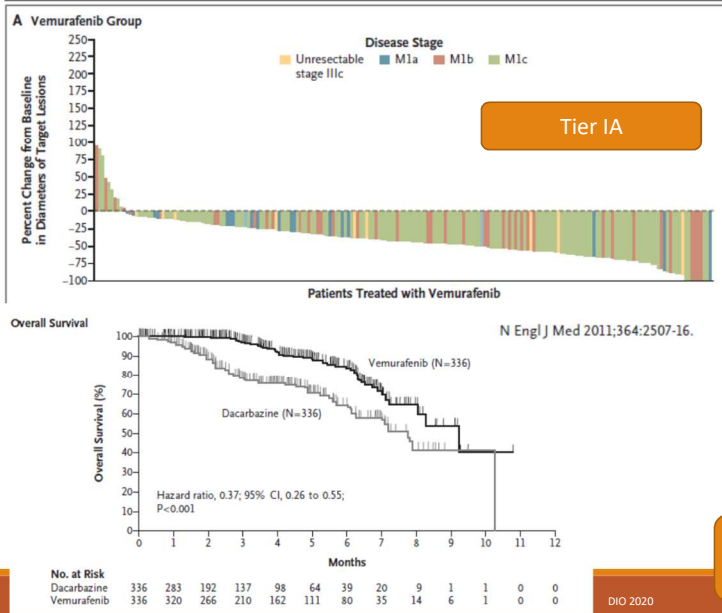
	ESCAT tier	Potrebna stopnja dokaza	Klinični pomen razreda	Klinična implikacija
Hipotetična tarča	Tier /stopnja III tarča -zdravilo <input type="checkbox"/> je DOMNEVNO POVEZANA z antitumorskim učinkom <input type="checkbox"/> DOMNEVA TEMELJ na o raziskavah na <u>drugih tumorjih ali</u> o na <u>podobni molekularni tarči</u> (PALB2 loss: PARP inh/BRCA1/2)	III-A: klinična dobrobit je bila pokazana v Tier I in Tier II, vendar <u>pri drugem tumorju</u> . Doslej <u>malo/nič dokazov</u> za bolnikov specifičen rak ali različne rake III-B: alteracija je podobno napovedovala funkcionalni pomen, kar je bilo dokazano v Tier I <u>pri istem genu ali signalni poti</u> , vendar nima pritrilnih kliničnih podatkov	Zdravilo je pokazalo dobrobit pri molekularno definiranim podtipu drugega tumorja, ali z drugo mutacijo v istem genu Učinkovitost je pričakovana, vendar ni dokazana	Priporoča se pogovor z bolnikom o <input type="checkbox"/> Vključitvi v raziskavo

DIO 2020

24

Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation

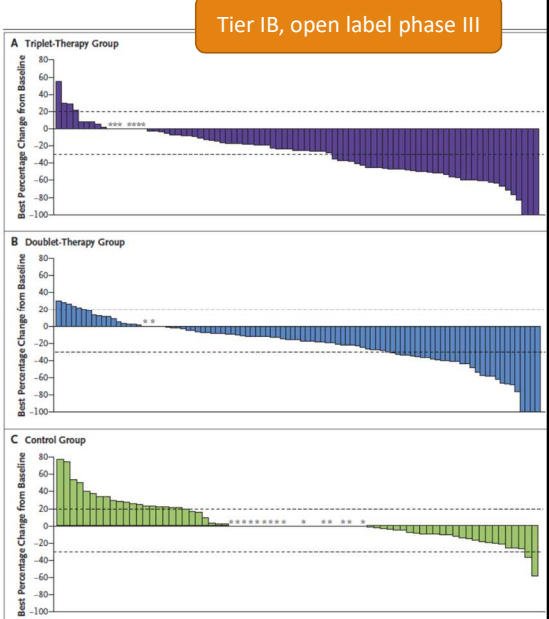
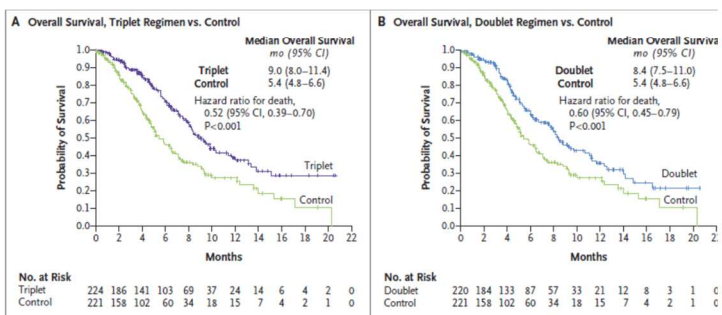
Vemurafenib in Multiple Nonmelanoma Cancers with BRAF V600 Mutations



DIO 2020

Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab in BRAF V600E-Mutated Colorectal Cancer

S. Kopetz, A. Grothey, R. Yaeger, E. Van Cutsem, J. Desai, T. Yoshino, H. Wasan,



DIO 2020

26

	ESCAT tier	Potrebna stopnja dokaza	Klinični pomen razreda	Klinična implikacija
Hipotetična tarča	Tier IV <input type="checkbox"/> Predklinični dokaz delovanja	IV A: molekularna sprememba ali funkcionalno podobna sprememba vpliva na senzitivnost za zdravilo <input type="checkbox"/> Dokazi in vitro (v epruveti) in <input type="checkbox"/> in vivo (živ organizem) IV B: delovanje predvideno <input type="checkbox"/> in silico (virtualno računalniško v silicijevem čipu)	<input type="checkbox"/> Na učinkovanje se sklepa iz predkliničnih raziskav <input type="checkbox"/> Ni konkluzivnih kliničnih raziskav	<input type="checkbox"/> Zdravljenje ev. le v okviru zgodnjih kliničnih raziskav (faza I) <input type="checkbox"/> Seznaniti bolnika o tem, da ni kliničnih podatkov
Razvoj kombinacije	Tier V <input type="checkbox"/> So dokazi o relevantni antitumorski aktivnosti <input type="checkbox"/> brez klinično pomembnega benefita v samostojnem zdravljenju	Prospektivne raziskave so pokazale objektivni ODGOVOR, ni pa izboljšane IZIDA ZDRAVLJENJA	<input type="checkbox"/> Zdravilo je aktivno, vendar ne podaljša PFS ali OS <input type="checkbox"/> Mehanizem adaptacije?	<input type="checkbox"/> ev. zdravljenje v okviru klinične raziskave s kombinacijo zdravil
Razvoj kombinacije	Tier X Ni dokaza o učinkovanju	Ni dokaza, da je genomska sprememba pomembna za terapevtsko učinkovitost	Ni predkliničnih ali kliničnih dokazov, da je genomska alteracija sploh potencialna terapevtska tarča	Najdba naj se ne upošteva pri kliničnih odločitvah

IN silico: virtualno iskanje novih zdravil, pri katerem iz računalniške baze podatkov o geometriji in fizikalnokemijskih lastnosti velike množice spojin iščemo spojino, ki se dobro prilega računalniškemu modelu ciljanega celičnega proteina.

AACR Project GENIE is a publicly accessible international cancer registry of real-world data assembled through data sharing between 19 of the leading cancer centers in the world.

Recent Progress: Continued Expansion

PROSTO DOSTOPNO PREKO POTRALA:

www.cbioportal.org/genie/

<https://blog.aacr.org/wp-content/uploads/2018/08/GENIE-map.jpg> https://cancerdiscovery.aacrjournals.org/content/candisc/7/8/818/F1_medium.gif

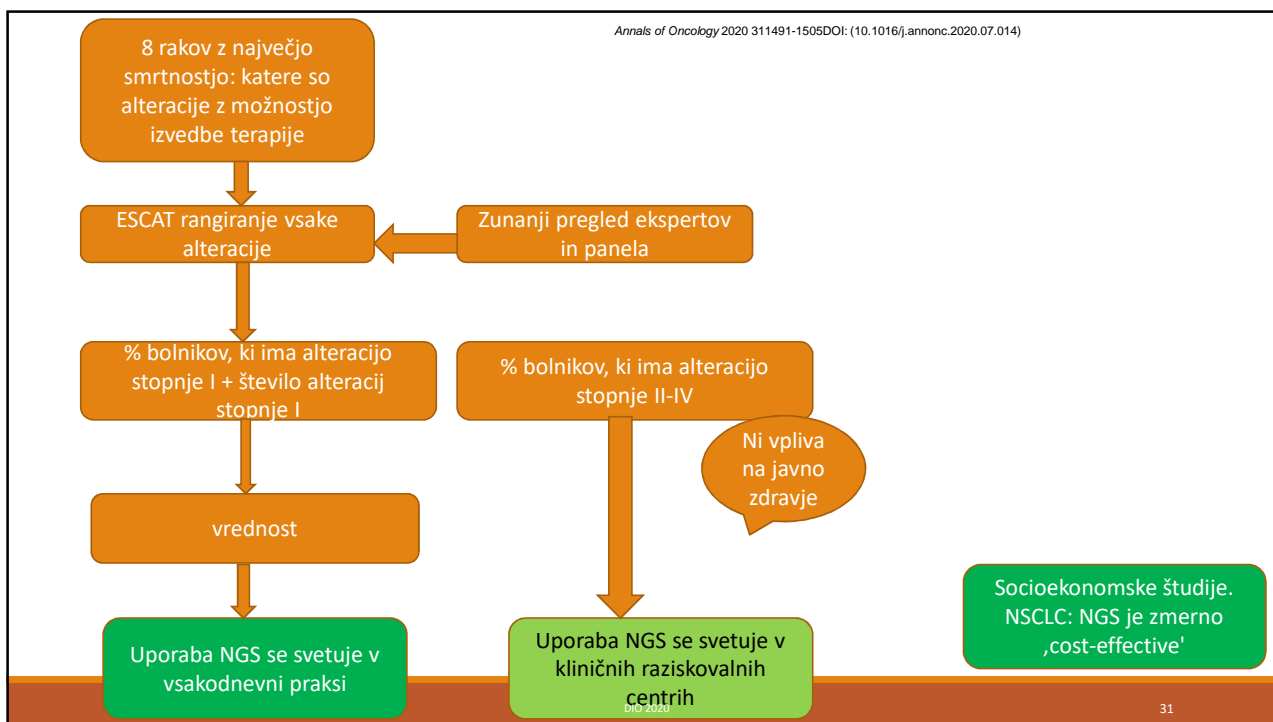
REVIEW ARTICLE

Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group

F. Mosele¹, J. Remon², J. Mateo³, C. B. Westphalen⁴, F. Barlesi¹, M. P. Lolkema⁵, N. Normanno⁶, A. Scarpa⁷, M. Robson⁸, F. Meric-Bernstam⁹, N. Wagle¹⁰, A. Stenzinger¹¹, J. Bonastre^{12,13}, A. Bayle^{1,12,13}, S. Michiels^{12,13}, I. Bièche¹⁴, E. Rouleau¹⁵, S. Jezdic¹⁶, J-Y. Douillard¹⁶, J. S. Reis-Filho¹⁷, R. Dienstmann¹⁸ & F. Andre^{1,19,20*}

ESMO Precision Medicine Working Group

- Klinična uporabnost NGS
 - Študije so pokazale, da NGS dobro detektira dominantne klonalne alteracije
 - Tehnologija multigeneskega testiranja je razvita in široko implementirana
 - Ni priporočil s strani znanstvenih združenj glede implementacije v dnevno klinično prakso
- Zastavili so si 2 vprašanji
 - Ali naj se NGS uporabljajo v vsakodnevni praksi?
 - Če da, kateri paneli genov?
- Upoštevati je treba 3 vidike:
 - Vidik javnega zdravja
 - Vidik akademskih raziskovalnih centrov
 - Vidik posameznega bolnika



Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije za napredovali neskvamozni nedrobnocelični rak pljuč (NSCLC)

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja/zdr
EGFR	Običajne mutacije (del19, L858R)	15% (Aziji 50-60%)	IA/TKI
	Pridobljena T790M v eksonu 20	60% EGFR mutiranih	IA
	Neobičajne EGFR mutacije (G719X v eksonu 18, L861Q v eksonu 21, S768I v eksonu 20)	NSCLC 10%	IB/afatinib, osime poziotinib
	Insercije eksona 20	2%	IIB
ALK	Fuzija (mutacije kot mehanizem rezistence)	5%	IA ALK inhibitorji
MET	Mutacija eksona 14 (skipping)	3%	IB/MET-TKI krizoti tepotinib...
	Fokalna amplifikacija (pridobljena rezistenca na EGFR TKI pri EGFR mutantnih tumorjih)	3%	IIB
BRAF ^{V600E}	Mutacija	2%	IB/dabrafenib-ver
ROS1	Fuzija (mutacija kot mehanizem rezistence)	1-2%	IB/krizotinib, cerit enterctinib
NTRK	Fuzija	0,23-3%	IC/larotrektnib, e
RET	Fuzija	1-2%	IC/LOXO-292
KRAS ^{G12C}	Mutacije	12%	IIB
ERBB2	Amplifikacije, ,hotspot' mutacije	2-5%	IIB
BRCA1/2	Mutacije	1,2%	IIIA
PIK3CA	,Hotspot' mutacije	1,2-7%	IIIA
NRG1	Fuzija	1,7%	IIIB

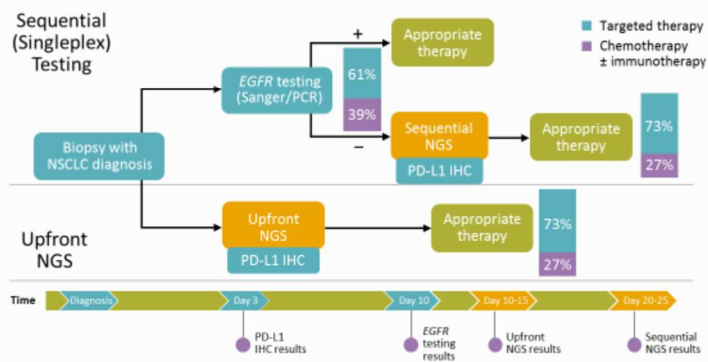
ESMO: NGS se lahko rutinsko uporablja, če ni bistvenih dodatnih stroškov v primerjavi z manjšimi paneli

DIO 2020

Number to test to get benefit: 6-7 (15% benefit)

Molecular testing

• NGS frontline



Tan AC, et al. Lung Cancer. 2020;139:207-215

Actionable alterations

Alteration	Sequential (%)	Upfront NGS (%)
EGFR	65	64
EGFR+ALK	1	2
ALK	3	3
ROS1	1	1
BRAF	1	1
RET	2	2
PD-L1 ≥50%	10	9
PD-L1 1-49%	10	11
Wildtype	7	7
Cost per patient	\$1469	\$1579

Key considerations

- Assay costs
- Tissue attrition
- Repeat biopsies
- Turnaround time
- Assay logistics

DIO 2020

33

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije za napredovali rak prostate

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
BRCA1/2	Somatske mutacije/delecije	9%	IA/PARP inhibitorji
	MSI-H	1%	IC/pembrolizumab
PTEN	Delecije, mutacije	40%	IIA/AKT inhibitorji ipatasertib
ATM	Delecije, mutacije	5%	IIA
PALB2	Mutacije	1%	IIB
PIK3CA	„Hotspot“ mutacije	3%	IIIA
AKT1 ^{E17K}	Mutacije	1%	IIIA

ESMO: NGS se lahko rutinsko uporablja, če ni bistvenih dodatnih stroškov v primerjavi z manjšimi paneli

DIO 2020

34

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za napredovali holangiokarcinom

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
IDH1	Mutacije	20%	IA/ivosidenib
FGFR2	Fuzije	15%	IB/pemigatinib
	MSI-H	2%	IC/pembrolizumab
NTRK	Fuzije	2%	IC/ entrektinib, larotrektnib
BRAF ^{V600E}	Mutacije	5%	IIB
ERBB2	Amplifikacije	10%	IIIA
	Mutacije	2%	
PIK3CA	„Hotspot“ mutacije	7%	IIIA
BRCA1/2	Mutacije	3%	IIIA
MET	Amplifikacije	2%	IIIA

ESMO: NGS se lahko rutinsko uporablja, če ni bistvenih dodatnih stroškov v primerjavi z manjšimi paneli

Napredovali ca. ovarijska
BRCA 1/2 mutacija

Origo ignota?

ESMO: NGS se lahko rutinsko uporablja, če ni bistvenih dodatnih stroškov v primerjavi z manjšimi paneli

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za kolorektalni rak

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
KRAS	Mutacija (merker rezistence)	44%	NA
NRAS		4%	
BRAF ^{V600E}	Mutacije	8,5%	IA/enkorafenib
	MSI-H	4-5%	IA/pembrolizumab
NTRK1	Fuzije	0,5%	IC/entrektinib larotrektinib
ERBB2	Amplifikacije	2%	IIB
PIK3CA	Hotspot mutacije	17%	IIIA
ATM	Mutacije	5%	IIIA
MET	Amplifikacije	1,7%	IIIA
AKT1 ^{E17K}	Mutacije	1%	IIIA
	TMB-hihg in MSS	1%	IIIA
RET	Fuzije	0,3%	IIIA
ALK	Fuzije	0,2%	IIIA

ESMO ne priporoča
rutinsko uporabo NGS, lahko pa je alternativa PCR
testom, če ne predstavlja dodatnih stroškov glede
na rutino

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za metastatski rak dojke

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
ERBB2	Amplifikacija Hotspot mutacije	15-20% 4%	IA/antiHER2 th. IIB/neratinib
PIK3CA	Hotspot mutacije	30-40%	IA/alpelisib
BRCA1/2	Zarodne mutacije Somatske mutacije	4% 3%	IA/PARP inhibitorji IIIA
	MSI-H	1%	IC/pembrolizumab
NTRK	Fuzije	1%	IC/entrektinib, larotektinib
ESR1	Mutacije (mehanizem rezistence)	10%	IIA
PTEN	Mutacije	7%	IIA
AKT1 ^{E17K}	Mutacije	5%	IIB
NF1	Mutacije (biomarker rezistence)	6%	NA
MDM2	Amplifikacije	1%	IIIA
ERBB3	Mutacije	2%	IIB

ESMO ne priporoča
rutinsko uporabo NGS!

Number to test to get benefit: 20 (5% benefit)
Number to test to get drug access: 2 (50% benefit)

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za napredovali skvamozni nedrobnocelični rak pljuč (NSCLC)

Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
NTRK	Fuzije	0,23-3%	IC
PIK3CA	„Hotspot“ mutacije	16%	IIIA
BRCA 1/2	Mutacije	1,2%	IIIA

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za rak želodca

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za rak pankreasa

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije
za HCC

ESMO ne priporoča
rutinsko uporabo NGS!

Primer bolnice, rak dojke

Izvid testiranja zarodnih mutacij

Spot: ženski moški

Datum prejema napotnice: 26.07.2018
Napotni zdravnik: doc. dr. sc., B Mateja Krajc, dr. med., spec. klin. gen. in jav. zdr.
Diagnoza: rak dojke
Razlog napotitve: osebnostna anamneza za sindrom dednega raka dojke in/ali jajčnikov

Laboratorijska št. vzorca: 1250/18
Prejeto iz: Oddelek za laboratorijsko dejavnost OIL
Datum odvzema vzorca: 25.07.2018
Datum prejema vzorca: 25.07.2018
Vrsta vzorca: kri

Rezultati:



Klinično pomembna različica ni dokazana.

»Klinično pomembna različica« je definirana kot genetska sprememba, ki je povezana s povečano omejenostjo za nastanek raka.

Obrazložitev:

V preiskovanih genih so lahko prisotne genske spremembe, ki jih zaradi omejitve uporabljenih metod ni možno zaznati (glej stran 2). Klinično pomembne različice so lahko prisotne tudi v drugih genih, ki niso bili preiskovani.

Izvid testiranja somatskih mutacij

Diagnoza: maligna neoplazma dojke
Razlog napotitve: uvedba zdravljenja

Datum prejema vzorca: 05.10.2020
Vrsta vzorca: parafinski blok
Vzorec odvzet iz: zasebka
Številka biopsije: 7947/20 (O15171/20)
Prisotnost tumorskih celic: 50 % v testiranem vzorcu

Pri analizi smo uporabili sledeče metode:
Estrahiranje nukleinskih kislin: MAGMAX FFPE RNA/DNA ULTRA KIT (Thermo Fisher)
Sekvenciranje NGS: TruSight Oncology 500 DNA kit (Illumina), TSO500-DNA
TruSight Tumor 170 Kit (Illumina), TST170-RNA

Rezultati:

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE

Gen/Fuzija	Rezultat	Razlog	Učinkovitost	PKI/gospod odgovor
NTRK1	fuzija ni dokazana		zaviralci NTRK	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje
NTRK2	fuzija ni dokazana		zaviralci NTRK	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje
NTRK3	fuzija ni dokazana		zaviralci NTRK	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje
Bolniki brez dokazane fuzije v genih NTRK1, NTRK2 ali NTRK3 verjetno ne odgovorijo na zdravljenje z zaviralci NTRK.				
BRCA1	nemutiran		zaviralci PARP	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje
BRCA2	nemutiran		zaviralci PARP	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje
PIK3CA	nemutiran		zaviralci fosfatidil inozitol 3-kinaze	neobčutljiv - verjetno ne odgovori zdravljenje

Bolniki z napredovalim ali metastatskim HR+, HER2- rakom dojke, ki nimajo prisotne klinično pomembne različice (mutacije) v genu PIK3CA, niso primerni za zdravljenje z zaviralci fosfatidil inozitol 3-kinaze.

Z genotipizacijo DNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.
Z genotipizacijo RNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.

Z genotipizacijo DNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.
Z genotipizacijo RNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.

DRUGE NAJDBE

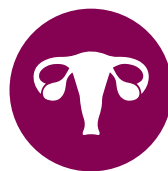
Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	AF(%)
TP53	različica razreda II	c.394A>C p.(Lys132Gln)	50.3
Različice razreda II so različice z možnim kliničnim pomenom. Različica razreda II c.394A>C p.(Lys132Gln) v genu TP53 povzroči zamenjavo aminokisliline ter posledično nastanek okrnjenega ali spremenjenega proteina. V tumorju detektirane patogene ali verjetno patogene različice v genu TP53 so pogosto somatskega izvora. Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih od zarodnih različic. Zarodne patogene različice v genu TP53 so povezane s sindromom Li-Fraumeni. V primeru, da klinična slika ustreza sindromu Li-Fraumeni, je pacienta priporočljivo napotiti na posvet s specialistom klinične genetike.			
ERBB3	različica razreda III	c.1008_1010delinsCCA p.(Gly337Gln)	32.36
ERG	različica razreda III	c.400G>C p.(Val134Leu)	20.91
FGFR4	različica razreda III	c.1463G>C p.(Gly488Ala)	50.48
GRIN2A	različica razreda III	c.390delC p.(Ala131Hisfs*3)	15.54
MAPK1	različica razreda III	c.1040T>A p.(Ile347Asn)	16558
MDC1	različica razreda III	c.1263G>C p.Glu421Asp	47.33
NAB2	različica razreda III	c.499G>C p.(Gly167Arg)	16.64
NCOR1	različica razreda III	c.4372G>A p.(Val1458Ile)	24.35
NRAS	različica razreda III	c.317C>G p.(Ser106Trp)	32.57
RECQL4	različica razreda III	c.2082C>T p.?	29.37
ROS1	različica razreda III	c.1954A>C p.(Ser652Arg)	28157
CCNE1	različica razreda III	pomnožen	
FGF2	različica razreda III	pomnožen	

Lista genomskih alteracij glede na ESCAT stadije za metastatski rak dojke			
Gen	Sprememba	Prevalenca	ESCAT stopnja
ERBB2	Amplifikacija	15-20%	IA/antiHER2 th.
	Hotspot mutacije	4%	IIB/neratinib
PIK3CA	Hotspot mutacije	30-40%	IA/alpelisib
BRCA1/2	Zarodne mutacije	4%	IA/PARP inhibitorji
	Somatske mutacije	3%	IIIA
	MSI-H	1%	IC/pembrolizumab
NRTK	Fuzije	1%	IC/entrectinib, larotektinib
ESR1	Mutacije (mehanizem rezistence)	10%	IIA
PTEN	Mutacije	7%	IIA
AKT1 ^{E17K}	Mutacije	5%	IIB
NF1	Mutacije (biomarker rezistence)	6%	NA
MDM2	Amplifikacije	1%	IIIA
ERBB3	Mutacije	2%	IIIB

Zaključki

- ❑ ESCAT predstavlja harmoniziran sistem za poročanje klinično pomembnih genomskih najdb: gre za **klinične 'evidence-based' kriterije za izbiro tarčne terapije na osnovi genomskih nepravilnosti raka**
- ❑ Namen: olajšati interpretacijo NGS poročila zdravnikom in bolnikom (izboljšanje obravnave, pričakovani bolnika in zdravnika, olajša komunikacijo)
- ❑ Korak naprej pri implementaciji *precision medicine* v rutinsko klinično obravnavo
- ❑ Potrebna bo dinamična podatkovna baza, kjer bodo sproti inkorporirani prihajajoči podatki
- ❑ ESMO: Klinični raziskovalni centri naj bolnike, ki imajo z NGS izvide, vključujejo v klinične raziskave in prospektivno zbirajo podatke za čimbolj optimalno uporabo informacij, pridobljenih z NGS

KORAK NAPREJ pri zdravljenju onkoloških bolnikov.





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Primer bolnika z razsejanim adenokarcinomom pljuč z ALK prerazporeditvijo

Aleksandra Sokolova

Mentorica: mag. Mojca Unk, dr. med.

20. 11. 2020, Onkološki inštitut Ljubljana

Prvi pregled na OI, februar 2018: moški, star 37 let

ANAMNEZA

Družinska anamneza: oče rak mehurja

Dosedanje bolezni: epilepsija od otroštva, na antiepileptični terapiji (Depakine chrono 500 mg/dan), brez napadov

Nekadilec

Simptomi:

- 3 mesece suh kašelj
- 14 dni tiščoča bolečina v epigastriju in tiščanje okoli pasu
- brez nevrološke simptomatike

KLINIČNI PREGLED

PS po WHO 1, brez pomembnih odstopanj od normale

LABORATORIJSKI IZVIDI

CRP 15, ostalo v mejah normale.



Diagnostika, januar 2018

⊕ CT PRSNEGA KOŠA

- **3x6 cm tumor v DSpR**, ki zožuje bronh za DSpR
- patološka **subkarinalna bezgavka** (1.3 cm)
- **zasevki v pljučih**
- **limfangiokarcinomatosa pljuč**
- obojestransko manjši plevralni izliv (do 1 cm)

⊕ CT TREBUHA

- **patološke trebušne bezgavke** (ob porti hepatis, aortokavalno, paraaortalno, v mezenteriju)
- **zasevek v desni nadledvičnici** (3 cm)

⊕ CT GLAVE

Številni **zasevki v možganih**, največji 17 mm

🔍 BRONHOSKOPIJA

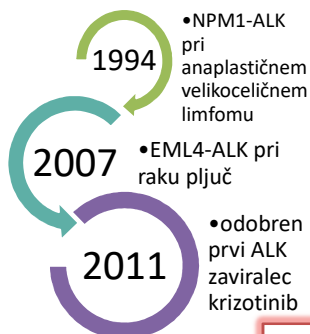
Za tumor suspektno spremenjena sluznica v zaprtem bronhu za DB7, poudarjen kapilarni pletež obojestransko

📄 Histopatološki izvid biopsije bronha: **adenokarcinom, ALK pozitiven (IHC)**



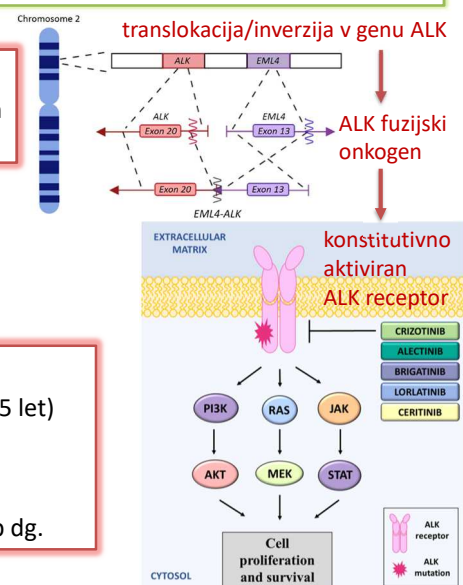
Rak pljuč z ALK prerazporeditvijo

ALK = anaplastična limfomska kinaza – transmembranski receptor iz skupine tirozinskih kinaz



3-7%
neploščatoceličnih
NDRP

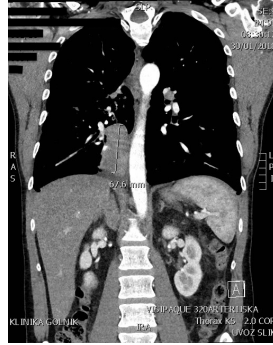
adenokarcinom
mlajši (srednja starost 55 let)
nekadilci (70%)
razsejana bolezen
30-40% **zasevki v CŽS** ob dg.



Sánchez-Herrero et al. Advances in Laboratory Medicine 2020; Seebacher et al. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2019; Golding et al. Molecular Cancer 2018; Chia et al. Clinical Epidemiology 2014

Prvi pregled na OI, februar 2018: moški, star 37 let

primarno metastatski ALK
pozitiven adenokarcinom
pljuč
6 cm tu v DSPr
subkarinalne bezgavke
zasevki:
- pljuča,
- limfangiokarcinomatosa pljuč,
- trebušne bezgavke,
- desna nadledvičnica,
- ČŠ.
Inicialni stadij: cT3N2M1c

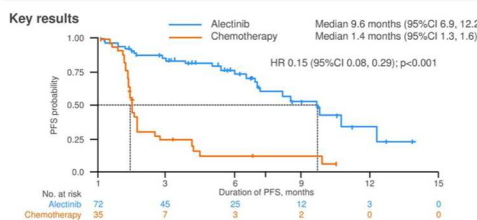


Zdravljenje?

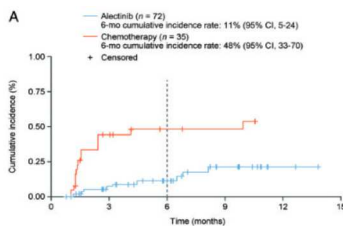
ALEKTINIB

Dobra učinkovitost
alektiniba v ČŠ.

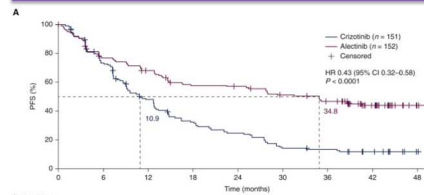
ALUR: **alektinib** vs KT (docetaksel ali
pemetreksed) v **3. liniji** po krizotinibu in KT



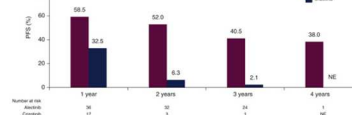
Pojavnost
zasevkov v
ČŠ



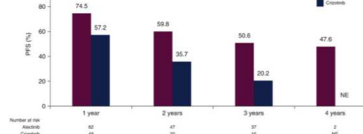
ALEX: **alektinib** vs krizotinib v **1. liniji**



Bolniki z zasevki v ČŠ



Bolniki brez zasevkov v ČŠ



Novello et al. Ann Oncol 2018; T. Mok et al. Ann Oncol 2021

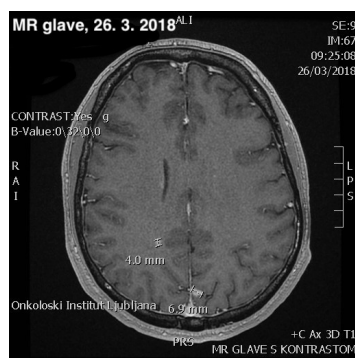
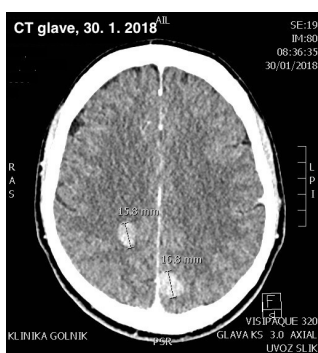
I. red zdravljenja: ALEKTINIB

📅 Redni pregled 2 tedna po uvedbi alektiniba:

izboljšanje - manj kašlja, brez bolečin, boljši apetit; PS 0

📅 MR glave 6 tednov po uvedbi alektiniba:

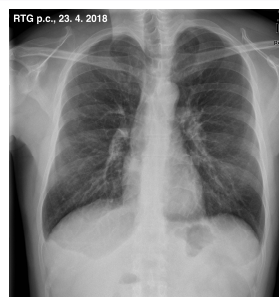
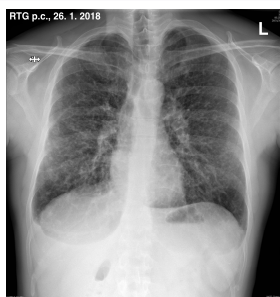
Delni regres (le še 2 zasevka v možganih: 16 → 4 mm, 17 → 7 mm)



I. red zdravljenja: ALEKTINIB

📅 RTG p.c. 3 mesece po uvedbi alektiniba:

regres (zmanjšanje tumorja in zasevkov po pljučih, (ni več) regres limfangiokarcinomatose)



📅 UZ trebuha, januar 2019:

regres



I. red zdravljenja: ALEKTINIB

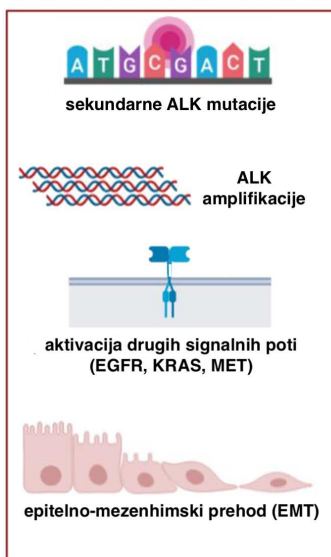
! Poslabšanje po 13 mesecih:

- slabše splošno počutje, napihnjenost po jedi, hujšanje (10 kg)
 - PS 2, ascites
 - difuzni progres v trebuhu
 - punkcija ascitesa: adenokarcinoma
- molekularno genetske preiskave (NGS): fuzija HIP1(28)-ALK(20) in rezistenčna mutacija V1180L v eksonu 23 gena ALK



Rezistenca na ALK zaviralce – VEDNO!

MEHANIZMI REZISTENCE NA ALK TKI



slabo prehajanje zdravila v CŽS

progres → ponovna biopsija



Sánchez-Herrero et al. Advances in Laboratory Medicine 2020; <https://www.clipartbay.com/clipart/22085>

ALK rezistenčne mutacije

Table 2 Brigatinib activity against various ALK mutations

ALK mutation	Gainor et al, cancer discovery 2016 ¹⁹				Zhang et al, AACR 2015 abstract 781 ²⁶		
	ALK phosphorylation mean IC ₅₀ (nmol/L)				Ceritinib	Alectinib	Brigatinib
	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib			
EML4-ALK	5	11	11	2	37	25	14
C1156Y	5	12	5	5	195	67	45
I1171N	8	398	26	49	119	724	124
I1171S	4	177	18	30	ND	ND	ND
I1171T	4	34	6	12	ND	ND	ND
F1174C	38	27	18	8	109	31	58
F1174L	ND	ND	ND	ND	117	44	55
F1174V	ND	ND	ND	ND	121	46	64
V1180L	ND	ND	ND	ND	16	597	11
L1196M	9	118	27	34	67	133	41
L1198F	196	42	14	15	697	84	82
L1152R	ND	ND	ND	ND	437	62	11
L1152p	ND	ND	ND	ND	451	48	20
G1202R	124	707	130	50	354	690	184
G1202R del	50	59	96	5	ND	ND	ND
D1203N	35	28	35	11	159	42	79
E1210K	6	32	24	2	80	59	107
G1269A	0	25	ND	10	29	56	9
D1203N + F1174c	238	75	123	70	ND	ND	ND
D1203N + E1210K	98	83	136	27	ND	ND	ND
T1151Tins	ND	ND	ND	ND	283	201	114



ND = not done IC₅₀ < 50 IC₅₀ 50–200 IC₅₀ > 200
 Notes: The in vitro activity of brigatinib is shown relative to the ALK inhibitors alectinib, ceritinib, and brigatinib. Results from two independent studies are summarized in this table.
 Abbreviations: AACR, American Association of Cancer Research; ALK, anaplastic lymphoma kinase.

Sabari JK et al. *Onco Targets Ther.*

II. red zdravljenja: CERITINIB

Redni pregled 2 tedna po uvedbi ceritiniba:

izboljšanje počutja, ni več ascitesa

Redni pregled 3 mesece po uvedbi ceritiniba:

driska, bolečine v trebuhu

PS 1-2

difuzni progres v jetrih in ČŽS (karcinoma mening)

DIB zasevka v jetrih:

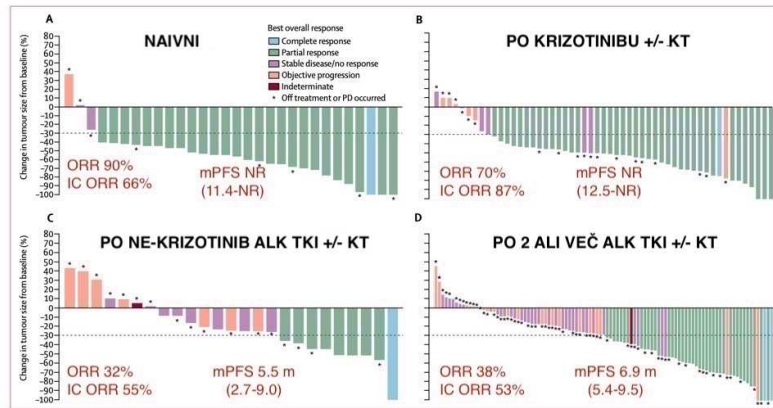
NGS: fuzija HIP1(28)-ALK(20)



III. red? **LORLATINIB**

Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study

Benjamin J Solomon, Benjamin Besse, Todd M Bauer, Enriqueta Felip, Ross A Soo, D Ross Camidge, Rita Chiari, Alessandra Bearz, Chia-Chi Lin, Shirish M Gadgil, Gregory J Riely, Eng Huat Tan, Takashi Seto, Leonard P James, Jill S Clancy, Antonello Abbattista, Jean-François Martini, Joseph Chen, Gerson Peltz, Holger Thurm, Sai-Hong Ignatius Ou, Alice T Shaw
Lancet Oncol 2018



Solomon et al. Lancet Oncol 2018

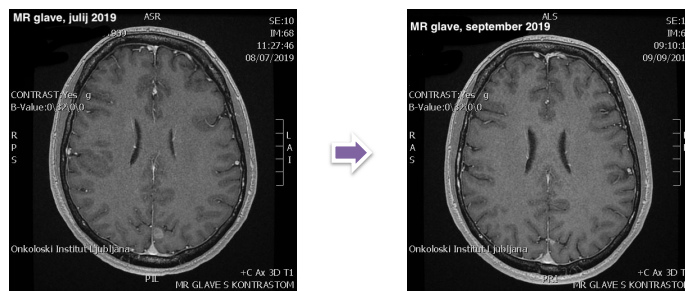
III. red zdravljenja: LORLATINIB

Redni pregled 2 tedna po uvedbi lorlatiniba:

izboljšanje, brez težav; PS 0

MR glave 2 meseca po uvedbi lorlatiniba:

delni regres zasevka levo okcipitalno (10->3 mm) in popoln regres meningealnih zasevkov



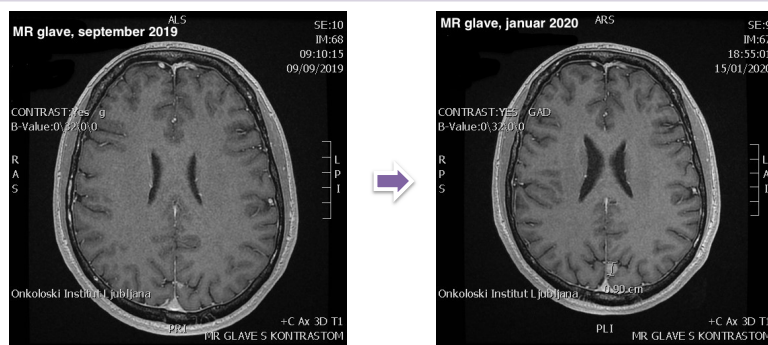
III. red zdravljenja: LORLATINIB

📍 CT prsnega koša in trebuha 4 mesece po uvedbi lorlatiniba:

delni regres v jetrih, nadaljnja remisija v pljučih

📍 6 mesecev po uvedbi lorlatiniba, fokalni progres v ČŽS → SRS

SRS možganskega zasevka levo okcipitalno, nadaljuje z lorlatinibom



III. red zdravljenja: LORLATINIB

📍 **POSLABŠANJE** po 14 mesecih:

🗨️ 1 mesec suh kašelj in bolečine v trebuhu, ↓apetit, hujšanje (3 kg), slabši periferni vid na D. oko

🔍 PS 1, ascites

☢️ **difuzni progres v prsnem košu in trebuhu + ČŽS?**

📌 punkcija ascitesa: adenokarcinoma peritoneja

NGS: fuzija HIP1(28)-ALK(20);

mutacije gena ALK: G1202A, L1196M, P1174C



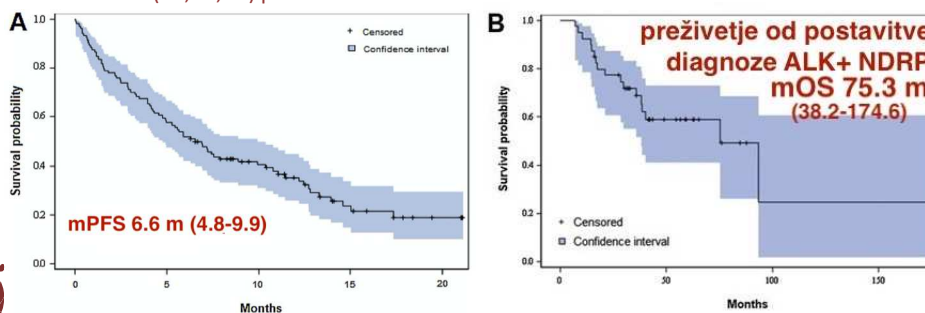
IV. red? **BRIGATINIB**

Brigatinib in patients with ALK-positive advanced non-small-cell lung cancer pretreated with sequential ALK inhibitors: A multicentric real-world study (BRIGALK study)

Renaud Descourt^{a,*}, Maurice Perol^b, Gaëlle Rousseau-Bussac^c, David Planchard^d, Bertrand Mennecier^e, Marie Wislez^{f,m}, Alexis Cortot^g, Florian Guisier^h, Loïck Gallandⁱ, Pascal Dô^j, Roland Schott^k, Eric Dansin^l, Jennifer Arrondeau^m, Jean-Bernard Auliac^c, Christos Chouaid^c

Bolniki po zdravljenju z vsaj 1 ALK TKI +/- KT (večina po 2 ALK TKI)

Nadzor bolezni (SD,PR,CR) pri 78%



R. Descourt, et al. Lung Cancer 2019

IV. red zdravljenja: **BRIGATINIB**

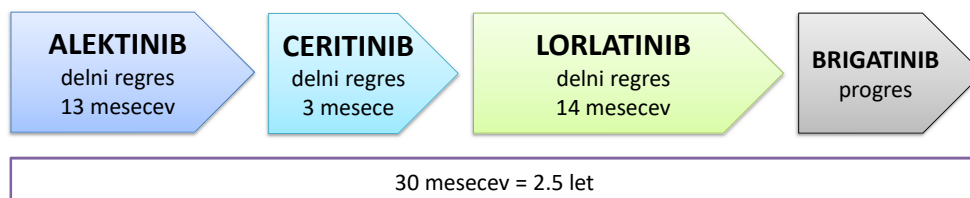
! Hospitalizacija 14 dni po uvedbi brigatiniba zaradi poslabšanja:

- oslabelost, srbečica kože, bolečine v trebuhu, inapetenca
- PS 2-3, ikterus, ascites
- hiperbilirubinemija, patološki hepatogram, iztirjena koagulacija
- **karcinoma žolčevodov in jeter**
- Brigatinib ukinjen
- bolnik je v oktobru 2020 umrl



Povzetek

Februar 2018: **primarno metastatski ALK pozitiven adenokarcinom pljuč**
Inicialni stadij: cT3N2M1c
zasevki: CŽS, pljuča, limfangiokarcinomatoza pljuč, trebušne bezgavke, d. nadledvičnica



Rak pljuč z ALK prerazporeditvijo je redka oblika raka pljuč.
Najdaljša preživetja pri zaporednem zdravljenju z večimi ALK zaviralci.
Optimalni vrstni red zdravljenja še ni jasen.
Ob progresu ponovna biopsija za določitev mehanizma rezistence.





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Predstavitev primera bolnika z razsejanim nedrobnoceličnim rakom pljuč s prisotno EGFR mutacijo

Autorica: Loredana Mrak, dr. med.

Mentorica: mag. Mojca Unk, dr. med

DNEVI INTERNISTIČNE ONKOLOGIJE
Ljubljana, november 2020

Klinični primer – anamneza in začetna diagnostika

♂, 45 let, nekadilec

Pridružene bolezni:

- stenoza spinalnega kanala, sicer zdrav

Družinska anamneza:

- babica rak pljuč
- stric rak grla

Simptomi:

- bolečina v prsnem košu levo

Status:

- PS 1, brez drugih odstopov



CT prsnega koša: 26 mm velika sprememba v
LŠR, 3 cm velika osteoliza v 6. rebru levo



Klinični primer – dodatna diagnostika

CT ČŽS in trebuha: brez znakov za zasevke

PET – CT: potrdi znani leziji

Bronhoskopija in debeloigelna biopsija:

Patohistološki izvid:

Adenokarcinom

EGFR + (L858R mutacija) - RT PCR

**Adenokarcinom pljuč, EGFR+
klinični stadij cT1b cN0 cM1b**



Nedrobnocelični rak pljuč z mutacijo v genu za EGFR

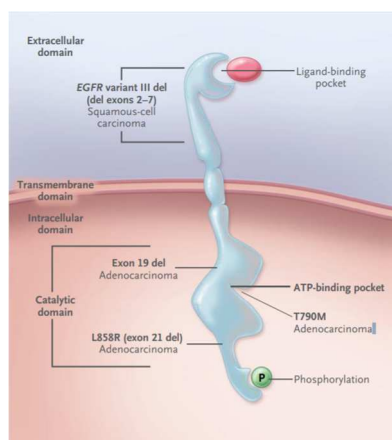
EGFR = tirozin kinazni receptor, ki regulira številne tumorogene procese (proliferacija, apoptoza, angiogeneza, invazija)

~ 10% bolnikov z nedrobnoceličnim rakom pljuč ima prisotno aktivirajočo mutacijo



>80% del 19 ali mut L858R

Pogosteje pri mladih, ♀, nekadilcih, Azijcih (30-50%)



¹Herbst. NEJM 2008



Klinični primer – primarno zdravljenje

14 mesecev

- Leva spodnja lobektomija + resekcija 5. in 6. rebra levo
pT2a pN0 pM1b, R1 resekcija
- Dopolnilna kemoterapija (KT) → 4 x Cis/Pem
Neželeni učinki G1-G2: utrujenost, slabost, nevropatija
- Dopolnilno obsevanje (RT) → TD 66 Gy v 33 fr.
Neželeni učinki G1-G2: stomatitis, ezofagitis
- Sledenje



Klinični primer – 1. razsoj bolezni po 14 mesecih

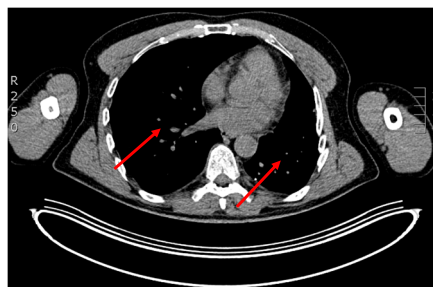
CT toraksa: novonastala sprememba v desni nadlaktnici

Klinično: asimptomatski

TH: obsevanje zasevka s TD 48 Gy v 16 fr. in uvedba **denosumaba**, odklonil sistemsko zdravljenje

Spremljanje

- **Po 13 mesecih kašelj in bolečine** v pooperativni brazgotini in D roki (simptomatsko napredovanje bolezni v pljučih in kosteh)



Randomizirane klinične študije EGFR usmerjene terapije pri nezdravljenih pacientih z razsejanim nedrobnoceličnim rakom pljuč in mutacijo v genu EGFR

Študija	Št. Pac.	Zasnova študije	ORR, %*	mPFS, M**	mOS, M***
NEJ002 ^[1]	230	gefitinib proti karboplatin/paklitaksel	74 proti 31	10.8 proti 5.4 (P < .001)	30.5 proti 23.6 (HR: 0.89)
WJTOG 3405 ^[2,3]	172	gefitinib proti cisplatin/docetaksel	62 proti 32	9.6 proti 6.6 (P < .001)	34.8 proti 37.3 (HR: 1.25)
OPTIMAL ^[4,5]	165	erlotinib proti karboplatin/gemcitabine	83 proti 36	13.1 proti 4.6 (P < .0001)	22.8 proti 27.2 (HR: 1.19)
EURTAC ^[6,7]	174	erlotinib proti KT na bazi platine	58 proti 15	9.7 proti 5.2 (P < .0001)	22.9 proti 19.5 (HR: 0.93)
LUX-Lung 3 ^[8,9]	345	afatinib proti cisplatin/pemetreksed	56 proti 23	11.1 proti 6.9 (P = .001)	28.2 proti 28.2 (HR: 0.88)
LUX-Lung 6 ^[9,10]	364	afatinib proti cisplatin/gemcitabin	67 proti 23	11.0 proti 5.6 (P < .0001)	23.1 proti 23.5 (HR: 0.93)
FLAURA ^[11,12]	556	osimertinib proti gefitinib/erlotinib	80 proti 76	18.9 proti 10.2 (P < .0001)	38.6 proti 31.8 (HR: 0.80)

*ORR = skupna stopnja odziva, **mPFS = srednje preživetje brez napredovanja bolezni v ***mesech, mOS = srednji čas celokupnega preživetja v mesecih



1. Maemondo. NEJM. 2010 2. Mitsudomi. Lancet Oncol. 2010 3. Yoshioka. ASCO 2014. Abstr 8117. 4. Zhou. Lancet Oncol. 2011 5. Zhou. Ann Oncol. 2015 6. Rosell. Lancet Oncol. 2012 7. Khozin. Oncologist. 2014 8. Sequist. J Clin Oncol. 2013 9. Yang. Lancet Oncol. 2015 10. Wu. Lancet Oncol. 2014 11. Soria. NEJM. 2018 12. Ramalingam. NEJM. 2020

Klinični primer – 1. linija systemskega zdravljenja

Prične zdravljenje z **erlotinibom** 150 mg dnevno

Neželeni učinki G1: izpuščaj, driska, povišanje jetrnih transaminaz

Klinično: izzvenetje bolečin in kašlja

Radiološko: vsaj stagnacija bolezni

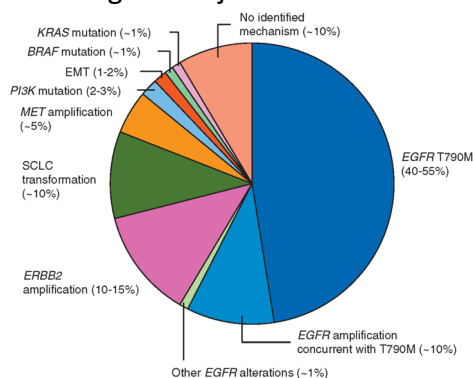
Med zdravljenjem obsevanje bolečih kostnih zasevkov v obeh kolkih

➤ **Po 26 mesecih bolečine v hrbtenici** (progres bolezni v kosteh in pljučih)

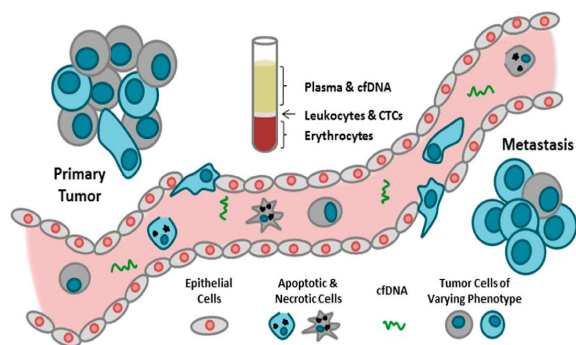


Rezistenca na 1. in 2. generacijo proti EGFR usmerjenih zdravil in tekočinska biopsija

Mehanizmi rezistence na 1. in 2. generacijo EGFR TKI¹



Tekočinska biopsija²



¹Westover. Ann Oncol. 2018; ²Lowes. Int J Mol Sci. 2016

Klinični primer – 2. linija sistemskega zdravljenja

- T790M iz cirkulirajoče DNA
- Prične zdravljenje z **osimertinibom** 80 mg dnevno

Neželeni učinki G1-G2: trombocitopenija, povišanje jetrnih transaminaz

Klinično: ↓ bolečin v hrbtenici

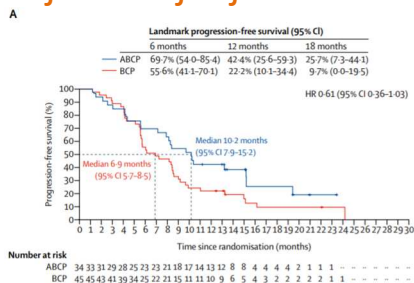
Radiološko: stagnacija bolezni

Med zdravljenjem 2x obsevanje simptomatskega oligoprograsa v hrbtenici

- Po 21 mesecih utrujenost, izguba apetita, hujšanje, kašelj, hemoptize, bolečine (progres bolezni v jetrih in ČŠ)
- rebiopsija ni bila opravljena



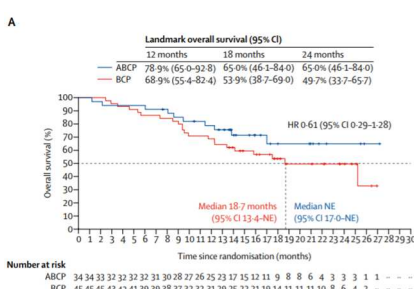
IMPOWER 150: Randomizirana študija faze III Atezolizumab+KT±Bevacizumab proti KT+Bevacizumab v 1. liniji zdravljenja neskvamoznega nedobnocičnega raka pljuč



Vključenih ~ 10% (124) EGFR +
pacientov

EGFR+ pacienti so bili vključeni po
progressu ali intoleranci na ≥1 linijo
tarčnega zdravljenja

Skupna stopnja odziva na
Atezo/KT/Beva **71%!!!**



¹Reck. Lancet. 2019

Klinični primer – 3. linija systemskega zdravljenja

Prične zdravljenje s kombinacijo
karbo/pakli/atezo/beva
(4x kombinirano zdravljenje v znižanem
odmerku z GCSF, 1x vzdrževalno)

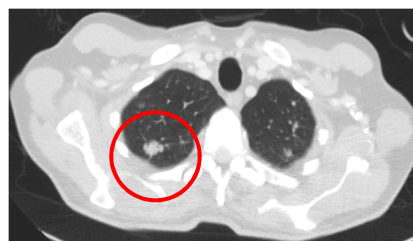
Neželeni učinki G1-G2: slabost/bruhanje,
bolečine v mišicah, anemija, nevropatija, ↑
krvni tlak, proteinurija

Klinično: ↑ apetit, ↑ telesne teže, ↓
bolečin

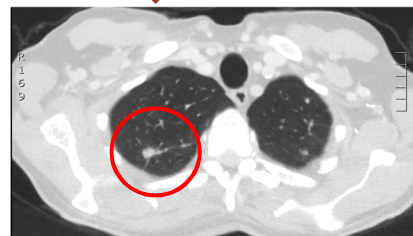
Radiološko: delna remisija bolezn

+ SRS zasevkov v CŽS

➤ Po 5. ciklusu utrujenost in porast jetrnih transaminaz (progres bolezn v
jetrih)



PR po 4. ciklusi



Klinični primer – nadaljevanje sistemskega zdravljenja

- L858R mutacija iz biopsije jetrnih zasevkov in iz cirkulirajoče DNA
- 4. linija sistemske terapije: **gefitinib** 250 mg dnevno
 - Neželeni učinki G1-G2: suha koža, driska, vnetje nosne sluznice
 - Klinično: ↑ utrujenosti, težko dihanje, slabost, bolečine, ↑ telesna temperatura
 - Radiološko: napredovanje bolezni v jetrih in prsnem košu
- L858R mutacija + MET amplifikacija iz cirkulirajoče DNA



Klinični primer – nadaljevanje sistemskega zdravljenja

5. linija sistemske terapije:

erlotinib + krizotinib ⇒ **osimertinib + krizotinib**
(ob pojavu T790M v cirkulirajoči DNA in hepatopatiji G3)

Neželeni učinki: povišanje jetrnih transaminaz G3, trombocitopenija G2

Potrebne številne redukcije in prilagoditve!

Klinično: ↓ utrujenosti, ↓ težke sape, ↓ slabosti, ~bolečine v medenici (RT)

Radiološko: delna remisija bolezni

➤ Po 5 mesecih vrtoglavice, glavobol (progres bolezni v in izven CŽS)

➤ Rebiopsija – likvor **preureditev ROS1** (fuzija SLC34A2-ROS1), cirkulirajoča DNA **L858R + T790M**

➤ 6. linija sistemskega zdravljenja: **pemetreksed mono** 1x

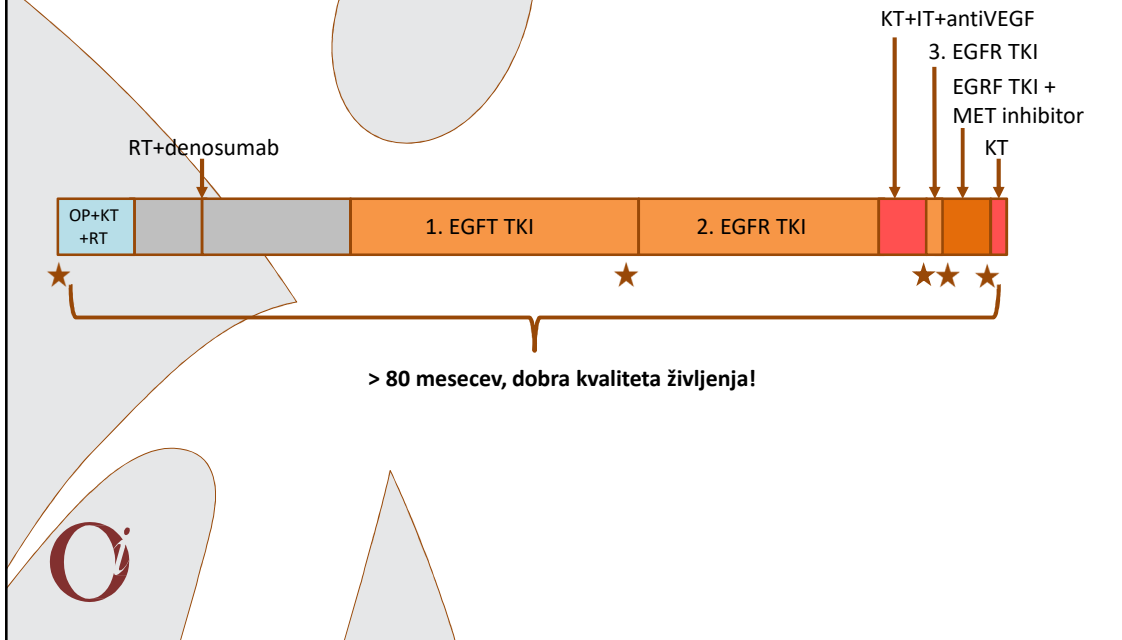
➤ +++ respiratorna insuficienca ob pljučnici



↓ PR po 2M



Hvala za pozornost!



EDINI zaviralec CDK4 & 6, ki se jemlje NEPREKINJENO VSAK DAN, 2x NA DAN^{1, 2, 3}

SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila. Glejte poglavje 4.8, kako poročati o neželenih učinkih.

IME ZDRAVILA: Verzenios 50 mg/100 mg/150 mg filmsko obložene tablete **KAKOVOSTNA IN KOLIČINSKA SESTAVA:** Ena filmsko obložena tableta vsebuje 50 mg/100 mg/150 mg abemacicliba. Ena filmsko obložena tableta vsebuje 14 mg/28 mg/42 mg laktoze (v obliki monohidrata). **Terapevtske indikacije:** Zdravilo Verzenios je indicirano za zdravljenje žensk z lokalno napredovalim ali metastatskim, na hormonske receptorje (HR – *Hormone Receptor*) pozitivnim in na receptorje humanega epidermalnega rastnega faktorja 2 (HER2 – *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) negativnim rakom dojke v kombinaciji z zaviralcem aromataze ali s fulvestrantom kot začetnim endokrinim zdravljenjem ali pri ženskah, ki so prejele predhodno endokrino zdravljenje. Pri ženskah v pred- in perimenopavzi je treba endokrino zdravljenje kombinirati z agonistom gonadoliberina (LHRH – *Luteinizing Hormone-Releasing Hormone*). **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravljenje z zdravilom Verzenios mora uvesti in nadzorovati zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravil za zdravljenje rakavih bolezni. **Zdravilo Verzenios v kombinaciji z endokrinim zdravljenjem:** Priporočeni odmerek abemacicliba je 150 mg dvakrat na dan, kadar se uporablja v kombinaciji z endokrinim zdravljenjem. Zdravilo Verzenios je treba jemati, dokler ima bolnica od zdravljenja klinično korist ali do pojava nesprejemljive toksičnosti. Če bolnica bruha ali izpusti odmerek zdravila Verzenios, ji je treba naročiti, da naj naslednji odmerek vzame ob predvidenem času; dodatnega odmerka ne sme vzeti. Obvladovanje nekaterih neželenih učinkov lahko zahteva prekinitev in/ali zmanjšanje odmerka. Zdravljenje z abemaciclibom prekinite v primeru povišanja vrednosti AST in/ali ALT >3 x ZMN SKUPAJ s celokupnim bilirubinom > 2,0 x ZMN v odsotnosti holestaze ter pri bolnicah z intersticijsko pljučno boleznijo (ILD)/pnevmonitis stopnje 3 ali 4. Sočasni uporabi močnih zaviralcev CYP3A4 se je treba izogibati. Če se uporabi močnih zaviralcev CYP3A4 ni mogoče izogniti, je treba odmerek abemacicliba nadaljevati ob natančnem spremljanju znakov toksičnosti. Alternativno je mogoče odmerek abemacicliba znižati na 50 mg enkrat na dan ali prekiniti dajanje abemacicliba. Če je uporaba zaviralca CYP3A4 prekinjena, je treba odmerek abemacicliba povečati na odmerek, kakršen je bil pred uvedbo zaviralca CYP3A4 (po 3–5 razpolovnih časih zaviralca CYP3A4). Prilaganje odmerka glede na starost in pri bolnicah z blago ali zmerno ledvično okvaro ter z blago (Child Pugh A) ali zmerno (Child Pugh B) jetno okvaro ni potrebno. Pri dajanju abemacicliba bolnicam s hudo ledvično okvaro sta potrebna previdnost in skrbno spremljanje glede znakov toksičnosti. **Način uporabe:** Zdravilo Verzenios je namenjeno za peroralno uporabo. Odmerek se lahko vzame s hrano ali brez nje. Zdravilo se ne sme jemati z grenivko ali grenivkinim sokom. Bolnice naj odmerke vzamejo vsak dan ob približno istem času. Tableto je treba zaužiti celo (bolnice je pred zaužitjem ne smejo gristi, drobiti ali deliti). **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Pri bolnicah, ki so prejele abemaciclib, so poročali o nevtropeniji, o večji pogostnosti okužb kot pri bolnicah, zdravljenih s placebom in endokrinim zdravljenjem, o povečanih vrednostih ALT in AST. Pri bolnicah, pri katerih se pojavi nevtropenija stopnje 3 ali 4, je priporočljivo prilagoditi odmerek. Bolnice je treba spremljati za znake in simptome globoke venske tromboze in pljučne embolije ter jih zdraviti, kot je medicinsko utemeljeno. Glede na povečanje vrednosti ALT ali AST je mogoče potrebna prilagoditev odmerka. Driska je najpogostejši neželeni učinek. Bolnice je treba ob prvem znaku tekočega blata začeti zdraviti z antiidiaroiiki, kot je loperamid, povečati vnos peroralnih tekočin in obvestiti zdravnika. Sočasni uporabi induktorjev CYP3A4 se je treba izogibati zaradi tveganja za zmanjšano učinkovitost abemacicliba. Bolnice z redkimi dednimi motnjami, kot so intoleranca za galaktozo, popolno pomanjkanje laktaze ali malapsorpcija glukoze/galaktoze, tega zdravila ne smejo jemati. Bolnice spremljajte glede pljučnih simptomov, ki kažejo na ILD/pnevmonitis, in jih ustrezno zdravite. Glede na stopnjo ILD/pnevmonitisa je morda potrebno prilaganje odmerka abemacicliba. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** Abemaciclib se primarno presnavlja s CYP3A4. Sočasna uporaba abemacicliba in zaviralcev CYP3A4 lahko poveča plazemsko koncentracijo abemacicliba. Uporabi močnih zaviralcev CYP3A4 sočasno z abemaciclibom se je treba izogibati. Če je močne zaviralce CYP3A4 treba dajati sočasno, je treba odmerek abemacicliba zmanjšati, nato pa bolnico skrbno spremljati glede toksičnosti. Pri bolnicah, zdravljenih z zmernimi ali šibkimi zaviralci CYP3A4, ni potrebno prilaganje odmerka, vendar jih je treba skrbno spremljati za znake toksičnosti. Sočasni uporabi močnih induktorjev CYP3A4 (vključno, vendar ne omejeno na: karbamazepin, fenitoin, rifampicin in šentjanževko) se je treba izogibati zaradi tveganja za zmanjšano učinkovitost abemacicliba. Abemaciclib in njegovi glavni aktivni presnovki zavirajo prenašalce v ledvicah, in sicer kationski organski prenašalec 2 (OCT2) ter prenašalca MATE1. *In vivo* lahko pride do medsebojnega delovanja abemacicliba in klinično pomembnih substratov teh prenašalcev, kot je dofetilid ali kreatinin. Trenutno ni znano, ali lahko abemaciclib zmanjša učinkovitost sistemskih hormonskih kontraceptivov, zato se ženskam, ki uporabljajo sistemske hormonske kontraceptive, svetuje, da hkrati uporabljajo tudi mehansko metodo. **Neželeni učinki:** Najpogostejši neželeni učinki so driska, okužbe, nevtropenija, anemija, utrujenost, navzea, bruhanje in zmanjšanje apetita. **Zelo pogosti:** okužbe, nevtropenija, levkopenija, anemija, trombocitopenija, driska, bruhanje, navzea, zmanjšanje apetita, disgeuzija, omotica, alopecija, pruritus, izpuščaj, utrujenost, piroksija, povečana vrednost alanin-aminotransferaze, povečana vrednost aspartat-aminotransferaze **Pogosti:** limfopenija, povečano solzenje, venska trombozija, intersticijska pljučna bolezen (ILD)/pnevmonitis, suha koža, mišična šibkost **Občasni:** febrilna nevtropenija **Rok uporabnosti:** 3 leta **Posebna navodila za shranjevanje:** Za shranjevanje zdravila niso potrebna posebna navodila. **Imetnik dovoljenja za promet z zdravilom:** Eli Lilly Nederland B.V., Papendorpseweg 83, 3528BJ, Utrecht, Nizozemska. Datum prve odobritve dovoljenja za promet: 27. september 2018 **Datum zadnje revizije besedila:** 16.1.2020 **Režim izdaje:** Rp/Spec - Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept zdravnik specialista ustreznega področja medicine ali od njega pooblaščenega zdravnika.

Reference:

1. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Verzenios. Datum zadnje revizije besedila: 16.1.2020. 2. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Ibrance. Dostop preverjen 10.4.2020. 3. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Kisqali. Dostop preverjen 10.4.2020.

Pomembno: Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept zdravnik specialista ustreznega področja medicine ali od njega pooblaščenega zdravnika. Pred predpisovanjem zdravila Verzenios si preberite zadnji veljavni Povzetek glavnih značilnosti zdravil. Podrobne informacije o zdravilu so objavljene na spletni strani Evropske agencije za zdravila <http://www.ema.europa.eu>



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Molekularna diagnostika mRDČD

*Klinični primer bolnika z $BRAF^{V600E}$
mutacijo*

Rozala Arko, dr.med.

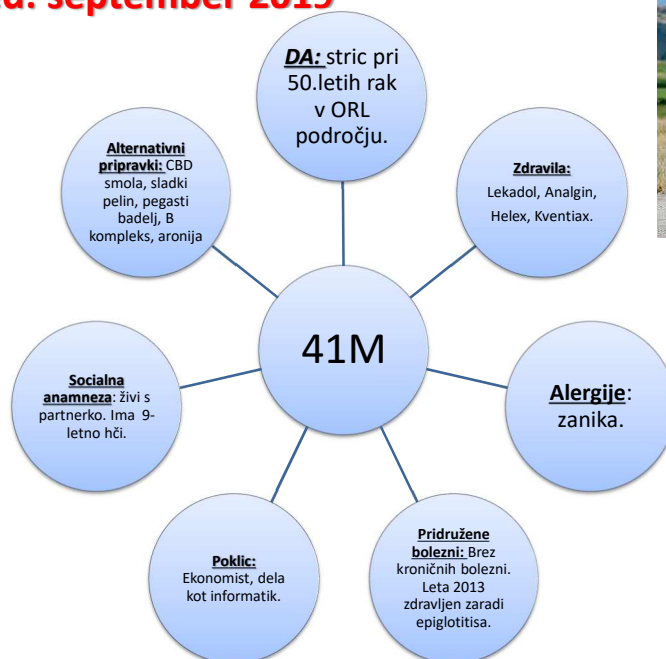
doc. dr. Martina Reberšek, dr.med.

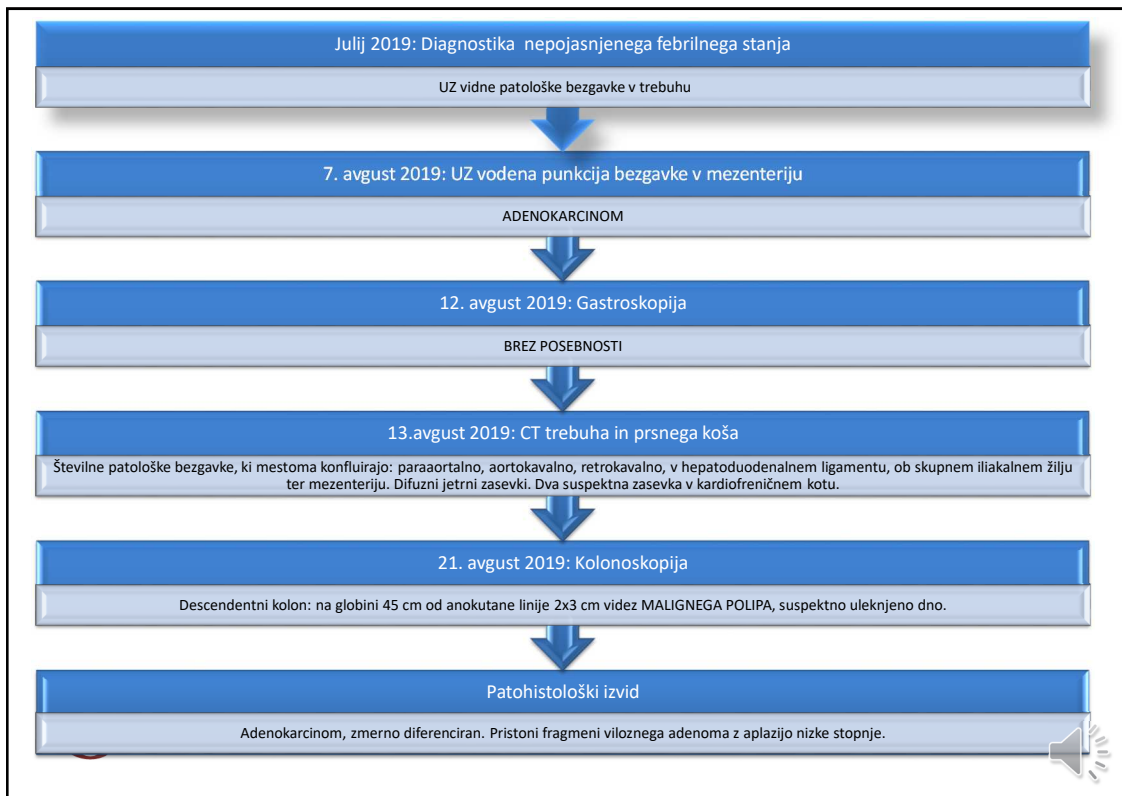
Marko Boc, dr.med.

OI Ljubljana, 19.-20.11.2020



Prvi pregled: september 2019





NGS

TOČKOVNE MUTACIJE NA "HOT SPOT" MESTIH	Tip spremembe	Ekson	Nukleotidna sprememba	Aminokislinska sprememba
KRAS ni mutacije				
NRAS ni mutacije				
BRAF mutacija je prisotna		15	c.1799T>A	p.Val600Glu
PIK3CA ni mutacije				
AKT1 mutacija je prisotna		3	c.49G>A	p.Glu17Lys

AMPLIFIKACIJE

HER2 ni prisotna

FUZIJE

NTRK ni prisotna

Ostale zaznane spremembe
Spremembe v ostalih genih na "hot spot" mestih, ostale fuzije in amplifikacije niso bile zaznane.

INTERPRETACIJA

V tumorju je prisotna mutacija c.1799T>A, p.(Val600Glu) (V600E) v eksonu 15 gena BRAF.

BRAF je serinska/treoninska kinaza, ki je del MAP/ERK biološke poti. Somatske mutacije v genu BRAF so prisotne v približno 8-15% vseh kolorektalnih karcinomov. Mutacije v genu BRAF se običajno pojavljajo v tumorjih, ki nimajo mutacije v genu KRAS (Yang, 2016, *Tumor Biology: NCCN Guidelines V2.2018 Colon Cancer*; COSMIC). Najpogostejša mutacija v genu BRAF v kolorektalnih karcinomih je p.V600E in predstavlja 47-96% vseh BRAF mutacij v kolorektalnih karcinomih (COSMIC). Prisotnost mutacije BRAF V600E je **negativni** prediktivni oglednik za zdravljenje z zaviralci EGFR (anti-EGFR protitelesa, panitumumab-om in cetuximab-om), razen če so zdravljeni z zaviralci BRAF (NCCN guidelines V2.2018 Colon Cancer).

V tumorju je prisotna mutacija c.49G>A, p.Glu17Lys (E17K) v eksonu 3 gena AKT1.

AKT1 je serin-treoninska kinaza, ki je del signalne poti PI3K/AKT/mTOR. Mutacije v genu AKT1 se pojavljajo v <1-6% vseh kolorektalnih karcinomov. V kolorektalnih karcinomih je do sedaj znana le mutacija v genu AKT1 E17K. AKT1 mutacije se običajno pojavljajo v tumorjih, ki nimajo mutacije v genu PI3K, se pa pogosto pojavljajo z mutacijami v genih RAS/BRAF (Hechtman, 2015, *Molecular Cancer Research*). Diagnostični, prognostični ali prediktivni pomen prisotnosti mutacij v genu AKT1 v kolorektalnih karcinomih **ni povsem pojasnjen**.

DODATEK K IZVIDU-NAKADNO NAROČENE DODATNE PREISKAVE

Imunohistokemično izražanje beljakovin popravljanja neujemanja (mismatch repair, MMR) v karcinomu - presejanje sindroma Lynch:

- MLH1: Ohranjeno jedno izražanje.
- MSH2: Ohranjeno jedno izražanje.
- MSH6: Ohranjeno jedno izražanje.
- PMS2: Ohranjeno jedno izražanje.

Interpretacija:
Ni izgube izražanja beljakovin MMR. **Verjetnost mikrosatelitna nestabilnosti/sindroma Lynch je majhna.**

Glej izvid molekularnogenetske preiskave 19-M-00553.

V tumorju je prisotna mutacija c.1799T>A, p.(Val600Glu) (V600E) v eksonu 15 gena BRAF.
V tumorju je prisotna mutacija c.49G>A, p.Glu17Lys (E17K) v eksonu 3 gena AKT1.
HER2 mutacije ni prisotna.

23.08.2019

21.08.2020
Medicinska fakulteta, UNI LJ

Primarno metastatski, B-raf mutiran adenokarcinom descendente kolona z difuznimi zasevki v jetrih, v bezgavkah abdominalno in intratorakalno.

STATUS

PS WHO 0, KI 100%
V statusu b.p.



LABORATORIJ

Levko: 10,4
Hb: 118 MCV: 81
Trombo: 469
Nevtro: 6,79
Elektroliti: N
Dušični retenti: N
AF: 6,38 gGT: 8,71
cBilirubin: 3
AST/ALT: 0,80/1,09
LDH: 4,62
Feritin: 784
CRP: 156
CEA: 7,5
CA19-9:132



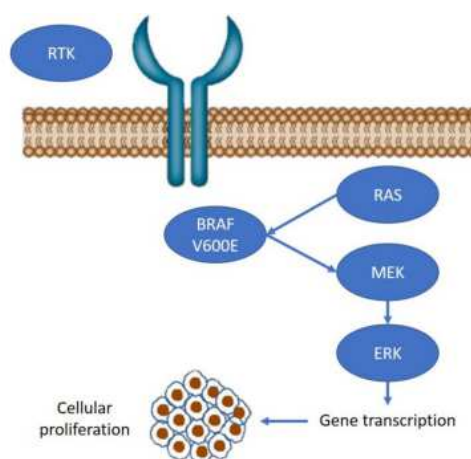
BRAF Mutacija

- BRAF je serin/treoninska protein kinaza- vpletena v signalno kaskado MITOGEN AKTIVIRAJOČA PROTEIN KINAZA (MAPK)
- MAPK pot poganja celično proliferacijo, diferenciacijo, migracijo, celično preživetje ter angiogenezo
- 96% BRAF mutacij T1799A transverzije v eksonu 15 (zamenjava valin aminokislina: V600E)
- Vodi v 10x povečano aktivno BRAF protein kinaze

Review

BRAF-Mutated Colorectal Cancer: Clinical and Molecular Insights

Francesco Caputo^{1,†}, Chiara Santini^{1,†}, Camilla Bardasi¹, Krisida Cerma¹, Andrea Casadei-Gardini^{1,*}, Andrea Spallanzani¹, Kalliopi Andrikou¹, Stefano Cascinu^{1,2} and Fabio Gelsomino¹

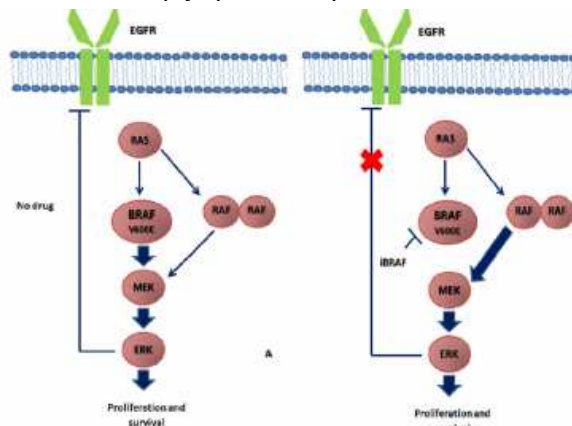


Caputo et al. Molecular science 2019



Mutacija BRAF gena pri kolorektalnem raku

- Prisotna v približno 10 % (ženske, desnostranski tumorji, napredovali, mucinozna histologija, dMMR)
- Slabša prognoza in kemorezistentna bolezen (mOS: ≈12 mesecev)
- BRAF V600E mutacija in BRAF ne-V600E mutacija
- BRAF inhibitor v monoterapiji povzroči paradokšno aktivacijo MAPK poti



Caputo et al. Molecular science 2019



Printed by Rozala Arko on 11/13/2020 3:49:03 PM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2020 National Comprehensive Cancer Network, Inc., All Rights Reserved.



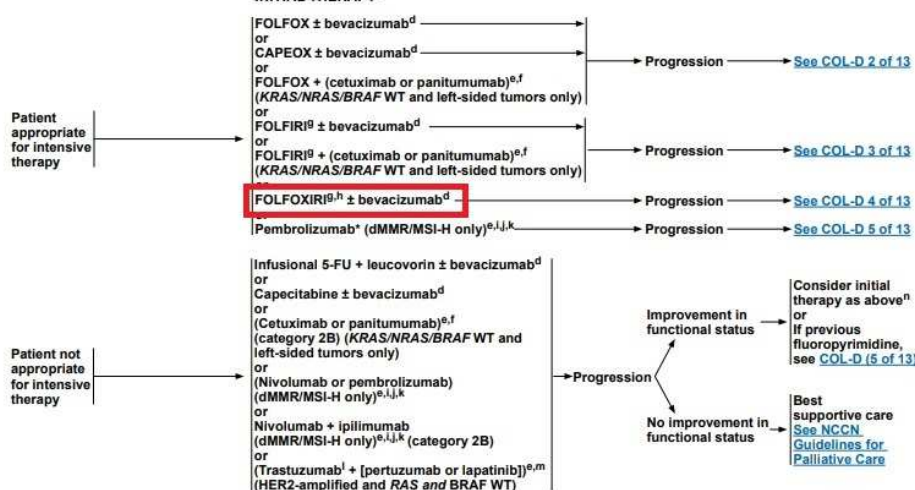
National
Comprehensive
Cancer
Network®

NCCN Guidelines Version 4.2020 Colon Cancer

[NCCN Guidelines Index](#)
[Table of Contents](#)
[Discussion](#)

CONTINUUM OF CARE - SYSTEMIC THERAPY FOR ADVANCED OR METASTATIC DISEASE^{a,b}

INITIAL THERAPY^c



^a Patients should be followed closely for 10 weeks to assess for response

See footnotes on COL-D (7 of 13)

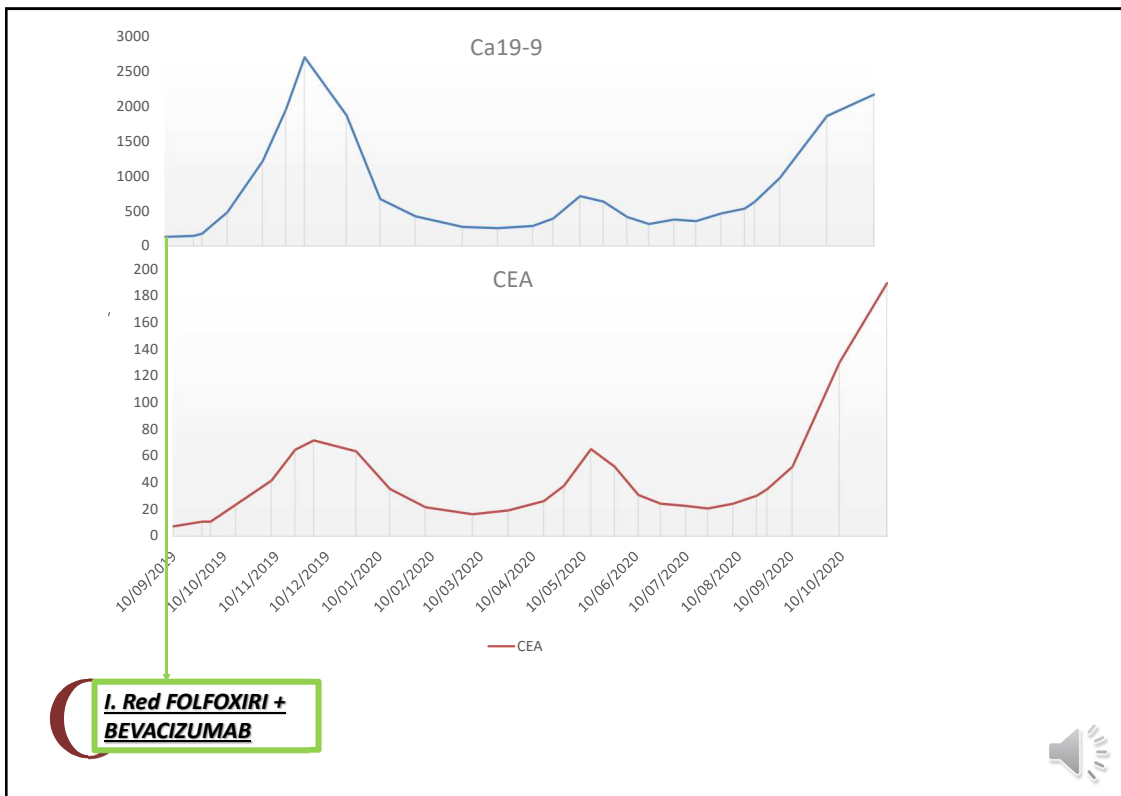
Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.
Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

Version 4.2020, 08/19/20 © 2020 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®). All rights reserved. NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.



COL-D
1 OF 13





I. RED : 10.9.2019-13.11.2019: FOLFOXIRI + bevacizumab (2 meseca)

- 100 % odmerok ob podpori rastnega dejavnika (lipegfilgastrim)
- Po 1A aplikaciji → FEBRILNA STANJE, brez nevtropenije
- Prejme antibiotično terapijo
- Še vedno prisotna „popoldanska“ vročina 37°C ter nočno potenje (znak bolezni)
- Terapijo drugače dobro prenaša z blago utrujenostjo
- Slabosti in bruhanja zanika
- Po 2B aplikaciji občuten porast CA-19-9 : 1220, CEA:45,
- Kontrolni CT (12.11.2019): ***Difuzni progres bolezni s progresom bolezni v jetrih***



Raziskava faze II : Vemurafenib v številnih nemelanomskih rakih z BRAF V600E mutacijo

- Prva raziskava, ki je proučevala **učinkovitost** vemurafeniba pri BRAF V600E mutiranih nemelanomskih rakih
- BRAF V600E je tarčni onkogen le pri nekaterih nemelanomskih rakih
- **Histološka komponenta** je pomembna determinanta morebitnega odgovora na zdravljenje
- Vemurafenib v monoterapiji **se ni izkazal za učinkovitega** (paradokсна aktivacija EGFR)- **RR:** 0 m **PFS:**4,5 meseca in **mOS:** 9,3 meseca
- Vemurafenib + cetuksimab pri mCRC z BRAF V600E: **RR:** 1, **mPFS:** 3,7 meseca in **mOS:** 7,1 meseca

Vemurafenib in Multiple Nonmelanoma Cancers with BRAF V600 Mutations

David M. Hyman, M.D., Igor Puzanov, M.D., Vivek Subbiah, M.D., Jason E. Faris, M.D., Ian Chau, M.D., Jean-Yves Blay, M.D., Ph.D., Jürgen Wolf, M.D., Ph.D., Noopur S. Raju, M.D., Eli L. Diamond, M.D., Antoine Hollebecque, M.D., Radj Gervais, M.D., Maria Elena Elez-Fernandez, M.D., Antoine Italiano, M.D., Ph.D., Raf-Dieter Hofheinz, M.D., Manuel Hidalgo, M.D., Ph.D., Emily Chan, M.D., Ph.D., Martin Schuler, M.D., Susan Frances Lasserre, M.Sc., Martina Makrutzki, M.D., Florin Sirzen, M.D., Ph.D., Maria Luisa Veronese, M.D., Josep Tabernero, M.D., Ph.D., and José Baselga, M.D., Ph.D.

122 bolnikov z nemelanomskim rakom ter BRAF V600E mutacijo (27 mCRC), ki so prejeli vemurafenib +/- cetuksimab

Table 2. Preliminary Best Response According to Cohort.*

Variable	NSCLC (N=20)	Colorectal Cancer		Cholangiocarcinoma (N=8)	ECD or LCH (N=18)	Anaplastic Thyroid Cancer (N=7)
		Vemurafenib (N=10)	Vemurafenib + Cetuximab (N=27)			
Patients with ≥1 postbaseline assessment — no.	19	10	26	8	14	7
Complete response — no. (%)	0	0	0	0	1 (7)	1 (14)
Partial response — no. (%)	8 (42)	0	1 (4)	1 (12)	5 (36)	1 (14)
Stable disease — no. (%)	8 (42)	5 (50)	18 (69)	4 (50)	8 (57)	0
Progressive disease — no. (%)	2 (11)	5 (50)	7 (27)	3 (38)	0	4 (57)
Missing data — no. (%)†	1 (5)	0	0	0	0	1 (14)
Overall response — no. (%) [95% CI]	8 (42) [20–67]	0	1 (4) [–1–20]	1 (12) [–1–53]	6 (43) [18–71]	2 (29) [4–71]



BEACON FAZA III raziskava metastatskega kolorektalnega raka (februar 2019)

- Preverba **učinkovitosti** in preliminarne učinkovitosti kombinacije tarčne terapije BRAF + MEK + EGFR inhibitorjev za BRAF V600E mCRC
- Kombinacija po odpovedi terapije I. ali II. reda
- **Primarni izid:** varnost
- **Sekundarni izid:** učinkovitost, ORR, PFS, OS
- Vključenih 30 bolnikov.

Binimetinib, Encorafenib, and Cetuximab Triplet Therapy for Patients With BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Safety Lead-In Results From the Phase III BEACON Colorectal Cancer Study

Eric Van Cutsem, MD, PhD¹; Sanna Huijberts, MD²; Axel Grothey, MD³; Rana Yager, MD⁴; Pieter-Jan Coyle, MD^{1,5}; Elena Elez, MD, PhD⁶; Marwan Fakih, MD⁷; Clara Montagut, MD⁸; Marc Peeters, MD, PhD⁹; Takayuki Yoshino, MD¹⁰; Haggræt Wasan, MD¹¹; Jayesh Desai, MBBS¹²; Fortunato Ciardiello, MD, PhD¹³; Ashwin Golleri, MD¹⁴; Janna Christy-Bittel, MSN¹⁵; Kati Mahary, PhD¹⁶; Victor Sandor, MD¹⁷; Jan H.M. Schellens, MD, PhD¹⁸; Scott Kopetz, MD, PhD¹⁹; and Josep Tabernero, MD, PhD²⁰

Stranski učinki G3-4: utrujenost (13%), anemija (10%), povišan AST (10%), okužbe sečil (10%)

ORR: 48% (95% CI, 29,4% do 67,5%)
mOS: 15,3 meseca
mPFS: 8 mesecev 95 %CI, 5,6 do 9,3meseca) (95% CI, 9,6.-)

Varnost in toleranca jemanja encorafeniba, binimetiniba in cetuksimaba je obvladljiva in sprejemljiva. Učinkovitost je obetajoča v primerjavi s do sedaj dostopnimi standardnimi zdravljenji. Po ustreznih kliničnih preizkusih, bi lahko predstavljali nov standard zdravljenja BRAF V600E mCRC.



**New England journal of medicine, September 2019: FAZA III
Encorafenib, Bimetinib, in cetuksimab pri BRAF V600E mutiranem CRC**

- Vključenih **665 bolnikov** mCRC BRAF V600E po progresu boleznj po I. ali II. redu standardne terapije

Encorafenib +
binimetinib +
cetuksimab

Encorafenib +
cetuksimab

Cetuximab +
FOLFIRI /
cetuximab
+IRINO

Hitro rezistenco BRAF inhibitorjev
preprečimo z dodatkom MEK inhibitorja.

mOS: 9
mesecev
mPFS: 4,3
RR: 26%
NU G_{≥3}: 58%

mOS: 8,4
mesecev
mPFS: 4,2
meseca
RR: 20 %
NU G_{≥3}: 50%

mOS: 5,4
meseca
mPFS: 1,5
meseca
RR: 2%
NU G_{≥3}: 61%

Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab
in BRAF V600E–Mutated Colorectal Cancer

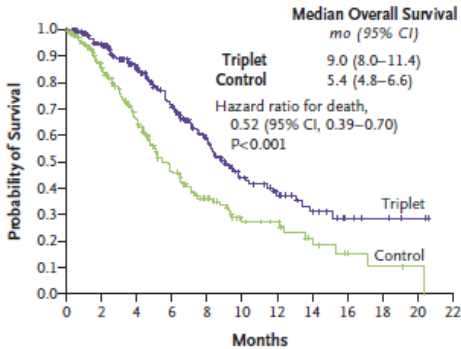
S. Kopetz, A. Grothey, R. Yaeger, E. Van Cutsem, J. Desai, T. Yoshino, H. Wasan, F. Ciardiello, F. Loupakis, Y.S. Hong, N. Steeghs, T.K. Guren, H.-T. Arkenau, P. Garcia-Alfonso, P. Pfeiffer, S. Orlov, S. Lonardi, E. Elez, T.-W. Kim, J.H.M. Schellens, C. Guo, A. Krishnan, J. Dekervel, V. Morris, A. Calvo Ferrandiz, L.S. Tarpgaard, M. Braun, A. Gollerkeri, C. Keir, K. Maharry, M. Pickard, J. Christy-Bittel, L. Anderson, V. Sandor, and J. Tabernero



MEK inhibitor prida k RR, ne pa k OS.



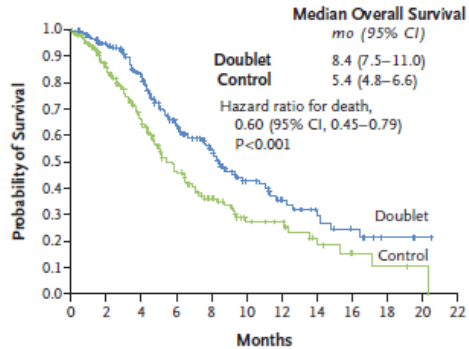
A Overall Survival, Triplet Regimen vs. Control



No. at Risk

Triplet	224	186	141	103	69	37	24	14	6	4	2	0
Control	221	158	102	60	34	18	15	7	4	2	1	0

B Overall Survival, Doublet Regimen vs. Control



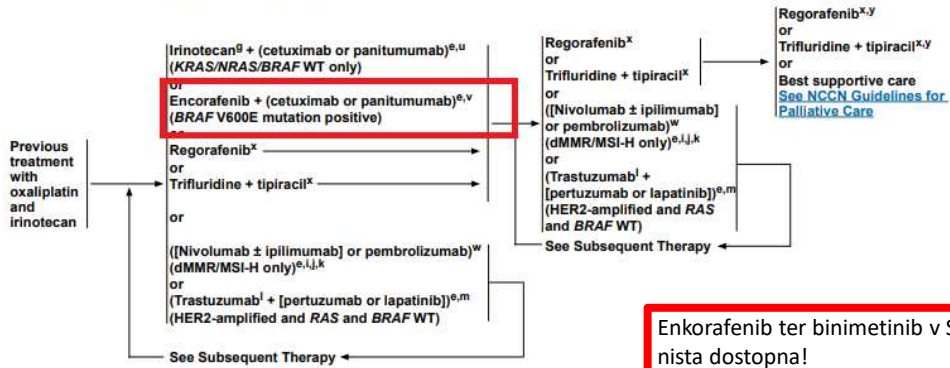
No. at Risk

Doublet	220	184	133	87	57	33	21	12	8	3	1	0
Control	221	158	102	60	34	18	15	7	4	2	1	0

Kombinacija encorafeniba ± binimetiniba in cetuksimaba statistično pomembno podaljša celokupno preživetje in izboljša odgovor na zdravljenje kot standardna terapija pri bolnikih z mCRC in BRAF V600E mutacijo.



CONTINUUM OF CARE - SYSTEMIC THERAPY FOR ADVANCED OR METASTATIC DISEASE^{a,b,o}
SUBSEQUENT THERAPY^{c,p,q}



Encorafenib ter binimetinib v Sloveniji nista dostopna!

See footnotes on COL-D (7 of 13)

Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated. Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

COL-D
4 OF 13

Version 4.2020, 06/15/20 © 2020 National Comprehensive Cancer Network (NCCN). All rights reserved. NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

WCIGC 2016, JCO 2015

gastrointestinal tumours, colorectal

4500 Efficacy and circulating tumor DNA (ctDNA) analysis of the BRAF inhibitor dabrafenib (D), MEK inhibitor trametinib (T), and anti-EGFR antibody panitumumab (P) in patients (pts) w/ BRAF V600E-mutated (BRAF^{V600E}) metastatic colorectal cancer (mCRC)

R.B. Corcoran¹, T. André², T. Yoshino³, J.C. Bendell⁴, C.E. Atreya⁵, J.H. M. Schellens⁶, M.P. Ducreux⁷, A. McKinnon⁸, S. Stroyan⁹, C. Michalske¹⁰, M. Gianlorenzi¹¹, Y. Humblot¹², K. Muro¹³, E. Ebi¹⁴, R. Yancovitz¹⁵, R. Saha¹⁶

Dabrafenib+trametinib + panitumab kombinacija je učinkovita za zavoro MAPK poti pri BRAFV600E mCRC.

Kombinacija je vedno bolj učinkovita kot le BRAF-inhibiro.

Combined BRAF and MEK Inhibition With Dabrafenib and Trametinib in BRAF V600–Mutant Colorectal Cancer

Ryan B. Corcoran, Chloe E. Atreya, Gerald S. Falchook, Eunice L. Kwak, David P. Ryan, Johanna C. Bendell, Omid Hamid, Wells A. Messersmith, Adil Daud, Razelle Kurzrock, Mariaelena Pierobon, Peng Sun, Elizabeth Cunningham, Shonda Little, Keith Orford, Monica Motwani, Yuchen Bai, Kiran Patel, Alan P. Venook, and Scott Kopetz

See accompanying editorial on page 3990 and article on page 4032

ABSTRACT

Purpose To evaluate dabrafenib, a selective BRAF inhibitor, combined with trametinib, a selective MEK inhibitor, in patients with BRAF V600–mutant metastatic colorectal cancer (mCRC).

Patients and Methods

A total of 43 patients with BRAF V600–mutant mCRC were treated with dabrafenib (150 mg twice daily) plus trametinib (2 mg daily), 17 of whom were enrolled onto a pharmacodynamic cohort undergoing mandatory biopsies before and during treatment. Archival tissues were analyzed for microsatellite instability, PTEN status, and 487-gene sequencing. Patient-derived xenografts were established from core biopsy samples.

Results

Of 43 patients, five (12%) achieved a partial response or better, including one (2%) complete response, with duration of response > 36 months; 24 patients (56%) achieved stable disease as best confirmed response. Ten patients (23%) remained in the study > 6 months. All nine evaluable during-treatment biopsies had reduced levels of phosphorylated ERK relative to pretreatment biopsies (average decrease ± standard deviation, 47% ± 24%). Mutational analysis revealed that the patient achieving a complete response and two of three evaluable patients achieving a partial response had PIK3CA mutations. Neither PTEN loss nor microsatellite instability correlated with efficacy. Responses to dabrafenib plus trametinib were comparable in patient-derived xenograft-bearing mice and the biopsied lesions from each corresponding patient.

Conclusion

The combination of dabrafenib plus trametinib has activity in a subset of patients with BRAF V600–mutant mCRC. Mitogen-activated protein kinase signaling was inhibited in all patients evaluated, but to a lesser degree than observed in BRAF–mutant melanoma with dabrafenib alone. PIK3CA mutations were identified in responding patients and thus do not preclude response to this regimen. Additional studies targeting the mitogen-activated protein kinase pathway in this disease are warranted.

J Clin Oncol 33:4023-4031. © 2015 by American Society of Clinical Oncology

Treatment	N ^o of Patients	RR (%)	mPFS (months)	mOS (months)	
Single BRAF inhibitor	Vemurafenib [62]	21	5%	2.1 m	7.7 m
	Vemurafenib [60]	10	0%	4.5 m	9.3 m
	Encorafenib [82]	18	0%	4 m	-
Doublet BRAF + EGFR inhibitor	Vemurafenib + cetuximab [60]	27	3.7%	3.7 m	7.1 m
	Vemurafenib + panitumumab [72]	15	13%	3.2 m	7.6 m
	Dabrafenib + panitumumab [75]	20	10%	3.5 m	-
Doublet BRAF + MEK inhibitor	Encorafenib + cetuximab [74]	50	22%	4.2 m	-
	Dabrafenib + trametinib [76]	43	12%	3.5 m	-
Triplet BRAF + MEK + EGFR inhibitors	Dabrafenib + trametinib + panitumumab [75]	91	21%	4.2 m	9.1 m
Triplet BRAF + MEK + EGFR inhibitors	Encorafenib + cetuximab +/- binimetinib [81]	224 (triplet) 220 (doublet)	26% 20%	4.3 4.2	9.0 m 8.4 m
	Encorafenib + cetuximab + alpelisib [74]	52	27%	5.4 m	15.2 m
Triplet BRAF + EGFR inhibitors + irinotecan	Vemurafenib + cetuximab + irinotecan [80]	106	16%	4.4 m	-

RR: response rate; mPFS: median progression free survival; mOS: median overall survival; m: months.

Therapeutic Strategy	ClinicalTrials Identifier	Agents Investigated	Phase	Status
BRAF + EGFR + MEK inhibition	NCT01750918 [87]	Dabrafenib + panitumumab vs. dabrafenib + trametinib + panitumumab	II, open label	Active, not recruiting
		Dabrafenib + panitumumab vs. dabrafenib + trametinib + panitumumab vs. 5-FU-based chemotherapy + monoclonal antibody		
Chemotherapy + selective Wnt-1 inhibitor	NCT02906059 [88]	Irinotecan + AZD1775	Ib	Active, recruiting
BRAF + MEK + CDK4/CDK6 inhibitor	NCT01543698 [89]	Binimetinib + encorafenib vs. binimetinib + encorafenib + LEE011	Ib/II	Active, not recruiting
PORCN (Wnt-pathway) inhibitor + immunotherapy	NCT01351103 [90]	LGK974 +/- PDR001	I	Active, recruiting
BRAF + EGFR + Wnt pathway inhibitor	NCT02278133 [84]	Encorafenib + cetuximab + WNT974	I/II	Not active, not recruiting
BRAF + EGFR inhibitor + chemotherapy	NCT03727763 [91]	FOLFIRI + cetuximab + vemurafenib	II	Active, recruiting

Caputo F, et al. Int. J. Mol. Sci. 2019



GASTRO KONZILIJ (13.11.2019):

Kombinirano zdravljenje po shemi dabrafenib, trametinib in cetuksimab (BRAF, MEK in EGRF zaviralec) bi bolniku lahko prineslo dobrobit glede na znane podatke iz raziskav FAZE 3 (ZDA). Glede na dobro splošno stanje bolnika je preživetje pričakovano več kot 3 mesece.

**25.11.2020 uведен II red: PS po WHO 0
400 mg /m2 cetuksimaba + dabrafenib 150mg/12h + trametinib 2 mg/24h (4T)**

- Pojav kožne toksičnosti (obraz + trup) ter afte v ustih (G3) -redukcija cetuksimaba na 90%
- MRI lumbosakralne hrbtenice zaradi bolečin (feb. 2020): degenerativne spremembe

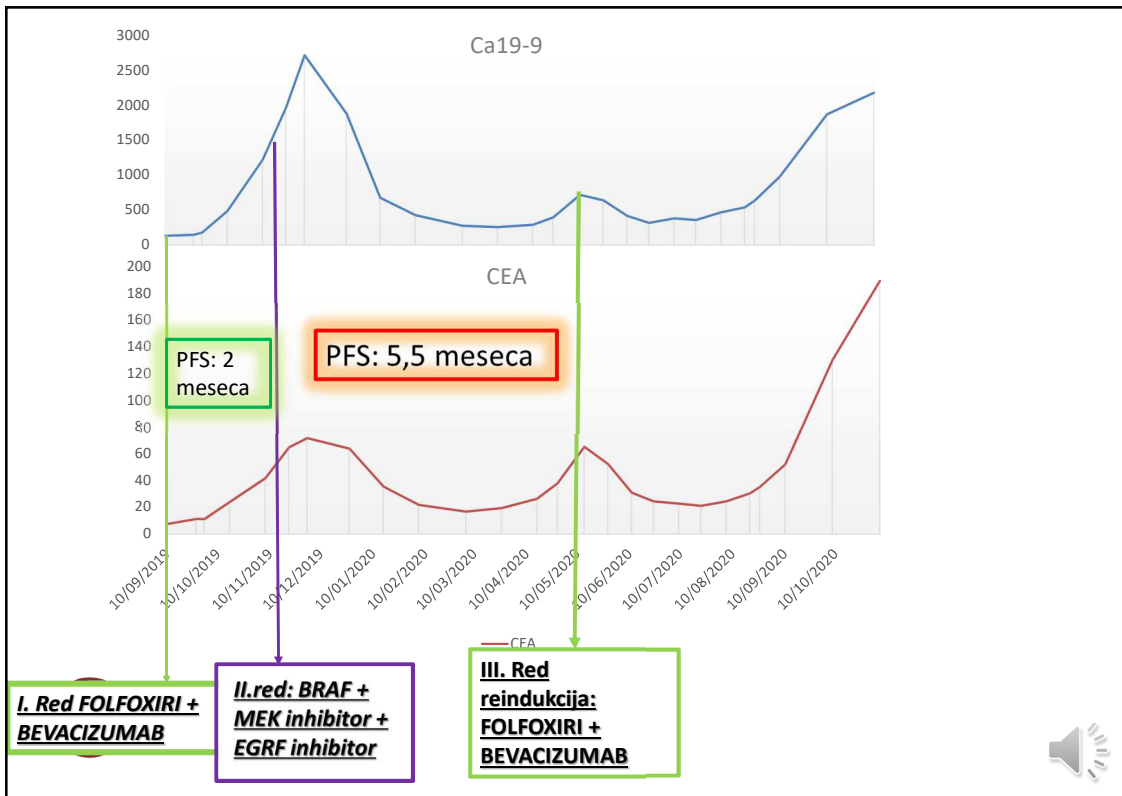
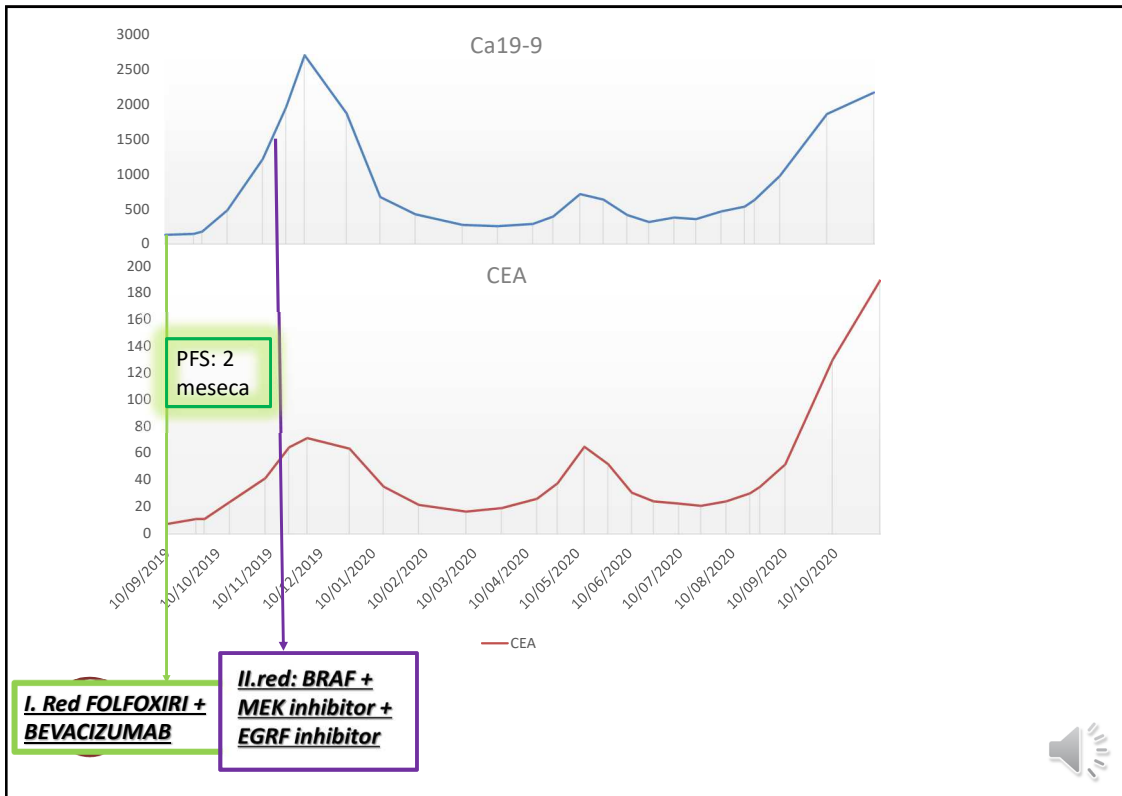
CT marec 2020: dober delni odgovor lezije v pljučih, metastaz v jetrih in patoloških bezgavk v trebuhu

Nadaljuje s terapijo

CT maj 2020: progres jetrnih zasevkov, prisoten ascites (malo), bezgavke retroperitonealno in mezenterialno so nespremenjene

PFS: 5,5 meseca





III. Red: 15.5.2020 – 11.9.2020 (4 mesece) Redindukcija FOLFOXIRI + bevacizumab

- PS po WHO 1, telesna teža stabilna
- Depresija, težave s spanjem
- Slabost, utrujenost, anksioznost
- Napotitev v ambulantno za zgodnjo paliativno obravnavo ter k psihoonkologu
- Na lastno željo dodatno testiranje Foundatione Liquid.

CT julij 2020: stagnacija bolezn

September 2020
Foundatione Liquid Cdx

Genomic Signatures

Blood Tumor Mutational Burden - 5 Muts/Mb
Microsatellite status - Cannot Be Determined
Tumor Fraction - 20%

Gene Alterations

For a complete list of the genes assayed, please refer to the Appendix.

BRAF V600E
MAP2K1 (MEK1) E102_I103del
MTOR I2500F
APC L954*, E1521*
TP53 R342*

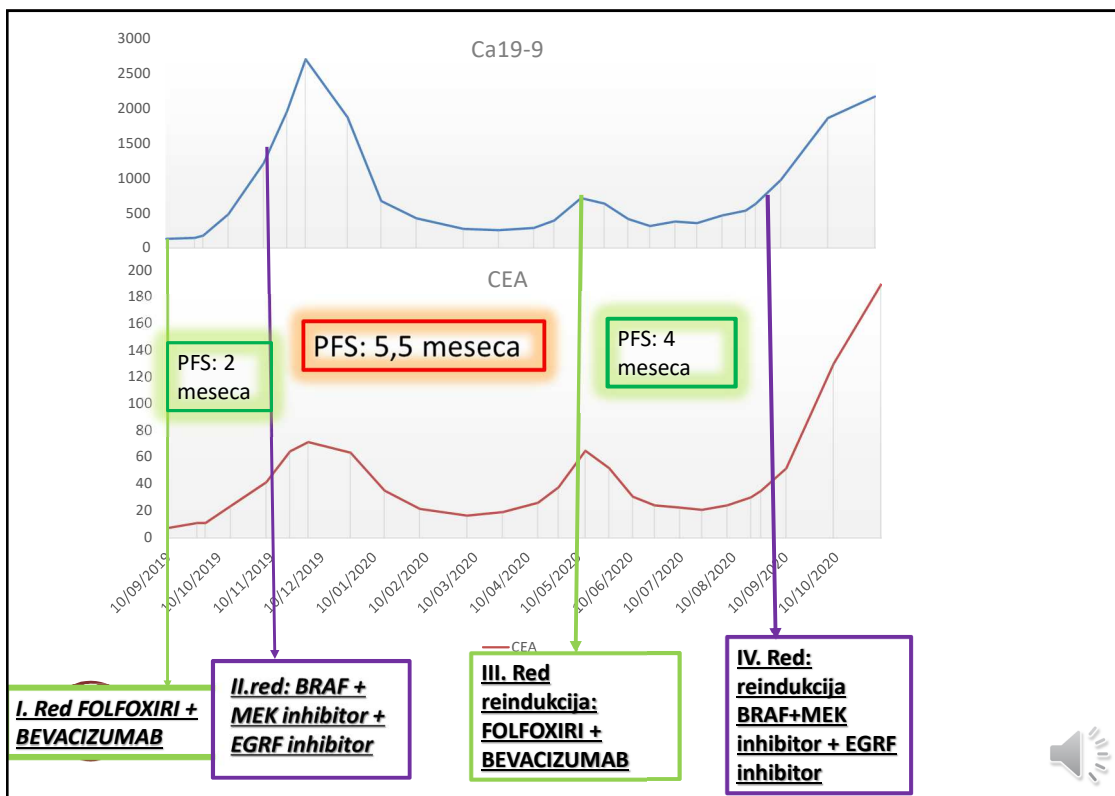
7 Therapies Approved in the EU
0 Therapies with Lack of Response

28 Clinical Trials



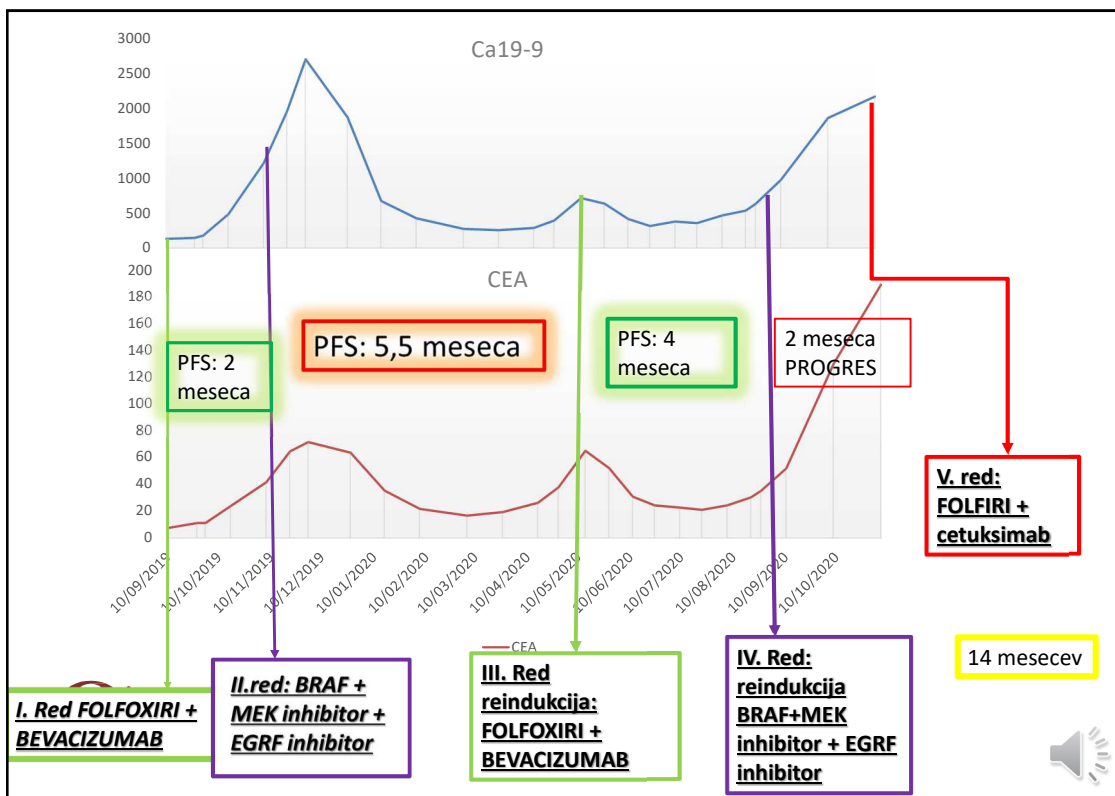
GENOMIC SIGNATURES			THERAPY AND CLINICAL TRIAL IMPLICATIONS	
Blood Tumor Mutational Burden - 5 Muts/Mb			No therapies or clinical trials. See Genomic Signatures section	
Microsatellite status - Cannot Be Determined			Unable to determine Microsatellite status due to insufficient evidence of genomic instability.	
Tumor Fraction - 20%			Tumor fraction is an estimate of the percentage of circulating-tumor DNA (ctDNA) present in a cell-free DNA (cfDNA) sample based on observed aneuploid instability.	
GENE ALTERATIONS	MAF %	THERAPIES APPROVED IN THE EU (IN PATIENT'S TUMOR TYPE)	THERAPIES APPROVED IN THE EU (IN OTHER TUMOR TYPE)	
BRAF - V600E	13.6%	Encorafenib [2A] Regorafenib [2A]	Binimetinib Cobimetinib Dabrafenib Trametinib Vemurafenib	
10 Trials see p. 14		None	Binimetinib Cobimetinib Trametinib	
MAP2K1 (MEK1) - E102_I103del	0.19%			
10 Trials see p. 16		None	None	
MTOR - I2500F	21.8%			
10 Trials see p. 18				





**IV. red. 11.9.2020- 6.11.2020 (2 meseca):
Reindukcija Dabrafenib + trametinib + cetuksimab**

- Ob povišanem Ca19-8: 978 , CEA: **PROGRES**
- PS po WHO 1, telesna teža stabilna
- Psihična obremenjenost (anksioznost, nespečnost, utrujenost)
- Laboratorijski izvidi ter splošno stanje bolnika omogočajo nadaljevanje zdravljenja s tarčnimi zdravili
- Prisotna normocitna anemija (Hb 124) ostali izvidi v mejah normale.
- Najboljši delni odgovor na kombinirano zdravljenje (PFS 5,5 meseca)
- Odločitev o ponovni uvedbi kombinaciji dabrafenib + trametinib+ cetikusumab (100 %)
- Prejme 2 ciklusa



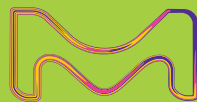
V. red: November 2020: FOLFIRI + cetuksimab

- Ob nadaljnji rasti tumorskih markerjev Ca 19-9: 2175 CEA: 189 **PROGRES**
- Fizično še vedno aktiven
- Prisotna nespečnost, utrujenost
- PS po WHO 1, stabilna telesna teža,
- Laboratorijsko prisotna anemija (Hb 111) ter blago povišan AST (0,79) CRP 180 LDH 8,6, feritin 1726, ostali izvidi v mejah normale
- Laboratorijski izvidi in splošno stanje bolnika dovoljujejo uvedbo V. reda zdravljenja
- **FOLFIRI + cetuksimab na 14/dni.**
- Zdravi se 14 mesec
- V dobri kondiciji ter z dobro obvladanimi stranskimi učinki systemskega zdravljenja
- Vključen v zgodnjo **paliativno obravnavo** ter **psihoonkološko pomoč**

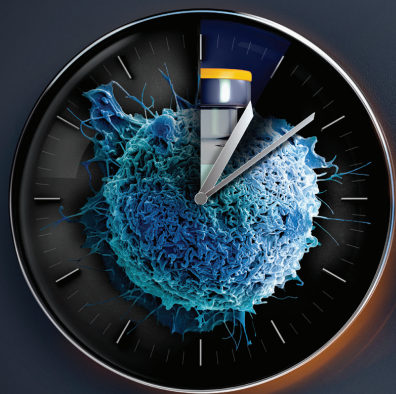
Zaključki:

- BRAF mutacija pri mCRC v **10%**
- Najpogosteje gre za **BRAF V600E** mutacijo
- Pogostejša pri **desnem** kolonu
- **Negativni** prognostični dejavnik
- BRAF V600E mCRC pogosto **kemorezistentna** bolezen
- mOS 12 mesecev
- Kombinacija BRAF+MEK+EGRF inhibitorja učinkovito **izboljša OS** in je dovolj **varna** za bolnika
- BRAF inhibitor v monoterapiji povzroči paradokсно aktivacijo MAPK poti
- Molekularna diagnostika pomembna kot prognostični dejavnik ter za odločitev o nadaljnjem zdravljenju po progresu na I. ali II. redu standardnega zdravljenja
- **V Sloveniji na voljo dabrafenib, trametinib ter cetuksimab za mCRC**
- Za zdravljenje v trojni kombinaciji je potrebno **zaprostiti** ZZS na podlagi kliničnih podatkov iz FAZE III
- **Binimetinib, encorafenib + cetuksimab za mCRC na voljo v ZDA (registracija FDA: april 2020) ter EU (EMA še ni registrirala) ne v Sloveniji**





Pravi čas



Izbrani bolnik



Najboljši odziv



Naše poslanstvo se nadaljuje

ERBITUX
CETUXIMAB

MERCK

Erbitux 5 mg/ml raztopina za infundiranje

Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila

Sestava: En ml raztopine za infundiranje vsebuje 5 mg cetuksimaba in pomožne snovi. Cetuksimab je himerno monoklonsko IgG protitelo.

Terapevtske indikacije: Zdravilo Erbitux je indicirano za zdravljenje bolnikov z metastatskim kolorektalnim rakom z ekspresijo receptorjev EGFR in nemutiranim tipom RAS v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi irinotekana, kot primarno zdravljenje v kombinaciji s FOLFOX in kot samostojno zdravilo pri bolnikih, pri katerih zdravljenje z oksaliplatinom in zdravljenje na osnovi irinotekana ni bilo uspešno in pri bolnikih, ki ne prenašajo irinotekana. Zdravilo Erbitux je indicirano za zdravljenje bolnikov z rakom skvamoznih celic glave in vratu v kombinaciji z radioterapijo za lokalno napredovalo bolezen in v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine za ponavljajočo se in/ali metastatsko bolezen. **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravilo Erbitux pri vseh indikacijah infundirajte enkrat na teden. Pred prvo infuzijo mora bolnik prejeti premedikacijo z antihistaminikom in kortikosteroidom najmanj 1 uro pred uporabo cetuksimaba. Začetni odmerek je 400 mg cetuksimaba na m² telesne površine. Vsi naslednji tedenski odmerki so vsak po 250 mg/m². **Kontraindikacije:** Zdravilo Erbitux je kontraindicirano pri bolnikih z znano hudo preobčutljivostno reakcijo (3. ali 4. stopnje) na cetuksimab. Kombinacija zdravila Erbitux s kemoterapijo, ki vsebuje oksaliplatin, je kontraindicirana pri bolnikih z metastatskim kolorektalnim rakom z mutiranim tipom RAS ali kadar status RAS ni znan. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Pojav hude reakcije, povezane z infundiranjem, zahteva takojšnjo in stalno ukinitvev terapije s cetuksimabom. Če pri bolniku nastopi blaga ali zmerna reakcija, povezana z infundiranjem, lahko zmanjšate hitrost infundiranja. Priporočljivo je, da ostane hitrost infundiranja na nižji vrednosti tudi pri vseh naslednjih infuzijah. Poročali so o primerih intersticijske pljučne bolezni (IPB), med katerimi so bili tudi smrtni primeri. Take bolnike je treba skrbno spremljati. Če ugotovite intersticijsko bolezen pljuč, morate zdravljenje s cetuksimabom prekiniti, in bolnika ustrezno zdraviti. Če se pri bolniku pojavi kožna reakcija, ki je ne more prenašati, ali huda kožna reakcija (≥ 3. stopnje po kriterijih CTCAE), morate prekiniti terapijo s cetuksimabom. Z zdravljenjem smete nadaljevati le, če se je reakcija izboljšala do 2. stopnje. Zaradi možnosti pojava znižanja nivoja elektrolitov v serumu se pred in periodično med zdravljenjem s cetuksimabom priporoča določanje koncentracije elektrolitov v serumu. Pri bolnikih, ki prejemajo cetuksimab v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine, obstaja večje tveganje za pojav hude nevtropenije. Takšne bolnike je potrebno skrbno nadzorovati. Pri predpisovanju cetuksimaba je treba upoštevati kardiovaskularno stanje in indeks zmogljivosti bolnika in sočasno dajanje kardiotoksičnih učinkovin kot so fluoropirimidini. Če je diagnoza ulcerativnega keratitisa potrjena, je treba zdravljenje s cetuksimabom prekiniti ali ukiniti. Cetuksimab je treba uporabljati previdno pri bolnikih z anamnezo keratitisa, ulcerativnega keratitisa ali zelo suhih oči. Cetuksimaba ne uporabljajte za zdravljenje bolnikov s kolorektalnim rakom, če imajo tumorje z mutacijo RAS ali pri katerih je tumorski status RAS neznan. **Interakcije:** Pri kombinaciji s fluoropirimidini se je v primerjavi z uporabo fluoropirimidinov, kot monoterapije, povečala pogostnost srčne ishemije, vključno z miokardnim infarktom in kongestivno srčno odpovedjo ter pogostnost sindroma dlani in stopal. V kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine se lahko poveča pogostnost hude levkopenije ali hude nevtropenije. V kombinaciji s kapecitabinom in oksaliplatinom (XELOX) se lahko poveča pogostnost hude driske. **Neželeni učinki:** Zelo pogosti (≥ 1/10): hipomagneziemija, povečanje ravnih jetrnih encimov, kožne reakcije, blage ali zmerne reakcije povezane z infundiranjem, mukozitis, v nekaterih primerih resen. Pogosti (≥ 1/100 do < 1/10): dehidracija, hipokalcemija, anoreksija, glavobol, konjunktivitis, driska, navzeja, bruhanje, hude reakcije povezane z infundiranjem, utrujenost. **Posebna navodila za shranjevanje:** Shranjujte v hladilniku (2 °C - 8 °C). **Pakiranje:** 1 viala z 20 ml ali 100 ml raztopine. **Način in režim izdaje:** Izdaja zdravila je le na recept-H. **Imetnik dovoljenja za promet:** Merck Europe B.V., Amsterdams, Nizozemska. **Datum zadnje revizije besedila:** maj 2019.

Pred predpisovanjem zdravila natančno preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Samo za strokovno javnost.

Podrobnejše informacije so na voljo pri predstavniku imetnika dovoljenja za promet z zdravilom:

Merck d.o.o., Letališka cesta 29c, 1000 Ljubljana, tel.: 01 560 3810, faks: 01 560 3830, el. pošta: info@merck.si



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Molekularna diagnostika mRDČD

*Klinični primer: pomen visokega
TMB pri mCRC*

Karla Berlec, dr.med

doc. dr. Martina Reberšek, dr.med

Marko Boc, dr.med

OI Ljubljana, 19-20.11.2020.

Klinični primer: 33. letni

A.P

Jeseni 2019

Bolečine v trebuhu,
tipanje manjše bule po desni strani trebuha,
odvajanje sveže krvi na blatu, hujšanje (približno 10kg v 1 letu)

Sprožena dodatna diagnostika



Klinični primer: 33. letni A.P.

December 2019

Stenozanten tumor hepatalne fleksure.

CT prsnega koša in trebuha s KS: brez znakov za razsoj bolezni.

Operacija v SB Izola (23.12.2019): razširjena desnostranska hemikolektomija z ileodescendo-anastomozo in D3 limfadenektomijo.



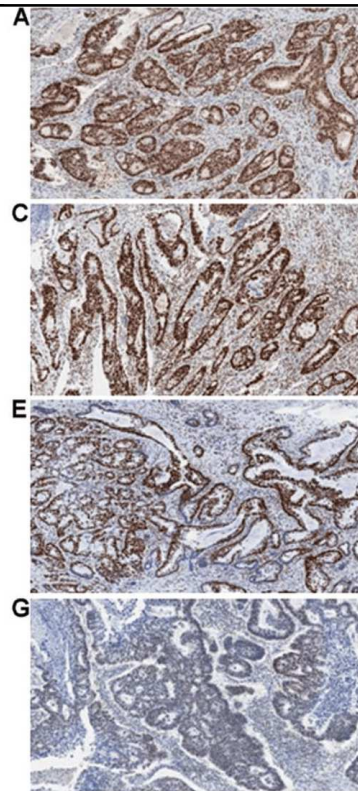
Histološki izvid:

nediferenciran karcinom transverznega kolona, vraščanje v perikolično maščevje, perforacija visceralnega peritoneja, karcinomska limfangioza, resekcija v zdravo;
pT4aN0 (0/49),

Izvid imunohistokemičnega barvanja za MMR proteine v vzorcu tumorja:

MLH1 ohranjena ekspresija
MSH2 ohranjena ekspresija
MSH6 ohranjena ekspresija
PMS2 ohranjena ekspresija

IHK barvanja niso pokazala izgube ekspresije MMR proteinov – verjetnost da gre za MSI –H tumor (v sklopu Lynch sindroma) je majhna.



Februar 2020 – 1. pregled pri internistu onkologu

DA: Babica po očetovi strani – rak želodca,
 OA: Debelost v otroški dobi (shujšal 40 kg namenoma)

- brez kroničnih bolezni,
- zdravljenje zaradi depresije (2019)
- brez redne terapije,
- kadilec (16 let),

- PS po WHO = 0.

TUMOR:

- stadij II,
- slabi prognoistični dejavniki: pT4a, nediferenciran karcinom, karcinomska limfangioza,
- najverjetneje MSI stabilen tumor,



- lab. izvidi: brez večjih odstopanj od normale.

Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[†]

G. Argilés¹, J. Tabernero², R. Labianca³, D. Hochhauser⁴, R. Salazar⁵, T. Iveson⁶, P. Laurent-Puig^{7,8,9}, P. Quirke¹⁰, T. Yoshino¹¹, J. Taieb^{7,8,9,12}, E. Martinelli¹³ & D. Arnold¹⁴, on behalf of the ESMO Guidelines Committee

- The risk of relapse after a colon cancer resection should be assessed by integrating the TNM staging, MMR/MSI status and number of lymph nodes sampled (±12) [III, A].
- MSI/MMR status is the only validated molecular marker used in adjuvant decision making and should be determined in stage II CRC. In stage III, usage of MMR status is limited to detect and identify Lynch syndrome [IV, A].
- For patients with intermediate risk (non-MMR/MSI + any risk factor except pT4 or <12 lymph nodes assessed), 6 months of fluoropyrimidines should be recommended [I, B].

NCCN National Comprehensive Cancer Network® NCCN Guidelines Version 4.2020 Colon Cancer

PATHOLOGIC STAGE ^m	ADJUVANT TREATMENT ^{b,u,v}
Tis; T1, N0, M0; T2, N0, M0; T3-4, N0, M0 ⁿ (MSI-H/dMMR)	Observation
T3, N0, M0 ^{n,o} (MSS/pMMR and no high-risk features)	Observation or Consider capecitabine ^q or 5-FU/leucovorin ^q
T3, N0, M0 at high risk for systemic recurrence ^{o,p} or T4, N0, M0 (MSS/pMMR)	Capecitabine ^{q,r} or 5-FU/leucovorin ^{q,r} or FOLFOX ^{q,r,s,t} or CAPEOX ^{q,r,s,t} or Observation
T1-3, N1 (low-risk stage III)	Preferred: • CAPEOX (3 mo) ^{q,t} or • FOLFOX (3-6 mo) ^{q,t} (category 1 for 6 mo) or Other options include: Capecitabine (6 mo) ^q or EOX (3-6 mo) ^{q,r,t} (category 1 for 6 mo) Preferred: • EOX (3-6 mo) ^{q,r,t} (category 1 for 6 mo) or • FOLFOX (6 mo) ^{q,r,t} (category 1) Other options include: Capecitabine (6 mo) ^{q,r} or

stadij II, MSS/pMMR , visok riziko za ponovitev bolezni

Februar – junij 2020 - Adjuvantno zdravljenje

KAPECITABIN MONOTERAPIJA

Skupno 6 ciklov.

Po 5. ciklu:

NU: utrujenost, tekoče odvajanje blata (do 4x dnevno),
tipna zatrdlina v pooperativni brazgotini (5 x 5 cm),
TM normalna,
napoten na UZ trebuha.

6. cikel predčasno zaključen zaradi poslabšanja splošnega stanja (utrujenost, izguba apetita, bolečina v hrbtenici).



Julij 2020

Hospitalizacija v SB Izola:

- inapetenca, hujšanje,
- pekoča bolečina v področju ledvene hrbtenice, ki seva v trebuh,
- tipna zatrdlina v poop. brazgotini, ki se veča,
- nespečnost, ponovno jemanje antidepressivov.

Porast TM Ca 19-9: **138**.

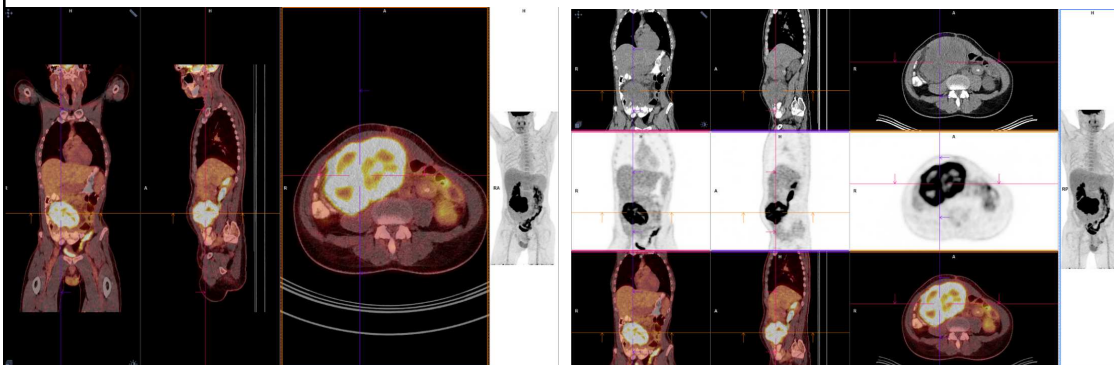
UZ in CT trebuha:

Metastaza parasagitalno desno ob brazgotini,
7,8 x 5,8 cm, več drobnih bezgavk v mezenteriju.

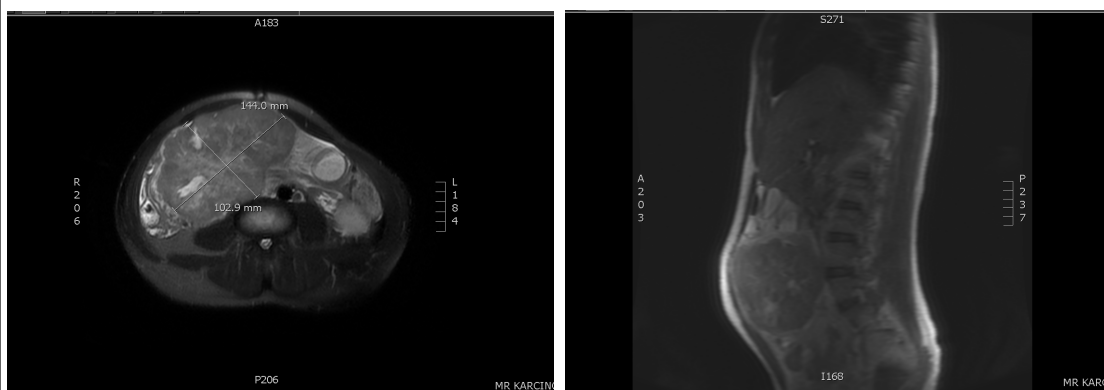


PET CT

Obsežen tumorski infiltrat v desnem hemiabdomnu



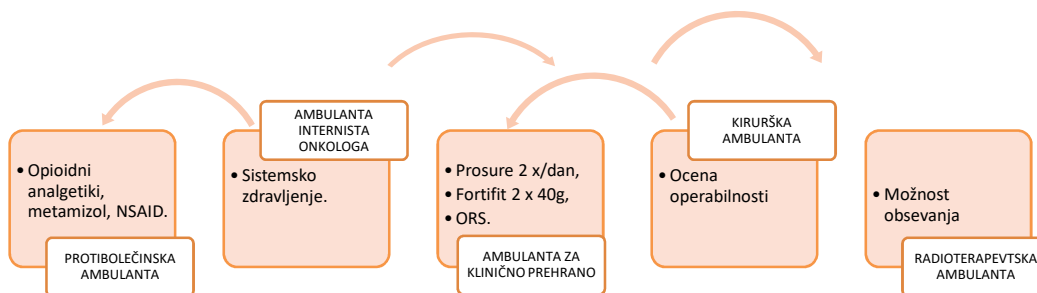
MR po protokolu za karcinoma peritoneja



Obsežen tumorski infiltrat v desnem hemiabdomnu



Multidisciplinarni pristop



Dodatna molekularna diagnostika (iz primarnega tumorja)

24.9.2020 – delni izvid

Pri analizi smo uporabili sledeče metode:
 Ekstrakcija nukleinskih kislin:
 Tumorsko tkivo: MAGMAX FFPE RNA/DNA ULTRA KIT (Thermo Fisher)
 Netumorsko tkivo: QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen)
 Pomnožitve genetskih označevalcev s PCR in fragmentna analiza na kapilarni elektroforezi*.

Rezultati:
 Tip testa: **Mikrosatelitska nestabilnost-MSI:** **Rezultat*:** **MSI-S (stabilen vzorec)** **Delež genetskih označevalcev, ki kažejo nestabilnost:** **0/6**

Obrazložitev:
 Mikrosatelitska nestabilnost tumorskega tkiva je pokazatelj okvare delovanja mehanizmov za popravljanje neujemanj nukleotidnih baz na nivoju DNA (angl. mismatch repair-MMR). Najpogostejše gre za okvaro delovanja oz. izražanja proteinov MLH1, MSH2, MSH6 ali PMS2. V primeru dokazane mikrosatelitske nestabilnosti je priporočeno testiranje vzorca na prisotnost mutacij v genu BRAF in/ali določanje metilacijskega statusa MLH1 promotorja.

Pri analizi smo uporabili sledeče metode:
 Ekstrakcija nukleinskih kislin: MAGMAX FFPE RNA/DNA ULTRA KIT (Thermo Fisher)
 RT PCR: Colorectal Cancer Mutation Detection Panel (Entrogen)

Rezultati:

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE				
Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	Učinkovina	Pričakovani odgovor
KRAS	nemutiran		anti-EGFR	občutljiv - verjetno odgovori na zdravljenje
NRAS	nemutiran			
Bolniki z metastatskim rakom debelega črevesa in danke, pri katerih v tumorju ne dokažemo klinično pomembne različice (mutacije) v genih KRAS/NRAS, so primerni za zdravljenje z inhibitorji receptorjev za epidermalni rastni dejavnik (EGFR).				
BRAF	nemutiran			
V primeru, da v tumorju ni dokazana klinično pomembna različica (mutacija) v genu BRAF in je dokazana mikrosatelitska nestabilnost, je priporočljivo napotiti pacienta na posvet s specialistom klinične genetike in testiranje za sindrom Lynch. Klinično pomembne različice V600E - p.(Val600Glu), V600K - p.(Val600Lys), V600D - p.(Val600Asp), V600R - p.(Val600Arg), V600M - p.(Val600Met) in V600G - p.(Val600Gly) v genu BRAF zvišajo aktivnost proteina BRAF in so močan pokazatelj sporadične oblike raka debelega črevesa in danke. Klinično pomembne različice (mutacije) v genu BRAF so skoraj vedno prisotne v MSI-H, CIMP+ tumorjih debelega črevesa in danke.				
Z genotipizacijo DNA nismo dokazali klinično pomembnih različic.				



Colorectal Cancer: Two Different Diseases

CIN+ (85%) Chromosomal Instability	MSI-H (15%) Genetic (Microsatellite) Instability
Aneuploidy, loss of heterozygosity/loss of genetic material	Diploidy, no loss of heterozygosity
Proficient Mismatch Repair system Microsatellite stable (MSS)	Deficient Mismatch repair system Microsatellite instability (MSI)
Sporadic or Familial Adenomatous Polyposis (FAP)	Sporadic or Lynch syndrome
95% of metastatic colorectal cancer	5% of metastatic colorectal cancer Prognosis and chemosensitivity of MSI seems worse vs MSS ¹⁻³
More prevalent in distal location	More prevalent in proximal location
Frequent mutation of KRAS	Frequent mutation of BRAF ^{V600E}
Tumor mutation burden low	Tumor mutation burden high Increased immune infiltration, higher tumour neo-antigens
No clear efficacy of immune check point inhibitor ⁴	Efficacy of immune check point inhibitor in phase I and II ⁴⁻⁷

1. Veldersbosch S et al. Clin Cancer Res 2014;20:5322-30. 2. Innocenti F et al. J Clin Oncol 2019;37:1217-1227. 3. Tougeron D et al. Int J Cancer 2020;Epub. 4. Le DT et al. N Engl J Med 2015;372:2509-20. 5. Le D et al. J Clin Oncol 2020;38:11-19. 6. Overman M et al. Lancet Oncol 2017;18:1182-91. 7. Overman M et al. J Clin Oncol 2018;36:773-79.

PRESENTED AT: 2020 ASCO ANNUAL MEETING

#ASCO20
Views are the property of the author. Permission required for reuse.

PRESENTED BY: Thierry Andre, MD



September – oktober 2020 – sistemsko zdravljenje I. reda

FOLFOX

Skupno 4 aplikacije.

KRAS, NRAS, BRAF wildtype - ob 3. aplikaciji dodan PANITUMUMAB.

NU: utrujenost, slabost, bruhanje po 1. aplikaciji, driska (7 x dnevno), hujšanje po 3. aplikaciji.

Po 4. aplikacijah klinično in laboratorijsko:

REGRES BOLEZNI



Dodatna molekularna diagnostika

Dokončni izvid molekularne diagnostike – sekvenciranje NGS:

Gen/Fuzija	Rezultat	Različica	AF(%)	Učinkovina	Priporočen odgovor
MSH2	različica razreda I	c.1738G>T p.(Glu580*)	10.75	zaviralci PD-1/PDL-1	občutljiv - verjetno odgovori na zdravljenje
POLE	različica razreda II	c.?			
ALK	različica razreda III	c.21			
ATM	različica razreda III	c.74			
ATM	različica razreda III	c.32			
BRAF	različica razreda III	c.20			
EGFR	različica razreda III	c.28			
EP300	različica razreda III	c.17			
EP300	različica razreda III	c.458			
ERBB2	različica razreda III	c.221			
FGFR2	različica razreda III	c.187G>T p.(Asp262Tyr)	10.02		
KDR	različica razreda III	c.3721G>T p.(Asp1241Tyr)	12.66		
KDR	različica razreda III	c.2477A>C p.(Lys826Thr)	11.1		
KIT	različica razreda III	c.2803-1G>T p.?	13.36		
MSH3	različica razreda III	c.1360C>T p.(Arg454*)	11.11		
PDGFRA	različica razreda III	c.1237G>T p.(Val413Phe)	11.07		
PDGFRA	različica razreda III	c.2488A>C p.(Lys830Gln)	10.43		
PTEN	različica razreda III	c.501G>T p.(Lys167Asn)	9.95		

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE

MSH2 različica razreda I

Različice razreda I so različice z znanim kliničnim pomenom. Različica razreda I c.1738G>T p.(Glu580*) v genu MSH2 povzroča nastanek prezgodnjega stop kodona ter posledično nastanek okrnjenega ali spremenjenega proteina. Bolniki z rakom debelega črevesa in danke in z dokazano klinično v genu MSH2 (MMR geni) odgovorijo na zdravljenje z zaviralci PD-1/PDL-1. Z uporabljenimi metodami ni možno ločiti somatskih Zarodne patogene različice v genu MSH2 so povezane s sindromom Lynch. V primeru, da klinična slika ustreza sindromu Lynch, jvo napotiti na posvet s specialistom klinične genetike.

KRAS nemutiran

Bolniki z metastatskim rakom debelega črevesa in danke, pri katerih v tumorju ne dokažemo klinično pomembne različice (mutacije) v genih KRAS/ NRAS, so primerni za zdravljenje z inhibitorji receptorjev za epidermalni rasti dejavnik (EGFR).

NRAS nemutiran

BRAF nemutiran

V primeru, da v tumorju ni dokazana klinično pomembna različica (mutacija) v genu BRAF in je dokazana mikrosatelitska nestabilnost, je priporočljivo napotiti pacienta na posvet s specialistom klinične genetike in testiranje za sindrom Lynch. Klinično pomembne različice V600E - p.(Val600Glu), V600K - p.(Val600Lys), V600D - p.(Val600Asp), V600R - p.(Val600Arg), V600M - p.(Val600Met) in V600C - p.(Val600Cys) v genu BRAF zvišajo aktivnost proteina BRAF in so močan pokazatelj sporadične oblike raka debelega črevesa in danke. Klinično pomembne različice (mutacije) v genu BRAF so skoraj vedno prisotne v MSI-H, CIMP+ tumorjih debelega črevesa in danke.

ERBB2 nepomnožen

Gen ERBB2 ni pomnožen. Bolnik z rakom debelega črevesa in danke brez pomnožitve gena ERBB2 najverjetneje ne odgovorijo za zdravljenje z zaviralci HER2.

ERBB2 zaviralci HER2 neobčutljiv - verjetno ne odgovori na zdravljenje

Z genotipizacijo DNA smo dokazali klinično pomembne različice.

TMB 337 različic/Mb

Dozajem TMB preračunan na eno mega bazo (1Mb) je 337 različic/Mb. Za izračun so upoštewane vse verjetno somatske različice v celotnem panelu TruSight Oncology 500, razen globokointronskih in tihih (sinonimnih) različic.



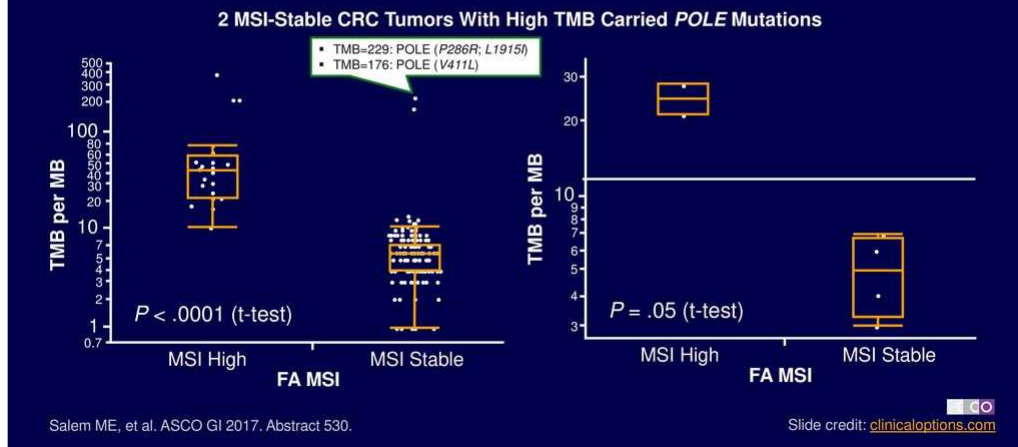
MSH2 mutacija razreda 1

Visoko mutacijsko breme
TMB 337 mutacij/Mb

- Genetske mutacije – značilnost malignih tumorjev
- Odgovorne za večino nevarnih rakavih karakteristik (nekontrolirana rast, metastaziranje)
- **Tumorsko mutacijsko breme (TMB):** Število mutacij tumorja – biomarker
- Te mutacije lahko vodijo v tvorbo mutiranih proteinov – **neoantigenov** oz tarč, katere lahko imunski sistem uporabi za napad na rakave celice
- Večje kot je TMB- večja verjetnost za odziv na imunoterapijo
- Visok TMB povezan s predobstoječim imunskim odzivom in ekspresijo PD-1/PDL1



Tumor Mutation Burden and MSI Are Highly Correlated in GI Cancers



November 2020

Konzilij za tumorje prebavil:
prošnja ZZS za odobritev zdravljenja z imunoterapijo

PEMBROLIZUMAB

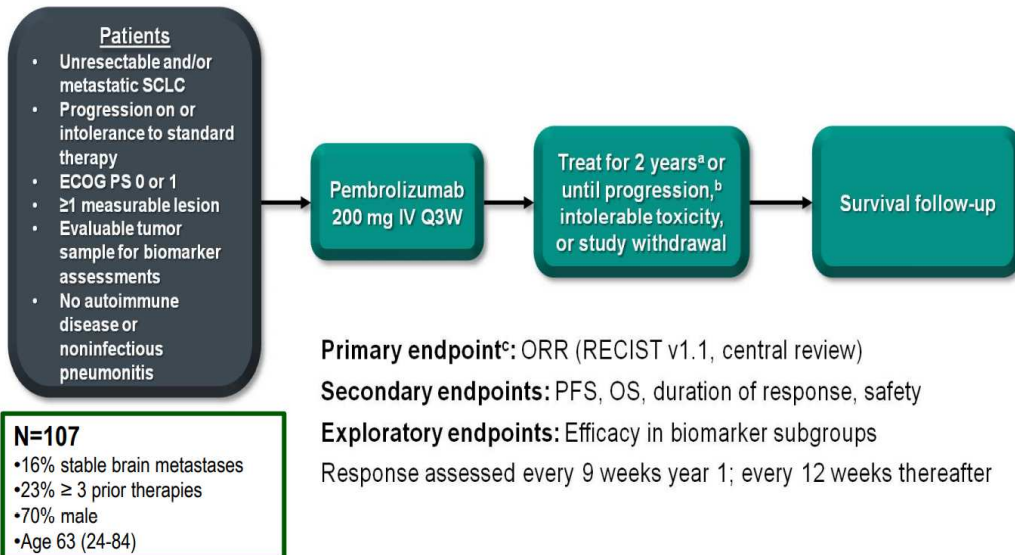
Klinična raziskava: KEYNOTE
158

Ponovna hospitalizacija v SB Izola
Huda anemija
Driska, izčrpanost, hujšanje

Hudo poslabšanje prehranskega stanja



KEYNOTE-158 (NCT02628067): Phase 2 Multicohort Study of Pembrolizumab for Advanced Solid Tumors



	Safety population (n=105)*	Efficacy population	
		tTMB-high group (n=102)	Non-tTMB-high group (n=688)
(Continued from previous column)			
Tumour types [§]			
Anal	14 (13%)	14 (14%)	75 (11%)
Biliary	0	0	63 (9%)
Cervical	16 (15%)	16 (16%)	59 (9%)
Endometrial	15 (14%)	15 (15%)	67 (10%)
Mesothelioma	1 (1%)	1 (1%)	84 (12%)
Neuroendocrine	5 (5%)	5 (5%)	82 (12%)
Salivary	3 (3%)	3 (3%)	79 (11%)
Small-cell lung	34 (32%)	34 (33%)	42 (6%)
Thyroid	2 (2%)	2 (2%)	78 (11%)
Vulvar	15 (14%)	12 (12%)	59 (9%)

Data are n (%) or median (IQR). ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group. M0=no metastases; M1=metastases present. MSI-H=high microsatellite instability; tTMB-high=high tissue tumour mutational burden. *All participants in the safety population were assessed as having tTMB-high status. †Comprises patients with tumours with low microsatellite instability or were microsatellite stable. ‡Received adjuvant or neoadjuvant alone without recurrence for less than 12 months since completing the therapy or received definitive therapy alone, which cannot be considered a line of therapy. §The 14 MSI-H tumours were endometrial (n=10), cervical (n=2), thyroid (n=1), and salivary (n=1).

Table 1: Baseline demographics and clinical characteristics

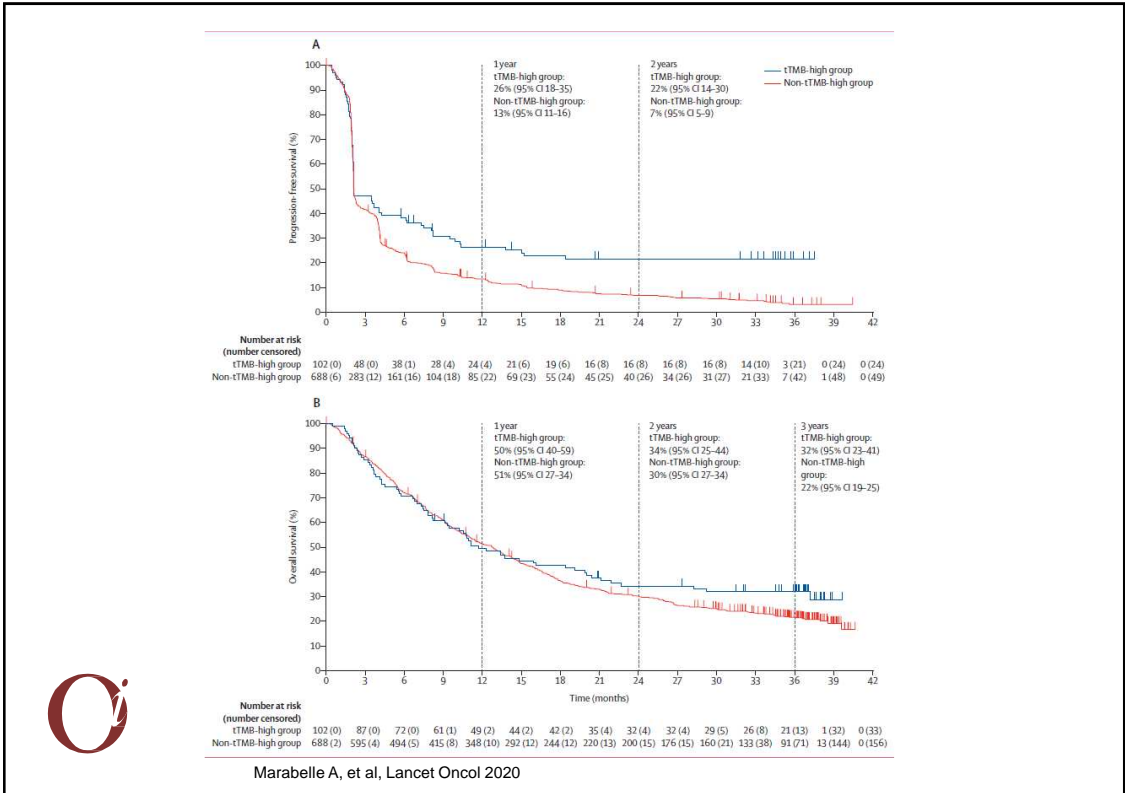
	tTMB-high (n=102)	tTMB-high (excluding MSI-H; n=81)*	Non-tTMB-high (n=688)
Best response			
Complete response	4 (4%)	3 (4%)	11 (2%)
Partial response	26 (25%)	20 (25%)	32 (5%)
Stable disease	14 (14%)	11 (14%)	227 (33%)
Non-complete response or non-progressive disease [†]	0	0	3 (<1%)
Progressive disease	48 (47%)	38 (47%)	349 (51%)
Not evaluable [‡]	1 (1%)	1 (1%)	13 (2%)
Not assessed [§]	9 (9%)	8 (10%)	53 (8%)
Objective response rate	29% (21-39)	28% (19-40)	6% (5-8)

Data are n (%) or % (95% CI). MSI-H=high microsatellite instability. RECIST=Response Evaluation Criteria in Solid Tumors. tTMB-high=high tissue tumour mutational burden. *Excludes 14 patients who were MSI-high and seven additional patients who had missing MSI status. †Patients without measurable disease per central review at baseline who did not have a complete response or progressive disease. ‡Patients who did not have a post-baseline imaging assessment evaluable for response. §Patients who did not have post-baseline imaging.

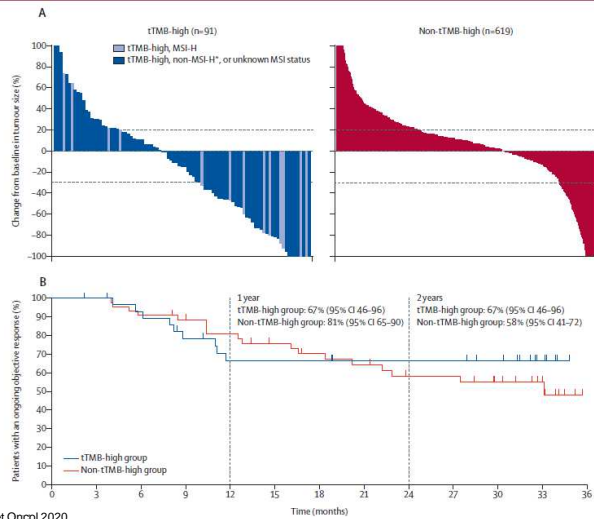
Table 2: Objective response (per RECIST version 1.1), assessed by independent central review in the efficacy population



Marabelle A, et al, Lancet Oncol 2020



KEYNOTE 158



TMB 10 ≥ mut/Mb:

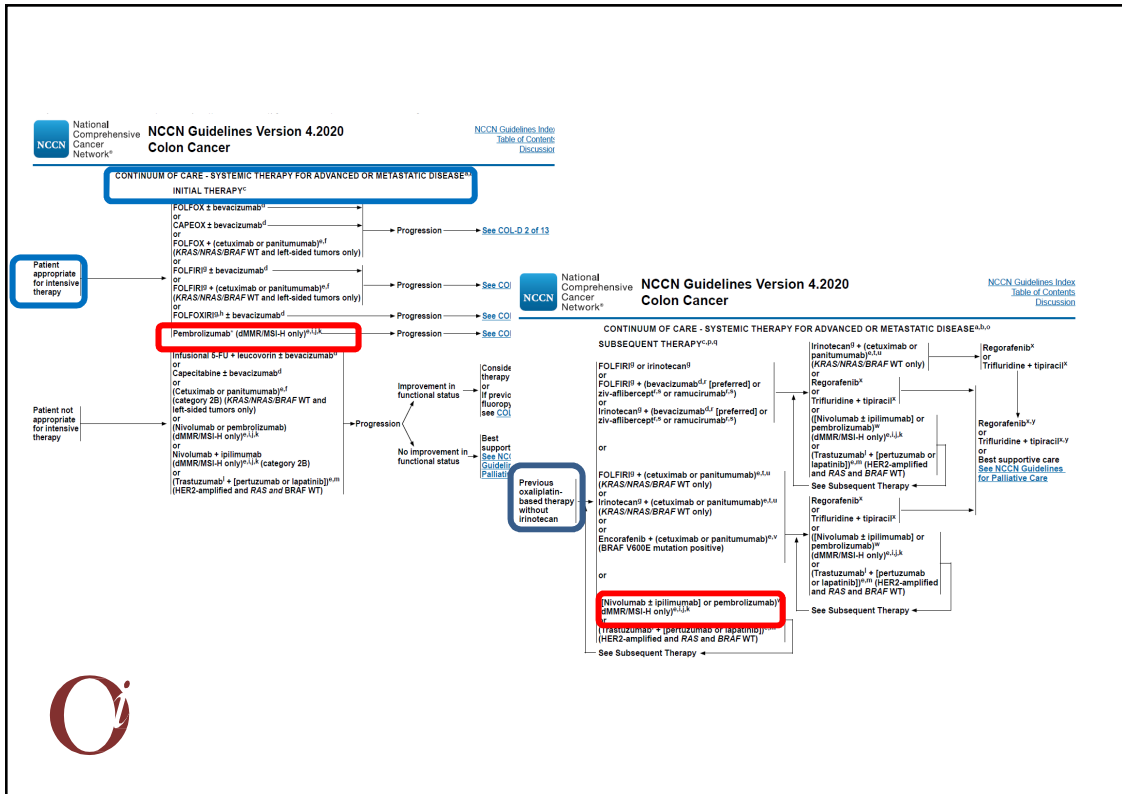
Junij 2020 FDA: indikacija za pembrolizumab za zdravljenje odraslih in pediatričnih bolnikov z neresektabilnimi ali metastatskimi solidnimi raki, v primeru "TMB-high" (≥10 mut/Mb), po predhodnem progresu na prvo zdravljenje brez možnosti nadaljnje učinkovite terapije



EDITORIAL

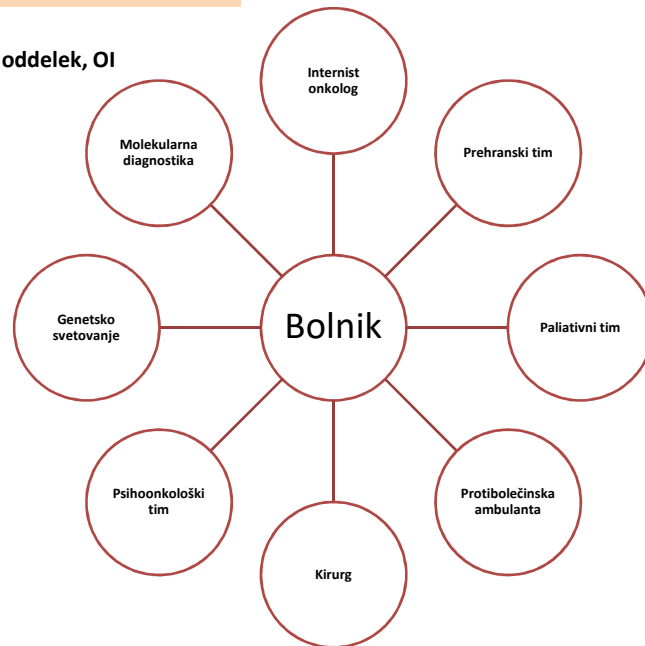
The FDA approval of pembrolizumab for patients with TMB >10 mut/Mb: was it a wise decision? No

There are 12 reasons why the US FDA's approval of pembrolizumab for patients with ≥ 10 mutations/megabase (mut/Mb) progressing on one prior line without satisfactory alternatives is an unwise decision.



November 2020

Sprejem na H1 oddelek, OI



November 2020

Sprejem na H1 oddelek, OI

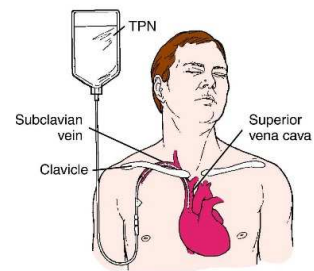
Uvedba IMUNOTERAPIJE – PEMBROLIZUMAB

Protibolečinska terapija – elastomerna črpalka

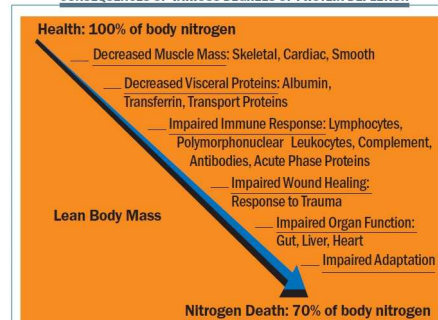
Parenteralna prehranska podpora - refraktarna kaheksija?

Palitativna podpora

Psihološka podpora



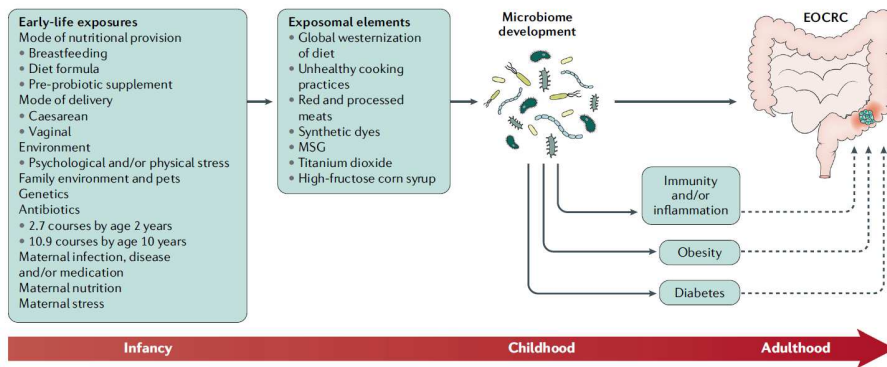
CONSEQUENCES OF VARIOUS DEGREES OF PROTEIN DEPLETION



WP Siefree (1980) JAMA 244:2630-35, © 1980 American Medical Association. All rights reserved

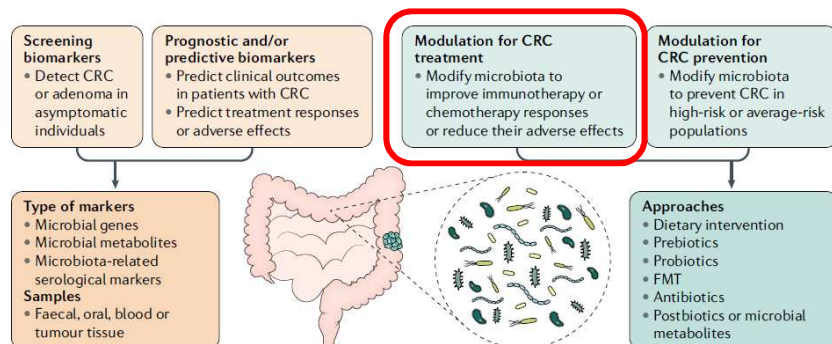


Vpliv zunanjih dejavnikov na razvoj črevesnega mikrobioma



Hobfeli L, et al. Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. Volume 17, June 2020

Črevesna mikrobiota pri raku debelega črevesa in danke - klinična uporaba



Wong SH, et al. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. Nature reviews, Volume 16, November 2019

Drugi biomarkerji in dejavniki, ki vplivajo na nastanek RDČ in prognozo

Anamnesticno:

- Debelost
- Kajenje

Črevesna mikrobiota

Črevesna flora

- Rezultat**
1. *Enterococcus faecalis* 2+
 2. *Escherichia coli* 3+

ABSTRACTS BIOMARKERS | VOLUME 29, SUPPLEMENT 8, VIII42, OCTOBER 01, 2018

Sarcopenia and inflammation predicts survival in advanced stage cancer patients (pts) treated with immunotherapy (IO)

M.A. Bilen • D.J. Martin • J.M. Shabo • ... T.K. Owonikoko • R.D. Harvey • V.A. Master • Show all authors

Published in *Advanced Melanoma*
Journal Scan / Research • December 24, 2019

Sarcopenia and Systemic Inflammation Reduce Survival of Advanced-Stage Cancer Treated With Immunotherapy

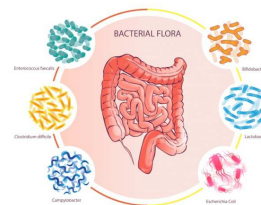
The Oncologist

Oncologist. 2020 May; 25(5): e875.

Published online 2020 Mar 19. doi: [10.1634/theoncologist.2019-1005](https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-1005)

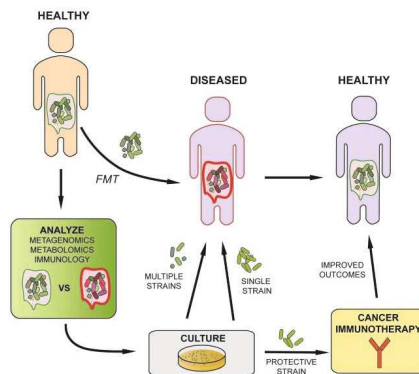
Sarcopenia and Inflammation with Immunotherapy

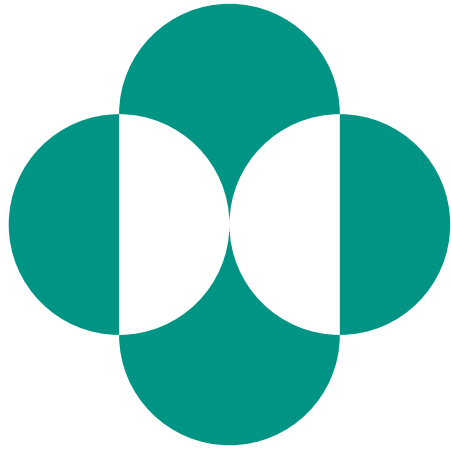
[Osman Köstek](#)¹ and [Tanik Demir](#)²



V prihodnosti:

Moduliranje črevesne mikrobiote za zmanjšanje kroničnega vnetja in s tem zmanjšanja ipNU-kolitis, in za spodbujanje odziva imunskega sistema za večjo učinkovitost imunoterapije





MSD

INVENTING FOR LIFE



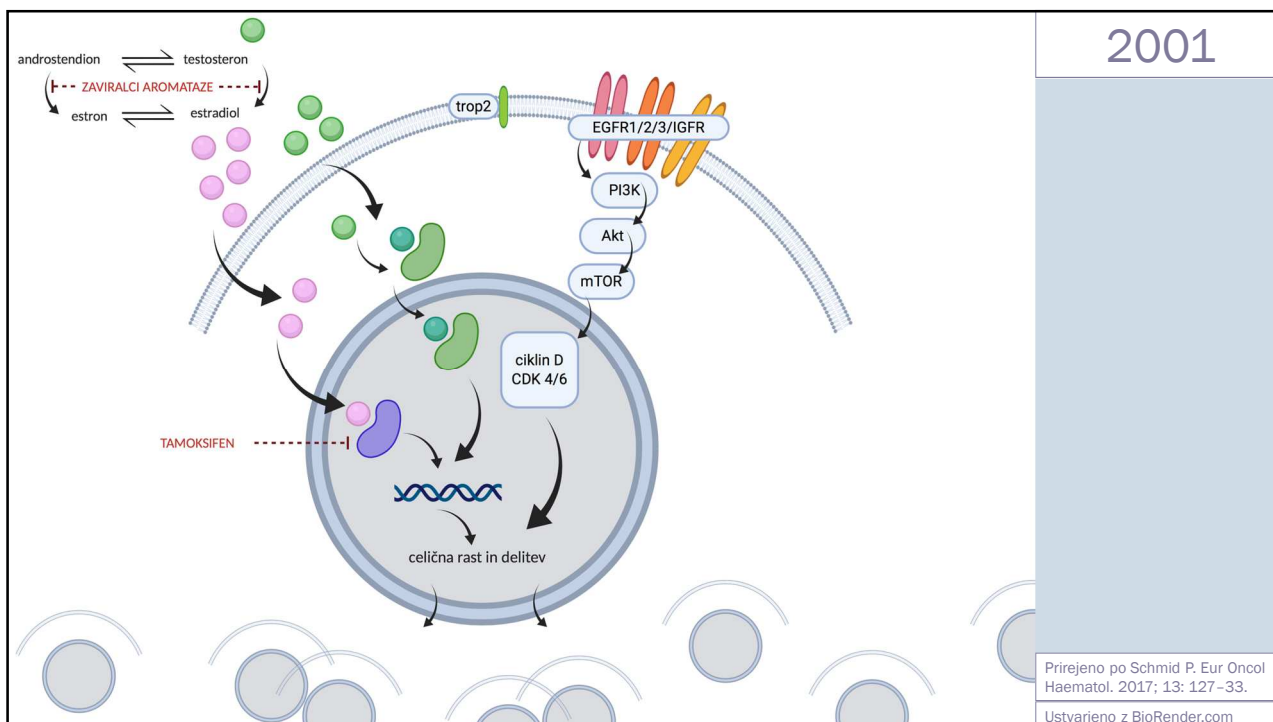
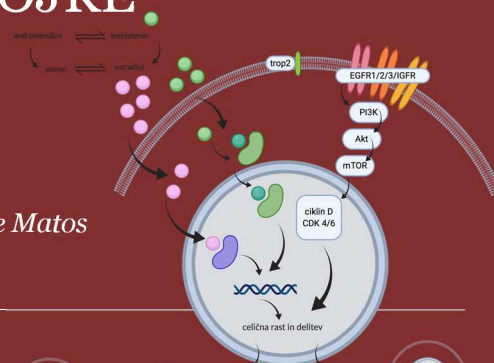
ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

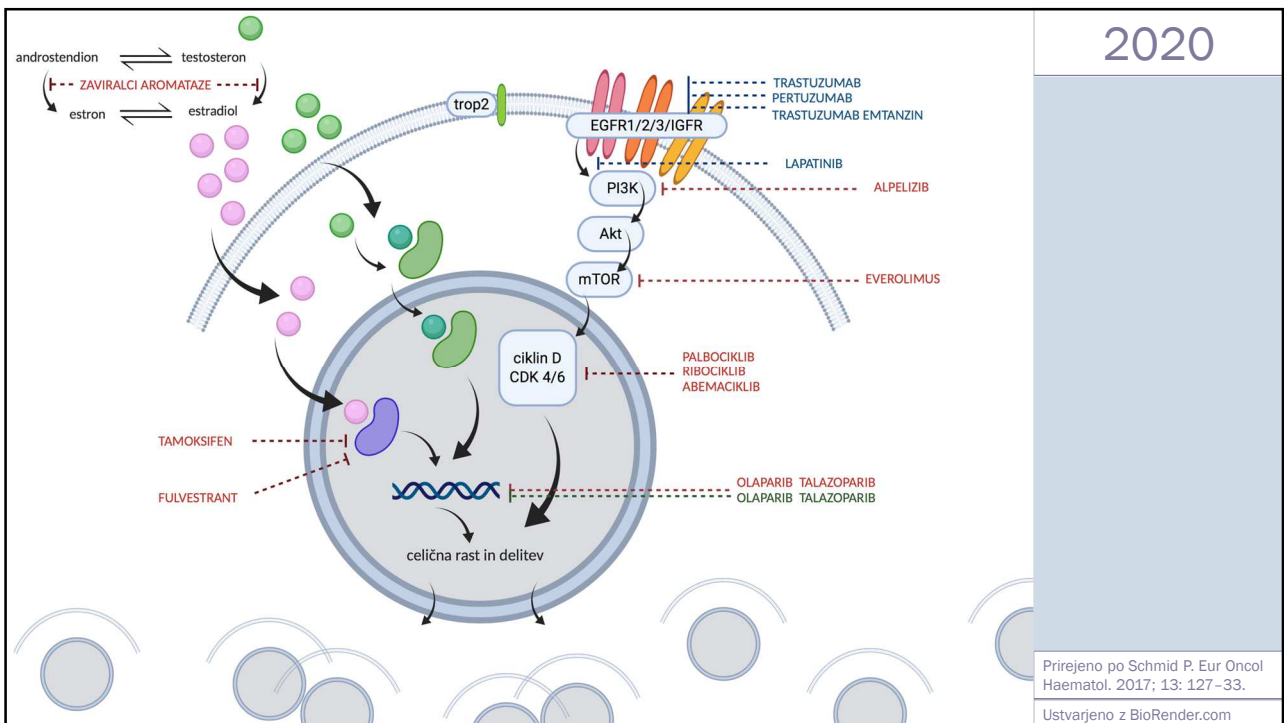
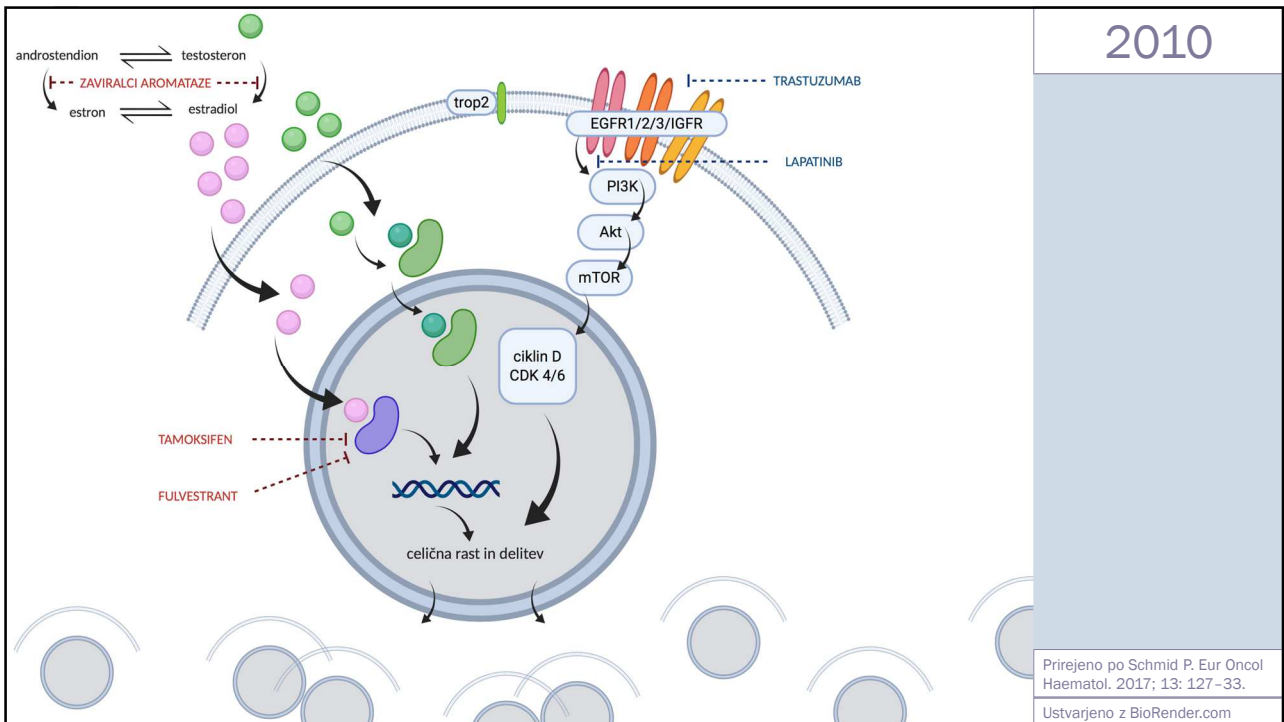
MOLEKULARNE TARČE PRI ZDRAVLJENJU RAKA DOJKE

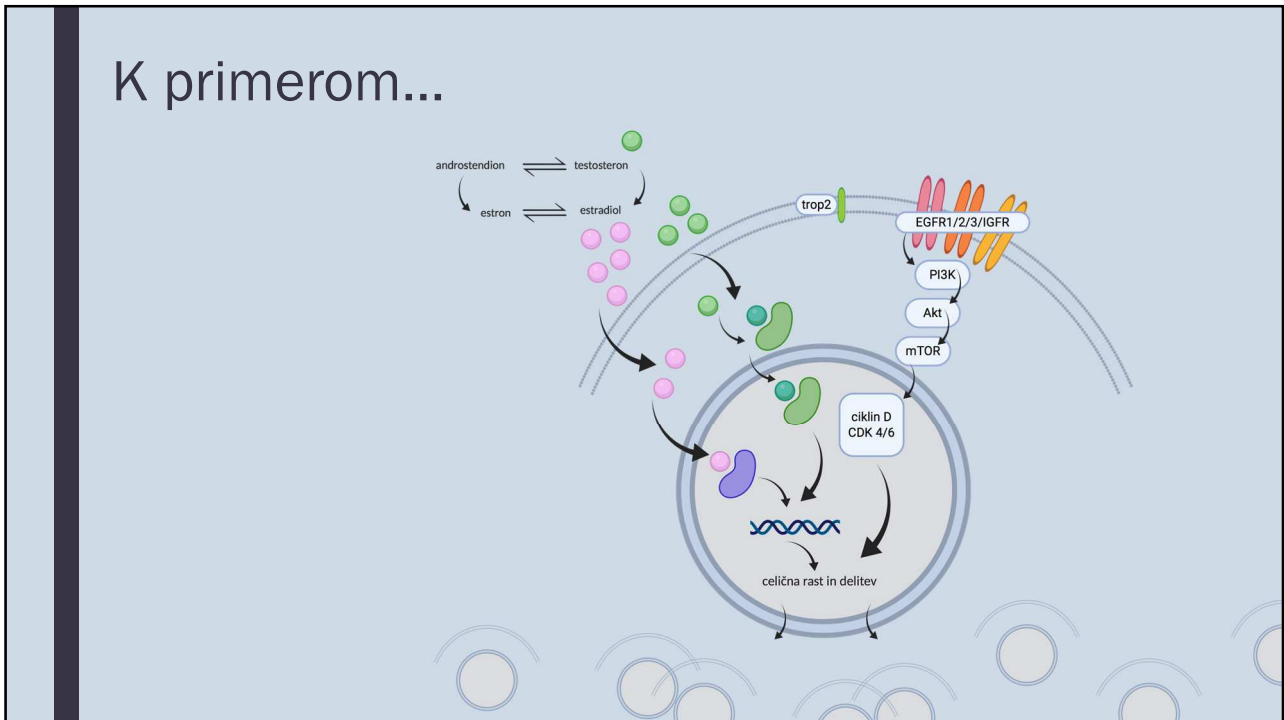
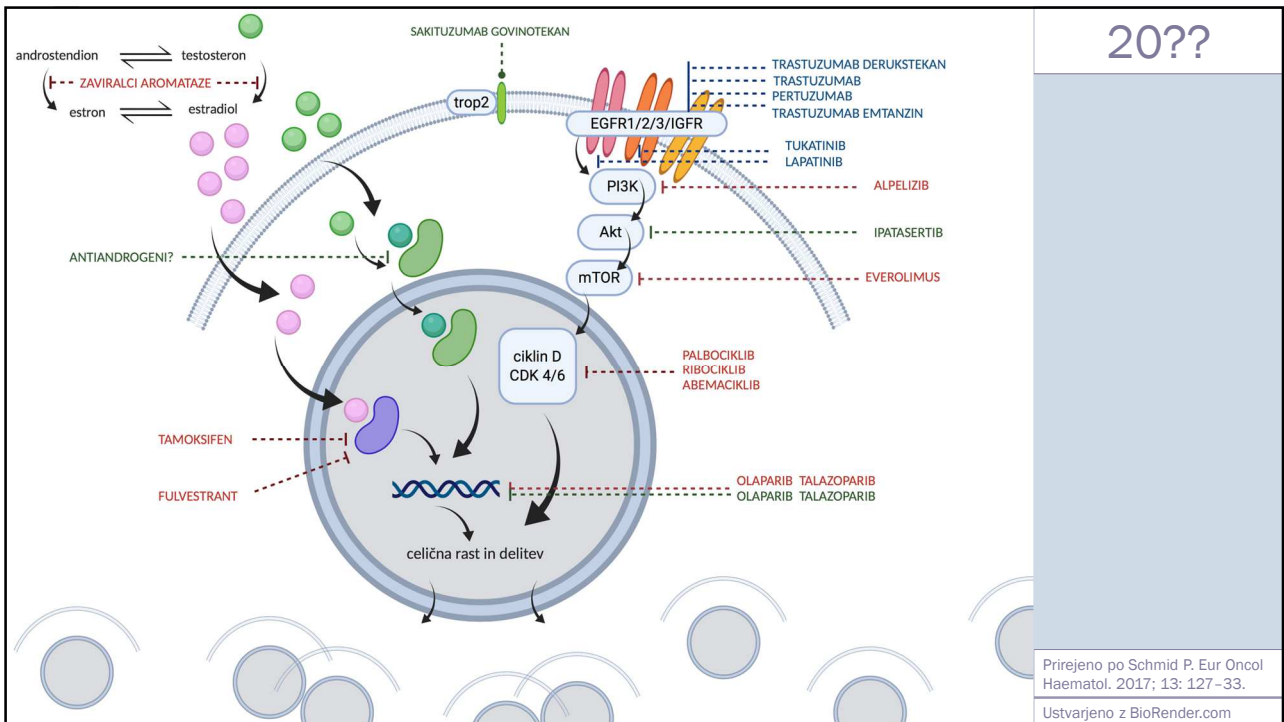
Anja Kovač
Kaja Cankar
Luka Dobovišek

pod mentorstvom dr. Simone Borštnar in dr. Erike Matos

Dnevi internistične onkologije, november 2020









ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Predstavitev primera

DIO 2020

OI Ljubljana, 19.-20.11.2020

Predstavitev bolnice

Prvi pregled na OI marec 2014

- 46 let
- Zdrava, brez redne terapije
- Alergije na ASA, NSAR
- Poz. družinska anamneza (dve sestrični zboleli za rakom dojke pod 50 let, ena pol sestra po 40 let)



Predstavitev bolnice

Ca D dojke

- 25.4.2020 kvadrantektomija + SNB
- Histološki izid: IDC, G3(3), TNBC, MIB 1: 50%, N 0/1

- Dop zdravljenje 3x FEC + 3X doce.



Predstavitev bolnice

+ družinska anamneza, TNBC → genetsko testiranje

Izvid: BRCA 1 +

Sept 2014: Prof. bil mastektomija + adneksektomija



- 5% bolnikov z rakom dojke z zarodno BRCA mutacijo:
- bolniki s poz. družinsko anamnezo
 - mladi bolniki
 - bolniki s TNBC
 - pripadniki določenih etničnih skupin (aškenazi judi)

Comen E, et. all. Breast Cancer Res Treat. 2011.

Redna kontrola – maj 2018

- Tu sprememba v področju prsnega koša desno, nad postmastektomijsko brazgotino → ABTI punkcija → zasevek adenokarcinoma (TNBC)
- CT PK/ABD → mehkotkivna lezija z destrukcijo sternuma po desni strani, ki boči v mediastinum, nodularne spremembe po pljučih, premajhne za oceno, nodularna lezija subdiafragmalno desno, najverjetneje pat. bezgavka.

1 razsoj TNBC



Možnosti zdravljenja

- Glede na rezultate randomiziranih študij so kot prvi red zdravljenja TNBC primerni tako taksani kot derivati platine.
- PARP zaviralci?



Olaparib

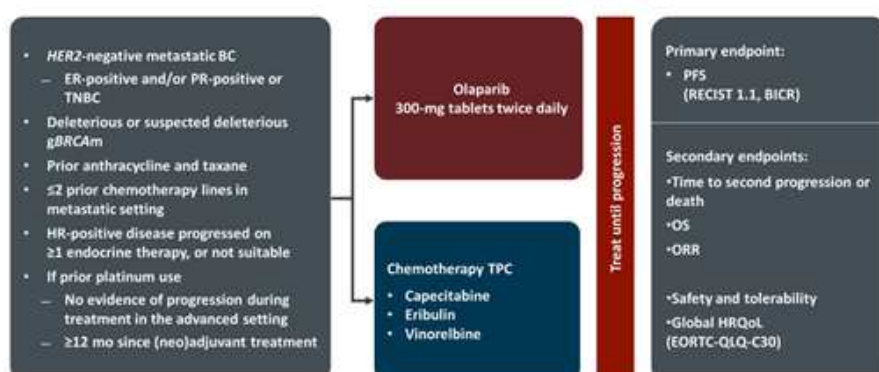
- Poli (adenozin di-fosfat ribozni) polimerazni inhibitor v peroralni obliki (PARPi)
- Dokazana protitumorska aktivnost pri raku dojk z zarodno BRCA mutacijo

Drugi PARPi
- talazoparib
- veliparib
- niraparib



OlympiAD - olaparib

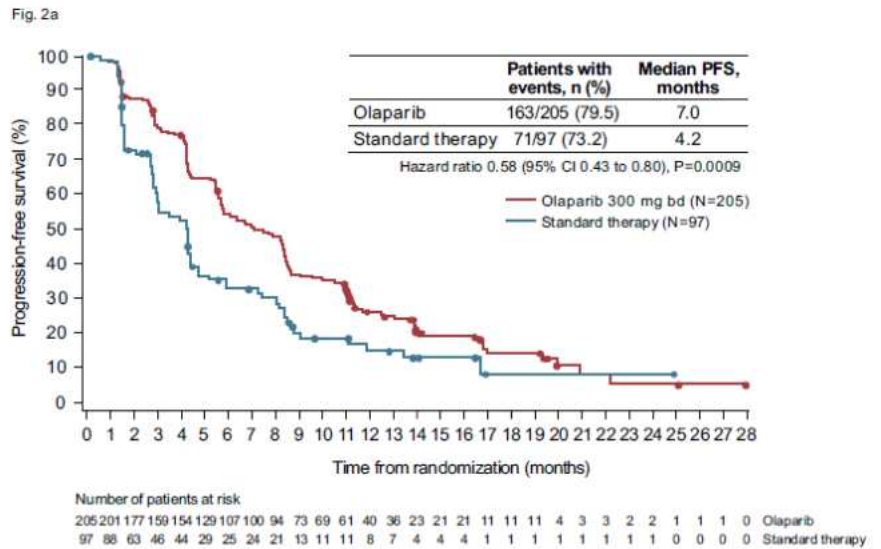
Randomizirana raziskava faze III



Robson M, et al. *N Engl J Med.* 2017.

OlympiAD

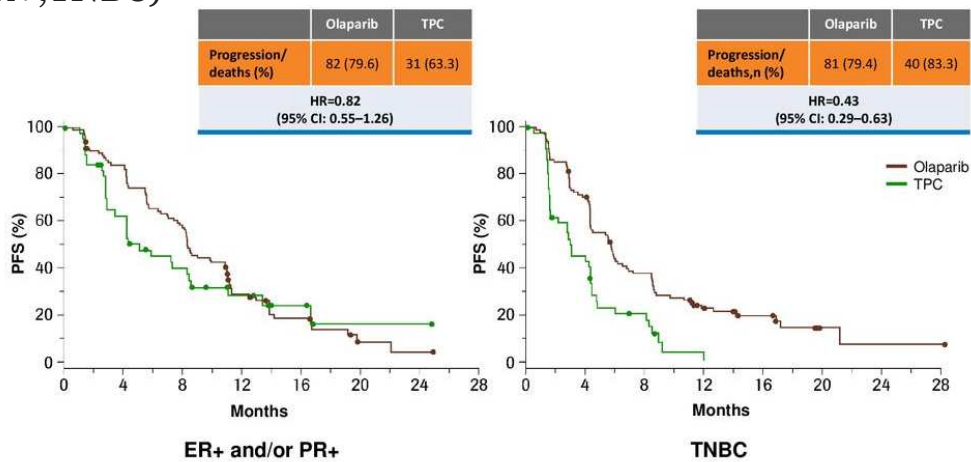
PFS (overall population)



Robson M, et. all. NEJM, 2017.

OlympiAD

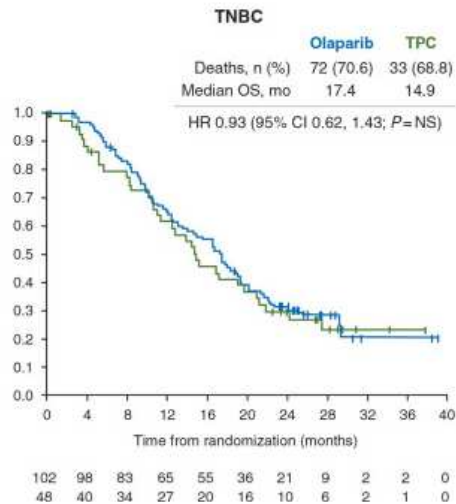
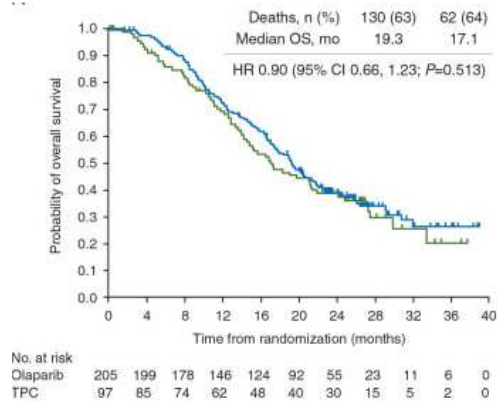
PFS (HR+,TNBC)



Robson M, et. all. NEJM, 2017.

OlympiAD

OS (overall population + TNBC subgroup)



Robson M, et. all. NEJM, 2017.

OlympiAD

Varnost

Table 2. Summary of Adverse Events.*

Variable	Olaparib Group (N=205)		Standard-Therapy Group (N=91)	
	Any Grade	Grade ≥3	Any Grade	Grade ≥3
	number (percent)			
Adverse event				
Any	199 (97.1)	75 (36.6)	88 (96.7)	46 (50.5)
Anemia†	82 (40.0)	33 (16.1)	24 (26.4)	4 (4.4)
Neutropenia‡	56 (27.3)	19 (9.3)	45 (49.5)	24 (26.4)
Decreased white-cell count	33 (16.1)	7 (3.4)	19 (20.9)	9 (9.9)
Nausea	119 (58.0)	0	32 (35.2)	1 (1.1)
Vomiting	61 (29.8)	0	14 (15.4)	1 (1.1)
Diarrhea	42 (20.5)	1 (0.5)	20 (22.0)	0
Decreased appetite	33 (16.1)	0	11 (12.1)	0
Fatigue	59 (28.8)	6 (2.9)	21 (23.1)	1 (1.1)
Headache	41 (20.0)	2 (1.0)	14 (15.4)	2 (2.2)
Pyrexia	29 (14.1)	0	16 (17.6)	0
Cough	35 (17.1)	0	6 (6.6)	0
Increased alanine aminotransferase level	23 (11.2)	3 (1.5)	16 (17.6)	1 (1.1)
Increased aspartate aminotransferase level	19 (9.3)	5 (2.4)	15 (16.5)	0
Palmar-plantar erythrodysesthesia	1 (0.5)	0	19 (20.9)	2 (2.2)
Dose reduction owing to adverse event	52 (25.4)	NA	28 (30.8)	NA
Treatment interruption or delay owing to adverse event	72 (35.1)	NA	25 (27.5)	NA
Treatment discontinuation owing to adverse event	10 (4.9)	NA	7 (7.7)	NA

* The table includes adverse events of any grade that occurred in at least 15% of patients in either treatment group and corresponding grade 3 or higher adverse events, which were graded with the use of the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 4.0. NA denotes not applicable.

† The anemia category includes anemia, decreased hemoglobin level, decreased hematocrit, decreased red-cell count, and erythropenia.

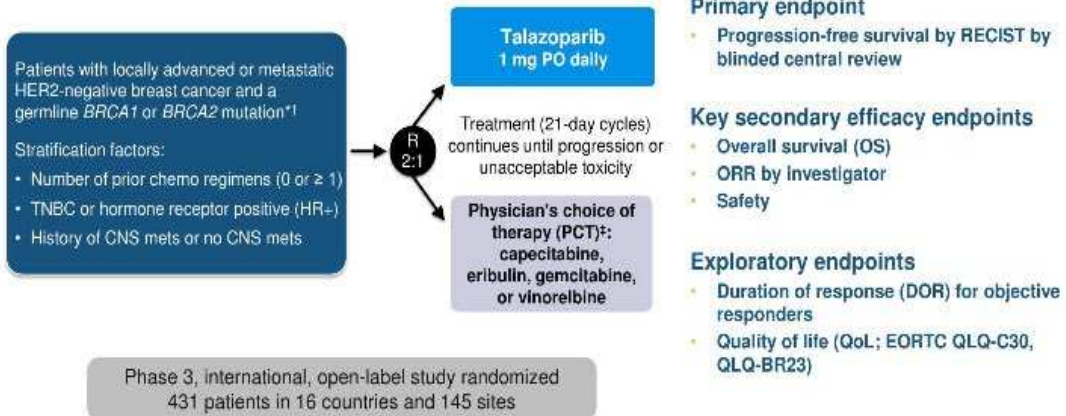
‡ The neutropenia category includes febrile neutropenia, granulocytopenia, decreased granulocyte count, neutropenia, neutropenic sepsis, decreased neutrophil count, and neutropenic infection.



Robson M, et. all. NEJM, 2017.

Embraca - talazoparib

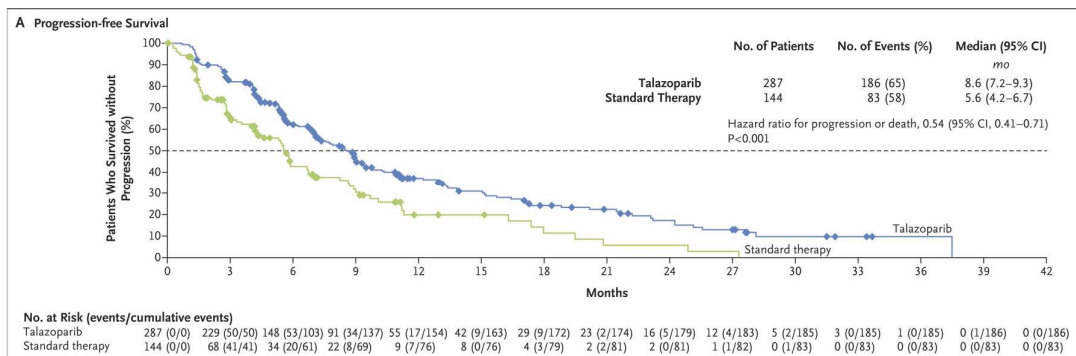
Randomizirana raziskava faze III



Litton JK, et. all. NEJM, 2018.

Embraca

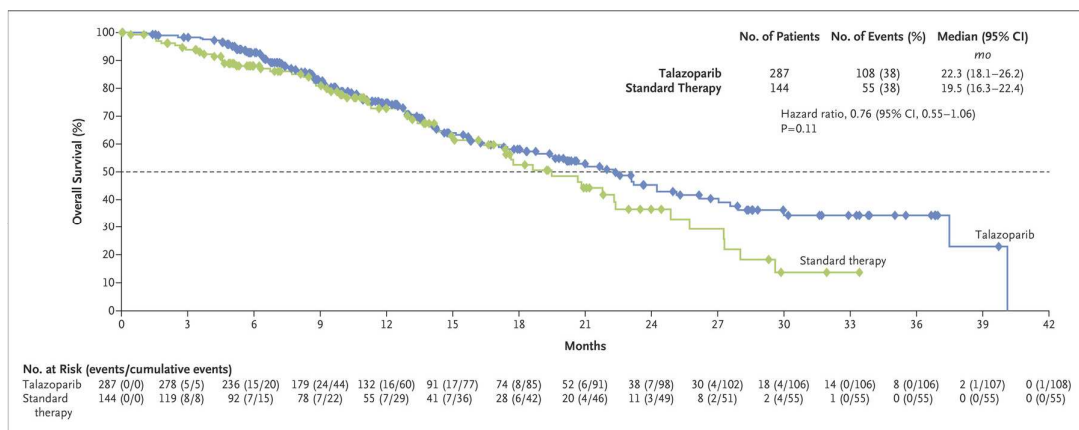
PFS (overall population)



Litton JK, et. all. NEJM, 2018.

Embraca

OS (overall population)



Litton JK, et. all. NEJM, 2018.

Zdravljenje

- Jul 2018 Mnenje konzilija – uvedba olapariba v okviru sočutne uporabe: 300mg 2x/d
- Lokalno obsevanje recidiva

- Olaparib prejemale skupno 12 mesecev
- NU ob olaparibu: utrujenost, slabost

- September 2019 CT PK/ABD → mehka tkiva, pljuča



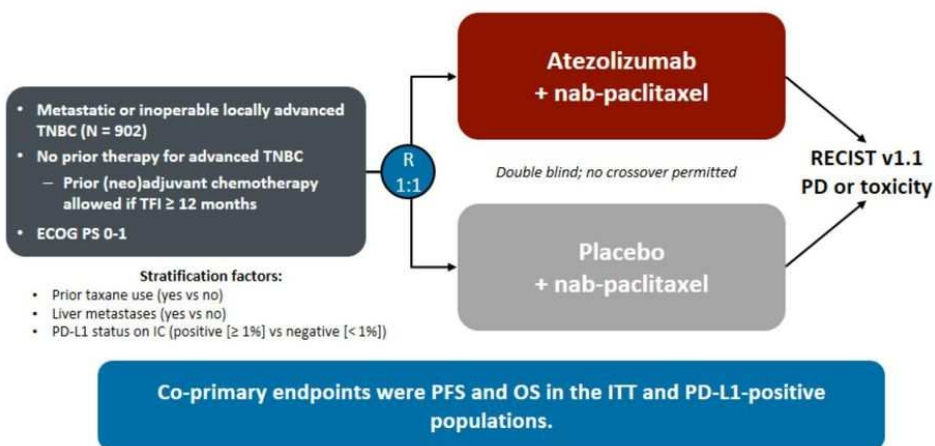
Progres TNBC

Določitev PDL-1 statusa

- **Imunohistokemični marker PD-L1 označi 1% tumor infiltrirajočih limfocitov v primarnem tumorju**



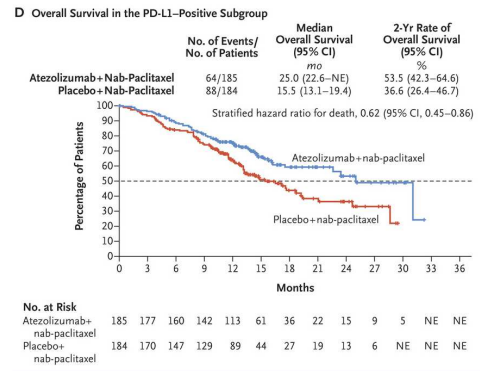
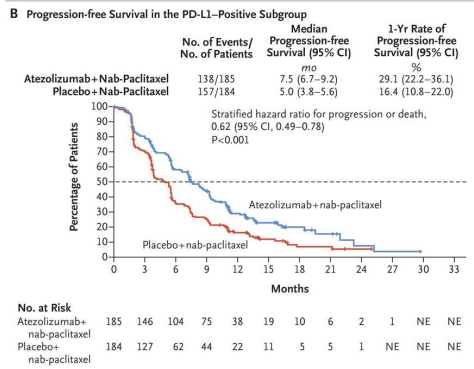
IMpassion130



Schmid P, et. all. NEJM, 2018.

IMpassion130

PFS and OS (PDL-1 + population)



Schmid P, et. all. NEJM, 2018.

Zdravljenje

- Atezolizumab + Nab – paklitaksel 7 ciklov
Atezolizumab vzdrževalno 3 aplikacije
- NU:
 - Makulozni izpuščaj (gradus I)
 - Hashimoto tiroiditis (hipertiroza v hipotirozo) na substitucijski th
 - Pnevmonitis (gradus 2-3, sistemski steroid, PCP zaščita, v izboljšanju)



Redna kontrola – oktober 2020

- CT PK in trebuha → PD: novi zasevki v pljučih
- Glede na smernice ABC 5 uveden Kapecitabin 1000mg/m² /12h
14 dni 7 dni premora





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Primer bolnice s PIK₃CA mutacijo

Luka Dobovišek, dr. med.

Dr. Simona Borštnar

Dnevi internistične onkologije 2020

BOLNICA

Anamneza:

50 letna bolnica (september, 2016).

V marcu 2016 zatipala rezistenco v levi dojki.

Prva menstruacija pri 12 letih. 1x rodila. Od 2014 pomenopavzalna.

Klinični status:

V zunanjem zgornjem kvadrantu leve dojke tipna podkožna rezistenca in rezistenca v levi aksili.

Laboratorij:

Tumorski marker Ca 15-3 ni povišan.

Tudi ostalo v mejah norm.



SLIKOVNE PREISKAVE

Mamografija: strukturna motnja spremembe na meji zgornjih kvadrantov velikosti 20 mm.

UZ aksile in citološka punkcija: v levi aksili vidna 18x7 mm velika bezgavka – metastaza adenocarcinoma.

UZ vodena DIB: invazivni karcinom z disociativno rastjo. Zmerno diferenciran.

RTG p.c.: brez zasevkov.



OPERACIJA IN HISTOLOGIJA

Operacija: MRM v oktobru 2016.

Histologija:

IDC velikosti 19 mm

Gradus 2 (Mitoze 1)

Prisotna karcinomska limfangioza in perinevralna invazija

ER 100%

PR 95%

MIB 15-20%

HER 2 neg. (IHK 0)

1/11 bezgavk, zasevek 19 mm in žariščno prerašča kapsulo



ADJUVANTNA TERAPIJA

Adjuvantna kemoterapija (december 2016- februar 2017):

4x EC90

Adjuvantna hormonska terapija (februar 2017-februar 2019):

Tamoksifen



RECIDIV IN METASTATSKA BOLEZEN

Lokalni recidiv: ob pooperativni brazgotini – kiruško odstranjen.

CT abdomna in prsnega koša: metastaze v jetrih.

Histologija:

Infiltrat duktalnega karcinoma v maščevju

Prisotna karcinomska limfangioza

ER 100%

PR 30%

HER2 neg. (IHK 1+)



METASTATSKA BOLEZEN

Uvedba novega sistemskega zdravljenja (marec 2019-junij 2020):

Letrozol 2.5 mg kontinuirano + palbociklib 125 mg 1-21 dan, sledi 1 teden premora

Kontrolni CT (september 2019): regres metastaz v jetrih, sumljivo za infiltracijo skeleta

Kontrolni CT (februar 2020): stagnacija bolezn

Kontrolni CT (junij 2020): progres v jetrih



Trajanje
odgovora 15
mesecev



MOLEKULARNA DIAGNOSTIKA

Metoda: RT-PCR

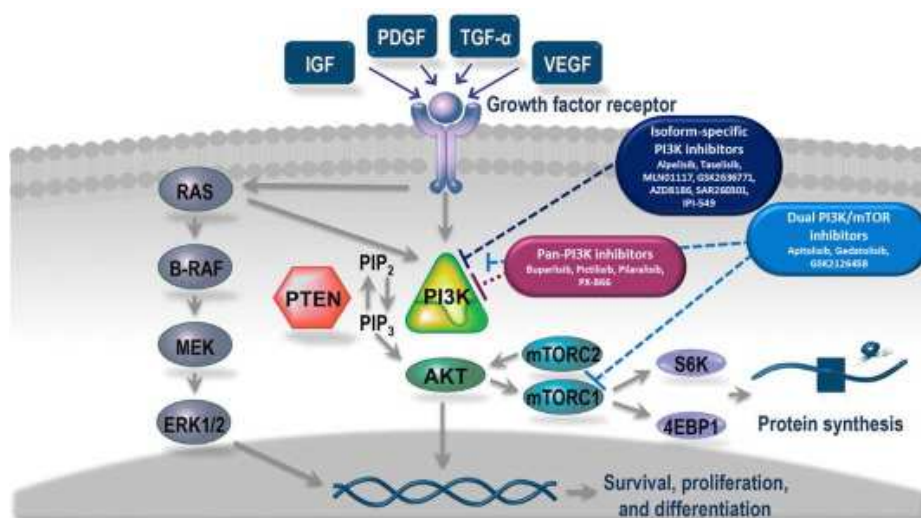
Gen: PIK3CA

Rezultat: različica razreda I (prisotnost klinično pomembne mutacije) c.3140A>T p. (His1047Leu)

Bolniki z napredovalim ali metastatskim HR+ HER2- rakom dojke in s prisotno mutacijo v genu PIK3Ca, so primerni za zdravljenje z zaviralci fosfatidil inositol 3-kinaze (alpelizib).



MEHANIZEM DELOVANJA ALPELIZIBA



Janku F. Cancer Treatment Reviews 2017



ZDRAVLJENJE Z ALPELIZIBOM

Uvedba novega sistemskega zdravljenja (junij 2020 -):

Fulvestrant 500 mg IM + alpelizib 300 mg/dan PO (priključen v septembru 2020)

Laboratorijske preiskave pred uvedbo alpeliziba:

Glukoza: 5.6

HbA1c: 5.2%

Neželeni učinki:

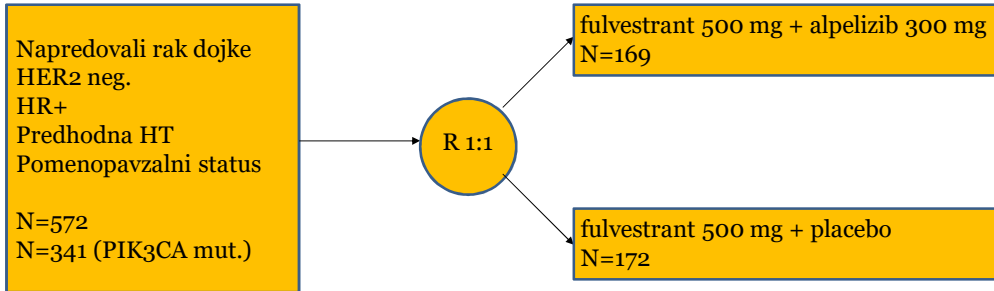
Preventivni odmerek metformina 500 mg/dan

Brez pojava hiperglikemije ali drugih NU alpeliziba.



SOLAR-1

Randomizirana klinična raziskava faze III



Primarni cilj:
Čas do napredovanja bolezni

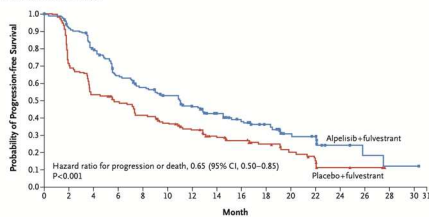


Alpelisib for *PIK3CA*-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer

F. André, E. Ciruelos, G. Rubovszky, M. Campone, S. Loibl, H.S. Rugo, H. Iwata, P. Conte, I.A. Mayer, B. Kaufman, T. Yamashita, Y.-S. Lu, K. Inoue, M. Takahashi, Z. Pápai, A.-S. Longin, D. Mills, C. Wilke, S. Hirawat, and D. Juric, for the SOLAR-1 Study Group*

SOLAR-1

A Cohort with *PIK3CA*-Mutated Cancer

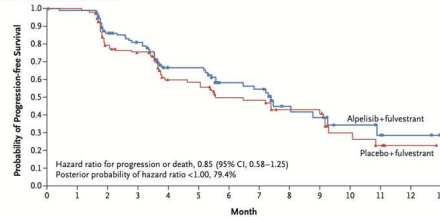


No. at Risk	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	31
Alpelisib + fulvestrant	169	145	123	97	85	75	62	50	39	30	17	14	5	3	1	1	0
Placebo + fulvestrant	172	120	89	80	67	58	48	37	29	20	14	9	3	2	0	0	0

PFS 11.0 vs 5.7 mesecev
HR 0.65 vs 0.85
ORR 26.6 vs 12.8%



B Cohort without *PIK3CA*-Mutated Cancer

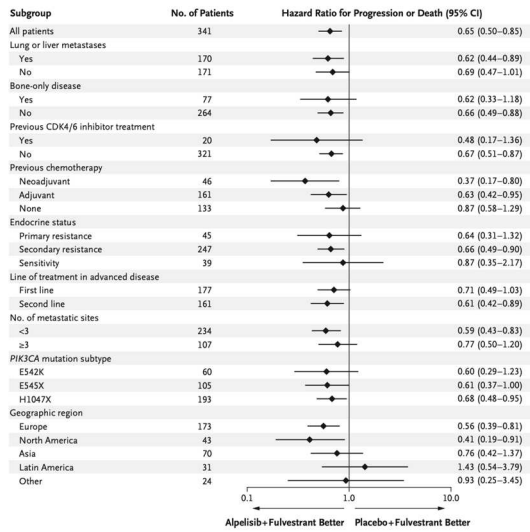


No. at Risk	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Alpelisib + fulvestrant	115	110	86	76	48	48	31	29	14	12	7	5	3	0
Placebo + fulvestrant	116	110	79	72	43	42	31	30	20	20	8	5	1	0

Alpelisib for *PIK3CA*-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer

F. André, E. Ciruelos, G. Rubovszky, M. Campone, S. Loibl, H.S. Rugo, H. Iwata, P. Conte, I.A. Mayer, B. Kaufman, T. Yamashita, Y.-S. Lu, K. Inoue, M. Takahashi, Z. Pápai, A.-S. Longin, D. Mills, C. Wilke, S. Hirawat, and D. Juric, for the SOLAR-1 Study Group*

SOLAR-1



Alpelisib for *PIK3CA*-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer

F. André, E. Ciruelos, G. Rubovszky, M. Campone, S. Loibl, H.S. Rugo, H. Iwata, P. Conte, I.A. Mayer, B. Kaufman, T. Yamashita, Y.-S. Lu, K. Inoue, M. Takahashi, Z. Pápai, A.-S. Longin, D. Mills, C. Wilke, S. Hirawat, and D. Juric, for the SOLAR-1 Study Group*



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Klinični primeri uporabe molekularnih značilnosti pri rakih sečnega mehurja

Dijana Babić, dr.med, Jasna Knez Arbeiter, dr.med

Mentor: dr. Breda Škrbinc, dr.med

16. DNEVI INTERNISTIČNE ONKOLOGIJE
Molekularna diagnostika za klinike

Zahvala lečeči onkologinji Tanji Ovčariček, ker je dovolila
predstavitev zdravljenja bolnika R.J.



72-letni gospod R.J.

April 2017 : Triaža :

- Napotna diagnoza: zasevek slabo diferenciranega karcinoma v področju ob levi ACC.
- Bezgavka na vratu levo, ekscizija 1.5 x 1.5 x 1 cm - zasevek slabo diferenciranega karcinoma, ki bi lahko glede na morfolgijo in imunofenotip ustrezal urotelijskemu karcinomu
- Številne zamejitvene preiskave: UZ , CT, bronhoskopija, PET/CT :
 - razsoj boleznj v bezgavke retrokruralno obojestransko, retroperitonealno, predvsem interaortokavalno ter preaortalno v višini od TH12 do L3 ter v desni nadledvičnici in suspektne spremembe za jetrne metastaze.

Maj 2017 :predstavitev urološkemu konziliju OIL

- Konzilij priporoča uvedbo sistemskega citostatskega zdravljenja – odločitev o konkretnem zdravljenju bo sprejeta ob pregledu v internistični ambulanti OIL za prve preglede bolnikov z GUT raki
- Gospod s svojcem prisoten na konziliju: predstavljena možnost vključitve v raziskavo, ki proučuje učinkovitost imunoterapije (atezolizumaba) v kombinaciji s KT oz. v monoterapiji.



R.J.

Maj 2017 : Prvi pregled pri internistu onkologu + vključitev v raziskavo IMVIGOR 130

- PS po WHO 1, kardialno kompenziran, nekoliko bolj utrujen, vendar fizično dobro zmogljiv, trebuh nad nivojem prsnega koša, palpatorno v predelu desnega hemiabdomna obsežna tumorska formacija + boleč ledveni poklep desno.
- **Pridružene bolezni:** AH, hipotiroza, policistična desna ledvica (normalna ledvična funkcija, ECC= 79 ml/min), s/p operaciji adenoma obščitnice zaradi hiperparatiroidizma (2015), s/p radikalni prostatektomiji zaradi adenokarcinoma prostate, Gleason 3 + 3 = 6, pT2b, Ro.
- Citologija urina: urotelijski karcinom visokega gradusa.

Vključitev v prospektivno randomizirano klinično raziskavo faze III., delno slepo, v okviru katere bolnik prejme KT v kombinaciji z imunoterapijo (atezolizumab) ali s placebom oz. samo imunoterapijo.



Randomizacija v klinično raziskavo IMVIGOR 130

R.J.

Maj 2017: uvedba I reda sistemskega zdravljenja:

6 ciklusov KT po shemi gemcitabin/cisplatin v kombinaciji z imunoterapijo ali placebo

- Brez bistvenih neželenih učinkov
- Izpraznitev ciste v predelu desne ledvice (interventni radiolog)
- Citologija: vsebina ciste z znaki stare krvavitve, ni malignih celic

Oktober 2017:

- zaključni 6 ciklusov KT- nadaljujemo vzdrževalno zdravljenje z atezolizumabom
- premestitev iz SB Celje – *neučinkovito zdravljenje neopredeljenega infekta*
- sum na imunsko pogojeni artritis in dermatitis (gradus III), dd tudi kolitis → razkritje študijskega zdravila - ATEZOLIZUMAB
- KS 1 mg/kg, naslednji dan simptomi artritisa in dermatitisa skoraj v celoti izvenijo
- Osteoporotični zlom korpusa L1 (padec s kolesa) – DXA: osteopenija → denosumab (Prolia)
- Evaluacijski CT prsnega koša in trebuha pokaže stagnacijo bolezn



- Nadaljujemo vzdrževalno zdravljenje z atezolizumabom.

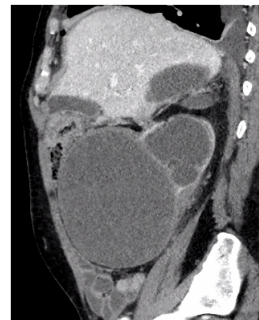
R.J.

Julij 2019: kontrolni CT: izrazit progres v trebuhu

Uvedba II. Reda sistemskega zdravljenja:

6 ciklusov KT po shemi gemcitabin/cisplatin (reindukcija):

- intenziviranje analgetične terapije ;
- lečeči urolog: odstranitev policistične ledvice ni indicirana
- generalizirana urtikarija po 2. ciklusu ----> dermatolog: medikamentozna reakcija po prejemanju Targinacta.
- periferna nevropatija: nevroonkološka obravnava;
- protibolečinsko obsevanje metastaze v 9. rebro (5 frakcij s TD 20 Gy).



December 2019: kontrolni CT :

- Dober regres (mestoma popoln) patoloških infiltratov v jetrih, desni nadledvičnici, peritonealno, retroperitonealno, v sprednji abdominalni steni:
- Naključno ugotovljena PE: NMH v terapevtskem odmerku.



- Redno sledenje

Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci- BCL2001 študija

Aprila 2019 je FDA po hitrem postopku odobrila registracijo zdravila na podlagi
izsledkov študije BCL2001 (klinična študija faze 2, ki je vključevala 99 bolnikov)

Lokalno napredovali ali metastatski urotelni karcinom – progres po KT na bazi platine

+

potrditev FGFR 2/3 alteracije (mutacije/fuzije)

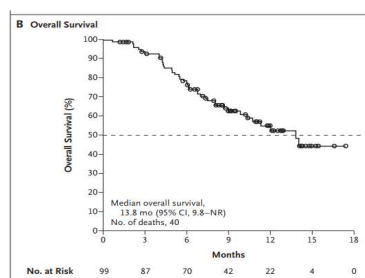
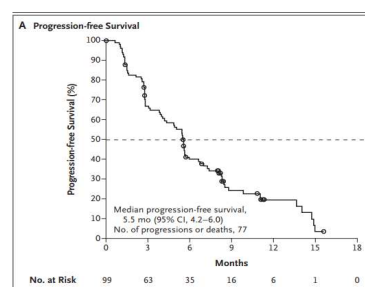


Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci- BCL2001 študija

Phase II BLC2001 study of Erdafitinib: Antitumor activity

Table 2. Antitumor Activity of Erdafitinib in the 99 Patients in the Selected-Regimen Group.^a

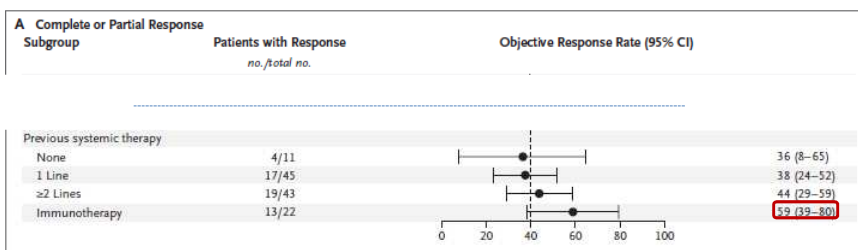
Variable	Value	Rate of Response (95% CI)
		percent
Response per investigator assessment — no. of patients [†]		
Any objective response	40	40 (31–50)
Complete response	3	3
Partial response	37	37
Stable disease	39	39
Progressive disease	18	18
Could not be evaluated or unknown	2	2
Median time to response — mo	1.4	
Median duration of response (95% CI) — mo	5.6 (4.2–7.2)	



N Engl J Med 2019;381:338

Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci- BCL2001 študija

Phase II BCL2001 study of Erdafitinib: Antitumor activity



- 22 bolnikov predhodno zdravljenih z imunoterapijo, samo pri 1 bolniku z imunoterapijo dosežen objektivni odgovor
- 13/22 (59%) objektivni odgovor na zdravljenje z erdafitinibom



N Engl J Med 2019;381:338-48.

Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci- BCL2001 študija

Program sočutne uporabe zdravila erdafitinib

- Vključitveni pogoji
 - PS ECOG 2 ali manj
 - kostni mozeg, jetrna in ledvična funkcija (oGF>40)
 - oftalmološki pregled: težave z vidom/toksičnost očesa/suho oko
 - serumska koncentracija fosfatov
- Izključitveni pogoji
 - Metastaze v CZS,
 - KVS bolezni,
 - hepatitis B/C, HIV



R.J.

- PS ECOG 1-2
- LAB: L 6.3, K-Hb 91, T 372, kreat. 79, seč. 4.0, **S-fosfat anorg. 1.38**, bilirubin cel. 4, AST 0.26, ALT 0.37, LDH 2.70
- Oftalmološki pregled: ni zadržkov za uvedbo zdravljenja



R.J.

September 2020: uvedba IV. reda zdravljenja:
v okviru programa sočutne uporabe uvedemo FGFR
zaviralec **erdafitinib** –
po protokolu začetni odmerek 8 mg/dan.

Dose	1 st dose reduction	2 nd dose reduction	3 rd dose reduction	4 th dose reduction	5 th dose reduction
9 mg → (three 3 mg tablets)	8 mg (two 4 mg tablets)	6 mg (two 3 mg tablets)	5 mg (one 5 mg tablet)	4 mg (one 4 mg tablet)	Stop
8 mg → (two 4 mg tablets)	6 mg (two 3 mg tablets)	5 mg (one 5 mg tablet)	4 mg (one 4 mg tablet)	Stop	



R.J.

Evalvacija čez 14 dni (po protokolu): prilagajanje odmerka glede na serumsko koncentracijo fosfatov :

- LAB: L7.4, Hb 92, T 368, kreat. 89, seč. 8.9, **S-fosfat anorg. 2.13**, bilirubin cel. 4, AST 0.60, ALT 1.27
- V ospredju težave s stomatitisom in aftoznimi spremembami na jeziku – Gradus II
- Predpišemo dodatna mazila in raztopino za zaščito ustne sluznice
- Odmerek Erdafitiniba povišamo na 9 mg/dan
- Predvidimo evalvacijski CT



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci-BCL2001 študija

Table 3. Adverse Events in the 99 Patients in the Selected-Regimen Group.*

Adverse Event	Any Grade	Grade 1	Grade 2	Grade ≥3
Hyperphosphatemia	76 (77)	53 (54)	21 (21)	2 (2)
Stomatitis	57 (58)	21 (21)	26 (26)	10 (10)
Diarrhea	50 (51)	31 (31)	15 (15)	4 (4)
Dry mouth	45 (46)	34 (34)	11 (11)	0
Decreased appetite	38 (38)	18 (18)	20 (20)	0
Dysgeusia	37 (37)	23 (23)	13 (13)	1 (1)
Fatigue	32 (32)	12 (12)	18 (18)	2 (2)
Dry skin	32 (32)	24 (24)	8 (8)	0
Alopecia	29 (29)	23 (23)	6 (6)	0
Constipation	28 (28)	19 (19)	8 (8)	1 (1)
Hand-foot syndrome	23 (23)	6 (6)	12 (12)	5 (5)
Anemia	20 (20)	9 (9)	7 (7)	4 (4)
Asthenia	20 (20)	2 (2)	11 (11)	7 (7)
Nausea	20 (20)	13 (13)	6 (6)	1 (1)
Dry eye	19 (19)	14 (14)	4 (4)	1 (1)
Orychobolus	18 (18)	6 (6)	10 (10)	2 (2)
Alanine aminotransferase increased	17 (17)	13 (13)	2 (2)	2 (2)
Paronychia	17 (17)	3 (3)	11 (11)	3 (3)
Blurred vision	17 (17)	10 (10)	7 (7)	0
Nail dystrophy	16 (16)	5 (5)	5 (5)	6 (6)
Urinary tract infection	16 (16)	0	11 (11)	5 (5)
Vomiting	13 (13)	10 (10)	1 (1)	2 (2)
Hyponatremia	12 (12)	1 (1)	0	11 (11)
Hematuria	10 (10)	7 (7)	1 (1)	2 (2)
Dyspnea	8 (8)	4 (4)	2 (2)	2 (2)
Nail disorder	8 (8)	4 (4)	1 (1)	3 (3)
Acute kidney injury	6 (6)	2 (2)	2 (2)	2 (2)
Cataract	6 (6)	3 (3)	1 (1)	2 (2)
Colitis	5 (5)	1 (1)	2 (2)	2 (2)
General deterioration in physical health	5 (5)	0	1 (1)	4 (4)
Keratitis	5 (5)	0	2 (2)	3 (3)
Aphthous ulcer	4 (4)	2 (2)	0	2 (2)
Increase in γ-glutamyltransferase	3 (3)	1 (1)	0	2 (2)
Urosepsis	3 (3)	0	0	3 (3)

N Engl J Med 2019;381:338-48.



Hvala za pozornost.



(Art by Julia Watkins)



LORVIQUA ▼
LORLATINIB

NASLEDNJA LINIJA JE JASNA

Zdravilo Lorviqua v monoterapiji je indicirano za zdravljenje odraslih bolnikov z napreduvalim nedrobnoceličnim rakom pljuč (NSCLC), ki je ALK (anaplastična limfomska kinaza) pozitiven, pri katerih je bolezen napredovala po:¹

- zdravljenju z alectinibom ali ceritinibom kot prvim ALK zaviralcem tirozin kinaze (TKI); ali
- zdravljenju s krizotinibom in vsaj še 1 drugim ALK TKI.

Zdravila Lorviqua Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije še ni razvrstil na listo zdravil.²

NSCLC = (Non-Small Cell Lung Cancer) nedrobnocelični rak pljuč, ALK = anaplastična limfomska kinaza, TKI = (Tyrosine Kinase Inhibitor) zaviralec tirozin kinaze.

BISTVENI PODATKI IZ POVZETKA GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

Lorviqua 25 mg, 100 mg filmsko obložene tablete

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerikoli domnevem neželenem učinku zdravila. Glejte poglavje 4.8 povzetka glavnih značilnosti zdravila, kako poročati o neželenih učinkih. **Sestava in oblika zdravila:** Ena filmsko obložena tableta vsebuje 25 mg ali 100 mg lorlatiniba in 1,58 mg oz. 4,20 mg laktoze monohidrata. **Indikacije:** Zdravljenje odraslih bolnikov z napreduvalim nedrobnoceličnim rakom pljuč (NSCLC – Non-Small Cell Lung Cancer), ki je ALK (anaplastična limfomska kinaza) pozitiven, pri katerih je bolezen napredovala po: zdravljenju z alectinibom ali ceritinibom kot prvim ALK zaviralcem tirozin kinaze (TKI – Tyrosine Kinase Inhibitor) ali zdravljenju s krizotinibom in vsaj še 1 drugim ALK TKI. **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravljenje mora uvesti in nadzorovati zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravil za zdravljenje rakavih bolezni. Priporočeni odmerek je 100 mg peroralno enkrat na dan. Zdravljenje je priporočeno, dokler bolniku prinaša klinično korist brez nesprejemljive toksičnosti. Če bolnik izpusti odmerek ga mora vzeti takoj, ko se spomni, razen če do naslednjega odmerka manjka manj kot 4 ure. Bolniki ne smejo vzeti 2 odmerkov hkrati, da bi nadomestili izpuščeni odmerek. **Prilagajanje odmerkov:** Ravnj zmanjšanja odmerka: *prvo zmanjšanje odmerka:* 75 mg peroralno enkrat na dan; *drugo zmanjšanje odmerka:* 50 mg peroralno enkrat na dan. Zdravljenje je treba trajno prekiniti, če bolnik ne prenaša odmerka 50 mg peroralno enkrat na dan. Za prilagajanje odmerkov zaradi neželenih učinkov glejte preglednico 1 v SmPC-ju. **Posebne populacije:** *Starejši bolniki (≥ 65 let):* Zaradi omejenih podatkov priporočil o odmerjanju ni mogoče dati. *Okvara ledvic:* Prilagajanje odmerkov pri bolnikih z normalnim delovanjem in blago ali zmerno (CL_{cr} ≥ 30 ml/min) okvaro ni potrebno. Podatki o uporabi pri bolnikih s hudo okvaro (CL_{cr} < 30 ml/min) so zelo omejeni, zato uporaba ni priporočljiva. *Okvara jeter:* Pri bolnikih z blago okvaro ni potrebno prilagajanje odmerkov. Podatkov o uporabi pri zmerno ali hudi okvari ni, zato uporaba ni priporočljiva. *Pediatrična populacija:* Varnost in učinkovitost pri otrocih in mladostnikih, starih < 18 let, nista bili dokazani. **Način uporabe:** Peroralna uporaba, vsak dan ob približno istem času, s hrano ali brez nje. Tablete je treba pogoltniti cele. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katerikoli pomožna snov. Uporaba močnih induktorjev CYP3A4/5. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** **Hiperlipidemija:** Uporaba je povezana z zvečanji vrednosti holesterola in trigliceridov v serumu – morda bo treba uvesti ali povečati odmerek zdravil za zniževanje ravnj lipidov. **Učinki na**

osrednje živčevje: Opazili so učinke na osrednje živčevje, vključno s spremembami v kognitivni funkciji, razpoloženju ali govoru – morda bo treba prilagoditi odmerek ali prekiniti zdravljenje. **Atrioventrikularni blok:** Pri bolnikih, ki so prejeli lorlatinib, so poročali o podaljšanju intervala PR in AV-bloku. Potrebno je spremljanje EKG in morda bo treba prilagoditi odmerek. **Zmanjšanje iztisnega deleža levega prekata:** Pri bolnikih, ki so prejeli lorlatinib in pri katerih so opravili izhodno in še vsaj eno nadaljnjo oceno iztisnega deleža levega prekata (LVEF – Left Ventricular Ejection Fraction), so poročali o zmanjšanju LVEF. Če imajo bolniki dejavnike tveganja za srce ali stanja, ki vplivajo na LVEF, ali se jim med zdravljenjem pojavijo pomembni srčni znaki/simptomi, je treba razmisliti o spremljanju srca, vključno z oceno LVEF. **Zvečanje vrednosti lipaze in amilaze:** Pri bolnikih, ki so prejeli lorlatinib, se je pojavilo zvečanje vrednosti lipaze in/ali amilaze. Zaradi sočasne hipertrigliceridemije in/ali morebitnega intrinzičnega mehanizma je treba opozoriti tveganje za pankreatitis. **Intersticijska bolezen pljuč (ILD – Interstitial Lung Disease)/pneumonitis:** Pri uporabi lorlatiniba so se pojavili hudi ali življenjsko ogrožajoči pljučni neželeni učinki, skladni z ILD/pneumonitisom. Vse bolnike, pri katerih pride do poslabšanja respiratornih simptomov, ki kažejo na ILD/pneumonitis, je treba takoj pregledati glede ILD/pneumonitisa. **Laktoza:** Vsebuje laktozo. Bolniki z redko dedno intoleranco za galaktozo, odsotnostjo encima laktaze ali malabsorpcijo glukoze/galaktoze ne smejo jemati tega zdravila. **Natrij:** Bolnike na dieti z nadzorovanim vnosom natrija je treba obvestiti, da je to zdravilo v bistvu 'brez natrija'. **Mesebno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** Učinek zdravil na lorlatinib: **Induktorji CYP3A4/5:** Sočasna uporaba močnih induktorjev CYP3A4/5 (npr. rifampicin, karbamazepin, enzalutamid, mitotan, fenitoin in šentjanževka) je kontraindicirana. Sočasni uporabi zmernih induktorjev CYP3A4/5 se je treba izogibati, saj lahko pride do zmanjšanja koncentracij lorlatiniba in plazmi. **Zaviralci CYP3A4/5:** Sočasni uporabi močnih zaviralcev CYP3A4/5 (npr. boceprevir, kobicistat, itraconazol, ketokonazol, posakonazol, troleanomicin, vorikonazol, ritonavir, paritaprevir in kombinaciji z ritonavir in ombitasvirom in/ali dasabuvirovom ter ritonavir v kombinaciji z evitegravirovom, indinavirrom, lopinavirrom ali tipranavirrom in grenivka ali grenivkin sok), se je treba izogibati, saj lahko pride do zvečanja koncentracij lorlatiniba v plazmi (če je sočasna uporaba nujna, je treba zmanjšati odmerek lorlatiniba). **Učinek lorlatiniba na druga zdravila:** **Substrati CYP3A4/5:** Izogibati se je treba sočasnemu dajanju lorlatiniba in substratov CYP3A4/5 z ozkimi terapevtskimi indeksi (npr. alfentanil, ciklosporin, dihidroergotamin,

ergotamin, fentanil, hormonski kontraceptivi, pimoizid, kinidin, sirolimus in takrolimus), saj lahko lorlatinib zmanjša koncentracije teh zdravil. **Substrati P-glikoproteina:** Substrate P-gp, ki imajo ozke terapevtske indekse (npr. digoksin, dabigatraneteksilat), je treba v kombinaciji z lorlatinibom uporabljati previdno, saj obstaja verjetnost, da se koncentracija teh substratov v plazmi zmanjša. **Studije in vitro s prenašalci zdravil, ki niso P-gp:** Lorlatinib je treba v kombinaciji s substrati BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, MATE1 in OAT3 uporabljati previdno, saj klinično pomembnih sprememb v plazemski izpostavljenosti teh substratov ni mogoče izključiti. **Plodnost, nosečnost in dojenje:** Ženskam v rodni dobi je treba svetovati, naj se med zdravljenjem z lorlatinibom izogibajo zanositvi in naj med zdravljenjem uporabljajo visoko učinkovito nehormonsko metodo kontracepcije, saj lahko lorlatinib povzroči, da hormonski kontraceptivi postanejo neučinkoviti. Učinkovito kontracepcijo je treba uporabljati še vsaj 35 dni po zaključku zdravljenja. Med zdravljenjem in še vsaj 14 tednov po zadnjem odmerku morajo bolniki, ki imajo partnerice v rodni dobi, uporabljati učinkovito kontracepcijo. **Nosečnost:** Studije na živalih so pokazale embriofetalno toksičnost, zato uporaba med nosečnostjo ali pri ženskah v rodni dobi, ki ne uporabljajo kontracepcije, ni priporočljiva. **Dojenje:** Med zdravljenjem in še 7 dni po zadnjem odmerku je treba prenehati z dojenjem. **Plodnost:** Zdravljenje lahko ogrozi plodnost pri moških. **Vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev:** Ima zmeren vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev. Potrebna je previdnost, saj se pri bolnikih lahko pojavijo učinki na osrednje živčevje. **Neželeni učinki:** Zelo pogosti: anemija, hiperholesterolemija, hipertrigliceridemija, učinki na razpoloženje, učinki na kognitivne funkcije, periferna nevropatija, glavobol, motnja vida, diareja, navzea, zaprtje, izpuščaji, artralgija, mialgija, edem, utrujenost, zvečanje telesne mase, zvečanje vrednosti lipaze, zvečanje vrednosti amilaze. **Način in režim izdaje:** Rp/Spec – Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept zdravnika specialista ustreznega področja medicine ali od njega pooblaščenega zdravnika. **Imetnik dovoljenja za promet:** Pfizer Europe MA EEIG, Boulevard de la Plaine 17, 1050 Bruxelles, Belgija. **Datum zadnje revizije besedila:** 02.04.2020

Pred predpisovanjem se seznanite s celotnim povzetkom glavnih značilnosti zdravila.

Literatura: 1. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Lorviqua, 2.4.2020. 2. Centralna baza zdravil. Dostopno na: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=\(%5BTXIMELAS1%5D=%5BLorviqua%5D\)&SearchOrder=4&SearchMax=301](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=(%5BTXIMELAS1%5D=%5BLorviqua%5D)&SearchOrder=4&SearchMax=301). Dostopano: oktober, 2020.




ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Klinični primeri uporabe molekularnih značilnosti pri različnih rakih

Rak sečnega mehurja

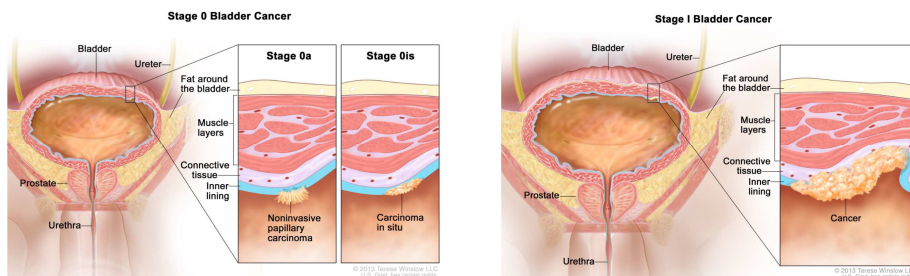
Ljubljana, 19.-20.11.2020

Rak mehurja

- Rak mehurja sodi v svetovnem merilu med pogoste rake.
- V Evropi je incidenca pri moških 3 x višja kot pri ženskah.
- 70% > 65 let.
- Patološka delitev 
 - mišično ne-invazivni (NMIBC)
 - mišično invazivni (MIBC)
- Histološko 90% vseh MIBC urotelni karcinomi.



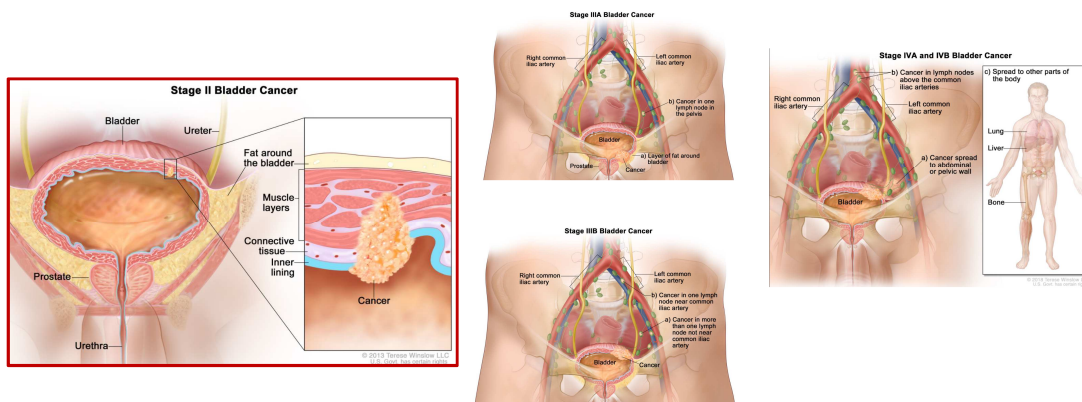
NMIBCa



- 70% - 80% vseh primerov carcinoma sečnega mehurja
- 50% - 70% ponovitev
- 10% - 20% napredovanje v MIBCa



MIBCa



Histopatološka klasifikacija



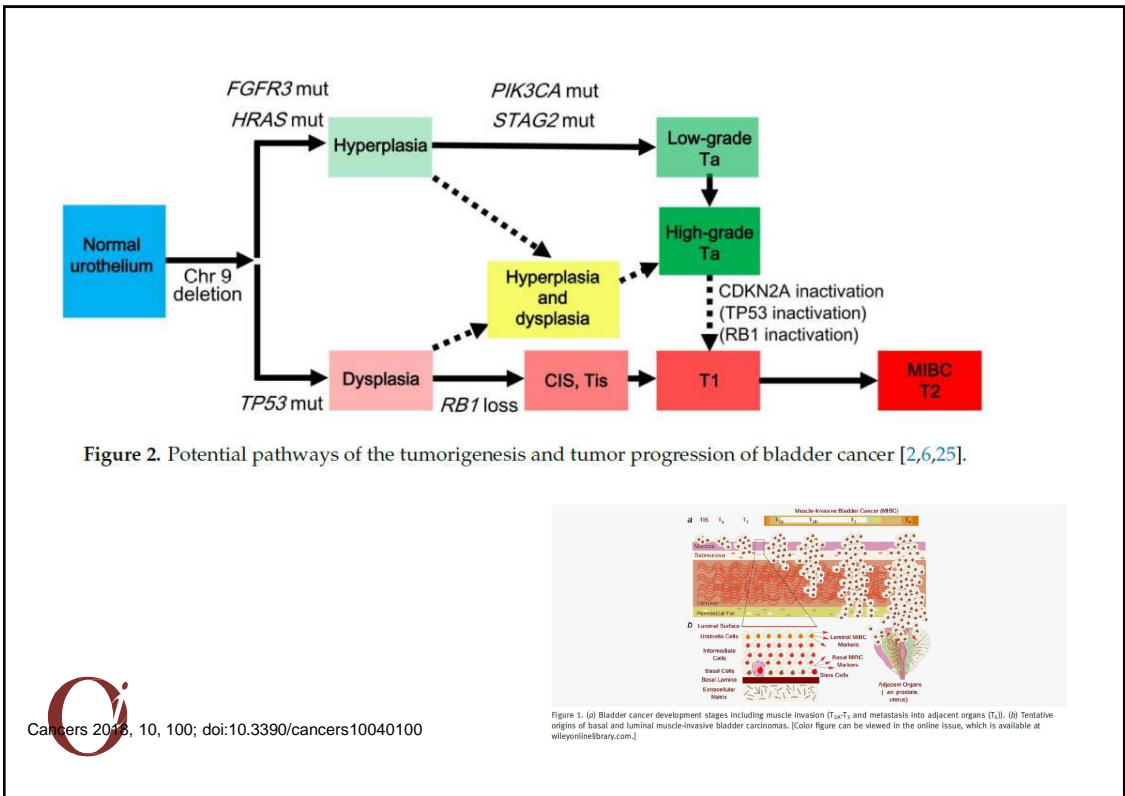
Rak mehurja-molekularna delitev

- Heterogena bolezen → genomska nestabilnost + visoka stopnja mutacij
- Potreba po natančnejši razdelitvi na molekularne podtipe za najoptimalnejšo izbiro zdravljenja in oceno prognoze.
- Različni odgovori na kemoterapijo, imunoterapijo in TKI.



Klinični pomen





Cancers 2016, 10, 100; doi:10.3390/cancers10040100

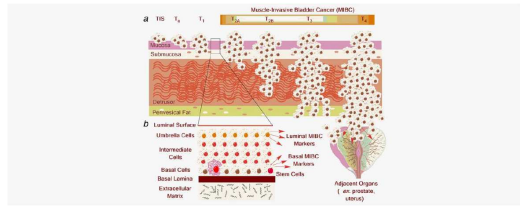


Figure 3. (a) Bladder cancer development stages including muscle invasion (T_a-T₁) and metastasis into adjacent organs (T₂). (b) Tentative origins of basal and luminal muscle-invasive bladder carcinomas. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.mdpi.com/1923-2175/10/4/100.]

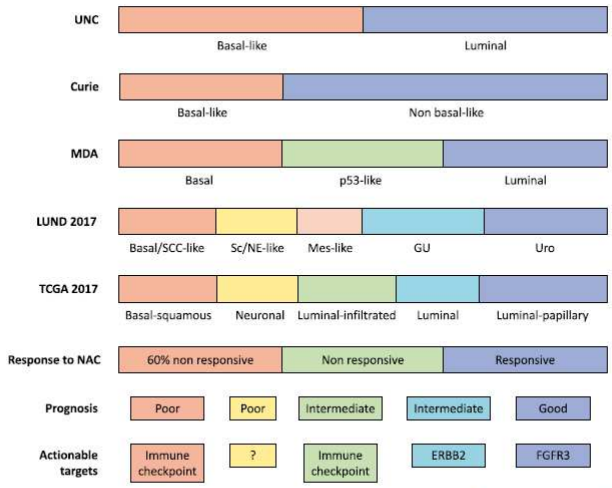


Fig. 3. Molecular subtypes of bladder cancer, based on the nomenclature defined by the University of North Carolina (UNC) [49], Institut Curie [50], MD Anderson Cancer Center (MDA) [51], Lund University (Lund) from 2017 [53], and The Cancer Genome Atlas Network (TCGA) from 2017 [34]. (Adapted with permission from Kamat et al. *Lancet* 2016). Mes = mesenchymal; GU = genomically unstable; SCC = squamous cell carcinoma; Sc/NE = small cell/neuroendocrine. (Color version of figure is available online.)



available at www.sciencedirect.com
journal homepage: www.europeanurology.com



Platinum Priority – Bladder Cancer – Editor's Choice
Editorial by Kenneth B. Yatai, Mark J. Dunning and Dennis Wang on pp. 434–435 of this issue

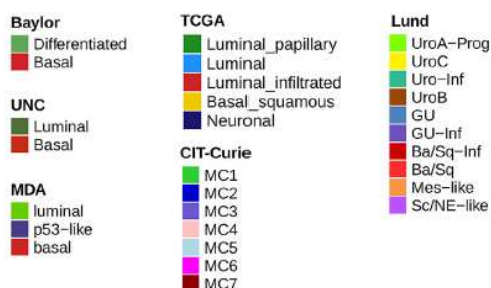
A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer

Aurélie Kamoun^{a,*}, Aurélien de Reyniès^{a,i}, Yves Allory^{b,c,j}, Gottfrid Sjödaahl^{d,i}, A. Gordon Robertson^{e,i}, Roland Seiler^f, Katherine A. Hoadley^g, Clarice S. Groeneveld^{a,c,h}, Hikmat Al-Ahmadieⁱ, Woonyoung Choi^j, Mauro A.A. Castro^h, Jacqueline Fontugne^{b,c}, Pontus Eriksson^k, Qianxing Mo^l, Jordan Kardos^g, Alexandre Zlotta^m, Arndt Hartmannⁿ, Colin P. Dinney^{o,p}, Joaquim Bellmunt^q, Thomas Powles^r, Núria Malats^s, Keith S. Chan^t, William Y. Kim^{u,v}, David J. McConkey^l, Peter C. Black^w, Lars Dyrskjøt^x, Mattias Höglund^k, Seth P. Lerner^y, Francisco X. Real^z, François Radvanyi^c, the Bladder Cancer Molecular Taxonomy Groupⁱ



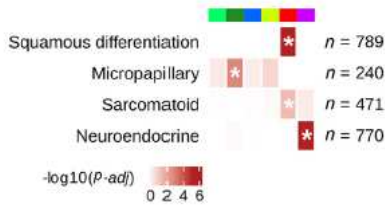
A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer

Patient summary: Bladder cancers are heterogeneous at the molecular level, and scientists have proposed several classifications into sets of molecular classes. While these classifications may be useful to stratify patients for prognosis or response to treatment, a consensus classification would facilitate the clinical use of molecular classes. Conducted by multidisciplinary expert teams in the field, this study proposes such a consensus and provides a tool for applying the consensus classification in the clinical setting.

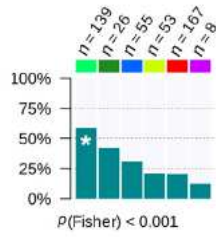


A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer

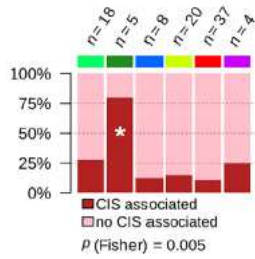
A Association with histological variants



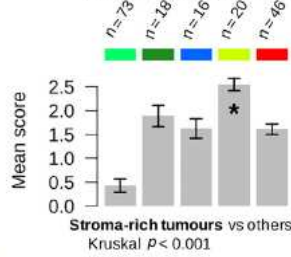
B Papillary morphology (n = 448)



C Presence of CIS (n = 92)



D Smooth muscle histological quantification (n = 173)

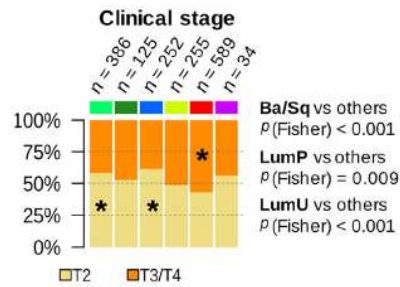
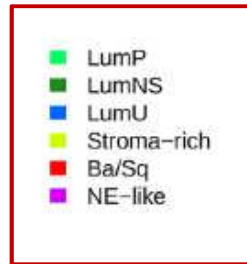
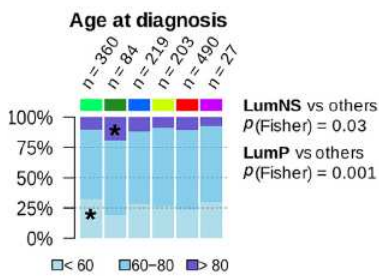
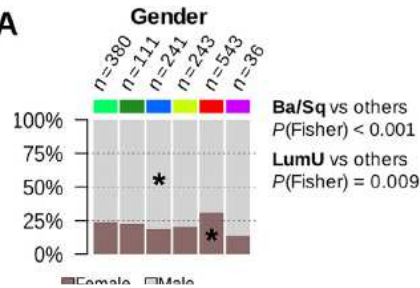


EUROPEAN UROLOGY 77 (2020) 420–433

- LumP
- LumNS
- LumU
- Stroma-rich
- Ba/Sq
- NE-like

A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer







A



EUROPEAN UROLOGY 77 (2020) 420–433

A Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer

MIBC molekularna opredelitev

% of MIBC	24%	8%	15%	15%	35%	3%
Class Name	Luminal Papillary (LumP)	Luminal Non-Specified (LumNS)	Luminal Unstable (LumU)	Stroma-rich	Basal/Squamous (Ba/Sq)	Neuroendocrine-like (NE-like)
						
Differentiation	Urothelial / Luminal				Basal	Neuroendocrine
Oncogenic mechanisms	FGFR3 + PPARG + CDKN2A -	PPARG +	PPARG + E2F3 +, ERBB2 + Genomic instability Cell cycle +		EGFR +	TP53 -, RB1 -, Cell cycle +
Mutations	FGFR3 (40%), KDM6A (38%)	ELF3 (35%)	TP53 (76%), ERCC2 (22%) TMB +, APOBEC +		TP53 (61%), RB1 (25%)	TP53 (94%) RB1 (39%)*
Stromal infiltrate		Fibroblasts		Smooth muscle Fibroblasts Myofibroblasts	Fibroblasts Myofibroblasts	
Immune infiltrate				B cells	CD8 T cells NK cells	
Histology	Papillary morphology (59%)	Micropapillary variant (36%)			Squamous differentiation (42%)	Neuroendocrine differentiation (72%)
Clinical	T2 stage +	Older patients + (80+)			Women + T3/T4 stage +	
Median overall survival (years)	4	1.8	2.9	3.8	1.2	1

* 94% of these tumors present either RB1 mutation or deletion

EUROPEAN UROLOGY 77 (2 0 2 0) 4 20– 4 33

Results and limitations: We report the results of an international effort to reach a consensus on MIBC molecular subtypes. We identified a consensus set of six molecular classes: luminal papillary (24%), luminal nonspecified (8%), luminal unstable (15%), stroma-rich (15%), basal/squamous (35%), and neuroendocrine-like (3%). These consensus classes differ regarding underlying oncogenic mechanisms, infiltration by immune and stromal cells, and histological and clinical characteristics, including outcomes. We provide a single-sample classifier that assigns a consensus class label to a tumor sample's transcriptome. Limitations of the work are retrospective clinical data collection and a lack of complete information regarding patient treatment.



EUROPEAN UROLOGY 77 (2 0 2 0) 4 20– 4 33

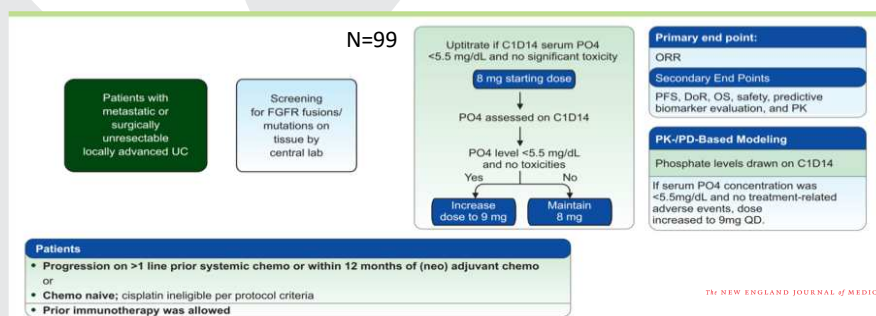
Rak mehurja-možnosti zdravljenja

- Standardno zdravljenje prve linije je shema, ki vsebuje cisplatin (gemcitabin/cisplatin ali metotreksat/vinblastin/doksorubicin/cisplatin),
- Alternative s karboplatinom (inferiorni rezultati).
- V primeru relapsa ni veliko možnosti; vinflunin, docetaksel, paklitaksel.
- Novi obeti z uvedbo zaviralcev imunskih kontrolnih točk (PD-1, PD-L1) in TKI.

Napoved odgovora na anti- PD-1/anti-PD-L1?
 Napoved odgovora na RT?
 Napoved odgovora na neoadjuvantno KT?
 Napoved odgovora na FGFR zaviralce?



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci-BCL2001 študija



THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma

Y. Loriot, A. Necchi, S.H. Park, J. Garcia-Donas, R. Huddart, E. Burgess, M. Fleming, A. Rezaee, B. Mellado, S. Varlamov, M. Joshi, I. Duran, S.T. Tagawa, Y. Zakharia, B. Zhong, K. Stuyckens, A. Santiago-Walker, P. De Porre, A. O'Hagan, A. Awadhani, and A.O. Siefken-Radtke, for the BCL2001 Study Group*



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci

April/2019 FDA

>>for patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma, with susceptible FGFR3 or FGFR2 genetic alterations, that has progressed during or following platinum-containing chemotherapy, including within 12 months of neoadjuvant or adjuvant platinum-containing chemotherapy.<<

December/2019 ESMO

>>Erdafitinib is an option in platinum-refractory or platinum- and ICI-refractory urothelial carcinoma tumours with selected fibroblast growth factor receptor (FGFR) DNA alterations (FGFR2 or FGFR3 mutations or FGFR3 fusions). Treatment should continue until progression. (This regimen is not currently EMA-approved).<<



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci-BCL2001 študija

Table 1. Demographic and Clinical Characteristics of the 99 Patients in the Selected-Regimen Group at Baseline.^a

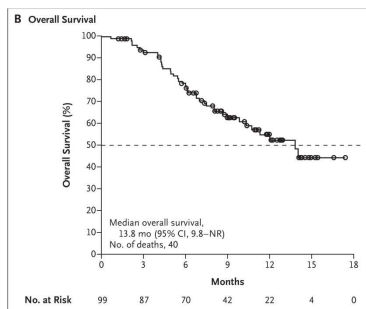
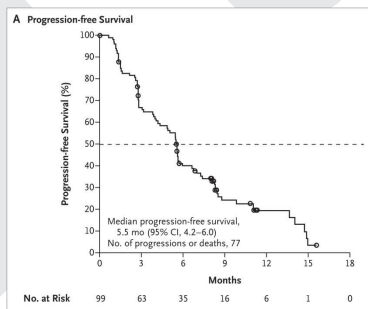
Characteristic	Value
Age — yr	
Median	68
Range	36–87
ECOG performance-status score — no. (%) [†]	
0	50 (51)
1	42 (42)
2	7 (7)
Treatment history — no. (%)	
Progression or relapse after chemotherapy	87 (88)
No previous chemotherapy	12 (12)
Progression or relapse after immunotherapy	22 (22)
No. of previous treatments — no. (%)	
0	11 (11)
1	45 (45)
≥2	43 (43)
Visceral metastasis — no. (%)	
Present [‡]	78 (79)
Absent	21 (21)
Creatinine clearance rate — no. (%)	
<60 ml/min	52 (53)
≥60 ml/min	47 (47)

Table 2. Antitumor Activity of Erdafitinib in the 99 Patients in the Selected-Regimen Group.^a

Variable	Value	Rate of Response (95% CI) percent
Response per investigator assessment — no. of patients [†]		
Any objective response	40	40 (31–50)
Complete response	3	3
Partial response	37	37
Stable disease	39	39
Progressive disease	18	18
Could not be evaluated or unknown	2	2
Median time to response — mo	1.4	
Median duration of response (95% CI) — mo	5.6 (4.2–7.2)	
Response per independent radiologic assessment — no. of patients [†]		
Objective response	34	34 (25–44)
Complete response	3	3
Partial response	31	31
Response according to previous treatment — no./total no.		
No chemotherapy	5/12	42
Progression or relapse after chemotherapy	35/87	40
Immunotherapy	13/22	59
Response according to number of previous systemic treatments — no./total no.		
0	4/11	36 (8–65)
1	17/45	38 (24–52)
2	11/29	38 (20–56)
3	6/10	60 (30–90)
≥4	2/4	50 (1–99)
Response according to presence or absence of visceral metastasis — no./total no.		
Present	30/78	38 (28–49)
Bone	10/21	48 (26–69)
Liver	7/20	35 (14–56)
Lung	23/57	40 (28–53)
Lymph node only	4/12	33 (7–60)
Upper tract disease [‡]	10/23	43 (23–64)
Lower tract disease [‡]	30/76	39 (29–51)
Absent	10/21	48 (26–69)
Response according to daily dose of erdafitinib — no./total no.		
8 mg	20/58	34 (22–47)
8 mg with dose escalation to 9 mg	20/41	49 (34–64)
Response according to genetic alteration — no./total no.		
FGFR3 mutation	36/74	49 (31–69)
FGFR2/3 fusion	4/25	16 (2–39)



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci-BCL2001 študija



N Engl J Med 2019;381:338-48.

Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci-BCL2001 študija

Table 3. Adverse Events in the 99 Patients in the Selected-Regimen Group.^{a,b}

Adverse Event	Any Grade	Grade 1	Grade 2	Grade ≥3
	number of patients (percent)			
Hyperphosphatemia	76 (77)	53 (54)	21 (21)	2 (2)
Stomatitis	52 (58)	21 (21)	26 (26)	10 (10)
Diarrhea	50 (51)	31 (31)	15 (15)	4 (4)
Dry mouth	45 (46)	34 (34)	11 (11)	0
Decreased appetite	38 (38)	18 (18)	20 (20)	0
Dysgeusia	37 (37)	23 (23)	13 (13)	1 (1)
Fatigue	32 (32)	12 (12)	18 (18)	2 (2)
Dry skin	32 (32)	24 (24)	8 (8)	0
Alopecia	29 (29)	23 (23)	6 (6)	0
Constipation	28 (28)	19 (19)	8 (8)	1 (1)
Hand-foot syndrome	23 (23)	6 (6)	12 (12)	5 (5)
Anemia	20 (20)	9 (9)	7 (7)	4 (4)
Asthenia	20 (20)	2 (2)	11 (11)	7 (7)
Nausea	20 (20)	13 (13)	6 (6)	1 (1)
Dry eye	19 (19)	14 (14)	4 (4)	1 (1)
Onycholysis	18 (18)	6 (6)	10 (10)	2 (2)
Alanine aminotransferase increased	17 (17)	13 (13)	2 (2)	2 (2)
Paronychia	17 (17)	3 (3)	11 (11)	3 (3)
Blurred vision	17 (17)	10 (10)	7 (7)	0
Nail dystrophy	16 (16)	5 (5)	5 (5)	6 (6)
Urinary tract infection	16 (16)	0	11 (11)	5 (5)
Vomiting	13 (13)	10 (10)	1 (1)	2 (2)
Hyponatremia	12 (12)	1 (1)	0	11 (11)
Hematuria	10 (10)	7 (7)	1 (1)	2 (2)
Dyspnea	8 (8)	4 (4)	2 (2)	2 (2)
Nail disorder	8 (8)	4 (4)	1 (1)	3 (3)
Acute kidney injury	6 (6)	2 (2)	2 (2)	2 (2)
Cataract	6 (6)	3 (3)	1 (1)	2 (2)
Colitis	5 (5)	1 (1)	2 (2)	2 (2)
General deterioration in physical health	5 (5)	0	1 (1)	4 (4)
Heratitis	5 (5)	0	2 (2)	3 (3)
Aphthous ulcer	4 (4)	2 (2)	0	2 (2)
Increase in γ-glutamyltransferase	3 (3)	1 (1)	0	2 (2)
Urosepsis	3 (3)	0	0	3 (3)



N Engl J Med 2019;381:338-48.

Management of metastatic bladder cancer

Rosa Nadal^a, Joaquim Bellmunt^{b,c,*}

^a Cellular and Molecular Therapeutics Branch, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

^b IMIM Hospital del Mar Research Institute, Barcelona, Spain

^c Harvard Medical School, Boston, MD, USA

R. Nadal and J. Bellmunt

Cancer Treatment Reviews 76 (2019) 10–21

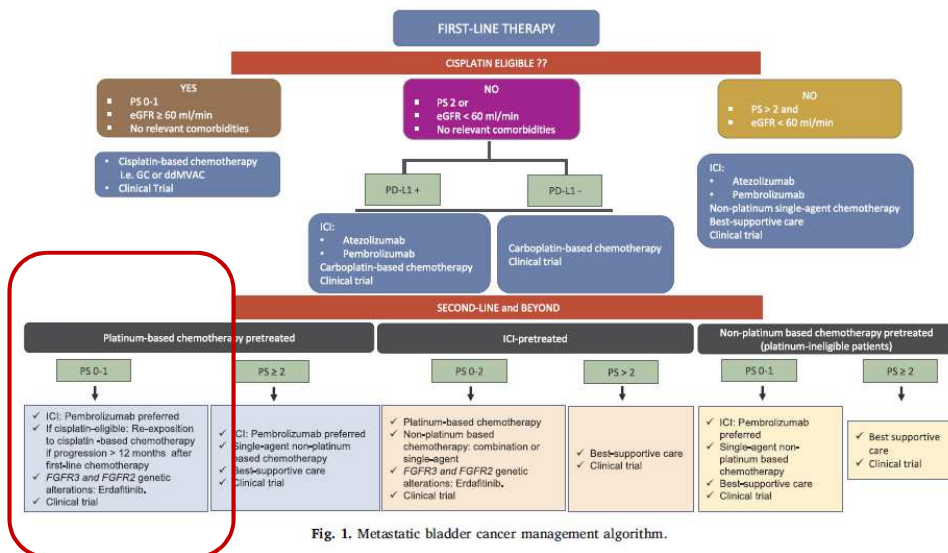


Fig. 1. Metastatic bladder cancer management algorithm.

Zdravljenje s FGFR zaviralci v Sloveniji

Oktober 2020:

Program sočutne uporabe za zdravilo erdafitinib za odrasle osebe z lokalno napredovalim ali metastatskim urotelijskim rakom, ki imajo pozitivne FGFR2 ali FGFR3 genetske spremembe



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja s FGFR zaviralci

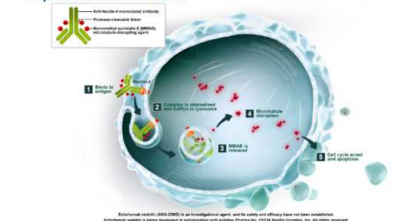
- Zdravljenje s FGFR zaviralci ima klinično dobrobit pri 20% bolnikov z mišično invazivnim rakom mehurja in FGFR mutacijo/translokacijo ter pri 40% bolnikov s FGFR prekomerno izraženo.
- Genomske alteracije FGFR so prisotne v 15%-20% napredovalih mišično invazivnih rakov mehurja in 35% drugih urotelnih rakov.



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja z enfortumab vedotinom

- Zdravljenje lokalno napredovalega ali metastatskega raka mehurja, ki je bil pred tem zdravljen s KT na osnovi platine in anti PD-1/anti-PD-L1.
- Je kombinacija humanega monoklonskega protitelesa in zdravila monometil auristatin E, ki se vpleta v mikrotubule.
- Tarča je nectin 4 (transmembranski protein vključen v procese onkogeneze), ki je visoko izražen v urotelnem karcinomu.

Enfortumab Vedotin: Nectin-4 Targeted Therapy
Proposed Mechanism of Action



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja z enfortumab vedotinom

Pivotal Trial of Enfortumab Vedotin in Urothelial Carcinoma After Platinum and Anti-Programmed Death 1/Programmed Death Ligand 1 Therapy

Jonathan E. Rosenberg, MD¹, Peter H. O'Donnell, MD², Aydin K. Kulkarni, MD³, Bradley A. McQueen, MD⁴, Elizabeth L. Smith, MD⁵, Euan Y. Fu, MD⁶, Matthew D. Galsky, MD⁷, Nishu M. Hans, MD⁸, Elaine H. Gardner, MD⁹, Juan M. Pineda, F.A.C. MRS¹⁰, Dong-Hyung Lim, PhD¹¹, Aron Nishimura, MD¹², and David P. Petrypa, MD¹³

EV-201: Single-Arm, Pivotal Phase 2 Trial



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja z enfortumab vedotinom

Characteristic	Patients (N = 125)
Male sex	88 (70)
Age, years	
Median	69
Min, max	40, 84
Age group, years	
< 75	91 (73)
≥ 75	34 (27)
Region	
North America	117 (94)
Asia	8 (6)
ECOG performance status*	
0	40 (32)
1	85 (68)
Primary tumor location	
Bladder/other	81 (65)
Upper tract†	44 (35)
Histology type	
Urothelial carcinoma only	84 (67)
Urothelial carcinoma with squamous differentiation	15 (12)
Urothelial carcinoma with other histologic variants	26 (21)

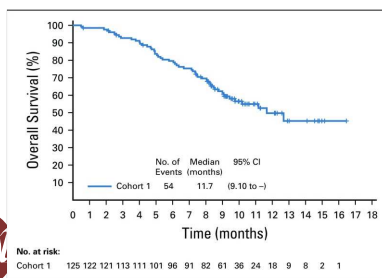
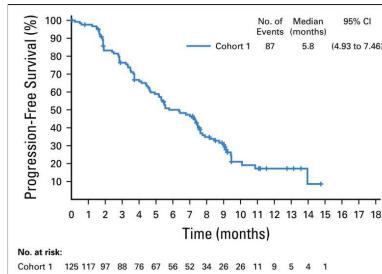
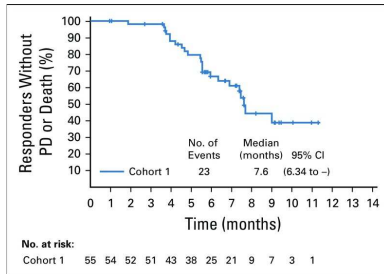
Current extent of disease	
Metastatic	125 (100)
Metastasis sites	
Lymph nodes only	13 (10)
Visceral disease‡	112 (90)
Bone	51 (41)
Liver	50 (40)
Lung	53 (42)
No. of prior systemic therapies in locally advanced or metastatic setting§	
Median	3
Min, max	1, 6
≥ 3	63 (50)
Best response to PD-1/L1-containing therapy	
Responder	25 (20)
Nonresponder	100 (80)
PD-L1 status by combined positive score¶	
< 10	78/120 (65)
≥ 10	42/120 (35)
Nectin-4 expression level, H-score	
Median	290
Max, min	14, 300

TABLE 2. Summary of Responses Per Blinded Independent Central Review

Response	Patients (N = 125)
Objective response rate	55 (44)
95% CI*	35.1 to 53.2
Best overall response†	
Complete response	15 (12)
Partial response	40 (32)
Stable disease	35 (28)
Progressive disease	23 (18)
Not evaluable‡	2 (1)



Rak mehurja- nove možnosti zdravljenja z enfortumab vedotinom



Patients (N = 125)

Common Adverse Event (preferred term)	Any Grade	Grade ≥ 3
All adverse events	117 (94)	68 (54)
Fatigue	62 (50)	7 (6)
Alopecia	61 (49)	0
Decreased appetite	55 (44)	1 (1)
Dysgeusia	50 (40)	0
Peripheral sensory neuropathy	50 (40)	2 (2)
Nausea	49 (39)	3 (2)
Diarrhea	40 (32)	3 (2)
Weight decreased	38 (31)	1 (1)
Dry skin	28 (22)	0
Rash maculopapular	27 (22)	5 (4)
Dry eye	24 (19)	0
Anemia	22 (18)	9 (7)
Pruritus	21 (17)	0
Vomiting	18 (14)	3 (2)
Lacrimation increased	18 (14)	0
AST increased	17 (14)	4 (3)
Constipation	15 (12)	0
Vision blurred	15 (12)	0
Rash erythematous	14 (11)	4 (3)
Edema peripheral	14 (11)	1 (1)
Neutropenia	13 (10)	10 (8)
Hyperglycemia	12 (10)	5 (4)
Amylase increased	12 (10)	3 (2)
Pruritus generalized	12 (10)	2 (2)
ALT increased	12 (10)	2 (2)

eUpdate – Bladder Cancer Treatment Recommendations

Published: 16 December 2019. Authors: ESMO Guidelines Committee

	Standard therapy	When standard therapy is not possible
Unselected platinum-refractory.	ICI [I, A]	ChT [II, B] Enfortumab vedotin [III, B]* [5]
Platinum-refractory with FGFR DNA alterations [4]	ICI [I, A] Erdafitinib [III, B]*	ChT [II, B]
>1 year from first-line ChT treatment	ICI [I, A]	Cisplatin-based ChT rechallenge [IV, B]
ICI-refractory, ChT-naive	Platinum based-ChT [IV, B] [3]	
Platinum-based ChT and ICI-refractory	Enfortumab vedotin [III, B]* Erdafitinib [III, B]* (with selected FGFR DNA alterations) ChT [II, B]	

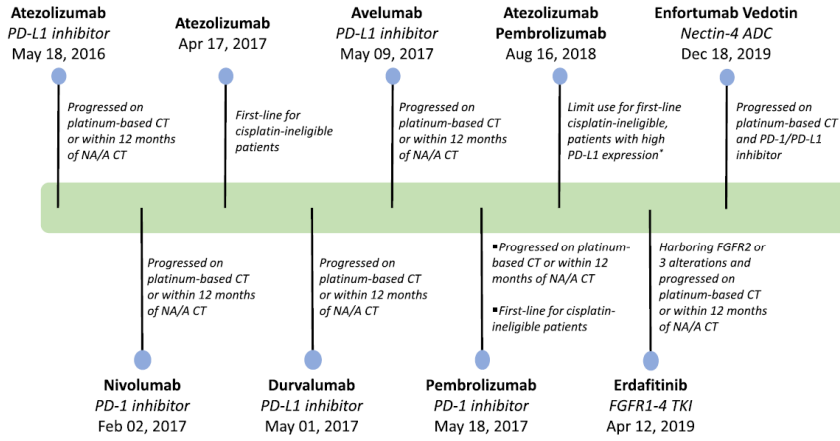
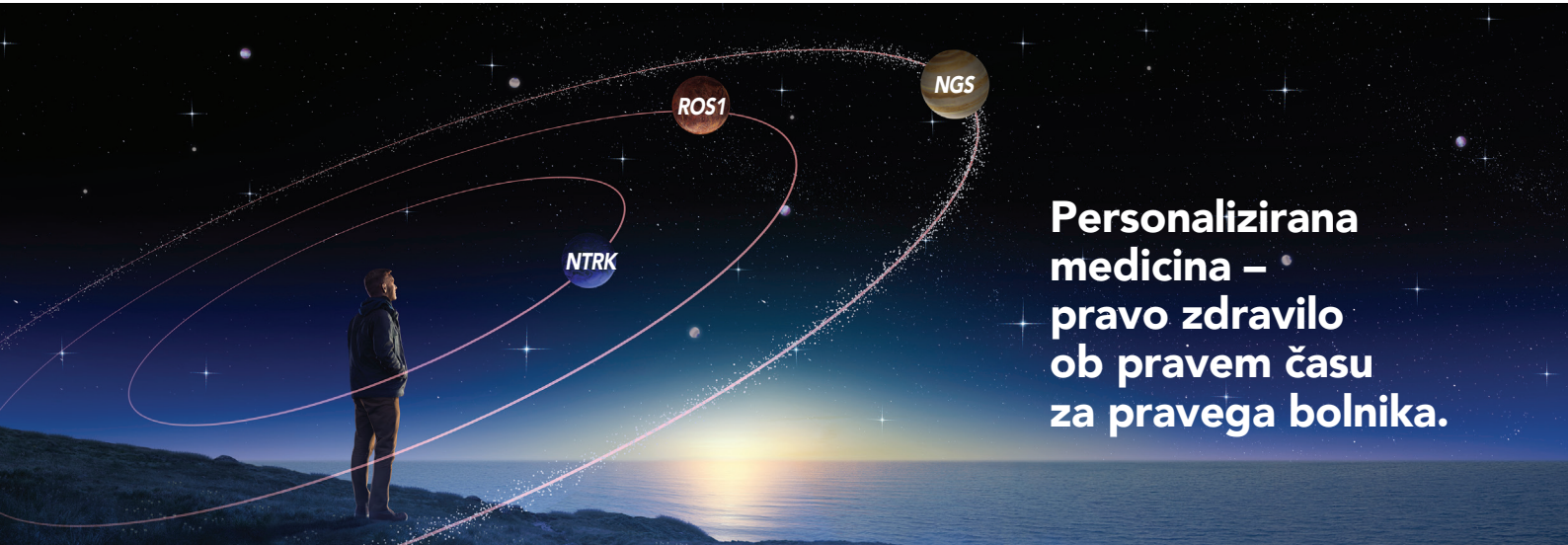


FIGURE 3. Timeline of Novel Therapy Approvals for Advanced Urothelial Carcinoma. There were 9 US Food and Drug Administration approvals of novel therapies from 2016 to 2019. Atezolizumab, nivolumab, avelumab, durvalumab, and pembrolizumab were approved for patients who progressed on platinum-based chemotherapy (CT) in the advanced setting or within 12 months of neoadjuvant or adjuvant (NA/A) treatment. Atezolizumab and pembrolizumab are approved for treatment-naïve, cisplatin-ineligible patients who have tumors with high PD-L1 expression, as defined below. Erdafitinib, a fibroblast growth factor receptor (FGFR) tyrosine kinase inhibitor (TKI), was approved for patients who have tumors with FGFR2 or FGFR3 alterations and progressed on platinum-based CT. Enfortumab vedotin, an antibody-drug conjugate (ADC), is approved for patients who progressed on platinum-based CT. High PD-L1 expression is defined as a combined positive score (CPS) ≥ 10 for pembrolizumab and PD-L1 $\geq 5\%$ for atezolizumab.





Personalizirana medicina – pravo zdravilo ob pravem času za pravega bolnika.

ROZLYTREK® (entrectinib) je prvo odobreno tumor agnostično zdravilo podjetja Roche za zdravljenje odraslih in pediatričnih bolnikov, starih 12 let ali več, s solidnimi tumorji s prisotno fuzijo gena *NTRK* ter za zdravljenje odraslih bolnikov z *ROS1*-pozitivnim napredovalim NDRP.¹



NGS = next-generation sequencing, sekvenciranje naslednje generacije

Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila Rozlytrek

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila. Kako poročati o neželenih učinkih, si pogledajte skrajšani povzetek glavnih značilnosti zdravila pod "Poročanje o domnevnih neželenih učinkih".

Ime zdravila: Rozlytrek 100 mg/200 mg trde kapsule. **Kakovostna in količinska sestava:** Rozlytrek 100 mg trde kapsule: Ena trda kapsula vsebuje 100 mg entrectiniba. Rozlytrek 200 mg trde kapsule: Ena trda kapsula vsebuje 200 mg entrectiniba. **Terapevtske indikacije:** Zdravilo Rozlytrek je kot monoterapija indicirano za zdravljenje odraslih in pediatričnih bolnikov, starih 12 let ali več, s solidnimi tumorji s prisotno fuzijo gena nevrotrone receptorske tirozin kinaze (*NTRK*), pri katerih je bolezen lokalno napredovala, je razsejana ali kjer bi kirurška odstranitev povzročila hudo obolevnost in ki predhodno niso prešli zaviralca *NTRK* in nimajo drugih dovoljvarnih možnosti zdravljenja. Zdravilo Rozlytrek je kot monoterapija indicirano za zdravljenje odraslih bolnikov z *ROS1*-pozitivnim napredovalim nedrobnoceličnim rakom pljuč (NDRP), ki predhodno niso bili zdravljeni z zaviralci *ROS-1*. **Odmerjanje in način uporabe:** Priporočeni odmerek za odrasle je 600 mg entrectiniba enkrat na dan. Priporočeni odmerek za pediatrične bolnike, stare 12 let ali več, je 300 mg/m² telesne površine entrectiniba enkrat na dan. Zdravilo Rozlytrek je za peroralno uporabo. Trde kapsule je treba pogoltniti cele in se jih ne sme odpirati ali raztapljati, ker je vsebina kapsule zelo grenka. Zdravilo Rozlytrek se lahko jemlje s hrano ali brez nje, ne sme pa se ga jemati z grenkivo ali grenikivnim sokom. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** **Učinkovitost med tumorskimi tipi:** Korist zdravila Rozlytrek so ugotovili v študijah z eno skupino, ki so vključevale relativno majhen vzorec bolnikov, katerih tumorji izražajo fuzijo gena *NTRK*. Pozitivni učinki zdravila Rozlytrek so se pokazali preko celokupnega odgovora in trajanja odgovora pri omejenem številu tumorskih tipov. Učinek je lahko pri različnih tumorskih tipih kvantitativno različen, vplivajo pa tudi sočasne genomske spremembe. Zato se sme zdravilo Rozlytrek uporabljati le v primerih, če ni na voljo drugega zadovoljivega zdravljenja. **Kognitivne motnje:** V kliničnih preskušanih zdravila Rozlytrek so poročali o kognitivnih motnjah. Pri bolnikih je treba biti pozoren na znake kognitivnih sprememb. Glede na resnost kognitivnih motenj, je zdravljenje z zdravilom Rozlytrek treba prilagoditi. Bolnike je treba seznaniti z možnimi kognitivnimi spremembami med zdravljenjem z zdravilom Rozlytrek. Bolnikom je treba naročiti, naj v primeru simptomov kognitivnih motenj ne vozijo in ne upravljajo strojev, dokler simptomi ne minejo. **Zlomi:** O zlomih kosti so poročali pri bolnikih, mlajših od 12 let, zlomi so bili lokalizirani v spodnjih okončinah. Zlomi kosti so se pri pediatričnih bolnikih večinoma pojavili brez ali z majhno poškodbo. Vsi bolniki so nadaljevali zdravljenje z zdravilom Rozlytrek, pri vseh razen v enem primeru so se zlomi zacelili. Bolnike z znaki ali simptomi zloma je treba nemudoma oceniti. **Hiperurikemija:** Pri zdravljenju bolnikov z entrectinibom so opazili hiperurikemijo. Koncentracijo sečne kisline v serumu je treba preveriti pred začetkom zdravljenja z zdravilom Rozlytrek in periodično med samim zdravljenjem. Bolnike je treba spremljati glede znakov in simptomov hiperurikemije. Pri znakah in simptomih hiperurikemije je treba uvesti zdravljenje z zdravili, ki znižajo koncentracijo sečne kisline, če je klinično indicirano, in zdravljenje z zdravilom Rozlytrek odložiti. Odmerek zdravila Rozlytrek je treba prilagoditi glede na izrazitost. **Kongestivno srčno popuščanje:** V kliničnih preskušanih zdravila Rozlytrek so poročali o kongestivnem srčnem popuščanju. Opažali so ga tako pri bolnikih z anamnezo srčne bolezni kot pri bolnikih brez nje. Po zdravljenju z diuretiki in/ali zmanjšanju odmerka oziroma prekinitvi uporabe zdravila Rozlytrek je izzvenelo. Bolnikom s simptomi ali znanimi dejavniki tveganja za kongestivno srčno popuščanje je pred začetkom zdravljenja z zdravilom Rozlytrek treba preveriti iztisni delež levega prekata. Bolnike, ki prejemajo zdravilo Rozlytrek, je treba skrbno nadzorovati. Bolnike, pri katerih se pojavijo klinični znaki in simptomi kongestivnega srčnega popuščanja, je treba odredniti in zdraviti, kot je klinično ustrezno. Glede na izrazitost kongestivnega srčnega popuščanja je treba zdravljenje z zdravilom Rozlytrek prilagoditi. **Podaljšanje intervala QTc:** V kliničnih preskušanih so pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Rozlytrek, opazili podaljšanje intervala QTc. Uporabi zdravila Rozlytrek se je treba izogibati pri bolnikih, ki imajo pred začetkom zdravljenja QTc interval daljši od 450 ms, pri bolnikih s sindromom prirojenega dolgega QTc in pri bolnikih, ki jemljejo zdravila, za katera je znano, da podaljšajo interval QTc. Zdravilo Rozlytrek se je treba izogibati pri bolnikih z motenim ravnovesjem elektrolitov ali hujšo srčno boleznijo. Če lečeči zdravnik meni, da možne koristi zdravila Rozlytrek pri bolniku s katerikoli od teh stanj pretežajo možna tveganja, je potrebno dodatno spremljanje in razmislek o posvetu s specialistom. Priporočila se ocena EKG in elektrolitov pred začetkom zdravljenja in po 1 mesecu zdravljenja z zdravilom Rozlytrek. Periodično spremljanje EKG in elektrolitov med zdravljenjem je priporočljivo, če je klinično indicirano. Glede na izrazitost podaljšanja intervala QTc je treba zdravljenje z zdravilom Rozlytrek prilagoditi. **Ženske v rodni dobi:** Zdravilo Rozlytrek lahko škoduje plodu, če je uporabljeno med nosečnostjo. Ženske v rodni dobi morajo med zdravljenjem in še do 5 tednov po zadnjem odmerku zdravila Rozlytrek uporabljati visokoučinkovito kontracepcijsko zaščito. Moški bolniki, ki imajo partnerke v rodni dobi, morajo med zdravljenjem z zdravilom Rozlytrek in 3 mesece po zadnjem odmerku zdravila uporabljati visokoučinkovite kontracepcijske metode. **Intoleranca za laktozo:** Zdravilo Rozlytrek vsebuje laktozo. Bolniki z redko dedno intoleranco za galaktozo, odsotnostjo encima laktaze ali malabsorbcijo glukoze/galaktoze ne smejo jemati tega zdravila. **Oranžno FCF (E110):** Rozlytrek 200 mg trde kapsule vsebujejo oranžno FCF, ki lahko povzroči alergijske reakcije. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** **Interakcije med zdravili:** Sočasno jemanje zdravila Rozlytrek z močnimi ali zmernimi zaviralci CYP3A zviša koncentracije entrectiniba v plazmi, to pa lahko poveča pogostnost ali resnost neželenih učinkov. Pri odraslih in pediatričnih bolnikih, starih 12 let ali več, se je sočasnemu jemanju zdravila Rozlytrek z močnimi ali zmernimi zaviralci CYP3A treba izogibati. **Ce je pri odraslih bolnikih sočasno jemanje s temi zdravili nujno potrebno, je treba odmerek zdravila Rozlytrek znižati.** Med zdravljenjem z zdravilom Rozlytrek se je treba izogibati jemanju grenkive in izdelkov, ki vsebujejo grenkivo. Sočasno jemanje zdravila Rozlytrek z močnimi ali zmernimi spodbujevalci CYP3A ali P-gp zniža koncentracije entrectiniba v plazmi, kar lahko zmanjša učinkovitost zdravila Rozlytrek in temu se je treba izogibati. **Peroralni kontraceptivi:** Trenutno ni znano, če lahko entrectinib zmanjša učinkovitost hormonskih sistemskih kontraceptivov. Zato ženskam, ki uporabljajo hormonske sistemske kontraceptive, priporočamo, da dodatno uporabijo še pregradno metodo. **Neželeni učinki:** Najpogostejši neželeni učinki (≥ 20 %) so bili utrujenost, zaprtost, dispepsija, edem, omotica, diareja, navzea, disestezijska, dispneja, anemija, povečana telesna masa, povišana vrednost kreatinina v krvi, bolečina, kognitivne motnje, bruhanje, kašelj in zvišana telesna temperatura. Najpogostejši resni neželeni učinki (≥ 2 %) so bili okužba pljuč (5,2 %), dispneja (4,6 %), kognitivne motnje (3,8 %) in pleuralni izliv (2,4 %). Ukinitve zdravljenja zaradi neželenega učinka je bila prisotna pri 4,4 % bolnikov. **Poročanje o domnevnih neželenih učinkih:** Poročanje o domnevnih neželenih učinkih zdravila po izdaji dovoljenja za promet je pomembno. Omogoča namreč stalno spremljanje razmerja med koristimi in tveganji zdravila. Od zdravstvenih delavcev se zahteva, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila na: Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke, Sektor za farmakovigilanco, Nacionalni center za farmakovigilanco, Slovenceva ulica 22, SI-1000 Ljubljana, Tel: +386 (0)8 2000 500, Faks: +386 (0)8 2000 510, e-pošta: h.farmakovigilanca@jazmp.si, spletna stran: www.jazmp.si. Za zagotavljanje sledljivosti zdravila je pomembno, da pri izpolnjevanju obrazca o domnevnih neželenih učinkih zdravila navedete številko serije biološkega zdravila. **Režim izdaje zdravila:** Rp/Spec **Imetnik dovoljenja za promet:** Roche Registration GmbH, Emil-Barell-Strasse 1, 79639 Grenzach-Wyhlen, Nemčija. **Verzija:** 1.0/20

1. Glavni povzetek značilnosti zdravila Rozlytrek, dostopano na https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2020/20200731148534/anx_148534_sl.pdf dne 13.09.2020.

Samo za strokovno javnost.

Zdravilo še ni krilo iz obveznega zdravstvenega zavarovanja. Datum priprave informacije: september 2020

DODATNE INFORMACIJE SO NA VOLJO PRI: Roche farmacevtska družba d.o.o., Stegne 13G, 1000 Ljubljana





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

PREDSTAVITEV KLINIČNEGA PRIMERA – RAK PROSTATE

Valentina Jerič Horvat, dr.med

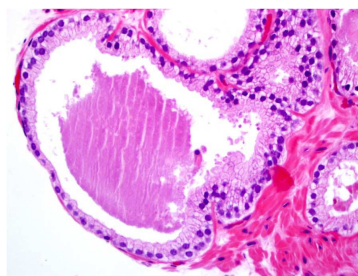
Luka Čavka, dr.med

Doc.dr. Boštjan Šeruga, dr.med

Ljubljana, 20.11.2020
Dnevi internistične onkologije 2020

Februar 2018

- K.M.
- 67 letni bolnik
- Dg: primarno metastatski rak prostate
- Sy: septembra 2017 bolečine v kosteh po levi strani prsnega koša. Povišan PSA 670 ug/L
- Patohistološki izvid biopsije prostate: adenokarcinom, Gleason 9 (4+5)
- Scintigrafija okostja: difuzni zasevki
- CT trebušnih in prsnih organov: metastatske bezgavke v retroperitoneju



Large-gland, pseudoglandular pattern of prostate cancer.
Nucleoli are evident in some nuclei and basal cells are absent



- **Pridružene bolezni in kronična terapija**

- anksioznost, brez kronične terapije

- **Družinska anamneza**

- oče rak sečnega mehurja, stric rak na možganih

- **Socialna anamneza**

- upokojen pomorščak, živi sam. Bivši kadilec, kadil je 30 let po 2 škatli dnevno.

- **Status:** PS po WHO 0, brez odstopanj od normale.



Potek zdravljenja

- Januar 2018 – pričetek zdravljenja z degarelixom (Firmagon) – PSA iz 670 ug/L na 72 ug/L
- Od marca do junija 2018 je prejel 6 ciklov KT z (zgodnjim) Docetakselom
- Vrednost PSA pred uvedbo KT: 10 ug/L, po 6. ciklu KT pa 2 ug/L
- Prvi kontrolni pregled po KT v novembru 2018: počutje dobro, v kliničnem statusu brez odstopanj od normale, vrednost PSA 4 ug/L.



Potek zdravljenja

- Februar 2019 – PSA 14 ug/L (8 mesev od zaključene KT z zgodnjim Docetakselom), na CT progres v mediastinalnih bezgavkah in kosteh. Uveden enzalutamid 160 mg/dan v marcu 2019, vrednost PSA pred uvedbo 41 ug/L.
- Junij 2019 PSA 141 ug/L, pojav bolečin v hrbtenici. Uvedba denosumaba.
- CT julij 2019: progres v mediastinalnih in retroperitonealnih bezgavkah ter nadledvični žlezi. Pojav utrujenosti, inapetence, težave s požiranjem. Vrednost PSA 193 ug/L.



Potek zdravljenja



- Julija 2019 ponovna uvedba KT z Docetakselom
- Obravnava v ambulanti za onkološko genetsko svetovanje
- Težave s požiranjem, utrujenost in inapetence po 1. ciklusu izzvenijo. PSA avgusta 2019 169 ug/L
- Nadaljuje s KT z Docetakselom, po 4. aplikaciji septembra 2019 vrednost PSA 105 ug/L.
- CT novembra 2019 pokaže mešan odgovor na zdravljenje. Vrednost PSA porašča (179 ug/L), klinično je asimptomatski.



Potek zdravljenja

- Izvid genskega testiranja: zarodna mutacija BRCA 2
- Nadaljujemo s KT z Docetakselom, kontrolni CT decembra 2019 pokaže progres.
- Februar 2020 vrednost PSA 643 ug/L, uvedba Talazopariba 1 mg dnevno (v okviru programa sočutne uporabe).
- Kontrola marca 2020: nenamerno hujšanje, fizično bolj zmogljiv. Aprila 2020 vrednost PSA 237 ug/L.
- Junij 2020 PSA 153 ug/L, CT prsnih in trebušnih organov: delni regres
- NU ob zdravljenju nima



Potek zdravljenja

- Avgust 2020 porast PSA na 391 ug/L, ob tem asimptomatski
- CT: progres v bezgavkah, na novo karcinoza peritoneja
- Uvedba kabazitaksela, po 1. ciklusu pojav Herpes zostra, po 2. ciklih PSA v porastu



Kakšne možnosti zdravljenja še imamo?

- Primarno metastatski rak prostate, z zarodno mutacijo BRCA 2, relativno mlad bolnik, kljub večim redom terapije v dobri psihofizični kondiciji
- Progres bolezni po 8 mescih od končane KT z zgodnjim Docetakselom za na kastracijo senzitivno bolezen.
- Za mCRPC je prejel Docetaksel, enzalutamid, talazoparib in Cabazitaxel.
- Kratek interval do progressa na enzalutamidu – abirateron acetat bo zelo verjetno neučinkovit
- PARPi - delni regres, vendar po 6 mes od pričetka zdravljenja progres
- Derivati platine?
- Pembrolizumab v primeru dMMR/MSI-H?







Molekularna diagnostika in tarčno zdravljenje pri bolnikih z razsejanim rakom prostate

Valentina Jerič Horvat, dr. med.

Luka Čavka, dr. med

Doc. dr. Boštjan Šeruga, dr. med

Dnevi internistične onkologije 2020 – virtualno srečanje. 20.11.2020

Table 6. List of genomic alterations level I/II/III according to ESCAT in advanced prostate cancer

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT	References
BRCA1/2	Somatic mutations/deletions	9%	IA	De Bono J, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2020 ⁹³
	MSI-H	1%	IC	Cortes-Ciriano I, et al. <i>Nat Commun.</i> 2017 ⁹⁶ Abida W, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2018 ⁹⁷ Marcus L, et al. <i>Clin Cancer Res.</i> 2019 ⁹⁷
PTEN	Deletions/mutations	40%	IIA ^a	Abida W, et al. <i>Proc Natl Acad Sci.</i> 2019 ⁹⁸ De Bono J, et al. <i>Clin Cancer Res.</i> 2019 ⁹⁹ NCT03072238 ¹⁰⁰
ATM	Mutations/deletions	5%	IIA	De Bono J, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2020 ⁹³
PALB2	Mutations	1%	IIB	Mateo J, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2015 ⁹⁵ De Bono J, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2020 ⁹³
PIK3CA	Hotspot mutations	3%	IIIA	Crumbaker M, et al. <i>Cancers.</i> 2017 ¹⁰¹
AKT1 ^{E17K}	Mutations	1%	IIIA	Crumbaker M, et al. <i>Cancers.</i> 2017 ¹⁰¹

ESCAT, European Society for Medical Oncology (ESMO) Scale for Clinical Actionability of molecular Targets; MSI-H, microsatellite instability-high; PTEN, phosphatase and tensin homologue.

^a A press release suggests that AKT inhibitors could work specifically in PTEN-mutant prostate cancers. PTEN could be upgraded to IA depending on the magnitude of benefit and peer review assessment of the report.

VIR:

Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, 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.

10.1016/j.annonc.2020.07.014.



Prevalenca somatskih in zarodnih mutacij genov za DDR pri metastatskem raku prostate (mPC)

Vrsta mutacije	Somatska	Zarodna
ATM	3.9	1.7
ATR	NR	0.3
BRCA 1	NR	0.9
BRCA 2	NR	5.2
CHEK2	NR	1.5
RAD51C	NR	0.2
CHEK2	NR	1.5
PALB2	NR	0.5
NBN	NR	0.2

Pri mPC je skupna prevalenca somatskih in zarodnih mutacij 24.9, pri mCRPC pa 22.67

Celokupna prevalenca germinativnih mutacij pri mPC 11.6 %, pri mCRPC pa 8.3 %

Celokupna prevalenca somatskih mutacij pri mPC pa je bila 13.2 % (10-16.5 %), pri mCRPC pa 14.2

NR: ni poročano; mCRPC metastatski kastracijsko rezistenten karcinom prostate



VIR: Lang SH, Swift SL, White H, Misso K, Kleijnen J, et al. A systematic review of the prevalence of DNA damage response gene mutations in prostate cancer. *Int J Oncol.* 2019;55(3):[597-616]. 10.3892/ijo.2019.4842.

Uporaba zaviralcev poli-ADP riboza polimeraze (PARPi) pri mCRPC

Študija, faza	Zdravilo, kontrola	N pts	rPFS v mesecih	ORR v % (95 %CI)	OS (meseci), HR [95 % CI]	DoR (meseci)
Toparp B, II	Olapatib 400 vs 300 mg	98	5.4; 95% CI (3-5.6) 5.5; 95% CI 39(3.6-6.5)	54 (39-69) 39 (25.1-54.6)	14 (9.7-18.9) 14.3 (9.7-18.9)	10 vs 9.6
PROfound, III	Olaparib vs abirateron ali enzalutamid	387	Kohorta A: 7.4 vs 3.6 HR [0.25-0.47] Vsi: 5.8 vs 3.5 HR [0.38-0.63]	22 vs 4 (OR 5.93 95% CI 2-25.4)	Kohorta A: 19.1 vs 14.7; 0.69 [0.5-0.97] Vsi: 17.3 vs 14 [0.61-1.03]	NA
TRITON-2, II	Rucaparib, brez kontrole	115	9 (95 % CI 8.3-13.5)	43.5 (31.0-56.7)	NA (po 12 mes 73%)	6.4
TALAPRO-1, II	Talazoparib, brez kontrole	81	5.6 (95 %CI 3.5-8.2)	25.6 (13.5-41.2)	NA	NA
GALAHAD, II	Niraparib, brez kontrole	81	BRCA 8.2 (95 % CI 5.2, 11.1); ne-BRCA 5.3 (1.9, 5.7)	BRCA 41.4 (23.5, 61.1) ne-BRCA 9 (1.1, 29.2)	NA	NA

Pomen somatske in zarodne mutacija v genih za HRR

- Če je le v tumorskem tkivu, izvora ne poznamo, če je v levkocitih vemo da gre za zarodno mutacijo. Somatske mutacije se pojavljajo tudi tekom napredovanja bolezni (vprašanje časovne primernosti biopsije)
- Obstaja le omejeno število referenc ali je prediktivnost na PARPi ob zarodnih ali somatskih mutacijah v genih za HRR različna
- Raziskava TOPARB-A, ena roka, dnevna doza 400 mg/12 ur
- **Ni bil uporabljen test družbe FMI, ampak Illumina NGS!!!**

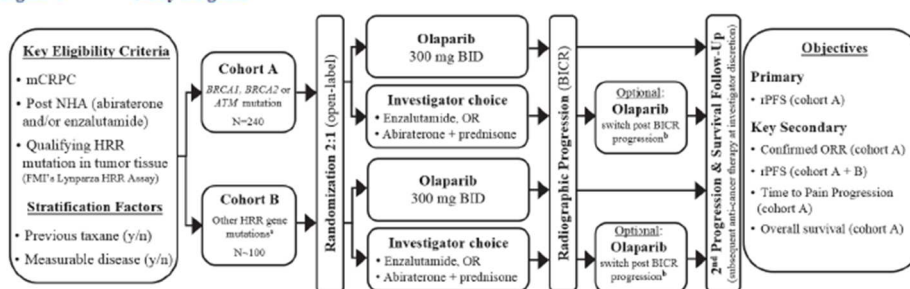
Table 1 Composite response rates (primary endpoint) by biomarker status (Mateo et al 2015)

Biomarker	Responder		Total (n=49)
	No (n=33)	Yes (n=16)	
Negative	31 (93.9%)	2 (6.1%)	33
Positive	2 (12.5%)	14 (87.5%)	16



Študija faze III PROfound: uporaba olapariba pri metastatsko kastracijsko rezistentnem raku prostate

Figure 1 Study Diagram



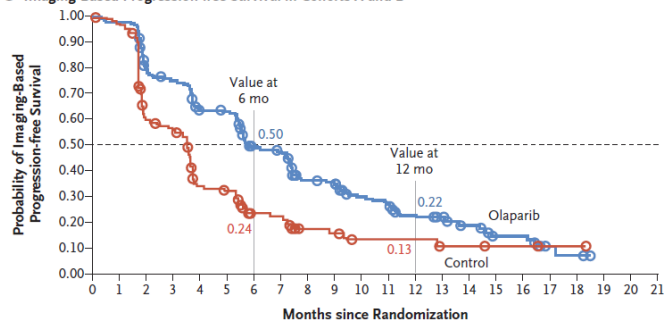
Izključitveni kriteriji: predhodnji PARP inhibitor, DNK citotoksična kemoterapija, predhodni rak v zadnjih petih letih (vključno z MDS in MGUS, dovoljeni le nemelanomski kožni raki), možganske metastaze



Rezultati študije PROfound

- 4425 bolnikov je pristalo na vključitev (**206** institucij/20 držav); 4047 je imelo dovolj materiala, 2792 (69%) jih je imelo konkluziven rezultat; 778 (28%) jih je imelo okvaro HRR), 50 % jih ni izpolnjevalo kriterijev (podatki za **233**)

C Imaging-Based Progression-free Survival in Cohorts A and B



Median
mo
Olaparib 5.8
Control 3.5
Hazard ratio for progression or death, 0.49 (95% CI, 0.38–0.63)
P<0.001

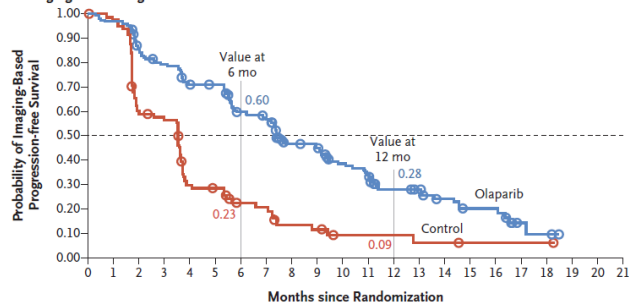


No. at Risk

Olaparib	256	239	188	176	145	143	106	100	67	63	48	43	31	28	21	11	11	3	2	0	0	0
Control	131	123	73	67	38	35	20	19	9	8	5	5	5	3	3	2	2	1	1	0	0	0

Preživetje brez progressa bolezni v kohorti A

A Imaging-Based Progression-free Survival in Cohort A



Median
mo
Olaparib 7.4
Control 3.6
Hazard ratio for progression or death, 0.34 (95% CI, 0.25–0.47)
P<0.001

No. at Risk

Olaparib	162	149	126	116	102	101	82	77	56	53	42	37	26	24	18	11	11	3	2	0	0	0
Control	83	79	47	44	22	20	13	12	7	6	3	3	3	2	2	1	1	1	1	0	0	0

Celokupno preživetje (podatki ESMO 2020)

Kohorta A: 19.1 vs 14.7 mesecev; HR 0.69, 95 % CI [0.5-0.97]

Vsi: 17.3 vs 14mesecev, HR 0.79, 95 % CI [0.61-1.03], po interakciji prilagojeni za prehod je bil HR 0.55 (95% CI 0.29–1.06).

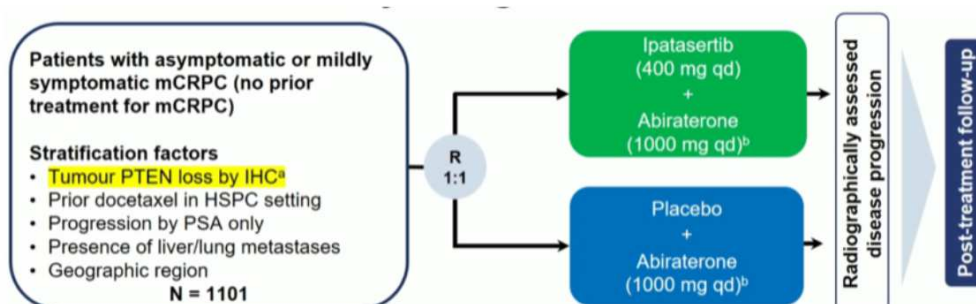


Komentarji študije PROfound

- Iz študije CARD vemo, da so imeli bolniki po progresu ob novejšem hormonskem agensu (NHA) boljši odgovor na kemoterapijo s kabazitakselom kot na alternativni NHA. Kontrolna roka verjetno ni bila najboljše izbrana.
- BRCA mutirani raki so običajno še dodatno agresivnejši, postavlja se vprašanje ali nebi bila bolj smiselna kemoterapija
- rPFS je glede na rutinsko klinično prakso tudi za drugo linijo zdravljenja razmeroma kratek (**mediana rPFS 3.6 mesecev**)
- Vodenje zdravljenja brez podatka o PSA ni blizu klinični praksi



IPATential 150: ipatasertib pri mCRPC



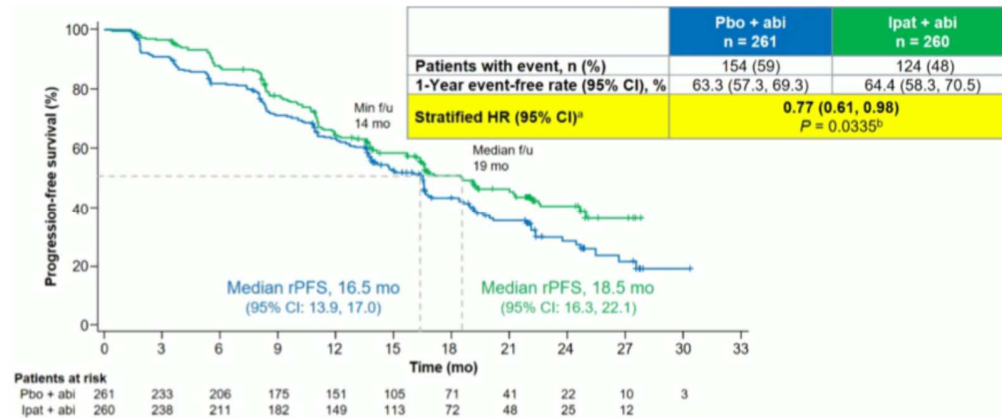
- Co-primary endpoints: investigator-assessed rPFS (PCWG3 criteria) in ITT and PTEN-loss (by IHC) populations
- Secondary endpoints included: OS, time to pain progression, time to initiation of chemotherapy, ORR, investigator-assessed rPFS in PTEN-loss (by NGS) population

HSPC, hormone-sensitive prostate cancer; NGS, next-generation sequencing; PCWG3, Prostate Cancer Working Group 3; R, randomised.
^a PTEN loss was defined as a minimum of 50% of the specimen's tumour area with no detectable PTEN staining (by Ventana IHC assay using SP218 antibody).
^b Abiraterone (1000 mg qd) plus prednisone/prednisolone (5 mg bid).

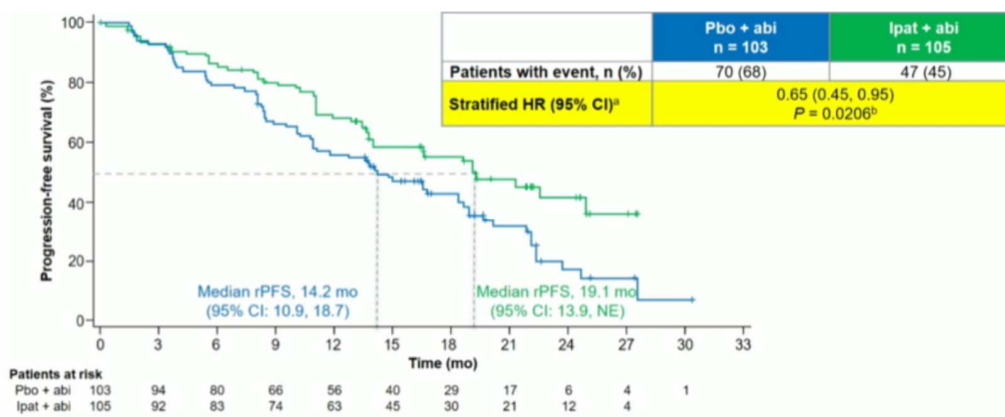
de Bono J. IPATential150. ESMO 2020. <https://bit.ly/31s8gje> 6



rPFS pri bolnikih z izgubo PTEN



rPFS pri bolnikih brez izgube PTEN



Prevalenca dMMR in MSI-H pri bolnikih z rakom prostate

Št bolnikov: 1346 vključenih, 1030 je imelo dovolj materiala za analizo, povprečna starost 65 let

23 (2.2%) jih je imelo MSI, še dodatnih 9 (0.9%) jih je imelo okvaro MMR

7 (21.9 %) jih je imelo zarodno mutacijo, 25 (78.1 %) pa somatsko

6 bolnikov je imelo material iz dveh lezij, pridobljenih ob različnih časih, pri dveh je bil rezultat pozitiven samo na poznejši leziji.

32 (3.1 %) jih je imelo MSI-H/dMMR

11 jih je prejelo pembrolizumab, 6 jih je imelo več kot 50 % padec PSA, 4 so imeli tudi radiološki odgovor, 5 od teh 6 jih je imelo dolgotrajni odgovor na imunoterapijo



VIR: Abida W, Cheng ML, Armenia J et al. Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. JAMA Oncology, 2018, 8. doi:10.1001/jamaoncol.2018.5801

Molekularna diagnostika MSI-H okvar, uporaba imunoterapije: KEYNOTE-199

Vključenih 258 bolnikov, razdeljeni v tri kohorte, vse tri prejele pembrolizumab

1. Merljiva bolezen PD-L1 poz: 133
2. Merljiva bolezen PD-L2 neg: 66
3. Nemerljiva bolezen: 59

Kohorta	ORR % (95% CI)	PFS v mesecih (95% CI)	OS v mesecih (95% CI)	PSA odgovor (%)
1	5 (2-11)*	2.1 (2-2.1)	9.5 (6.4-11.9)	6
2	3 (<1-11)	2.1 (2-3.3)	7.9 (5.9-10.2)	8
3	5 (2-8)	3.7 (2.1-4.2)	14.1 (10.8-17.6)	8



Objektivni odgovor je imelo le 5 % bolnikov, pri teh pa je bil ta trajen. Ponovno se naslavlja potreba po prediktivnih biomarkerjih. Bolniki, ki so odgovorili, niso imeli MSI-H.

Mesto molekularne diagnostike pri bolnikih z mCRPC: ESMO napotki

- Če so PARP inhibitorji dostopni ESMO priporoča testiranje za okvare HRR oz vsaj za BRCA1 in BRCA2
- V primeru dostopa do pembrolizumaba in dogovora s plačnikom smiselno še test za MSI-H
- Ipatasertib zanekrat še ni v splošnih priporočilih





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Klinični primer uporabe molekularnih značilnosti - limfomi

Asist. Dr. Lučka Boltežar, dr.med.

Prof. dr. Barbara Jezeršek Novaković, dr. med.

DIO, Ljubljana, november 2020

Limfomi

- Večinoma v diagnostiki prve prezentacije
- Le redko so podlaga za terapevtske intervencije – izjema FISH KLL (del 17p-slabše odgovori na KT, ibrutinib et al)
- Naštete so v Smernicah za obravnavo bolnikov z malignimi limfomi →
 - določanje translokacije 14/18 pri folikularnem limfomu
 - določanje translokacije 11/14 pri limfomu plaščnih celic
 - določanje translokacije 11/18 pri MALT limfomu želodca
 - določanje translokacije genov bcl2, bcl6 in c-myc pri visokomalignih B celičnih limfomih, ki so GCB tipa, >40% celic je imunohistokemično c-myc+ ali kažejo blastoidno morfologijo
 - določanje translokacije gena ALK pri anaplastičnem velikoceličnem limfomu in ALK+ velikoceličnem B limfomu



Bcl2, bcl6 in myc

- Double ali triple hit – glede na dve ali tri translokacije genov
- Zelo agresivni, ki se slabše odzovejo na zdravljenje kot „klasični“ in imajo slabše preživetje, 5-7% DVCBLjev
- V sedanji doktrini jih zdravimo z R-DA-EPOCH

	PFS	DSS	OS
GCB podtip	73%	82%	78%
ABC podtip	48%	61%	56%
Dvojni ekspresor	48%	58%	54%
Double hit	40% (2-1)		49% (2-1)

Scott DW. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. J Clin Oncol 2015; 33: 2848.



*Dvojni ekspresor-povečanje izražanje myc (>40%) in bcl2 proteina (>50%), brez genetske prerazporeditve

Naši bolniki 2019-2020

- **Triple hit (myc+bcl2+bcl6):** 2 bolnika, ♂61 let, zdravljen 8x R-CHOP+i.t., takoj po terapiji sum na progres; ♂83 let, umrl pred th
- **Double hit (bcl2+myc):** 6 bolnikov (3♂,3♀), 55-82 let, 1x R-EPOCH+i.t.+obs (CR), 4x R-CHOP (3 v progresu → 2 pokojna, 1 v diagnostiki; 1 v sledenju), 1x R-CHOP+sr. Doza MTX (pokojna)
- **Double hit (bcl6+myc):** 3 bolniki, ♂77 let, R-CHOP+obs → CR; ♂65let, umrl pred th; in ♂23let...



T.V.G., rojen l. 1994

September 2017

- Prvič pri internistu onkologu
- Pred mesecem dni si je zatipal bulo v desnem testisu → UZ testisov 2 spremembi 11mm in 14mm → opravljena desnostranska orhidektomija
- Star 23 let, sicer zdrav, brez pridruženih bolezni, brez redne terapije, brez B simptomov, študent



Histološki izvid

- Visoko maligni B-celični limfom, CD20 +, neopredeljen.
Naknadna opredelitev sledi po opravljenih citogenetskih preiskavah
- Imunohistokemično so limfomske celice pozitivne za CD20, CD10, bcl-6, šibko fokalno za bcl-2, negativne za CD3, CD5, CD30, Cyclin D1. MUM-1 označi največ 1-2% limfomskih jeder, c-Myc pa okoli 80%. Proliferacijska frakcija (MIB-1) je vsaj 90%
- Vzorec je **pozitiven za translokacijo genov MYC in BCL6**, negativen za translokacijo gena BCL2
- Glede na imunohistokemični profil in prisotni omenjeni translokaciji, **gre za tako imenovani "double hit" DLBCL**



Zamejitev bolezni

- PET-CT: Jasno povišano patološko kopičenje radiofarmaka v limfomskih infiltratih v sfenoidalnem sinusu levo (ali v sfenoidalni kosti), v maksilarnem sinusu desno (suspektno za destrukcijo kosti), v angulusu mandibule desno, v področju lateralne pterigoidne mišice levo (in v ramusu mandibule?), v infiltratu pred abdominalno aorto ter v nežnih infiltratih interaortokavalno ter paraaortalno levo ob poteku s spodnjega dela abdominalne aorte (na enem mestu v stiku s tankim črevesom, možna infiltracija stene tankega črevesa), fokalno na več mestih v kostnem mozgu in v levem lobusu prostate. Bodisi vnetna komponenta ali limfomski infiltrati v področju živcev intervertebralnega foramina desno L3/L4 ter v 1. sakralnem foramnu desno. Simetrično povišano kopičenje radiofarmaka v očesnih mišicah v obeh orbitah - lahko fiziološka varianta.
- Likvor citološko neg
- P+BKM neg

CS IVA, IPI 2



1. Red zdravljenja

- Oktober 2017 – marec 2018: 8x R-CHOP z dodatkom srednje doze MTX (1,5g/m²), 5x tudi intratekalna KT (likvor vsakič neg)
- Obseval kontralateralni testis 16.4.-8.5.2018 s 30 Gy
- Dosežena kompletna remisija bolezni
- Redno sleden na kontrolah v ambulanti



Februar 2019 (9m po koncu th)

- Predčasna kontrola zaradi piskanja v ušesih, izgube vida v D zgornjem polju in glavobola
- Pregledan pri oftalmologu – brez posebnosti
- Pregledan pri nevrologu → CT glave: do 4 cm veliko ostro omejeno, nekoliko hiperdenzno homogeno spremembo levo okcipitalno paramedialno, ki se po kontrastu intenzivno obarva vidneje in tudi nekaj edema bližnje možganovine, okolni likvorski prostori nekoliko utesnjeni



Ponovna zamejitev bolezni

- MR glave: Manjši areal ob sprednjem rogu desnega stranskega ventrikla nima videza žilne malformacije, verjetno patološki - limfomski infiltrat in okroglasta tumorska formacija levo okcipitalno z okolnim edemom cca 5 cm
- CT vratu, toraksa in abdomna – brez posebnosti
- Likvor citološko neg
- P+BKM neg
- Premeščen na KO za nevrokirurgijo za biopsijo



2. Red zdravljenja – marec 2019

- Sprejet s hudim glavobolom →
Deksametazon in manitol
- Histološki izvid bioptata lezije v možganih:
velikocelični B limfom, "double hit", ki raste
periependimalno, MIB-1 označi več kot 95 %
celic
- Sklep konzilija: 2 ciklusa HD MTX in HD AraC,
ocena remisije ter eventuelno avtologna
PKMC
- Dobi 1 cikel HD MTX in HD AraC



2. Red zdravljenja – april 2019

- Sprejet pred drugim ciklusom zaradi
epileptičnega napada → CT glave pokaže
krvavitev v možganski tumor, po
levetiracetamu stabilizacija
- Dobil drugi cikel HD MTX in HD AraC



Maj 2019

- Urgentno sprejet v SB Šempeter zaradi grand mal napadov, neodziven, GCS 3, intubiran; nujni CT glave → levo globoko parietookcipitalna hipodenzna formacija, velikosti 4 x 5 cm, ob njej pa še nekaj manjših lezij z lokalnim edemom možganov in skoraj popolnoma iztisnjenim posteriornim rogom levega stranskega ventrikla
- Naslednji dan po dogovoru premeščen OI na EIT, ekstubiran, pogovorljiv



Maj 2019

- Poslabšanje nevrološke simptomatike – slabša anopsija na desnem očesu in groba mišična moč desne roke in desne noge, progres po dveh ciklih KT → obsevanje cele glave 8.5.-11.6.2019 s 45 Gy
- Konzilij: Bolnika in starše predvsem zanima možnost zdravljenja z CAR T celicami v tujini. Razložimo jim, da smo stopili v kontakt z osebjem Novartisa, ki so nas povezali s centrom v Münchnu...



Junij 2019

- Končal obsevanje, že med obsevanjem pa začne s tedenskimi intratekalnimi aplikacijami terapije (MTX, AraC, Dexa)
- Likvor še vedno citološko pozitiven; glavobola nima, je nekoliko utrujen, slabosti nima; PS po WHO 1, še vedno na deksametazonu
- Dobil tri aplikacije, konec junija sprejet za ponovno i.t., navajal slabše počutje ob zniževanju deksametazona



Junij 2019

- CT glave: tumorska formacija levo okcipitalno, ki vrašča v trigonum je nakazano manjša kot pri MR preiskavi z dne 6. 5. 2019, v največjem aksialnem premeru meri 65 mm (predhodno do 7 cm). Nekoliko širša pa je plast hipodenznosti priležno, viden je minimalen pomik pod falks v desno - ob izrazitejšem edemu. Sulkusi po konveksiteti so na tem predelu iztisnjeni, iztisnjen je okcipitalni rog levega stranskega ventrikla
- Povišan odmerek deksametazona, i.t. ne dobi



Julij 2019

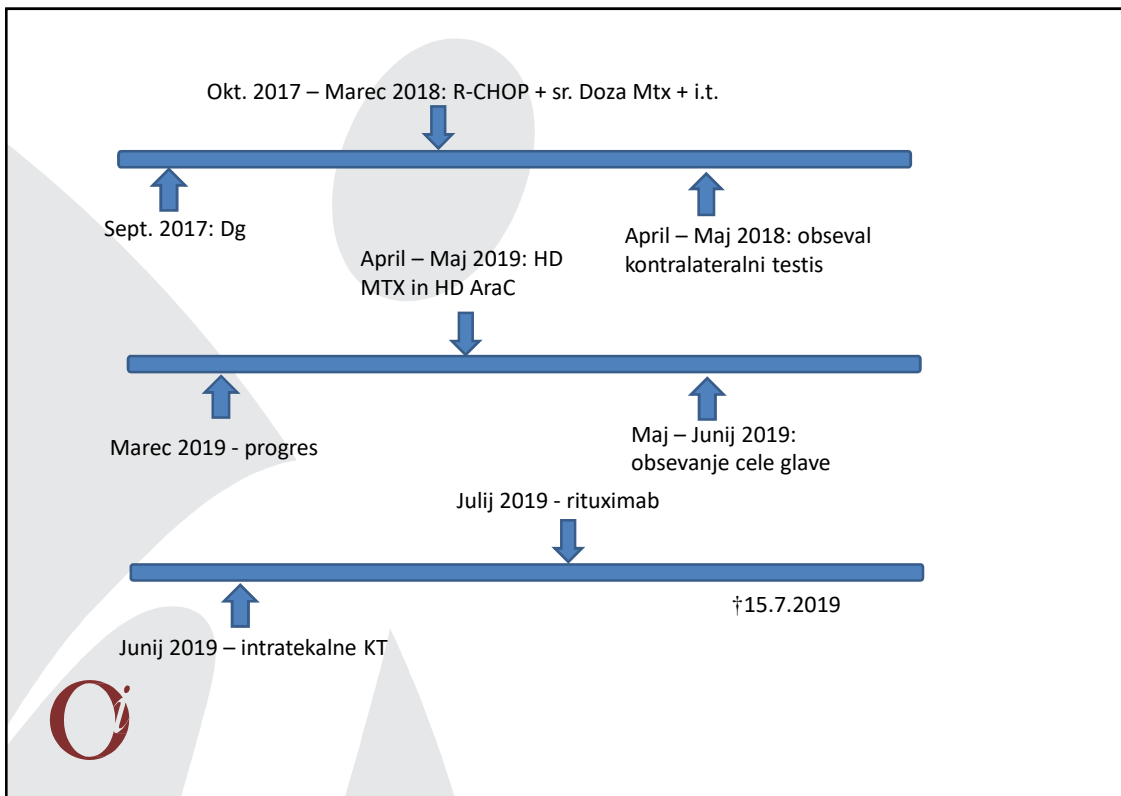
- 1.7. urgentno sprejet zaradi hudega glavobola, simetrične oslabelosti spodnjih okončin, zamegljenega vida → maksimalna antiedematозна Th
- V noči na 6.7. na oddelku neodziven, povečana L zenica, fascikulacije po zgornjih udih; urgentno intubiran, nujni CT glave → enako velika tumorska formacija levo parietookcipitalno z okolnim edemom, prisoten pa pomik pod falks v desno, izrazitejša transtentorialna herniacija navzdol ter napredujoč hidrocefalus
- CT prsnih organov in trebuha: sumljivo tudi za limfomske infiltrate v jetrih, obojestransko v ledvicah in črevnici, manjšo osteolitično destrukcijo ter povečane bezgavke v mediastinumu, v pljučnih hilusih desno in na vratu ter scl levo



Julij 2019

- Sprva je bila predvidena dekompresijska kraniotomija, vendar so kasneje nevrokirurgi od tega posega odstopili in se odločili za konzervativno zdravljenje možganskega edema
- 8. 7. 2019 je bil sklican konzilij z lečečo onkologinjo – odločitev za naslednji red kemoterapije (isti dan prejme rituximab) in glede na znake hidrocefalusa tudi vstavev zunanje ventrikularne drenaže, ki je vstavljena isti dan
- 11. 7. kontrolni CT glave, kjer je vidno poslašanje stanja → sklican družinski sestanek (dogovor za nadaljnjo paliativno simptomatsko oskrbo na intenzivnem oddelku)
- Exitus letalis 15. 7. 2019 ob 16:55.





Zaključki

- Car-T ni primerna za CŽS relaps
- Vedno delaj biopsijo!
- Izhod žal nekako pričakovan: 2 letno PFS 40% in OS 49%
- naši podatki: DVCBL, IPI 2, zdravljen z R-CHOP 2 letno PFS 84% in OS 81%*

*Horvat et al. Diffuse large B-cell lymphoma: 10 years' real-world clinical experience with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone. Oncol Lett 2018; 15(3): 3602 – 3609.





ESMO-MCBS⁴

5*
točk

EDINI ZAVIRALEC CDK4/6, KI DOKAZANO PODALJŠA ŽIVLJENJE

v različnih kombinacijah (zaviralec aromataze ali fulvestrant) in redih zdravljenja.¹⁻³

RAZRŠČENO ✓ Za zdravljenje lokalno napredovalega ali metastatskega HR+ HER2- raka dojk v kombinaciji z zaviralcem aromataze ali s fulvestrantom, kot začetno hormonsko zdravljenje ali pri ženskah, ki so predhodno že prejemale hormonsko zdravljenje.

MONALEESA-3 je bila randomizirana, dvojno slepa, s placebom nadzorovana multicentrična klinična študija faze III zdravljenja pomenopavznih žensk z napredovalim HR+ HER2- rakom dojk, ki so poleg fulvestranta prejemale še zdravilo Kisqali ali placebo v prvi ali drugi liniji zdravljenja. V študijo je bilo vključenih 726 bolnic, zdravilo Kisqali je prejelo 484 bolnic. V študiji je bil dosežen sekundarni cilj, dokazana je bila statistično značilna razlika med obema skupinama v dolžini preživetja bolnic. Relativno znižanje tveganja za smrt je bilo 28% (razmerje ogroženosti = 0,724; 95% IZ [0,568; 0,924]). Najdaljši PFS (33,6 meseca), je bil dosežen v skupini bolnic, ki so prejemale kombinacijo zdravila Kisqali in fulvestranta v prvi liniji zdravljenja.^{1,3}

MONALEESA-7 je bila randomizirana, dvojno slepa, s placebom nadzorovana multicentrična klinična študija faze III zdravljenja premenopavznih in perimenopavznih žensk z napredovalim HR+ HER2- rakom dojk, ki so poleg endokrinega zdravljenja prejemale še zdravilo Kisqali ali placebo. V raziskavo je bilo vključenih 672 bolnic, zdravilo Kisqali je prejelo 335 bolnic. V študiji je bil dosežen sekundarni cilj, dokazana je bila statistično značilna razlika med obema skupinama v dolžini preživetja bolnic. Relativno znižanje tveganja za smrt je bilo 28% (razmerje ogroženosti = 0,712; 95% IZ [0,535; 0,948]).^{2,3}

*Zdravilo KISQALI je po ESMO-MCBS lestvici za študijo MONALEESA-7 prejelo največje možno število točk (5 točk).⁴

OS, Overall Survival: Celokupno preživetje

ESMO-MCBS, European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical Benefit Scale: ESMO lestvica obsega klinične koristi

Reference: 1. Slamon DJ, Neven P, Chia S, in sod. Overall Survival with Ribociclib plus Fulvestrant in Advanced Breast Cancer. N Engl J Med 2020; 382:514-524. 2. Im SA, Lu YS, Bardia A, in sod. Overall Survival with Ribociclib plus Endocrine Therapy in Breast Cancer. N Engl J Med 2019; 381:307-16. 3. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Kisqali. Julij 2020. 4. Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E. 5th ESO-ESMO International consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC5), Annals of Oncology 2020; v tisku, dostopno na <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753420424603?via=ihI3Dihub>, dostopano 5.10.2020

SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA KISQALI[®]

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila. Glejte poglavje 4.8 povzetka glavnih značilnosti zdravila, kako poročati o neželenih učinkih.

Ime zdravila: Kisqali 200 mg filmsko obložene tablete. **Sestava:** Ena tableta vsebuje ribociclibijev sukcinat v količini, ki ustreza 200 mg ribocicliba. **Indikacija:** Zdravilo Kisqali je v kombinaciji z zaviralcem aromataze ali fulvestrantom indicirano za zdravljenje žensk z lokalno napredovalim ali metastatskim rakom dojk, ki je hormonsko odvisen (HR pozitiven) in negativen na receptorje humanskega epidermalnega ravnega faktorja 2 (HER2 negativen), in sicer kot začetno hormonsko zdravljenje ali pri ženskah, ki so predhodno že prejemale hormonsko zdravljenje. Pri ženskah pred menopavzo ali v perimenopavzi je treba hormonsko zdravljenje uporabljati skupaj z agonistom gonadoliberna (LHRH-luteinizirajoče hormone releasing hormone). **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravljenje mora uvesti zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravil proti raku. Priporočeni odmerek je 600 mg (tri 200-miligramske tablete) ribocicliba 1x/dan 21 dni zaporedoma, čemur sledi 7 dni brez zdravljenja, tako da celotni cikel traja 28 dni. Zdravljenje je treba nadaljevati, dokler ima bolnik od zdravljenja klinično korist oz. do pojave nesprejemljivih toksičnih učinkov. Kisqali je treba uporabljati skupaj z 2,5 mg letrozola ali drugim zaviralcem aromataze ali s 500 mg fulvestranta. Zaviralec aromataze je treba jemati peroralno 1x/dan neprekinjeno vseh 28 dni ciklusa. Fulvestrant je treba odmerjati intramuskularno 1, 15, in 29. dan ciklusa, nato pa 1x/mesec. Za več podatkov glejte povzetek glavnih značilnosti zdravila za zaviralec aromataze oz. fulvestrant. Ženske pred menopavzo ali v perimenopavzi morajo prejemati tudi katerega od agonistov gonadoliberna v skladu z lokalno klinično prakso. Kisqali je treba jemati peroralno 1x/dan skupaj s hrano ali brez nje. Bolni ne sme zaužjeti odmerka zdravila vsak dan ob približno istem času, najbolje zjutraj. Tablete je treba pogoltniti cele in se jih pred zaužitjem ne sme niti žvečiti, drobiti ali lomiti. Tablete, ki so razlomljene, zdrobljene ali kako drugače poskodovane, se ne sme zaužiti. Če bolnik po zaužitju odmerka bruha ali pozabi vzeti odmerka, na ta dan ne sme vzeti dodatnega odmerka. Naslednji predpisani odmerki mora vzeti ob običajnem času. **Prilaganje odmerkov:** Obvladovanje hudih ali nesprejemljivih neželenih dogodkov zdravila lahko vključuje prekinitve jemanja zdravila, znižanje odmerka ali ukinitve zdravila Kisqali. Ob prvem zmanjšanju odmerka zmanjšamo na 400 mg/dan (dve 200-miligramski tableti), ob drugem zmanjšanju pa na 200 mg/dan (ena 200-miligramska tableta). Če bi bilo treba odmerka zmanjšati na manj kot 200 mg/dan, je treba zdravljenje ukiniti. Za priporočila glede prekinitve jemanja zdravila, zmanjšanje odmerka ali ukinitve zdravljenja v primerih, ko je to potrebno za obvladovanje določenih neželenih dogodkov zdravila, prosimo glejte povzetek glavnih značilnosti zdravila. Za prilaganje odmerkov in druge pomembne podatke v primeru toksičnega delovanja glejte povzetek glavnih značilnosti zdravila za sočasno uporabljeni zaviralec aromataze, fulvestrant oz. agonist gonadoliberna. **Okvara ledvic:** Pri bolnikih z blago ali zmerno okvaro ledvic prilaganje odmerka ni potrebno. Pri bolnikih s hudo okvaro ledvic (aGFR 15 do < 30 ml/min/1,73 m²) je priporočeno začetni odmerek 400 mg, potrebna je previdnost in skrbno spremljanje glede znakov toksičnega delovanja. **Okvara jeter:** Bolnikom z blago okvaro jeter (Child-Pugh razreda A) odmerka ni potrebno prilagajati. Pri bolnikih z zmerno (Child-Pugh razreda B) ali hudo okvaro jeter (Child-Pugh razreda C) je priporočiti začetni odmerki zdravila Kisqali 400 mg 1x/dan. **Pediatrska populacija:** Varnost in učinkovitost zdravila pri otrocih in mladostnikih, starih manj kot 18 let, nista bili dokazani. **Starostniki:** Pri bolnikih, ki so stari več kot 65 let, prilaganje odmerka ni potrebno. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino, araside, sojo ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** **Kritična visceralna bolezen:** Učinkovitosti in varnosti ribocicliba pri bolnikih s kritično visceralno boleznijo niso proučevali. **Nevtropenija in hepatobilarna toksičnost:** Pregled celotne krvne slike in vrednosti jetrnih testov je treba opraviti pred začetkom zdravljenja, nato v prvih 2 ciklihus vsaka 2 teden, v naslednjih 4 ciklihus na začetku vsakega ciklusa, nato pa kot je klinično indicirano. Če pride do nenormalnih vrednosti jetrnih testov stopnje ≥ 2 , so priporočene pogostejše meritve jetrnih testov. Za bolnike z zvišanjem vrednosti AST/ALT stopnje ≥ 3 ob izhodišču priporočila za odmerjanje niso dognana. Glede na to, kako močno je izražena nevtropenija ali zvišane vrednosti aminotransferaz, je morda treba odmerjanje zdravila Kisqali prekiniti, zmanjšati odmerka ali ukiniti zdravljenje. **Podaljšanje intervala QT:** Pred začetkom zdravljenja je treba posneti EKG. Zdravljenje je mogoče začeti samo pri bolnikih s trajanjem intervala QTcF manj kot 450 ms. EKG je treba ponovno posneti približno 14. dan prvega ciklusa in na začetku drugega ciklusa, nato pa kot je klinično indicirano. V primeru, da v času zdravljenja pride do podaljšanja intervala QTcF, je priporočeno pogostejše snemanje EKG. Ustrezno spremljanje koncentracij elektrolitov v serumu (vključno s koncentracijami kalija, kalcija, fosforja in magnezija) je treba izvajati pred začetkom oz. med potekom zdravljenja z zdravilom Kisqali. Uporabi zdravila Kisqali se je treba izogibati pri bolnikih s prisotnim podaljšanjem intervala QTc ali s povečanim tveganjem za podaljšanje intervala QTc. To vključuje bolnike s sindromom podaljšane intervala QT, z neurejenim ali pomembnim srčnim obkroženjem, kar vključuje nedavni miokardni infarkt, kongestivno popuščanje srca, nestabilno angino pektoris in bradikardijo ter bolnike z elektrolitskimi nepravilnostmi. Izogibati se je treba sočasni uporabi zdravila Kisqali z zdravili, za katera je znano, da lahko podaljšajo interval QT, kot so antiaritmiki (med drugim amiodaron, dizopiramid, prokainamid, kinidin in sotalol) ter druga zdravila, za katera je znano, da podaljšujejo interval QT (med drugim klorokin, halofantrin, klaritromicin, ciprofloksacin, levofloksacin, azitromicin, haloperidol, metadon, moksifloksacin, bepridil, pimozid in intravenski ondansetron). Zdravilo Kisqali prav tako ni priporočeno uporabljati v kombinaciji s tamoksifenom. Če se zdravljenju z močnim zaviralcem CYP3A4 ni mogoče izogniti, je treba odmerka zdravila Kisqali zmanjšati na 400 mg 1x/dan. Glede na izmerjeno podaljšanje intervala QT v času zdravljenja je morda treba odmerjanje zdravila Kisqali prekiniti, zmanjšati odmerka ali ukiniti zdravljenje ukiniti. **Hude kožne reakcije:** Poročali so o pojavu toksične epidermalne nekroze (TEN). Če se pojavijo znaki in simptomi, ki lahko pomenijo, da gre za hudo kožno reakcijo (na primer grobost generalizirani kožni izpuščaji, pogosto z mehurji, ali lezijami sluznice), je treba zdravljenje takoj prekiniti. **Intersticijska pljučna bolezen/pnevmonitis:** Glede na izraženost intersticijske pljučne bolezni/pnevmonitis, ki se lahko konča tudi s smrtno boleznijo, bo v skladu s priporočilom v povzetku glavnih značilnosti zdravila morda potrebno odmerjanje zdravila Kisqali

prekiniti, zmanjšati odmerka ali zdravljenje ukiniti. Bolnike je treba spremljati glede pljučnih simptomov, ki bi lahko nakazovali na intersticijsko pljučno bolezen/pnevmonitis, in lahko vključujejo hipoksijo, kašelj in dispnejo. **Sojini lecitini:** Zdravilo vsebuje sojini lecitini. Bolniki s preobčutljivostjo na araside ali sojo ne smejo jemati zdravila Kisqali. **Plodnost, nosečnost in dojenje:** Pred začetkom zdravljenja je treba preveriti status nosečnosti. Ženskam v rodni dobi je treba svetovati, naj v času zdravljenja z zdravilom Kisqali in še najmanj 21 dni po prejemu zadnjega odmerka uporabljajo učinkovito kontracepcijsko metodo. Bolnice, ki jemljejo zdravilo Kisqali, ne smejo doiti še najmanj 21 dni po prejemu zadnjega odmerka. Glede na ugotovitve študij pri živalih lahko zdravilo Kisqali zmanjša plodnost pri reproduktivno sposobnih moških. **Vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev:** Zdravilo ima lahko blag vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev. Bolnike je treba opozoriti, naj bodo pri vožnji in upravljanju strojev previdni, če imajo v času zdravljenja težave z utrujenostjo, omotičnostjo ali vrtoglavico. **Medsobojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** **Snovi, ki lahko zvišajo koncentracijo ribocicliba v plazmi:** Izogibati se je treba sočasni uporabi močnih zaviralcev CYP3A4, med drugim klaritromicina, indinavirja, itraconazola, ketokonazola, lopinavirja, ritonavirja, nefazodona, neflinavirja, posakonazola, sakvinavirja, telitromicina, verapamilu in vorikonazolu. Za sočasno uporabo je treba razmisлити o izbiri drugih zdravil z manjšim potencialom za zaviranje CYP3A4, bolnike pa je treba spremljati glede neželenih dogodkov v povezavi z ribociclibom. Če mora bolnik sočasno z ribociclibom prejemati močan zaviralec CYP3A4, je treba odmerka zdravila Kisqali zmanjšati na 400 mg 1x/dan. Pri bolnikih, pri katerih je odmerka že zmanjšana na 400 mg/dan, je treba odmerka zmanjšati na 200 mg, pri bolnikih, pri katerih je odmerka ribocicliba že zmanjšana na 200 mg dnevno, pa je treba zdravljenje z zdravilom Kisqali prekiniti. Zaradi interindividualne variabilnosti priporočeno prilaganje odmerjanja morda ni najboljšo za vse bolnike, zato je priporočeno skrbno spremljanje bolnikov glede znakov toksičnega delovanja. Če bolnik preneha jemati zdravilo, ki je močan zaviralec, je treba odmerka zdravila Kisqali prilagoditi in po najmanj 5 razpolovnih dobah močnega zaviralca CYP3A4 spet začeti z odmerkom zdravila Kisqali, ki ga je bolnik prejel pred začetkom uporabe močnega zaviralca CYP3A4. Po začetku sočasne uporabe šibkih ali zmernih zaviralcev CYP3A4 odmerka ribocicliba ni treba prilagajati, priporočeno pa je spremljanje bolnikov glede neželenih dogodkov v povezavi z ribociclibom. Bolnikom je treba naročiti, naj se izogibajo uživanju grenivk in njihovega soka, ker lahko povečajo izpostavljenost ribociclibu. **Snovi, ki lahko znižajo koncentracijo ribocicliba v plazmi:** Sočasna uporaba močnih induktorjev CYP3A4 lahko zmanjša izpostavljenost zdravilu, to pa lahko predstavlja tveganje za manjšo učinkovitost zdravila. Izogibati se je treba sočasni uporabi močnih induktorjev CYP3A4, med drugim fenitoina, rifampicina, karbamazepina in šentjanževke (*Hypericum perforatum*). Za sočasno uporabo je treba razmisлити o izbiri drugega zdravila, ki ne inducira oziroma ima manjši potencial za indukcijo CYP3A4. Učinka zmernega induktorja CYP3A4 na izpostavljenost ribociclibu niso proučevali. Sočasna uporaba zmernega induktorja CYP3A4 lahko privede do zmanjšane izpostavljenosti ribociclibu, to pa lahko predstavlja tveganje za manjšo učinkovitost, še posebej pri bolnikih, ki se zdravijo z ribociclibom v odmerku 400 mg ali 200 mg 1x/dan. **Snovi, na katerih koncentracija v plazmi lahko vpliva zdravilo Kisqali:** Ribociclib je zmeren do močan zaviralec CYP3A4, zato lahko pride do interakcij z zdravili, ki so substrati oz. jih presnavlja CYP3A4, kar lahko povzroči zvišanje koncentracije sočasno uporabljenih zdravil v serumu. Pri sočasnem odmerjanju ribocicliba z drugimi zdravili je praviloma treba pregledati povzetek glavnih značilnosti drugega zdravila in poiskati priporočila za sočasno odmerjanje z zdravilom CYP3A4. Pri sočasni uporabi z občutljivimi substrati CYP3A4, ki imajo nizek terapevtski indeks, je priporočena previdnost. Pri teh substratih, med drugim pri alfentanilu, ciklosporinu, everolimusu, fentanilu, sirolimusu in takrolimusu, je v nekaterih primerih treba zmanjšati njihov odmerka, saj ribociclib lahko poveča izpostavljenost tem snovem. Izogibati se je treba sočasni uporabi ribocicliba v odmerku 600 mg skupaj z naslednjimi substrati CYP3A4: alfuzosin, amiodaron, cisaprid, pimozid, kinidin, ergotamin, dihidroergotamin, kvetiopin, lovastatin, simvastatin, silденаfil, midazolam in triazolam. Pri uporabi klinično ustreznega odmerka 600 mg je mogoče pričakovati le šibak zaviralni učinek ribocicliba na substrate CYP1A2 (< 2-kratno povečanje AUC). **Snovi, ki so substrati prenašalcev:** Vrednotenje podatkov *in vitro* razkiva kaže, da ima ribociclib potencial za zaviranje aktivnosti prenašalcev P-gp, BCRP, OATP1B1/1B3, OCT1, OCT2, MATE1 in BSEP. Pri sočasnem zdravljenju s snovmi, ki so občutljivi substrati teh prenašalcev in imajo nizek terapevtski indeks, med drugim z digoksinom, pitavastatinom, pravastatinom, rosuvastatinom in metforminom, je priporočena previdnost in spremljanje bolnikov glede toksičnega delovanja. **Zdravila, ki zvišujejo pH v želodcu:** Pri populacijski farmakokinetični analizi in nekompartmentalni farmakokinetični analizi pri sočasni uporabi niso opažali sprememb v absorpciji ribocicliba. **Medsobojno delovanje med ribociclibom in letrozolom oz. anastrozolom:** Med ribociclibom in letrozolom oz. med ribociclibom in anastrozolom ne prihaja do medsebojnega delovanja pri sočasnem odmerjanju obeh zdravil. Po podatkih iz klinične študije fulvestrant nima klinično pomembnega vpliva na izpostavljenost ribociclibu pri sočasnem odmerjanju, po sočasnem odmerjanju ribocicliba in tamoksifena pa se je izpostavljenost tamoksifenu povečala na približno 2-kratno vrednost, karšeli, navzea, diareja, bruhanje, obstapca, stomatitis, bolečine v trebuhu, dispneja, izpuščaji, pruritus, bolečine v hrbtu, utrujenost, periferne edeme, astenija, zvišana telesna temperatura, nenormalne vrednosti jetrnih testov. **Pogosti (> 1/100 do < 1/10):** trombotična okužanja, febrilna nevtropenija, hipokalcemija, hipofosfatemija, vrtoglavica, močnejše soznenje, suhe oči, sinkopa, motnje okužanja, hepatotoksičnost, eritem, suha koža, vitiligo, suha usta, orofaringealna bolečina, zvišana vrednost kreatinina v krvi, podaljšani interval QT v elektrokardiogramu. **Neznana pogostost:** toksična epidermalna nekroza (TEN). **Imetnik dovoljenja za promet z zdravilom:** Novartis Europharm Limited, Vista Building, Elm Park, Merion Road, Dublin 4, Irsko. **Dodatne informacije in literatura:** Novartis Pharma Services Inc., Podružnica v Sloveniji, Verovškova ulica 57, 1000 Ljubljana. **Način/režim izdajanja zdravila:** Rp/Spec. **Pred predpisovanjem natančno preberite zadnji odmerki povzetek glavnih značilnosti zdravila.** Datum zadnje revizije skrajšanega povzetka glavnih značilnosti zdravila: julij 2020.



Klinični primer uporabe molekularnih značilnosti – limfomi, primer 2

Maša Kitner Tepeš, dr.med.

Prof. dr. Barbara Jezersšek Novaković, dr.med.

DIO, Ljubljana, november 2020

ALK + DVCBL

- Podtip, redka oblika (< 1% vseh DVCBL) [3] difuznega velikoceličnega limfoma B celic s preureditvami v ALK genu,
- poseben izgled celic – imunoblastna/plazmablastna citologija,
- imunohistokemično: negativni CD20 - (B-celični antigeni), CD30, CD3 - (T-celični antigeni),...ne vedno!
- Klinično kaže agresivno obnašanje, pogosto relapsira, slabo je odziven na standardne sheme zdravljenja. [1]
- Pogostejši pri moških (3:1 = M:Ž).
- Pojavlja se tako pri pediatrični populaciji, kot pri odraslih. [2]



ALK + DVCBL

Biološka molekularna diagnostika:
 - v 75% dokazane genske
preureditve med klatrinom (CLTC) in
ALK (t(2; 17) (p23; q23), kar ima za
posledico klatrin-ALK himerni
protein [2,3]

- opisane tudi druge fuzije genov:
 SQSTM1-ALK translokacija,...[3]

ZDRAVLJENJE: Klasične sheme ne
 zadostujejo, potreba po
 agresivnejših: ACVBP, CHOEP,
 EPOCH,... Pri izidu zelo pomembna
 Ann Arbor stadij ter IPI. [1,2,3]

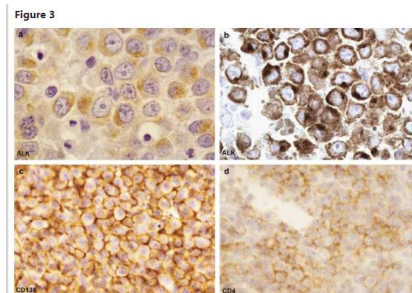


Figure 3
 Typical immunohistochemical findings in ALK-DLCL. Tumor cells are positive for (a, b) cytoplasmic granular ALK, (c) CD138, (d) CD4 (cases 1, 4, 1, and 1, respectively).



Case	Gender/Age (y)	Involvement	Stage	Serum LDH	IPI score	Treatment	Survival (months)
1	M/23	mediastinal, retroperitoneal	IIIA	elevated	4	CHOP/E-POCH	10/DOD
2	M/72	Bilateral submandibular, cervical	IVA	elevated	5	CHOP/E-POCH	NA/NA
3	M/57	bones, bilateral cervical lymph node, mediastinal	IVB	elevated	4	CHOP	3/DOD
4	M/55	Bilateral cervical lymph node	IIA	normal	1	CHOP/E-POCH plus RT	48/Alive
5	M/25	Right cervical lymph node	IIA	411	2	CHOP plus RT	24/Alive
6	M/32	Right cervical lymph node	NA	207	NA	CHOP plus RT	6/DOD
7	M/68	Right cervical lymph node, retroperitoneal	IIIA	elevated	4	CHOP	10/DOD
8	M/33	Left supraclavicular, mediastinal, perigastric	IIIB	346	3	CHOP+MX+VP-16+BLM+DXM plus RT plus HYPER-CVAD-A	24/DOD
9	M/12	Cervical lymph node	IA	NA	NA	CHOP	6/Alive
10	M/22	Cervical lymph node, supraclavicular	IIIB	177	2	CHOP	27/Alive
11	M/26	Duodenum	IE	183	1	NA	NA/NA
12	M/42	Left tonsil, retroperitoneal	IVB	237	4	CEHOP	10/Alive
13	M/54	Left cervical	IIIB	200	0	CHOEP plus RT plus HYPER-CVAD-A and HYPER-CVAD-B	8/Alive
14	M/20	Left groin, retroperitoneal, bone marrow	IVB	367	3	CHOP	6/Alive
15	M/52	Systemic lymph nodes	IVB	300	4	CHOP plus RT	6/DOD
16	F/47	Left groin, mediastinal	IVB	242	4	without regimens	1/DOD
17	M/34	Left cervical, bilateral hilar, retroperitoneal	IIIB	194	3	CHOEP	3/Alive

Abbreviations: LDH, lactate dehydrogenase; M, male; F, female; CHOP, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone; CHOEP/E-POCH, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone with etoposide or bleomycin; RT, radiotherapy; DOD, dead of disease; NA, not available.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178416.t001>



D.Ž., rojen l.1989 – maj 2014

- ☐ Prvič v kirurški ambulanti zaradi citološko postavljenega suma na NHL v bezavkah na vratu obojestransko.
- ☐ 9.6.2014 opravljena ekstirpacija bezgavke na vratu desno.
- ☐ Junija opravi tudi prvi pregled pri internistu onkologu (takrat že s histološko diagnozo):
 - Sicer razmeroma zdrav, po operaciji hernije disci L4/5, prekomerno prehranjen, z nedavno ugotovljeno arterijsko hipertenzijo. Povečane bezgavke na vratu od začetka maja 2020, sočasno prisotna utrujenost ter od B simptomov nočno potenje.
 - V statusu tipne povečane bezgavke na vratu levo, desno st. po ekstirpaciji, drugod palpacija otežena zaradi adipoznosti.



Histološki izvid (junij 2014)

- ☐ Infiltracija bezgavke in perinodalnega **maščevja z ALK-pozitivnim velikoceličnim B limfomom.**

Imunohistokemično so limfomske celice neenkomerno pozitivne za PAX-5, CD138, bcl-6, CD10 in bcl-2, negativne za CD20, CD3, CD5, CD30, CD56, Cyclin D1. In situ hibridizacija za EBV je negativna.

Proliferacijska frakcija (MIB-1) je visoka, vsaj 90%.

Izvid FISH translokacije za ALK in imunohistokemije za HHV8 sledi!

- **Dodatni izvid:** Vzorec je **pozitiven za translokacijo gena ALK.**

V prilogi pošljamo originalni izvid FISH-a.

Imunohistokemično barvanje za HHV8 je negativno.



„Staging“

□ Primarne lokalizacije (PET/CT): bezgavke na vratu obojestransko, supraklavikularno obojestransko, levo subklavikularno, aksilarno obojestransko, zgornji in spodnji mediastinum (bulky - M/T razmerje je 0.40), oba pljučna hilusa, bezgavke ob mali krivini želodca, v hilusu vranice, med veno cavo inferior in pankreasom, ob hilusu desne ledvice, pred vtočiščem leve renalne vene, interaortokavalno pod višino ledvičnih hilusov, jetra z infiltrati, vranica z infiltrati, leva nadledvičnica ter skelet na več mestih v kalvariji, obeh ramusih mandibule, levi ličnici, C2, Th2, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 12, L1-6, sakrum, obe črevnici, desni acetabulum, obe sednici, leva sramnica, oba femurja, oba humerusa, sternum, obe skapulii in obojestransko v rebrih.

□ Primarni klinični stadij torej IV.B., IPI 3.



1. red zdravljenja

Julij 2014 – oktober 2014:

- kratkotrajna citoredukcija s KS,
- **6x ACVBP** (že izpolnil dozo antraciklinov!),
- dodatno 3x profilaktična intratekalna kemoterapija (likvor negativen)

→ radiološko opisan regres med KT → ultrazvočna vodena punkcija infiltratov v jetrih po 4. ciklusu kemoterapije → še vitalen limfom v jetrih.



LIMFOMSKI KONZILIJ, november 2011

Skoraj 14 dni pred predvideno PET/CT preiskavo za oceno učinka zdravljenja po koncu le-tega, se bolnik zgledi na OI zaradi novo tipne bezgavke levo na vratu, prisotna tudi nočno potenje in subfebrilnost.

→ S tankoigelno biopsijo bezgavke levo na vratu je bil **potrjen relaps velikoceličnega limfoma**.

Sklep konzilija: gre za kemorezistenten limfom. Predvidena 2 ciklusa kemoterapije po shemi DHAP, za tem bi opravili PET/CT preiskavo 3 tedne po 2. DHAP. Če PET/CT preiskava po 2. DHAP ciklusu ne bi pokazala vsaj parcialne remisije, prihaja v poštev terapija s *krizotinibom* (zelo redka oblika limfoma z znanim agresivnim potekom, jasno potrjena translokacija gena ALK s FISH, slab odgovor na sicer optimalno izbrano terapijo I. reda. V primeru, da bi s krizotinibom dosegli solidno remisijo, glede na bolnikovo mladost prihaja v poštev visokodozno zdravljenje in avtologna ali alogenična presaditev perifernih krvotvornih matičnih celic.



2. red zdravljenja

Prejme 1x DHAP konec novembra 2014.

Ob sprejemu za predvideni 2. ciklus:

- močno utrujen, oslabel,
- bolečine v mišicah, večino dneva je preležal,
- povišana telesna temperatura, nočno potenje.

→ klinično PROGRES na vratu levo.



3. red zdravljenja

Nadaljuje s shemo CBVPP (100% odmerek) – december 2014.
Enkratni dogodek: paroksizmalna supraventrikularna tahikardija, razrešena z elektrokonverzijo, dalje prejemal bisoprolol.

→ **29.12.2014** opravi načrtovano **PET/CT** preiskavo, ki pokaže vitalen limfomski infiltrat ob bezgavkah obojestransko na vratu, subklavikularno, aksilarno, obsežne infiltrate v mediastinumu, v obeh pljučnih hilusih, ob bezgavkah v zgornjem abdomnu, v mezenteriju in retroperitonealno, najverjetneje difuzno infiltrirana jetra ter kostni mozeg oz. skelet in desni lobus ščitnice. Glede na preiskavo iz novembra gre za **progres bolezni**.



4. red zdravljenja

Glede na slab odgovor na KT II. in III. reda → 30. decembra 2014 uveden KRIZOTINIB (250 mg /12h). V ospredju bolečinska simptomatika.

Naslednji dan predčasni sprejem zaradi hude bolečine pod DRL, febrilen, tahikarden, dispnoičen.

Hospitalizacija od 31.12.2014 – 11.01.2015:

Nadaljeval s pričetim krizotinibom, sprva visoki jetrni testi ter LDH → počasi upadajo → nato ponovno močno narastejo, kar govori v prid neuspešni terapiji IV. reda. Le-ta je 9.1.2015 prekinjena.

→ pri bolniku se stanje slabša, pogloblja se respiracijska insuficienca. **Gre za limfom rezistenten na zdravljenje**. Bolnik je dne 11.01.2015 umrl.



ZAKLJUČEK

- zelo redek limfom (redka oblika DVCBL),
- zelo agresiven potek bolezni,
- slab odziv na „standardna“ zdravljenja (predvsem pri višjih stadijih ter višjih IPI),
- ni specifičnih navodil/smernic za zdravljenje.



Reference

1. Beltran B, Castillo J, Salas R, et al. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma: report of four cases and review of the literature. *J Hematol Oncol*. 2009;2:11. Published 2009 Feb 27. doi:10.1186/1756-8722-2-11
2. Nath, Pramod. (2010). ALK-Positive Large B Cell Lymphoma—Unusual Subtype of Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL). *Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemias*. 1. 10.4137/LCLL.S3688.
3. [Xiang-Nan Jiang](#),^{#1,2} [Bao-Hua Yu](#),^{#1,2} [Wei-Ge Wang](#),^{1,2} [Xiao-Yan Zhou](#),^{1,2} and [Xiao-Qiu Li](#)^{1,2,*} **Anaplastic lymphoma kinase-positive large B-cell lymphoma: Clinico-pathological study of 17 cases with review of literature.** *PLoS One*. 2017; 12(6): e0178416. Published online 2017 Jun 30. doi: [10.1371/journal.pone.0178416](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178416)





Klinični primeri uporabe molekularnih značilnosti pri različnih malignomih

Raki ORL področja

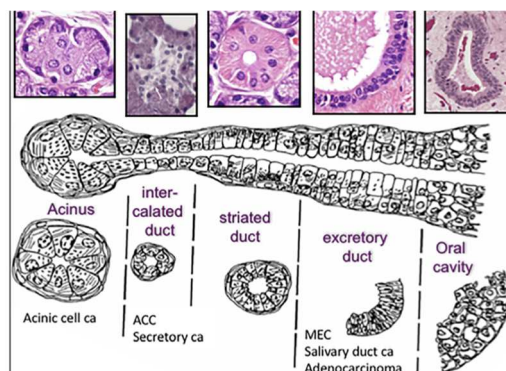
Nina Prepeluh, Klara Geršak, Ela Markočič
doc. dr. Cvetka Grašič Kuhar, dr. med.

16. Dnevi internistične onkologije, OI Ljubljana

Karcinomi žlez slinavk

- so heterogena skupina redkih tumorjev → < 1% vseh malignomov oz. 2- 6% karcinomov glave in vratu; letna incidenca 10-16 / 1 000 000
- parotidna žleza (70%; 25 % malignih), submandibularna žleza (10%; 50 % malignih), sublingvalna žleza (<1%), tumorji malih žlez slinavk (20%; 82% malignih)
- 24 histoloških podtipov; najpogostejša mukoepidermoidni karcinom (MEC) in adenoidnocistični karcinom (ACC) (skupaj >50%)
- TH:
OP (+ RT pri mlg rizičnih za ponovitev)

neoperabilni mlg: KT (platina,
antraciklini, taksani), tarčna terapija



Molekularne značilnosti različnih podtipov

Tumor type	Chromosomal region	Gene and mechanism	Prevalence
Pleomorphic adenoma	8q12	<i>PLAG1</i> fusions/amplification	>50% (46)
	12q13-15	<i>HMG A2</i> fusions/amplification	~15% (46)
Carcinoma ex pleomorphic adenoma	8q12	<i>PLAG1</i> fusions/amplification	72.7% (191)
	12q13-15	<i>HMG A2</i> fusions/amplification	13.6% (191)
	17p13.1	<i>TP53</i> mutation	25-50%
Myoepithelial carcinoma	8q12	<i>PLAG1</i> fusions ¹	37.5% (192)
Clear cell carcinoma	t(12;22) (q21;q12)	<i>EWSR1-ATF1</i> ¹	12.5% (192)
	t(12;22) (q21;q12)	<i>EWSR1-ATF1</i>	93% (193)
		<i>EWSR1-CREM</i>	<5% (194)
Tubulotrabeular basal cell adenoma	3p22.1	<i>CTN NB1</i> hotspot mutation	37.5-80% (195, 196)
Membranous basal cell adenoma	16q12.1	<i>CYLD</i> mutation	36% (197)
Basal cell adenocarcinoma	16q12.1	<i>CYLD</i> mutation	29% (197)
Mucoepidermoid carcinoma	t(11;19) (q21;p13)	<i>CRTC3-MAML2</i>	56% (198)
	t(11;15) (q21;q26)	<i>CRTC3-MAML2</i>	6% (199)
	9p21.3	<i>CDKN2A</i> deletion	25% (54)
Secretory carcinoma	t(12;15) (p13;q25)	<i>ETV6-NTRK3</i>	~95-98% (19)
	t(12;10) (p13;q11)	<i>ETV6-RET</i>	~2-5% (91)
	t(12;7) (p13;q31)	<i>ETV6-MET</i>	~1% (200)
Intraductal carcinoma, intercalated duct type	10q11.21	<i>RET</i> fusions	46.7% (23)
Intraductal carcinoma, apocrine type	3q26.32	<i>PIK3CA</i> mutations (apocrine type)	High ² (23)
Epithelial-myoepithelial carcinoma	11p15.5	<i>HRAS</i> mutations (apocrine type)	High ² (23)
Salivary duct carcinoma	11p15.5	<i>HRAS</i> hotspot mutation ¹	77.8% (201)
	17q21.1	<i>HER2</i> amplification	31% (45)
Adenoid cystic carcinoma	8p11.23	<i>FGFR1</i> amplification	10.3% (45)
	17p13.1	<i>TP53</i> mutation	56% (45)
	3q26.32	<i>PIK3CA</i> mutation	33.3% (45)
	11p15.5	<i>HRAS</i> mutation	33.3% (45)
	Xq12	<i>AR</i> copy gain	35% (202)
	10q23.31	<i>PTEN</i> loss	38% (45)
		<i>CDKN2A</i> loss	10% (45)
PAC, classic type	6q22-23	<i>MYB</i> fusion/activation/amplification	~80% (203, 204)
	8q13	<i>MYBL1</i> fusion/activation/amplification	~10% (205)
PAC, cribriform type	9q34.3	<i>NOTCH</i> mutations (solid type)	13.7% (40)
	14q12	<i>PRKD1</i> hotspot mutation	73% (35)
Acinic cell carcinoma	14q12	<i>PRKD1</i> fusions ³	38% (206)
	19q13.2	<i>PRKD2</i> fusions ⁴	14.3% (206)
	2p22.2	<i>PRKD3</i> fusions ⁴	19% (206)
Acinic cell carcinoma	19q31.1	<i>MSANTD3</i> fusion/amplification	4.4% (37)
	9q31	<i>NRAA3</i> fusion/activation	86% (207)



Vir: Andrasen et al. An update on head and neck cancer: new entities and their histopathology, molecular background, treatment and outcome, 2018

Study	Number of patients	Target	Drug	ORR	DCR	mPFS (mo)
Even et al ²⁵	22	NOTCH1	LY3039478	0%	73%	5.3
Cote et al ²⁸	14	Nanog pathway	Amcaserib	0%	86%	6.1
Kim et al ³¹	34	PI3K/AKT/mTOR	Everolimus	0%	79.4%	11.2
Goncalves et al ³⁴	30	HDAC	Vorinostat	7%	97%	10.0
KEYNOTE-028 ³⁶	2	PD-1	Pembrolizumab	0%	NS	NS
Dillon et al ³⁷	34	FGFR1	Dovitinib	6%	71%	8.2
Thomson et al ³⁸	23	VEGFR	Sorafenib	11%	79%	11.3
Ho et al ³⁹	33	VEGFR	Axitinib	9.1%	84.9%	5.7
Kim et al ⁴⁰	65	VEGFR	Nintedanib	0%	75%	8.2
Ho et al ⁴¹	38	VEGFR	Regorafenib	0%	44%	NS
Locati et al ⁴²	19	VEGFR	Sorafenib	10.5%	NS	8.9
Wong et al ⁴³	40	cKIT	Dasatinib	2.5%	52%	4.8
Locati et al ⁴⁴	28	VEGFR, PDGFR, RET, FGFR, KIT	Lenvatinib	11.5%	88%	9.0
Tchekmedyan et al ⁴⁵	32	VEGFR, PDGFR, RET, FGFR, KIT	Lenvatinib	15.6%	91%	17.5

Študije tarčne terapije ACC

Vir: Schwartzman et al. Salivary gland tumors: Molecular characterization and therapeutic advances for metastatic disease, 2018

Study	Number of patients	Subtype	Drug	ORR	mPFS (mo)
MyPathway ⁷⁵	6	Salivary duct carcinoma	Trastuzumab + Pertuzumab	80%	NR
Takahashi et al ⁷⁶	48	Salivary duct carcinoma	Trastuzumab + docetaxel	76%	9.8
Fushimi et al ⁷⁷	34	Salivary duct carcinoma	LHRH + bicalutamide	42%	8.8
Drilon et al ⁷⁸	12	Secretory carcinoma	Larotrectinib	83%	Not reached
Locati et al ⁴²	18	All histologies	Sorafenib	22%	4.2
Guigay et al ⁴⁷	20	All histologies	Pazopanib	6%	NR
Kim et al ⁴⁰	7	All histologies	Nintedanib	0%	NR
Keynote-028 ³⁶	24	All histologies	Pembrolizumab	12%	4



Študije tarčne terapije ne- ACC karcinomov žlez slinavk

Čezmerno izražanje HER2

- Prisoten pri:
 - karcinomi izvodila žleze slinavke (44%),
 - adenokarcinomi žlez slinavk (21%),
 - mukoepidermoidni karcinomi (8,3%),
- klinično dokazana dobrobit anti-HER2 terapije (+/- KT) pri karcinomih izvodila žleze slinavke (MyPathway študija, ORR 80%)

HER2
IS A PROTEIN
FOUND ON THE SURFACE OF
HEALTHY CELLS¹

AND HELPS CONTROL
HOW CELLS:¹



GROW



DIVIDE

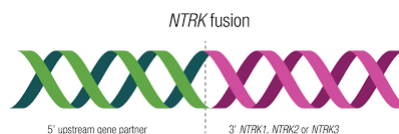


REPAIR



TRK fuzijski protein

- = produkt fuzije *NTRK* gena najdemo ga pri sekretornih karcinomih žlez slinavk
- Larotreklinib:
 - analiza 12 bolnikov s SC → objektiven odziv pri 10
 - študija 55 bolnikov z različnimi karcinomi → ORR 75%
- Entrectinib – pri bolniku s SC zmanjšal tumorsko breme za 90% (v študijo vključeni bolniki z različnimi malignomi)



Androgenski receptor

- AR pomnožen pri 43% - 99% karcinomov izvoda žleze slinavke
- Popolna androgenska deprivacija (bikalutamid + LHRH analog):
 - analiza 36 bolnikov z SDC → ORR 42%



Druge molekularne tarče

- Zaviralci proteinskih kinaz
 - VEGFR in FGFR1 pogosto izražena pri ACC; inhibitorji teh receptorjev so v študijah pokazali delni benefit z ORR 6-10%; multikinazni inhibitor lenvatinib – ORR 12-16%
- Zaviralci imunskih kontrolnih točk
 - PD-L1 izražen pri več histoloških podtipih, PD-L2 pri > 60% ACC
 - zaenkrat so rezultati študij s pembrolizumabom nekonkluzivni in nasprotujoči si



Klinični primer 1

...



Klara Geršak in Ela Markočič

31.letni bolnik



31.letni bolnik



- Zdrav, družinska anamneza negativna za maligna obolenja.
- Kadil od srednje šole dalje, okoli 10.let, 2 cigareti na dan. Občasno je uporabljal marihuano. Alkohol ne.
- **15. let** opazal **zatrđlino** v predelu obušesne slinavke desno (bila trda, neboleča, menil, da je kost).



- v **marcu 2015** se je najprej pojavila **huda bolečina** v predelu parotidne žleze desno, uvedena protibolečinska zdravila, kmalu zatem **pareza** **obraznega živca** desno →
- diagnostika: UZ vratu, citološka punkcija, MRI vratu, RTG pc, UZ trebuha.



- **UZ vratu:** regija I bp, regija II , obušesna slinavka - v njenem povrhnjem in globokem režnju je videti spremembo **27x24 mm**, ki je nekoliko zažeta, leži na meji med globokim in povrhnjim režnjem, sega vse do roba spodnje čeljusti; je nehomogeno patološko vaskularizirana; sprememba je od okolice slabo omejena.
- **Citološka punkcija:** verjetno mukoepiteloidni karcinom
- **MRI vratu:** pretežno v **notranjem režnju desne obušesne slinavke** je videti že znano tumorsko spremembo, ki prečno meri **30x24 mm**, kraniokavdalno 25 mm; tumor se širi tudi v povrhnji režnjem žleze, itd.
- **RTG pc:** bo
- **UZ trebuha:** bp.



- **13.4.2015: totalna parotidektomija** z resekcijo obraznega živca, lateralna resekcija temporalne kosti z obliteracijo srednjega ušesa in votline z maščevjem, rekonstrukcija obraznega živca s feralis graftom in nevrogen kolagenskimi tulci
- **Karcinom glandule parotis desno pT4a pN2b M0**
- **Adenokarcinom, nespecialni tip, gradus III, R0**



- **Pooperativno obsevanje (od 21.5.2015 do 2.7.2015; TD 60 Gy)**

Nadaljnje kontrole pri operaterju v UKC Maribor.



**Leto in pol kasneje →
november 2016**



- Suh kašelj tekom celega dneva (oktobra 2016 pričel jemati konopljino smolo) → SB Topolšica CT prsnih organov+trebuha+glave→ obojestranski **pljučni zasevki** do 3 cm, znaki **karcinomske limfangioze**, povečane bezgavke v **mediastinumu**, v desnem **sakrumu** do 15 mm sklerotična lezija, videz zasevka.
- CT vodena punkcija spremembe v srednjem režnju: **metastaze duktalnih žlez slinavk, gradus III, HER2 3+, AR 100%**.



- **KT I.reda:**

6x CAP (ciklofosamid 1000 mg/m², doksorubicin 50 mg/m², cisplatin 50 mg/m²)

- Po 2.ciklusu FN - 3.ciklusu dalje GCSF z Neulasto
- Kašelj se zmanjšal po 1.ciklusu
- Po 3. ciklusu CT prsnega koša - regres zasevkov
- Po 5.ciklusu CT prsnega koša zaradi **novonastalih bolečin v predelu prsnega koša levo** - regres zasevkov, kostni zasevki remineralizirani → uvedeni NSAR



- Po 6.ciklusih KT dosežena **parcialna remisija** → nadaljevanje z **vzdrževalnim trastuzumabom**
- po 2. aplikacijah **progres** → **stopnjevanje bolečin** v prsnem košu spredaj, zadaj in hrbtenice → CT prsnega koša **progres endobronhialno, zasevki v skeletu v stagnaciji**



- CT vodena punkcija spremembe v srednjem režnju: **metastaze duktalnih žlez slinavk, gradus III, HER2 3+, AR 100%**



- Uvedba terapije II.reda **bikalutamid + goserelin + zoledronska kislina**
- Junija 2017 zaradi **stopnjevanja bolečin** v predelu torakalne in lumbalne hrbtenice

RT Th 10-L3 s TD 20 Gy (bolnik na opioidni terapiji+NSAR)



Čez 2 meseca (julij 2017)

progres v CŽS

(številni zasevki infra in supratentorialno, ob tem večji vazogeni edem)



Od 12.7.2017 do 18.7.2017 **RT glave**

Nadaljevanje terapije **bikalutamid + goserelin + zoledronska kislina.**

Bolnik po zaključku RT odpuščen in kmalu zatem umrl.



Klinični primer 2



Klara Geršak in Ela Markočič



58.letna bolnica



58.letna bolnica



- Stanje po totalni histerektomiji z obojestransko adnektomijo zaradi endometrioma in miomov, st. po holecistektomiji, SB tip II
- Menarha pri 15.letih, 2x rodila, 2 leti dojila, 5.let nadomestna hormonska terapija z estrogeni
- Družinska anamneza negativna za maligna obolenja



- **Decembra 2004** prvič na OI zaradi **neopredeljenega procesa v ščitnici**.
- V julija 2003 so se začele težave s **hripavostjo, stridoroznim dihanjem**
 - na **UZ ščitnice** so opisovali solitaren 4 cm velik hipoehogen gomolj s hiperehogenimi vložki
 - *citološka punkcija* proliferativna slika ščitničnega tkiva, z vidnim atipičnim razraščanjem v obliki manjših lobulusov in psevdopapilarnimi formacijami, najverjetneje hiperplastične spremembe; na KNM svetovali sledenje (že leta prej se je pri njih vodila, izvidov ni na voljo).



- **Klinično:**
 - **obstruktivsko dihanje,**
 - deformirajoča struma na vratu levo, z izrazito trdim, fiksnim istmusom in medialnim delom levega lobusa, lateralni del je pa pri požiranju še komaj pomičen



- **CT vratu: obsežna tumorska formacija**, ki se kranialno začne v spodnjem delu piriformnega sinusa na levi strani, se širi v retrofaringealni prostor na levi strani, vse do karotidnega prostora levo; v prečnem preseku je tumorska formacija velikosti **4x4 cm**, se širi tudi v **levo pliko vokalis**, ob krikoidnem hrustancu na levi strani ter zožuje larinks in ga odrivera v desno; **kavdalno infiltrira tudi trahejo** in jo zožuje.
- CT toraksa: bp
- UZ vodena citološka punkcija: **adenoidnocistični karcinom**

najverjetneje larinks → **cT4 cN0 M0**



Sočasno

še vnetni karcinom desne dojke →

**IDC, gradus III,
ER 20%, PR-,
HER2-**



cT4d cN1 M0

- UZ trebuha: bp
- RTG pc: bp
- Scintigrafija skeleta: bp

(spremljala se je v CBD zaradi mikrocistične displazije)



- **Sklep ORL in mamarnega konzilija:**

- **RT tumorja ORL področja +**
- **NAKT po shemi CMF zaradi karcinoma dojke** (antraciklinov ne zaradi sočasne RT)



- **NAKT po shemi CMF 6x** (4.2.2005 - 5.8.2005) (enkrat po 3.ciklusu pavza zaradi hudega mukozitisa) **+ dopolnilna HT s tamoksifenom**
- **RT tumorja ORL področja** (16.3.2005 - 13.5.2005) **TD 70 Gy**

→ Ob tem **klinično popolni regres v dojki ter larinksu**

→ Bolnica po koncu RT ORL področja ni bila več stridorozna



JUNIJ 2005 (po 4. ciklusu KT in 1 mesec po RT)

- **poslabšanje dihanja ob infektu** → ORL konzilij ugotavlja fiksirano levo polovico grla, subglotično se verjetno boči ostanek tumorske formacije, vrat bp.
- Elektivno **junija 2005: TRAHEOSTOMA** → ob direkoskopiji **NI ostanka tumorja** pod levo glasilko, sluznica je bila v celoti edematozna, biopsije niso izvedli.
- **30.8.2005 - 8.10.2005:** dopolnilno RT desne mamarne regije



- V vmesnem času urejanje bolečine, prebolevanje pljučnice, klinično se slabšala - brez moči, apetita, bolečine v predelu traheostome → **novembra 2005 RTG pc** opisovali **širši zgornji mediastinum** → **sum na progres**
- **CT toraksa v januarju 2006:** **NI** znakov za progres
- **Marca 2006 (po 9.mesecih) ODSTRANJENA KANILA** - ob direkoskopiji **NI znakov progressa**
- **Februar 2007:** depresija, hujšanje
- **Maj 2008:** zaradi depresije v Psihiatrični bolnici Polje, prebolevanje pljučnice
- **Januar 2009:** v Psihiatrični bolnici Polje zaradi depresije



**IDC, gradus III, ER 20%, PR,
HER2- → cT4d cN1 M0**

Januar 2011: po 5.letih dopolnilne HT s tamoksifenom ter izhodiščno pozitivnimi bezgavkami → **podaljšana hormonska terapija** z letrozolom



- **April 2014: diseminirani plazmocitom z osteolitično lezijo** levega femurja (pri hematologih bortezomib+deksametazon); pri nas od 10.4.2014 do 15.4.2014 paliativna RT področje levega kolka s TD 20Gy

November 2015: zaključek podaljšane dop.HT

- **Februar 2016 (po 10.letih od dekanilacije):** ponovno **traheostoma** zaradi težkega dihanja → edem grla zaradi prelivanja tekočine in hrane iz požiralnika v grlo
- **April 2016: gastrostoma** zaradi oteženega požiranja



- **Direktoskopija** med hospitalizacijo: pokaže **stenozo na nivoju piriformisov** z zožanim vhodom v požiralnik ter zadebeljeni ariepiglotisni gubi, s posledično zožitvijo grla ter zaradi ankiloze obeh aritenoidov zožena prostora med glasilkama.
- **CT vratu** tekom hospitalizacije **februar 2016**: v levi lateralni steni začetnega dela traheje ugotavljajo 10x5 mm veliko ovalno spremembo, **sumljivo za recidiv**; napotili na PET-CT → NI opravila



Dve leti in pol od zadnjega pregleda na OI;
vmes na ORL zaradi kašlja, oteženega dihanja, itd.



- **Julij 2019** PET-CT: sumljivo za **recidiv** malignoma v področju **larinksa**, najverjetneje metastaze v **pljučih**, najverjetneje metastaza ali plazmocitomska lezija v devetem **rebru**, desnem **acetabulumu**, **sakrumu** in **desni skapuli**



nov primarni tumor ali lokalni recidiv T4bN0M1
→ INOPERABILEN, OBSEVALNE MOŽNOSTI IZČRPANE



- **Sklep ORL konzilija:**

1. **Ureditev bolečine → protibolečinska ambulanta**
1. **Datum pregleda pri internistih onkologih glede presoje o ev.sistemskem zdravljenju**

PS po WHO 3, pekoče bolečine v predelu grla in pogosto oteženo dihanje, kljub vstavljeni trahealni kanili, dražeč kašelj; bolečine po okostju



- **Oktober 2019 (14.let po zaključku RT primarnega tumorja):**

ob menjavi kanile odvzet **vzorec za določitev androgenskih receptorjev iz lokalnega recidiva** → izvid citološke punkcije **AR 100%** → **BIKALUTAMID 50 mg/dan**



Izhodiščno: adenoidnocistični karcinom

- **Junij in september 2020: RT bolečih kostnih zasevkov** (rebra desno+medenica levo)
- Vmes prilagajanje protibolečinske terapije, korekcija simptomatske anemije, padec in zlom sramnice...
- **Nazadnje na kontroli septembra 2020, brez znakov za progres. Na terapiji z bikalutamidom 1. leto.**



Nekaj teorije:

- Adenoidnocistični karcinomi so maligni tumorji.
- Pojavljajo se v velikih in malih žlezah slinavkah. Pogosteje v malih žlezah slinavkah.
- Adenoidnocistični karcinomi larinksa so redki in predstavljajo manj kot 1% vseh malignih tumorjev larinksa.
- Za adenoidnocistični karcinom je značilen počasen progres, pogoste ponovitve in pozni oddaljeni zasevki.
- Najpogostejše mesto oddaljenih zasevkov so pljuča.
- Etiologija nastanka adenoidnocističnega karcinoma je še nepoznana.
- Ponavadi v 50.-60.letih, z nekoliko večjo pojavnostjo pri ženskah.
- Ponavadi vzniknejo supra ali sub-glotično.
- Operacija s širokimi robovi sama ali v kombinaciji s postoperativno radioterapijo predstavlja najboljši način zdravljenja.

- Prevalenca izražanja androgenih receptorjev (AR) se razlikuje med različnimi podtipi rakov žlez slinavk. Najpogosteje so AR receptorji izraženi pri karcinomih izvodila žleze slinavke (SDC), medtem ko samo majhen delež mukoeptidermoidnih karcinomov (MEC) in adenoidnocističnih karcinomov (ACC) izražajo AR, pa še takrat v nizkem procentu (5%–15%), kar verjetno ni pomembno pri sami biologiji tumorja.





Emmanuel, 54
Nigerija
policist
Crohnova bolezen

Peter, 42
Slovenija
električar
rak

Bohniki morajo imeti
dostop do zdravil,
ki jih potrebujejo.

podobna biološka zdravila brez meja

SKRBIMO ZA VAS

Družba Viatris po celem svetu zdravnikom in bolnikom zagotavlja dostop do visokokakovostnih bioloških zdravil.

Slednjega zagotavljajo zavezanost h kontinuiranemu razvoju, kakovostnim raziskavam, nadzoru kakovosti in logistični odličnosti. To je naš svet. Naš svet je svet, ki mu je mar za vas.



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

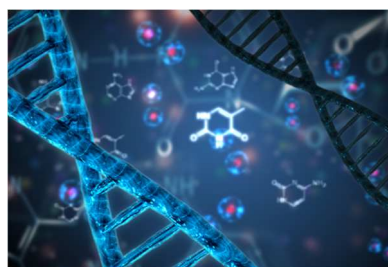
Kožni raki

Pomen molekularnih značilnosti pri zdravljenju malignega melanoma

Mirjana Pavlova Bojadžiski, dr med
prof dr Janja Ocvirk, dr med

Molekularne značilnosti malignega melanoma

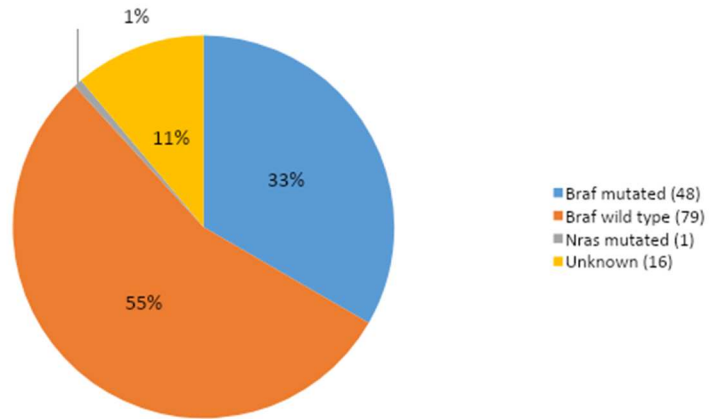
- Približno 70% melanomov – mutacije v genu BRAF, NRAS, C-kit
- Pri kožnih melanomih:
50% BRAF mutacijo,
20% NRAS mutacijo
5% mutacijo KIT proteinov.
- Pri akralno lentiginoznemu melanomu, približno:
20% mutacijo KIT proteinov
- Pri uvealnem ali očesnem melanomu približno:
80% mutacije GNAQ ali GNA11 proteinov.
- Pri mukoznem melanomu, približno:
20% mutacijo KIT proteinov



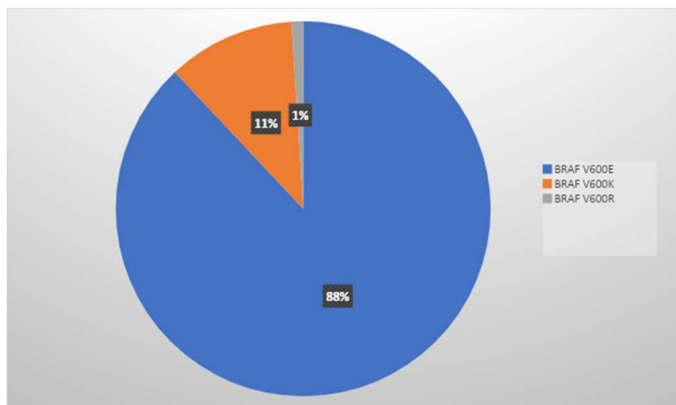
Izsledki večine študij potrjujejo da se BRAF, NRAS in cKIT mutacije med seboj izključujejo



Podatki Onkološki inštitut Ljubljana 2013-2017



Podatki Onkološki inštitut Ljubljana 2013-2017



Najbolj pogosta je BRAF V600E

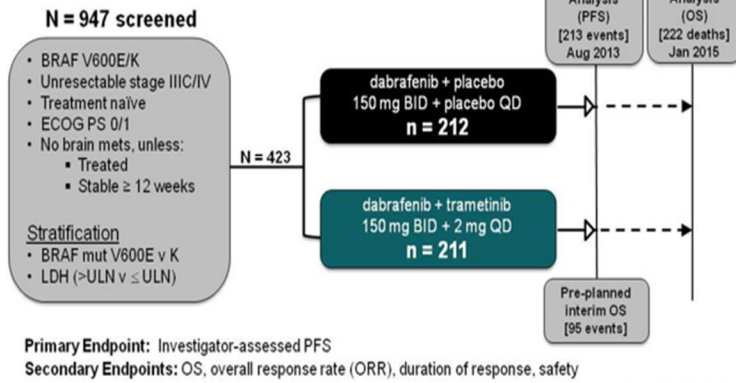


Izidi zdravljenja pri mutaciji BRAF V600K so nekoliko boljši v primerjavi z mutacijo V600E



V600E: Val/Glu
V600K: Val/Liz
V600R: Val/Arg

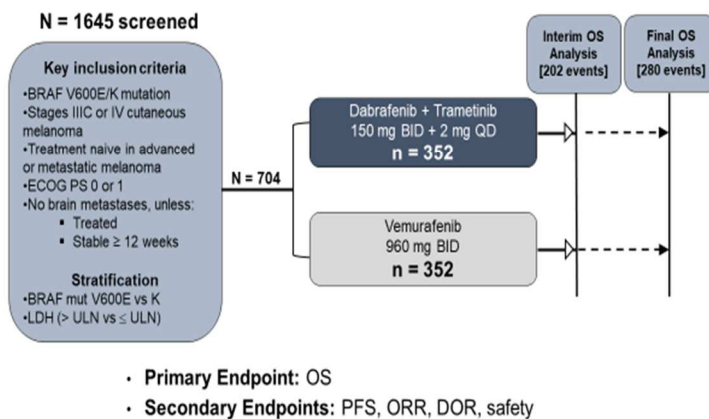
COMBI-d: Study Design



Presented By Georgina Long at 2015 ASCO Annual Meeting



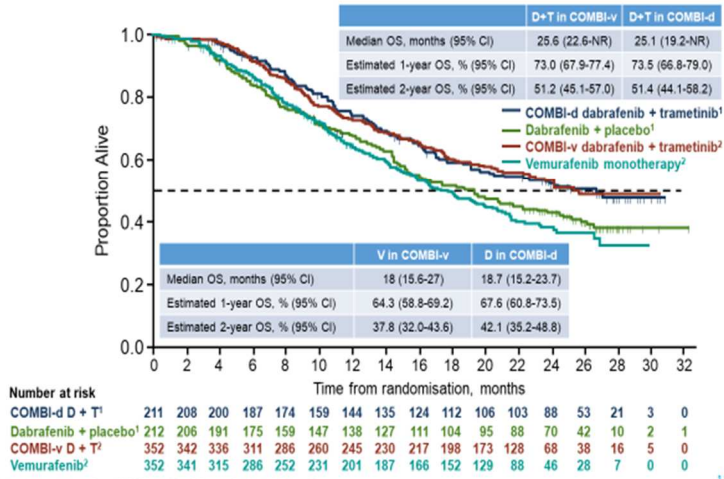
COMBI-v Study Design



BID, twice daily; DOR, duration of response; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status; LDH, lactate dehydrogenase; ORR, overall response rate; QD, once daily; ULN, upper limit of normal.



COMBI-v and COMBI-d: Overall Survival Curves

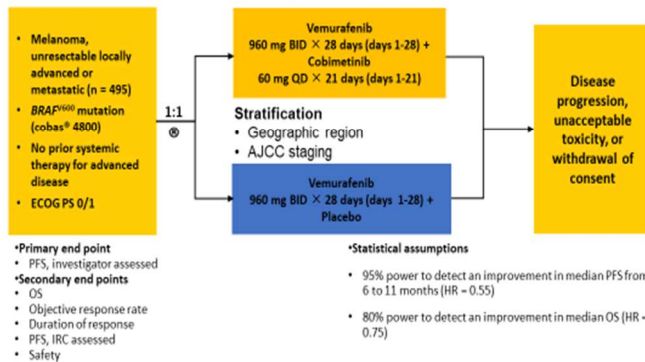


1. Long GV, et al. Lancet Oncol 2015;366:444-451. 2. Data on file (March 2015 cut-off).



coBRIM: phase III study comparing cobimetinib + vemurafenib vs. vemurafenib + placebo

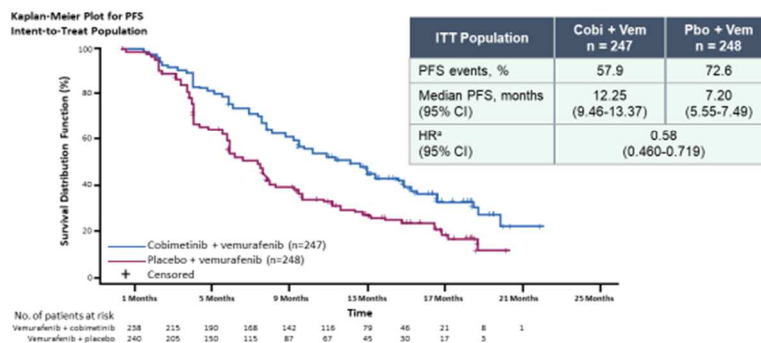
Multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled study of vemurafenib ± cobimetinib in previously untreated patients with unresectable, locally advanced or metastatic *BRAF*^{V600} mutation-positive melanoma



AJCC, American Joint Committee on Cancer; BID, two times daily; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; HR, hazard ratio; IRC, independent review committee; OS, overall survival; PFS, performance status; QD, once daily
Larkin L et al. N Engl J Med. 2014;371:1867-1876



coBRIM: phase III study comparing cobimetinib + vemurafenib vs. vemurafenib + placebo - PFS



- mOS 22,3 mes
- tveganje za smrt manjše za 30% HR (0.70)
- mPFS 12,3 mes
- tveganje za progres manjše za 42% HR (0,58)
- Objektivni odgovor na zdravljenje: 70%

Tarčno zdravljenje

- Kombinacija dabrafenib in trametinib
 - Izboljšan OS vs vemurafenib ali dabrafenib
 - Izboljšan PFS vs vemurafenib ali dabrafenib
- Kombinacija vemurafenib + kobimetinib
 - Izboljšan OS vs vemurafenib
 - Izboljšan PFS vs vemurafenib
- Dabrafenib + trametinib in Vemurafenib + cobimetinib se je iskazala kot superiorna v primerjavi z BRAF monoterapijo v študijah faze 3, SOC pri bolnikih z *BRAF* V600-mutiranim melanomom

10

Prikaz primera:

- 56 letni bolnik
- Brez pridruženih bolezni
- Družinska anamneza negativna
- Brez redne terapije
- Primarno zdravljenje januarja 2015: ekcidiran melanom desno ledveno, globina invazije 6.91 po Breslow, z ulceracijo, prisoten mikrosatelit, kirurški robovi prosti
- 6.02.2015 klinično povečana bezgavka desno aksilarno citologija: zasevek malignega melanoma



- Februarja 2016 predčasna kontrola: v področju brazgotine v desni aksili rezistenca velikosti do 2 cm ter v področju pektoralne mišice (ekscizija)
- Citologija: metastaza MM
- PET CT- v podkožju po desno aksilo, pektoralno desno, pljučni zasevek, metastazo v L1, več lezij z nizkim SUV-om v področje desnega femurja, glavica levega humerusa, v 2 rebro lat.levo ter TH8
- Določitev BRAF: prisotna mutacija
- April 2016: uvedba Braf in MEK inhibitorjev in RT metastaze v L18 (TD 10x3 Gy)



KOMBINIRANO ZDRAVLJENJE

- 22.8.2016 CT toraksa in abdomna: hipodenzne spremembe v jetrih, suspekten zasevek v korteksu desne ledvice, nodul v linguli LZPR, zasevki v vretencih L1, L2, L3
- December 2016: dosežena stagnacija
- Maj 2017 klinično: na desni mami sprememba suspektna za SCC
- 1.06.2016 zasevek MM ki sega v enega od stranskih ekcizijskih robovih, poleg tega še nekaj manjših zasevkov, prisotni že v času začetka kombinirane th
- Juli 2017: razširjena reeskizija brazgotine



- CT marec 2018: stagnacija na vseh mestih (pljuča, jetra, kosteh) razen nodularne zgostitve na koži parasternalno v višini mamil izven že obsevanega področja
- April 2018 elektrokemoterapija vseh približno 30 do 1 cm velikih zasevkov desno pektoralno
- 15.6.2018 CT – stagnacija
- Juli 2018 dva nova zasevka pod desno ključnico (cit.verificirano) – ekcizija
- December 2018 :regres razen kožnih zasevkov predelu desne dojke
- 21.1.2019 metastazektomija centralnega dela desne dojke

KLINIČNO POMEMBNE RAZLIČICE			
Gen	Rezultat	Različica	Alelna frekvenca različice
BRAF	mutiran	c.1799T>A p.(Val600Glu) V600E	47,7%
<i>Klinično diagnostični pomen:</i> Aktivacijske mutacije (klinično pomembne različice) V600E – p.(Val600Glu), V600K – p.(Val600Lys), V600D – p.(Val600Asp), V600R – p.(Val600Arg), V600M – p.(Val600Met) in V600G – p.(Val600Gly) in genu BRAF zvišajo aktivnost proteina BRAF in so prisotne pri različnih vrstah raka, vključno z melanomom. Zdravljenje s tarčnimi zdravili, ki se vezajo na mutiran protein, je uspešno le v primeru, ko je mutacija prisotna.			
NRAS	mutiran	c.182A>G p.(Gln61Arg) Q61R	33,7%

PREISKOVANI GENI GLEDE NA VRSTO TUMORJA

BRAF, NRAS

Opombe:
Sočasne mutacije v tumorjih bolnikov z malignim melanomom v genih BRAF in NRAS se pojavljajo pri približno 2-3% bolnikov. (Marieke et al. (2016), Oncotarget, 7:77163-77174. in Heppt et al. (2017), BMC Cancer, 17:536.)



Tarčno zdravljenje



April 2019

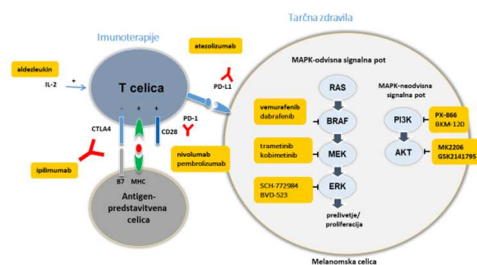


Junij 2019



- Juni 2019 CT evaluacija- progres: novo nastali nodul v srednjem pljučnem režnju, novonastale nodularne lezije v podkožju prsne stene levo, patološka bezgavka levo aksilarno

Tarčna terapija in imunomodulatorji



Uvedba imunoterapije




Mirgen Rada I, et al. Clin Transl Oncol 2011;13:787-92; Menzies AM, et al. Ther Adv Med Oncol 2011;3:27-45; Jang S, et al. Clin Pharmacol Ther 2014;95:24-31; Havel R, et al. J Pathol 2014;232:114-41; Johnson SB, et al. Clin Cancer Res 2006;12:2211-18; <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01519427>; <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01902173>

- Juni 2019 CT evaluacija- progres: novo nastali nodul v srednjem pljučnem režnju, novonastale nodularne lezije v podkožju prsne stene levo,patološka bezgavka levo aksilarno

- Uvedba imunoterapije- pembrolizumab



- Oktober 2019 večji nodul v pljučih je izginil , v podkožju torakalne stene ni videti mehko tkivnih sprememb, bezgavka aksilarno manjša,manjša hipodenzna sprememba v jetrih

- September 2020 – prejel 20 aplikacijo pembrolizumaba  Zelo dober odgovor



> [Oncotarget](https://doi.org/10.18632/oncotarget.12848). 2016 Nov 22;7(47):77163-77174. doi: 10.18632/oncotarget.12848.

Co-existence of BRAF and NRAS driver mutations in the same melanoma cells results in heterogeneity of targeted therapy resistance

Marieke I G Raaijmakers ¹, Daniel S Widmer ¹, Apurva Narechania ², Ossia Eichhoff ¹, Sandra N Freiburger ^{1,3}, Judith Wenzina ^{1,3}, Phil F Cheng ¹, Daniela Mihic-Probst ⁴, Rob Desalle ², Reinhard Dummer ¹, Mitchell P Levesque ¹

Affiliations [+](#) expand

PMID: 27791198 PMID: PMC5363577 DOI: 10.18632/oncotarget.12848

[Free PMC article](#)

Double mutations occur heterogeneously within patients after targeted therapy

In order to investigate the evolution of the *NRAS/BRAF* double mutated cancer cells within a patient, we analyzed tumor DNA for the presence of double mutations in all available histological and frozen material from patients 4, 5, 6, 7 and 8 before and after *BRAF* inhibitor treatment ([Table 1](#)). For patients 4, 5 and 6 we could confirm the presence of the additional *NRAS* mutation in the post-treatment samples from which the cell culture was derived. In patient 8, we had generated cell cultures from Late met 1 and Late met 2. In Late met 1 we could detect the *BRAF*^{V600E} *NRAS*^{Q61R} double mutation, however in Late met 2 we could not detect the additional *NRAS*^{Q61R} mutation. For patient 7, the histology block corresponding to the tumor from which the cell culture was derived was no longer available. In patient 4 and patient 8, we could also detect the *NRAS/BRAF* double mutation in additional post-treatment metastases. Interestingly, the *NRAS* mutation could not be detected in any of the pre-treatment biopsy samples.



Impact of NRAS mutations for patients with advanced melanoma treated with immune therapies

Douglas B. Johnson,^{a,†} Christine M. Lovly,^{#a} Marisa Flavin,^b Katherine S. Panageas,^b Gregory D. Ayers,^c Zhiguo Zhao,^c Wade T. Jams,^a Marta Colgan,^b Sarah DeNoble,^d Charles R. Terry,^a Elizabeth G. Berry,^a A. John Iafrate,^d Ryan J. Sullivan,^d Richard D. Carvajal,^e and Jeffrey A. Sosman^a

► Author information ► Copyright and License information [Disclaimer](#)

Table 3
Response rate and clinical benefit by immune therapy type.

	NRAS mutant	BRAF mutant	WT
Anti PD-1/PD-L1	N = 11	N = 14	N = 23
Objective Response	7 (64%)	3 (21%)	8 (35%)
Clinical Benefit	8 (73%)	3 (21%)	10 (43%)
Ipilimumab	N = 43	N = 31	N = 95
Objective Response	8 (19%)	4 (13%)	10 (11%)
Clinical Benefit	18 (42%)	5 (16%)	19 (20%)
IL-2	N = 15	N = 29	N = 19
Objective Response	5 (33%)	6 (21%)	5 (26%)
Clinical Benefit	5 (33%)	11 (34%)	7 (37%)

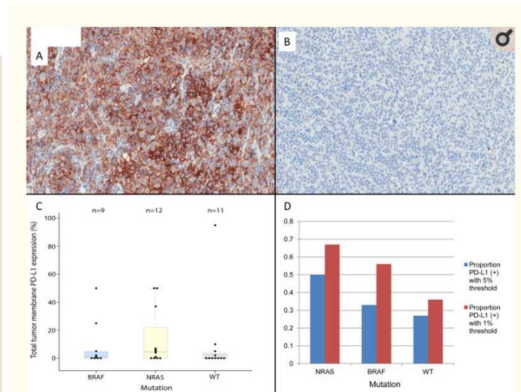


Figure 2

Immunohistochemical analysis of tumor cell-surface expression of PD-L1 from representative samples (20x). Panel A shows an NRAS-mutant melanoma sample with strongly positive expression (~50% of cells); Panel B shows a WT melanoma with <1% of cells with PDL1 expression. Panel C shows the distribution of PD-L1 staining by genotype. Panel D shows number of samples evaluated by genotype and whether they were positive for PD-L1 expression (≥5%) or negative (<5%).

Zaključek

- BRAF mutacija ima danes centralno vlogo pri izbiri zdravljenja. V raziskavi Pracht in sod. niso ugotavljali le boljšega odgovora na zdravljenje ob BRAF inhibitorjih, temveč tudi povezavo med BRAF mutacijo in boljšim izhodom zdravljenja s sistemsko terapijo.
- Podobno se je izkazalo tudi za NRAS mutacijo in boljšimi odgovori na zdravljenje z imunoterapijo.
- Dodatno najdba NRAS mut po predhodni terapiji z BRAF inhibitorjem je lahko indikator celične subpopulacije, ki ni občutljiva na terapijo z MEK inhibitorjem ali ERK inhibicijo
- Analiza ene tumorske biopsije ne more v celoti definirati mehanizem rezistence za bolnika, ki je izredno pomembno, v izbiri druge linije zdravljenja

Pracht M, Mogha A, Lespagnol A, Fautrel A, Mouchet N, Le Gall F, et al. Prognostic and predictive values of oncogenic BRAF, NRAS, c-KIT and MITF in cutaneous and mucous melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015 Aug;29(8):1530-8.

Johnson DB, Lovly CM, Flavin M, Panageas KS, Ayers GD, Zhao Z, et al. Impact of NRAS mutations for patients with advanced melanoma treated with immune therapies. *Cancer Immunol Res.* 2015 Mar;3(3):288-95.
(53) Greaves WO, Verma S, Patel KP, Davies MA, Barkoh BA, Galbincea JM, et al.

KAKO BI GA ZDRAVILI OB NADALJNEM PROGRESU?



Heterogeneity in Melanoma 11

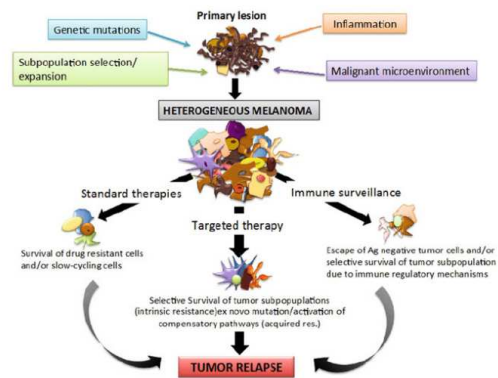


Fig. 5 Melanoma heterogeneity and clinical implication. Primary melanoma cells respond to different stimuli from the TME generating a heterogeneous tumor. Different subpopulations within melanoma lesions can survive to different therapeutic treatments and sustain the tumor for the development of relapse



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

KOŽNI RAKI

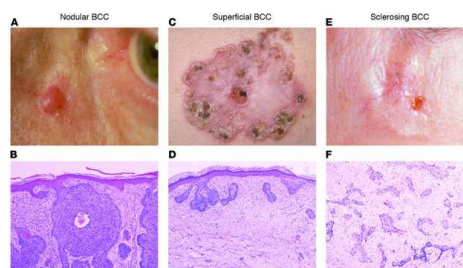
*Klinični primer uporabe
molekularnih značilnosti pri
bazalnoceličnih rakih*

Katja Leskovšek, dr. med.
prof. dr. Janja Ocvirk, dr. med.

Ljubljana, 20.11.2020

Bazalnocelični karcinom - BCK

- Najpogostejši kožni rak.
- Počasna rast, izjemno redko metastazira.
- Več kliničnih in histopatoloških podtipov.
- Nizkorizični in visokorizični.



J Clin Invest. 2012;122(2):455-463

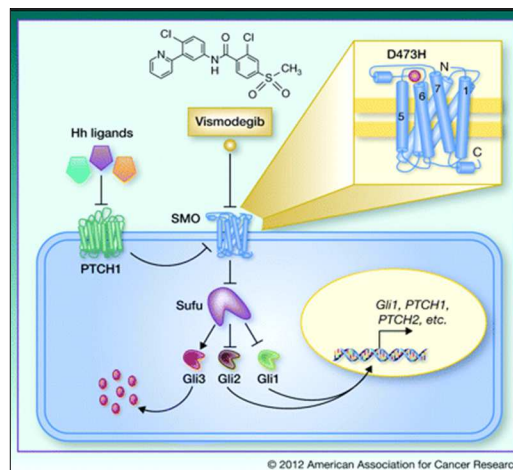
- Genetska predispozicija:
- Izpostavljenost dej. tveganja (UV žarki, imunosupresija, ionizirajoče sevanje):

Mutacije genov:
PTCH-1, SMO,
p53, SUFU.



BCK in Hedgehog signalna pot

- Nenormalna aktivacija HH signalne poti ima pomembno vlogo v patogenezi in napredovanju BCK.
- Sistemsko zdravljenje pri lokalno napredovalem BCK ali metastatskem BCK.

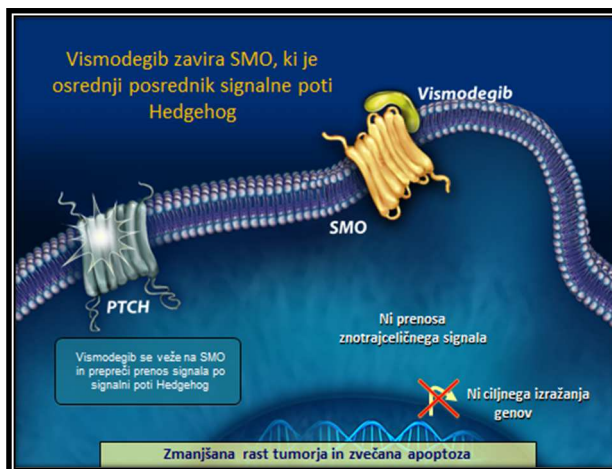


Clin Cancer Res June 15 2012 (18) (12) 3218-3222

**VISMODEGIB –
peroralni selektivni
zaviralec HH poti**



Vismodegib – močan selektivni zaviralec receptorja SMO



Vismodegib in patients with advanced basal cell carcinoma (STEVIE): a pre-planned interim analysis of an international, open-label trial



Nicole Basset-Seguin, Axel Hauschild, Jean-Jacques Grob, Rainer Kunstfeld, Brigitte Dréno, Laurent Marier, Paolo A. Ascierto, Lisa Lichra, Caroline Dutriaux, Luc Thomas, Thomas Jouary, Nicolas Meyer, Bernard Guillot, Reinhard Dummer, Kate Fife, D. Scott Ernst, Sarah Williams, Alberto Fitipaldo, Ioannis Kynos, Johan Hansson

Summary

Background The Hedgehog pathway inhibitor vismodegib has shown clinical benefit in patients with advanced basal

Lancet Oncol 2015; 16:729-36

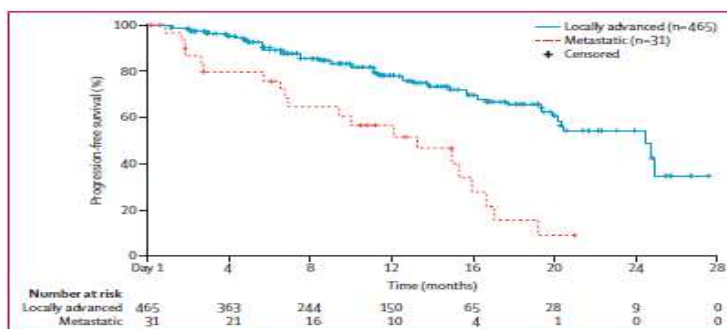


Figure 2: Kaplan-Meier plot of progression-free survival in patients who had histologically confirmed basal cell carcinoma



Gorlin-Goltz sindrom

= sindrom bazalnoceličnega nevusa

redka AD dedna bolezen kože in drugih organov

mutacija PTCH-1 gena na kromosomu 9

prizadetost kože, ČŽS, kosti, oči

multipli BCK že v otroštvu



odontogene keratociste, palmoplantarne diskeratoze, meduloblastom ČŽS, kalcifikacija dure, anomalije reber in hrbtenice (spina bifida, kifoskolioza), ovarijski fibrosarkom, hipertelorizem, katarakta

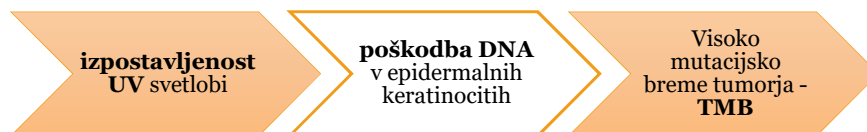
Kaj pa, ko tarčno zdravljenje odpove?

- **Relaps** po doseženem odgovoru na zdravljenje z vismodegibom ali **progres** bolezni ob vismodegibu.
- Pavza ali prekinitev zdravljenja zaradi **neobvladanih neželenih učinkov** ob zdravljenju z vismodegibom.

Kemoterapija lokalno napredovalega BCK neučinkovita.



BCK in vloga imunoterapije



- Vloga imunosupresije pri nastanku BCK.
- Nizka imunogenost v primerjavi s PCK.
- Neodzivnost in intoleranca na HHI.



Potekajoče klinične študije za zdravljenje BCK z imunoterapijo

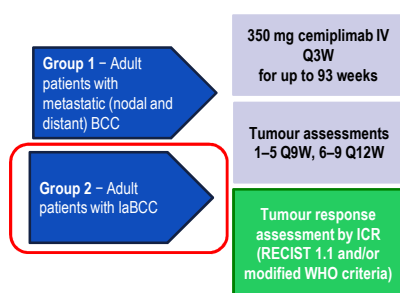
TABLE 1. Examples of Ongoing Investigational Immunotherapy Approaches in Nonmelanoma Skin Cancers

Disease	Immunotherapy Strategy	Clinical Trial
Merkel cell carcinoma	Activated NK cells + IL-15 agonist	NCT03853317
	Gene-modified autologous T-cell therapy	NCT03747484
	Combination CTLA-4/PD-1 blockade ± radiotherapy	NCT03071406
	Intralesional TLR agonist + PD-1 antibody	NCT03684785
	Radiation therapy + PD-1 antibody	NCT03988647, NCT03304639
CSCC	Avelumab + cetuximab	NCT03944941
	PD-L1 + long-acting IL-7 compound	NCT03901573
	Intralesional autologous cancer cell/Streptococcal antigen vaccine (IFx-Hu2.0)	NCT04160065
	Intralesional Talimogene laherparepvec	NCT03714828
	Intralesional glatiramer acetate	NCT03982212
BCC	Cemiplimab	NCT03132636
	CTLA-4 + PD-1 combination immunotherapy	NCT03521830

Abbreviations: NK, natural killer; IL, interleukin; TLR, Toll-like receptor; CSCC, cutaneous squamous cell carcinoma; BCC, basal cell carcinoma.
American Society of Clinical Oncology Educational Book 40 (March 24, 2020) 398-407.



• Study design and objectives (NCT03132636)



Primary endpoint: overall response rate by ICR

Key secondary endpoints: duration of response, progression-free survival, overall survival, complete response by ICR and safety and tolerability

•Key inclusion criteria

- Histologically confirmed diagnosis of invasive BCC
- Prior progression or intolerance to HHI therapy or no better than stable disease after 9 months on HHI therapy
- At least 1 measurable baseline lesion
- ECOG performance status of 0 or 1

•Key exclusion criteria

- Ongoing or recent (within 5 years) autoimmune disease requiring systemic immunosuppression
- Prior anti-PD-1 or anti-PD-L1 therapy
- Concurrent malignancy other than BCC and/or history of malignancy other than BCC within 3 years of date of first planned dose of cemiplimab, except for tumours with negligible risk of metastasis or death

BCC, basal cell carcinoma; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; HHI, hedgehog inhibitor; ICR, independent central review; IV, intravenous; laBCC, locally advanced BCC; PD-1, programmed cell death-1; PD-L1, PD-ligand 1; Q3W, every 3 weeks; Q9W, every 9 weeks; Q12W, every 12 weeks; RECIST, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors; WHO, World Health Organization.

BCK in imunoterapija

- Prvo sistemsko zdravljenje, ki je pokazalo klinično korist pri bolnikih z lnBCK po terapiji z HHI:

CEMIPLIMAB

- 31% ORR in ocenjeno 12-mesečno preživetje 92,3%.
- Varnostni profil je sprejemljiv za populacijo bolnikov. Skladno je z drugimi protitelesi PD-1 in s prejšnjimi poročili o cemiplimabu pri drugih vrstah tumorjev.



Klinični primer

68-letna bolnica:

Ponavljajoči se BCC zgornje in spodnje veke desno.

- **Po več ekscizijah**, sprva na zgornji vek, nato tudi spodnji (2000 – 2009).
- **Po obsevanju** recidiva zgornje (2006) in spodnje veke (2009).
- Histološko: nodularni in infiltrativni tip.



April 2019 – Očesna klinika

OBSEŽEN RECIDIV

- CT orbit s KS: solidna tumorska formacija D periorbitalno, 4,4 x 5,1 x 4 cm, invazija v D orbito medialno, neposreden kontakt z zrkлом (brez preraščanja), kontakt z optičnim živcem in vraščanje v očesne mišice.
 - Lokalno invaziven, relativno dobro omejen.
- Brez regionalnih ali oddaljenih zasevkov.



CT orbit s KS



April 2019

Maj 2019 – prvi pregled pri internistu onkologu

- DA: negativna za kožne tumorje.
- PB: AH, st. po op. ptoze D ledvice, st. po adnektomiji, st. po holecistektomiji, st. po op. varic spodnjih okončin.
- Redna terapija: Triplexam, Nalgesin Forte p.p., Daleron p.p.
- Brez alergij.
- PS po WHO: 0

- Zadnja 3 leta rašča v področju D očesa, ki se je večala.
- Zadnji mesec huda bolečina.
- Progresivno slabšanje vida na D oko (le še svetloba).
- Hujšanje.
- Lab. izvidi: Ca 2.72, gama-GT 0.80, CRP 14.



Maj 2019 – januar 2020

- Razmeroma obsežen lokalni recidiv BCC, po več lokalnih ekscizijah in obsevanjih.
- Sistemsko zdravljenje:

VISMODEGIB

- Že po 1. ciklu klinično zmanjšanje, po 6. ciklih radiološko:

STAGNACIJA BOLEZNI

- Po 7. ciklu klinično progres s povečanjem in krvavitvijo tumorja.
- Po 9. ciklu pavza in biopsija: BCC, nodularni in infiltrativni, brez komponente SCC.



Januar – maj 2020

- Nadaljevanje z vismodegibom:

NU: mišični krči, bolečina v spod. okončinah, izpadanje las, izguba TT.

- Po 13. ciklu klinično:

PROGRES BOLEZNI

- Maj 2020 – konzilij za kožne tumorje; prošnja ZZZS za odobritev zdravljenja z:

IMUNOTERAPIJO



Junij – november 2020

- Imunoterapija - skupno do sedaj 7 aplikacij.

- Po 2. aplikaciji:

NU: **hipotiroza**

- Po 3. aplikaciji: klinično zmanjšanje.
- Po 4. aplikaciji: zrklo skoraj razpoznavno, vidi svetlobo.
- Po 7. aplikaciji - CT orbit s KS:

DELNI REGRES
BOLEZNI



Radiološki odgovor na zdravljenje



April 2019



November 2020

Klinični odgovor na zdravljenje



*lokalno
napredovali BCC*



*po 3. mesecih
vismodegiba*



*progres ob vismodegibu,
uvedba imunoterapije*



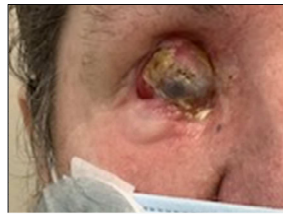
*po 6. tednih
imunoterapije*



Klinični odgovor na zdravljenje



*po 12. tednih
imunoterapije*



po 18. tednih imunoterapije



*po 21. tednih
imunoterapije*





ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

KOŽNI RAKI

*Vloga imunoterapije pri zdravljenju
napredovalega ploščatoceličnega
kožnega raka*

Ana Erman, dr. med.
prof. dr. Janja Ocvirk, dr. med.

Ljubljana, 20.11.2020

PLOŠČATOCELIČNI KOŽNI RAK



EPIDEMIOLOGIJA

- 20% NMKR
- počasi rastoči, redko zasevajo; porast incidence



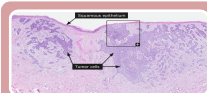
DEJAVNIKI TVEGANJA

- UV sevanje (kumulativno), ionizirajoče sevanje, kemikalije, imunosupresija
- albinizem, pigmentna kseroderma



KLINIČNA SLIKA

- glava, vrat, roke
- luščeči plak, rožnata papula; lokalna destrukcija



DIAGNOSTIKA

- dermoskopija -> biopsija in patohistologija
- zamejitev



Napredovale oblike SCC

lokalno napredovala

metastatska

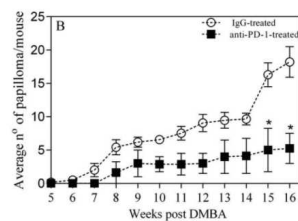
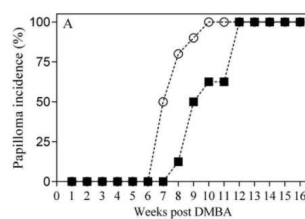
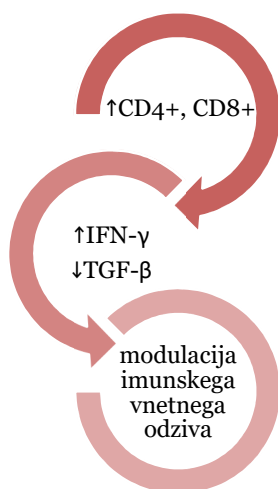


- brez možnosti operativnega ali radioterapevtskega zdravljenja
- onkološko sistemsko zdravljenje:
 - citotoksična kemoterapija
 - EGFR inhibitorji - cetuximab

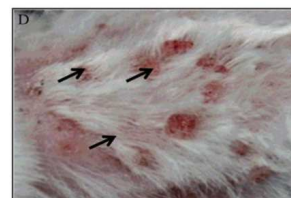
mediana preživetja 15 mesecev



PD-1 inhibicija



anti-PD-1-treated

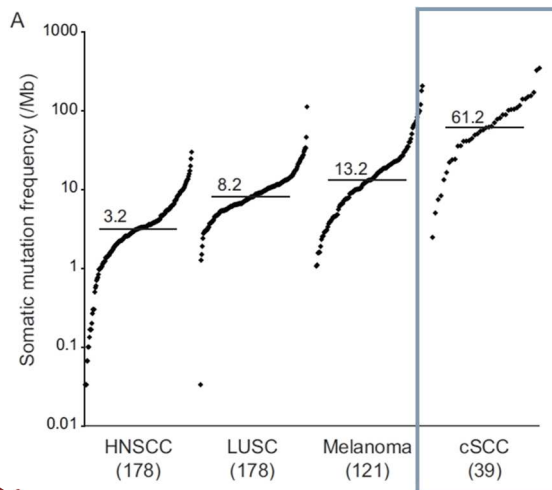


IgG-treated

Belai, et al, PD-1 blockage delays murine squamous cell carcinoma development, 2014;vol.3 no2 pp.424-431



Tumorsko mutacijsko breme TMB



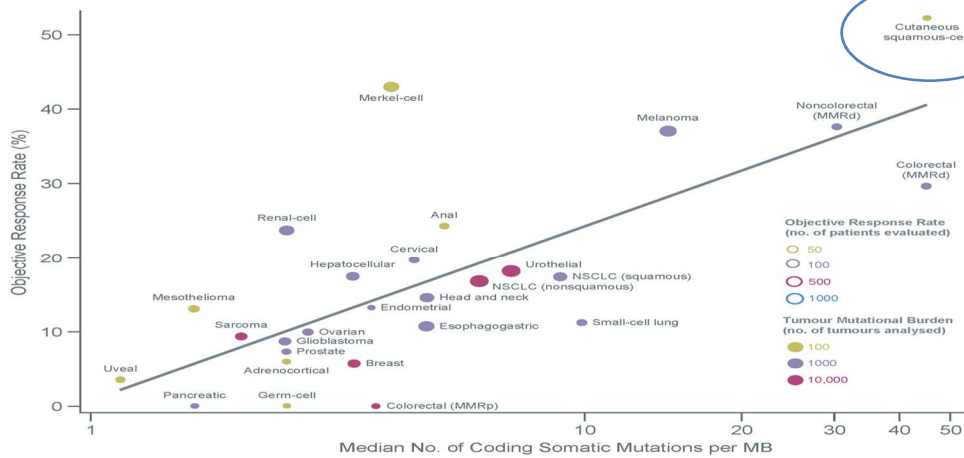
učinkovitost imunoterapije pri SCC:

- UV povzročena mutagenaza → visoko število mutacij / Mb.
- Večje tveganje pri imunokompromitiranih.



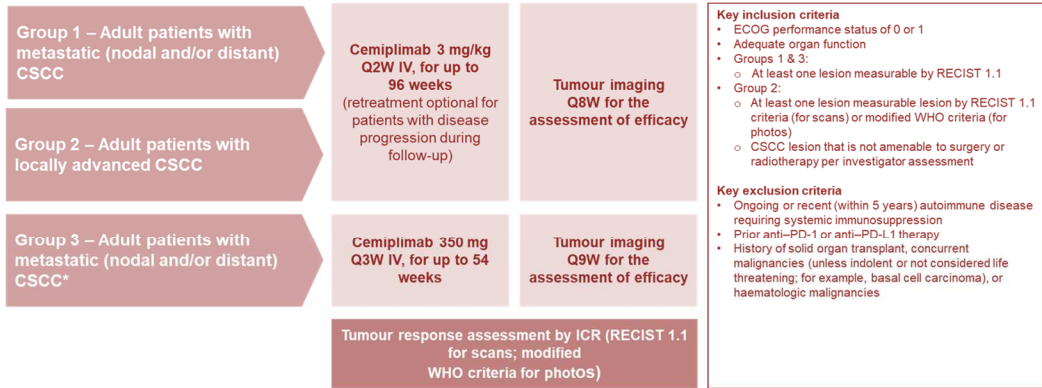
cSCC, cutaneous squamous-cell carcinoma; HNSCC, head and neck squamous-cell carcinoma; LUSC, lung squamous-cell carcinoma. Pickering CR, et al. Clin Cancer Res 2014;20:6582-6592.

PD-1 in PD-L1 inhibicija & ORR



1. Yarchoan M, et al. N Engl J Med. 2017; 377: 2500-01; 2. Papadopoulos K, et al. Presentation at 2017 American Society of Clinical Oncology, Chicago, IL. J Clin Oncol. 2017;35(15_suppl):9503;

EMPOWER-CSCC-1 Study Design (NCT02760498)

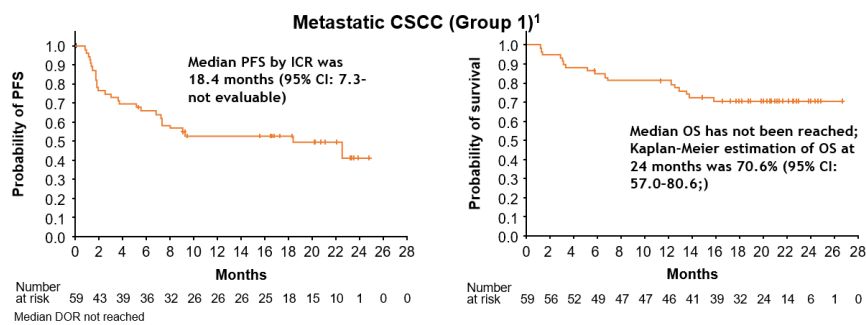


1. Guminski et al. J Clin Oncol 2019;37 (suppl abstr 9526) [poster presentation]. 2. Migden MR, et al. J Clin Oncol 2019;37 (suppl abstr 6015) [poster presentation].



Group 1: Data cut-off date: September 20, 2018
Group 2: Data cut-off date: October 10, 2018

Kaplan–Meier Estimation Overall Survival, Progression-Free Survival, and Duration of Response in Advanced CSCC Patients



	Locally Advanced CSCC (Group 2) ²
Median PFS	NR
K-M Estimated PFS at 12 months	58.1% (95% CI: 43.7–70.0)
Median OS	NR
K-M Estimated OS at 12 months	93.2% (95% CI: 84.4–97.1)
Median DOR	NR

Group 1: Median duration of follow-up = 16.5 mos (range 1.1–26.6); Group 2: Median duration of follow-up = 9.3 mos (range 0.8–27.9)
Data cut-off date: Sept 20, 2018 (Group 1); Oct 10, 2018 (Group 2)
CI: confidence interval; CSCC, cutaneous squamous cell carcinoma; ICR, independent central review; OS, overall survival; PFS, progression-free survival; NR, not reached
1. Guminski et al. J Clin Oncol 2019;37 (suppl abstr 9526) [poster presentation]. 2. Migden MR, et al. J Clin Oncol 2019;37 (suppl abstr 6015) [poster presentation].



KLINIČNI PRIMER, bolnica; 06.06.1940

Leto dni prisotna ulceracija na desni nadlahti, nastala naj bi po poškodbi, lezija progredira.



St. dermat.: na ekstenzorni strani desne nadlahti 14x7 cm velika ostroroba ulceracija, mestoma dosega globino 2 cm.

PS po WHO 1 - 2

Družinska anamneza: negativna.

Dosedanje bolezni: st. po op. BCC (2014, 2015), AH, sindrom nemirnih nog.

Alergije: brez.

Škodljive razvade: brez.

Redna terapija: Ampril, Mirapexin, Concor, Lasix, Tardyferon.

Socialna anamneza: upokojena, delala na kmetiji.



KLINIČNI PRIMER

- LAB (12.10.2020): brez odstopanj.
- Biopsija robnega dela ulceracije → HISTOPATOLOŠKI IZVID (20.09.2020): ploščatocelični karcinom, invazivni, zmerno diferenciran.
- CT PRSNIH ORGANOV, TREBUŠNIH ORGANOV IN SKELETA (29.10.2020): brez znakov oddaljenih zasevkov.



KLINIČNI PRIMER

- Zaradi velikosti in globine je kirurški poseg izrazito zahteven z možnostjo dodatnih zapletov.
- Sistemsko onkološko zdravljenje lokalno napredovalega SCC: cemiplimab (anti PD-1).



St. po prvi aplikaciji,
bolnica brez neželenih
stranskih učinkov.



Vsak dan šteje *1-9

Povzetek glavnih značilnosti zdravila Lonquex[®]

Ime zdravila Lonquex 6 mg raztopina za injiciranje **Kakovostna in količinska sestava** Ena napolnjena injekcijska brizga vsebuje 6 mg lipegilgrastima* v 0,6 ml raztopine. En milliliter raztopine za injiciranje vsebuje 10 mg lipegilgrastima. Učinkovina je kovalentni konjugat filgrastima** z metoksipoli(etil)englikolom (PEG) z veznim ogljikovim hidratom. **Farmacvska oblika** raztopina za injiciranje (injekcija), bistra, brezbarvna raztopina. **Terapevtske indikacije** Zdravilo Lonquex je indicirano pri odraslih za skrajšanje trajanja nevotropenije in incidence febrilne nevotropenije pri bolnikih, ki prejemajo citotoksično kemoterapijo za maligne tvorbe (z izjemo kronične mieloidne levkemije in mielodisplastičnih sindromov). **Povzetek odmerjanja in načina uporabe** **Odmerjanje** Za vsak cikel kemoterapije se priporoča en 6 mg odmerek lipegilgrastima (ena napolnjena injekcijska brizga zdravila Lonquex), približno 24 ur po citotoksični kemoterapiji. **Način uporabe** Raztopina se injicira subkutano (s.c.). Injekcije je treba dajati v trebuh, nadlaket ali stegno. Prvo injiciranje zdravila Lonquex je treba izvesti pod neposrednim zdravniškim nadzorom. **Kontraindikacije** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Povzetek posebnih opozoril in previdnostnih ukrepov** **Sledljivost** Za izboljšanje sledljivosti bioloških zdravil je treba tržno ime in številko serije uporabljenega zdravila jasno zabeležiti v bolniško kartoteko. **Splošno** Varnosti in učinkovitosti zdravila Lonquex niso preučili pri bolnikih, ki prejemajo visokodermno kemoterapijo. Zdravilo Lonquex ne smete uporabljati za povečanje odmerka citotoksične kemoterapije zunaj uveljavljenih smernic odmerjanja. **Alergijske reakcije in imunogenost** Pri bolnikih, preobčutljivih na GCSF ali derivate, obstaja tudi tveganje za preobčutljivostne reakcije na lipegilgrastim zaradi moške navzkrižne reaktivnosti. Zaradi tveganja navzkrižne reakcije zdravljenja z lipegilgrastim pri teh bolnikih ne smete ustvari. **Hematopetski sistem** Zdravljenje z lipegilgrastim ne prepreči z mielosupresivno kemoterapijo povzročene trombocitopenije in anemije. Lipegilgrastim lahko povzroči tudi reverzibilno trombocitopenijo. Priporoča se redno spremljanje števila trombocitov in hematokrita. Še posebej previdni moramo biti, kadar sta predpisana en sam kemoterapevtik ali kombinacija kemoterapevtikov, za katere se ve, da povzročajo hudo trombocitopenijo. Pojavi se lahko levkocitoza. O neželenih učinkih, ki jih je mogoče pripisati neposredno levkocitozi, niso poročali. Zvišanje belih krvnih celic je v skladu s farmakodinamičnimi učinki lipegilgrastima. Med zdravljenjem je treba v rednih presledkih spremljati število belih krvnih celic zaradi kliničnih učinkov lipegilgrastima in možnosti za levkocitozo. Če število belih krvnih celic preseže $50 \times 10^9/l$ po pričakovani najnižji ravni, je treba z uporabo lipegilgrastima takoj prenehati. **Bolniki z mieloidno levkemijo ali mielodisplastičnimi sindromi** Granulocitne kolonije stimulirajoči faktor lahko spodbudi rast mielocitnih celic in nekaterih nemielocitnih celic *in vitro*. Varnosti in učinkovitosti zdravila Lonquex niso preučili pri bolnikih s kronično mieloidno levkemijo ali mielodisplastičnimi sindromi ali sekundarno akutno mieloidno levkemijo, zato zdravila pri teh bolnikih ni dovoljeno uporabiti. Posebno pozornost je treba nameniti razlikovanju diagnoze blastne transformacije kronične mieloidne levkemije od akutne mieloidne levkemije. **Neželeni učinki, povezani z vranico** Po uporabi lipegilgrastima so poročali o na splošno asimptomatskih primerih splenomegalije in po uporabi GCSF ali derivatov so poročali občasnih primerih rupture vranice, vključno s smrtnimi primeri. **Neželeni učinki, povezani s pljuči** Po dajanju lipegilgrastima so poročali o neželenih učinkih na pljuča, še zlasti o intersticijski plitiski. Pojav pljučnih simptomov kot so kašelj, zvišana telesna temperatura in dispneja v povezavi z radiološkimi znaki pljučnih infiltratov in poslabšanjem delovanja pljuč skupaj z zvišanjem števila nevrotroficov so lahko predhodni znaki sindroma akutne dihalne stiske pri odraslih (Acute Respiratory Distress Syndrome - ARDS). **Neželeni učinki, povezani z žiljem** Po uporabi GCSF ali derivatov so poročali o sindromu kapilarne prepustnosti, za katerega so značilni hipotenzija, hipalbuminemija, edemi in hemokoncetracija. **Bolniki s srpastocelčno anemijo** Srpastocelčna kriza je povezana z uporabo GCSF ali derivatov pri bolnikih s srpastocelčno anemijo. Zdravniki morajo zato ravnati previdno, ko dajejo zdravilo Lonquex bolnikom s srpastocelčno anemijo, spremljati ustrezne klinične parametre in laboratorijske rezultate ter pazorno spremljati možno povezavo lipegilgrastima s povečanjem vranice in vazookklusivno krizo. **Hipokallemija** Pojavi se lahko hipokallemija. Za bolnike s povečanim tveganjem za hipokallemijo zaradi osnovne bolezni ali sočasnih zdravil se priporoča natančno spremljanje ravnih kalija v serumu in dodajanje kalija, če je potrebno. **Glomerulonefritis** Pri bolnikih, ki so prejeli filgrastim, lahko zdravilo lipegilgrastim, so poročali o glomerulonefritisu. **Pomožne snovi z znanim učinkom** To zdravilo vsebuje sorbitol. **Povzetek medsebojnega delovanja z drugimi zdravili in druge oblike interakcij** Zaradi možne občutljivosti mielocitnih celic, ki se hitro delijo, na citotoksično kemoterapijo je treba zdravilo Lonquex dati približno 24 ur po uporabi citotoksične kemoterapije. Sočasne uporabe lipegilgrastima in katerega koli kemoterapevtika pri bolnikih niso ocenili. Varnosti in učinkovitosti zdravila Lonquex niso ocenili pri bolnikih, ki prejemajo kemoterapijo, povezano z oddolžno mielosupresijo, npr. derivate nitrozosocine. Možnosti medsebojnega delovanja z litijem, ki prav tako spodbuja sproščanje nevrotroficov, niso posebej preučili. **Povzetek neželenih učinkov** Zelo pogosti neželeni učinki: navzea, mišično-skeletna bolečina. Pogosti neželeni učinki: trombocitopenija, hipokallemija, glavobol, hemoptiza, kožne reakcije in bolečina v prsnem košu. Občasni neželeni učinki: levkocitoza, splenomegalija, preobčutljivostne reakcije, neželeni učinki na pljuča, pljučna hemoragija, reakcije na mestu injiciranja, zvišanje alkalne fosfataze v krvi in zvišanje laktatdehidrogenaze v krvi. **Imetni dovoljenja za promet z zdravilom** Teva BV, Swensweg 5, 2031 GA Haarlem, Nizozemska **Način in režim izdaje zdravila:** H/Ro-Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept, zdravilo pa se uporablja samo v bolnišnicah. Izjemoma se lahko uporablja pri nadaljevanju zdravljenja na domu ob odpuštu iz bolnišnice in nadaljnjem zdravljenju. **Datum zadnje revizije zdravila** 25. 07. 2019

* Zdravilo Lonquex[®] je indicirano za skrajšanje trajanja nevotropenije in incidence febrilne nevotropenije pri odraslih bolnikih, ki prejemajo citotoksično kemoterapijo za maligne tvorbe (z izjemo kronične mieloidne levkemije in mielodisplastičnih sindromov).

Reference: 1. Pettengill R, et al. Support Care Cancer 2008;16:1299-309. 2. daCosta DiBonaventura M, et al. Am Health Drug Benefits 2014;7:386-96. 3. Teuffel O, et al. Support Care Cancer 2012;20:2755-64. 4. Fortner BV, et al. J Support Oncol 2006;4:472-8. 5. Fortner BV, et al. Support Cancer Ther 2006;3:173-7. 6. Meza L, et al. Proc Am Soc Clin Oncol 2002;21:abstract 2640. 7. Crawford J. Chapter 9. From: Cancer and Drug Discovery Development: Supportive Care in Cancer Therapy DOI: 10.1007/978-1-59745-291-5_9. Edited by: D.S. Ettinger ©Humana Press, Totowa, N.J. 8. Li Y, et al. Blood. 2014;124:abstract 4960. 9. Lonquex (lipegilgrastim) SmPc, maj 2016.



ONKOLOŠKI INŠTITUT
INSTITUTE OF ONCOLOGY
LJUBLJANA

Strokovna knjižnica za onkologijo

8 čitalniških mest

5.300 knjig

6.000 e-revij



vsak delovni dan od 8. do 15. ure
www.onko-i.si/strokovna_knjiznica

**16. DNEVE INTERNISTIČNE ONKOLOGIJE SO PODPRLE
NASLEDNJE DRUŽBE:**

JANSSEN (ZLATI SPONZOR)

PFIZER (SREBRNI SPONZOR)

ROCHE

ASTRA ZENECA

BRISTOL-MYERS SQUIBB

EWOPHARMA

SANOFI

MSD

NOVARTIS

TAKEDA

AMGEN

VIATRIS

ELI LILLY

SERVIER

MERCK

TEVA