

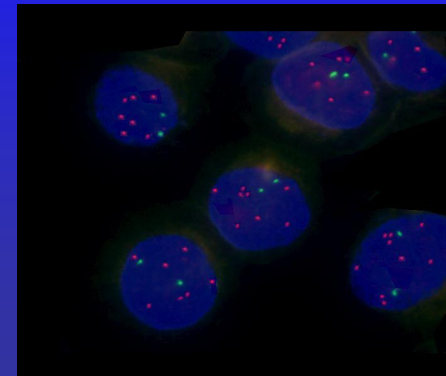
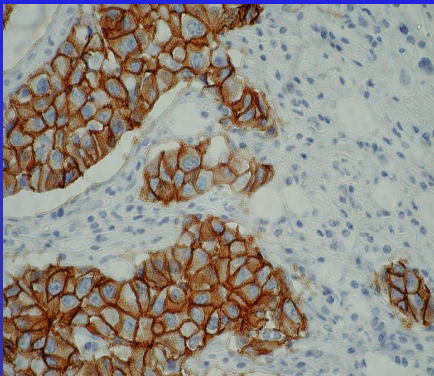


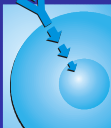
LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

Cílená léčba v onkologii – predikce terapeutického úspěchu a selhání

Doc. MUDr. Marián Hajdúch, PhD.

Klinická farmakologie



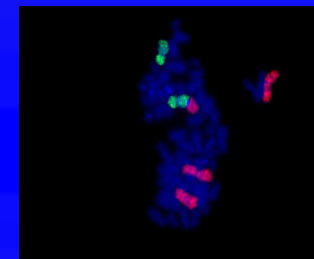


Determinanty léčebného výsledku v onkologii

**ANATOMICKÝ ROZSAH
NEMOCI**



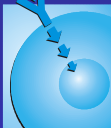
**BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI
NÁDORU**



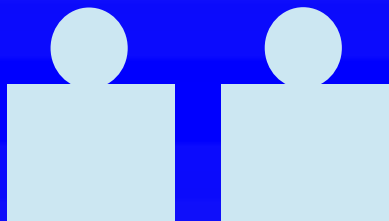
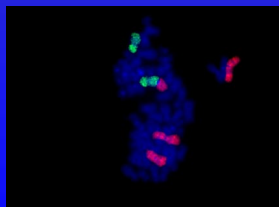
LÉČEBNÝ VÝSLEDEK

LÉČBA

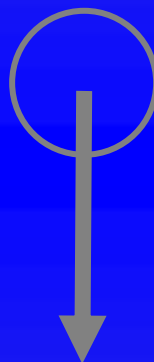
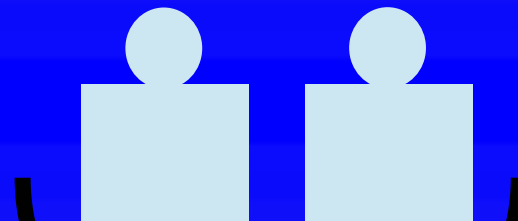
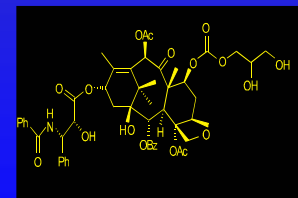




MOLEKULÁRNÍ PREDIKTORY- FAKTORY

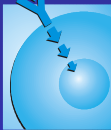


NOVÁ LÉČIVA



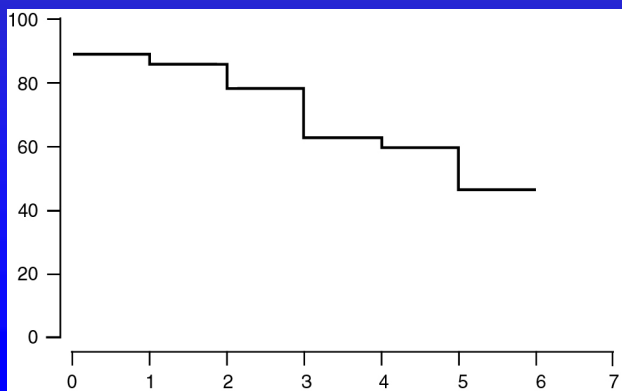
LEPŠÍ LÉČEBNÉ VÝSLEDKY

*Hledání nových cílů pro protinádorová léčiva, účelnější
použití stávajících léků
(„nové triky se starými léky“)*

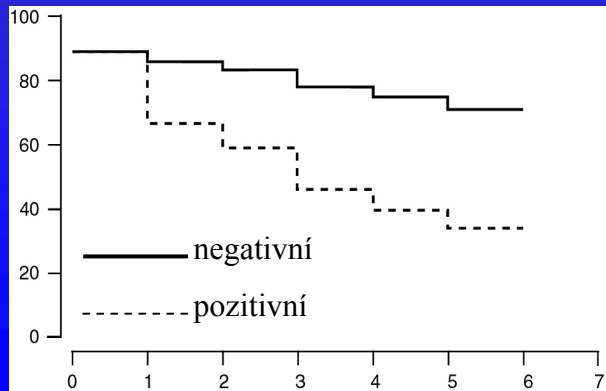


Typy faktorů/markerů používaných v klinické onkologii

VŠICHNI PACIENTI

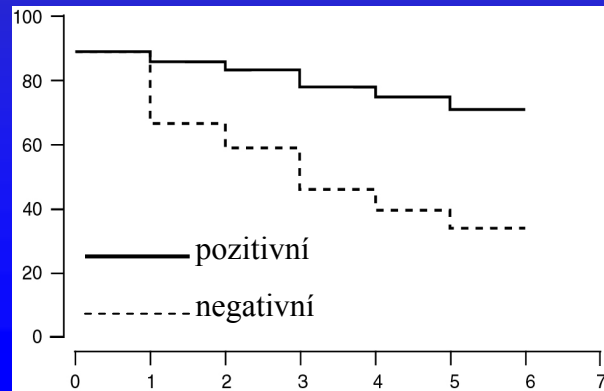


PROGNOSTICKÝ FAKTOR



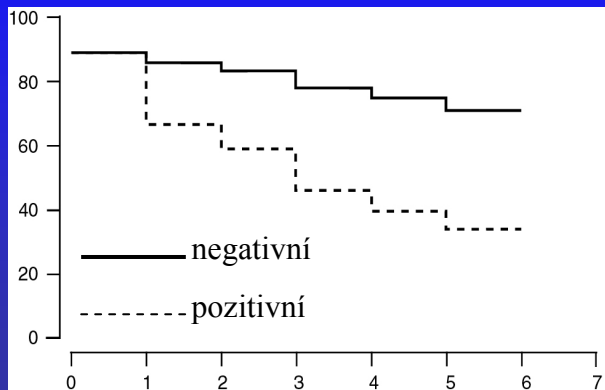
např. mutace v genu TP53

PREDIKTIVNÍ FAKTOR



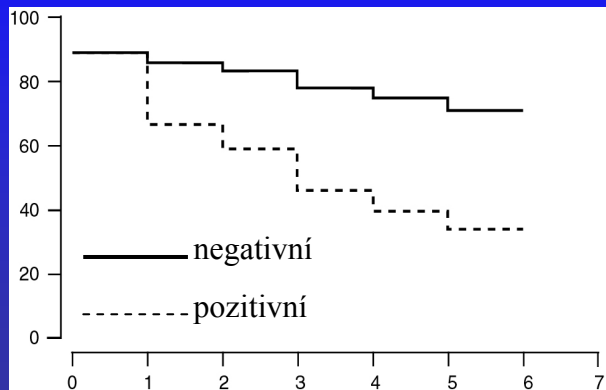
*např. účinnost trastuzumabu u HER-2
pozitivního/negativního karcinomu prsu*

RIZIKOVÝ FAKTOR



např. riziko relapsu u N+ patientek

MONITOROVACÍ FAKTOR



např. nádorové markery, cirkulující nádorové buňky



Tailoring therapy – individualizace léčby

Představuje využití **biologických charakteristik** nádoru i jeho hostitele k sestavení **cílené terapie** pro individuálního pacienta.

Eliminuje zbytečné použití léků, které nepřinesou léčebný efekt a jsou finanční zátěží pro zdravotní systém.

Omezuje nežádoucí účinky léčby.



Tailoring therapy – individualizace léčby

Hormonální receptory - první „vlaštovka“ v léčbě šité na míru u karcinomu prsu (estrogenové a progesteronové receptory) → hormonální terapie

Her-2/neu → trastuzumab, lapatinib, ...

EGFR1 → cetuximab, panitumab, erlotinib, ...

??? → nové léky



Predikce odpovědi na terapii novými protinádorovými léčivy

- **Anti-HER1/EGFR1 směrovaná léčiva**
(gefitinib, erlotinib, cetuximab, panitumab, lapatinib)

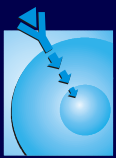
→ *Molekulární i klinické prediktory*

- **Anti-HER2 směrovaná léčiva**
(trastuzumab, lapatinib)

→ *Molekulární i (klinické) prediktory*

Inhibitory angiogeneze
(bevacizumab, sunitinib)

→ *Jednoznačné prediktory zatím nejsou identifikovány*

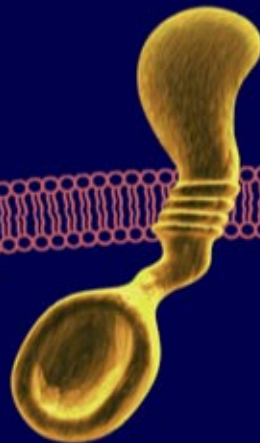


HER rodina receptorů

Ligandy:
EGF
TGF- α
Amphiregulin
Betacellulin
HB-EGF
Epiregulin

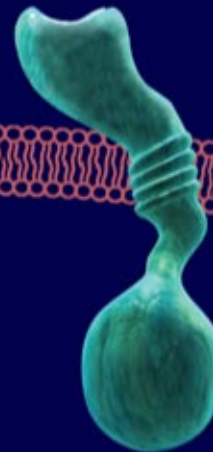


HER1/EGFR
erbB1



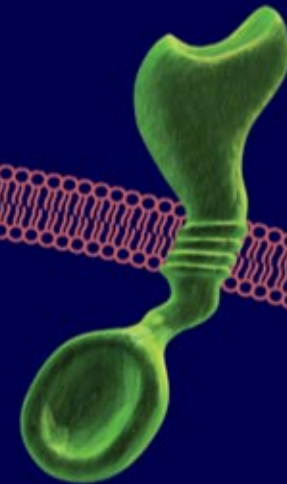
HER2
erbB2
neu

Heregulin



HER3
erbB3

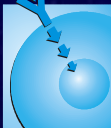
NRG2
NRG3
Heregulin
Betacellulin



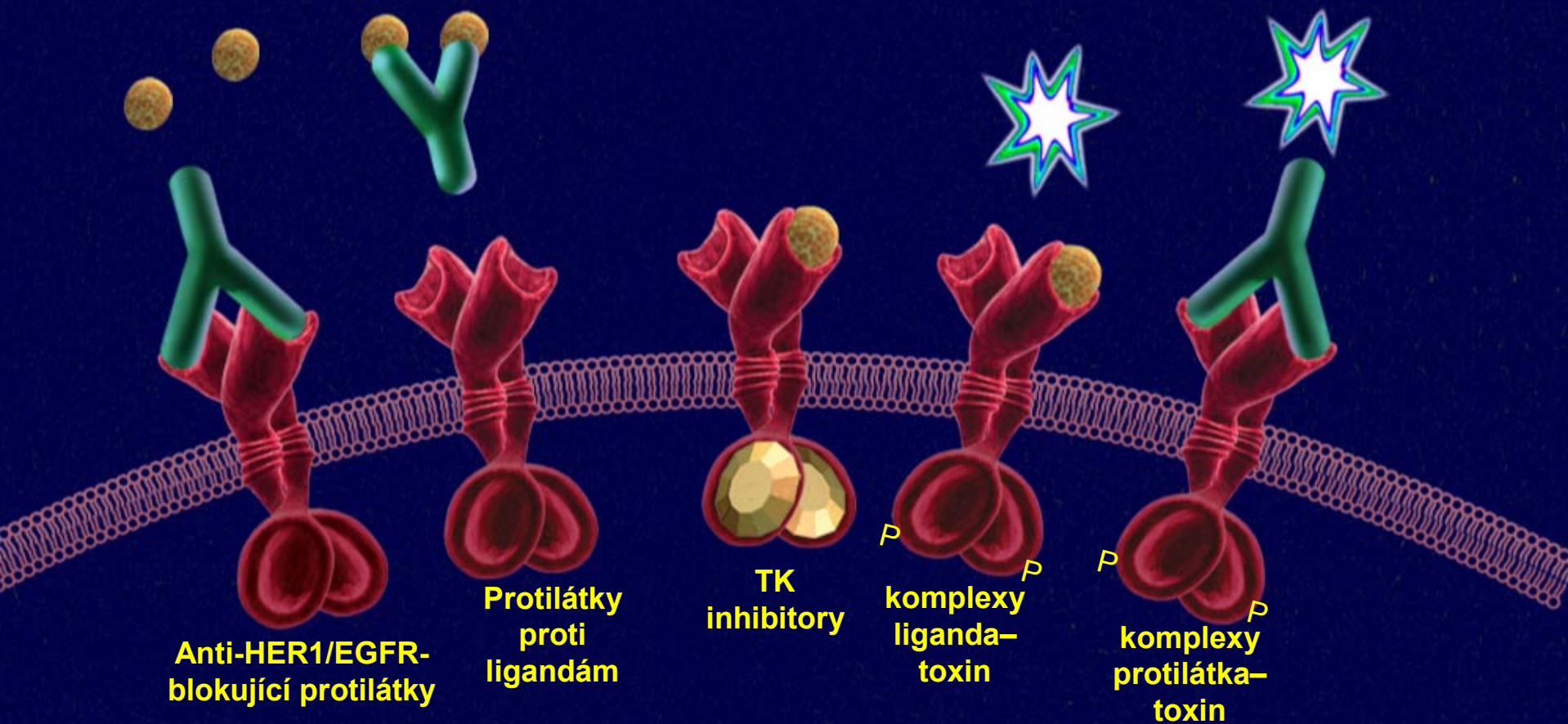
HER4
erbB4

Doména
bohatá
na cystein

Tyrosin-
kinázová
doména



Možnosti terapeutického zásahu HER1/EGFR



Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. *N Engl J Med.* 2001;344:783-792; Mendelsohn J, Baselga J. *Oncogene.* 2000;19:6550-6565; Noonberg SB, Benz CC. *Drugs.* 2000;59:753-767; Raymond E, Faivre S, Armann JP. *Drugs.* 2000;60(Suppl 1):15-23; Arteaga C. *J Clin Oncol.* 2001;19:32s-40s; Pedersen MW, Meltom M, Damstrup L, et al. *Ann Oncol.* 2001;12:745-760.



HER/EGFR inhibitory

- tyrozin kinázové inhibitory

⇒ **Inhibice signální transdukce**

- **gefitinib** cílí EGFR1 (IC₅₀ 33nM), NSCLC,
registrační status: schválený v některých zemích
indikace/klinické zkoušky: H&N, NSCLC, karcinom prsu a další
- **erlotinib** cílí EGFR1 (IC₅₀ 2 nM), NSCLC,
registrační status: **schválený**
indikace/klinické zkoušky: H&N, karcinom prsu,
pankreatu, glioblastom
- **lapatinib** cílí EGFR1 (IC₅₀ 10) & HER2 (IC₅₀ 98 nM), karcinom prsu
registrační status: neschválený, fáze III
indikace/klinické zkoušky : fáze II/III u karcinomu prsu,
a dalších solidních nádorů
- **další**



HER/EGFR inhibitory

- Monoklonální protilátky

⇒ **Inhibice signální transdukce a další mechanismy**

⇒ **Imunitní odpověď???**

- **trastuzumab** cílí HER2, HER2 pozitivní karcinom prsu
registrační status: **schválený pro paliativní i adjuvantní léčbu**
indikace/klinické zkoušky: ca prsu, další tumory málo efektivní,
s výjimkou dětského osteosarkomu?
- **cetuximab** cílí EGFR1, kolorektální rakovina
registrační status: **schválený pro paliativní léčbu**
indikace/klinické zkoušky : **H&N – nový standard léčby?**,
karcinom prsu, pankreatu, NSCLC
- **panitumab** cílí EGFR1, kolorektální rakovina
registrační status: zatím neregistrovaný
indikace/klinické zkoušky: Fáze II/III u ca kolorekta a
u dalších solidních nádorů
- **další**

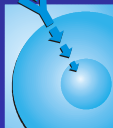


Predikce odpovědi na terapii novými protinádorovými léčivy

- **Anti-HER2 směrovaná léčiva**
(trastuzumab, lapatinib)

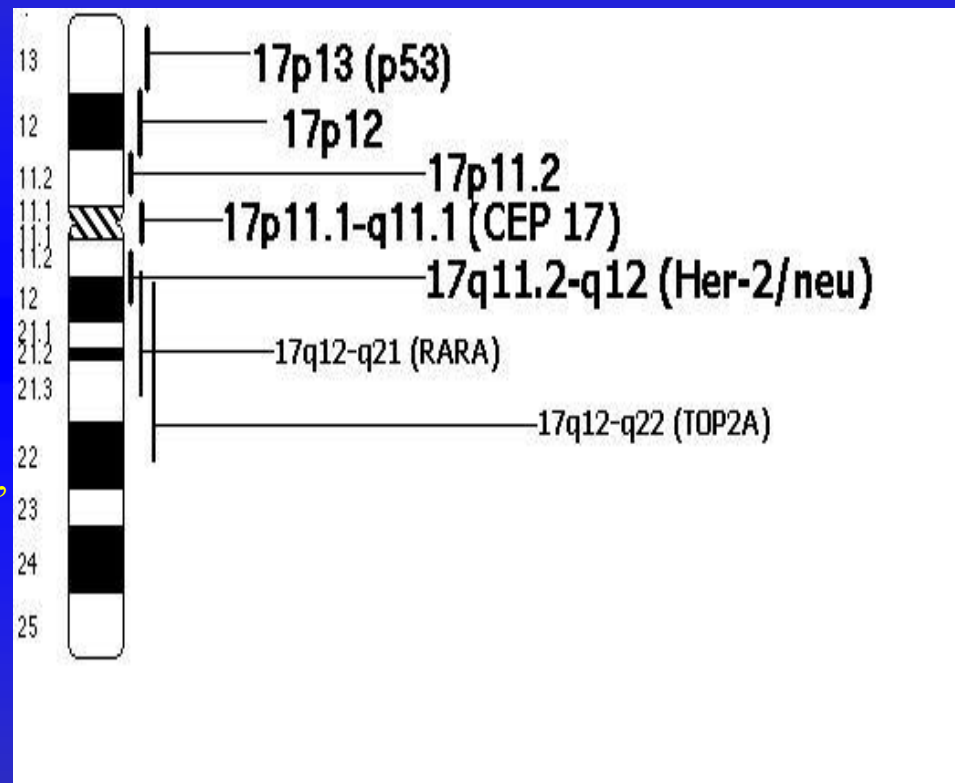


Molekulární prediktory

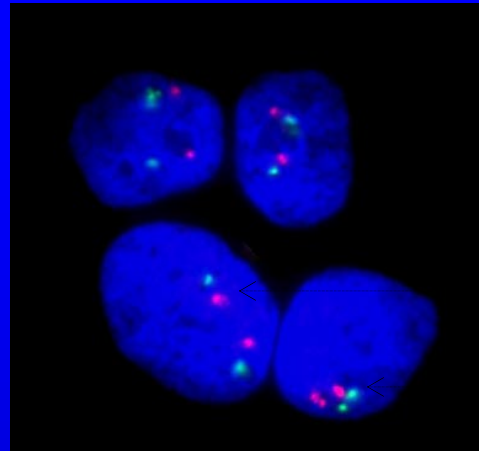
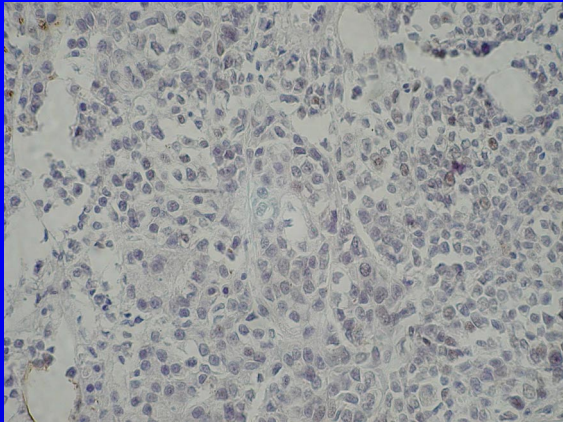


Lokalizace HER-2 a dalších důležitých genů na chromozómu 17

- **TP53** - onkosupresor, často deletovaný nebo mutovaný u nádorů
- **Her-2/neu** – onkogen, koreceptor pro EGF signalizaci, molekulární cíl pro trastuzumab
- **BRCA1**- DNA opravní (repair) gen, familiární rakovina prsu
- **RARA** – gen pro α receptor kyseliny retinové, specifické translokace u APL
- **TOP2A** – gen pro topoizomerázu II α , jeho koamplifikace s Her-2 determinuje preferenční účinnost antracyklinů



IHC x FISH

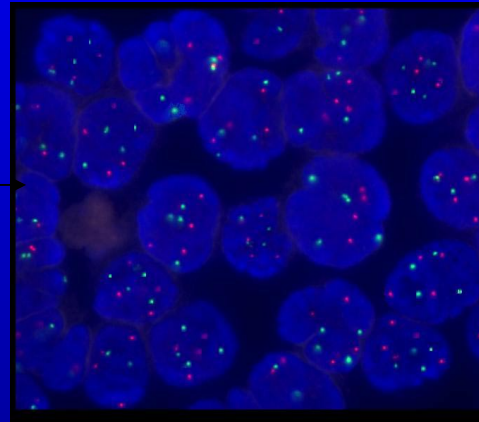
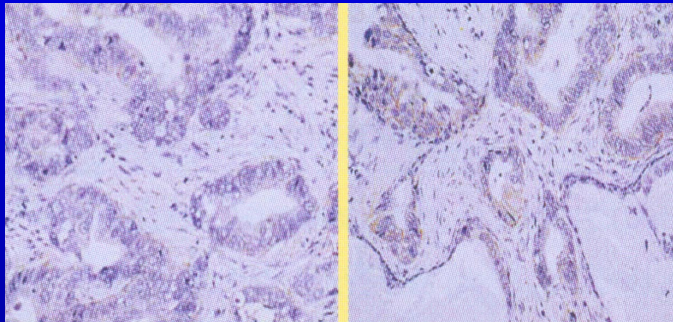


IHC:0

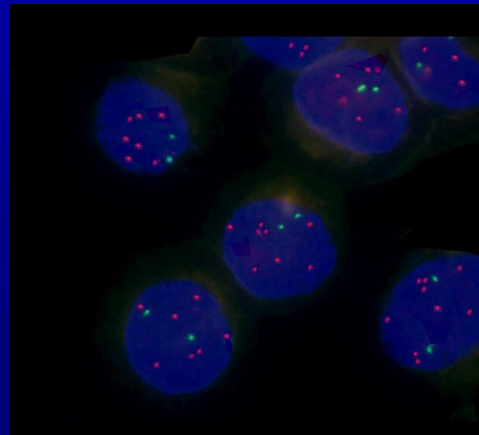
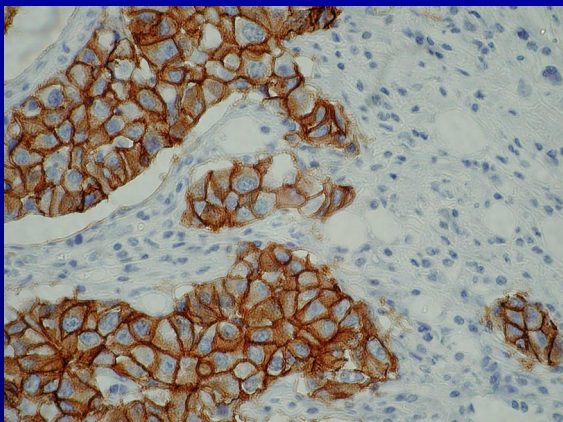
FISH: normální

Her-2/neu

CEP 17



IHC: 1+ až 2+



IHC: 3+

FISH: amplifikace

**IHC fotografie byly
získány ve spolupráci s
Ústavem patologie LF UP**



Her-2/neu (c-erbB-2): amplifikované případy:

- senzitivita na antracykliny (koamplifikace TOP2A)
- aplikace trastuzumabu v paliaci i adjuvanci u karcinomu prsu

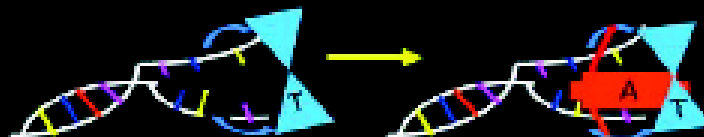
TOP2A: Topoizomeráza = cíl pro některé typy cytostatik:
inhibitory topoizomeráz (antracykliny)

Topoizomeráza II α

- Štěpení DNA řetězce
- Kovalentní vazba na DNA
- Ligace DNA řetězce

Antracykliny

- Kovalentní vazba na DNA a TOP2A
- DNA interkalátor
- Podstoupení chemické redukce - volné radikály





LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

BCIRG 006

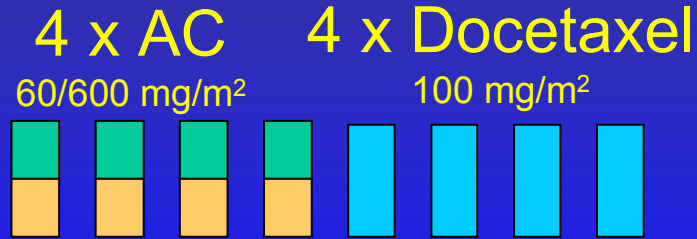
Her2+
(Centralní FISH)

N+
nebo vysoké
riziko N-

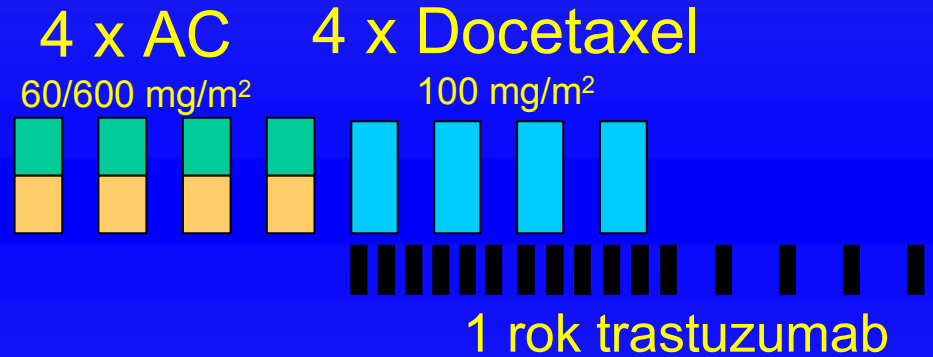
N=3,222

Medián sledování
23 měsíců

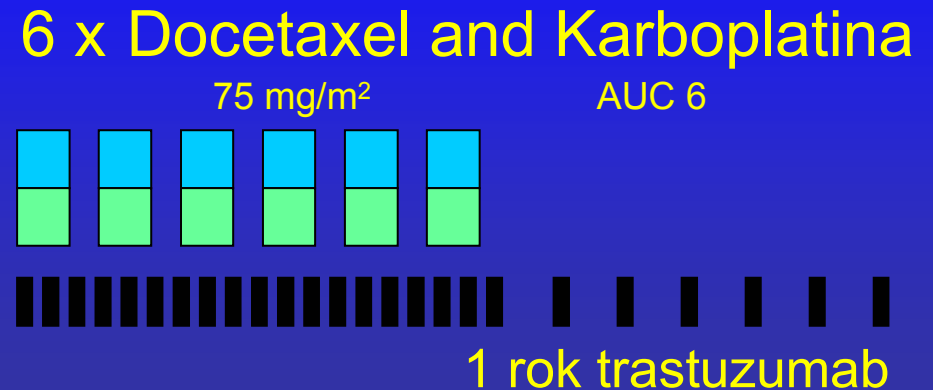
AC→T

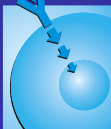


AC→TH



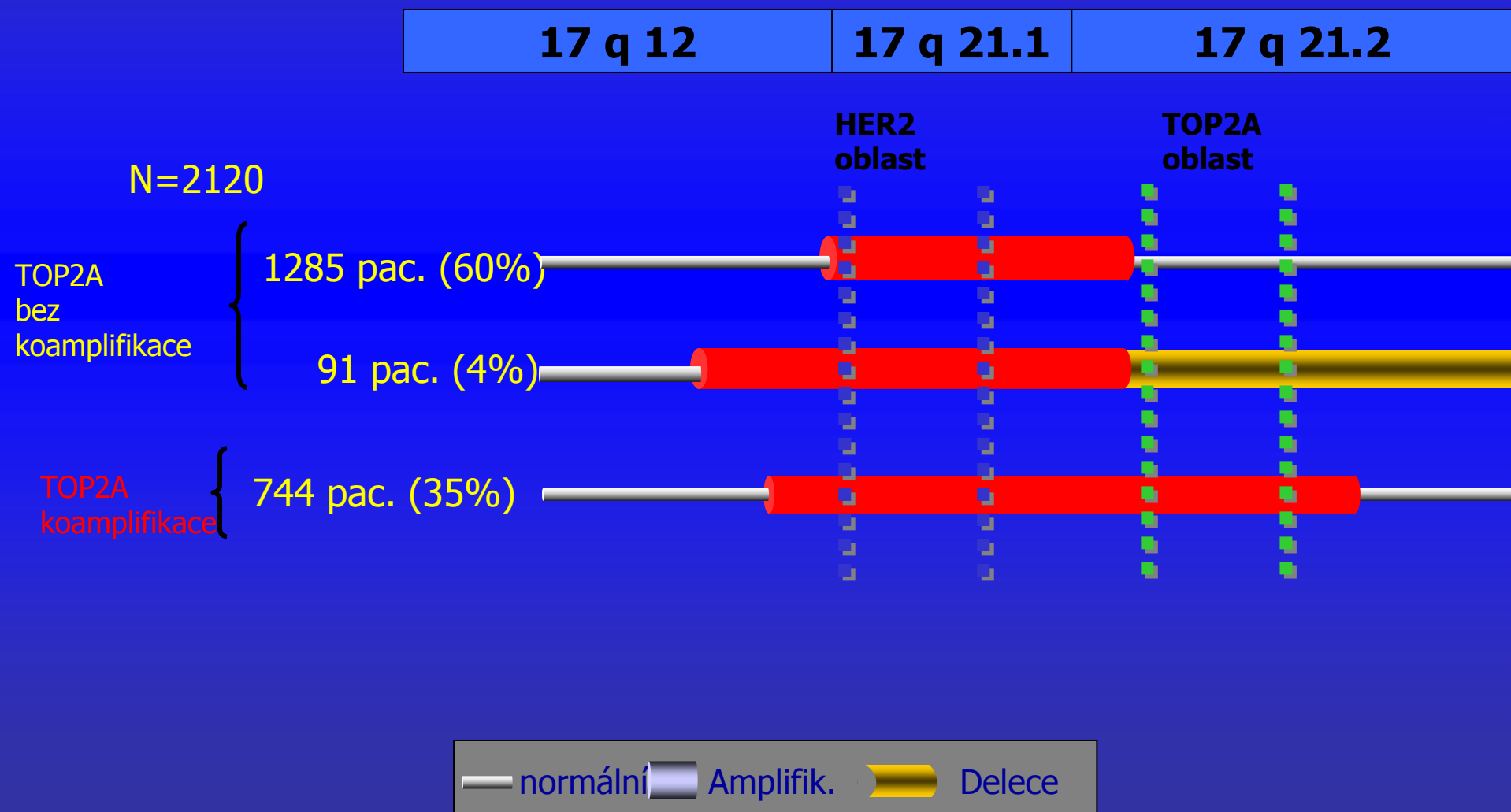
TCH

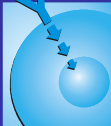




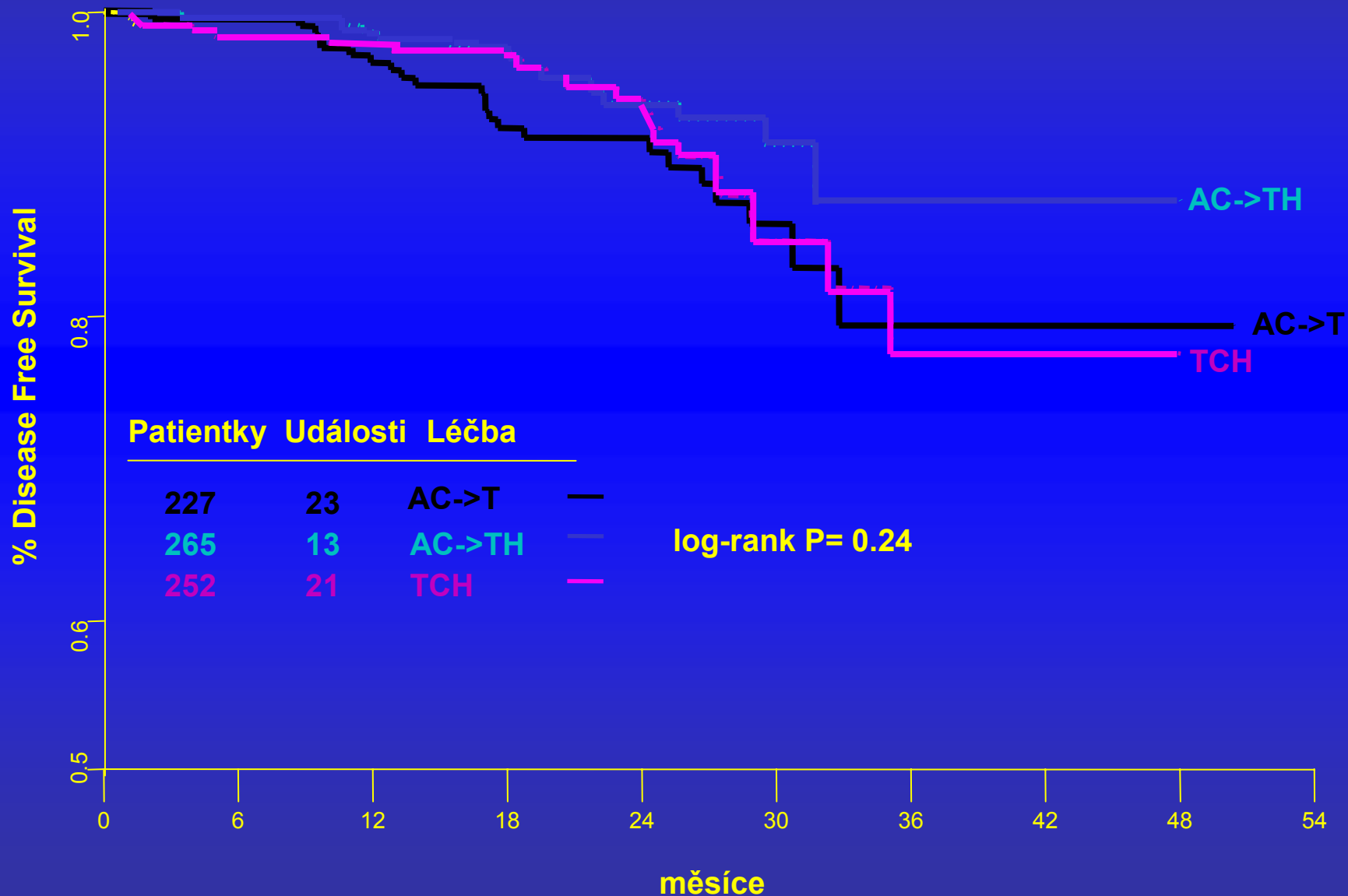
HER2 a TOPO II v BCIRG 006

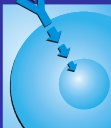
2120 z 3222 pacientek analyzováno FISH



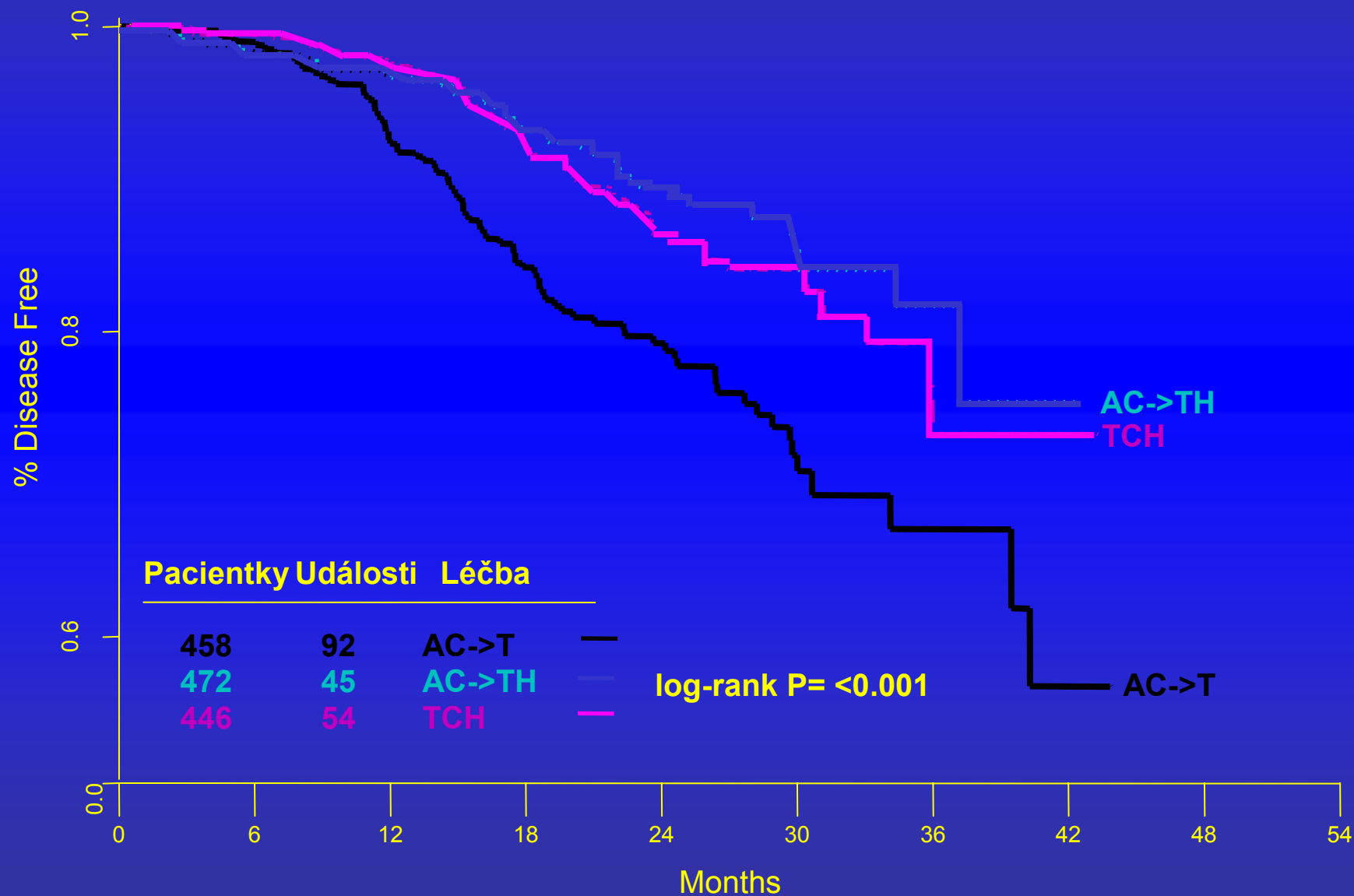


DFS u pacientek s koamplifikací TOP2A





DFS u pacientek bez koamplifikace TOP2A





Predikce odpovědi na terapii novými protinádorovými léčivy

- **Anti-HER1/EGFR1 směrovaná léčiva**
(gefitinib, erlotinib, cetuximab, panitumab, lapatinib)



Molekulární i klinické prediktory



Klinické a molekulární prediktory účinnosti EGFR1 TK inhibitorů

Klinické:

1. nekuřáci (<5 krabiček za život, nebo nekuřák po >25 let?)
2. ženy
3. asiáté
4. adenocarcinomy včetně BAL
5. pacienti s kožní toxicitou

Molekulární:

- EGFR1-TK mutace v exonech 19-21
- EGFR1 amplifikace
- EGFR1 overexprese?
- K-ras mutace – negativní prediktor



LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

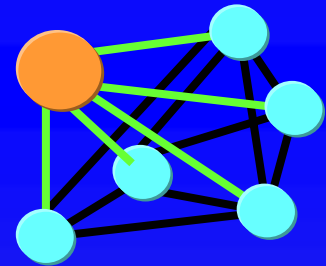
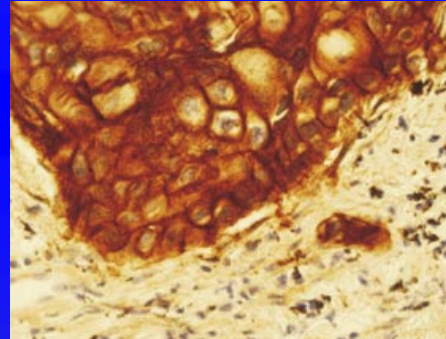
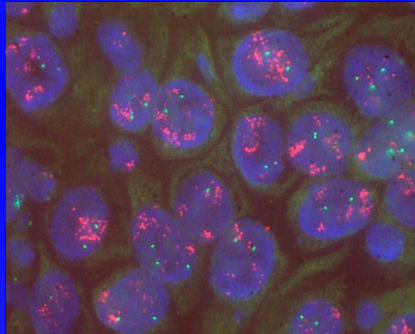
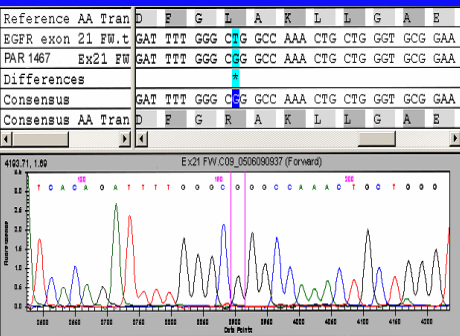
Možnosti konstitutivní aktivace genu (EGFR1)

Aktivační mutace

Amplifikace

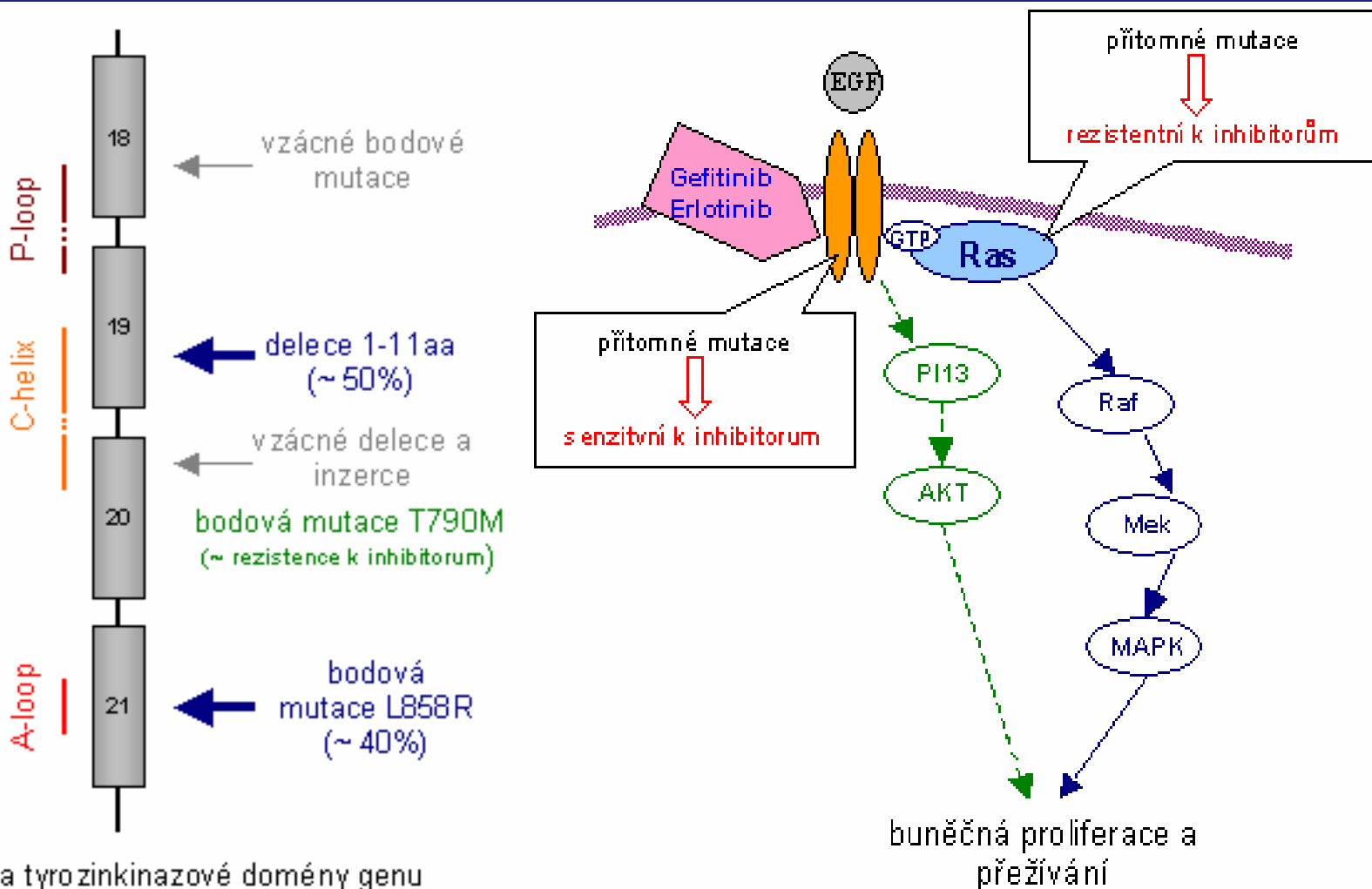
Overexprese

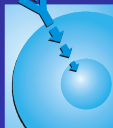
Regulační interakce



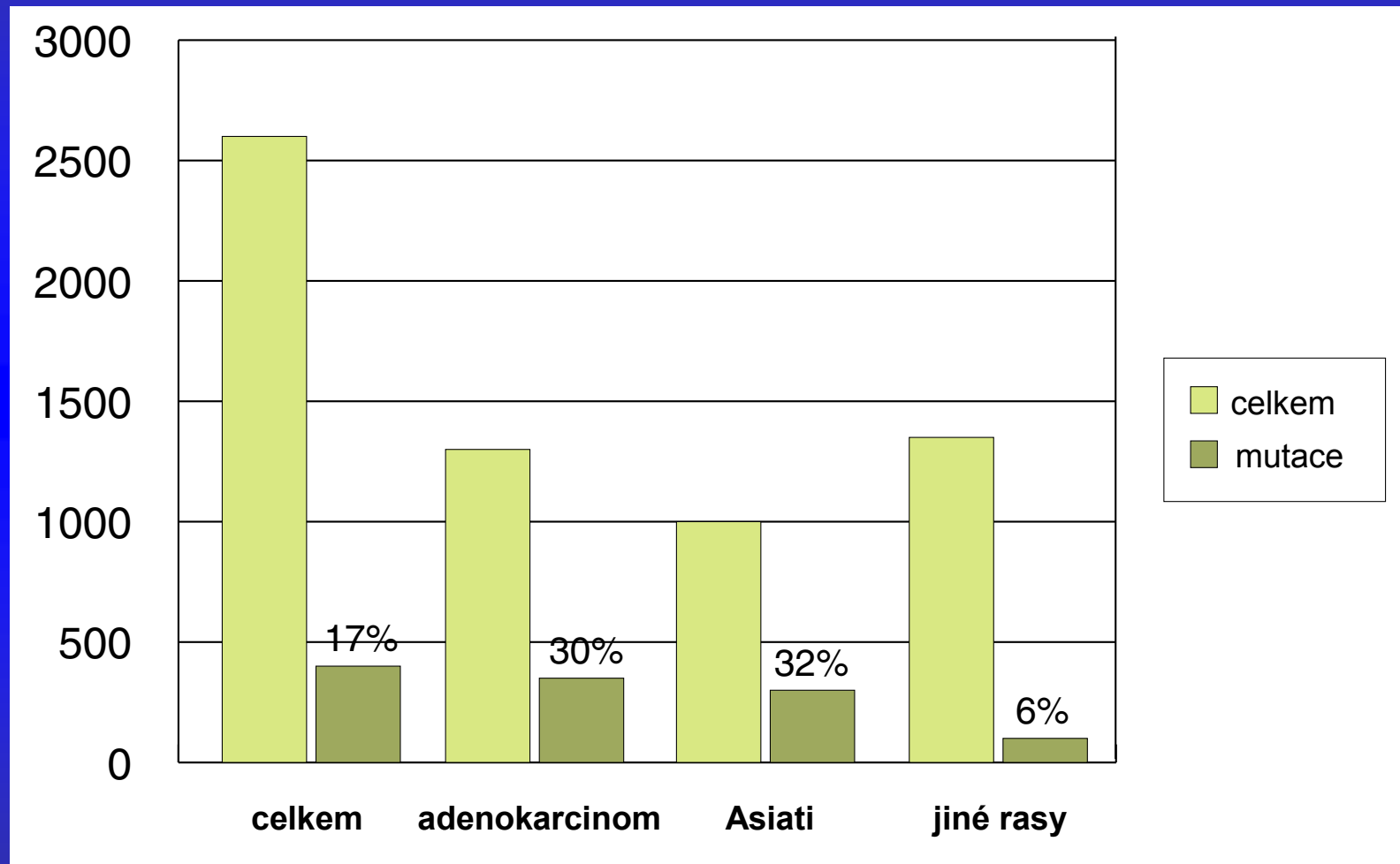


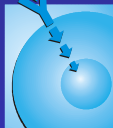
Mutace genů EGFR1 a K-ras u pacientů s NSCLC léčených TK inhibitory



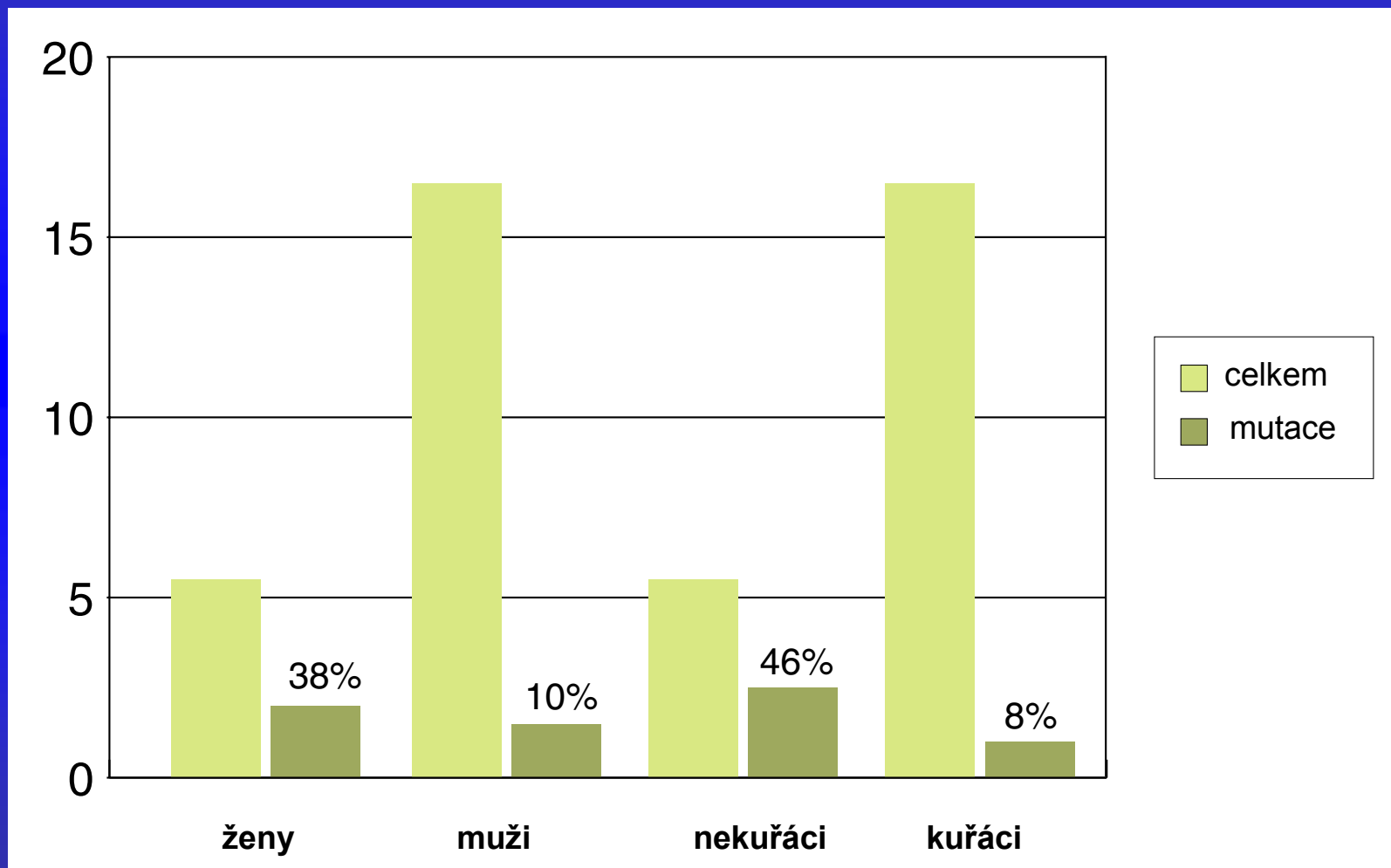


10 studií, 2568 resekovaných NSCLC





8 studií, 2295 resekovaných NSCLC





Kožní toxicita po aplikaci EGFR1 inhibitorů

	<i>kožní vyrážka (%)</i>	<i>suchá kůže (%)</i>	<i>pruritus (%)</i>	<i>erytém (%)</i>	<i>akné (%)</i>
Erlotinib fáze II					
150 mg/kg, NSCLC	67	35	35	18	NA
150 mg/kg, HNSCC	79	29	20	NA	NA
Cetuximab fáze II					
400/250 mg/m ² , CRC	86	NA	NA	NA	NA

paronychia

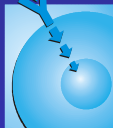


kožní vyrážka



akné





Výskyt kožní toxicity je spojený s vyšší účinností EGFR1 inhibitorů - klinický prediktor účinnosti léčby

	Irinotekan + Cetuximab		Cetuximab samotný	
	Odpověď (%)	Přežití (měsíce)	Odpověď (%)	Přežití (měsíce)
Žádná	16.7	5.8	7.4	5.3
Jakákoliv	24.7	8.9	11.9	7.5
Grade 2 a víc	30.9	10.8	17.4	9.4



LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

Příklad kožní toxicity - cetuximabem vyvolaná akneiformní erupce

Před lokální léčbou



Po lokální léčbě

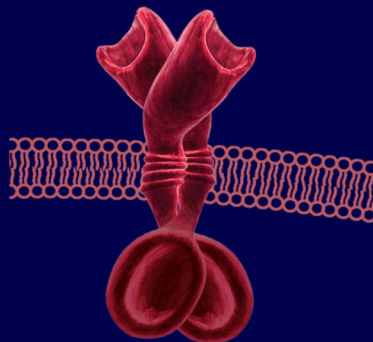




HER1/EGFR dimerizace

HER1 homodimer

HER1-HER1

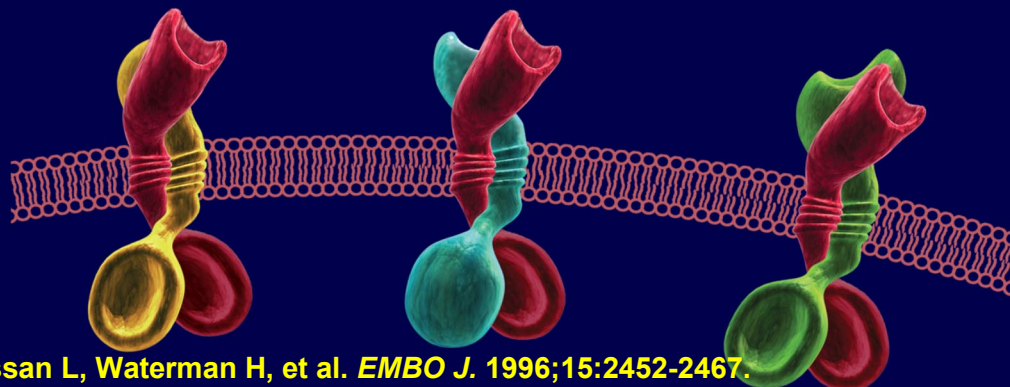


Tři heterodimery obsahující HER1

HER1-HER2

HER1-HER3

HER1-HER4

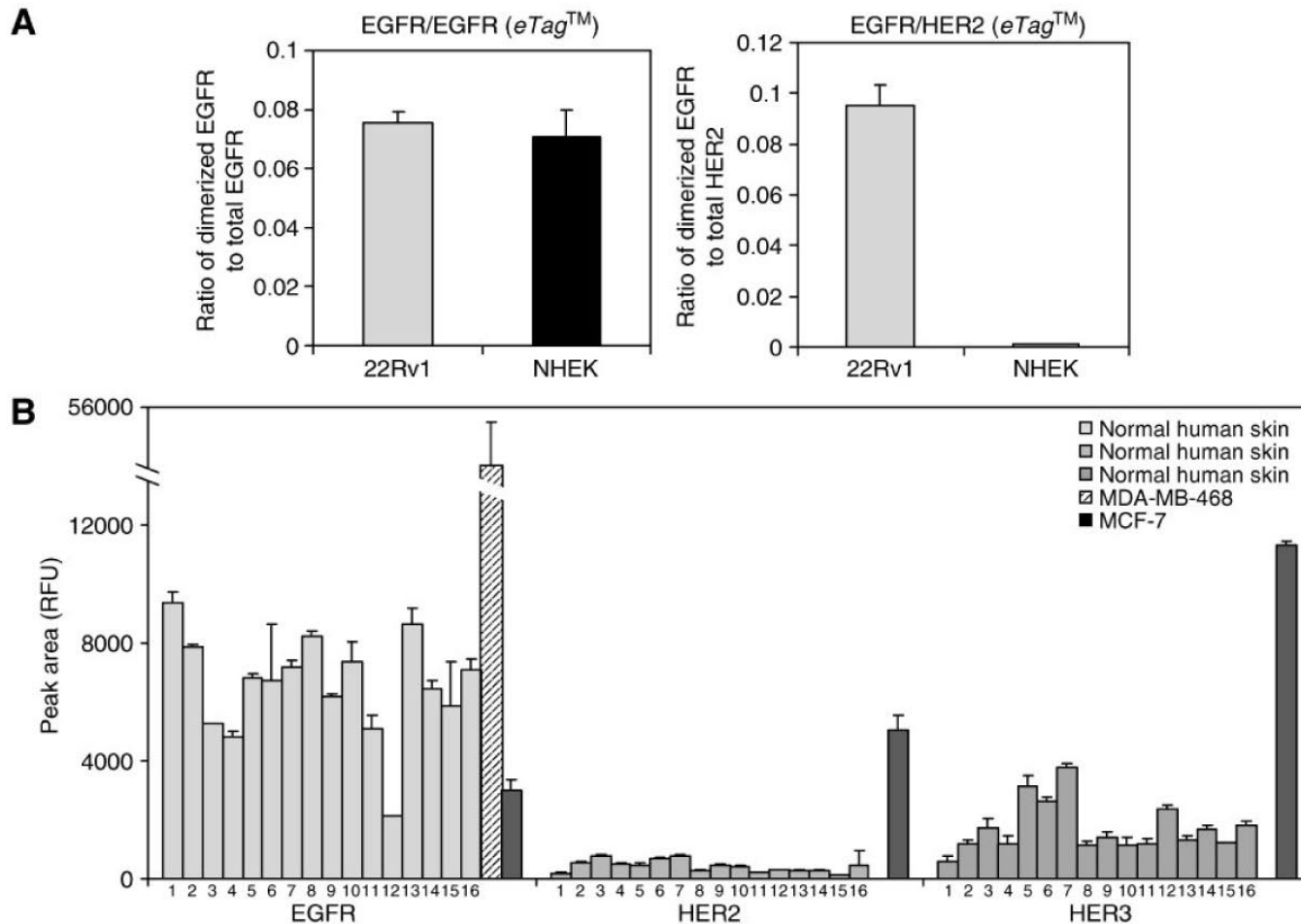


Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, et al. *EMBO J.* 1996;15:2452-2467.

Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:4995-5000.



Kožní toxicita EGFR1 inhibitorů je daná přítomností HER1-HER1 homodimerů v keratinocytech



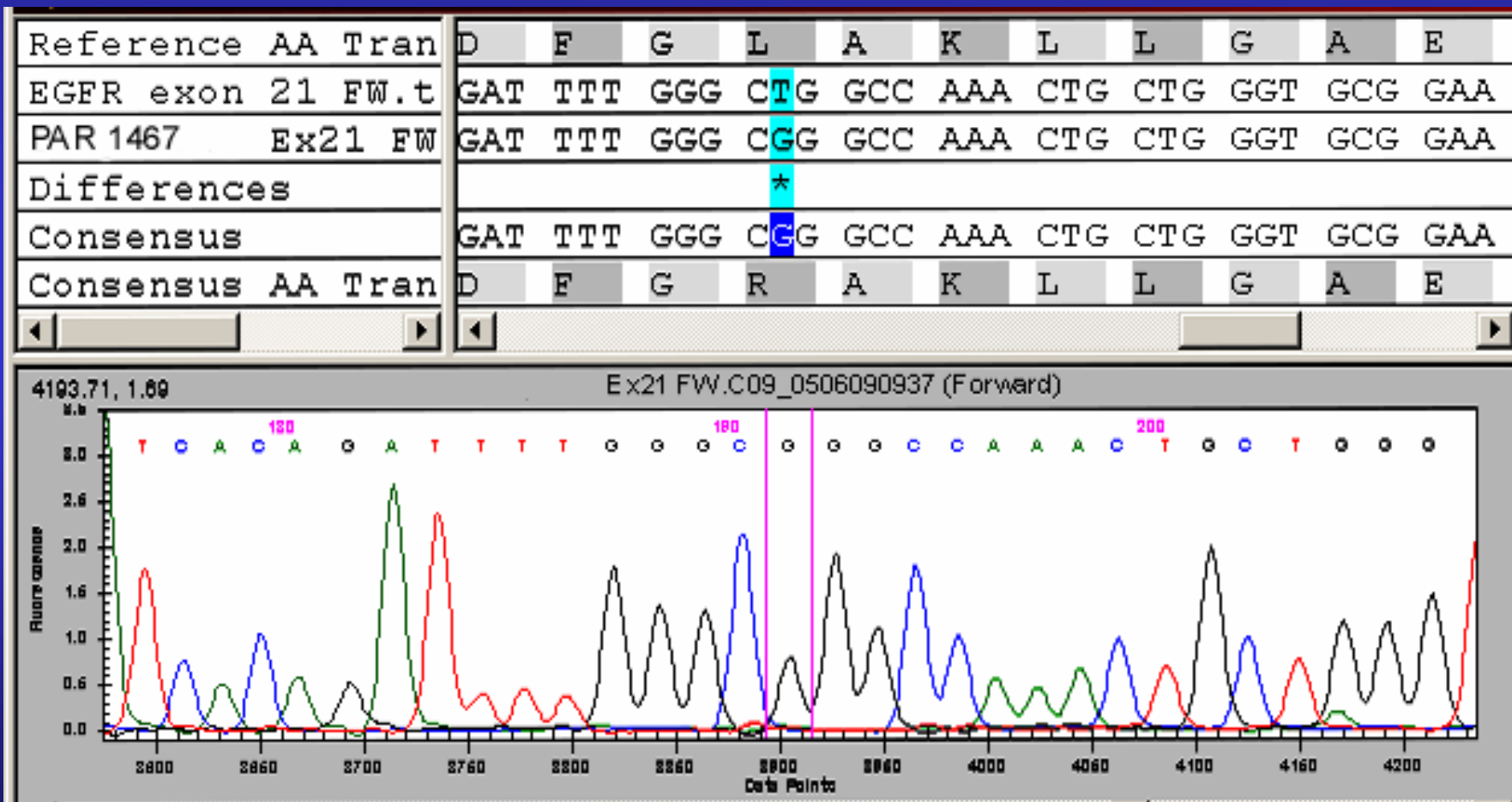


LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

Mutace EGFR1 genu (L858R) u NSCLC pacienta s PR na gefitinib.

Přibližně 2000 LCM nádorových buněk

Exon 21

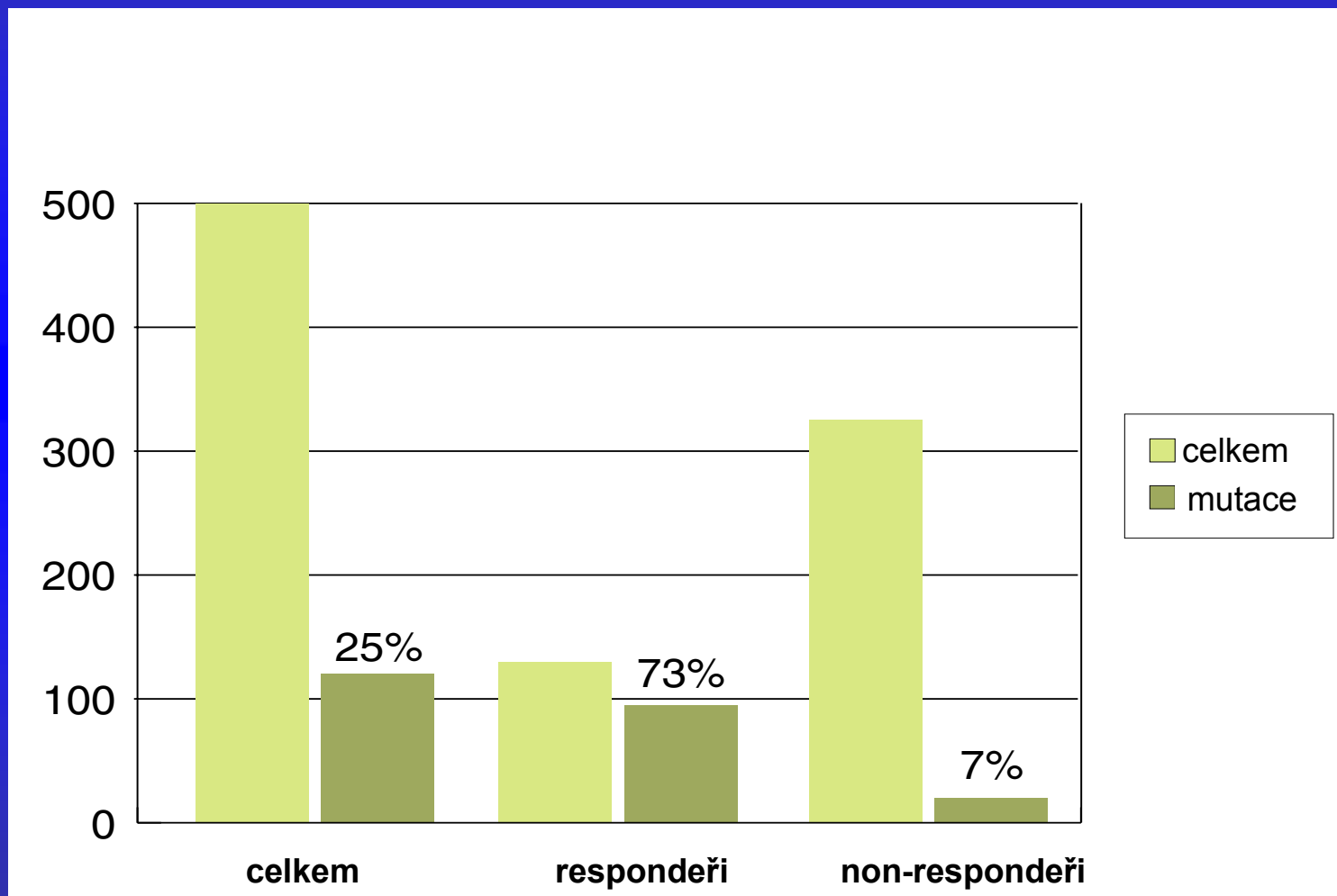


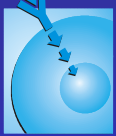
Limit PRO LCM: <60% nádorových buněk v genu!!!



LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

EGFR mutace a odpověď na EGFR TK inhibitory 13 studií, 499 pacientů





Odpověď na EGFR1 TK inhibitory a K-ras mutace

Autor	EGFR inhibitory	K-ras mutanti/ respondeři	K-ras mutanti/ non-respondeři
Pao et al. 2005	Gefitinib nebo Erlotinib	0 / 21	0 / 38
Mitsudomi et. al. 2005	Gefitinib	0 / 2	5 / 18
Giaccone et. al. 2005	Erlotinib	0 / 4	8 / 22
Celkem	Gefitinib nebo Erlotinib	0 / 29	22 / 78



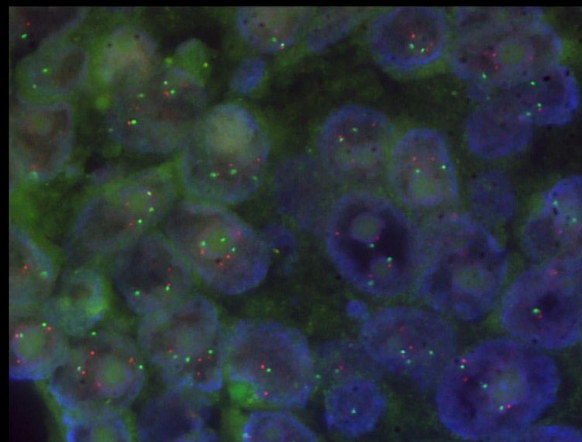
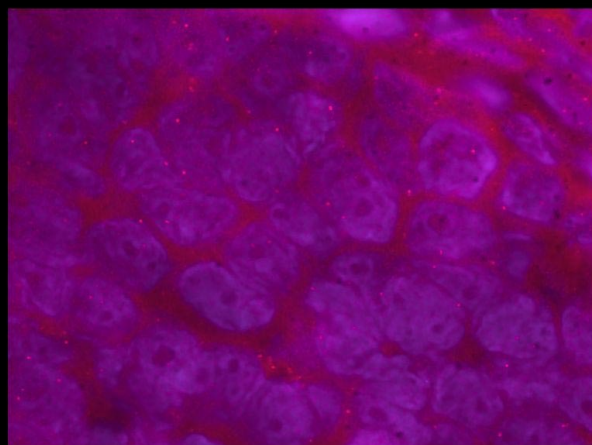
LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

EGFR 1 (HER1)/2 u pacientů s NSCLC léčených gefitinibem

EGFR1 (HER1)

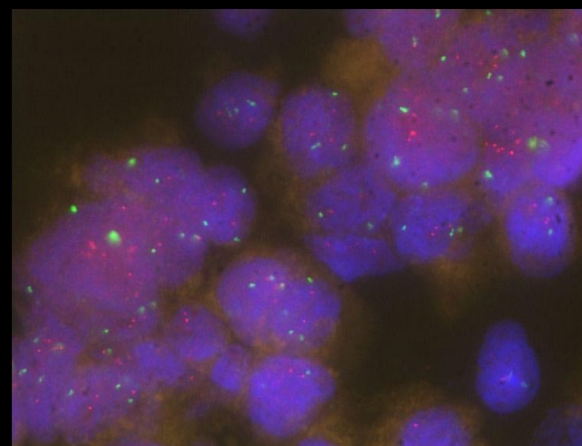
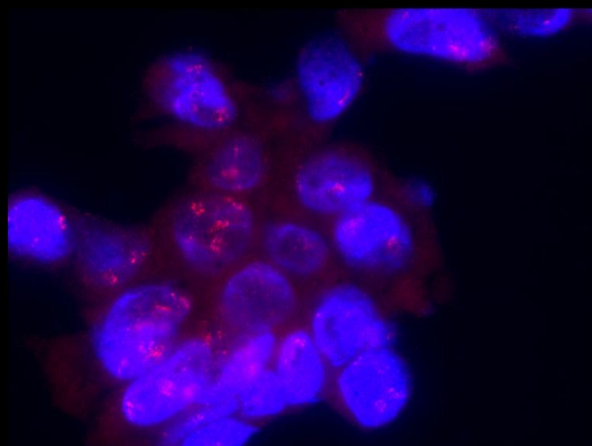
HER2/neu

diploidní
stav



progrese

amplifikace



parciální
odpověď

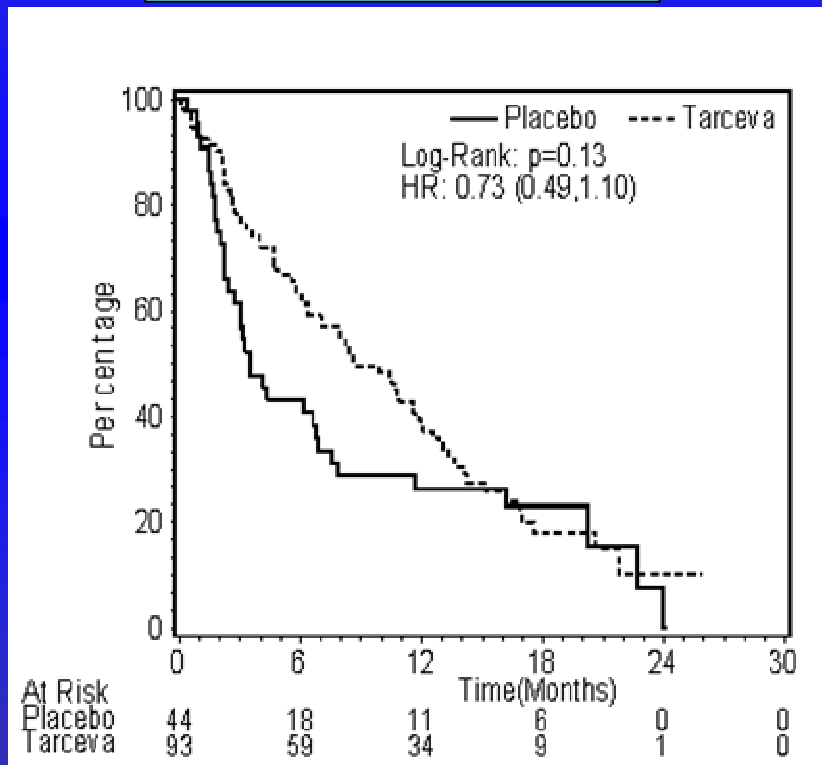


Význam exprese, amplifikace a mutace EGFR1 genu pro odpověď pacienta s NSCLC na gefitinib

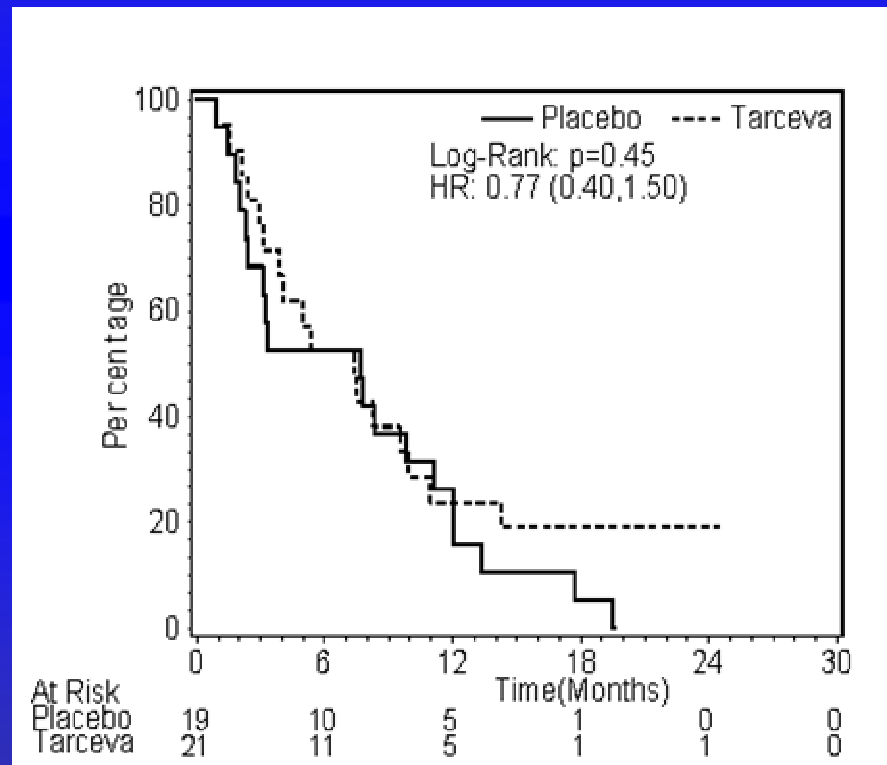
Kombinace	n	PR (N/%)	PR+SD (N/%)	TTP (měsíce)	OS (měsíce)
FISH+/IHC+	22	10/45.5	17/77.3	9.1	20.8
FISH+/IHC-	11	2/18.2	5/45.5	2.9	8.3
FISH-/IHC+	36	2/5.6	15/41.7	3.2	10.9
FISH-/IHC-	29	0	3/10.3	2.3	4.5
<i>P (jakýkoliv + versus -/-)</i>		0.009	<0.001	<0.001	0.015
FISH+/Mut+	9	7/77.7	7/77.7	15.6	20.8
FISH+/Mut-	18	4/22.2	10/55.5	5.3	9.3
FISH-/Mut+	6	1/16.6	2/33.3	2.1	3.2
FISH-/Mut-	56	0	14/25.0	2.4	7.3
<i>P (jakýkoliv + versus -/-)</i>		<0.001	0.002	0.001	0.1
IHC+/Mut+	11	7/63.6	8/72.7	13.5	20.8
IHC+/Mut-	37	3/8.1	17/45.9	3.6	11.4
IHC-/Mut+	4	1/25.0	1/25.0	2.1	2.9
IHC-/Mut-	33	1/3.0	7/21.2	2.3	5.3
<i>P (jakýkoliv + versus -/-)</i>		0.02	0.008	0.003	0.02

Přežití NSCLC pacientů léčených erlotinibem podle EGFR1 genotypu ve studii – BR.21

MUTACE -



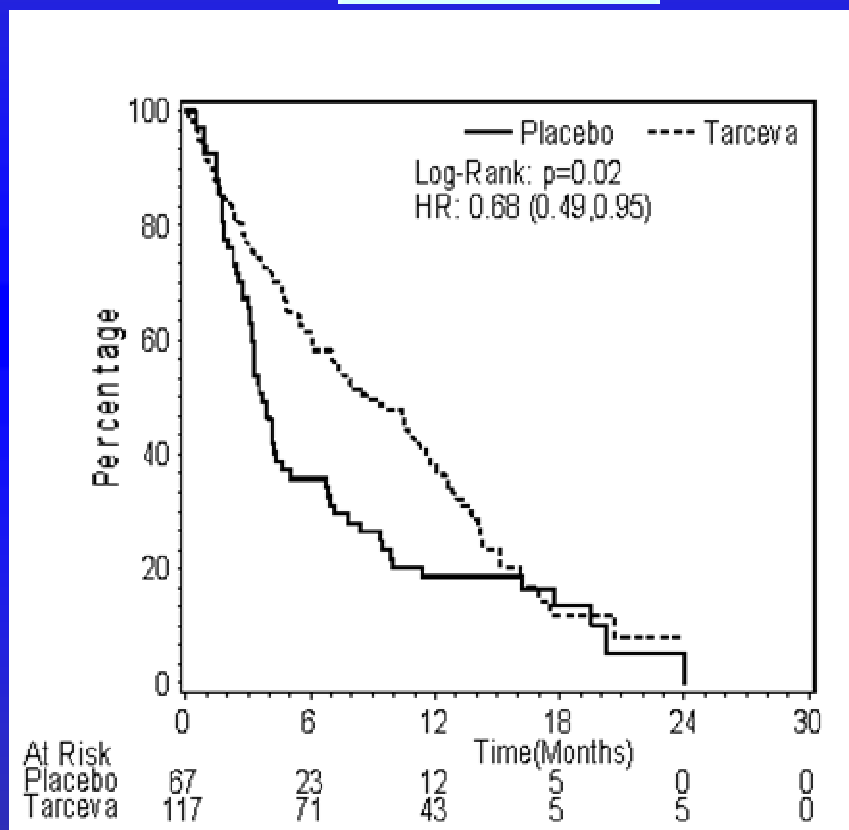
MUTACE +



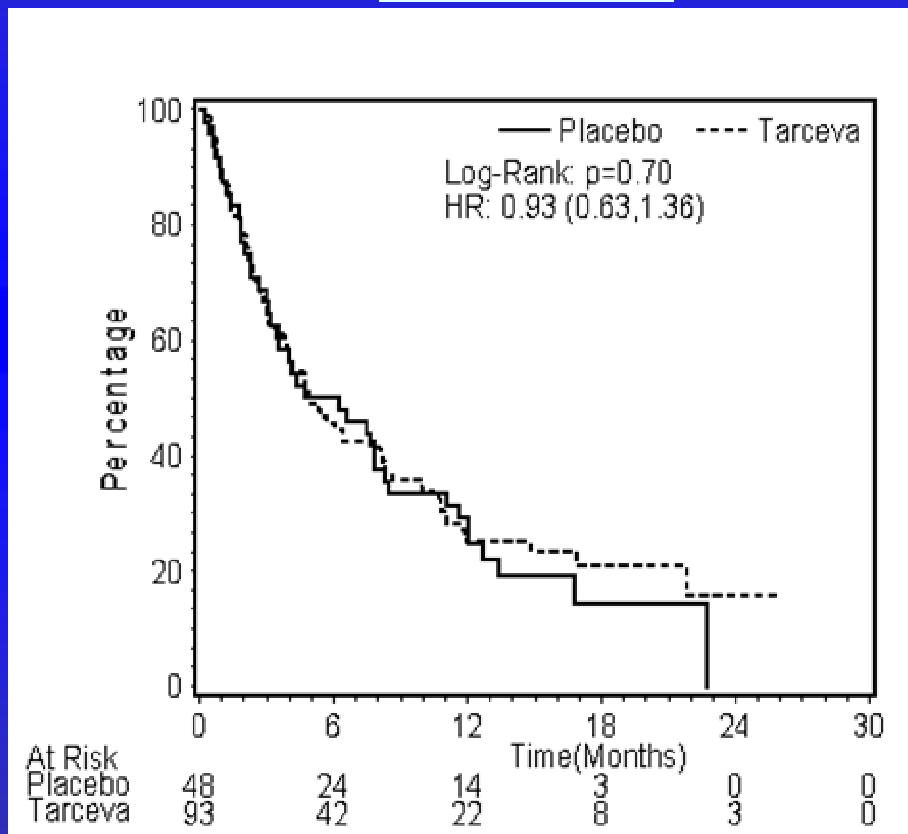
P hodnota pro interakce = 0,97

Přežití NSCLC pacientů léčených erlotinibem podle exprese EGFR1 ve studii – BR.21

EGFR +



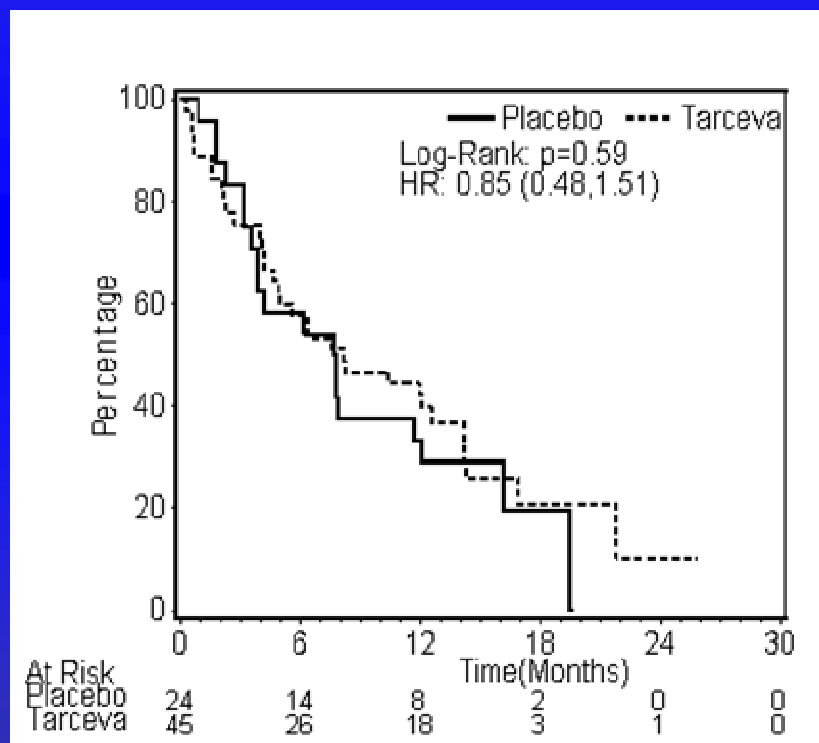
EGFR -



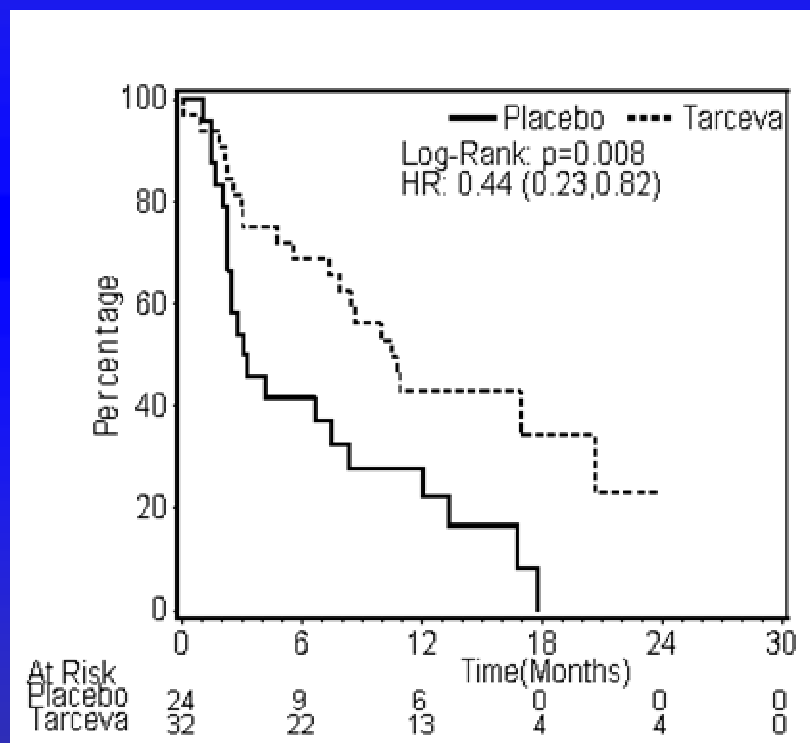
P hodnota pro interakce = 0,25

Přežití pacientů léčených erlotinibem podle počtu kopií EGFR1 genu ve studii – BR.21

AMPLIFIKACE -



AMPLIFIKACE +



P hodnota pro interakce = 0,10



Predikce účinnosti na cetuximab

Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study.

Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, Marrapese G, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Gambacorta M, Siena S, Bardelli A.

Lancet Oncol. 2005 May;6(5):279-86

8/9 pacientů s objektivní odpovědí na cetuximab vykázalo amplifikaci EGFR1 genu nebo vysokou polyzomii chromozomu 7. Naproti tomu žádný z 21 pacientů bez klinické odpovědi na terapii tuto genetickou anomálii v nádoru neměl ($P < 0.0001$).

KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer.

Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, Cote JF, Tomasic G, Penna C, Ducreux M, Rougier P, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P.

Cancer Res. 2006 Apr 15;66(8):3992-5.

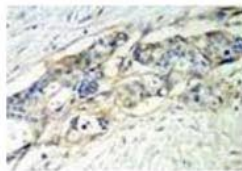
KRAS mutace byla nalezena ve 13 nádorech (43%) a byla spojena s rezistencí na cetuximab (KRAS mutace u 0% z 11 responderů versus 68.4% z 19 non-responderů; $P = 0.0003$). OS je lepší u pacientů bez KRAS mutace ($P = 0.016$; medián 16.3 versus 6.9 měsíců). Studie rovněž potvrdila význam EGFR1 amplifikace.



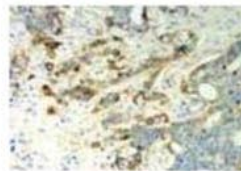
EGFR1 exprese je nezávislá na účinnosti cetuximabu u pacientů s CRC

Podskupina/výsledky ze studie BOND (n=32a)	Cetuximab/irinotekan		Cetuximab	
	n/N	(%)	n/N	(%)
% <i>EGFR</i> - exp primující buňky				
≤10%	25/109	23	4/56	7
>10–≤20%	4/20	20	5/16	31
>20–≤35%	6/27	22	0/7	0
>35%	15/62	24	3/32	9
<i>EGFR</i> -s intenzita exprese				
slabá	11/53	21	1/21	5
střední	22/89	25	7/55	13
silná	17/75	23	4/34	12

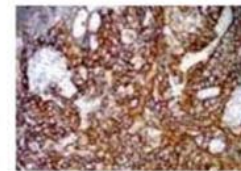
Slabá



Střední



Silná

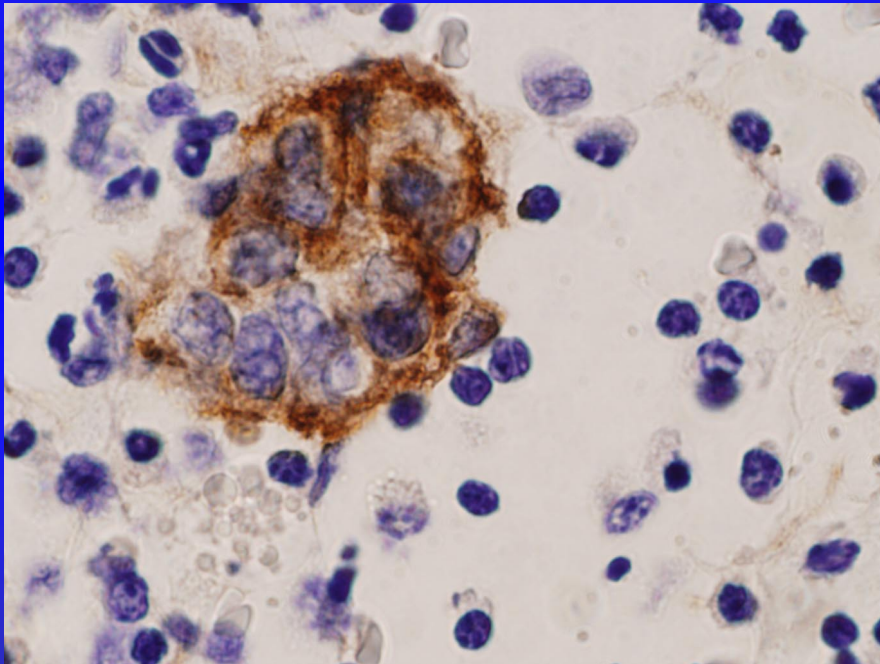




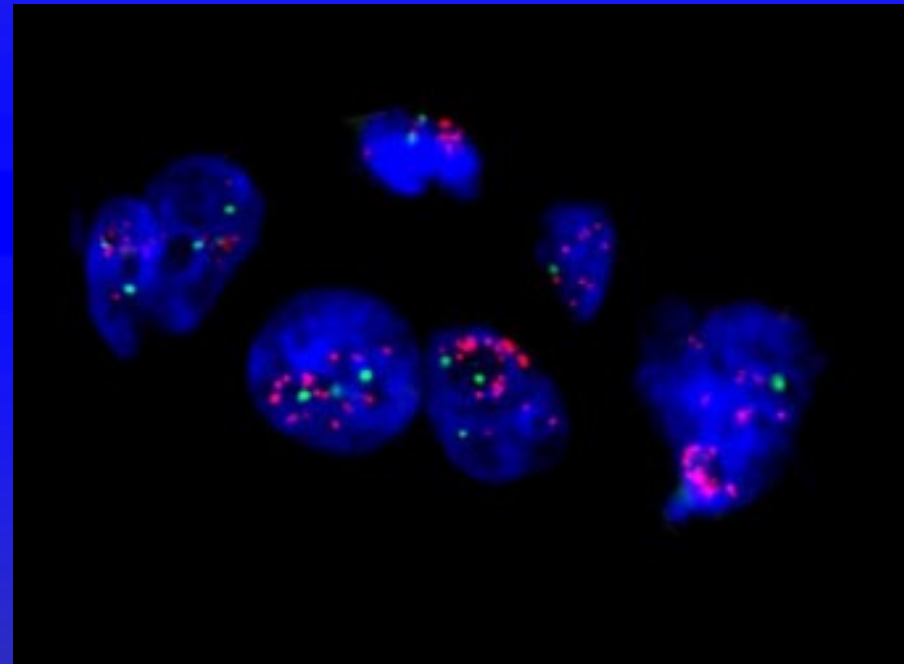
LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

EGFR1 status u pacienta s metastatickým kolorektálním karcinomem léčeného cetuximabem.

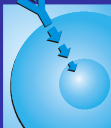
Dosažená PR po dobu > 8 měsíců v kombinaci s FOLFIRI.



IHC – pozitivní



FISH - amplifikace

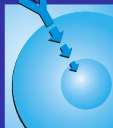


Výběr pacientů pro cílenou léčbu: Můžeme i nadále opomíjet správné načasování biopsie?

- ER/PR status se může lišit u primárního nádoru a metastáz
- Minimálně 14% neshody v Her-2 statusu u primárních nádorů a metastáz (Zidan J. et al., Br. J. Cancer, 2005) aktuální načasování biopsie!
- Chemoterapie mění status Her-2 and EGFR1 genů (Hajduch M., ASCO 2004, De Pas T. et al. JCO 2004)
- 15% EGFR1 primárně negativních CRC vykazuje vysokou expresi v metastázách (Scartozzi M., et al. JCO, 2004)



NEZBYTNOST REBIOPSY NÁDORU



CHEMOTERAPIE MĚNÍ HER-2 STATUS

Pokles amplifikace genů HER-2 and TOP2A v karcinomu prsu po neoadjuvantní chemoterapii založení na anthracyklinech (FISH)

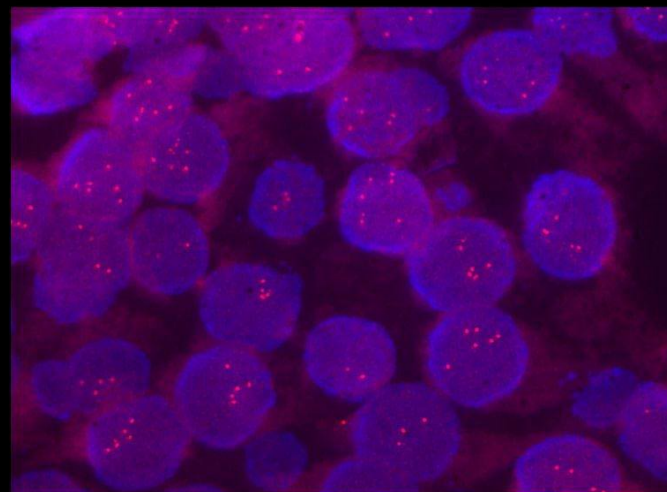
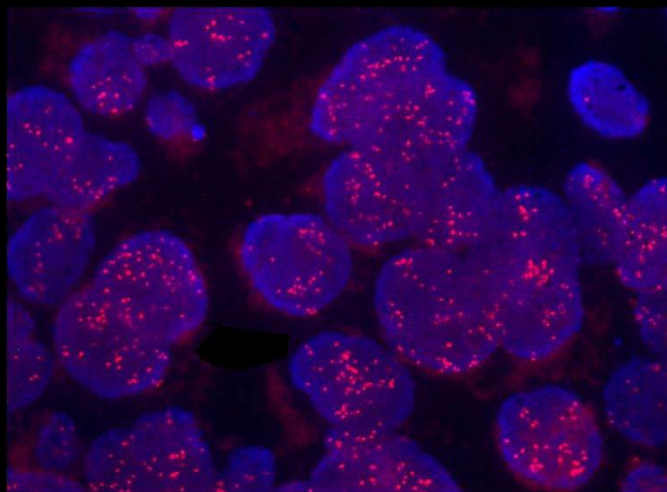
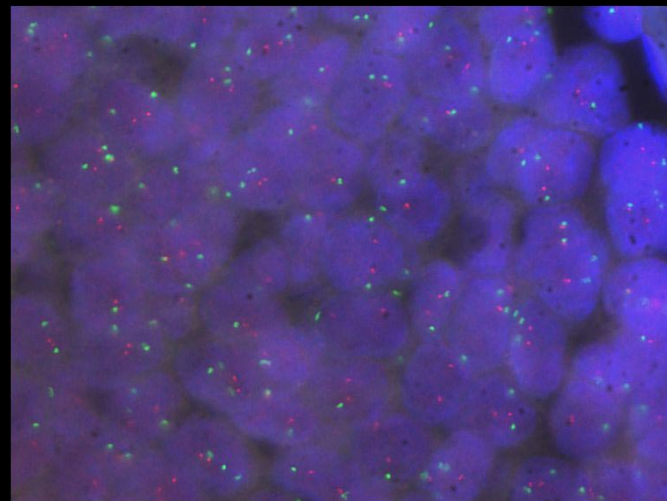
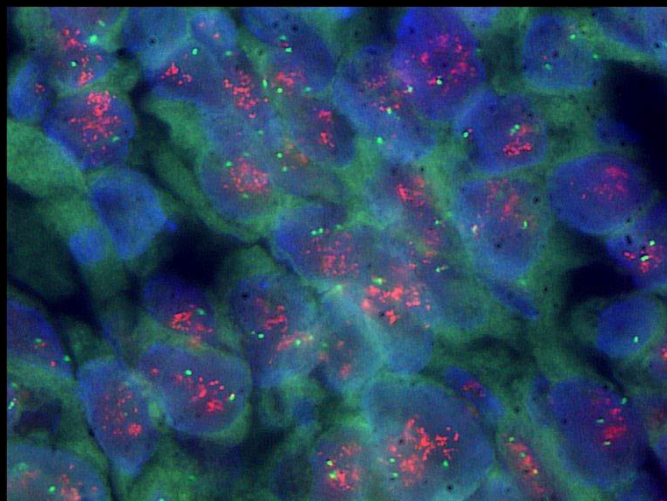
před chemoterapií

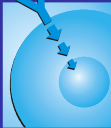
po chemoterapii

**HER-2
(červeně)**

**CEP 17
(zeleně)**

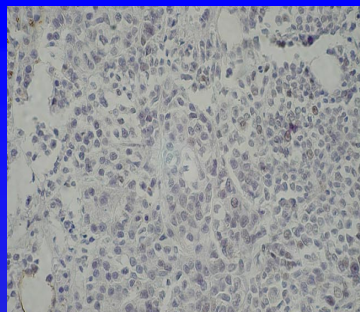
**TOP2A
(červeně)**



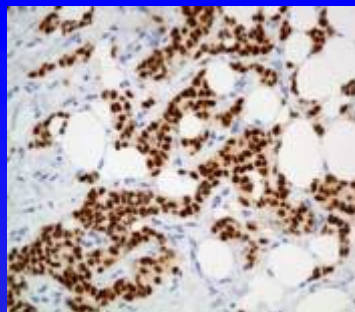


Budoucnost molekulární diagnostiky u nádorů

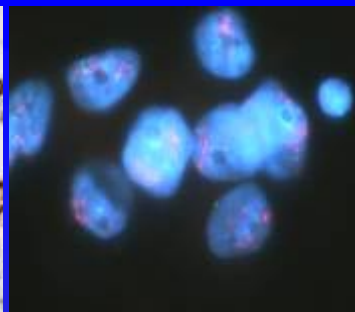
19. století



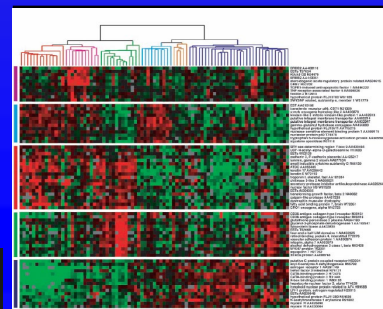
80-léta



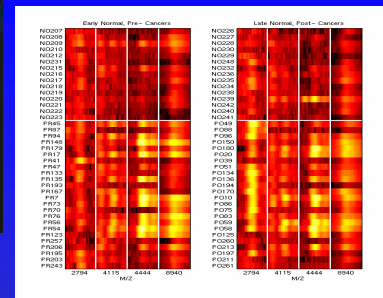
2000



21. století



DNA čipy
SNP analýza
Multiplexní PCR



Proteomika

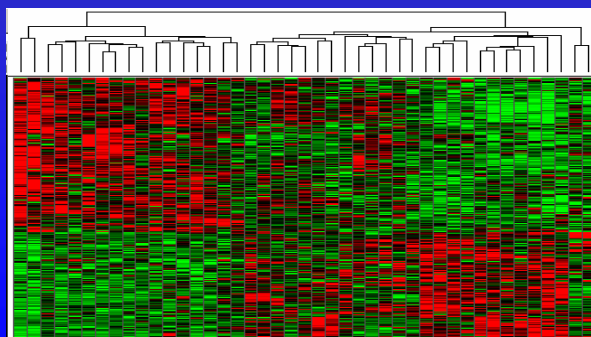
Histologie

Jednoduché prediktory

Multigenní prediktory



Průlomové studie s použitím technologie mikročipů u karcinomu prsu



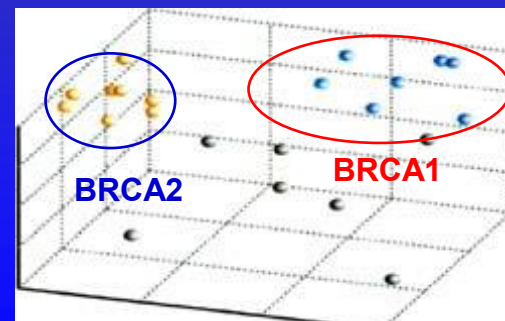
Predikce odpovědi na paklitaxel/FAC v neoadjuvantní chemoterapii

Pusztai L, et al. ASCO 2003



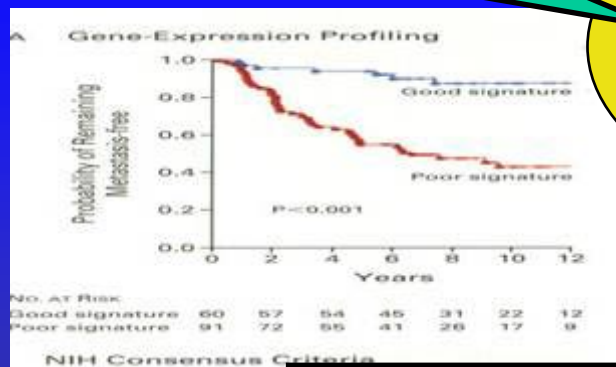
Stanovení ER, HER2 a dalších markerů

Pusztai L, et al. Clin Cancer Res 2003



Odlišení sporadického ca od případů s BRCA mutací

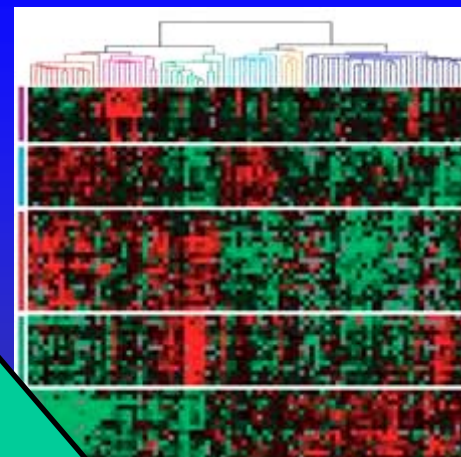
Hedenfalk I, et al. N Engl J Med 2001



Predikce přežití pacientů s karcinomem prsu

Van't Veer L, et al. Nature 2002

**Detekce existujících markerů
Skrining BRCA mutací
Predikce odpovědi na CHT
Nová molekulární klasifikace
Prognóza nemoci**



Klasifikace ca na luminální a bazální podtypy

Sorlie/Perou, et al. PNAS 2001



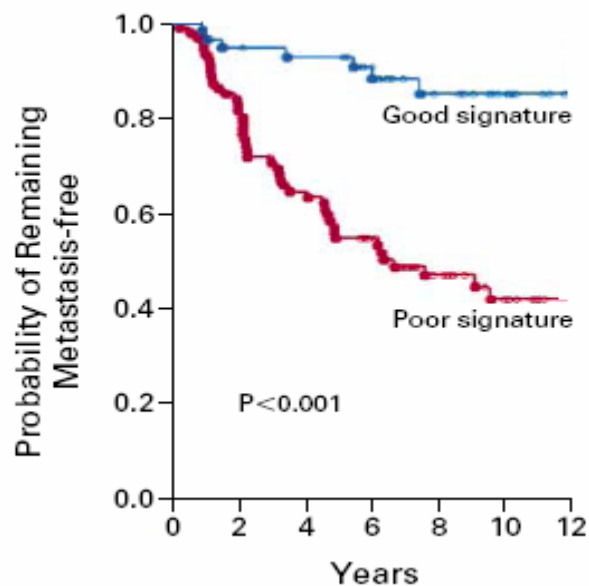
FUNKČNÍ DIAGNOSTIKA / PREDIKCE

	NEJM 2001	LANCET 2005
Počet pacientů T1-3N0	151	171
z toho HIGH RISK St.Gallen	85%	90%
z toho HIGH RISK NIH	93%	89%
z toho HIGH RISK Gene Expression Profile	60%	52%

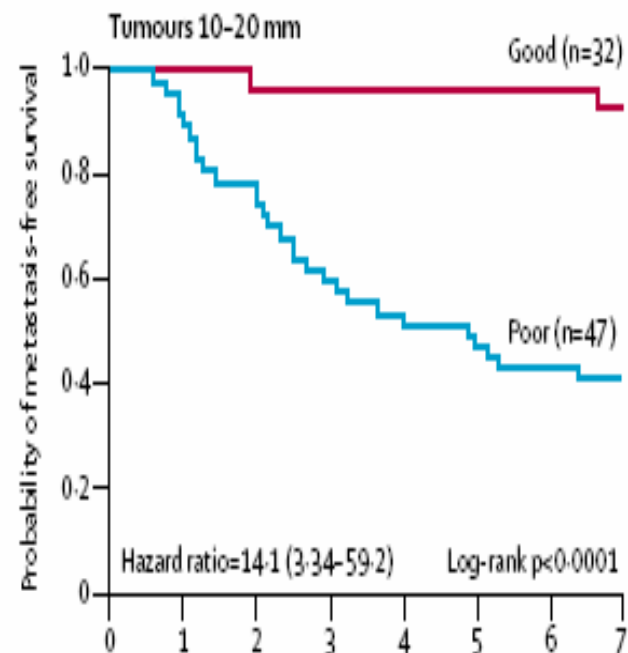
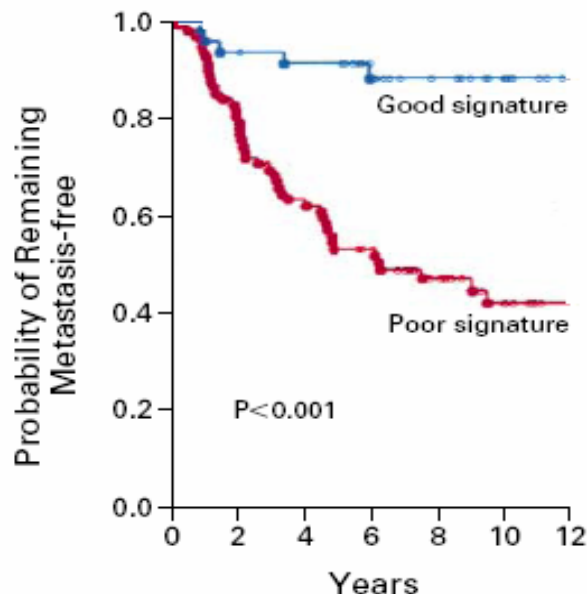
N Engl J Med, Vol. 347, No. 25

Lancet 2005; 365: 671-79

NIH, High Risk



St. Gallen, High Risk





ZÁVĚRY: PREDIKTORY ODPOVĚDI NA LÉČIVA SMĚROVANÁ DO HER RODINY

- **Anti-HER1/EGFR1 směrovaná léčiva**

(gefitinib, erlotinib, cetuximab, panitumab, lapatinib)

→ *konstitutivní aktivace EGFR1 – pozitivní prediktor*
mutace genu K-ras – negativní prediktor
kožní toxicita – klinický prediktor

- **Anti-HER2 směrovaná léčiva**

(trastuzumab, lapatinib)

→ *konstitutivní aktivace HER-2 (amplifikace, overexprese) – pozitivní prediktor*
koamplifikace TOP2A – preferenční selekce režimů
antracyklinů s trastuzumabem v adjuvanci



ZÁVĚRY VÝHLEDY DO BUDOUCNA

- Biologické vlastnosti nádoru jsou klíčové zejména z hlediska jeho odpovědi na specifickou léčbu.
- Anatomické stážování je důležité, ale jeho význam se bude v budoucnosti zřejmě umenšovat.
- Dochází ke změně klasifikace nádorových onemocnění na základě biologie nádorů, s tím se mění design klinických studií i rutinní klinická praxe.
- Nastoupené změny zřejmě přinesou v budoucnosti revizi některých dogmat a povedou k lepším léčebným výsledkům v onkologii.



LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

PREDIKTIVNÍ/PROGNOSTICKÁ ONKOLOGIE OPTIMIZACE POMĚRU RIZIKA/PROSPĚCHU PRO INDIVIDUÁLNÍHO PACIENTA *“PRIMUM NON NOCERE”*

