

Novinky v diagnostice prediktivních markerů u kolorektálního karcinomu

Aleš Ryška

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

Kromě dokonale provedeného morfologického vyšetření se stanovením diagnózy, grade, stage a radikality chirurgického zákroku je pro rozhodnutí o nejvhodnější systémové léčbě nádoru nezbytné vyšetření mutačního stavu genů KRAS a NRAS patologem. Jeho úkolem je výběr optimálního vzorku tkáně a odpovídající metody i kontrola všech fází vyšetření (preanalytické a analytické fáze i interpretace výsledku).

Klíčová slova: kolorektální karcinom, prediktivní diagnostika, KRAS, NRAS, BRAF, mutační analýza, kontrola kvality, histopatologie.

News in the diagnosis of predictive markers in colorectal cancer

For an appropriate therapeutic decision about optimal treatment of colorectal carcinoma oncologist needs in addition to complete histopathological data summarizing morphological diagnosis, grade, stage and radicality of surgery also the mutation status of KRAS and NRAS genes. It is a pathologist's task to select the appropriate tissue block, optimal testing method as well as to control all phases of the testing process (pre-analytical and analytical phases and interpretation of results).

Key words: colorectal carcinoma, predictive diagnostics, KRAS, NRAS, BRAF, mutational analysis, quality control, histopathology.

Onkologie 2014; 8(2): 72–74

Karcinom tlustého střeva a konečníku patří mezi nejčastější maligní nádory v rozvinutých zemích a Česká republika se dlouhodobě umísťuje mezi zeměmi na prvních příčkách, pokud jde o incidenci tohoto onemocnění. U kolorektálního karcinomu jsme, tak jako u celé řady původně zdánlivě homogenních kategorií nádorů, předpokládali, že se jedná v zásadě o jedno onemocnění, byť s různými klinickými projevy a morfologickými rysy. Teprve poznatky z oblasti molekulární genetiky ukazují, že se jedná spíše o soubor několika navzájem poměrně dost odlišných skupin nádorů.

Přestože i nadále platí, že kvalitní, erudované a rychlé morfologické vyšetření se stanovením správné diagnózy, grade, stage, invaze cév a adekvátnosti chirurgického rozsahu s vyšetřením resekčních okrajů je stále úhelným kamenem celé histopatologické diagnostiky, nemůže onkolog kvalifikovaně rozhodnout o optimální terapii nádoru bez výsledků dalších doplňkových vyšetření, mj. mutační analýzy.

V léčbě metastatického kolorektálního karcinomu (mCRC) se již po mnoho let uplatňuje léčba zaměřená proti receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). V průběhu času se však ukázalo, že na rozdíl od principiálně velmi podobné léčby HER2+ karcinomu prsu trastuzumabem, kde pacientky vhodné pro tuto léčbu lze identifikovat pomocí imunohistochemického průkazu receptoru v nádorových buňkách, u mCRC efekt antiEGFR léčby s expresí receptoru prakticky nijak nekoreluje. Důležitá je totiž nejen pouhá přítomnost receptoru na membráně ná-

dorové buňky, ale rovněž zachovaná funkčnost signální dráhy, kterou lék blokuje.

Klíčovou roli v této dráze hrají geny rodiny RAS, jejichž mutace způsobí trvalou aktivaci signálního proteinu a permanentní stimulaci signální dráhy bez ohledu na to, zda je monoklonální protilátkou blokována dimerizace receptoru či nikoli. U těchto nádorů tak nemá blokování EGFR žádný smysl. Do nedávné doby byl za jediný relevantní gen vhodný pro predikci odpovědi na antiEGFR léčbu považován gen KRAS, jehož mutace se u mCRC vyskytuje nejčastěji. Teprve recentně retrospektivně provedená analýza mutací pacientů léčených ve studiích PEAK a PRIME (panitumumabem) a FIRE 3 (cetuximabem) prokázala, že kromě dříve rutinně diagnostikovaných mutací v exonu 2 genu KRAS mají obdobný negativní prediktivní význam také méně časté mutace vyskytující se v exonech 3 a 4 genu KRAS a v exonech 2, 3 a 4 genu NRAS.

Kolorektální karcinomy vznikají vždy jen jednou ze jmenovaných molekulárních drah, a tak jsou případy, u kterých by byla přítomna současně mutace RAS i BRAF, velice vzácné. Zatímco u nádorů, které vykazují mutaci RAS, neprokážeme současnou mutaci BRAF, u karcinomů RAS wild-type je vhodné po mutaci BRAF pátrat, čímž lze identifikovat další podskupinu případů, kde je pravděpodobnost efektu antiEGFR terapie malá. Na rozdíl od genů RAS je však mutace BRAF spíše faktorem prognostickým než čistě prediktivním. Většina nádorů s mutací BRAF se chová velmi agresivně a prognóza pacientů je nepříznivá bez ohledu na typ použité léčby.

Od zhruba poloviny roku 2013 je standardem vyšetření pro zvažování antiEGFR terapie právě detekce mutací jak v genu KRAS, tak v genu NRAS. Do budoucna lze ale očekávat, že s prosazováním konceptu terapie šité na míru se bude postupně zavádět vyšetřování dalších markerů tak, aby byla co nejpřesněji selektována populace pacientů vhodných pro tuto biologickou léčbu. Je však třeba provést analýzu výsledků celé řady prospektivních studií, aby se ukázalo, které markery mají skutečně schopnost pomoci při selekci pacientů pro jednotlivé typy léčby a zda všechny typy mutací v daném genu mají stejný prediktivní význam.

Druhým zásadním úkolem je zvyšování kvality testování tak, aby byla zajištěna jeho maximální reprodukovatelnost. Toho lze dosáhnout zejména programy kontroly kvality, kdy některé z nich již probíhají i na celoevropské úrovni a pro žádné pracoviště z ČR by nemělo být problémem se do této kontroly kvality zařadit. Klíčovou roli v diagnostice mutací genů RAS hraje dostatek kvalitní, tj. předchozím zpracováním materiálu nepoškozené, nádorové DNA. Úkolem patologa je tedy nejen kontrola všech fází histologického vyšetření (stěžejní roli zde hraje zejména tzv. preanalytická fáze, kdy dochází k fixaci vzorku formalínem a kdy nedostatečné množství fixační tekutiny, případně její kyselý pH může veškerá další vyšetření velmi zkomplikovat či dokonce zcela znemožnit), ale rovněž výběr optimálního vzorku tkáně, který je dále předán k molekulárnímu vyšetření. Zásadní není jen dostatečné absolutní množství nádorových buněk, ale také jejich relativní zastoupení.

V případě, že podíl nádorových elementů je nižší než 15–20%, je např. nevhodné použití klasického (Sangerova) sekvenování, jehož citlivost se pohybuje právě kolem 20%. Z tohoto důvodu je naprosto zásadní, aby celý proces diagnostiky byl v rukách patologa, který je zodpovědný za zajištění komplexního vyšetření a začlenění všech dílčích výsledků (tedy i výsledku mutační analýzy) do finálního histopatologického reportu.

Třetí otázkou je časování vyšetření. Nemá smysl provádět poměrně nákladné (byť v porovnání s náklady na terapii stále velmi levné) vyšetření mutací RAS a/nebo BRAF plošně u všech kolorektálních karcinomů. Nádory zachycené v časném stadiu lze řešit chirurgicky a systémová léčba u nich není nasazena. Molekulárně genetické vyšetření by tak bylo provedeno de facto zbytečně (byť toto neplatí absolutně, protože již dnes víme, že mutace přinejmenším některých

genů mají vedle významu prediktivního také význam prognostický). Se zvyšujícím se stage nádoru však stoupá také riziko pozdějšího metastatického rozsevu, a tím i nutnosti systémové léčby, včetně léčby biologické. U těchto nádorů je pak pro volbu typu biologické léčby (typicky antiEGFR versus antiVEGF) nezbytná znalost mutačního stavu nádorové DNA. Bylo by proto s výhodou, kdyby byla tato informace díky časně provedenému vyšetření k dispozici již v okamžiku, kdy bude metastatický rozsev diagnostikován. Jako rozumný kompromis se jeví vyšetřování RAS (a optimálně i BRAF) u nádorů stage III, tedy tam, kde je při histopatologickém vyšetření resekátu nádoru identifikováno postižení uzlin.

Z tohoto důvodu byla přijata dohoda mezi Českou onkologickou společností a Společností českých patologů, že u nádorů stage III bude vyšetření prováděno automaticky. U nádorů,

které následně přes veškerou předchozí léčbu zprogredují bude již v době diagnózy metastáz informace o stavu genu k dispozici.

S nově se objevujícími typy cílené biologické léčby lze očekávat další rozvoj testování specifických markerů predikujících její efekt a umožňujících výběr optimálních pacientů pro ten který typ terapie. Základní podmínkou a kritickým místem bude v budoucnosti dostupnost nádorové tkáně v dostatečném množství a kvalitě.

Článek přijat redakcí: 7. 3. 2014

Článek přijat k publikaci: 9. 4. 2014

prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D.

*Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN
Fakultní nemocnice, 500 05 Hradec králové
ryskaale@fnhk.cz*
