

První zkušenosti s vyšetřením Oncotype DX u pacientek s karcinomem prsu

Zuzana Ušiaková, Luboš Petruželka

Onkologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

Hormonálně dependentní karcinom prsu je heterogenní onemocnění z pohledu molekulárního i klinického. Riziko relapsu časného karcinomu prsu léčeného adjuvantní hormonální terapií kolísá. Prediktivní markery pro volbu chemoterapie (CHT) u obecně příznivého nádoru s pozitivitou estrogenových receptorů (ER) a bez exprese receptoru pro epidermální růstový faktor HER2 (ER+/HER2-) jsou nedostatečné a vedou k indikaci CHT tam, kde nemůže mít efekt. To dokládá i molekulární klasifikace, která ukazuje, že hormonálně dependentní karcinom prsu není uniformní entitou, ale skupina nádorů s odlišnými vlastnostmi, které vyžadují individuální přístup v indikaci adjuvantní terapie. Oncotype DX je multigenová eseje (MGA) s prognostickým i prediktivním významem. Na základě studií s více než pěti tisíci pacientkami s ER+/HER2- časným karcinomem prsu s průkaznou úrovní evidence, dosáhlo jeho použití klinické praxe. Test je v ČR (onkologických centrech) dostupný od ledna 2014 pro indikovanou skupinu nemocných. První zkušenosti s tímto vyšetřením jsou velmi dobré. Na onkologické klinice VFN a 1.LF UK v Praze bylo dosud vyšetřeno přes 20 pacientek.

Klíčová slova: karcinom prsu, adjuvantní terapie, molekulární klasifikace, multigenové eseje, Oncotype DX.

First experience with Oncotype DX test in patients with breast cancer

Hormonal dependent breast cancer is a heterogeneous disease from a molecular and clinical perspective. The relapse risk of early breast cancer patients treated with adjuvant hormonal therapy varies. Validated predictive markers concerning adjuvant cytotoxic treatment are still lacking in ER+/HER2- breast cancer, which has a good prognosis in general. This can lead to the inefficient chemotherapy indication. Molecular classification of breast cancer reports evidence about the heterogeneity of hormonal dependent breast cancer and its stratification to different groups with different characteristics. Oncotype DX is a multigene assay with a prognostic and predictive impact. On behalf of evidence with more than 5000 patients the test obtain clinical practice. For indicated group of patients is the test available in oncology centres from January 2014 in the Czech Republic. First experiences with this examination are very good. There were examined more than 20 breast cancer patients in oncology clinic in General University Hospital and First Faculty of Medicine Charles University in Prague.

Key words: breast cancer, adjuvant therapy, molecular classification, a multigene assay, Oncotype DX.

Onkologie 2015; 9(3): 135–138

Úvod

Karcinom prsu je biologicky heterogenní onemocnění odrážející se v jeho odpovědi na léčbu (1). Podle genové exprese jej můžeme rozdělit do několika podskupin. Tradičně se ve volbě terapie uplatňují histopatologické vlastnosti nádoru (velikost tumoru, stav uzlin, stupeň diferenciacie nádorových buněk (grade), jejich proliferativní aktivita (Ki67) a stupeň exprese estrogenového receptoru (ER), progesteronového receptoru (PR) a receptoru pro epidermální růstový faktor (HER2)) a klinické informace o nemocných pacientkách (zejména věk, výkonnostní stav, menoaktivita). Terminologie molekulárních subtypů primárního karcinomu prsu byla přijata odborníky na kongresu v St. Gallen v roce 2011 (2) a postupně byla přijata do doporučení všech mezinárodních diagnostických a léčebných doporučení (St. Gallen, ASCO, ESMO, NCCN a další). Ukazuje se, že klinickopatologické prediktory jsou molekulární klasifikaci podřazené, ne ale zanedbatelné. Právě naopak, zdá se, že kombinace obou přístupů je správná, i když relevantní podklad chybí. V rozhodovacím pro-

cesu mohou být nápomocné také nomogramy, které se časem vyvíjejí do relativně spolehlivých modelů (3). Luminální typ A má lepší prognózu než luminální typ B, HER2- pozitivní nebo typ bazální (4). Správná indikace adjuvantní CHT pro rizikového pacienta dokáže snížit mortalitu spojenou s nádorem až o 38% a její sekvenční kombinace s hormonální léčbou může v následujících 15 letech snížit toto riziko až o polovinu (5). Naopak, pro nízké rizikovou skupinu nemocných představuje zbytečnou zátěž, která jim nepřináší další benefit. V posledních deseti letech bylo vyvinuto několik MGA, které poskytují další prognostickou a/nebo prediktivní informaci a pomáhají stratifikovat nemocné podle rizika recidivy onemocnění. Největší zájem je zaměřen na luminální typ, který se může chovat příznivě (luminální typ A) i agresivněji (luminální typ B). MGA mají poskytnout prognostickou informaci a předpovědět vyšší rizika relapsu ER+/HER2- časného karcinomu prsu po ukončení adjuvantní léčby. Jejich dalším cílem je predikce účinnosti adjuvantní CHT a určení optimálního léčebného režimu.

Multigenové eseje (MGA)

MGA jsou testy založené na vyšetření několika vybraných genů, kterých poměr a síla vyjádření ve fenotypu buňky poskytuje prognostický a/ nebo prediktivní význam. Jedná se tedy o genomické testy, které mají za cíl odlišení nízké a vysoké rizikového karcinomu prsu na molekulární úrovni. K analýze genové exprese se používají dvě hlavní metody: DNA microarray technologie k vyšetření zejména čerstvé nebo mražené nádorové tkáně a qRT-PCR (kvantitativní real time – polymerázová řetězová reakce) k vyšetření v parafinu fixované tkáně (FFPE). Klesající cena MGA zvyšuje klinickou dostupnost testů a umožňuje vyšetření většího počtu nemocných. Obecně využití MGA v praxi stoupá, stejně tak zájem odborné veřejnosti a převážně kladný postoj k testování nemocných. Patrik Neven prezentoval v rámci kongresu IMPAK 2014 výsledky studie, do které se zapojilo více než 900 kliniků z 52 zemí světa a jejichž cílem bylo zjistit zájem a užití MGA u nemocných s karcinomem prsu v různých zemích (6). Více než 55% tázaných odpovědělo na otázku o používání MGA kladně a z těch, kteří je dosud nevyužívají,

Obrázek 1. Doporučení jednotlivých MGA mezinárodními guidelines

	Oncotype DX	MammaPrint	Rotterdam Score	PAM50	MammoStrat	IHC4	EP Clin
ASCO 2007	ANO	NE	NE	NE	NE	NE	NE
NCCN 2013	ANO	NE	NE	NE	NE	NE	NE
St Gallen 2013	ANO	ANO/NE	NE	NE	NE	NE	NE
ESMO 2013	ANO	ANO	NE	NE	NE	NE	NE
NICE 2013	ANO	NE	NE	NE	NE	NE	NE
AGO 2013	ANO	NE	NE	NE	NE	NE	ANO*
Netherlands 2012	ANO	ANO	ANO	NE	NE	NE	NE

*Pouze u postmenopauzálních žen a jako prognostický (ne prediktivní) faktor
Dle Kern P, Rezaei M, et al.: Genomic testing in international guidelines. EMJ November 2013: 68–74

Obrázek 2. Indikace Oncotypu DX dle jednotlivých mezinárodních guidelines

NCCN Guidelines pT1 (> 0.5 cm)- pT3, N0- N1mi, ER+, HER2-	Kvantifikuje riziko recurence nemoci a predikuje odpověď na tamoxifen a chemoterapii ¹
ASCO Guidelines N0, ER+	Kvantifikuje riziko recurence nemoci a predikuje odpověď na tamoxifen a chemoterapii ²
St. Gallen Consensus ER+, HER2-, N0-1	Poskytuje nejen prognostickou, ale také prediktivní informaci týkající se potřeby cytotoxické terapie přidané k hormonální léčbě ³
UK NICE ER+, HER2-, N0, intermediate risk (NPI>3.4)	Doporučen jako možnost volby v rozhodovacím procesu ve volbě chemoterapie u pacientů se středním rizikem recurence nemoci ⁴

1. NCCN Practice Guidelines in Oncology. V.3.2013. 2. Harris L, et al. *J Clin Oncol* 2007. 3. Goldhirsch A, et al. *Ann Oncol*. 2013. 4. NICE Diagnostics Guidance 2013

87% vyslovilo přání zařadit genetické vyšetření do svojí praxe. Z nabídky testů (Oncotype DX, MammaPrint, PAM-50, EndoPredict, FEMTELLE, Mammastrat a jiné) se ukázaly být nejpoužívanější Oncotype DX (téměř 80%) a MammaPrint (34%). Oba výše uvedené, nejčastěji ve světě využívané testy, jsou zahrnuty do mezinárodních doporučení pro diagnostiku a léčbu časného karcinomu prsu (viz obrázek 1). Úroveň průkaznosti studií dokládajících efekt jednotlivých MGA se liší. V hodnocení testů je důležitým kritériem jeho schopnost přesně a spolehlivě změřit genom, který je předmětem zájmu (analytická validita), jeho schopnost přesně a spolehlivě identifikovat nebo predikovat prognózu nemocných 5–10 let po operaci (klinická validita) a zhodnocení jeho užitečnosti v rozhodovacím procesu volby adjuvantní terapie ve srovnání s běžnými prediktory (klinická utilita). Neméně důležitý je poměr přínosu testu a nejasností (event. finanční zátěže) s ním spojených.

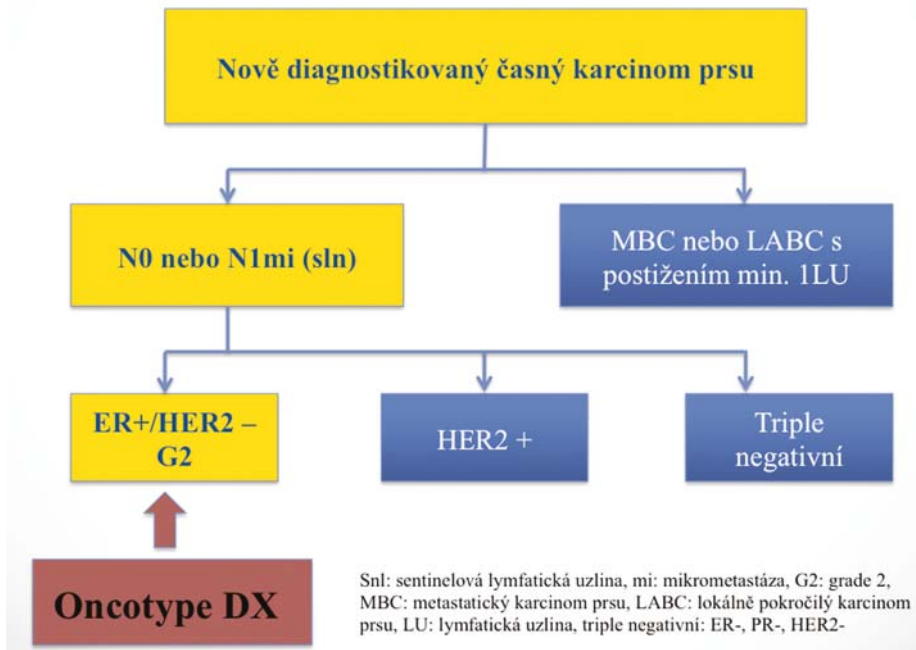
Oncotype DX

Oncotype DX je prognosticko-prediktivní test, který je na základě molekulárního vyšetření nádoru schopen predikovat riziko relapsu nemoci v 10 letech po ukončení adjuvantní terapie a předpovědět benefit adjuvantní CHT. Vyšetření je dle mezinárodních doporučení indikováno pro skupinu pacientek s ER+/HER2- časným karcinomem prsu s/či bez uzlinového postižení (viz obrázek 2). Test byl vyvinut selekcí z 250 kandidátních genů vyšetřovaných na vzorcích 447 pacientek. Nakonec se ustálil jako platforma 16 s nádorem asociovaných genů a 5 genů referenčních, které jsou vyšetřovány metodou qRT-PCR z RNA extrahované z FFPE. Vybrané byly geny s negativním prognostickým významem, spojené s invazivitou nádoru, geny predikce efektu chemoterapie i geny s pozitivním prognostickým významem. Tzv. „recurrence score“ (RS) je výsledkem jejich vzájemného poměru dosaženého do matematického modelu a na-

bývá hodnoty 0–100. Při převaze „hodných“ genů je RS nízké (nabývá hodnot 0–17) a značí dobrou prognózu, při převaze „špatných“ genů je tomu naopak (RS > 30). Testování je prováděno v centrální laboratoři, což má napomoci analytické síle testování (7). Prognostický význam testu byl validován na kohortě postmenopauzálních pacientek (8) bez postižení uzlin (N0), i s postižením (N1) spádových lymfatických uzlin (9) v prospektivních studiích na archivovaných vzorcích a výsledky prací ukazují, že nemocné s nízkým RS relabují méně často než nemocné se středním a vysokým RS. Prognostický význam RS byl také srovnán s klinickými parametry zařazenými do doporučení St. Gallen a NCCN (10). Následujícím krokem bylo ověření, jak nemocné s různým RS profitují z přidání adjuvantní CHT. Výsledky studií NSABP B-20 (11) a SWOG 8814 (12) prokázaly, že jednoznačný benefit z přidání CHT má pouze vysoce riziková skupina nemocných. Tím je podložena klinická utilita testu. Pro volbu příslušného režimu CHT nejsou v stávajících studiích podklady. Subanalýzy NSABP B20 ukazují, že mezi karcinomy s vysokým RS mohou patřit i nádory s vysokým stupněm diferenciace (G1) a naopak, nádory s nízkým stupněm diferenciace (G3) mohou být níže rizikové. Stejnou diskordanci je možné sledovat i v parametrech velikosti nádoru, věku nemocné či Ki67 (13), což potvrzuje, že klinickopatologické vlastnosti nádoru tak, jak se běžně hodnotí v praxi, nejsou pro odhad chování nádorového onemocnění dostatečné. Výzvou zůstává identifikace dalších faktorů, které by umocnily kombinování standardních prediktorů a RS (bude řešit také prospektivní studie TAILORx). Doplnující data jsou potřebná také pro objasnění, zda může být RS aplikováno i na HER2 pozitivní populaci. Prediktivní význam testu ve volbě CHT bude dále ověřen v prospektivní randomizované studii TAILORx (14), jejímž cílem je mimo jiné i hranice (cutoff) mezi jednotlivými rizikovými skupinami, zejména s nízkým a středním rizikem. U N1 nemocných s RS do 25 budou v další prospektivní studii RxPONDER řešeny obdobné problémy (15).

První zkušenosti s Oncotype DX

Test je v ČR od ledna 2014 hrazen Všeobecnou zdravotní pojišťovnou (VZP). Postupně se připojily i ostatní zdravotní pojišťovny, z nichž některé úhradu podmiňují schválením revizním lékařem. Úhrada je omezena pro pacientky s nádorem G2, ER+/HER2-, N0 a současně s jedním z rizikových faktorů, kterými jsou negativní PR nebo vysoká hodnota Ki-67 (viz obrázek 3). Podmínkou úhrady

Obrázek 3. Indikace k vyšetření Oncotype DX v ČR**Obrázek 4.** Přehled nemocných vyšetřených v darovacím programu

věk (roky)	stádium dle TNM	histologie	Ki67 (%)	ER (%)	PR (%)	RS	poj.
39	T2N0	IDC, G2	15	90	60	11	211
63	T1N1(1/5) – v sln makrometa	IDC, G2	15	100	100	10	207
44	T1N0	IDC, G2	15	90	70	28	207
63	bilat: T1N0 a T1mult.N1(3/5)	IDC, G1 ILC, G2	5 15	50 95	79 95	3 4	211
27	T2N0	IDC, G3	90	80	80	39	207
39	T1(2 ložiska)N0	IDC, G2	10-30	80	0	38	207
35	T2N0	IDC, G2	15	100	100	19	207
64	T1N1(2/21)	IDC, G1	5	90	90	4	111

IDC: invazivní duktální karcinom, ILC: invazivní lobulární karcinom, G: grade, ER: estrogenový receptor, PR: progesteronový receptor, Ki67: proliferační index, sln: sentinelová uzlina, meta: metastáza, RS: recurrence score, poj: kód pojišťovny

je také to, že vyšetření indikuje klinický onkolog z Komplexního onkologického centra (KOC). Další možností je zaslání nemocné ke konzultaci do KOC, kde následně, po zvážení indikace, může být vyšetření zorganizováno. Vzorek nádorové tkáně (FFPE) je zaslán do centrální laboratoře v Kalifornii, výsledek vyšetření je dodán elektronicky do 14 dnů. Ve VFN bylo prvních osm testů hrazeno firmou Genomic Health v rámci programu časného přístupu s názvem CARE. Do programu mohly být zařazeny i pacientky mimo indikační kritéria podmiňující úhradu z veřejného zdravotního pojištění. Z přehledu těchto nemocných (viz obrázek 4) je patrné, že i nemocné s uzlinovým postižením mohou mít nízkou hodnotu skóre rekurence. U nemocných s nízkým RS (0–17) byla indikována adjuvantní hormonální terapie, u vysoce rizikových nemoc-

ných (RS > 30) adjuvantní CHT, u dvou nemocných bylo riziko relapsu střední (RS = 18–30). S těmito nemocnými byl veden pohovor stran interpretace výsledku a u jedné z nich (RS = 19) byla podána adjuvantní hormonoterapie, u druhé (RS = 28) CHT. V rámci úhrady z veřejného zdravotního pojištění (VZP) bylo testem Oncotype DX vyšetřeno minulý rok 8 pacientek, v jednom případě byla udělena výjimka z indikace. Jednalo se o 66letou nemocnou s nálezem dvou tumorů při mamografickém screeningu. Biopticky se v obou případech jednalo o hormonálně dependentní, HER2 negativní invazivní duktální karcinom (IDC), G2, s Ki67 30%, bez podezření na uzlinové postižení dle ultrazvukového vyšetření pravé axily. Nemocná byla indikována k ablaci s mapováním sentinelové uzliny. V definitivní histologii se potvrdil nádor stejného

histologického typu a gradu, se střední expresí ER v 10% a PR v 10% a Ki67 v 15% nádorových buněk, největší rozměr ložiska byl 14 mm. V axilárním tuku byly zastiženy 4 uzliny, v sentinelové byla nalezena makrometastáza IDC. Jelikož se jednalo o polymorbidní nemocnou, hypertoničku, diabetičku, s recentní anamnézou infarktu myokardu a poklesem ejekční frakce levé komory na 40%, požádali jsme pojišťovnu o výjimku z indikace úhrady Oncotype DX. Adjuvantní CHT byla pro nemocnou riziková, antracykly jsou v obdobných případech kontraindikovány. Riziko relapsu nemoci dle Oncotype DX nabývá při RS = 17 výše 11% a na základě tohoto výsledku nemocná zahájila adjuvantní hormonální terapii s dobrou tolerancí.

Zajímavá je také kazuistika 39leté nemocné, nosičky BRCA-1 mutace, která v květnu minulého roku onemocněla karcinomem pravého prsu. Podstoupila ablaci, histologicky se jednalo i IDC velikosti 22 mm, gradu 2, exprese ER v 90%, PR v 60% nádorových buněk, HER2 skóre 2+, negativní dle fluorescenční in situ hybridizace (FISH), Ki 67 15%. Riziko relapsu nemocné bylo při RS = 11 nízké (8%) i přes přítomnost BRCA mutace a nízký věk nemocné.

Posledním příkladem, který uvedeme je kazuistika 66leté pacientky s nálezem invazivního karcinomu mikropapilární morfologie velikosti 16 mm, střední diferenciace, s lymfangioinvasí a s lobulární in situ složkou. Imunohistochemické vyšetření receptorů vyšlo následovně: ER 100%, PR 15%, HER2 negativní, Ki67 25% (z biopsie 35%). Z axily byly odstraněny dvě sentinelové uzliny, v jedné z nich byly nalezeny izolované nádorové buňky (ITC) maximální velikosti 0,165 mm. I přes přítomnost několika rizikových faktorů (ITC v uzlině, Ki67 > 20%, nízká exprese PR) bylo skóre rizika relapsu v následujících 10 letech nízké (RS = 10) a u nemocné byla zahájena adjuvantní hormonální terapie.

Závěr

Oncotype DX je molekulárně genetické vyšetření, které poskytuje u nemocných s hormonálně dependentním časným karcinomem prsu informaci o riziku relapsu nemoci a napomáhá v rozhodovacím procesu volby adjuvantní chemoterapie. V průběhu roku 2014 jsme na onkologické klinice VFN a 1. LF UK test indikovali více než 20 pacientkám. Vysoké riziko relapsu nemoci dle hodnoty RS měly pouze dvě nemocné. Možnost testování je nemocnými přijímána velmi pozitivně a výsledek vyšetření vnímají jako další z jistot a podpůrných bodů, které jim pomáhají v překonání nepřízně osudu. Do budouc-

na lze doufat v široké využití testu Oncotype DX, protože se jedná o nástroj, který může zvýšit kvalitu života pacientek s karcinomem prsu, usnadnit lékaři rozhodování a v neposlední řadě také ušetřit finanční zdroje související s (ne) podáním chemoterapie.

Literatura

1. Perou CM, Sorlie T, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406(6797): 747–752.
2. Gnant M, Harbeck N, et al. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care (Basel)*. Apr 2011; 6(2): 136–141.
3. Galea MH, Blamey RW, et al. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;22 (3): 207–19, Ravdin PM: A computer program to assist in making breast cancer adjuvant therapy decisions. *Semin Oncol*. 1996; 23: 43–50.
4. Parker JS, Mullins M, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009; 27(8): 1160–1167.
5. Abe O, Abe R, et al. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials, *Lancet* 2005; 365: 1687–1717.
6. IMPAKT Brussels, Belgium on 8–10 May 2014 by Dr Patrick Neven.
7. Cronin M, Sangli C, Liu ML, et al. Analytical Validation of the Oncotype DX Genomic Diagnostic Test for Recurrence Prognosis and Therapeutic Response Prediction in Node-Negative, Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *Clin Chem*. 2007; 53(6): 1084–1091.
8. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004; 351(27): 2817–2826.
9. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene Recurrence Score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC Study. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 1829–1834.
10. Paik S, Shak S, and Tang G. Risk classification of breast cancer patients by the recurrence score assay: comparison to guidelines based on patient age, tumor size, and tumor grade. Abstract presented at Annual San Antonio Breast Cancer Symposium; December 8–11, 2004. San Antonio, TX. Abstract 104.
11. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006; 24(23): 3726–3734.

12. Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010; 11(1): 55–65.

13. Gluz O, Kreipe HH, Christgen M, et al. Prospective comparison of recurrence score and independent central pathology assessment of prognostic tools in early breast cancer (BC): focus on HER2, ER, PR, Ki-67 results from the phase III WSG-Plan B trial. Poster presented at: American Society for Clinical Oncology Annual Meeting; June 2012; Chicago, IL, Abstract 552.

14. <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?cdrid=472066&version=healthprofessional>.

15. <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?cdrid=692475&version=HealthProfessional>.

Článek přijat redakcí: 13. 1. 2015

Článek přijat k publikaci: 26. 2. 2015

MUDr. Zuzana Ušiaková

*Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2
Zuzana.Usiakova@vfn.cz*
